

聚山梨脂 80 的化学稳定性研究进展

谭志高, 巢志茂*, 刘海萍, 王淳, 吴晓毅, 孙文
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 对聚山梨酯(吐温)80 及其配伍和制剂存在的化学不稳定性方面的研究进行了文献整理和分析。以吐温 80 为关键词,系统检索了到目前为止的 Pub Med, Wiley Online Library, Science, ScienceDirect, Highwire, Biomed Central, CNKI 等国内外多个数据库,引用 35 篇相关的参考文献,按有机化学反应的分类进行综述。结果表明吐温 80 体现在不稳定方面的化学性质包括水解反应、络合反应、自氧化反应、聚合反应、光降解反应和其他尚不明确的现象。在制备含有吐温 80 的注射液时应充分考虑到吐温 80 和药物成分可能的相互作用,充分考虑到从原料选取到临床使用多个环节的过程和条件,防止不稳定现象的发生,以期研制出安全和稳定的含有吐温 80 的注射制剂。

[关键词] 吐温 80; 化学性质; 稳定性; 安全性; 注射液

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0251-04

Progress of Study on Chemical Stability of Polysorbate 80

TAN Zhi-gao, CHAO Zhi-mao*, LIU Hai-ping, WANG Chun, WU Xiao-yi, SUN Wen

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] To carry out the literature arrangement and analysis about chemical instability of Tween-80 (polysorbate 80) and its compatibility and preparation. We took Tween-80 as a keyword, indexed systematically some databases of PubMed, Wiley Online Library, Science, ScienceDirect, Highwire, Biomed Central, and CNKI up to now, picked up 35 related references, and summarized according to the kinds of organic reaction. The organic reactions, giving expression to the unstable property of Tween-80, included hydrolysis, complexation, autoxidation, polymerization, photodegeneration, and an undefined reaction. When the injection containing Tween-80 is researched and developed, the probable interaction of Tween-80 and medicinal molecule and the procedure and condition of all links from raw material choice to clinical usage should be considered thoroughly. We should prevent the appearance of any unstable phenomena and prepare safe and stable injection preparation containing Tween-80.

[Key words] Tween-80; chemical property; stability; safety; injection

吐温 80(Tween 80)又名聚山梨酯 80,化学名聚氧乙烯 20 山梨醇酐单油酸酯,属混合物,平均相对分子质量 1 309.68,以失水山梨醇为骨架,侧链连接具有亲水特性的 3

个氧乙烯链、1 个具有亲脂特性的脂肪链^[1-2]。吐温 80 属于两亲型非离子表面活性剂,能与水、甲醇、乙醇、氯仿、乙酸乙酯相混溶,为药物制剂中常用的辅料之一,可用作增溶剂、稳定剂、乳化剂、分散剂等,可用于制备乳剂、乳膏、芳香水剂、合剂、洗剂、栓剂、注射剂、滴眼剂及眼膏等,广泛用于医药、食品、化妆品、印染等工业。临床上使用含有以吐温 80 为增溶性辅料的鱼腥草注射液等中药注射制剂,曾出现了严重的过敏反应,人们更多地把原因归于吐温 80。一方面,国内外的研究机构已经证实,吐温 80 本身具有一定的刺激性和溶血毒性,且过敏反应强度与吐温 80 的剂量、浓度、给药速率呈相关性,降低吐温 80 的浓度和剂量可以降低或避免不良反应的发生;另一方面,吐温 80 含有较多的毒性杂质,也被证明与过敏反应存在一定相关性^[3-7]。除此之外,作者还认

[收稿日期] 20110731(006)

[基金项目] 留学回国人员科技活动择优项目(国人厅发[2006]164号;国中医药研 2006LHR06号;人社厅函[2010]412号)

[第一作者] 谭志高,在读研究生,从事中药质量标准研究, E-mail: tanzhigao010@yahoo.com.cn

[通讯作者] *巢志茂,研究员,博士生导师, Tel: 010-64014411-2869, Fax: 010-64013996, E-mail: chaozhimao@yahoo.com.cn

为,吐温 80 本身的不稳定性也是需要引起高度重视的,因为在一定的条件下,吐温 80 会发生降解或与配伍的药物发生化学反应,可能引起药物成分变化甚至产生有毒有害的物质。本文就前人对吐温 80 在化学稳定性方面的研究进展进行了介绍。

1 吐温 80 的水解反应

1.1 吐温 80 的水(醇)解性质 吐温 80 亲水链含有酯键,在酸或碱的催化下能够发生水解反应,碱催化的水解反应不可逆,生成羧酸盐和相应的醇;酸催化水解为可逆反应,反应较慢,可生成相应的醇和羧酸;在碱性醇溶液中,可发生醇解,即酯交换反应,生成新的酯和醇^[8]。

1.2 吐温 80 产品的水解反应 吐温 80 产品中含有一定比例的水。水可以导致吐温 80 发生水解降解并引起酯键的断裂^[7]。不过,吐温 80 产品中同时含有的一定量的双、三油酸酯杂质,能够抑制吐温 80 因水发生的水解降解。发生水解降解后的吐温 80,在酯键断裂的同时也就失去了表面活性剂和形成胶束的能力^[9]。

1.3 增溶体系的温度和酸碱度对吐温 80 水解的影响 工业生产上,含有吐温 80 的注射液经灭菌后 pH 会降低,进而影响到注射液的质量控制。研究认为,灭菌过程的高温会使酯键的水解反应加速,导致注射液中的油酸含量增加,pH 降低;且注射液原 pH 越高,水解程度越大,pH 下降越多^[10]。不同试验因子条件下吐温 80 增溶液的水解测定研究结果认为,聚氧乙烯蓖麻油类与吐温 80 于水溶液胶团状态下呈伪一级反应水解,该水解反应受特殊酸碱的催化,在 pH 6 时最稳定,pH 偏离 7 越多,水解程度越大^[11-12]。可见,低温和合适的 pH 是吐温 80 溶液稳定的必要条件。

1.4 被增溶物质对吐温 80 水解的影响 难溶性药物维生素 E 被吐温 80 增溶后,二者的水解均明显加速,不过,增溶体系的离子强度、表面活性剂的初浓度、药物被增溶后存在胶团的部位对水解影响不大。因此在研究增溶液的稳定性时,不但要考虑增溶剂的稳定性和被增溶药物的稳定性,难溶性药物与增溶剂的相互作用以及对增溶液稳定性的影响也应得到充分考虑^[11-12]。

1.5 吐温 80 的生物酶介导水解 吐温 80 在生物体血液内能够快速被羧酸酶介导水解^[13],在自然环境中可以被微生物分解,其降解机制比较复杂,通常认为是酶参与或酶催化的降解反应^[14]。

2 吐温 80 的络合反应

2.1 吐温 80 本身的结构性质 吐温 80 亲水链含有醇羟基和多数醚氧基,容易与水、醇、(酚)酸、酰胺等形成氢键,这也是吐温 80 亲水及助(增)溶的机制所在^[15]。

2.2 关于“起昙现象”和“昙点” 吐温 80 增溶液在温度升高到一定程度时会出现浑浊,即药剂学上所谓的“起昙现象”,此时的温度被称作“昙点”。起昙现象是由于溶液中吐温 80 与水之间形成的氢键发生断裂,引起吐温 80 溶解度急剧下降而析出的缘故^[16]。抑菌剂苯甲醇的加入会降低吐温 80 溶液的昙点,即使接近室温,吐温 80 溶液也会出现浑浊,

建议控制苯甲醇的使用浓度^[17]。处于昙点温度以上的制剂,增溶效果或乳化能力相应下降,可能是被增溶的药物析出或乳剂被破坏;温度降低后,有些制剂可以恢复原状,有些则难以恢复。这是含有此类表面活性剂的药物制剂在灭菌过程中需要注意的质量问题^[15]。

2.3 吐温 80 与抗氧化剂形成络合物 在研究易氧化药物维生素 D 在乳状液中的稳定性时发现,乳化剂吐温 80 与抗氧化剂没食子酸丙酯能够相互作用生成油状物,分析认为该油状物为吐温 80 的醚氧基与没食子酸丙酯的酚羟基通过氢键形成了络合物;该络合物的形成和析出,既破坏了药剂的均匀性,降低了两者的浓度,又进一步影响了吐温 80 与其他药物或附加剂之间的相互作用^[18]。

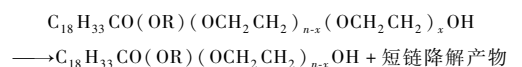
2.4 吐温 80 与增溶药物形成络合物 对于某些难溶药物,吐温 80 主要以形成胶束的方式起到增溶效果外,也可与其形成可溶性氢键络合物而达到助溶的效果。在对一些酸性物质与吐温 80 形成络合物的研究后认为,对羟基苯甲酸、乙酰水杨酸与吐温 80 存在较强的络合趋势而使他们在溶液中的溶解度大大降低^[19]。吐温 80 的聚氧乙烯基可与药液中的鞣质发生络合反应,导致沉淀的产生^[20]。鱼腥草注射液中,鱼腥草挥发油与吐温 80 产生了稳定的胶团电荷络合物,该络合物很可能是一种潜在的致敏物^[21]。这些络合现象是药物配伍或制剂工作中需要防止和避免的。

2.5 吐温 80 与显色剂形成络合物 吐温 80 可与显色剂麝香草酚蓝形成胶束络合物而被应用于胶束增溶光度法,有学者曾测定了二者在不同溶剂、不同 pH、不同浓度条件下形成胶束络合物的结合常数^[22]。

2.6 吐温 80 与染料形成络合物 吐温 80 在表面活性剂液-固相萃取法方面也有应用,常被用作萃取溶剂。有人利用吐温 80 与酸性染料铬天青 S (CAS) 形成 Tween 80-CAS 络合物来研究该萃取的机制,发现二者相互作用后,极性较大的铬天青 S 位于吐温 80 氧乙烯链的外围“栅栏”中^[23]。

3 吐温 80 的自氧化反应

3.1 吐温 80 的自氧化现象 吐温 80 中含有的聚氧乙烯链不稳定,在一定条件下尤其是在有氧环境中,非常容易发生自氧化降解反应,其反应过程比较复杂,大致反应如吐温 80 的自氧化降解反应简示^[24]:



其中:R 代表山梨醇酐环;n 是原先存在的氧乙烯数目;x 是自氧化后发生降解的氧乙烯基数。光照、温度、过渡金属元素、过氧化物都能诱导和促进自氧化反应的发生。发生降解反应的吐温 80 溶液中能够检测到多种短链降解产物,包括氢过氧化物、甲醛、甲酸、乙酸等。

3.2 对产品的影响 自氧化反应不仅导致吐温 80 中过氧化物的形成,而且产生的降解产物会改变吐温 80 的物理化学性质,如昙点、pH、表面张力等^[25]。

3.3 对配伍药物的影响 在生物制品中,吐温 80 既有良好的生物兼容性,又能有效防止蛋白质在滤过、转移、冷冻干

燥、储存、运输的过程中发生的物理损伤和表面吸附聚集,常被用作蛋白质药物的稳定剂^[24]。发生了自氧化的吐温 80,由于含有烷基氢过氧化物,会诱发蛋白药物 rhCNTF(重组人睫状神经营养因子)、rhNGF(神经生长因子)发生氧化,进而发生聚集,氧化速率与同浓度双氧水的诱导氧化速率相似^[26]。蛋白药物 rhG-CSF(重组人粒细胞集落刺激因子)的氧化度与稳定剂吐温 80 的氧化水平存在相关性^[27]。吐温 80 不仅能氧化 IL-2(白细胞介素)液体制剂,并且还能更大程度地氧化其固体制剂^[28]。所以易氧化的药物在使用吐温 80 时要特别小心。

3.4 对胶囊的影响 吐温 80 末端基团自氧化产生的甲醛,可与胶囊壳中的明胶蛋白分子发生交联,使胶囊剂内表面变性形成薄膜,从而降低胶囊中药物的溶出率^[29-30]。

3.5 对动物皮肤的影响 工业级纯度的吐温 80 在氧化前后都会对几内亚猪的皮肤产生刺激性而引发过敏,但其刺激性并非源自甲醛,而可能源自氧化后产生的新的致敏物^[31]。

4 吐温 80 与蛋白质药物的聚合反应

吐温 80 在蛋白药物中常被用作稳定剂,对蛋白质药物起到保护作用,但是保护机制尚不明确。研究发现,吐温 80 与促红细胞生成素发生了结合反应,生成了吐温 80-促红细胞生成素聚合物。吐温 80 单个分子而非吐温 80 胶团参与了结合反应,结合方式为 1~2 个吐温 80 分子结合在蛋白药物分子中 1 个或 2 个色氨酸的部位,结合反应是可逆的。吐温 80 与蛋白质药物的色氨酸基团结合后,影响该部位的水合作用,进而导致促红细胞生成素的二级和三级空间结构的变化,但是变化很细微,并没有导致蛋白药物的失活或功能改变。而吐温 20 等稳定剂与蛋白药物结合后则会导致三级螺旋结构发生伸展,由此从另一个角度证明了吐温 80 的毒性比吐温 20 低。研究结果还表明,吐温 80 对蛋白药物的保护特性并非由于其在蛋白药物分子表面形成的疏水环境或亲水环境,而是由于与蛋白药物表面疏水区域以一定比例特异性结合(聚合)后,防止了蛋白质分子之间发生的反应或吸附聚集^[32]。

5 吐温 80 的光降解反应

吐温 80 等表面活性剂在自然环境中能够发生光降解,其反应机制主要在于表面活性剂分子吸收光能变成激发态从而引发各种反应^[33]。光催化氧化降解在处理含有吐温 80 等大量非离子表面活性剂的印染工业废水方面有着非常好的发展前景^[34]。

6 其他反应

采用核磁共振氢谱检测技术研究了鱼腥草挥发油与吐温 80 混合前后的变化情况,发现当二者混合后,鱼腥草挥发油中原有的醛类化合物的含量显著降低,并产生了化学位移位于 8.3 左右的新的物质峰,但是其反应和形成的机制尚不明确^[35]。

7 结语和展望

在吐温 80 的化学结构中,存在酯键、醚键、双键、羟基等多个基团,这些化学基团的性质决定了吐温 80 化学性质的

基础。因此,我们可以从这些基团的化学性质考虑到吐温 80 的不稳定性。另外,吐温 80 作为一种试剂,还存在一定量的杂质,其中所含杂质的性质和含量也是我们在应用过程中应该考虑的问题。

吐温 80 因其良好的增溶性能,总体上具有较好的稳定性,结构上不易解离,不易受电解质和 pH 的影响,毒性、溶血性和生理活性较低等性质,使其在日常生活的诸多领域得以广泛应用。但是,吐温 80 的稳定性和安全性是相对的,我们不能忽视其不稳定和不安全的一面,尤其是在静脉注射等药物制剂方面的应用,需要更加审慎。为了获得更稳定安全的吐温 80 药物制剂,首先要保证吐温 80 试剂的质量,尽量去除其中的杂质,其次是合理的配伍,保证各个组分是相对稳定的,不致发生水解、降解、氧化、聚合、沉淀等不良反应,再次是保证适宜的有利于制剂稳定的外部条件,如温度、酸碱度、湿度、光照、隔绝空气、使用抗氧化剂等。就目前来讲,对于吐温 80 还有许多有待明确的方面,如自氧化反应的过程和机制、溶血毒性和药理活性的成分基础及作用机制,从分子化学角度深入研究吐温 80 及其制剂的稳定性和安全性是未来的发展趋势,吐温 80 与某类化合物或某些中药提取物的相互作用的问题也是需要认真研究的。

[参考文献]

- [1] Jamie T, Allan S. Empirical molecular modeling of suspension stabilisation with polysorbate 80 [J]. *Molecular Simulation*, 2008, 34(10/15):1353.
- [2] Fekete S, Ganzler K. Fast and sensitive determination of polysorbate 80 in solutions containing proteins[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(5): 672.
- [3] 刘婷. 鱼腥草注射液的致敏性研究[D]. 北京:中国中医科学院中药研究所,2010:4.
- [4] Sparreboom A, Zhao M, Julie R, et al. Determination of the docetaxel vehicle, polysorbate 80, in patient samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chrom B*, 2002, 773(2): 183.
- [5] 刘新露,潘训海,谯康全. 表面活性剂对红细胞膜的作用研究[J]. *四川理工学院学报:自然科学版*, 2007,20(4):96.
- [6] 张美玉,李连达. 鱼腥草注射液不良反应原因分析和对策[J]. *中药药理与临床*,2010,26(4):77.
- [7] 程欧,高鹏,涂家生,等. 吐温 80 质量与致敏性关系的研究[J]. *中国药科大学学报*,2010,41(3):244.
- [8] 吉卯祉. 有机化学[M]. 北京:科学出版社,2002:346.
- [9] Hewitt D, Alvarez M, Robinson K, et al. Mixed-mode and reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodologies to study composition and base hydrolysis of polysorbate 20 and 80[J]. *J Chrom A*, 2011, 1218(15):2138.
- [10] 徐芳. 温度对吐温 80 溶液 pH 的影响[J]. *中成药*,

- 1989, 11(7):46.
- [11] 刘崇悌,刘高峰. 增溶剂聚氧乙烯蓖麻油 EL-40 及吐温 80 稳定性的研究[J]. 北京大学学报:医学版, 1988, 20(4):289.
- [12] 刘崇悌,戚琳. 聚氧乙烯蓖麻油 EL-40、吐温 80 于维生素 D₂ 增溶体系中稳定性的研究[J]. 药学学报, 1987, 22(9):694.
- [13] Van T O, Beijnen J H, Verweij J, et al. Rapid esterase-sensitive breakdown of polysorbate 80 and its impact on the plasma pharmacokinetics of docetaxel and metabolites in mice [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(10):2918.
- [14] 郭睿,胡应燕,彭丽,等. 表面活性剂生物降解性能的研究进展[J]. 日用化学品科学, 2009, 32(8):20.
- [15] 张强,武凤兰. 药剂学[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2005:38.
- [16] 陈振江. 中药注射剂中吐温-80 的增溶机制及 CMC 测定[J]. 中成药, 1993, 15(6):8.
- [17] 钱传训. 在含吐温 80 的注射液苯甲醇的影响[J]. 国外医学:药学分册, 1976, 5(4):34.
- [18] 刘崇悌. 吐温 80 与抗氧剂没食子酸丙酯间相互作用的研究[J]. 药科学报, 1982, 17(2):154.
- [19] Sayed S A, Seymom M B. Interaction between polysorbate 80 and several drugs[J]. *Drug Standards*, 1960, 7(8):95.
- [20] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:518
- [21] 贺福元,邓凯文,唐昱,等. 鱼腥草及其制剂的药理与免疫毒理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(4):325.
- [22] 夏炳乐,李正根,金谷,等. 分光光度法研究麝香草酚蓝与吐温-80 的相互作用[J]. 分析化学, 2002, 30(5):638.
- [23] 金谷,阚家义,夏炳乐,等. 酸性染料与吐温-80 相互作用的研究[J]. 分析科学学报, 2001, 17(5):363.
- [24] Kerwin B A. Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways [J]. *J Pharm Sci*, 2008, 97(8):2924.
- [25] Donbrow M, Azaz E, Pillersdorf A. Autoxidation of polysorbates[J]. *J Pharm Sci*, 1978, 67(12):1676.
- [26] Knepp V M, Whatley J L, Muchnik A, et al. Identification of antioxidants for prevention of peroxide-mediated oxidation of recombinanthuman ciliary neurotrophic factor and recombinanthuman nerve growth factor[J]. *J Pharm Sci Technol*, 1996, 50(3):163.
- [27] Herman A C, Boone T C, Lu H S. Characterization, formulation, and stability of neupogen (filgrastim), a recombinant human granulocyte colony stimulating factor. // Pearlman R, Wang Y J. Formulation, characterization, and stability of protein drugs[C]. New York: Plenum Press, 1996:303.
- [28] Ha E, Wang W, Wang Y J. Peroxide formation in polysorbate 80 and protein stability[J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91(10):2252.
- [29] Chafetz L, Hong W H, Dimitri C, et al. Decrease in the rate of capsule dissolution due to formaldehyde from polysorbate 80 autoxidation[J]. *J Pharm Sci*, 1984, 73(8):1186.
- [30] Gold T B, Smith S L, Digenis G A. Studies on the influence of pH and pancreatin on ¹³C-formaldehyde-induced gelatin cross-links using nuclear magnetic resonance[J]. *Pharm Dev Technol*, 1996, 1(1):21.
- [31] Bergh M, Magnusson K, Nilsson J L, et al. Contact allergenic activity of tween 80 before and after air exposure[J]. *Contact Dermatitis*, 1997, 37(1):9.
- [32] Deechongkit S, Wen J, Narhi L O, et al. Physical and biophysical effects of polysorbate 20 and 80 on darbepoetin alfa[J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(9):3200.
- [33] 单体兴. 两种表面活性剂在海水中的光化学降解研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2009:4.
- [34] 肖邦定,胡凯,刘剑彤,等. 非离子表面活性剂在人工光源辐照下的光催化降解[J]. 中国环境科学, 1999, 19(1):9.
- [35] 谭志高,巢志茂,隋宇,等. Tween-80 对鱼腥草注射液及鱼腥草挥发油的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2):175.

[责任编辑 邹晓翠]