

快速稳定性分析方法研究增稠剂对丙泊酚乳状注射液稳定性的影响

贺周扬¹, 王琴¹, 郭秀彩², 李闰飞¹, 吴艳华¹, 蔡文坚¹, 岳峰^{1*} (1.广东嘉博制药有限公司, 广东 清远 511500;
2.广州市第十二人民医院, 广州 510620)

摘要: 目的 考察增稠剂对丙泊酚乳状注射液稳定性的影响。方法 选用快速稳定性分析仪 LUMiSizer, 结合静置观察、离心沉淀率测定、平均粒径和 Zeta 电位测定的方法考察 3 种增稠剂——羧甲基纤维素钠、透明质酸、羧甲基壳聚糖的不同添加量对丙泊酚乳状注射液稳定性的影响。结果 羧甲基纤维素钠和羧甲基壳聚糖容易造成乳液的絮集沉淀, 透明质酸在 0.02%~0.1%用量下具有良好的悬浮稳定效果。结论 透明质酸通过形成的网状结构可以减少乳液中组分的沉降速度, 对丙泊酚乳状注射液的稳定性有明显的提高作用。

关键词: 增稠剂; 稳定性分析; LUMiSizer; 丙泊酚

中图分类号: R927.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)11-1358-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.11.014

引用本文: 贺周扬, 王琴, 郭秀彩, 等. 快速稳定性分析方法研究增稠剂对丙泊酚乳状注射液稳定性的影响[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1358-1362.

Study on Effect of Thickening Agents on the Stability of Propofol Emulsion Injection by Rapid Stability Analysis Instrument

HE Zhouyang¹, WANG Qin¹, GUO Xiucui², LI Yanfei¹, WU Yanhua¹, CAI Wenjian¹, YUE Feng^{1*} (1.Guangdong Jiabo Pharmaceutical Co., Ltd., Qingyuan 511500, China; 2.Guangzhou Twelfth Peoples's Hospital, Guangzhou 510620, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of thickening agents on the stability of propofol emulsion injection. **METHODS** The influence of three kinds of thickening agents including sodium carboxymethyl cellulose, hyaluronic acid, carboxymethyl chitosan amount on the stability of propofol emulsion injection were investigated by rapid stability analysis instrument LUMiSizer, combined with standing observation, centrifugal precipitation, average particle size, and Zeta potential. **RESULTS** Sodium carboxymethyl cellulose and carboxymethyl chitosan were easy to cause flocculation and sediment of emulsion, but good inhibition effect of sedimentation with 0.02%~0.1% of hyaluronic acid. **CONCLUSION** Hyaluronic acid can reduce the sedimentation rate of components in the emulsion by forming a reticular structure, and significantly improves the stability of propofol emulsion injection.

KEYWORDS: thickening agent; stability analysis; LUMiSizer; propofol

丙泊酚是目前临床麻醉中最常用的静脉麻醉药,用于麻醉诱导和麻醉维持^[1],具有快速、短效、苏醒迅速、无蓄积等优点^[2]。脂肪乳作为一种新型的载药体系,具有体积小、静脉刺激性小、可外周静脉给药等优点,在提高药物溶解度和稳定性、减轻不良反应、缓释给药和基因治疗等方面有广阔的应用前景^[3]。

将丙泊酚制备成水包油型乳剂,可以有效提高丙泊酚的溶解度,起效快速,达到良好的麻醉效果。但是乳剂属于热力学不稳定体系,长期贮存过程中可能会发生分层、絮凝、聚集、破乳等变化,因此稳定性是乳剂开发的核心与关键^[4]。

然而传统评价乳剂稳定性的方法——观察法或离心沉淀法,在预测产品稳定性方面存在周期

长、准确性差、不易重现等缺点。为了解决稳定性快速判定的问题,可以选用 LUMiSizer 快速稳定性分析仪来考察不同工艺条件对产品稳定性的影响^[5-6]。本研究考察羧甲基纤维素钠、透明质酸、羧甲基壳聚糖 3 种增稠剂对丙泊酚乳状注射液稳定性的影响,采用快速稳定性分析仪 LUMiSizer,同时结合静置观察、离心沉淀率测定等传统方法对增稠剂的不同浓度进行筛选,为产品稳定性的提高提供参考依据。

1 仪器与试剂

LUMiSizer650 稳定性分析仪(德国 LUM 公司);JJ2000B 型电子天平(常州双杰仪器厂);DF-101S 恒温磁力搅拌器(巩义英峪高科仪器厂);T25 高剪切分散机(IKA);NS2006H 型高压均质机

作者简介:贺周扬,男,硕士,主管药师 Tel: 13620500835 E-mail: hezhouyang199@sohu.com
Tel: (0763)3299666-8210 E-mail: yuefeng@jiabopharm.com

*通信作者:岳峰,男,硕士,高级

(GEA Niro); MS2000 激光粒度仪 (Malvern Instruments Ltd); TG16-W 台式离心机(湖南湘仪有限公司); NICOMP Z3000 智能微粒检测仪(美国 PSS 公司); BW30 型机械搅拌器(上海贝尔特机电设备有限公司)。

丙泊酚(自制, 批号: H20084457)、大豆油(批号: H10983231)、蛋黄卵磷脂(批号: F20080006)均购自白云山汉方制药; 中链甘油三酸酯(辽宁新兴药业股份有限公司, 批号: H20083219); 油酸(德国 Lipoid, 批号: F20140020); 甘油(批号: F20050007)、氢氧化钠(批号: F20050011)均购自湖南尔康制药; 透明质酸(丘比株式会社, 批号: kk17140); 羧甲基纤维素钠(亚什兰化工有限公司, 批号: NPE-0045); 羧甲基壳聚糖(浙江金壳药业, 批号: M-SJ-1906002)。

2 方法

2.1 丙泊酚脂肪乳的制备

称取处方量的大豆油和中链甘油三酯置于恒温水浴锅内, 剪切分散混合均匀, 加热至 50 ℃, 加入卵磷脂、油酸和丙泊酚, 高速剪切至完全溶解, 使之成均匀澄清溶液。另取注射用水加入处方量甘油和考察量增稠剂, 见表 1, 在氮气保护下搅拌剪切混合均匀, 然后将磷脂油溶液加入甘油水中, 高速剪切后制得初乳。采用高压均质法在 60 MPa 压力下循环 6 次, 调节 pH 值至 8.0, 充氮熔封于安瓿中, 121 ℃ 高压灭菌 15 min, 即得。

表 1 增稠剂添加方案

Tab. 1 Addition scheme of thickening agents

编号	增稠剂	添加量/%
0#	空白	0
1#	羧甲基纤维素钠	0.02
2#	羧甲基纤维素钠	0.10
3#	羧甲基纤维素钠	0.50
4#	透明质酸	0.02
5#	透明质酸	0.10
6#	透明质酸	0.50
7#	羧甲基壳聚糖	0.02
8#	羧甲基壳聚糖	0.10
9#	羧甲基壳聚糖	0.50

2.2 丙泊酚的稳定性分析方法

2.2.1 静置观察 乳剂在贮藏期间容易出现的析水、沉淀、浮油和絮凝等变化作为主要的观察指标, 记录在 20 ℃ 条件下, 放置 30 d 后的样品情况。

对能够量化的析水、浮油和沉淀分别记录高度, 絮集用“+”表示, “+”越多表示现象越严重。

2.2.2 平均粒径的测定 粒径的改变往往是乳剂分层继而破乳的先兆, 因此检测贮存过程中粒径的变化至关重要。本试验采用马尔文激光粒度仪进行样品平均粒径的测定: 先将样品分散于去离子水中, 由于乳粒颗粒大小不同, 产生的衍射角度不同, 衍射光被检测器收集后转换成电信号送入计算机^[7], 从而得到颗粒的平均粒径和粒径分布。

2.2.3 Zeta 电位的测定 乳剂的稳定性与乳粒表面所带的电荷有很大关系, 而 Zeta 电位是微粒表面荷电性质及大小的标志, 是微粒分散体系物理稳定性的表征之一^[8]。本试验将待测样品用纯化水适当稀释, 将其装进电位比色皿, 选择微粒检测仪测定, 记录平均 Zeta 电位。

2.2.4 离心沉淀分析法 精密称取 2.0 g 样品, 装入离心管中, 离心机转速 4 000 r·min⁻¹, 离心时间 30 min, 离心稳定性好坏以离心沉淀率表示, 离心沉淀率计算公式如下:

$$Y = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100\%$$

式中: m_0 为离心管的质量(g); m_1 为离心管和沉淀总质量(g); m_2 为样品质量(g)。

Y 值越大, 说明底部沉淀越多, 样品越容易聚集沉降; Y 值越小, 说明增稠剂对样品起到了很好的助悬浮作用, 能够减慢溶液组分的沉降速度。

2.2.5 LUMiSizer 稳定性分析法 采用 LUMiSizer 稳定性分析仪对样品进行稳定性分析, 取乳状液 1.8 mL, 缓慢注射至样品试管底部(试管壁上禁止有残留和气泡), 温度设定为 20 ℃, 离心转速 4 000 r·min⁻¹, 每 10 s 记录 1 次样品的透射率特征线, 共扫描 300 次。

3 结果与分析

3.1 静置观察结果

没有增稠剂的 0#空白出现 1.86 mm 的析水和 2.04 mm 的沉淀, 说明丙泊酚乳状注射液添加的乳化剂和助乳化剂在一段时间后乳化能力减弱, 导致溶液出现破乳和团聚, 见表 2。

1#, 2#, 3#分别是羧甲基纤维素钠 0.02%, 0.1%, 0.5%添加量样品。吸水量相对空白有一定的减少, 但是随着添加量的增加出现了比较严重的絮集和沉淀, 说明过多的钠离子影响了乳滴之间的静电斥力, 导致发生了聚集沉淀。

表 2 静置观察结果

Tab. 2 Observation results of sample

编号	增稠剂	观察现象			
		析水/mm	浮油/mm	絮集	沉淀/mm
0#	空白	1.86	0	无	2.04
1#	羧甲基纤维素钠 0.02%	1.53	0	无	2.45
2#	羧甲基纤维素钠 0.1%	1.32	0	+	3.71
3#	羧甲基纤维素钠 0.5%	1.05	0	+++	4.33
4#	透明质酸 0.02%	1.23	0	无	0
5#	透明质酸 0.1%	0.86	0	无	0
6#	透明质酸 0.5%	0.78	0	+	0
7#	羧甲基壳聚糖 0.02%	1.65	0	无	1.84
8#	羧甲基壳聚糖 0.1%	1.43	0	无	1.56
9#	羧甲基壳聚糖 0.5%	1.35	0	++	2.38

4#, 5#, 6#是透明质酸的不同添加量, 它们相对于空白样品的析水量、沉淀量都明显减少, 说明透明质酸悬浮能力最佳, 同时具有良好的控制析水的能力。

7#, 8#, 9#中羧甲基壳聚糖控制析水的能力较好, 悬浮能力先增加后减少, 添加量过多时容易发生絮集和沉淀。

3.2 平均粒径和 Zeta 电位的测定结果

在 30 d 的贮藏期内, 各组样品的平均粒径整体趋势变大, 电位逐渐变小, 见表 3。在 0.02%添加量条件下, 3 种增稠剂对样品粒径电位影响不大; 当添加量增加到 0.5%时, 3#, 9#样品粒径明显变大, 这与静置观察到的絮集现象一致, 说明溶液的整体黏度显著增加影响到了测定粒径时候的分散效果, 导致粒径结果显著增大。同时 3#放置过程中的电位下降, 也说明乳液所带的荷电量变化影响到了溶液的稳定性。透明质酸在整个过程中都表现出良好的分散性和悬浮性, 样品的粒径和电位保持相对稳定。

表 3 样品粒径和电位的测定结果

Tab. 3 Determination results of sample size and potential

编号	增稠剂	粒径/nm		电位/mV	
		0 d	30 d	0 d	30 d
0#	空白	198	210	-24.77	-22.02
1#	羧甲基纤维素钠 0.02%	198	205	-28.95	-27.39
2#	羧甲基纤维素钠 0.1%	200	211	-26.94	-19.21
3#	羧甲基纤维素钠 0.5%	323	440	-21.33	-12.42
4#	透明质酸 0.02%	193	200	-26.34	-25.66
5#	透明质酸 0.1%	199	204	-35.08	-31.81
6#	透明质酸 0.5%	201	203	-55.31	-57.89
7#	羧甲基壳聚糖 0.02%	210	223	-22.24	-21.49
8#	羧甲基壳聚糖 0.1%	250	260	-25.48	-20.65
9#	羧甲基壳聚糖 0.5%	288	325	-29.49	-26.14

3.3 离心沉淀率测定结果

随着羧甲基纤维素钠添加量增加, 样品离心沉淀率逐渐变大, 见表 4。透明质酸对样品具有较强的悬浮能力, 与空白相比沉淀率明显减少, 能够有效减慢溶液组分的沉降速度; 羧甲基壳聚糖导致乳液的离心沉淀率有小幅增加, 但各添加量的区别不明显, 这是因为羧甲基壳聚糖容易在溶液中形成弱凝胶组分, 从而在离心过程中形成相似的沉淀状态, 产生接近的离心效果。

表 4 样品的离心沉淀率

Tab. 4 Centrifugal sedimentation rate of sample

编号	增稠剂	离心沉淀率/%
0#	空白	0.37
1#	羧甲基纤维素钠 0.02%	0.38
2#	羧甲基纤维素钠 0.1%	0.42
3#	羧甲基纤维素钠 0.5%	0.49
4#	透明质酸 0.02%	0.20
5#	透明质酸 0.1%	0.28
6#	透明质酸 0.5%	0.23
7#	羧甲基壳聚糖 0.02%	0.37
8#	羧甲基壳聚糖 0.1%	0.43
9#	羧甲基壳聚糖 0.5%	0.38

3.4 LUMiSizer 稳定性分析结果

3.4.1 稳定性图谱结果 使用不同增稠剂方案的 0#~9#样品利用 LUMiSizer 进行稳定性分析后, 图谱结果见图 1。仪器采用斯托克斯公式的离心加速方法和朗伯比尔定律光学技术监测样品的稳定性、全程分离步骤、沉降及悬浮并存的复杂分离行为。记录样品在离心作用下红外透光率(transmitted light, T)的变化并绘制谱线, 谱线左侧为样品的顶部, 右侧为样品的底部。

0#空白样品谱线的变化趋势随着时间延长, 上下层发生了析水和沉淀。

羧甲基纤维素钠方案中, 随着添加量的增加, 中部位置的透光率明显下降, 表明增稠剂的悬浮能力增强, 这部分粒子悬浮较好。但在 0.5%的添加量条件下, 溶液整体的稳定性下降, 出现了明显的分层和沉淀。

透明质酸方案中, 图谱与空白区别不是很大, 变化趋势并没反映出在 0.5%添加量下静置观察到的少量聚集现象, 这与 LUMiSizer 加速离心的分析方法有关, 当离心速度过大或离心时间过长时, 透明质酸整体所形成的“悬浮力”不足以阻止体系内组分的迁移, 导致沉降结果与空白一样。

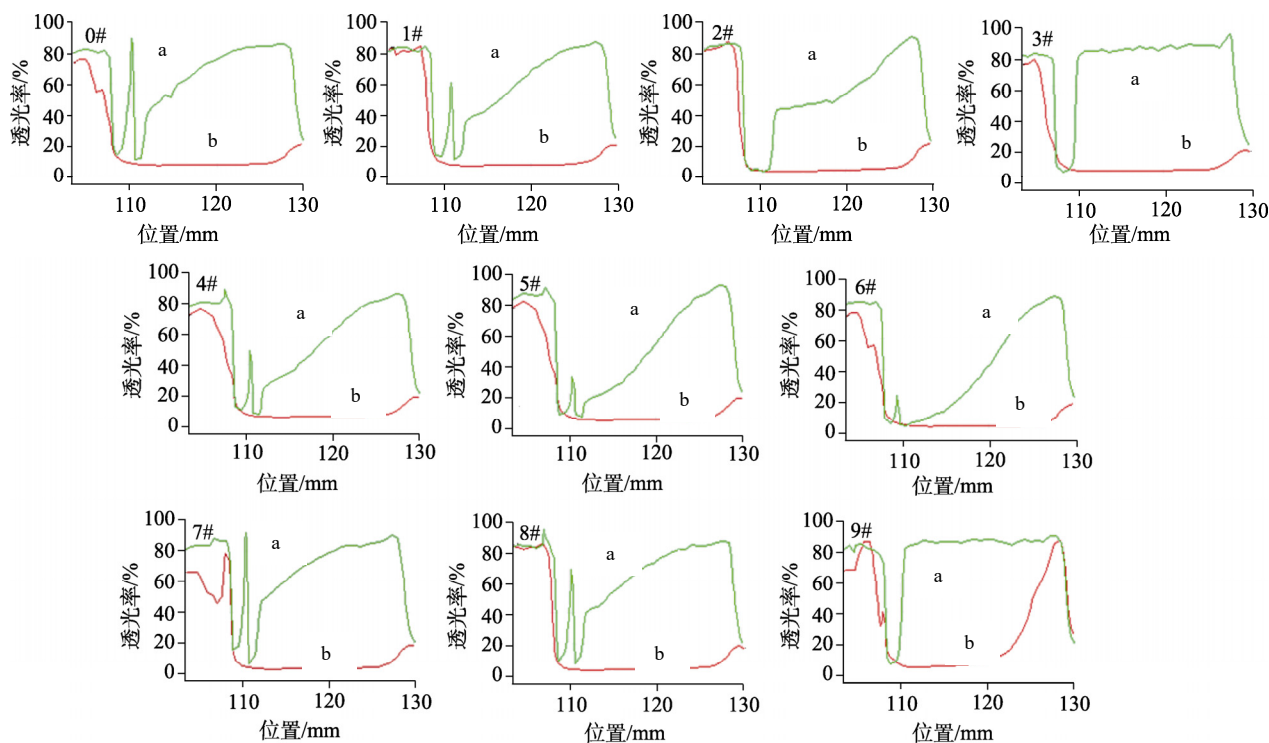


图1 LUMiSizer 稳定性分析图谱

a-结束谱线; b-起始谱线; 0#-空白; 1#-羧甲基纤维素钠 0.02%; 2#-羧甲基纤维素钠 0.1%; 3#-羧甲基纤维素钠 0.5%; 4#-透明质酸 0.02%; 5#-透明质酸 0.1%; 6#-透明质酸 0.5%; 7#-羧甲基壳聚糖 0.02%; 8#-羧甲基壳聚糖 0.1%; 9#-羧甲基壳聚糖 0.5%。

Fig. 1 Stability analysis chart about LUMiSizer

a-end line; b-starting line; 0#-blank; 1#-sodium carboxymethyl cellulose 0.02%; 2#-sodium carboxymethyl cellulose 0.1%; 3#-sodium carboxymethyl cellulose 0.5%; 4#-hyaluronic acid 0.02%; 5#-hyaluronic acid 0.1%; 6#-hyaluronic acid 0.5%; 7#-carboxymethyl chitosan 0.02%; 8#-carboxymethyl chitosan 0.1%; 9#-carboxymethyl chitosan 0.5%.

羧甲基壳聚糖对溶液的增稠效果和羧甲基纤维素钠类似, 在 0.02%, 0.1%添加量下相差不大, 增加到 0.5%浓度则发生絮集沉淀。

3.4.2 澄清指数分析 澄清指数也称不稳定指数, 是指样品分离结束时的指数。不稳定指数越大, 说明在一定时间内样品的透光率变化越快, 即样品的移动分层速度变化越快, 样品越不稳定; 反之不稳定系数数值越小, 样品越稳定。当澄清指数接近 1 时表明样品基本已分离完全, 接近 0 则表示分离较慢不明显。

羧甲基纤维素钠方案中, 虽然添加剂本身具有一定的悬浮能力, 但由于其影响了乳液的表面荷电, 通过 LUMiSizer 加速离心沉降, 不稳定系数逐渐升高, 见表 5。

透明质酸的加入对样品的澄清指数有明显改善, 良好的悬浮能力使得溶液整体的稳定性得到提高, 但添加量也不能过多, 在 0.5%添加量时, 样品的稳定性下降。

羧甲基壳聚糖澄清指数呈先降后升的趋势, 说明添加量过多, 黏度过大, 反而溶液发生絮集沉淀, 造成样品的不稳定。

表5 样品的澄清指数

Tab. 5 Clarification index of sample

编号	增稠剂	澄清指数
0#	空白	0.675
1#	羧甲基纤维素钠 0.02%	0.703
2#	羧甲基纤维素钠 0.1%	0.723
3#	羧甲基纤维素钠 0.5%	0.799
4#	透明质酸 0.02%	0.560
5#	透明质酸 0.1%	0.605
6#	透明质酸 0.5%	0.776
7#	羧甲基壳聚糖 0.02%	0.624
8#	羧甲基壳聚糖 0.1%	0.614
9#	羧甲基壳聚糖 0.5%	0.804

4 讨论

本实验结果表明, 3 种增稠剂对乳状溶液体系都具有一定的悬浮能力, 但过多的羧甲基纤维素钠会降低乳滴表面荷电量, 影响 Zeta 电位, 造成溶液发生絮集沉淀。与此同时, 羧甲基壳聚糖的高浓度也同样产生过大的凝胶强度导致絮集沉淀的发生。透明质酸通过形成的三级网状结构可以大大减少乳液中组分的沉降速度, 具有良好的悬浮作用, 控制沉淀的效果明显, 因此, 在这 3 种

增稠剂中,透明质酸是提高乳剂稳定性效果比较好的增稠剂。

通过对传统的稳定性考察方法与快速稳定性分析方法对比,可以看出快速稳定性分析仪在预测稳定性方面具有速度快、灵敏度高优点,它能够完整记录样品分离的过程,并且直观显示计算所得的数据。同时 LUMisizer 离心加速的分析方法在一定程度上能够反映体系内部组分之间的结合情况(表 4),2#,3#图谱反映了羧甲基纤维素钠导致溶液絮凝后迁移状态,但离心速度与时间过大则会产生与实际观察结果不符的结论,如表 4 中的 6#样品,说明测试时选用的参数条件需要进一步考察。

目前国内外应用的丙泊酚剂型为脂肪乳剂,这一剂型属于热力学不稳定的非均相系,长期放置会产生粒径增大、破乳、分层或药物含量变化等现象^[9-10]。本实验通过加入增稠剂来提高乳剂的稳定性,并对增稠剂的种类和浓度进行了初步的考察,确定了透明质酸在 0.02%~0.1%用量下具有良好的抑制沉淀效果。同时本研究所选用的透明质酸为药用注射级别,分子量为 500~1 490 kDa,可用作骨关节注射液、滴眼液、手术防黏连等产品,但应用于丙泊酚乳状注射液中的产品安全性还需要做进一步的评价和研究。

REFERENCES

- [1] LIU Q, HONG J, LI X Y. Pharmacological mechanism of propofol and its new clinical usage[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2010, 15(7): 836-840.
- [2] 孙雪华, 曾邦雄. 丙泊酚的麻醉作用机制[J]. 临床麻醉学杂志, 2008, 24(4): 364-365.
- [3] ZHANG H L, WANG C G, WANG C L. Research about prescription and technology of propofol-loaded emulsion[J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2007, 19(5): 31-33, 75.
- [4] SU J F, ZHOU Y Y, LIU X R, et al. Investigation on stabilities of seal oil based lipid emulsion[J]. J Guangdong Pharm Univ(广东药学院学报), 2013, 29(1): 16-20.
- [5] TAI K D, ZHAO S M, YANG Z H, et al. Effect of high-pressure homogenization on vesicle characteristics and stability of liposomes[J]. Food Sci(食品科学), 2019, 40(17): 169-177.
- [6] WU M H, WANG L, HE M. Effect of high-pressure micro-jet homogeneous on curcumin nanoemulsion stability[J]. J Chin Inst Food Sci Technol(中国食品学报), 2018, 18(5): 51-57.
- [7] WANG L P, ZHU Y J, FENG X Q, et al. Study on influence of homogenization parameters on the stability of oats milk[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2014, 35(18): 324-327, 354.
- [8] LUO R C, WANG S L, ZHOU X T, et al. Preparation and characteristics of parenteral submicroemulsion containing propofol and lidocaine hydrochloride[J]. Chin J Pharm(中国药理学杂志: 网络版), 2008, 6(2): 30-35.
- [9] XU D X, WANG X Y, YOU J, et al. The influence of protein-polysaccharide conjugate on the stability of the β -carotene emulsion[J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2012, 33(4): 9-13.
- [10] LU D, XIE C Y, YU H Q, et al. Determination of 5-hydroxymethylfurfural in compatibility of propofol medium/long-chain fat emulsion with injection containing glucose by HPLC[J]. Pharm Today(今日药学), 2018, 28(11): 736-739.

收稿日期: 2020-06-23

(本文责编: 曹粤峰)