

岛津生物兼容液相 Nexera Bio 联合蒸发光散射检测器测定抗体药物中吐温 80 的含量

LC-263

摘要： 本文采用岛津生物兼容液相 Nexera Bio，建立了抗体药物中吐温 80 含量测定的方法。该方法中，吐温 80 在 50~1000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好，相关系数为 0.9947。精密度实验中，吐温 80 的保留时间 RSD% 为 0.05%，峰面积 RSD% 为 2.49%。实验结果表明，该方法能快速准确地测定吐温 80 的含量。

关键词： Nexera Bio 吐温 80 蒸发光散射检测器

吐温 80 又称聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯，简称聚山梨酯-80，具有优良的乳化、分散、润湿等性能，在食品、医药等行业应用非常广泛，可用作乳化剂、润湿剂等，也用作某些水中难溶药物的增溶剂，避免少量难溶性成分的析出。

抗体药物中吐温 80 的加入，能降低搅动、摇晃、冻融等过程中蛋白聚集，也可防止蛋白被吸附到容器表面等。在抗体药物制剂中加入吐温 80 同时也不能忽视其可能带来的毒副作用。吐温 80 是亲水性的表面活性剂，具有很强的破裂细胞膜的作用而引起刺激性，溶血性和组胺释放（致敏性）。吐温 80 作为一个聚合物本身纯度波动极大，高纯度的吐温 80 是无色透明的，

而大多数吐温产品则是微黄到棕色，含有大量杂质或降解产品。吐温 80 中亲脂成分包括饱和脂肪酸、这些饱和脂肪酸成分容易降解而产生更多的有毒成分，由此而产生的毒副反应将会超过产品本身带来的益处。因此，使用吐温 80 是有严格限制条件的，它是一种有潜在不安全性的辅料，使用不当会对人的健康造成很大的影响。因此建立抗体药物中吐温 80 的含量检测的方法对控制药物辅料安全性具有重要意义。

本实验使用生物兼容液相 Nexera Bio 联合蒸发光散射器（ELSD）建立了抗体药物中吐温 80 含量测定方法，该方法分析速度快，准确度高。

■ 实验部分

1.1 仪器

生物兼容液相系统 Nexera Bio，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20A

输液泵：LC-20AD XR

检测器：ELSD-LT II

自动进样器：SIL-20AC XR

脱气机：DGU-20A 3R

色谱工作站：Labsolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

色谱柱：ShimNex S-C18-SAA (150 \times 4.6 mm I.D., 5 μm , 岛津（上海）实验器材有限公司岛津, P/N: 380-01247-24)

流动相：A-1% 乙酸 - 水溶液；B-1% 乙酸 - 异丙醇溶液

进样体积：10 μL

流速：1.0 mL/min

漂移管温度：80 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 10%，时间程序如表 1 所示。

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

检测器：ELSD

雾化气：350 MPa

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B Conc	20
3.40	泵	B Conc	20
3.50	泵	B Conc	100
6.50	泵	B Conc	100
6.60	泵	B Conc	10
9.00	泵	B Conc	10

1.3 流动相和标准品配制

流动相 A: 取 10 mL 的乙酸于 990 mL 水中, 混匀, 超声脱气即得;

流动相 B: 取 10 mL 的乙酸于 990 mL 异丙醇中, 混匀, 超声脱气即得;

对照品储备液制备: 称取标准品 50.13 mg, 用水溶解稀释成 10 mg/mL;

利用对照品储备液配制线性标曲, 浓度分别为 50, 100, 200, 500, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 。

■ 结果与讨论

2.1 标准曲线

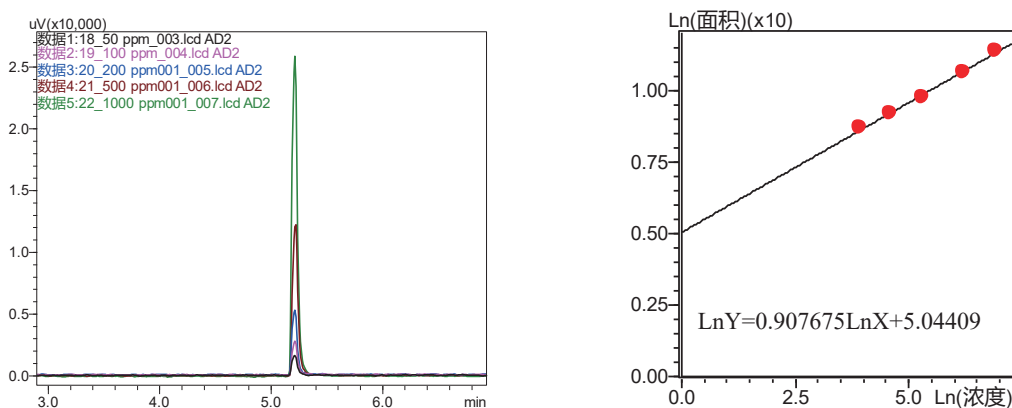


图 1 吐温 80 对照溶液 (50 ~1000 $\mu\text{g/mL}$) 图谱 (左) 和吐温 80 标准曲线 (右)

按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 采用外标法建立指数标准曲线, 结果如图 1 所示, 吐温 80 在 50-1000 $\mu\text{g/mL}$ 线性浓度范围内, 线性相关性良好, 相关系数为 0.9947, 准确度为 91.2~110.3%。

2.2 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定, 选择浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 的吐温对照品溶液分别连续进样测定 6 次。吐温 80 的保留时间 RSD% 为 0.05%; 峰面积 RSD% 为 2.49%, 结果见表 2 所示。实验结果表明, 生物兼容液相系统 Nexera Bio 具有良好的精密度。

表 2 吐温对照品溶液精密度实验结果 (n=6)

序号	保留时间 (min)	峰面积
1	5.22	6,198
2	5.217	5,913
3	5.217	6,063
4	5.214	5,868
5	5.218	5,782
6	5.222	5,983
平均值	5.218	5,968
RSD%	0.05	2.49

2.3 样品含量测定

将抗体药物制剂 T-1、T-2 直接进样分析，结果如表 4 所示。

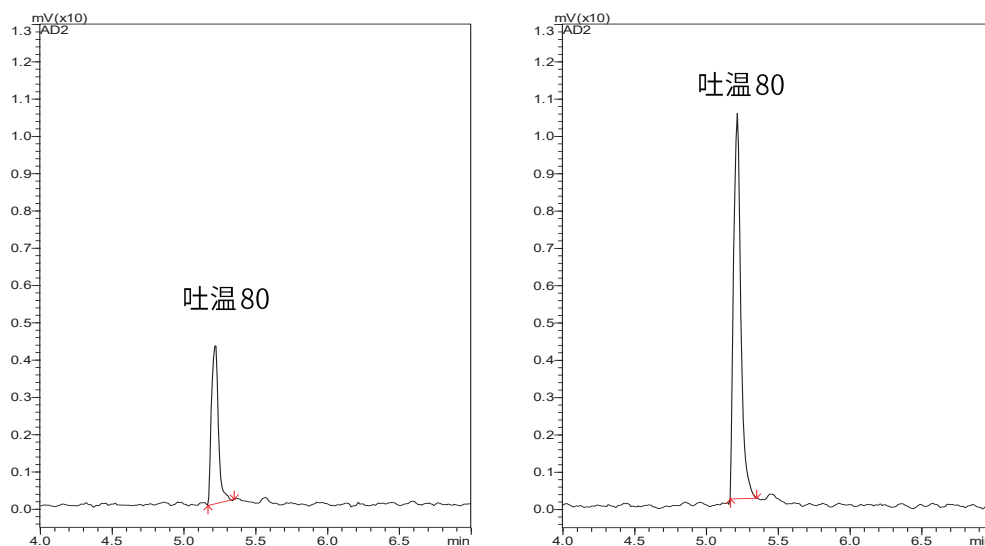


图 2 T-1 抗体制剂色谱图 (左) 和 T-2 抗体制剂色谱图 (右)

表 4 抗体药物制剂 T-1 和 T-2 中吐温 80 含量测定结果

药物	保留时间	峰面积	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
T-1	5.216	14147	144.3
T-2	5.221	36012	404.1

■ 结论

本实验使用岛津生物兼容液相系统 Nexera Bio 联合 ELSD 检测器，建立了抗体药物中吐温 80 的含量测定方法。结果表明，吐温 80 在 50~1000 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围内线性良好，相关系数为 0.9947。精密度实验中，连续进样 6 针，吐温 80 的保留时间 RSD 为 0.05%；峰面积 RSD 为 2.49%，仪器精密度良好。该实验方法分析速度快，准确性好。

岛津应用云

