

辐照对尼可刹米注射液含量的影响

李卓恒*, 藕顺龙, 管海燕, 于彩平, 李沉纹, 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)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)48-4591-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.48.30

摘要 目的:建立测定尼可刹米注射液中主药含量的方法,并考察其吸收不同强度的 γ 射线辐照后含量的变化。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil Technology C₁₈柱,流动相为甲醇-水(50:50, V/V),流速为1 ml/min,检测波长为263 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μ l。将同一批号的尼可刹米注射液放置于⁶⁰Co- γ 射线放射源中,一次性吸收2、4、8、16、26、34 kGy的辐照剂量后检测药物含量,并与辐照前比较。结果:尼可刹米检测质量浓度在12~36 μ g/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9998$);日间($n=5$)及日内精密度($n=3$)均小于2%;低、中、高质量浓度的平均加样回收率分别为100.64%、98.69%、101.15%。辐照8、16、26、34 kGy时其含主药的量显著低于辐照前,与辐照前比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:该方法可用于尼可刹米注射液中主药的含量测定;辐照对尼可刹米注射液的含量及稳定性有一定影响。

关键词 尼可刹米注射液;辐照;高效液相色谱法;含量测定

Effects of Irradiation on the Content of Nikethamide Injection

LI Zhuo-heng, OU Shun-long, GUAN Hai-yan, YU Cai-ping, LI Chen-wen, LU Lai-chun (Dept. of Pharmacy, Institute for Field Surgery, Daping Hospital of Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of nikethamide in Nikethamide injection, and to study the changes of Nikethamide injection after γ -ray irradiation in different intensity levels. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil Technology C₁₈ with mobile phase consisted of methanol-water (50:50, V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 263 nm, and the column temperature was 30 ℃. The injection volume was 20 μ l. The same batch of Nikethamide injection put in the ⁶⁰Co- γ ray with radiation dose of 2, 4, 8, 16, 26, 34 kGy by one-time, compared with before radiation. RESULTS: The linear range of nikethamide was 12-36 μ g/ml ($r=0.9998$); RSD of intra-day ($n=5$) and inter-day ($n=3$) were lower than 2%. The average recoveries of low, medium and high concentrations were 100.64%, 98.69% and 101.15%, respectively. The amounts of main components after 8, 16, 26 and 34 kGy irradiation were significantly lower than before; there was statistical significance ($P<0.05$). CONCLUSIONS: The develop method can be used for the content determination of nikethamide in Nikethamide injection; and the irradiation has impact on the stability of Nikethamide injection to some extent.

KEY WORDS Nikethamide injection; Irradiation; HPLC; Content determination

尼可刹米(Nikethamide, Coramine)主要用于中枢性呼吸及循环衰竭的急救和麻醉药及其他中枢抑制药的中毒急救,贮存条件为遮光、密封^[1-2],作为急救常备药品,其稳定性非常重要。近年来,因放射性同位素(¹³⁷Cs或⁶⁰Co)泄漏引发的辐射事故引起了全球的关注,生物体或药品等暴露在此种环境下,其物理性能和化学组成等都有可能发生变化^[3]。研究尼可刹米在辐射环境下的稳定性,对其安全使用和贮存具有积极意义。

尼可刹米收载于《中国药典》2010年版(二部),其原料药的检测方法为高效液相色谱(HPLC)法,注射液的检测方法为分光光度法^[2]。由于预试验发现尼可刹米注射液辐照后会发生颜色改变,可能会对分光光度法检测带来干扰,故本试验参照原料药检测方法即HPLC法来检测尼可刹米注射液中主药

的含量。以尼可刹米注射液在吸收2、4、8、16、26、34 kGy的辐照剂量后主药含量的变化为指标进行稳定性考察,以为其暴露在辐射环境下的使用和贮存提供数据参考。

1 材料

1.1 仪器

辐照设备(Allanace型 γ 辐照装置,⁶⁰Co- γ 射线,装源活度 5.4×10^{16} Bq,第三军医大学辐照研究中心提供);1200系列HPLC仪(美国安捷伦公司);BT124S电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

1.2 药品与试剂

尼可刹米对照品(中国食品药品检定研究院,批号:200612);尼可刹米注射液(上海禾丰制药有限公司,批号:101103,规格:1.5 ml:0.375 g);甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[4]

色谱柱:Diamonsil Technology C₁₈柱(250 mm \times 4.6 mm, 5

* 药师, 硕士。研究方向:药物分析与药理学。电话:023-68757098。E-mail: cissylzh@yahoo.cn

[#] 通信作者:副主任药师, 博士。研究方向:创新药物及制剂。电话:023-68757091。E-mail: lulaicq@163.com

μm);流动相:甲醇-水(50:50, V/V);流速:1 ml/min;检测波长:263 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取0.375 g 尼可刹米对照品,置于250 ml 量瓶中,以流动相溶解并稀释至刻度,配制成质量浓度为1.5 mg/ml 的对照品溶液,备用。

2.2.2 阴性对照溶液 因尼可刹米注射液为已上市药品,辅料对主药含量检测没有影响,故采用流动相作为阴性对照溶液。

2.2.3 供试品溶液 取尼可刹米注射液1支,精密转移至250 ml 量瓶中,以流动相定容,得质量浓度为1.5 mg/ml 的供试品溶液,备用。

2.2.4 辐照后供试品溶液 取辐照后的尼可刹米注射液1支,精密转移至250 ml 量瓶中,以流动相定容,精密量取1 ml 置于50 ml 量瓶中,以流动相定容,得辐照后供试品溶液,备用。

2.3 系统适用性试验

取对照品溶液、供试品溶液、辐照后供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,尼可刹米峰的保留时间约为5.2 min,理论板数以尼可刹米峰计大于7 000,且阴性对照不干扰主药的测定。

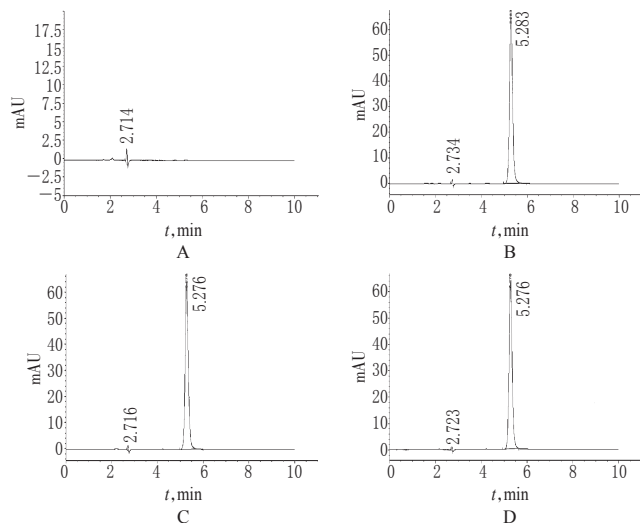


图1 高效液相色谱图

A.阴性对照;B.对照品;C.供试品;D.辐照后供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A.negative control; B.substance control; C.test sample; D.test samples after radiation

2.4 线性关系考察

精密称取尼可刹米对照品适量,加流动相溶解并稀释成质量浓度分别为12、18、24、30、36 μg/ml 的系列溶液,分别进样20 μl,记录色谱。以检测质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=21.129 6x+3.069 9$ ($r=0.999 8$)。结果表明,尼可刹米检测质量浓度在12~36 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 日内精密度考察

配制10、22、34 μg/ml 三种质量浓度的尼可刹米对照品溶液各3份,按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积。结果,上述三种质量浓度的RSD分别为0.01%、0.07%、0.03%,均小于2%,表明本方法日内精密度较好。

2.6 日间精密度与稳定性考察

配制10、22、34 μg/ml 三种质量浓度的尼可刹米对照品溶液,密封、避光于4 ℃下贮存,按“2.1”项下色谱条件,同一溶液每天进样1次,连续5 d,测定峰面积。结果,上述三种质量浓度的RSD分别为1.47%、0.03%、0.03%,均小于2%,表明本方法日间精密度较好,且尼可刹米对照品溶液在密封、避光、4 ℃条件下放置5 d 稳定性也较好。

2.7 加样回收率试验

精密量取尼可刹米注射液样品0.5 ml(相当于尼可刹米750 μg),共9份,置于不同的50 ml 量瓶中,分别加入“2.2”项下对照品溶液0.4 ml(相当于尼可刹米600 μg)、0.5 ml(相当于尼可刹米750 μg)、0.6 ml(相当于尼可刹米900 μg)各3份,以流动相稀释至刻度,按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,带入回归方程计算尼可刹米的质量浓度,并计算加样回收率。结果,上述三种质量浓度的平均加样回收率分别为100.64%、98.69%、101.15%,RSD分别为0.37%、0.37%、0.64%,表明本方法准确度较好,详见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

所含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
750	600	136 0	100.74		
750	600	136 4	101.04	100.64	0.37
750	600	135 2	100.15		
750	750	148 8	99.20		
750	750	147 6	98.40	98.69	0.37
750	750	147 7	98.47		
750	900	168 3	102.00		
750	900	165 7	100.42	101.15	0.64
750	900	166 7	101.03		

2.8 辐照处理

以《中国药典》2010年版药品常用辐射灭菌吸收剂量为参考(25 kGy 为最大辐照吸收剂量)^[5-11],结合笔者前期发表的系列试验结果(模型注射液在辐照吸收剂量为1 kGy 及以下时,含量变化不明显),本次试验辐照剂量设计为2~34 kGy。取该批尼可刹米注射液,分为6组,分别在⁶⁰Co-γ射线放射源中放置约6.6、13.3、26.6、53.3、83.3、112.2 h,即一次性吸收2、4、8、16、26、34 kGy 的辐照剂量后取出,待含量测定用。

2.9 辐照处理后尼可刹米注射液外观、澄明度考察

接受辐照处理前与吸收不同剂量的辐照后的尼可刹米注射液外观见图2。



图2 吸收不同剂量的辐照后尼可刹米注射液的外观

Fig 2 Appearance of Nikethamide injection after γ-ray irradiation in different intensity levels

由图2可看出,随着辐照剂量的增加,尼可刹米注射液澄明度无变化,但其颜色由无色变为黄色且逐渐加深,尤其吸收16、26、34 kGy 辐照剂量的尼可刹米注射液颜色变化明显。

2.10 吸收不同剂量的辐照后尼可刹米注射液的含量变化

2.10.1 含量测定 取辐照前及辐照后的尼可刹米注射液,分别以流动相配制理论浓度约为30 μg/ml的尼可刹米待测溶液,

按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积并计算含量,结果见表2。

由表2可知,随着辐照剂量的增加,尼可刹米注射液含量逐渐降低。

表2 辐照后尼可刹米注射液的含量变化($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Content determination of Nikethamide injection after irradiation($\bar{x} \pm s, n=3$)

项目	辐照前	辐照剂量, kGy					
		2	4	8	16	26	34
含主药的量, μg/ml	29.577 ± 0.067	29.515 ± 0.016	29.480 ± 0.042	29.451 ± 0.006*	29.396 ± 0.029*	28.855 ± 0.028*	28.598 ± 0.053*
占标示量的百分比, %	100.00	99.79	99.67	99.58	99.39	97.56	96.69

与辐照前比较: * $P < 0.05$

vs. before irradiation: * $P < 0.05$

2.10.2 辐照后含量变化情况 用Excel软件将表2中的数据以辐照剂量(X)为横坐标,含主药的量(Y)为纵坐标作图,详见图3。

围内,说明本试验各辐照剂量对尼可刹米注射液的含量没有显著影响。但是,从图2可以看出,吸收8 kGy以上辐照剂量时,尼可刹米注射液颜色明显变为黄色,可见辐照对其稳定性有一定影响。本试验仅对尼可刹米注射液吸收34 kGy辐照剂量以内的含量变化进行了考察,试验结果显示,尼可刹米注射液在吸收34 kGy辐照剂量后含量下降至标示量的96.69%,仍在《中国药典》规定的范围内。而关于其颜色变化具体是由于辐照使尼可刹米注射液产生了何种杂质造成的,仍需要后续试验继续研究。

参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].16版.北京:人民卫生出版社,2007:164.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010版.北京:中国医药科技出版社,2010:223-224.
- [3] 刘明海.某钴源辐照装置退役辐射环境监测与评价[J].中国辐射卫生,2013,22(2):201.
- [4] 孙卫,刘珠,赵秀红,等.HPLC法测定尼可刹米中有关物质[J].中国药事,2008,22(6):481.
- [5] 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[J].农产品质量与安全,2010(4):57.
- [6] 徐靖,卢华,管海燕,等.辐照对吠塞米注射液含量的影响考察[J].中国药房,2012,23(5):440.
- [7] 管海燕,龙静,胡大强,等.辐照对盐酸肾上腺素注射液含量的影响[J].中国药业,2013,22(8):35.
- [8] 管海燕,胡大强,藕顺龙,等.辐照环境中氯化可的松注射液的稳定性研究[J].辐射研究与辐射工艺学报,2013,31(1):010303.
- [9] 华方波,赵焕君,白俊楠,等.辐照灭菌对丹参中丹参酮II_A含量的影响[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(6):55.
- [10] 牟学文,田喜莲.⁶⁰Co-γ辐照对红花药材及醇提取物羟基红花黄色素A的影响[J].中国药事,2012,26(3):232.
- [11] 胡大强,卢华,管海燕,等.辐照对去甲肾上腺素注射液含量变化的影响[J].第三军医大学学报,2012,34(5):431.

(收稿日期:2013-02-07 修回日期:2013-10-21)

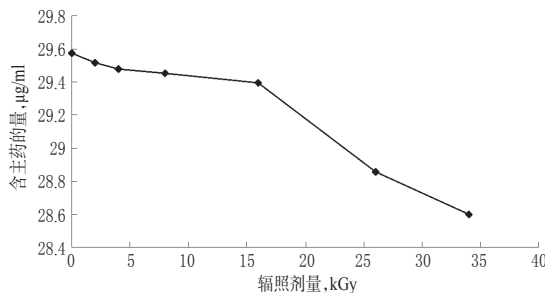


图3 辐照剂量与药物含量的关系

Fig 3 The relationship between the irradiation dose and drug concentration

由图3可知,尼可刹米注射液吸收2~8 kGy的辐照剂量后含量下降并不明显,而吸收16 kGy以上辐照剂量时尼可刹米注射液含量下降幅度相对较大。

3 讨论

3.1 色谱条件

本试验采用甲醇-水(50:50, V/V)为流动相进行尼可刹米注射液的含量测定,参考了《中国药典》2010年版中对尼可刹米原料药中有关物质的检测方法。与使用甲醇-水(30:70, V/V)为流动相的方法比较,本方法峰形对称,理论板数大于7 000,高于《中国药典》的要求,无拖尾现象,尼可刹米主峰与杂质峰能明显分开,且经方法学验证,本方法精密度、准确度均较好,可用于尼可刹米注射液中主药的含量测定。

3.2 辐照对尼可刹米注射液的影响

尼可刹米注射液含量随辐照剂量的增加有一定的下降趋势。由表2可知,辐照前与辐照后含量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且尼可刹米注射液一次性吸收2、4、8、16、26、34 kGy的辐照剂量后主药含量下降分别约为0.21%、0.32%、0.42%、0.61%、2.44%、3.31%。《中国药典》2010年版规定,尼可刹米注射液中主药含量应为标示量的90%~110%^[2],而本试验结果显示,辐照后尼可刹米注射液中主药含量在规范范

《中国药房》杂志——《哥白尼索引》(IC)收录期刊,欢迎投稿、订阅