

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.23.011

药用复合膜中苯二胺含量测定及限度标准研究*

张璞, 吴红洋, 曹汐, 范能全[△]

(重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121)

摘要:目的 测定药用复合膜中苯二胺含量,并制定限度标准。方法 采用岛津 Rtx-5 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm),温度进样口为 200℃、气化室为 220℃、FID 为 300℃,载气高纯度氮气流速为 0.8 mL/min,氢气流速为 40 mL/min,空气流速为 400 mL/min,尾吹流速为 30 mL/min,柱温为程序升温(初始温度为 100℃,保持 1 min,以 20℃/min 的速率升至 200℃,保持 0 min,再以 20℃/min 的速率升至 280℃,保持 10 min),分流比为 5:1。结果 邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺质量浓度分别在 0.996 8~99.680 0 μg/mL($r=0.999\ 5$),0.991 4~99.140 0 μg/mL($r=0.999\ 5$),1.003 8~100.380 0 μg/mL($r=0.999\ 6$)范围内与峰面积线性关系良好,平均回收率分别为 89.74%,89.71%,89.20%,RSD 分别为 1.70%,1.45%,1.68%($n=9$);所有样品中均未检出苯二胺。结论 该方法可用于药用复合膜中苯二胺的质量控制,苯二胺的限度标准初步确定为不得超过 0.05%。

关键词:气相色谱法;药用复合膜;苯二胺;含量测定;限度标准

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)23-0043-03

Content Determination and Limit Standard of Phenylenediamine in Laminated Films for Pharmaceutical Packaging

ZHANG Pu, WU Hongyang, CAO Xi, FAN Nengquan

(Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121)

Abstract: **Objective** To determine the content of phenylenediamine in laminated films for pharmaceutical packaging and establish the limit standard. **Methods** The chromatographic column was Shimadzu Rtx-5 capillary column(30 m×0.25 mm,0.25 μm),the temperature was 200℃ for inlet,220℃ for gasification chamber,300℃ for flame ionization detector(FID),the flow rate of carrier gas was 0.8 mL/min for high purity nitrogen,40 mL/min for hydrogen,400 mL/min for air and 30 mL/min for tail gas. The temperature-programmed was adopted for column temperature(the initial temperature was 100℃,maintained for 1 min,the temperature was raised to 200℃ at the rate of 20℃/min,maintained for 0 min,and then it was raised to 280℃ at the rate of 20℃/min,maintained for 10 min). The split ratio was 5:1. **Results** *O*-Phenylenediamine, *p*-Phenylenediamine and *m*-Phenylenediamine showed good linear relationship with peak area in the ranges of 0.996 8~99.680 0 μg/mL($r=0.999\ 5$),0.991 4~99.140 0 μg/mL($r=0.999\ 5$) and 1.003 8~100.380 0 μg/mL($r=0.999\ 6$),respectively. The average recoveries were 89.74%,89.71%,89.20%,and the RSDs were 1.70%,1.45% and 1.68% ($n=9$),respectively. No phenylenediamine was detected in all samples. **Conclusion** The method can be used for quality control of phenylenediamine in laminated films for pharmaceutical packaging and the limit standard of phenylenediamine is not more than 0.05%.

Key words: gas chromatography;laminated films for pharmaceutical packaging;phenylenediamine;content determination;limit standard

20 世纪 80 年代至今,我国开发了多种适宜片剂、胶囊、颗粒剂等药品的包装材料,其中药用复合膜发展迅速,成为固体制剂主要的包装形式^[1-4]。药用复合膜是通过黏合剂复合而成的多层结构,由塑料薄膜、铝箔、黏合剂及油墨组成^[5]。我国目前用得最多的黏合剂为聚氨酯类黏合剂。聚氨酯由多羟基化合物和芳香族异氰酸酯聚合而成,生产过程中为了获得更好的黏接性能,通常会适当过量使用芳香族异氰酸酯组分^[6],但过量的芳香族异氰酸酯水解后会释放产生芳香胺类物质。苯二胺是芳香胺中常见的一种,对人体健康有潜在危害^[7]。药用复合膜包装药品时,存在迁移进入药品而影响药品安全的风险,是药用复合膜使用过程中的重大安全隐患。

目前,国内外有关苯二胺含量的检测标准和文献主要集中在染发剂和化妆品^[8-11],现行国家药品包装材料标准未对黏合剂中的初级芳香胺如苯二胺进行控制。本研究中对初级芳香胺中苯二胺的测定方法进行了研究,并对样品中苯二胺的残留量进行质量控制。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

GC2010 Plus 型气相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); XPE205 型电子天平(Mettler Toledo 公司,精度为 0.01 mg); KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 500 W,频率为 40 kHz)。

*基金项目:重庆市科研机构绩效激励引导专项[cstc2019jxjl130040]。

第一作者:张璞,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为药物分析及药理毒理,(电子信箱)278783995@qq.com。

[△]通信作者:范能全,男,硕士研究生,正高级工程师,研究方向为药包材相容性研究与药理毒理,(电子信箱)fannqcq@163.com。

1.2 试药

邻苯二胺(批号为 K1827010, 纯度为 99.5%, 规格为 25 g), 对苯二胺(批号为 L1829016, 纯度为 99.0%, 规格为 100 g), 间苯二胺(批号为 C1906096, 纯度为 99.5%, 规格为 100 g), 均购自 Aladdin 公司; 甲醇为色谱纯(安徽时联特种溶剂股份有限公司, 批号为 6508JW21); 试验用水为 Milli-Q 超纯水(美国 EMD-Millipore 公司); 药用复合膜(A 公司, 批号分别为 20170215, 20171220, 20170225; B 公司, 批号分别为 20170301-06, 20170301-07, 20170301-08; C 公司, 批号分别为 170301, 170401, 170502)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 岛津 Rtx-5 毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 温度: 进样口为 200 °C, 气化室为 220 °C, FID 为 300 °C; 流速: 载气高纯度氮气为 0.8 mL/min, 氢气为 40 mL/min, 空气为 400 mL/min, 尾吹为 30 mL/min; 柱温: 程序升温, 初始温度为 100 °C, 保持 1 min, 以 20 °C/min 的速率升至 200 °C, 保持 0 min, 再以 20 °C/min 的速率升至 280 °C, 保持 10 min; 分流比: 5:1; 进样量: 1 μL。

2.2 溶液制备

对照品溶液: 分别取邻苯二胺、对苯二胺和间苯二胺各 0.25 g, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解, 并定容至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 2.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为对照品中间贮备液。精密量取对照品中间贮备液适量, 加甲醇稀释成每 1 mL 含 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μg 的混合对照品溶液。

供试品溶液: 取样品适量, 裁取表面积 0.03 m² (约 1.3 g), 剪成 3 mm × 30 mm 大小, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加适量甲醇, 超声(功率为 500 W, 频率为 40 kHz)提取 30 min 后取出, 冷却至室温后转移至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 用 0.22 μm 滤膜过滤, 即得。

2.3 方法学考察

专属性试验: 精密吸取空白溶剂(甲醇)及 2.2 项下 2 种溶液各 1 μL, 按拟订色谱条件进样检测, 色谱图见

图 1。结果邻苯二胺、对苯二胺和间苯二胺对照品的理论板数分别为 140 022, 157 670, 190 333。供试品溶液色谱图中, 均未检出与对照品溶液保留时间相同的色谱峰; 空白溶剂色谱图中, 在与对照品溶液相同保留时间处无干扰峰, 表明该方法专属性良好。

线性关系考察: 分别取各质量浓度的混合对照品溶液各 1 μL, 注入气相色谱仪, 以进样质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺的回归方程, $Y_{\text{邻}} = 3\,026.03 X_{\text{邻}} - 5\,053.46$ ($r = 0.999\,5$, $n = 7$), $Y_{\text{对}} = 2\,936.18 X_{\text{对}} - 5\,564.23$ ($r = 0.999\,5$, $n = 7$), $Y_{\text{间}} = 2\,988.44 X_{\text{间}} - 5\,150.78$ ($r = 0.999\,6$, $n = 7$); 邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺质量浓度分别在 0.996 8 ~ 99.680 0 μg/mL, 0.991 4 ~ 99.140 0 μg/mL, 1.003 8 ~ 100.380 0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取 2.2 项下质量浓度为 10 μg/mL 的对照品溶液适量, 按拟订色谱条件重复进样 6 次, 记录峰面积。结果邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺峰面积的 RSD 分别为 1.68%, 1.74%, 1.90% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

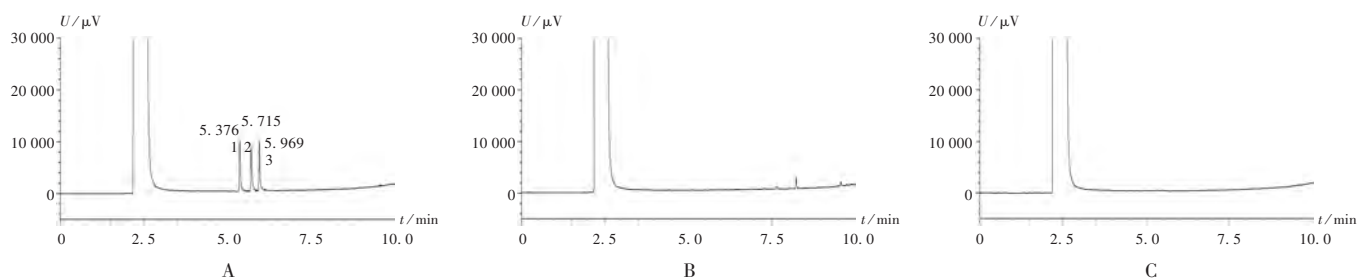
稳定性试验: 精密吸取同一对照品溶液, 室温下分别放置 0, 3, 6, 8, 12 h 时按拟订色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺峰面积的 RSD 分别为 1.60%, 1.37%, 1.97% ($n = 5$), 表明对照品溶液在 12 h 内测定结果稳定。

加样回收试验: 取已知邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺含量的样品 9 份, 各裁取 0.03 m², 分别精密加入混合对照品适量, 依法制备供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果见表 1。

检测限与定量限: 取 2.2 项下混合对照品溶液倍比稀释, 进样测定, 当信噪比(S/N)为 3 时为检测限, S/N 为 10 时为定量限。邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺的检测限分别为 0.797 4, 0.793 1, 0.803 0 μg/mL, 定量限分别为 0.996 8, 0.991 4, 1.003 8 μg/mL。

2.4 样品含量测定

取 9 批样品, 各 2 份, 依法制备供试品溶液, 按拟订



1. 邻苯二胺 2. 对苯二胺 3. 间苯二胺
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 空白溶剂(甲醇)

图 1 气相色谱图

表1 加样回收试验结果($n=9$)

加入量($\mu\text{g/mL}$)			测得量($\mu\text{g/mL}$)			回收率(%)			$\bar{X}$ (%)			RSD(%)		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
4.984	4.957	5.019	4.449	4.440	4.522	89.27	89.57	90.10						
4.984	4.957	5.019	4.548	4.431	4.529	91.25	89.39	90.24						
4.984	4.957	5.019	4.576	4.490	4.314	91.81	90.58	85.95						
9.968	9.914	10.04	8.686	8.636	8.853	87.14	87.11	88.18						
9.968	9.914	10.04	8.858	8.768	8.875	88.86	88.44	88.40	89.74	89.71	89.20	1.70	1.45	1.68
9.968	9.914	10.04	8.983	9.039	9.039	90.12	91.17	90.03						
19.94	19.83	20.08	17.57	17.92	17.96	88.11	90.37	89.44						
19.94	19.83	20.08	18.12	17.79	17.98	90.87	89.71	89.54						
19.94	19.83	20.08	18.00	18.05	18.26	90.27	91.02	90.94						

注:A为邻苯二胺,B为对苯二胺,C为间苯二胺。

色谱条件进样测定,结果所有样品中均未检出邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺。

3 讨论

各国药典均未收载药用复合膜中苯二胺的测定方法及限度,故无法直接查阅苯二胺限度的相关标准。在制订本品苯二胺限度标准时,拟根据《药品与包装材料相容性研究相关指导原则解读—试验结果的评估》^[12-13]中建议的采用允许日暴露量(PDE)的评估方法进行评价,并结合每日最大摄入量计算得药用复合膜中苯二胺的限度。

查阅 TOXNET 数据库可知,邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺的大鼠经口急性毒性的半数致死量(LD_{50})分别为 510,80,280 mg/kg,欧盟原料药委员会在其发布的《原料药工厂中清洁验证指南》中收录了由 LD_{50} 计算 NOEL 的公式($NOEL = LD_{50}/2\ 000$)^[14],根据人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)Q3C 残留溶剂指导原则中有机溶剂 PDE 值的计算方法^[15]: $PDE = NOEL \times \text{体质量调整}/(F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5)$,式中 NOEL 为未观察到作用水平,F1~F5 为一系列安全系数值。通过计算得到邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺的 PDE 值分别为 51,8,28 mg/d。目前,市场上药用复合膜包装颗粒剂最多。颗粒剂按最常见规格为每袋 10 g,1 次 10 g,每日 3~4 次,空袋的质量按 1 g 计,得到邻苯二胺、对苯二胺与间苯二胺的限度分别为 1.275%,0.2%,0.7%。考虑到药用复合膜包装各种制剂的实际情况和临床上的联合用药,为提高用药安全性,故将苯二胺的限度值暂订为 0.05%,并根据后期毒性研究试验结果对现暂订苯二胺浓度限度标准作进一步修订。

本研究中建立了采用气相色谱法测定药用复合膜中苯二胺含量的方法,并制订了限度标准。按该方法进行测定,结果均符合规定。为更好地控制产品质量,建议在药用复合膜中增加苯二胺的残留量测定。

参考文献:

- [1] 赵木顺,李翠. 测量系统分析在药用铝箔及药用复合膜生产企业中的应用[J]. 印刷技术,2018(1):52-57.
- [2] 蔡荣. 软包装材料在药品包装中的应用[J]. 上海包装,2005(3):45-47.
- [3] 郭培荣. 药品包装用复合膜包装市场的特点[N]. 中国包装报,2013-02-25(006).
- [4] 张启峻,曹光华. 复合膜在药品包装中的应用[J]. 印刷技术,2008(16):52-53.
- [5] 朱则刚. 浅叙食品软包装复合膜聚氨酯胶粘剂的应用与发展[J]. 塑料包装,2016,26(4):32-39.
- [6] 张群. 系列讲座四:软包装复合用聚氨酯胶粘剂的应用及卫生安全技术探讨 浅谈食品复合膜中的初级芳香胺[J]. 包装前沿,2016(4):92-93.
- [7] 孙靓. 对苯二胺检测方法的建立及职业人群健康状况的调查[D]. 天津:天津医科大学,2018.
- [8] 倪琳,欧阳晓玫,李若绮,等. 高效液相色谱法测定染发剂中对苯二胺等 32 种染料组分[J]. 分析测试技术与仪器,2019,25(3):196-203.
- [9] 刘玉玲,潘小红,赵薇,等. 染发剂中对苯二胺等 32 种染料检测结果分析[J]. 食品安全质量检测学报,2018,9(5):1149-1157.
- [10] 胡望霞,林紫威,洪杰,等. 气相色谱-质谱法测定鞋材中的对苯二胺[J]. 皮革与化工,2017,34(6):12-15.
- [11] 李莉,李硕,高家敏,等. 进口染发剂中 32 种染料检测结果分析[J]. 香料香精化妆品,2017(5):59-63.
- [12] 马玉楠,马磊,蒋煜. 药品与包装材料相容性研究相关指导原则解读——试验结果的评估[J]. 中国新药杂志,2014,23(8):940-943.
- [13] 蒋煜,马玉楠,霍秀敏,等.《化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则》解读——提取迁移试验方法设计[J]. 中国新药杂志,2014,23(15):1738-1742.
- [14] LAYTON DW, MALLON BJ, ROSENBLATT DH, et al. Deriving allowable daily intakes for systemic toxicants lacking chronic toxicity data[J]. J Regul Toxicol Pharm,1983,3(1):224.
- [15] ICH Q3C(R3), Impurities: residual solvents[S].

(收稿日期:2020-03-05;修回日期:2020-06-10)