

长效沙星注射液的化学稳定性试验

李引乾¹, 杨亚军^{1,2}, 吴秋侠¹, 黄勇旗¹, 刘江明¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 石家庄华牧牧业有限公司, 河北 石家庄 050061)

[摘要] 为了进一步为长效沙星(培氟沙星)注射液的临床应用提供依据,以二蒸水为溶剂,采用紫外-可见分光光度法,在190~400 nm波长范围内进行全波段扫描,以最大吸收波长确定为培氟沙星的测定波长,最后以光加速试验和经典恒温热加速试验考察了长效沙星注射液的稳定性。结果表明,培氟沙星的测定波长为274 nm,在2~10 µg/mL质量浓度范围内,长效沙星溶液的吸光度与其质量浓度之间有良好的线性关系,平均回收率为100.43%。长效沙星注射液对热稳定,对光不稳定,在避光、室温(25 °C)条件下的有效期暂定为2年。

[关键词] 长效沙星注射液;培氟沙星;稳定性;有效期

[中图分类号] S859.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)11-0037-04

Studies on chemistry stability of pefloxacin injection

LI Yin-qian¹, YANG Ya-jun^{1,2}, WU Qiu-xia¹, HUANG Yong-qi¹, LIU Jiang-ming¹

(1 College of Animal Sciences and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shijiazhang Huamu Poultry Industry CO., Ltd., Shijiazhang, Hebei 050061, China)

Abstract: Stability of pefloxacin injection was carried out in order to supply proof for clinic use of the injection. Pefloxacin injection was scanned by UV-Vis within 190 - 400 nm wavelength to determine the wavelength which can be used to measured pefloxacin in pefloxacin injection, with distilled water as menstruum. Then stability of pefloxacin injection was assessed through light accelerated testing and classical constant temperature accelerated testing. The results showed that content in pefloxacin injection could be measured by UV-Vis at 274 nm. The calibration curve was linear in the concentration ranged 2 - 10 µg/mL ($r=0.9976$, $n=9$), equation of calibration curve was: $C=0.1462+11.2769A$, and the method recoveries were 100.43%. The injection was stable for heat, but unstable for light. It could be forecasted that period of validity of the injection was two years under room-temperature (25 °C) and away from light.

Key words: pefloxacin injection; pefloxacin; stability; period of validity

长效沙星注射液是以培氟沙星(Pefloxacin)为主药研制的一种兽药制剂。培氟沙星,又名甲氟哌酸,属第3代喹诺酮类药物,即氟喹诺酮类(Fluoroquinolones, FQNs),由Rogar Bellon公司研究开发,于1985年首先在法国上市。该类药物主要是通过抑制细菌DNA促旋酶(DNA gyrase)的活性,阻止DNA复制,以达到快速杀菌作用,具有抗菌活性强,抗菌谱广,生物利用度高,细胞穿透力强,组织分

布广,毒性低等特点^[1-2]。培氟沙星的半衰期在同类药物中最长^[3-5],故又称长效沙星。长效沙星被广泛应用于由敏感菌引起的泌尿系统、呼吸系统、消化系统、中枢神经系统的感染,且疗效显著^[6-7]。

近几年的临床实践证明,长效沙星注射液是一种广谱高效、毒副作用小、给药方便的抗菌药,特别是对动物的细菌性腹泻作用显著^[8-10]。药物的稳定性试验是制定制剂有效期的依据,但对长效沙星注

收稿日期] 2006-10-30

[作者简介] 李引乾(1962-),男,陕西岐山人,副教授,博士,主要从事兽医药理学与毒理学研究。

射液的稳定性研究尚未见报道。本研究拟在建立培氟沙星含量测定方法的基础上,对长效沙星注射液的稳定性进行试验,以期进一步为长效沙星注射液的临床应用提供依据。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器、药品与试剂

SPECORD 50 紫外-可见分光光度计,德国耶拿(jena)分析仪器股份公司产品;ST- II型照度计,北京师范大学光电仪器厂产品。

培氟沙星标准品,由中国兽医药品监察所提供,含量 99.9%,批号:H030304;培氟沙星原粉,浙江永新化工厂生产,批号:20030809;长效沙星注射液,西北农林科技大学药理教研室研制,批号:20040412;其他药品试剂均为 AR 或中国药典规格。

1.2 培氟沙星含量的测定

1.2.1 测定波长的确定 精密称取培氟沙星标准品适量,加二蒸水溶解,配成质量浓度为 $6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的溶液,在 $190\sim 400\text{ nm}$ 波长范围内进行全波段扫描,并记录紫外吸收波谱图,以最大吸收波长确定为培氟沙星的测定波长。

精密吸取长效沙星注射液 1 mL ,用二蒸水稀释到 $4\text{ }\mu\text{g/mL}$,在 $190\sim 400\text{ nm}$ 波长范围内扫描,并记录紫外吸收波谱图,确定长效沙星注射液中培氟沙星的测定波长。

1.2.2 标准曲线的绘制 精密称取培氟沙星标准品适量,配制成 $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的标准液,然后分别精密吸取 $2,3,4,5,6,7,8,9,10\text{ mL}$ 标准液于 10 mL 容量瓶中,加二蒸水至刻度,摇匀,以二蒸水为空白对照,在最大吸收波长处测定其吸光度,重复 3 次,取

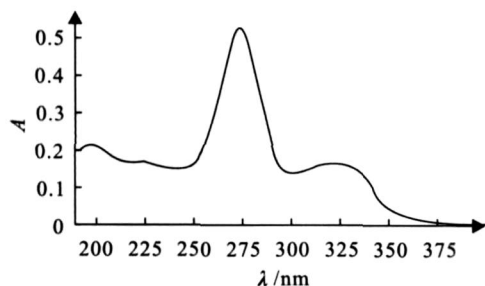


图 1 培氟沙星($6\text{ }\mu\text{g/mL}$)的紫外吸收波谱

Fig. 1 UV-Vis spectrum of pefloxacin($6\text{ }\mu\text{g/mL}$)

由图 2 可知,长效沙星注射液也在 $(274\pm 1)\text{ nm}$ 处有最大吸收。说明培氟沙星标准品和长效沙星注射液均在 $(274\pm 1)\text{ nm}$ 波长处有最大吸收。因此,确定 274 nm 波长为测定长效沙星注射液的检测波

平均值。以吸光度 A 对培氟沙星质量浓度 C 进行线性回归,建立回归方程,即为标准曲线。

1.2.3 回收率试验 以培氟沙星标准品溶液为对照,以添量法^[11]计算回收率。

1.3 稳定性试验

1.3.1 光加速试验 分别取长效沙星注射液样品于日光灯、自然光下照射,观察其澄明度、色泽的变化,使用紫外-可见分光光度法测定其培氟沙星含量,计算培氟沙星的相对含量。光照条件如下:日光灯,光照强度 $2.8\times 10^3\text{ lx}$,光源距样品液面 28 cm ,温度为 $26\text{ }^\circ\text{C}$;自然光,光照强度为 $6.2\times 10^4\sim 1.9\times 10^5\text{ lx}$,温度为 $26\sim 35\text{ }^\circ\text{C}$ 。在上述 2 种情况下分别照射 $3,7,10\text{ d}$ 。

1.3.2 经典恒温热加速试验 取长效沙星注射液样品若干,分别放置于 $80,85,90$ 和 $95\text{ }^\circ\text{C}$ 避光恒温水浴锅中加热 $0,15,30,60,75,90,120,180,240,300\text{ min}$,取出立即冷却,使其终止反应^[12-13],使用紫外-可见分光光度法测定其培氟沙星含量,计算培氟沙星的相对含量。

1.3.3 有效期的计算 根据热加速试验结果,求出不同温度下的回归方程,由斜率计算各温度下的反应速率常数(K),进而求得 $\lg K$,以 $\lg K$ 对 $1/T$ (T 为绝对温度)进行线性回归,求出室温 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 时的反应速率常数 K ,再计算分解 10% 的时间即为药物的有效期^[13]。

2 结果与分析

2.1 培氟沙星含量测定方法的建立

2.1.1 测定波长的确定 由图 1 可知,培氟沙星在 $(274\pm 1)\text{ nm}$ 处有最大吸收。

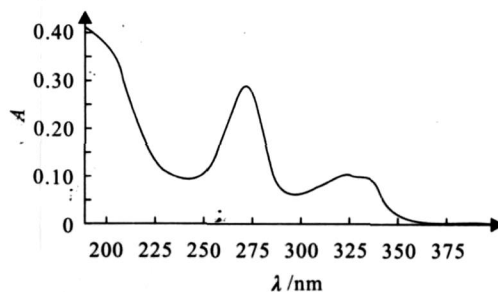


图 2 长效沙星注射液($4\text{ }\mu\text{g/mL}$)的紫外吸收波谱

Fig. 2 UV-Vis spectrum of pefloxacin injection ($4\text{ }\mu\text{g/mL}$)

长。2.1.2 标准曲线的绘制 以二蒸水为空白对照,测定各质量浓度的标准液在 274 nm 处的吸光度,结果见表 1。

表 1 培氟沙星标准曲线的测定结果

Table 1 Data of calibration curve of pefloxacin

培氟沙星质量浓度/ (μg · mL ⁻¹) Concentration	吸光度 Absorbance	培氟沙星质量浓度/ (μg · mL ⁻¹) Concentration	吸光度 Absorbance
2	0.185 4	7	0.572 9
3	0.236 9	8	0.707 4
4	0.344 6	9	0.792 4
5	0.446 1	10	0.877 9
6	0.502 0		

根据表 1 数据计算得线性回归方程为: $C = 0.146\ 2 + 11.276\ 9\ A$, $r = 0.997\ 6$, $n = 9$ 。可见,在 274 nm 波长下,培氟沙星溶液吸光度与其质量浓度之间有良好的线性关系。

2.1.3 回收率试验 由表 2 可知,平均回收率为 100.43 %,变异系数为 0.48 %。表明该方法准确稳定,可用于长效沙星注射液含量的测定。

表 2 回收率试验结果

Table 2 Data of recovery experiments

添加物质量浓度/ (μg · mL ⁻¹) Added concentration	测定值/ (μg · mL ⁻¹) Measured value	回收率/ % Recovery	平均回收率/ % Mean recovery	变异系数/ % RSD
6	6.082	101.36	100.43	0.48
12	12.110	100.92		
18	17.992	99.96		
24	23.945	99.77		
30	30.042	100.14		

2.2 长效沙星注射液的稳定性试验

2.2.1 光加速试验 由表 3 可以看出,长效沙星注射液经日光灯、自然光源照射 10 d 后,培氟沙星相对含量分别下降 6.12 %和 2.52 %,外观颜色分别由无色变为淡红和淡黄。说明长效沙星注射液对光不稳

定。

2.2.2 经典恒温热加速试验 由表 4 可以看出,在恒温热加速条件下,长效沙星注射液中培氟沙星的相对含量也发生了一定变化。

表 3 长效沙星注射液的光加速试验结果

Table 3 Data of light stability experiments of pefloxacin injection

光源 Illuminant	照射时间/ d Time	培氟沙星相对含量/ % Labelled amount	色泽 Colour and lustre	澄明度 Transparence
未照前 Un-shined	0	100	无色 Achromatism	澄明 Limpidity
	3	97.35	淡红 Pompadour	澄明 Limpidity
	7	94.51	淡红 Pompadour	澄明 Limpidity
日光灯 Daylight lamp	10	93.88	淡红 Pompadour	澄明 Limpidity
	3	99.73	淡黄 Yellowy	澄明 Limpidity
	7	98.49	淡黄 Yellowy	澄明 Limpidity
自然光 Sun's rays	10	97.48	淡黄 Yellowy	澄明 Limpidity

表 4 长效沙星注射液的经典恒温热加速试验结果

Table 4 Data of heat stability experiments of pefloxacin injection

加热时间/ min Time	培氟沙星相对含量/ % Labelled amount			
	95 °C	90 °C	85 °C	80 °C
0	100	100	100	100
15	99.56	99.49	99.72	99.68
30	97.14	99.31	99.17	99.60
60	95.22	99.11	99.00	99.28
75	92.98	99.03	-	98.93
90	90.50	98.23	98.90	98.64
120	89.68	96.80	-	98.34
180	88.59	-	98.58	97.49
240	86.18	-	97.86	97.03
300	84.10	92.57	96.91	96.28

2.2.3 有效期的计算 将表 4 中的试验数据用回归法处理,得到各温度条件下的回归方程,见表 5。由斜率计算各温度下的反应速率常数 K ,进而求得 $\lg K$,结果见表 5(t 为加热时间,单位为 min)。

表 5 各试验温度下的反应速率常数

Table 5 Constant of reaction velocity at different temprature

温度/℃ Temprature	回归方程 Recursive equation	相关系数 Relative coefficient	$1/T \times 10^3$	$\lg K$
95	$\lg C = 1.990\ 2 - 2.360\ 7 \times 10^{-4}t$	- 0.951 7	2.717 4	- 3.989 3
90	$\lg C = 2.001\ 6 - 1.157\ 0 \times 10^{-4}t$	- 0.986 4	2.754 8	- 4.299 0
85	$\lg C = 1.998\ 4 - 3.714\ 4 \times 10^{-5}t$	- 0.980 8	2.793 3	- 4.792 4
80	$\lg C = 1.999\ 5 - 5.413\ 8 \times 10^{-5}t$	- 0.996 0	2.832 9	- 4.628 9

以 $\lg K$ 对 $1/T$ 进行回归,得回归方程 $\lg K = 12.856\ 5 - 6\ 043.291\ 2/T$, $r = -0.867\ 5$, $n = 4$ 。由此可以求得室温 25℃时的反应速率常数 K 为 $3.8 \times 10^{-8}\ \text{min}$,经计算分解 10%的时间为 2.30 年,即长效沙星注射液的有效期为 2.3 年。

3 讨 论

3.1 培氟沙星含量测定方法的建立

据文献报道,培氟沙星含量的紫外测定方法多以 0.02 mol/L 氢氧化钠溶液或以稀盐酸作为溶媒进行测定^[14-16]。本试验以二蒸水为溶媒,采用紫外-可见分光光度法进行测定,效果较好。在本试验中培氟沙星水溶液在(274±1) nm 波长处有最大吸收,而长效沙星注射液也在此波长处有最大吸收,说明辅料对测定没有影响,因而可以确定培氟沙星的检测波长为 274 nm,平均回收率为 100.43%,该方法准确稳定,可用于长效沙星注射液中培氟沙星含量的测定。

3.2 稳定性试验与有效期的计算

药物稳定性又分为化学、物理和生物学 3 个方面,本试验重点考察了长效沙星注射液的化学稳定性,主要有光加速试验和热加速试验。加速试验是在超常条件下进行的,其目的在于通过加速药物的化学或物理变化,观察药物的稳定性,预测其有效期。

光加速试验结果表明,长效沙星注射液在日光灯和自然光照射 10 d 后,其外观颜色分别由无色变为淡红和淡黄,培氟沙星相对含量分别下降 6.12% 和 2.52%,说明该制剂对光不稳定。热加速试验结果表明,温度对其分解反应速率的影响符合 Arrhenius 指数定律,经计算求得室温 25℃下,长效沙星注射液分解 10%的时间为 2.30 年。为保守起见,长效沙星注射液在室温条件下,避光保存的有效期可暂定为 2 年。

[参考文献]

[1] Naber K G,Well M,Hollauer K,et al. *In vitro* activity of Enoxacin versus Ciprofloxacin, Fleroxacin, Lomefloxacin, Ofloxacin, Pefloxacin and Rubloxacin against *Uropathogens*[J]. The Journal of Urology,1999,161(1):372-376.

[2] El-Sukhon S N,Boukhatem Z F. Activity of combinations of ceftazidime, imipenem and pefloxacin against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. International Journal of Antimicrobial Agents,2003,22(6):613-617.

[3] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2002.

[4] 罗开国,张 辉. 培氟沙星的临床应用[J]. 中国医院药学杂志,2002,22(4):233-234.

[5] 谢 运,李引乾,杨亚军,等. 甲磺酸培氟沙星在山羊体内的药物动力学研究[J]. 西北农业学报,2007,16(3):29-32.

[6] 曾锦旗,孙正军,陈万成. 培氟沙星研究与临床应用[J]. 中华外科杂志,2001,39(6):486-487.

[7] 权 衡,郝喜兰. 培氟沙星治疗细菌感染性疾病 96 例疗效观察[J]. 泰山医学院学报,1995,16:341-344.

[8] 乔海莲,王军亮,吕石头,等. 长效沙星注射液治疗动物腹泻的临床疗效观察[J]. 动物医学进展,2001,22(1):83-84.

[9] 李引乾,扈文杰. 培氟沙星在兽医临床中的应用[J]. 动物医学进展,1997,18(4):8-11.

[10] 李引乾,刘清玉,李富娥,等. 长效沙星注射液的安全性试验及临床疗效观察[J]. 西北农业大学学报,1997,25(4):51-54.

[11] 张彦明,贾靖国,刘安典. 动物性食品卫生检验技术[M]. 西安:西北大学出版社,1994.

[12] 孙鲁远. 新药稳定性研究的一般方法[J]. 现代应用药学,1992,10(5):233-236.

[13] 庞貽慧,鲁纯素. 药物稳定性预测方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1984:35-53.

[14] 林 波,刘 延,孙海兰. 紫外分光光度法测定甲磺酸培氟沙星注射液的含量[J]. 药物分析杂志,1997,17(1):47-48.

[15] 惠 春,林大专,孙 莹,等. 甲磺酸培氟沙星注射液与木糖醇注射液配伍的稳定性探讨[J]. 长春医学,2006,4(3):12-13.

[16] 张战伟,陈永华,宋传敏,等. 紫外分光光度法测定复方甲磺酸培氟沙星注射液含量[J]. 中国兽药杂志,2004,38(12):16-19.