

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.17.018

高效液相色谱法测定三层共挤输液用管中芥酸酰胺含量*

李莎¹, 杨柳¹, 吴红洋¹, 蒲道俊², 余春梅², 范能全^{1△}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2. 西南药业股份有限公司, 重庆 400038)

摘要:目的 建立测定三层共挤输液用管中芥酸酰胺含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 200 nm, 柱温为 60 ℃, 进样量为 10 μL。结果 芥酸酰胺的质量浓度在 5.12~307.14 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($R^2=1.000$, $n=7$); 检测限和定量限分别为 0.16 μg/mL 和 0.50 μg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的结果均符合要求; 平均加样回收率为 94.73%, RSD 为 1.38% ($n=9$)。结论 该方法操作简便, 结果准确, 重复性好, 可用于三层共挤输液用管中芥酸酰胺的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 三层共挤输液用管; 芥酸酰胺; 含量测定

中图分类号: R955

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)17-0070-03

Content Determination of Erucamide in Three-Layer Co-Extrusion Infusion Tube by HPLC

LI Sha¹, YANG Liu¹, WU Hongyang¹, PU Daojun², YU Chunmei², FAN Nengquan¹

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121; 2. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, China 400038)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography(HPLC) method for the content determination of erucamide in the three-layer coextrusion infusion tube. **Methods** The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 200 nm, the column temperature was 60 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear range of erucamide was 5.12~307.14 μg/mL($R^2=1.000$, $n=7$).

*基金项目: 重庆市科研机构绩效激励引导专项项目[cstc2019jxj1130040]。

第一作者: 李莎, 女, 硕士研究生, 工程师, 研究方向为药包材相容性, (电子信箱) Lisha@cqifdc.org.cn。

△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, (电子信箱) fannengq@163.com。

等疾病, 可促进伤口愈合^[5-7]。紫草素诱导调节氧化应激反应、线粒体功能和细胞骨架形成的信号通路, 可作为开发新型抗癌药的来源化合物^[10], 与临床已有抗癌药物联用, 可协同抑制肿瘤细胞生长^[11]。

从采摘地点来看, 乌海拉僧庙、乌海老石旦洗煤厂、乌海乌巴公路 41 km 处及阿拉善右旗阿贵庙收集的样品中, β, β'-二甲基丙烯酰阿卡宁和左旋紫草素的含量均远低于巴彦淖尔市乌拉特前旗、后旗收集的样品。从采摘时间分析, 11 月收集的样品含量普遍低于 10 月收集的样品。综合分析建议, 该药材的最佳采收时间应在初秋, 采收地点首选巴彦淖尔市乌拉特前旗、后旗附近。

药材的质量标准对于其临床应用、新药研发、传统药物现代化、中蒙药资源开发, 乃至整个中蒙医药产业的健康、可持续发展均有重要意义。本课题组采集的药材是新起草品种, 采摘地点位于内蒙古的主要紫草产区, 检测方法为目前普遍认可的药物质量标准测定方法, 制订的质量标准较完善, 可为该药材的质量控制与药品品质鉴定提供科学依据, 对于该药材的人工种植、资源扩大有重要意义。后续需进一步对药材的采收时间、药理、药效及不同种属之间药材的差异进行更深入的研究。

参考文献

[1] 内蒙古植物药志编辑委员会. 内蒙古植物药志(第二卷)[M].

呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1989: 414-416.

[2] 赵一之, 赵利清, 曹 瑞. 内蒙古植物志(第四卷)[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2020: 145-146.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 355-356.

[4] 燕 攀, 贾帅龙, 李 森, 等. 基于液质联用技术的中药植化成分研究方法策略[J]. 药学学报, 2020, 55(7): 1494-1503.

[5] 王 钢, 陈 斌, 蔡 蕊, 等. 紫草素抗炎的药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(3): 682-685.

[6] GUO CJ, HE JL, SONG XMT, et al. Pharmacological properties and derivatives of Shikonin-A review in recent years[J]. Pharmacol Res, 2019, 149: 104463.

[7] 廖 梅, 吴凌凤, 姜宏梁, 等. 药用紫草醌类化合物及其药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(4): 694-707.

[8] 马留纯, 马生军, 朱金芳, 等. 新疆紫草的 HPLC 指纹图谱建立、化学模式识别分析及其含量测定[J]. 中国药房, 2020, 31(14): 1732-1738.

[9] 徐景怡, 吴 硕, 李玉环, 等. 新疆紫草及其活性成分抗病毒作用研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2019, 14(6): 549-552.

[10] BOULOS JC, RAHAMA M, HEGAZY MEF, et al. Shikonin derivatives for cancer prevention and therapy[J]. Canc Lett, 2019, 459: 248-267.

[11] 陈 阳, 陈忠坚, 高 赞, 等. 紫草素及其衍生物抗肿瘤作用研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3503-3509.

(收稿日期: 2020-11-19; 修回日期: 2021-03-09)

The limit of detection(LOD) and limit of quantitation(LOQ) of erucamide were 0.16 $\mu\text{g/mL}$ and 0.50 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The results of the precision, stability and repeatability tests could meet the requirements. The average recovery of erucamide was 94.73% with RSD of 1.38% ($n=9$). **Conclusion** The method was simple and accurate with good repeatability, which can be used for the content determination of erucamide in the three-layer co-extrusion infusion tube.

Key words: HPLC; three-layer co-extrusion infusion tube; erucamide; content determination

药用包装材料塑料制品如三层共挤输液用管等在药品行业应用十分广泛,由于塑料的分子结构及静电积累、物质扩散和贴合形成真空等,塑料薄膜在生产和使用过程中存在开口性差等问题,加入爽滑剂可减少该现象的发生^[1]。爽滑剂芥酸酰胺能提高聚烯烃薄膜的开口性能^[2],具有优异的光滑度和耐黏着力,常作为薄膜的加工助剂^[3]。芥酸酰胺能使小鼠行动变缓,认知能力下降,易水解为芥酸,引起皮肤损伤^[4-6]。药品包装中的芥酸酰胺通过溶解和分子热运动迁移出来,其降解产物直接或间接促进有色化合物和有害物质形成^[7],给药品带来安全风险。目前,芥酸酰胺的检测方法主要有气相色谱(GC)法^[8]、气相色谱-质谱(GC-MS)法^[9]、红外光谱法^[10]、高效液相色谱(HPLC)法^[11]、液相色谱-质谱法^[12-13]等。由于HPLC法检测芥酸酰胺具有良好的稳定性和灵敏度^[14],故本研究中建立了测定三层共挤输液用管中芥酸酰胺含量的HPLC法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

安捷伦 1260 型液相色谱仪(日本 Agilent 公司); XSE205 型天平(瑞士梅特勒-托利多公司,精度为十万分之一); ZM200 型均质器(德国莱驰公司); HHS-21-8 型水浴锅(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); Milli-Q Advantage A10 型超纯水机(法国默克密理博公司)。

1.2 试剂

三层共挤输液用管(企业 A,批号分别为 836LA, 836LD, 836LF); 芥酸酰胺对照品(CATO 公司, CAS 号为 112-84-5,批号为 CCHM700539-1811,规格为 25 g,纯度为 87.4%); 乙腈(色谱级,安徽时联特种溶剂股份

有限公司); 异丙醇(色谱级,成都市科隆化学品有限公司); 试验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

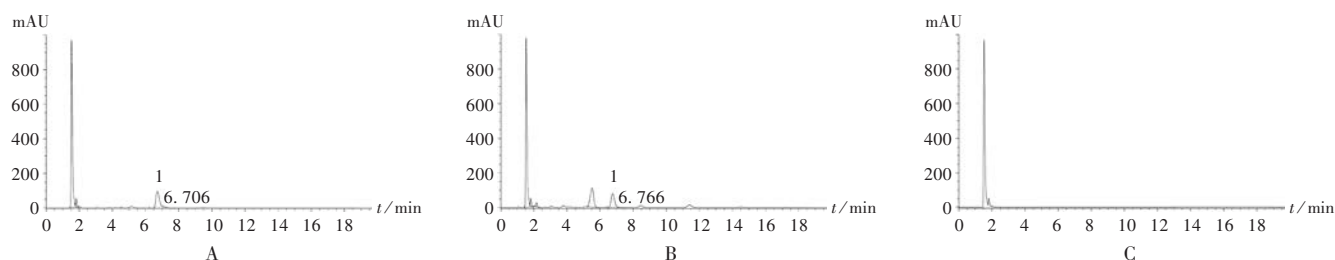
色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 60 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 200 nm; 进样量 10 μL 。在该色谱条件下,空白样品溶液和样品基质对芥酸酰胺的测定均无干扰,芥酸酰胺在 6.706 min 能得到较好分离,表明专属性较好。详见图 1。

2.2 溶液制备

取芥酸酰胺对照品 0.05857 g,精密称定,置 100 mL 容量瓶中,加异丙醇溶解并定容,得质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品贮备液。临用前用异丙醇稀释成所需浓度的对照品溶液。取粉碎后的三层共挤输液用管 2.5 g,精密称定,加 25.0 mL 异丙醇,用回流装置回流煮沸 2 h,冷却至室温,用 0.45 μm 有机滤膜滤过,即得供试品溶液。同法制备三层共挤输液用管的空白样品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察与检测限、定量限确定: 分别吸取 2.2 项下对照品贮备液 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00 mL, 置 10 mL 容量瓶中,加异丙醇配制成质量浓度分别为 5.12, 10.24, 20.48, 51.19, 102.38, 204.76, 307.14 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,以峰面积(Y)为纵坐标、芥酸酰胺质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y=6.65862X-3.48226$, $R^2=1.000$ ($n=7$)。结果表明,芥酸酰胺的质量浓度在 5.12 ~ 307.14 $\mu\text{g/mL}$



1. 芥酸酰胺

A. 对照品溶液 B. 样品加标溶液 C. 空白样品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. erucamide

A. Reference solution B. Spiked sample solution C. Blank sample solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

范围内与峰面积线性关系良好。将上述对照品溶液逐级稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为3时的质量浓度为检测限,以 S/N 为10时的质量浓度为定量限。结果检测限为 $0.16\text{ }\mu\text{g/mL}$,定量限为 $0.50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。

精密度试验:取线性关系考察项下质量浓度为 $51.19\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,按2.1项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果芥酸酰胺峰面积的 RSD 为 0.19% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取线性关系考察项下质量浓度为 $102.38\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,分别于0 h和11 h时进样测定,记录峰面积。结果芥酸酰胺峰面积的变化率为 5.03% ,表明对照品溶液在11 h内稳定。

重复性试验:取样品(批号为836LA)适量,精密称定,依法制备供试品溶液,共6份,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算样品含量。结果芥酸酰胺含量的 RSD 为 0.93% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(批号为836LA) 2.5 g ,精密称定,共9份,依法制备供试品溶液,分别精密加入混合对照品溶液(质量浓度为 $1\text{ }023.80\text{ }\mu\text{g/mL}$) $2.0, 2.5, 3.0\text{ mL}$,平行3份,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算回收率。结果见表1。

表1 三层共挤输液用管中芥酸酰胺加样回收试验结果($n=9$)
Tab.1 Results of the recovery test of erucamide in three-layer co-extrusion infusion tube($n=9$)

取样量(g)	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
2.509 5	3 068.69	2 559.5	5 496.82	94.87		
2.502 2	3 059.77	2 559.5	5 501.06	95.38		
2.510 4	3 069.79	2 559.5	5 487.24	94.45		
2.503 3	3 061.11	3 071.4	5 897.92	92.36		
2.505 7	3 064.05	3 071.4	5 963.85	94.41	94.73	1.38
2.504 2	3 062.21	3 071.4	5 923.47	93.16		
2.501 7	3 059.15	3 583.3	6 513.64	96.41		
2.507 4	3 066.12	3 583.3	6 497.58	95.76		
2.510 2	3 069.55	3 583.3	6 501.36	95.77		

2.4 样品含量测定

取样品(批号分别为836LA,836LD,836LF),依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算含量。结果三层共挤输液用管中芥酸酰胺的含量分别为 $0.14\%, 0.09\%, 0.11\%$ 。

3 讨论

试验结果发现,所测三层共挤输液用管提取液中均检测出芥酸酰胺,含量为 $0.09\% \sim 0.14\%$,提示药品生产企业应对三层共挤输液用管药包材中的芥酸酰胺进行监控,综合考虑选择适宜的药品包装材料。本研究中建立的HPLC法符合三层共挤输液用管中芥酸酰胺含

量的分析要求,为药品与药包材相容性研究中芥酸酰胺的分析提供了参考,也对芥酸酰胺国内检测标准的制订有一定参考价值。该方法操作简便,结果准确,重复性好,可用于三层共挤输液用管中芥酸酰胺含量的测定。

参考文献

- [1] 郭锐,王群涛,王日辉,等. 开口剂对LLDPE薄膜性能的影响[J]. 合成树脂及塑料,2013,30(6):56-58.
- [2] GUNNING MA, GEEVER M, KILLION JA, et al. Melt processing of bioplastic composites via twin screw extrusion and injection molding[J]. Polymer-Plastics Technology and Engineering, 2014,53(4):379-386.
- [3] MOREIRA JFM, ALVES TS, BARBOSA R, et al. Effect of cis-13-docosenamide in the properties of compatibilized polypropylene/clay nanocomposites[J]. Macromol Symp, 2016, 367(1): 68-75.
- [4] 何金凤,吕新广,林勤保,等. 聚乳酸发泡餐盒中两种爽滑剂向食品模拟物的迁移[J]. 食品与发酵工业,2019,45(7): 123-129.
- [5] FEKETE Z, RÓFUSZ T, ANGYAL V, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis and subsequent quality improvement of plastic infusion packaging materials[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014,97:111-115.
- [6] LV G, WANG LB, LIU J, et al. Method for determination of fatty acid amides in polyethylene packaging materials—gas chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2009,1216(48):8545-8548.
- [7] PELOSO CW, O'CONNOR MJ, BIGGER SW, et al. Characterising the degradation of the polymer slip additive erucamide in the presence of inorganic antiblock agents[J]. Polym Degrad Stabil, 1998,62(2):285-290.
- [8] 郝萍,王海,韩晓昱,等. 用气相色谱法测定高密度聚乙烯中爽滑剂芥酸酰胺的含量[J]. 石化技术与应用,2013, 31(1):71-73.
- [9] 房宁,王子剑,赵劲松,等. 气相色谱-质谱法测定食品接触材料润滑剂在脂类食品模拟物中迁移量[J]. 中国食品卫生杂志,2016,28(3):319-322.
- [10] 陈民助,吴玉蓉,匡晓帆,等. 红外光谱法测定芥酸酰胺含量的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版),1997,34(6): 872-874.
- [11] 杨璐,周国桢,焦毅,等. 高效液相色谱内标法检测塑料中芥酸酰胺[J]. 分析仪器,2019(2):66-69.
- [12] 蒙芳玲,胡长鹰,黎梓城,等. 液相色谱串联质谱法测定铝塑复合膜中芥酸酰胺和油酸酰胺[J]. 食品与发酵工业, 2020,46(20):208-213.
- [13] 张勤,邢燕燕,赵焜慧,等. 基于液相色谱-串联质谱法检测多种食品中的16种合成着色剂[J]. 化学试剂,2017, 39(4):385-390.
- [14] 朱丽娟,林勤保,钟怀宁,等. 聚乙烯薄膜中芥酸酰胺的测定及其稳定性研究[J]. 包装工程,2018,39(7):86-90.

(收稿日期:2020-12-30;修回日期:2021-01-29)