

HPLC-ELSD 测定莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量

唐登峰¹, 祝明^{1*}, 陈碧莲¹, 郑成¹, 张鹏², 方丽²(1.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 用 HPLC-ELSD 测定莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量。方法 色谱柱: TSK-GEL G2000 SWXL 柱(7.8 mm×300 mm, 5 μm), 流动相: 20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-乙腈(90:10); 流速为 0.6 mL·min⁻¹; ELSD 条件: 漂移管(气化室)温度 103 ℃, 氮气流速 2.3 L·min⁻¹。结果 该测定方法线性范围为: 2.259~28.235 μg, 线性关系良好($r=0.9978$); 加样回收率为 102.5%($n=6$, RSD=1.73%); 重复性试验的 RSD 为 0.60%($n=6$)。结论 本方法快速、准确、稳定, 可用于莪术油注射液中聚山梨酯 80 的质量控制。

关键词: 莪术油注射液; 高效液相色谱-蒸发光散射检测法; 聚山梨酯 80; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)05-0462-04

Determination of Polysorbate 80 in the Zedoary Turmeric Oil Injection by HPLC-ELSD

TANG Dengfeng¹, ZHU Ming^{1*}, CHEN Bilian¹, ZHENG Cheng¹, ZHANG Peng², FANG Li²(1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC-ELSD method for the determination of polysorbate 80 in the Zedoary turmeric oil injection. **METHODS** The column was TSK-GEL G2000 SWXL(7.8 mm×300 mm, 5 μm). The mobile phase was 20 mmol·L⁻¹ ammonium acetate-acetonitrile (90:10) at the flow rate of 0.6 mL·min⁻¹. The drift tube temperature was 103 ℃, and the gas flow rate of nitrogen was 2.3 L·min⁻¹. **RESULTS** The polysorbate 80 has good linearity in the range of 2.259~28.235 μg($r=0.9978$). The average recovery was 102.5%($n=6$, RSD=1.73%), repeatability experiments showed that RSD($n=6$) was 0.60%. **CONCLUSION** The method is rapid, accurate, stable, and can be used to determinate polysorbate 80 in the Zedoary turmeric oil injection.

KEY WORDS: Zedoary turmeric oil injection; HPLC-ELSD; polysorbate 80; content determination

莪术油注射液为莪术油与适宜增溶剂制成的灭菌水溶液, 作为抗病毒药已被收入中国药典^{[1]591}, 临床上主要用于治疗各种病毒性疾病, 疗效显著。近年来, 随着莪术油注射液在临床的广泛应用, 关于其临床不良反应的报道也逐渐增多^[2-5], 其临床应用的安全性日益引起关注。现有的莪术油注射液多选用聚山梨酯 80 作为增溶剂, 国外曾有报道^[6]聚山梨酯 80 导致严重的过敏反应, 也可能产生呼吸困难、恶心、呕吐、皮疹等

不良反应。因此, 测定莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量, 可以为临床安全使用提供重要参考, 并且为该品种质量评价提供科学依据。

虽然关于聚山梨酯 80 的含量测定已有一定的文献报道^[7-11], 但是莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量测定方法尚未见报道。由于不同处方、工艺对聚山梨酯 80 的含量测定有较大影响, 故本试验对莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量测定方法进行研究, 建立了它的含量测定方法。该方法方

作者简介: 唐登峰, 男, 硕士, 副主任中药师 Tel: (0571)86459414
任药师 Tel: (0571)86459425 E-mail: zhumingd@hotmail.com

E-mail: dengfengtang@hotmail.com

*通信作者: 祝明, 女, 主

便、快捷,经方法学验证符合要求,可用于测定莪术油注射液中聚山梨酯 80 的含量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),包括 G1314A 紫外检测器,Alltech ELSD 2000 检测器。

聚山梨酯 80 对照品(符合欧洲药典标准, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 批号: 1390440 5170P01, 纯度: 100%); 莪术油注射液样品(规格均为: 10 mL, 莪术油 0.1 g, 为市售 8 个厂家的 30 批产品, 批号见表 2), 方法学考察选用企业 8 的莪术油注射液(批号: 0808162), 乙腈、四氢呋喃和异丙醇均为色谱纯, 购自德国 Merck 公司, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: TSK-GEL G2000 SWXL 柱(7.8 mm×300 mm, 5 μm); 流动相: 20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-乙腈(90:10), 柱温: 30 °C, 流速: 0.6 mL·min⁻¹; ELSD 条件: 漂移管温度 103 °C, 氮气流速 2.3 L·min⁻¹; 进样量: 5 μL。在此条件下样品中的聚山梨酯 80 与其他组分能达到基线分离, 见图 1。

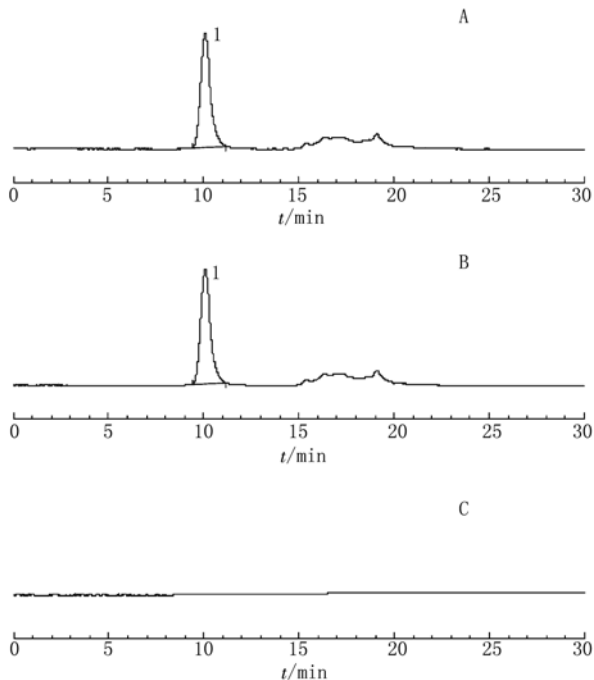


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性样品; 1-聚山梨酯 80

Fig 1 HPLC chromatograms

A-reference; B-sample; C-negative control solution; 1-polysorbate 80

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取聚山梨酯 80 对照品 112.94 mg, 加无水乙醇制成 1.0 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。置 100 mL 棕色量瓶中, 加入无水乙醇溶解并稀释至刻度, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取莪术油注射液 1.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 离心取上清液, 即得。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25 μL, 分别注入色谱仪, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以聚山梨酯 80 进样量的常用对数值(X, ng)为横坐标, 峰面积的常用对数值(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程: $Y=0.719\ 2X+3.627$, $r=0.997\ 8$; 结果表明: 聚山梨酯 80 在 2.259~28.235 μg 内线性关系良好。

2.4 精密度试验

2.4.1 仪器精密度试验 精密吸取聚山梨酯 80 对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果聚山梨酯 80 峰面积常用对数值的 RSD=0.39%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 精密量取莪术油注射液 1 mL, 共 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 测定峰面积并计算含量和 RSD, 结果含量为: 99.43 mg·mL⁻¹, RSD=0.60%(n=6)。

2.5 加样回收率试验

精密量取已知含量的莪术油注射液 1 mL, 按各成分原有量精密加入对照品溶液, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 测定峰面积并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Determination results of recovery test(n=6)

原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率%	RSD/ %
49.72	46.76	97.18	101.5	102.5	1.73
49.72	46.76	96.58	100.2		
49.72	46.76	98.12	103.5		
49.72	46.76	97.05	101.2		
49.72	46.76	98.36	104.0		
49.72	46.76	98.62	104.6		

2.6 稳定性试验

分别精密量取“2.2.2”项下供试品溶液, 依

“2.1”项下色谱条件,于0,1,2,4,12,24 h 分别进样,测得24 h 内峰面积的RSD 为0.34%($n=6$)。结果表明,供试品溶液在室温下放置24 h 保持稳定。

2.7 耐用性试验

2.7.1 流动相的选择 通过试验比较以下流动相:20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵、20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-四氢呋喃(85:15)、20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-四氢呋喃-异丙醇(80:10:10)和 20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-乙腈(90:10),结果供试液中聚山梨酯 80 均能得到较好分离,综合考虑色谱柱、仪器耐受性等情况,最终确定以20 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-乙腈(90:10)为流动相。

2.7.2 色谱柱 考察了样品在 Phenomenex BioSep-SEC-S2000 色谱柱(7.8 mm×300 mm, 5 μm) 上的分离情况,与 TSK-GEL G2000 SWXL 色谱柱(7.8 mm×300 mm, 5 μm)进行比较,结果表明:样品在此两种色谱柱上均能得到很好的分离。

2.7.3 色谱仪 比较了 Agilent 公司(配备 Alltech ELSD 2000 检测器)和 Waters 公司(配备 Waters 2420 ELSD 检测器)的仪器,结果样品在两个公司的仪器上均能得到很好的分离。

2.8 样品测定

分别精密吸取对照品溶液 5, 15 μL, 供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪,测定,以外标两点法对方程计算样品中聚山梨酯 80 的含量。测得 8 家企业的 30 批莪术油注射液中聚山梨酯 80 含量,结果见表 2。

3 讨论

本试验首次以 HPLC 测定莪术油注射液中聚山梨酯 80 含量,对方法耐用性、精密度、准确度、线性等,进行了全面考察,结果表明:本方法灵敏可靠、重复性好,可用于测量莪术油注射液中聚山梨酯 80 含量。

本试验测定了 30 个市售批次的莪术油注射液中聚山梨酯 80 含量,结果显示:含量在 4.7%~15.3%之间。可见不同企业莪术油注射液中聚山梨酯 80 用量相差很大,由于增溶剂的用量未在处方中明确标出,使得不同企业该品种存在着较大的质量差异。因此,提醒临床应用更换生产厂家时,需要密切注意应用安全。

聚山梨酯 80 是一种非离子型表面活性剂,在中药注射剂中应用较为广泛,目前有较多的临床

表 2 莪术油注射液聚山梨酯 80 测定结果($n=2$)

Tab 2 Measured value of polysorbate 80 in the Zedoary turmeric oil injection($n=2$)

厂家	批号	含量/%	厂家	批号	含量/%
企业 1	080711-4	9.0	企业 6	080728	4.8
	090118-4	9.1		080729	4.7
	090118-1	9.0		090508	4.8
	090119-1	9.5	企业 7	080801B	10.8
企业 2	090201	10.5	企业 8	0808072	10.1
	081101	11.1		0903212	10.1
	090401	10.7		0803082	10.1
企业 3	0805023	12.3		0811072	10.2
	0801014	11.7		0811082	9.9
	0805022	12.3		0811012	9.7
	0901012	11.3		0806142	10.0
企业 4	20080329	15.1		0812272	10.0
	20081130	15.3		0904112	9.2
企业 5	20080403	15.1		0810182	9.9
	20080908	14.7		0808162	9.9

安全性问题报道^[12-13],主要有:生殖与发育毒性、急性超敏反应、外周神经毒性、抑制 P-糖蛋白活性、内在抗肿瘤效应和肝毒性等,并且不良反应强弱与聚山梨酯 80 的浓度有关^[14]。由于现行聚山梨酯 80 标准^{[1]918}中没有含量测定指标,并且本品在相关注射液中用量较大,故建议在相关注射液标准中表明聚山梨酯 80 用量,增加聚山梨酯 80 含量测定检查项目,对其进行质量控制,减少临床使用时不良反应的发生,保障用药安全。

REFERENCES

[1] Ch.P(2005) Vol II(中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 591-592; 918.

[2] LIU J X, ZHANG H X, XU B, et al. Analysis on 81 adverse drug reaction case reports of the Zedoary turmeric oil injection. [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2007, 21(4): 285-286.

[3] LI X K, LIN H Q, PAN J C, et al. Prevention and treatment of adverse reactions caused by Zedoary turmeric oil glucose injection [J]. Adverse Drug React J(药物不良反应杂志), 2005, 7(5): 348-350.

[4] XIONG W, GUO L M. Analysis on 33 adverse drug reaction case reports of the Zedoary turmeric oil(glucose) injection [J]. Guide Chin Med(中国医药指南), 2008, 6(23): 411-412.

[5] ZHENG H J, YE J Y. Documentary analysis on 107 ADR cases caused by Zedoary turmeric oil glucose injection [J]. J Pharm Org(药事组织), 2007, 16(3): 42-43.

[6] SHELLRY W B, TALANIN N, SHELLRY E D. Polysorbate 80 hyper-sensitivity [J]. Lancet, 1995, 35(5): 1312.

- [7] LIU Y M, PU X F, ZHANG L, et al. Determination of polysorbate 80 in Yuxingcao injection [J]. Drug standard China(中国药品标准), 2008, 9(6): 434-437.
- [8] WU Y, LIANG C G, JIN S H, et al. SEC-ELSD determination of polysorbate 80 in Chinese medicine injections [J]. Chin Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(1): 12-15.
- [9] NAIR L M, STEPHENS N V, VINCENT S, et al. Determination of polysorbate 80 in parenteral formulations by high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection [J]. J Chromatogr A, 2003, 1012(1): 81-86.
- [10] HU M, NICULESCU M, ZHANG X M, et al. High-performance liquid chromatographic determination of polysorbate 80 in pharmaceutical suspensions [J]. J Chromatogr A, 2003, 984(2): 233-236.
- [11] TANI T H, MOORE J M, PATAPOFF T W, et al. Single step method for the accurate concentration determination of polysorbate 80 [J]. J Chromatogr A, 1997, 786(1): 99-106.
- [12] WANG Q L, PENG J. Progress of security research of Tween 80 [J]. J Toxicol(毒理学杂志), 2006, 20(8): 262-264.
- [13] WU Y, JIN S H. Progress of pharmacological properties, pharmacokinetics properties and analytical method of pharmaceutical adjuvant Tween 80 [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2008, 22(8): 717-720.
- [14] LIU Y M, PU X F, LEI L, et al. Experimental study on adverse reaction by intravenous Yuxingcao injection II. Allergy resrarch for Guinea pigs [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2008, 24(2): 61-63.
- 收稿日期: 2010-07-27