

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.01.016

药用胶塞中抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚含量测定及迁移量研究*

吴红洋¹, 李莎¹, 张璞¹, 任学毅¹, 申丽莎², 范能全^{1△}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400061)

摘要:目的 建立测定药用胶塞中抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)含量,以及其在头孢类注射剂溶液中迁移量的气相色谱法。方法 色谱柱为DB-Waxetr毛细管柱(30 m×0.32 mm, 1.00 μm),载气为N₂,进样量为1 μL,流速为2.0 mL/min,分流比为20:1,柱温采用程序升温,气化室温度为220℃,火焰离子化检测器,检测器温度为250℃。结果 BHT质量浓度在0.504 5~50.450 0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好($r=1.000\ 0$, $n=7$);检测限为0.201 8 μg/mL,定量限为0.504 5 μg/mL;平均加样回收率为97.85%,RSD为1.18%($n=6$)。药用胶塞中BHT最高含量为64.19 μg/g,药品中抗氧化剂BHT最高迁移量为14.60 μg/g。结论 该方法操作简单,灵敏度高,结果准确,重复性和稳定性均较好,可用于药用胶塞中BHT的含量测定及迁移量研究。

关键词:气相色谱法;药用胶塞;2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚;迁移量;含量测定

中图分类号:R927.2;R917

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)01-0063-04

Content Determination of Antioxidant 2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol in Medicinal Rubber Stopper and Its Migration

WU Hongyang¹, LI Sha¹, ZHANG Pu¹, REN Xueyi¹, SHEN Lisha², FAN Nengquan¹

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121; 2. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing, China 400061)

Abstract: Objective To establish a gas chromatographic method for the content determination of antioxidant 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) in medicinal rubber stopper and its migration in cephalosporin injection solution. **Methods** The chromatographic column was DB-Waxetr capillary column (30 m×0.32 mm, 1.00 μm), the carrier gas was N₂ and the injection volume was 1 μL, the flow rate was 2.0 mL/min, the split ratio was 20:1, the column temperature was programmed, the temperature of gasification chamber was 220℃, and the detector was flame ionization detector (FID) with temperature of 250℃. **Results** BHT showed a good linear relationship in the range of 0.504 5–50.450 0 μg/mL ($r=1.000\ 0$, $n=7$). The limit of detection (LOD) was 0.201 8 μg/mL and the limit of quantification (LOQ) was 0.504 5 μg/mL. The average recovery of BHT was 97.85% with an RSD of 1.18% ($n=6$). The highest content of BHT in medicinal rubber stopper was 64.19 μg/g, the highest migration amount of antioxidant BHT in the drug was 14.60 μg/g. **Conclusion** The method was simple and accurate with high sensitivity and good repeatability, which can be used for the content determination of BHT in medicinal rubber stopper and the study of migration.

Key words: gas chromatography; medicinal rubber stopper; 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol; migration; content determination

药用胶塞多采用卤化丁基胶塞,具有良好的稳定性、耐热性、生物性能等优点,广泛用于药品包装材料中。胶塞在生产过程中会加入某些抗氧化剂,以延缓或抑制橡胶制品的老化,延长使用寿命^[1-3]。在药品贮存过程中,药品胶塞中部分化学物质可能会缓慢释放,被药物吸附,胶塞与药物相容,影响药品质量,对人体健康造成潜在危害^[4-5]。据报道,药用胶塞中的抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)会对头孢类注射剂溶液的澄清度造成影响^[6-7]。目前,其测定方法主要有高效液相色谱法^[8-9]、液相色谱-质谱联用法^[10-11]和气相色谱-质谱联用法^[12-13]。液相色谱法中多以二氯甲

烷作为提取溶剂,毒性较大,而与质谱联用法的检测成本较高。本研究中采用气相色谱法测定注射用无菌粉末用溴化丁基橡胶塞中抗氧化剂BHT的含量,以及其在头孢类注射剂中的迁移情况。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

GC-2010 Plus型气相色谱仪(日本Shimadzu公司); XPE205型电子天平(瑞士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); Multifuge X1R型高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技<中国>有限公司)。

*基金项目:重庆市药品、医疗器械、化妆品安全专项监测项目[渝食药监[2018]60号]。

第一作者:吴红洋,女,硕士,工程师,研究方向为药包材相容性,(电话)023-86072759(电子信箱)why751224021@163.com。

△通信作者:范能全,男,硕士,正高级工程师,研究方向为药包材相容性与新药药理学,(电话)023-86067359(电子信箱)fan-nqcq@163.com。

1.2 试药

BHT标准品(CAS号为128-37-0, Aladdin公司, 批号为B1926023, 纯度>99.7%); 乙酸乙酯(色谱纯, Macklin公司, 批号为C11232679); 注射用无菌粉末用溴化丁基橡胶塞(简称胶塞, 湖北华强科技有限责任公司, 批号为B2-201915); 注射用头孢米诺钠(北大医药股份有限公司, 编号为B306); 注射用头孢美唑钠(重庆药友制药有限责任公司, 编号为B901); 注射用头孢他啶(福安药业集团庆余堂制药有限公司, 编号为B301); 注射用头孢米诺钠(重庆天地药业有限责任公司, 编号为B401); 注射用盐酸头孢替安(重庆圣华曦药业股份有限公司, 编号为B404); 注射用头孢曲松钠(重庆科瑞制药集团有限公司, 编号为B005); 注射用头孢唑肟钠(西南药业股份有限公司, 编号为B043)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: DB-Waxetr毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 1.00 μm); 载气: N₂; 进样量: 1 μL; 流速: 2.0 mL/min; 分流比: 20:1; 柱温: 采用程序升温, 80℃保持5 min, 以60℃/min的速率升至180℃并保持6 min, 以相同的速率升至230℃并保持2 min; 气化室温度: 220℃; 检测器: 火焰离子化检测器, 温度为250℃。在此色谱条件下的色谱图见图1。可见, 空白溶剂和样品基质对BHT的测定结果均无干扰, BHT在11.281 min时能得到较好分离。

2.2 溶液制备

标准溶液: 取BHT对照品0.02530 g, 精密称定, 置25 mL容量瓶中, 加无水乙醇溶解并定容, 精密移取5 mL, 置50 mL容量瓶中, 加乙酸乙酯溶解并定容, 制成每1 mL含BHT 100.90 μg的对照品中间贮备溶液。

胶塞提取溶液: 取胶塞1.0102 g, 精密称定, 剪碎, 置具塞刻度试管中, 加入适量乙酸乙酯溶解, 超声[功率

为500 W, 频率为40 kHz, 温度为(25 ± 2)℃]提取30 min, 转移至25 mL容量瓶中, 用乙酸乙酯反复洗涤3次, 合并提取液, 定容, 用0.22 μm有机滤膜滤过, 即得。

迁移样品溶液: 取迁移样品1瓶, 加0.9%氯化钠注射液5 mL, 溶解, 加入适量乙酸乙酯, 溶解, 涡旋混匀1 min后离心处理(转速为4 000 r/min)10 min, 将上清液转移至10 mL容量瓶中, 用乙酸乙酯洗涤1次, 合并提取液, 定容, 用0.22 μm有机滤膜滤过, 即得。

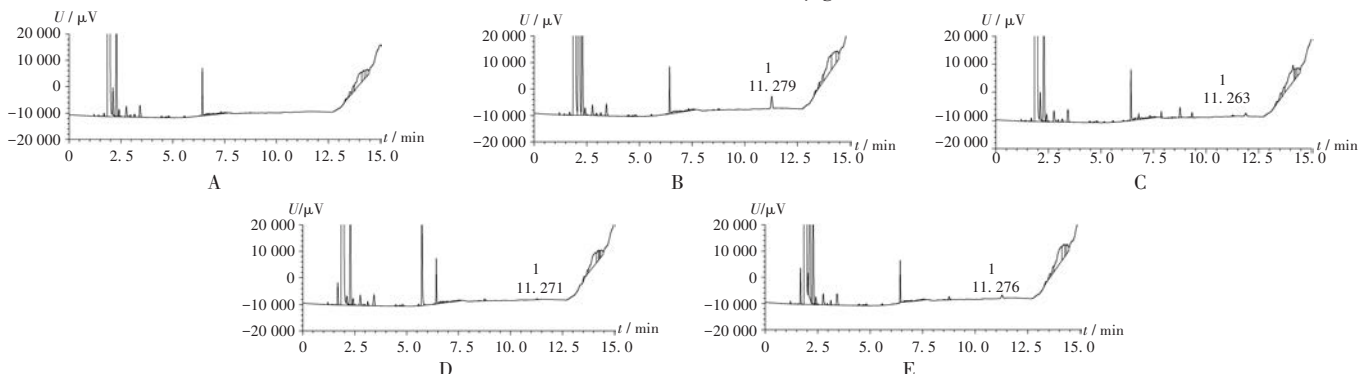
迁移样品加标溶液: 取迁移样品(编号为B306)9瓶, 分别加入0.9%氯化钠注射液5 mL, 溶解, 其中3份作为样品本底, 其余6份均加入质量浓度为100.90 μg/mL的对照品中间贮备液0.1 mL, 加入适量乙酸乙酯, 溶解, 涡旋混匀1 min后离心(转速为4 000 r/min)10 min, 取上清液, 转移至10 mL容量瓶中, 用乙酸乙酯洗涤1次, 合并提取液, 定容, 用0.22 μm有机滤膜滤过, 即得。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 分别精密移取对照品中间贮备溶液适量, 加乙酸乙酯配制制成每1 mL含对照品质量浓度分别为0.5045, 1.0090, 2.0180, 5.0450, 10.0900, 20.1800, 50.4500 μg的系列标准溶液。依法进样测定, 以进样质量浓度(X, μg/mL)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得BHT回归方程 $Y = 1\,014.84X - 126.939$ ($r = 1.000\,0, n = 7$), 表明BHT质量浓度在0.5045 ~ 50.4500 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限确定: 将对照品中间贮备溶液逐级稀释, 按2.1项下色谱条件进样测定, 以信噪比(S/N)为3:1时的质量浓度为检测限, S/N为10:1时的质量浓度为定量限。结果方法的检测限为0.2018 μg/mL, 定量限为0.5045 μg/mL。

精密度试验: 取线性关系考察项下质量浓度为5.0450 μg/mL的标准溶液, 分别连续进样测定6次。



1. BHT

A. 空白溶剂 B. 对照品溶液 C. 胶塞提取溶液 D. 迁移样品溶液 E. 迁移样品加标溶液

图1 气相色谱图

1. BHT

A. Blank solvent B. Reference solution C. Extraction solution of rubber stopper D. Migration sample solution E. Migration sample spiked solution

Fig. 1 GC chromatograms

结果对照品溶液峰面积的 RSD 为1.44%($n=6$),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5.045 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液,分别于0,3,6,10,19,28 h时进样测定。结果BHT峰面积的 RSD 均小于1.72%($n=6$),表明对照品溶液在28 h内稳定性良好。

加样回收试验:按2.2项下方法制备迁移样品加标溶液,按2.1项下色谱条件进样分析,并计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)
Tab.1 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
10.07	10.09	19.95	97.92	97.85	1.18
10.07	10.09	19.92	97.62		
10.07	10.09	19.84	96.83		
10.07	10.09	20.15	99.90		
10.07	10.09	19.83	96.73		
10.07	10.09	19.97	98.12		

2.4 样品含量测定

取2.2项下胶塞提取溶液与迁移样品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以外标法计算BHT的含量。结果见表2。

表2 药用胶塞中BHT含量和各批头孢类注射剂中BHT迁移量测定结果($\mu\text{g}/\text{g}$)

Tab.2 Results of determination of BHT content in medicinal rubber stopper and BHT migration in each batch of cephalosporins injection($\mu\text{g}/\text{g}$)

编号	迁移样品	胶塞	编号	迁移样品	胶塞
B306	4.90	51.49	B404	ND	ND
B901	ND	ND	B005	4.45	ND
B301	14.60	64.19	B043	ND	ND
B401	ND	ND			

注:ND为未检出。

Note:ND indicates that BHT is not detected.

3 讨论

3.1 前处理条件优化

曾以色谱纯乙酸乙酯和无水乙醇作为提取溶剂,提取方式包括振荡提取、超声提取和微波萃取,提取时间选择10,20,30,40 min。结果表明,以乙酸乙酯作为提取溶剂,超声提取30 min(温度低于20 $^{\circ}\text{C}$),对样品进行前处理,样品中BHT提取效果最好,回收率较高,且该前处理选择的提取溶剂毒性较小,操作简单、快速。

3.2 色谱条件优化

曾选用DB-5和DB-WAX色谱柱,以BHT在毛细管柱上的保留性、分离度、峰形为判断依据,通过优

化升温程序、流速、气化室温度等仪器参数。最终在优化后的色谱条件下,BHT在11.281 min时可得到有效分离,且目标物质附近无杂质干扰,该方法能满足系统适用性试验要求,测定结果准确。

3.3 安全性评价

《欧洲药典(7.0版)》要求塑料包装材料中的BHT添加限度不得超过0.125%^[14],美国食品药品监督管理局批准药物非活性成分数据库规定静脉注射类抗氧化剂BHT最大用量为0.002%^[15]。本试验中胶塞和药品(注射用头孢他啶,编号为B301)中BHT最高含量分别为0.006%和0.001%,均在规定的限度范围内。但随着加速试验的进行,该药品BHT迁移量可能会增加,存在一定安全隐患,应加强对BHT含量的控制。

3.4 方法评价

本方法前处理简单、快速,灵敏度和准确度均较高,重复性良好,应用范围较广,可用于药用胶塞中BHT的含量及在药品中迁移量的测定,同时可为后续研究头孢类注射剂澄清度的影响因素提供参考。

参考文献

[1] 冯 靖,蔡心怡,刘 言. 药用丁基胶塞中抗氧化剂——BHT和硫化剂——可提取硫的测定[J]. 药物分析杂志, 2017,37(4):702-706.

[2] 姜 源,程福军. 注射液用氯化丁基胶塞中的抗氧化剂的测定和迁移测定[J]. 黑龙江医药,2016,29(3):436-439.

[3] 浦雨伟,崔 萍,吴 娟,等. 药用丁基胶塞中抗氧化剂264、1010、5057迁移研究[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2231-2240.

[4] 蒲小聪,陈 蕊,游延军. HPLC法测定胶塞中抗氧化剂1076向米卡芬净注射液中的迁移[J]. 药物分析杂志,2017,37(7):1298-1303.

[5] 李春焕,薛维丽,邢 晟,等. 高效液相色谱法检测溴化丁基胶塞中11种抗氧化剂及游离硫的浸出量及迁移量[J]. 分析实验室,2020,39(1):91-96.

[6] 刘成红,魏立平,罗小茹,等. 注射用盐酸头孢替安与胶塞相容性研究[J]. 药物评价研究,2014,37(5):420-423.

[7] 崇小萌,董 欣,姚尚辰,等. 头孢唑林钠与胶塞相容性关系的探讨[J]. 中国抗生素杂志,2019,44(8):942-945.

[8] 饶艳春,左军凤,熊马建,等. 胶塞中抗氧化剂测定及其在药品中的迁移研究[J]. 中国药物评价,2020,37(5):380-383.

[9] 朱碧君,李婷婷,孙会敏,等. HPLC法同时测定药用氯化丁基胶塞中5种抗氧化剂和游离硫的含量[J]. 中国药房,2018,29(18):2475-2479.

[10] 王 丽,赵 锐,田恩圣,等. 35批次头孢类抗生素注射用粉针丁基胶塞中游离硫及常见抗氧化剂的迁移研究[J]. 药物分析杂志,2020,40(11):2033-2041.

[11] 胡 佩,崔 萍,杜 云. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测药包9种抗氧化剂含量[J]. 塑料包装,2020,30(4):62-65.

[12] 张智力,齐永润,周婉茹,等. 气相色谱质谱联用法快速测定食品用塑料袋中3种抗氧化剂[J]. 塑料工业,2020,48(11):119-123.