

前列地尔注射液的稳定性研究

马晓宁, 李 萍, 刘宏大, 薛 雁, 王宏英, 薛百忠

辽宁远大诺康生物制药有限公司, 辽宁 沈阳 110171

摘要: 目的 研究前列地尔注射液的稳定性, 为其生产、包装、贮存、运输条件提供理论依据。方法 采用高效液相色谱法, 测定前列地尔注射液中前列地尔及其有关物质 A1 的量, 并考察强光照 (4 500 lx)、高温 (40℃、60℃)、加速、长期试验对其稳定性的影响, 分别测定各项指标与原始数据进行比较。结果 前列地尔和 A1 的线性、精密度、稳定性、回收率均符合要求; 强光及高温条件下放置较长时间 (10 d), 前列地尔注射液色泽则明显加深, pH 值几乎没改变, 含量明显降低, 同时降解成的有关物质则明显增加; 25℃加速试验 6 个月, 其 pH 值略有下降。3 批样品在 4℃下存放, 长期试验 12 个月后, 其外观性状、有关物质及含量等各项指标均符合相关要求。结论 前列地尔注射液对光、热不稳定, 容易降解, 本品应避光、冷藏贮存, 有效期可暂定为 1 年。

关键词: 前列地尔; 注射液; 高效液相色谱法; 稳定性

中图分类号: R927.11 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)05-0667-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.05.015

Study on stability of Alprostadil Injection

MA Xiao-ning, LI Ping, LIU Hong-da, XUE Yan, WANG Hong-ying, XUE Bai-zhong

Liaoning Nuokang Bio-pharmaceutical Co. Ltd., Shenyang 110171, China

Abstract: Objective To study the stability of Alprostadil Injection, and provide theoretical basis for its production, packaging, storage, and transportation conditions. **Methods** The contents of PGE1 and A1 in Alprostadil Injection were determined by HPLC method through strengthen test, accelerated test, and longterm test. The stability of Alprostadil Injection was investigated. **Results** Linearity, precision, stability, and recovery rate of E1 and A1 met the requirements; Placed for 10 d under high light and high temperature conditions, the color was obviously deepened, the pH value was almost unchanged, the content decreased significantly and degradation of related substances increased significantly; At 25 °C and after 6 months of acceleration test, the PH value decreased slightly and the content changed obviously. Three batches of samples were stored at 4℃ and long-term tested after 12 months, its appearance traits, related substances, and content of the indicators were in line with the relevant requirements. **Conclusion** Alprostadil Injection is unstable to light and heat, easy degradation, this product should be stored in dark and cold conditions, with the validity for one year.

Key words: alprostadil; injection; HPLC; stability

前列地尔注射液是一种在治疗心血管疾病方面具有独特疗效的乳剂^[1], 其主要活性成分为前列腺素 E1 (PGE1), 即前列地尔, 具有广泛的生理活性, 近年来临床多用于治疗冠心病、脑梗死、糖尿病、肾功能衰竭等多种疾病^[2-7], 且疗效显著, 应用前景广阔。

目前, 关于前列地尔注射液的稳定性研究尚未见文献报道, 以药理和临床研究居多。前列地尔为含有一个双键的二十碳不饱和脂肪酸, 且含有 p 羟基酮分子结构, 因而化学活性高, 易被氧化和酸碱

水解及异构化^[8-9]。为保证产品质量, 确保药物疗效和用药安全性, 同时为了观察药物稳定性, 制定相应的有效期, 现根据《中国药典》药物稳定性指导原则^[12]及前列地尔注射液的质量标准, 对本品的稳定性进行了研究, 为药物安全性及临床用药的合理性提供了理论依据。

1 仪器、试药与试剂

1.1 仪器

LC-10ATvp 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SPD-10Avp 紫外检测器 (日本岛津公司);

收稿日期: 2017-02-20

作者简介: 马晓宁 (1981—), 硕士研究生, 工程师, 主要从事注射乳剂的研发与质量标准研究。E-mail: may8155@126.com

柱后衍生仪 (ASI 公司); 固相萃取小柱 (Sep-Pak Plus C₁₈ 柱, Waters 公司); BT25S 型电子分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); PH510 型酸度计等。

1.2 试药与试剂

前列地尔对照品 (批号 140659-201404, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 中国食品药品检定研究院); 前列腺素 A1 对照品 (批号 SLBH4401V, 质量分数 $\geq 99.0\%$, Sigma 公司); 前列地尔注射液 (批号 20151125、20151126、20151127, 规格 2 mL: 10 μg , 辽宁远大诺康生物制药有限公司) 和空白乳 (蓬莱诺康药业有限公司); β -萘酚 (沈阳市新西试剂厂, 分析纯); 乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 前列地尔注射液的 HPLC 法测定^[10-11]

2.1 色谱条件与系统适用性试验

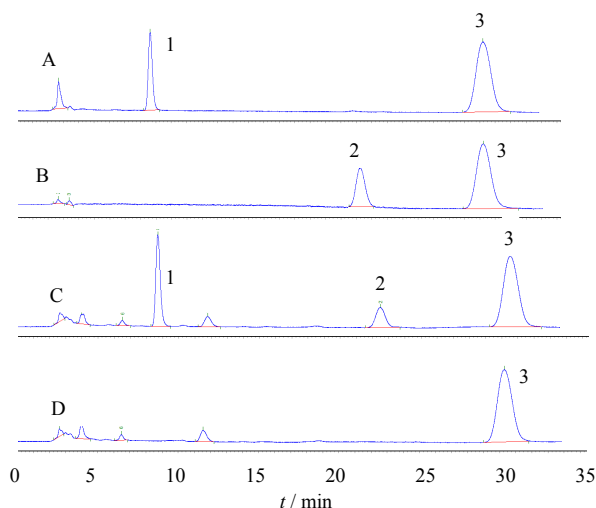
2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 6.7 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 为 6.0) (取磷酸二氢钾 9.07 g, 加水使溶解, 制成 1 000 mL, 另取无水磷酸氢二钠 9.46 g, 加水使溶解, 制成 1 000 mL, 将后者加到前者中, 直至 pH 为 6.0, 取此液 100 mL 加水至 1 000 mL, 摇匀, 即得)-乙腈 (68:32), 1.0 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 柱后衍生试剂: 1 mol/L 氢氧化钾溶液, 体积流量 1.0 mL/min, 柱后反应温度为 60 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 278 nm, 进样量 20 μL , 运行时间 35 min。按内标法以峰面积计算, 理论塔板数按前列地尔计算不低于 2 500。

2.1.2 系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、空白样品溶液各 20 μL , 按上述色谱条件进样分析, 记录色谱图 (图 1)。结果表明, 前列地尔的保留时间在 9 min 左右, 前列腺素 A1 的保留时间在 22 min 左右, 内标峰的保留时间在 30 min 左右, 样品中的其他峰对前列地尔和前列腺素 A1 的测定没有干扰, 各峰分离度符合要求。

2.2 样品溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 精密称取 β -萘酚约 12.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 量取 2.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为内标贮备液。取内标贮备液 2.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 作为内标溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取前列地尔对照品约 2.5 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为前列地尔对照品贮备液, 精



1-前列地尔; 2-前列腺素 A1; 3- β -萘酚

1- prostaglandin E1; 2- prostaglandin A1; 3- β -naphthol

图 1 前列地尔对照品 (A)、前列腺素 A1 (B)、前列地尔注射液样品 (C) 和空白辅料 (D) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC c of prostaglandin E1 (A), prostaglandin A1 (B), Alprostadil Injection (C), and blank excipients (D)

密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 精密量取此溶液与内标贮备液各 2.5 mL, 置同一 25 mL 量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 作为前列地尔对照品溶液。

精密称取前列腺素 A1 对照品约 2.5 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为 A1 对照品贮备液, 精密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 精密量取此溶液与内标贮备液各 2.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 作为前列腺素 A1 对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品 0.5 mL, 加四氢呋喃 2.5 mL 混匀后, 再加 0.1% 磷酸溶液 15 mL, 混匀, 通过固相萃取小柱, 用 7 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 减压蒸馏至溶剂蒸干, 残渣用内标溶液 1.0 mL 溶解, 摇匀, 作为供试品溶液。

空白样品溶液: 按“2.2.3”项下同法制备空白溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密量取前列地尔对照品贮备液和内标贮备液适量, 加流动相稀释制成质量浓度分别为 0.5、1、2、5、10 $\mu\text{g/mL}$ 的前列地尔对照品溶液, 以质量浓度为横坐标, 前列地尔与内标峰面积比值为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=0.1538C-$

0.005 3, $R^2=0.999\ 9$ 。同法得前列腺素 A1 回归方程为 $Y=0.205\ C+0.034\ 36$, $R^2=0.999\ 7$ 。结果表明, 前列地尔和前列腺素 A1 在 0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系均良好。

2.4 精密性试验

取同一批号样品, 按含量测定项下供试品溶液的制备方法制备样品, 取同一批样品连续进样 6 次, 分别计算得前列地尔和前列腺素 A1 的含量 RSD 分别为 0.93% 和 1.21%, 表明精密性良好。

2.5 重复性试验

取同一批号样品, 按含量测定项下供试品溶液的制备方法制备 6 份样品, 每份样品各进样 1 次, 分别计算得前列地尔和前列腺素 A1 的含量 RSD 分别为 0.72% 和 1.04%, 表明重复性良好。

2.6 溶液稳定性试验

取同批前列地尔供试品溶液, 室温放置, 于 0、1、2、4、8、12 h 分别取样测定, 计算得前列地尔含量的 RSD 为 1.40%, 表明此供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 回收率试验

精密量取前列地尔对照品贮备液适量, 加入空白乳中, 制成 0.5 mL 的空白乳约含前列地尔 2.5 μg 的 80%、100%、120% 供试品溶液, 每个浓度各 3 份, 共 9 份。按“2.2.3”项下方法处理后进样测定, 计算得前列地尔的平均回收率为 99.41%, RSD 为

0.35%, 同法 (每 0.5 mL 空白乳含 A1 约 1.5 μg 的 70%、100%、130% 供试品溶液) 得前列腺素 A1 的平均回收率为 100.15%, RSD 为 1.01%, 结果表明, 回收率良好, 符合测定要求。

2.8 含量及有关物质测定

取前列地尔注射液样品按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 取供试品溶液和前列地尔和 A1 对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算。

3 稳定性研究^[12]

按照《中国药典》2015 版四部通则 9001 原料药与制剂稳定性试验指导原则, 对本品进行了影响因素试验、加速试验及长期试验考察。

3.1 影响因素试验

3.1.1 光照试验 取模拟上市包装的前列地尔注射液置于 4 500 lx 强光下照射 10 d, 分别于第 5 天、第 10 天取样测定, 对其各项指标进行考察。

3.1.2 高温试验 将前列地尔注射液样品分别置于 40、60℃ 高温条件下, 恒温放置 10 d, 分别于第 5 天、第 10 天取样, 测定各项指标的变化。结果见表 1。

前列地尔注射液影响因素试验结果表明, 在强光和 40℃、60℃ 高温条件下含量显著下降, 有关物质显著增长, 本品为对温度特别敏感的药物制剂, 故长期试验选择 4℃ 进行, 加速试验选择 25℃ 进行。

表 1 影响因素试验考察结果

Table 1 Test results of influencing factors

试验条件	放置时间/d	外观色泽	pH 值	前列地尔/%	前列腺素 A1/%
强光照射 (4 500 lx)	0	白色乳状液体	5.7	118.4	19.2
	5	白色乳状液体	5.7	114.7	22.4
	10	白色乳状液体	5.6	109.6	27.3
高温 (40℃)	5	白色乳状液体	5.7	106.5	30.2
	10	白色乳状液体	5.6	90.7	46.1
高温 (60℃)	5	白色乳状液体	5.7	91.3	45.5
	10	白色乳状液体	5.5	69.8	65.3

3.2 加速实验

将前列地尔注射液按市售包装, 置于 25℃ 条件下 6 个月, 分别于 0、1、2、3、6 个月定时取样测定各项指标。结果见表 2。

实验结果表明, 本品 3 批在温度为 (25±2)℃ 条件下放置 6 个月, 各项考察指标均在标准范围内。

3.3 长期试验

取本品 3 批 (20151125、20151126、20151127), 按市售包装于温度为 4℃ 条件下放置 12 个月, 分别于 0、3、6、9、12 个月定时取样, 按“2.7”项下方法进样测定, 考察前列地尔注射液含量及各项指标的变化。结果见表 3。

表2 加速实验测定结果
Table 2 Results of accelerated test

批号	放置时间	外观色泽	pH 值	前列地尔/%	前列腺素 A1/%
20151125	0 月	白色乳状液体	5.5	118.4	19.2
	1 月	白色乳状液体	5.6	112.5	25.0
	2 月	白色乳状液体	5.5	105.3	31.9
	3 月	白色乳状液体	5.5	97.8	39.2
	6 月	白色乳状液体	5.6	81.7	55.4
20151126	0 月	白色乳状液体	5.7	118.1	19.6
	1 月	白色乳状液体	5.7	111.8	25.7
	2 月	白色乳状液体	5.7	104.9	32.5
	3 月	白色乳状液体	5.6	97.1	39.9
	6 月	白色乳状液体	5.6	80.8	56.1
20151127	0 月	白色乳状液体	5.6	117.8	19.3
	1 月	白色乳状液体	5.7	111.4	25.8
	2 月	白色乳状液体	5.6	102.9	33.8
	3 月	白色乳状液体	5.6	96.6	40.2
	6 月	白色乳状液体	5.6	80.5	55.9

表3 长期试验测定结果
Table 3 Results of long term test

批号	放置时间	外观色泽	pH 值	前列地尔/%	前列腺素 A1/%
20151125	0 月	白色乳状液体	5.5	118.4	19.2
	3 月	白色乳状液体	5.5	114.3	23.9
	6 月	白色乳状液体	5.6	110.4	27.3
	9 月	白色乳状液体	5.5	106.4	30.8
	12 月	白色乳状液体	5.5	100.1	36.4
20151126	0 月	白色乳状液体	5.7	118.1	19.6
	3 月	白色乳状液体	5.7	113.9	24.1
	6 月	白色乳状液体	5.6	109.6	28.0
	9 月	白色乳状液体	5.6	106.5	31.2
	12 月	白色乳状液体	5.7	101.7	35.7
20151127	0 月	白色乳状液体	5.6	117.8	19.3
	3 月	白色乳状液体	5.6	114.6	22.3
	6 月	白色乳状液体	5.5	110.1	26.7
	9 月	白色乳状液体	5.6	105.9	30.8
	12 月	白色乳状液体	5.6	101.8	34.1

实验结果表明,本品3批前列地尔注射液在4℃条件下放置12个月,其外观性状、有关物质及含量等各项指标均符合相关要求。

4 结论与讨论

前列地尔注射液是由主药、磷脂、豆油、水等经高压均质后制备的乳剂注射液。其主成分是前列

地尔,化学名为11 α ,15(S)-二羟基-9-羧基-13-反前列烯酸。首先,从结构上分析,前列地尔的结构中同时含有双键、羟基酮、羧酸,因此与酸碱均能反应,在实际试验中发现前列地尔对碱更加敏感,且易被氧化;其次,磷脂是乳剂中必不可少的辅料,本身不稳定,容易发生氧化分解;第三,乳剂为热

力学不稳定体系, 容易受到环境的影响, 在贮存和放置过程中发生分层、粒径增大、破乳等变化, 这些特性都会影响前列地尔注射液的稳定性。

影响因素试验的数据可以看出, 前列地尔注射液在光照、高温的条件下含量不稳定, 随着温度升高和放置时间的延长, 前列地尔的含量也随之降低, 提示前列地尔注射液在贮存的时候应注意避光和控制温度, 最好在冷藏条件下保存; 加速试验和长期试验的结果表明, 前列地尔注射液在 12 个月的考察期内含量和有关物质 A1 的变动相对稳定, 各项数据均在合格范围内, 因此我们建议前列地尔注射液的贮存期可以暂定为 1 年, 后期持续进行 18 个月、24 个月的稳定性考察。

为了改善前列地尔注射液中主成分的不稳定性, 后续进行前列地尔冻干乳剂的研制, 将液体状态的乳剂, 通过特殊的冻干工艺, 变更为固体粉末, 减少环境对主成分的氧化、水解和降解的影响, 以期达到不需低温保存、有良好的热稳定性和延长有效期的设计, 前列地尔冻干乳剂是一种有广阔市场前景的前列地尔新制剂。

参考文献

- [1] 袁 红, 冯秀萍. 前列地尔治疗心血管疾病的疗效及护理 [J]. 内蒙古中医药, 2011, 30(21): 164.
- [2] 胡 志, 高 丽, 孙秀峰, 等. 前列地尔临床应用的综合评价 [J]. 中国处方药, 2005, 4(37): 73-77.
- [3] 吴连春. 前列地尔的临床应用进展 [J]. 河北联合大学学报, 2013, 15(2): 185-186.
- [4] 陈有桂. 疏血通注射液与前列地尔注射液治疗脑梗死的疗效分析 [J]. 青海医药杂志, 2016, 46(4): 68-69.
- [5] 刘希建. 前列地尔治疗冠心病心肌缺血 60 例的疗效评价 [J]. 中西医结合心血管病杂志, 2016, 4(4): 21-23.
- [6] 赵筱娟, 周淑娟, 李红莉. 前列地尔注射液联合缬沙坦分散片治疗糖尿病肾病的临床疗效分析 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(5): 825-827.
- [7] 陈 灿. 益肾化湿颗粒联合前列地尔注射液治疗慢性肾功能衰竭的临床研究 [J]. 基层医学论坛, 2016, 20(13): 1783-1784.
- [8] 王振纲, 肖殿模, 朱广瑾. 前列腺素与环核苷酸 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [9] 刘志煜, 朱丽中, 蔡祖辉. 前列腺素 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1975.
- [10] 李 萍, 刘宏大, 王宏英, 等. 前列地尔乳剂的柱后衍生化 HPLC 法测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(5): 368-370.
- [11] 李 萍, 刘宏大, 王宏英, 等. 柱后衍生化 HPLC 法测定前列地尔乳剂的有关物质 [J]. 中国医药导报, 2010, 7(34): 47-49.
- [12] 中国药典 [S]. 四部. 2015.