

辅料对碘昔兰注射液高温灭菌稳定性的影响

刘娅灵, 邹霏, 罗世能, 谢敏浩, 何拥军, 吴军, 王洪勇 (江苏省原子医学研究所, 江苏 无锡 214063)

摘要:目的 考察不同辅料对国产碘昔兰注射液高温灭菌稳定性的影响。方法 测定 120 °C 高温灭菌前后 8 组含不同辅料的碘昔兰注射液的 pH 值、游离碘离子浓度、色谱纯和含量变化。结果 同时含三羟甲基氨基甲烷 1.0 mg · mL⁻¹ 和乙二胺四乙酸二钠钙 0.1 mg · mL⁻¹ 2 种辅料时, 碘昔兰注射液最稳定。结论 碘昔兰注射液应含辅料三羟甲基氨基甲烷 1.0 mg · mL⁻¹ 和乙二胺四乙酸二钠钙 0.1 mg · mL⁻¹。

关键词: 辅料; 碘昔兰注射液; 稳定性

中图分类号: R927.13 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2009)03-0221-03

The Effects of Excipient on the Sterile Stability of Ioxilan Injection

LIU Yaling, ZOU Pei, LUO Shineng, XIE Minhao, HE Yongjun, WU Jun, WANG Hongyong (Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effects of excipient on the sterile stability of Ioxilan Injection. **METHODS** The pH values, free iodide, chromatographic purity and the contents of Ioxilan Injection were measured. The change were calculated before and after sterilization at 120 °C. **RESULTS** The results showed that the injection containing tris (hydroxymethyl) aminomethane 1.0 mg · mL⁻¹ and EDTA disodium calcium 0.1 mg · mL⁻¹ is the stablest. **CONCLUSION** Ioxilan Injection should contain tris (hydroxymethyl) aminomethane 1.0 mg · mL⁻¹ and EDTA disodium calcium 0.1 mg · mL⁻¹.

KEY WORDS: excipient; Ioxilan Injection; stability

碘昔兰^[1] (Ioxilan) 化学名为 N-(2-羟乙基)-N'-(2,3-二羟丙基)-5-[N-(2,3-二羟丙基)-乙酰胺基]-2,4,6-三碘-1,3-苯二甲酰胺, 是由美国 Cooking 造影剂公司和日本中外制药公司研制开发的非离子型 X 线造影剂, 1995 年在美国上市, 由于其分子中的不对称结构而具有较低的渗透压和黏度, 因而有较好的全身耐受性, 是新一代的非离子型 X 线造影剂。

笔者设计并合成了碘昔兰原料, 并试制碘昔兰注射液。据文献报道^[2], 与碘昔兰同类型的其他造影剂在高温灭菌时会发生侧链环化副反应, 生成碘化氢, 使注射液 pH 下降, 碘离子浓度增加; 而 pH 下降将使注射液显酸性, 不适于静脉注射, 碘离子浓度的增加将增加发生严重过敏反应的几率。因此在造影剂的制备过程中抑制环化副反应的发生对于保证注射液的质量非常重要。同一文献报道在造影剂制备过程中加入适量的辅料将增加注射液的高温灭菌稳定性, 抑制环化副反应的发生, 防止注射液 pH 下

降, 碘离子上升。本文的目的即是参考同类型注射液碘佛醇和碘海醇的处方以及文献^[2]中使用的不同种类的酸碱缓冲剂, 设计处方以考察不同辅料对碘昔兰注射液的高温灭菌稳定性的影响, 以确定碘昔兰注射液的配方。

1 仪器与试剂

pHS-3C 精密酸度计 (上海精密科学仪器有限公司); Beckman-DU 600 紫外分光光度计 (贝克曼仪器公司); Sartorius BS 210S 电子分析天平 (北京赛多利斯天平有限公司); 德国 KNAUER 公司高效液相色谱仪 (K-501 型泵, K-2501 型紫外检测器, Eurochrom2000 数据工作站); YXQSG41.280 电手热手提式高压蒸汽消毒器 (无锡市第二医疗器械厂)。

碘昔兰 (自制, 批号: 1026, 含量: 99.4%); 乙二胺四乙酸二钠钙 (分析纯, 上海试剂一厂, 批号: 20050806); 三羟甲基氨基甲烷 (分析纯, 上海化学试剂公司, 批号: 20051028); 磷酸二氢钠 (分析纯, 连云港化学试剂厂, 批号: 20050312); 碳酸氢钠 (分

基金项目: 江苏省卫生厅科研项目 (K200412)

作者简介: 刘娅灵, 女, 硕士, 副研究员 Tel: (0510)85508875

E-mail: liuyaling158@sina.com

析纯,上海虹光化工厂,批号:20051024);柠檬酸(分析纯,上海化学试剂公司,批号:20050523);碘昔兰对照品(进口美国药典对照品,批号:34520),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 实验方法

2.1.1 碘昔兰注射液的配制 称取碘昔兰 62.34 g、辅料适量,加注射用水溶解,调节 pH 至约 6.8,稀释至 100 mL,用 0.65 μm 混合纤维素酯微孔滤膜过滤,封装于 10 mL 瓶中,于 120 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min ($F_0 > 8$),取出冷至室温,得含碘量为 300 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的碘昔兰注射液。共配制分别含辅料三羟甲基氨基甲烷 (Tris, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、乙二胺四乙酸二钠钙 (EDTANa₂Ca, 0.1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、柠檬酸 (citric acid, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、磷酸二氢钠 (NaH₂PO₄, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、碳酸氢钠 (NaHCO₃, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、同时含三羟甲基氨基甲烷 (1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和乙二胺四乙酸二钠钙 (0.1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、同时含三羟甲基氨基甲烷 (3.6 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和乙二胺四乙酸二钠钙 (0.2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 以及不含辅料的 8 组碘昔兰注射液。

2.1.2 碘昔兰注射液 pH 值测定 按中国药典规定方法^[3]测定 8 组碘昔兰注射液灭菌前后 pH 值。

2.1.3 碘昔兰注射液游离碘离子浓度测定^[4] 配制含 1 000 $\mu\text{gI} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 KI 水溶液,用水定量稀释成 200, 100, 50, 25 和 10 $\mu\text{gI} \cdot \text{mL}^{-1}$, 作为标准溶液。精密移取各标准溶液 2 mL 至具塞比色管中,各加水 12 mL。精密移取碘昔兰注射液 2.0 mL 至一具塞比色管中,加水 12 mL,振摇作为测试溶液。另外再取一管加水 14 mL 作为空白。加入 2N 硫酸 2.5 mL 和甲苯 4 mL 至上述各标准溶液、测试溶液和空白溶液中,盖上塞子,振摇 1 min,加入亚硝酸钠溶液 (2 \rightarrow 100) 0.5 mL 至各溶液中,盖上塞子,猛烈振摇 1 min,分层,转移甲苯层至离心管中,1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min。以空白溶液为对照,在 498 nm 处相继测量测试溶液和各标准溶液的吸光度。通过标准溶液的浓度和吸光度得到的线性回归方程计算得到碘昔兰注射液的碘离子含量。

2.1.4 HPLC 检测碘昔兰注射液的有关物质^[4]

色谱系统:液相色谱配有 245 nm 检测器和 25 cm \times 4.6 mm 装有 5 μm L8 填料的不锈钢柱,流速为 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$,流动相为乙腈:水 (87:13)。称取 USP 碘昔兰对照品 30 mg 至 50 mL 量瓶中,加入 5 mL 水,用乙腈稀释至刻度,混匀得标准溶液 a;精密量取 1 mL 标准溶液 a,加水稀释成 100

mL,混匀得标准溶液 b。取碘昔兰注射液 1 mL 稀释 1 000 倍作为测试溶液。取 10 μL 标准溶液 b 注入液相色谱仪,调节仪器灵敏度,使主成分峰高约为满量程的 20 ~ 25%。进样 10 μL 标准溶液 a,记录峰响应至主成分峰保留时间的 3.5 倍,紧跟碘昔兰第二个异构体的峰后面的两个最大的杂质峰之间的分离度不少于 0.3。进样测试溶液,记录色谱图,测量各个峰的面积,计算每个杂质峰的百分比。

2.1.5 碘昔兰注射液的含量测定^[4] 精密量取注射液 1 mL 至 100 mL 圆底瓶中,加入锌粉 1 g 和 1.25 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠 40 mL,接上用 5 ~ 10 $^{\circ}\text{C}$ 水冷凝的冷凝管,加入少量玻璃沸石,微回流 1 h。冷至室温,用水 10 ~ 20 mL 冲洗冷凝管。把烧瓶从冷凝器下取出,加入冰醋酸 5 mL,混匀,冷却。用快速滤纸过滤,用 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸洗涤烧瓶和滤器,合并洗液和滤液。加入四溴酚酞乙酯指示液 5 mL,用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸银滴定液滴定,持续搅拌,直至沉淀变绿。每毫升 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸银相当于 26.37 mg 碘昔兰,计算得到碘昔兰注射液的含量。

2.2 实验结果

2.2.1 碘昔兰注射液灭菌前后的 pH 值变化 结果见表 1。

表 1 碘昔兰注射液灭菌前后 pH 值的变化

Tab 1 The pH values of Ioxilan Injection before and after sterilization

辅料/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	灭菌前 pH	灭菌后 pH	pH 变化率/%
无	6.51	5.61	-13.82
Tris 1.0	6.87	6.96	1.31
EDTANa ₂ Ca 0.1	6.92	6.37	-7.95
Citric acid 1.0	6.72	6.23	-7.29
NaH ₂ PO ₄ 1.0	6.68	5.93	-11.22
NaHCO ₃ 1.0	6.76	6.16	-8.88
Tris 1.0 + EDTANa ₂ Ca 0.1	7.07	7.04	-0.42
Tris 3.6 + EDTANa ₂ Ca 0.2	6.68	6.66	-0.30

2.2.2 碘昔兰注射液灭菌前后的游离碘离子量变化 结果见表 2。

表 2 碘昔兰注射液灭菌前后游离碘离子的变化

Tab 2 The free iodide of Ioxilan Injection before and after sterilization

辅料 $/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	灭菌前 I ⁻ $/\mu\text{gI} \cdot \text{mL}^{-1}$	灭菌后 I ⁻ $/\mu\text{gI} \cdot \text{mL}^{-1}$	I ⁻ 变化率 /%
无	12.35	16.66	34.90
Tris 1.0	12.43	13.22	6.36
EDTANa ₂ Ca 0.1	12.39	14.84	19.77
Citric acid 1.0	12.41	15.87	27.88
NaH ₂ PO ₄ 1.0	12.33	16.23	31.63
NaHCO ₃ 1.0	12.37	15.90	28.54
Tris 1.0 + EDTANa ₂ Ca 0.1	12.40	12.59	1.53
Tris 3.6 + EDTANa ₂ Ca 0.2	12.38	12.60	1.78

2.2.3 碘昔兰注射液灭菌前后的色谱纯度和含量变化 结果见表3。

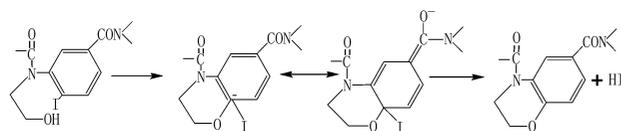
表3 碘昔兰注射液灭菌前后色谱纯度和含量的变化

Tab 3 The chromatographic purity and the contents of Ioxilan Injection before and after sterilization

辅料 /mg · mL ⁻¹	色谱纯度/%		含量/%	
	灭菌前	灭菌后	灭菌前	灭菌后
无	99.1	99.2	98.7	98.9
Tris 1.0	99.0	99.1	98.4	98.2
EDTANa ₂ Ca 0.1	99.1	99.1	99.1	98.6
Citric acid 1.0	99.1	99.0	97.9	98.0
NaH ₂ PO ₄ 1.0	99.2	99.1	98.0	98.4
NaHCO ₃ 1.0	99.1	99.1	97.6	97.9
Tris 1.0 + EDTANa ₂ Ca 0.1	99.0	99.1	98.2	98.3
Tris 3.6 + EDTANa ₂ Ca 0.2	99.1	99.1	98.6	98.8

3 讨论

文献报道^[2],分子结构中含有 m-甲酰胺基-o-碘-N-(β-羟烷基)苯胺基团的三碘苯系非离子型 X 线造影剂在高温灭菌过程中会发生如下的环化副反应生成碘化氢。



此副反应的发生将使得注射液 pH 值下降,碘离子含量上升。pH 下降将使注射液不适用于静脉大剂量注射,而碘离子以及氧化生成的游离碘将增加造影剂发生严重过敏反应的几率,对于造影剂的碘离子含量需严格控制。因此在该类化合物的制剂中需加入适量的辅料来降低副反应的发生,保证制剂的质量。例如该类化合物中目前国内已上市的碘海醇注射液含三羟甲基氨基甲烷 1.2 mg · mL⁻¹ 和乙二胺四乙酸二钠钙 0.1 mg · mL⁻¹,碘佛醇注射液含三羟甲基氨基甲烷 3.6 mg · mL⁻¹ 和乙二胺四乙酸二钠钙 0.2 mg · mL⁻¹。

文献报道使溶液呈酸性(pH 值低于 5)能抑制环化副反应的发生。但由于注射液直接注入人体,所以它的 pH 值又必须保持在与体液相当的中性。由于三羟甲基氨基甲烷有随着温度升高 pH 值下降、温度下降 pH 值又恢复的性质,所以在非离子型 X 线造影剂的制备过程中加入三羟甲基氨基甲烷,在室温时调注射液的 pH 值为中性,在灭菌过程中随着温度的上升,溶液 pH 值下降,使溶液成酸性以抑制环化副反应的发生。三羟甲基氨基甲烷加到溶液中,温度每升高 10 °C,溶液的 pH 值将下降 0.25 左右,如室温时 pH 值为 7.4,120 °C 时会降到 4.9,

冷却后又将回升,溶液的 pH 值有可能不会升至原来的数值,但也会升到 7.2 左右。加入三羟甲基氨基甲烷的量一般为 5 ~ 25 mmol · L⁻¹。在注射液中同时加入少量的乙二胺四乙酸二钠钙作为金属离子络合剂,它能与注射液中存在的痕量金属生成稳固的螯合物以免除金属离子对药物的催化氧化,从而提高注射液稳定性。

本实验设计参照参考文献^[2]和国产碘海醇和碘佛醇注射液的制剂配方,在碘昔兰注射液的制备过程加入不同量的三羟甲基氨基甲烷和乙二胺四乙酸二钠钙以及其他注射液制备过程中常用的酸碱缓冲剂来考察不同辅料对碘昔兰注射液高温灭菌稳定性的影响。从实验结果看出,当注射液中含有三羟甲基氨基甲烷时性质稳定,而不加辅料的注射液和以其他常用缓冲剂为辅料的碘昔兰注射液 pH 值下降,碘离子含量上升。注射液的色谱纯度和含量均没有变化。这是因为根据 pH 值下降的量计算出产生的氢离子约为 10⁻⁶ mol · L⁻¹,同时生成的母环副产物约为 0.000 1%,低于高效液相检测限,所以用高效液相检查色谱纯度不发生变化。含量测定的机理是将有机碘通过化学反应生成无机碘,用硝酸银滴定,该方法同时也将副反应生成的碘离子滴定在内,因此含量也未发生变化。这也进一步说明碘昔兰注射液在高温灭菌过程中主要发生的副反应就是环化副反应。实验结果表明当注射液中同时含有三羟甲基氨基甲烷和乙二胺四乙酸二钠钙时注射液的 pH 值下降最少,碘离子含量基本没有变化,含有三羟甲基氨基甲烷 1.0 mg · mL⁻¹、乙二胺四乙酸二钠钙 0.1 mg · mL⁻¹ 和三羟甲基氨基甲烷 3.6 mg · mL⁻¹、乙二胺四乙酸二钠钙 0.2 mg · mL⁻¹ 的两组注射液质量没有明显区别,我们选择辅料较少的一组。因此我们最终确定碘昔兰注射液的制剂配方中应同时含有三羟甲基氨基甲烷 1.0 mg · mL⁻¹ 和乙二胺四乙酸二钠钙 0.1 mg · mL⁻¹。

REFERENCES

- [1] SOVAK, MILOS, RANGANATHAN. Non-ionic polyol contrast media from ionic contrast media: US, 4, 954, 348 [P]. 1988-07-01.
- [2] FRIDTJOV B R, MICHAEL J K. A process for the preparation of a sterile injectable physiologically acceptable solution of an X-ray contrast agent and solutions of the X-ray contrast agent and a buffer: GB, 2, 031, 405 [P]. 1980-04-23.
- [3] Ch. P(2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 附录 VIII, 46.
- [4] USP 26 [S]. 2005: 1008.

收稿日期: 2008-03-24