

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.21.003

不同增溶剂对鱼金注射液稳定性的影响*

何俊婷^{1,4}, 张芳侠^{2,4}, 曹爱兰^{2,4}, 王景峰³, 惠选柱³

(1. 陕西医药控股医药研究院有限公司, 陕西 西安 710075; 2. 陕西中药研究所, 陕西 西安 710075; 3. 陕西医药控股山海丹药业有限公司, 陕西 西安 710075; 4. 陕西省中药提取分离与制剂工艺工程研究中心, 陕西 西安 710075)

摘要:目的 考察不同增溶剂制备的鱼金注射液的稳定性。方法 分别以羟丙基- β -环糊精、磺丁基- β -环糊精、甲基- β -环糊精为增溶剂制备鱼金注射液,以外观、不溶性微粒、可见异物、pH及甲基正壬酮、乙酸龙脑酯、芳樟醇含量为评价指标,考察鱼金注射液稳定性的影响因素试验(光照、高温、低温、冻融)及40℃加速试验。结果 羟丙基- β -环糊精、甲基- β -环糊精制备的鱼金注射液外观、可见异物及不溶性微粒均符合规定,甲基正壬酮、乙酸龙脑酯及芳樟醇含量无明显变化;磺丁基- β -环糊精制备的鱼金注射液经6个月加速试验后,不溶性微粒增多,溶液有乳光产生。结论 羟丙基- β -环糊精、甲基- β -环糊精具有优良的增溶效果,制备的鱼金注射液稳定性良好,但磺丁基- β -环糊精不适用于鱼金注射液的增溶。

关键词:羟丙基- β -环糊精;磺丁基- β -环糊精;甲基- β -环糊精;影响因素试验;加速稳定性;鱼金注射液

中图分类号:R932;R283.2

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)21-0009-03

Effect of Different Solubilizer on Stability of Yujin Injection

He Juntong^{1,4}, Zhang Fangxia^{2,4}, Cao Ailan^{2,4}, Wang Jingfeng³, Xi Xuanzhu³

(1. Medicine Research Institute of Shaanxi Pharmaceutical Holding Group Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi, China 710075; 2. Shaanxi Chinese Medicine Institute, Xi'an, Shaanxi, China 710075; 3. Shaanxi Pharmaceutical Holding Shanhai Dan Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi, China 710075; 4. Engineering Research Center of Extraction Separation and Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine in Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi, China 710075)

Abstract: **Objective** To investigate the stability of Yujin Injection prepared with different solubilizer. **Methods** Yujin Injections were prepared with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, sulfobutyl- β -cyclodextrin or methyl- β -cyclodextrin as solubilizers respectively. The appearance, insoluble particles, visible foreign matter, pH, methyl-n-nonanone, bornyl acetate and linalool were taken as evaluation indexes to investigate the influencing factors of Yujin Injection (light, high temperature, low temperature, freezing and thawing) and accelerate stability at 40℃. **Results** The appearance, visible foreign matter and insoluble particles of Yujin Injections prepared by hydroxypropyl- β -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin were in line with the provisions. There was no significant change in methyl-n-nonyl ketone, bornyl acetate and linalool content. After six months of accelerated test, the insoluble particles of Yujin Injection prepared by sulfobutyl- β -cyclodextrin were increased, the solution turned slightly milky white. **Conclusion** Hydroxypropyl- β -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin have good solubilization effect, the Yujin Injections prepared with them have good stability. However, sulfobutyl- β -cyclodextrin is not suitable for the solubilization of Yujin Injection.

Key words: hydroxypropyl- β -cyclodextrin; sulfobutyl- β -cyclodextrin; methyl- β -cyclodextrin; influencing factor test; accelerated stability; Yujin Injection

鱼金注射液是由鱼腥草、金银花经重蒸馏得到的芳香香水制成的纯中药制剂,用于急性上呼吸道感染、急性支气管炎^[1]。鱼腥草与金银花的芳香香水为乳白色混悬液,需加入吐温-80增溶,使其成为澄清溶液。增溶剂的添加是中药注射剂提高有效成分溶解度、保证溶液稳定的常用方法,也是影响中药注射剂质量和安全性的关键技术^[2]。吐温-80是一种聚合物,稳定性不佳,含有大量杂质或降解产品,是引发急性过敏症状的主要原因^[3-4]。本研究中采用羟丙基- β -环糊精、磺丁基- β -环糊精、甲基- β -环糊精作为吐温-80的替代品。其中,羟丙基- β -环糊精相对表面活性和溶血活性比较低,且对肌肉无刺激性,是一种理想的注射剂增溶

剂^[5];磺丁基- β -环糊精是阴离子型高水溶性环糊精衍生物,有较好的增溶作用,能降低肾毒性、缓和药物溶血性等;甲基- β -环糊精能很好地对药物进行分子包合,从而提高药物的稳定性、水溶性、安全性^[6-8]。采用3种不同的替代吐温-80的增溶剂制备鱼金注射剂,通过稳定性考察在温度和光线的影响下制剂随时间变化的规律,为产品生产、储存、包装等提供科学依据^[9],为辅料及稳定性研究、鱼金注射液再研究、再评价工作的重要切入点。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890A型气相色谱仪(美国安捷伦公司);

*基金项目:陕西省科学技术研究发展计划项目[2015SF2-06]。

第一作者:何俊婷,女,满族,硕士研究生,高级工程师,研究方向为中药新药,(电子信箱)52902245@qq.com。

AG-135 型电子分析天平(德国, Mettler Toledo); WD-A 型药物稳定性检查仪(天津药典标准仪器厂)。

1.2 试药

羟丙基- β -环糊精(西安德立生物化工有限公司, 批号为 171002); 磺丁基- β -环糊精(批号为 170301), 甲基- β -环糊精(批号为 170301), 均为淄博千汇生物科技有限公司产品; 吐温-80(分析纯, 上海申宇医药化工有限公司); 活性炭(上海活性炭厂有限公司, 批号为 160305); 甲基正壬酮对照品(批号为 111640-201005), 乙酸龙脑酯对照品(批号为 110759-200303), 芳樟醇对照品(批号为 1503-200001), 均由中国食品药品检定研究院提供; 鱼金注射液(批号分别为 20170103, 20170104, 20170105), 鱼腥草、金银花芳香水, 均为陕西医药控股集团山海丹药业有限责任公司产品; 磷酸盐标准缓冲液(pH=6.86, 25℃, 上海虹北试剂厂); 水为纯化水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 制备方法

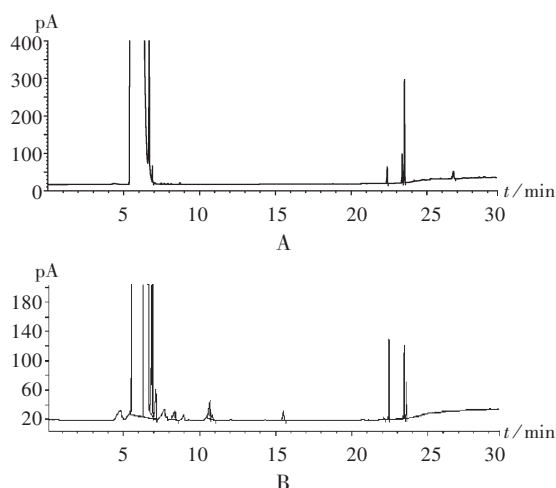
取鱼腥草 4 kg, 金银花 2 kg, 加水 8 倍量, 水蒸气蒸馏, 收集馏液 6 000 mL, 将蒸馏液进行重蒸馏, 收集馏液近 1 000 mL, 鞣质项检查合格后, 用稀释法分次加入增溶剂, 混匀, 再依次加入焦亚硫酸钠、氯化钠和枸橼酸钠溶液适量调节 pH 为 5.9~6.5, 搅匀, 配制至 1 000 mL, 滤过, 再用 0.45 μ m 微孔滤膜, 精滤 3 次, 取滤液, 灌装, 流通蒸气灭菌 30 min, 即得。鱼腥草、金银花重蒸馏得到的芳香水为微带乳(黄)色的液体, 经试验验证, 当加入 0.50% 羟丙基- β -环糊精或 1.50% 磺丁基- β -环糊精或 0.45% 甲基- β -环糊精增溶后, 肉眼可见鱼腥草、金银花重蒸馏溶液变澄清。

2.2 检查

取供试品溶液, 照 2015 年版《中国药典(四部)》不溶性微粒检查法(通则 0903)测定, 可见异物检查法(通则 0904)测定, pH 测定法(通则 0631)测定。结果显示, 3 种不同增溶剂配制的鱼金注射液各项检测指标均符合规定。

2.3 含量测定

色谱条件与系统适用性试验: 色谱柱为键合交联聚乙二醇为固定液的毛细管柱(DM WAX 气相色谱柱, 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m); 起始温度 70℃, 维持 5 min, 再以 5℃/min 的速率升温至 140℃, 维持 2 min, 再以 30℃/min 的速率升温至 250℃, 维持 5 min; 进样口温度 230℃; 检测器温度 280℃。理论板数按甲基正壬酮峰计应不低于 2 000。在此条件下的色谱图见图 1。



A. 甲基正壬酮、乙酸龙脑酯、芳樟醇混标溶液 B. 供试品溶液
图 1 气相色谱图

溶液制备: 分别取甲基正壬酮、乙酸龙脑酯及芳樟醇对照品适量, 精密称定, 分别加乙酸乙酯制成每 1 mL 分别含 100, 25, 10 μ g 的溶液, 即得对照品溶液。精密量取鱼金注射液 25 mL, 置具塞试管中, 加入乙酸乙酯 5 mL, 再加氯化钠 5 g, 振摇 3 min, 分取乙酸乙酯层, 再加入乙酸乙酯 5 mL, 振摇 3 min, 分取 2 次乙酸乙酯层提取液, 定容至 10 mL 容量瓶中, 摇匀, 作为供试品溶液。

含量测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 1 μ L, 注入气相色谱仪, 测定, 计算, 结果见表 1。

表 1 不同增溶剂配制样品含量测定结果(μ g/mL)

增溶剂	甲基正壬酮	乙酸龙脑酯	芳樟醇
0.40% 吐温-80	28.35	7.12	8.33
0.50% 羟丙基- β -环糊精	29.22	7.36	8.40
1.50% 磺丁基- β -环糊精	27.86	6.96	8.51
0.45% 甲基- β -环糊精	28.28	7.68	8.39

2.4 影响因素试验

高温试验: 取鱼金注射液, 60℃ 条件下放置 10 d, 于 0, 5, 10 d 时取样检测。与 0 d 比较, 供试品性状、含量、pH、可见异物、不溶性微粒均未发生显著变化。

强光照射试验: 供试品于照度为(4 500 $\pm$ 500) lx 条件下放置 10 d, 在 0, 5, 10 d 时取样检测。供试品性状、含量、pH、可见异物、不溶性微粒均未发生显著变化。

低温冻融试验: 低温试验中, 分别将鱼金注射液置冰箱中, 在 4℃ 条件下观察 2 d, 然后取出样品置 40℃ 加速条件下考察 2 d, 反复循环 3 次。冻融试验中, 分别将 3 批鱼金注射液置低温冰箱中, 在 -20℃ 条件下观察 2 d, 然后取出样品置 40℃ 加速条件下考察 2 d, 反复循环 3 次。取样检查外观色泽、可见异物、不溶性微粒、pH 及甲基正壬酮、乙酸龙脑酯、芳樟醇含量, 结果见表 2。

加速稳定性试验: 供试品溶液在(40 $\pm$ 2)℃ 条件下放置 6 个月, 在 0, 1, 2, 3, 6 个月时分别取样, 检查供试

表2 低温冻融稳定性试验结果

条件	增溶剂	pH	不溶性微粒	含量(μg/mL)		
				I	II	III
冻融前	A	5.9	≥10 μm	465.1	29.22	7.36
			≥25 μm	200.7	8.40	
	B	5.7	≥10 μm	621.4	27.86	6.96
			≥25 μm	221.9	8.51	
	C	6.3	≥10 μm	437.0	28.28	7.68
			≥25 μm	163.4	8.39	
4℃	A	5.9	≥10 μm	511.0	29.98	7.92
			≥25 μm	101.3	8.94	
	B	5.8	≥10 μm	595.7	28.29	6.83
			≥25 μm	128.2	8.14	
	C	6.2	≥10 μm	478.0	28.96	7.84
			≥25 μm	99.3	8.63	
-20℃	A	5.9	≥10 μm	433.7	28.53	7.58
			≥25 μm	101.4	8.39	
	B	5.7	≥10 μm	609.0	28.48	7.32
			≥25 μm	146.3	8.64	
	C	6.2	≥10 μm	362.7	28.31	7.59
			≥25 μm	126.7	8.02	

注:A为羟丙基-β-环糊精,B为磺丁基-β-环糊精,C为甲基-β-环糊精;I为甲基正壬酮,II为乙酸龙脑酯,III为芳樟醇。

表3 不同增溶剂下供试品溶液加速稳定性试验结果

指标		羟丙基-β-环糊精					磺丁基-β-环糊精					甲基-β-环糊精				
		0月	1月	2月	3月	6月	0月	1月	2月	3月	6月	0月	1月	2月	3月	6月
含量 (μg/mL)	甲基正壬酮	29.22	28.96	29.03	29.17	29.03	27.86	27.88	27.86	27.86	27.84	28.28	28.26	28.23	28.27	28.27
	乙酸龙脑酯	7.36	7.34	7.38	7.37	7.34	6.96	7.05	7.00	7.01	6.98	7.68	7.54	7.61	7.64	7.62
	芳樟醇	8.40	8.37	8.36	8.39	3.37	8.51	8.48	8.50	8.52	8.48	8.39	8.33	8.37	8.38	8.39
pH		5.9	5.9	6.0	5.9	6.0	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	6.3	6.3	6.3	6.2	6.2
不溶性微粒	≥10 μm	465.1	512.3	435.7	475.2	490.2	621.4	620.8	681.4	732.5	1075.9	437.0	412.8	423.4	453.0	431.2
	≥25 μm	200.7	187.7	211.3	209.8	199.5	221.9	234.9	209.1	198.5	345.2	163.4	142.3	149.2	159.7	158.4

3.3 后续研究方向

截至目前,已完成6个月长期加速稳定性研究,3种增溶剂制备的鱼金注射液各项指标均符合规定,未来将继续对羟丙基-β-环糊精、甲基-β-环糊精组供试品进行长期稳定性研究。

参考文献:

- [1] 蔡周全,罗 军. 鱼金注射液雾化吸入佐治急性上呼吸道感染58例[J]. 中国药业,2006,15(10): 57.
- [2] Loftsson T, Brewster ME. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency[J]. J Pharm Sci, 2012,101(9): 3019-3032.
- [3] 王庆利,彭 健. 吐温80的安全性研究进展[J]. 毒理学杂志, 2006,20(4):262.
- [4] 易 勇,何永亮,王红星. 含吐温-80的中药注射剂对2例猴血压、心电图影响的初步观察[J]. 中药药理与临床,2005, 21(8): 459.

品性状(无色、澄明)、含量、pH、可见异物(符合规定)、不溶性微粒。结果见表3。显示3种增溶剂样品均未发生显著变化。

3 讨论

3.1 稳定性试验

对鱼金注射液外观形状、不溶性微粒、pH、可见异物及含量测定进行了全面分析。结果表明,影响因素试验对鱼金注射液稳定性无明显影响。低温冻融试验结果表明,试验前后,3组供试品pH、不溶性微粒、有效成分含量变化不大,前后均符合质量标准要求。因此,低温及冷冻对3种增溶剂配制的鱼金注射液稳定性基本无影响。

3.2 加速稳定性试验

羟丙基-β-环糊精、甲基-β-环糊精组供试品外观形状、不溶性微粒、pH、可见异物及含量均未发生明显变化;磺丁基-β-环糊精组供试品溶液在经过6个月加速稳定性试验后,不溶性微粒量增多,供试品外观有轻微的乳光产生。磺丁基-β-环糊精作为增溶剂,添加量为1.5%时才可使鱼金注射液澄清,辅料用量较大,但增溶效果相对较差,制剂稳定性不佳,因此其不适用于鱼金注射液的增溶。

- [5] 宋更中,冯 丽,裴丽娟,等. 药用辅料羟丙基-β-环糊精的研究概况[J]. 中国药房,2011,22(45): 4292-4294.
- [6] Caltabiano AM. Quantitation of sulfobutyl ether-β-cyclodextrin (Captisol) in vestipitant IV solution by liquid chromatography with ultraviolet (UV) detection[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 118: 276-283.
- [7] Wang D, Chen G, Ren L. Preparation and characterization of the sulfobutylether-β-cyclodextrin inclusion complex of amiodarone hydrochloride with enhanced oral bioavailability in fasted state[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2017,18(5): 1526-1535.
- [8] Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future[J]. Nature Rev Drug Disc, 2004,3(12): 1023-1035.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:354.

(收稿日期:2018-05-29)