

辐照环境中氢化可的松注射液的稳定性研究

管海燕 胡大强 藕顺龙 卢来春

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科 重庆 400042)

摘要 以不同剂量 γ 射线模拟辐照环境,考察氢化可的松注射液的稳定性。将同一批号的氢化可的松注射液经 ^{60}Co γ 射线辐照,吸收剂量设定为2、4、8、16、26和34 kGy。观察注射液颜色和澄清度的变化,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定氢化可的松注射液含量变化。结果表明:氢化可的松注射液含量随吸收剂量显著下降($p<0.01$),当吸收剂量为2 kGy以上时含量下降超出质量合格范围;氢化可的松经辐照后变浑浊,颜色也经历先变黄后又无色,提示氢化可的松溶液中生成了溶解度较小的物质,在辐照环境中极不稳定。

关键词 氢化可的松,辐照,稳定性,高效液相色谱

中图分类号 R94, R917, R811

氢化可的松其化学名称为11 β , 17 α , 21-三羟基孕甾-4-烯-3, 20-二酮,在乙醇或丙酮中略溶,在水中不溶。氢化可的松注射液为无色澄明液体,需遮光、密闭保存^[1]。临床上主要用于肾上腺皮质功能减退症、垂体功能减退症、过敏性和炎症性疾病,还用于抢救危重中毒性感染。目前,药物稳定性的研究仅停留在常规作用因素,如温度、湿度、光照、压力等影响,特殊条件下的药物稳定性尚未有系统的研究报道,特别是近年来核泄漏事故频发的情况下,辐照环境中药品稳定性的研究显得极为迫切。本试验以氢化可的松注射剂为模型药物,考察不同剂量 γ 射线辐照后氢化可的松的稳定性,为氢化可的松注射剂的安全性提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 仪器

^{60}Co γ 辐射源,放射性活度为 5.4×10^{16} Bq,第三军医大学辐照研究中心;色谱仪:Agilent technologies 1200 series HPLC,美国安捷伦公司;色谱柱:Diamondsil technology C18柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5.0 μm);电子分析天平:Sartorius BT 124S,德国赛多利斯公司。

1.2 试剂

氢化可的松对照品由中国药品生物制品检定所

提供,50 mg,批号200206,含量为98%;氢化可的松注射剂由天津金耀氨基酸有限公司提供,100 mg/20 mL,批号为1004082;乙腈,色谱纯;甲醇,分析纯。

1.3 溶液的制备

1.3.1 氢化可的松对照品溶液配置 精密称取0.0010 g氢化可的松甲醇稀释至10 mL,配制为浓度100.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氢化可的松储备液,备用。

1.3.2 氢化可的松注射液溶液 用移液管准确吸取氢化可的松注射液1 mL,置50 mL容量瓶中甲醇定容,摇匀,从中吸取1 mL甲醇稀释定容至10 mL,摇匀,即得10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的注射液溶液,备用。

1.4 辐照处理^[1-4]

取同一批号氢化可的松注射液,分为6组,每组3支,分别在 ^{60}Co γ 射线放射源中一次性辐照后取出,吸收剂量分别为2、4、8、16、26、34 kGy。将辐照后的氢化可的松注射液用0.45 μm 微孔滤膜过滤,精密量取续滤液1 mL,置50 mL容量瓶中甲醇定容,摇匀,从中取1 mL甲醇稀释定容至10 mL,摇匀,得10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液。

1.5 色谱检测^[1]

1.5.1 色谱条件 色谱柱:Diamondsil-C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相:水-乙腈(62:38);检测

第一作者:管海燕,女,1983年06月出生,2008年于重庆医科大学获硕士学位,主要从事新药研究与药物制剂研究,药师,
E-mail: guanhaiyan83@163.com

通讯作者:卢来春, E-mail: lulaicq@163.com

收稿日期:初稿2012-08-30,修回2012-10-18

波长: 245 nm; 柱温: 30℃; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。

1.5.2 线性考察 移取“1.3”项下氢化可的松溶液, 分析甲醇稀释配制得浓度分别为 2.5、5.0、7.5、10、12.5 μg·mL⁻¹ 的系列溶液, 按色谱条件进样。记录色谱图, 以浓度 (C) 为横坐标, 峰面积 (A) 为纵坐标作图, 计算回归方程。

1.5.3 日内、日间精密度, 稳定性考察 移取“1.3”项下氢化可的松溶液, 分析甲醇稀释配制得 4.5、8.5、12.5 μg·mL⁻¹ 三个浓度待测溶液各 3 份。避光密封于 4℃ 保存。按色谱条件进样, 连测 5 d。

1.5.4 回收率的考察 移取“1.3”项下氢化可的松溶液 1.0、2.0、3.0 mL, 分别加“1.3”项下氢化可的松注射液溶液 3.0 mL, 分析甲醇稀释定容至 10 mL, 混匀配制得理论浓度为 4.5、8.5、12.5 μg·mL⁻¹ 的三个浓度待测液各 3 份。按色谱条件进样测定。

1.6 氢化可的松注射液颜色、澄明度考察

采用灯检法, 以黑色背景, 白色为底部, 肉眼观察辐照处理前后的注射液的澄明度、颜色等。

1.7 供试品的含量测定及数据统计

取辐照前、后, 8 kGy 辐照放置 6、12 个月的氢化可的松注射液, 按 1.3 项下“氢化可的松注射液溶液, 辐照后供试品溶液”配制方法, 配制理论浓度约为 10 μg·mL⁻¹ 的氢化可的松待测溶液。分别按 1.5 色谱条件进样测定, 记录色谱峰面积, 计算浓度。采用 Excel 软件, 以辐照强度 (X) 为横坐标, 浓度 (Y) 为纵坐标拟合回归方程; SPSS 18.0 软件,

以辐照前与辐照后的氢化可的松注射液含量测定结果进行独立样本的 t -检验。

2 结果与讨论

2.1 色谱检测结果

本色谱条件下溶剂、氢化可的松对照品、辐照前后注射液含量测定色谱峰如图 1 所示。本方法采用水-乙腈 62: 38 (体积比) 为 HPLC 流动相进行氢化可的松药品含量测定, 与 2010 年版《中华人民共和国药典》第二部测定氢化可的松含量方法相比较, 本方法调整了流动相比例, 使目标药物氢化可的松出峰时间由 18 min 提前至 7 min, 且注射剂中氢化可的松与辅料成份、辐照降解后物质能较好分离, 分离度大于 1.5, 理论塔板数大于 5000。

方法学考察可知, 氢化可的松对照品溶液在 2.5–12.5 μg·mL⁻¹ 浓度范围内线性关系良好, 回归方程 $A = 48.656 C + 2.330$, $r = 0.9999$ 。4.5、8.5、12.5 μg·mL⁻¹ 三个浓度氢化可的松溶液, 日内精密度相对标准偏差 (RSD) 分别为 0.03%、0.10%、0.05%, 均小于 2%; 日内精密度 RSD 分别为 0.32%、0.18%、0.23%, RSD 均小于 2%; 平均回收率分别为 96.54%, 100.42%, 101.41%, 总体平均回收率为 99.46%, RSD 为 2.59%, 说明该方法日内、日间精密度、准确度较好, 密封避光于 4℃, 保存期 5 d 内是稳定的。

由图 1A 可知, 氢化可的松注射液的溶剂乙醇在 HPLC 中也能出峰, 出峰时间为 2.4 min。如图 1B 和 1C 所示。氢化可的松在约 7 min 出峰。在吸收了不同辐照剂量后, 保留时间为 7 min 的氢化可的松峰高, 随吸收剂量减小, 呈现剂量相关性效应。

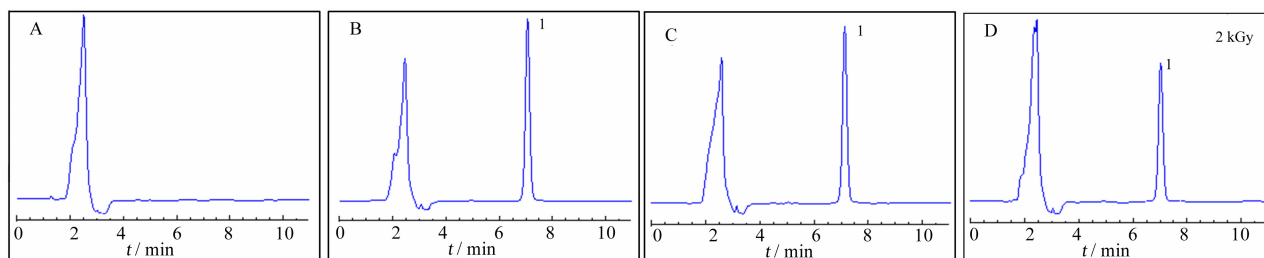


Fig.1 The HPLC chromatograms of hydrocortisone injection: A, methanol; B, reference substance; C, Hydrocortisone injection; D, The sample after irradiation with 2 kGy as an example

2.2 辐照处理后氢化可的松注射液颜色、澄明度考察

以《中华人民共和国药典》2010 年版药品常用辐射灭菌最大吸收剂量 25 kGy 为参考依据^[1], 结合

课题组前期试验结果^[3,4]: 模型注射液在吸收剂量为 1 kGy 以下时, 含量变化不明显, 故本次试验设计为 2–34 kGy, 考察吸收剂量对模型注射液质量影响规律。不同吸收剂量的氢化可的松注射液如图 2。

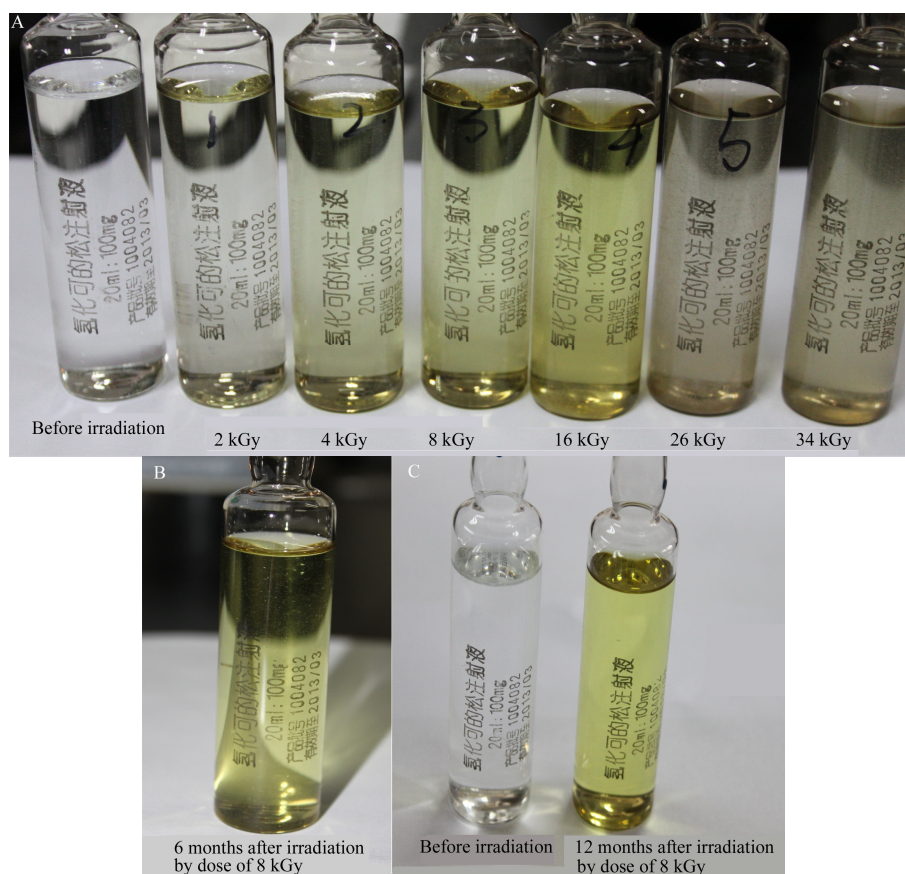


Fig.2 The morphology of hydrocortisone injection irradiated by γ -rays: A, with different absorbed doses; B, irradiated with 8 kGy and kept for 6 months; C, irradiated with 8 kGy and kept for 12 months

由2图可知,吸收剂量在4 kGy以上的注射液出现明显的沉淀,颜色明显变黄,且随吸收剂量增加而加深,但16 kGy以上黄色消失。吸收剂量8 kGy辐照后放置6、12个月后注射液颜色较存放之前加深。根据氢化可的松结构(11 β 、17 α 、21-三羟孕烯-3, 20-二酮)以及氢化可的松注射液处方中辅料成分(乙醇以及无机盐类)分析,推断可能是氢化可的松在较大的辐照剂量下,经历了脱水、开环、聚合等多种反应,生成了具有发色的共轭基团以及引入了溶解度较小的亲脂基团;根据颜色变化情况分析,所生成的发色物质在16 kGy辐照剂量以上,可能会进一步辐解为无色基团从而颜色消失。

2.3 辐照后氢化可的松的含量测定及统计结果

注射液经2、4、8、16、26、34 kGy吸收剂量辐照后,氢化可的松平均含量分别下降至94.10%、89.66%、83.32%、66.46%、53.07%、43.65%。

将不同吸收剂量辐照后样品中氢化可的松含量进行测定,以辐照吸收剂量(X)为横坐标,氢化可的松浓度(Y)为纵坐标作图,进行线性拟合得

到回归方程为: $Y = -0.165 X + 9.679$ ($r = 0.9936$), 见图3。

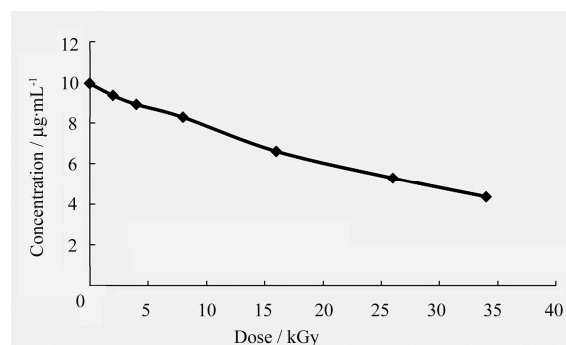


Fig.3 The relationship between the absorbed doses and concentration

根据图3数据可知,氢化可的松注射液辐照前后相比较,其含量变化具有统计学上极显著差异($p < 0.01$)。吸收剂量为8 kGy后放置6个月、12个月氢化可的松注射液平均含量与辐照后立即测定含量比较无明显差异。说明氢化可的松注射液辐照后氢化可的松注射液的含量随吸收剂量的增加而下降,且下降趋势具有一定的线性特征。由2-34 kGy

含量测定数据可知,虽然吸收 2 kGy 剂量后注射液含量仍在药典质量标准规定的标示量 93%–107%之内^[1],但已接近 93%的下限,故认为氢化可的松注射液在吸收 2 kGy 及以上剂量时显示极不稳定,氢化可的松含量显著减少。经 12 个月的考察发现经一次性辐照处理后,虽然药品含量保持稳定,但注射液外观颜色逐渐加深,说明氢化可的松注射液经一次性辐照处理后,其质量在放置过程中仍受辐照的影响。

3 结论

本研究采用水-乙腈 62: 38 为流动相, 245 nm 为检测波长; 柱温 30℃; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 20 μL 的 HPLC 测试条件,用于本研究中氢化可的松注射液中氢化可的松的含量测定。实验表明该方法精密度和准确度均较高。

在 2 kGy 及以上吸收剂量辐照后,氢化可的松注射液会降解,且氢化可的松含量随吸收剂量的增加而下降,两者具有一定的线性关系 ($r=0.9936$); 氢化可的松注射液经一次性辐照处理后,其质量在放置过程中仍会继续变化。

本实验仅采用 HPLC 手段对氢化可的松的含量进行了定量分析,需借助液相与质谱联用技术 (LC-MS/MS) 对辐射降解产物进行进一步的定性定量分析,以加深对氢化可的松辐照不稳定性研究。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第二部). 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 551, 附录 191
China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part II). 2010 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Press. 2010. 551, Appendix 191
- 2 高美须, 王春雷, 裴颖, 等. 国外食品辐照标准的制定实施经验及借鉴. 农产品质量与安全. 2010(4): 57-60
GAO Meixu, WANG Chunlei, PEI Yin, *et al.* Study on the setting and enforcement of food radiation standards in abroad and its reference to China. Agricultural quality & standards, 2010(4): 57-60
- 3 徐靖, 卢华, 管海燕, 等. 辐照对呋塞米注射液含量的影响考察. 中国药房. 2012, 23(5):440-442
XU Jing, LU Hua, GUAN Haiyan, *et al.* Effects of irradiance on the content changes of furosemide injection. China pharmacy. 2012, 23(5): 440-442
- 4 管海燕, 卢华, 唐燕, 等. 辐照对盐酸利多卡因注射液含量的影响考察. 中国药房, 2012, 23(13): 1227-1229
GUAN Haiyan, LU Hua, TANG Yan, *et al.* The study of lidocaine hydrochloride injection content changes by irradiance. China pharmacy, 2012, 23(13): 1227-1229

Study on the stability of hydrocortisone injection under radiation environment

GUAN Haiyan HU Daqiang OU Shunlong LU Laichun

(Department of Pharmacy, Daping Hospital, Research Institute of Surgery of the Third Military University, Chongqing 400042, China)

ABSTRACT The same batches of hydrocortisone injection were irradiated by ⁶⁰Co γ-rays with different absorbed doses of 2, 4, 8, 16, 26, and 34 kGy, respectively. The color and clarity of hydrocortisone injection were inspected and the content of hydrocortisone was analyzed by HPLC. The results show that the injection content decreases with the increment of absorbed doses ($p<0.01$), and it is out of the control quality when the absorbed dose more than 2 kGy. Moreover the color becomes yellow and then is transferred transparent. The hydrocortisone injection is unstable to radiation as it will generate some colored and less soluble substances under radiation environment.

KEYWORDS Hydrocortisone, Irradiation, Stability, HPLC

CLC R94, R917, R811