

· 中药工业 ·

异甘草酸镁注射液的安全性研究[△]

郑富香, 徐艳霞, 李超, 王一丹, 任晓亮*

天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

[摘要] **目的:** 研究不同条件对异甘草酸镁注射液的安全性影响, 为提高异甘草酸镁注射液的质量控制及中药注射剂稳定性研究提供必要理论依据和技术支持。**方法:** 采用高效液相色谱(HPLC)结合紫外可见分光光度计研究 pH、温度、金属离子以及临床常用注射液(5% 葡萄糖注射液、10% 葡萄糖注射液、0.9% 氯化钠注射液、乳酸环丙沙星注射液)配伍时, 对异甘草酸镁注射液的安全性影响。**结果:** 异甘草酸镁注射液与 3 种注射液配伍后, 5 h 内 pH 值、含量、可见异物等考察指标均无明显变化, 与乳酸环丙沙星注射液配伍有白色絮状沉淀产生, 强酸条件下有明显降解; 部分金属离子对其稳定性也有影响。**结论:** 异甘草酸镁注射液可与 3 种常用注射液稳定配伍, 强酸、高温、部分金属离子对其稳定性也有不同的影响, 这将为异甘草酸镁注射液的临床用药提供参考。

[关键词] 异甘草酸镁注射液; 稳定性; pH; 温度; 离子; 配伍

[中图分类号] R944.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)08-1094-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181215001

Study on Stability of Magnesium Isoglycyrrhizinate Injection

ZHENG Fu-xiang¹, XU Yan-xia, LI Chao, WANG Yi-dan, REN Xiao-liang*

College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

[Abstract] **Objective:** To study the effects of different conditions on the stability of magnesium isoglycyrrhizinate injection, and provide the necessary theoretical basis and technical support for improving the quality control of magnesium isoglycyrrhizinate injection and the stability of traditional Chinese medicine injection. **Methods:** The effects of pH, temperature, metal ions and their compatibility with common clinical injections (5% glucose injection, 10% glucose injection, 0.9% sodium chloride injection and ciprofloxacin lactate injection) on the stability of magnesium isoglycyrrhizinate injection were studied by HPLC and UV-Vis methods. **Results:** After magnesium isoglycyrrhizinate injection was compatible with three kinds of injection, the pH value, content and visible foreign body had no obvious change within 5 hours. White flocculent precipitation was produced when it was compatible with ciprofloxacin lactate injection, and it was degraded obviously under strong acid condition. Some metal ions also affected it. **Conclusion:** Magnesium isoglycyrrhizinate injection can be compatible with three commonly used injection stably. Strong acid, high temperature and some metal ions also have different effects on its stability, which will provide reference for clinical medication of Magnesium isoglycyrrhizinate injection.

[Keywords] Magnesium Isoglycyrrhizinate Injection; stability; pH; temperature; ion; compatibility

中药注射剂的安全性、有效性和质量可控性, 不仅是国家政策的需要, 也是中药注射剂本身发展的需要, 与其他中药剂型相比, 注射剂具有生物利用度高、疗效确切、作用迅速的特点^[1]。异甘草酸镁注射液是正大天晴药业股份有限公司专利独家生产的国家一类新药^[2-3], 由甘草中的主要成分甘草

酸, 经旋光异构化后与镁离子成盐形成^[4]。甘草酸是评价甘草药材、成药质量、制剂稳定性和制订药品质量标准的最重要的指标性成分, 存在 α 和 β 两种立体异构体, 而异甘草酸镁为 18 α 甘草酸, 在体内更易与受体蛋白和类固醇激素的靶细胞受体结合而发挥改善肝功能的作用^[5], 是一类复合功能性的

[△] [基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81803955)

* [通信作者] 任晓亮, 副教授, 研究方向: 中药化学、中药质量控制及生物药剂学; Tel: (022) 59596221, E-mail: xiaoliang_ren@sina.com

抗炎药物,具有肝脏靶向性^[6]。现代药理研究表明,在不同肝毒剂引起的肝损伤模型中,异甘草酸的抗肝损伤作用明显优于天然甘草酸^[7]。研究发现,甘草酸及其衍生物都具有抗病毒、保护肝脏、调节细胞免疫等作用^[8],这是一种肝细胞保护剂,疗效优于天然异构体,而且安全性好的高纯度药物^[9]。药效实验显示,异甘草酸镁对D-氨基半乳糖引起的大鼠急性肝损伤有防治作用;对CCl₄引起的大鼠慢性肝损伤也有改善作用^[10-11]。本实验通过在不同条件下对异甘草酸镁注射液的稳定性及配伍进行考察,为临床和生产应用提供参考。

1 材料

高效液相色谱仪(SHIMADZU LC-20AT);BT125D型十万分之一天平、PB-10型pH计(德国赛多利斯科学仪器有限公司);KH3200B型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);TU-1901型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

异甘草酸镁注射液(规格:10 mL:50 mg,批号:151126204,正大天晴药业集团股份有限公司);异甘草酸镁对照品(由正大天晴药业集团股份有限公司提供,纯度 $\geq 98\%$);0.9%氯化钠注射液(批号:B151203062,山东科伦药业有限公司);5%葡萄糖注射液(批号:D151113042,山东科伦药业有限公司);10%葡萄糖注射液(批号:D151103101,山东科伦药业有限公司);乳酸环丙沙星注射液(批号:D151115246,石家庄藁城区四海药业有限公司);HPLC分析用乙腈为色谱纯,氢氧化钠、磷酸二氢钾等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 检测波长的选择 采用UV-Vis分光光度计在190~760 nm对异甘草酸镁对照品、异甘草酸镁注射液进行扫描,测得最大吸收波长,且在该波长下进行HPLC分析时,制剂中其他成分对异甘草酸镁测定无干扰,最终选择252 nm波长下进行研究。

2.1.2 色谱条件 色谱柱:Waters Symmetry C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μ m);检测波长:252 nm;流动相:磷酸盐缓冲液(pH=7.4)-乙腈(78:22);

柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L;流速:1 mL $\cdot$ min⁻¹,色谱图见图1~2。

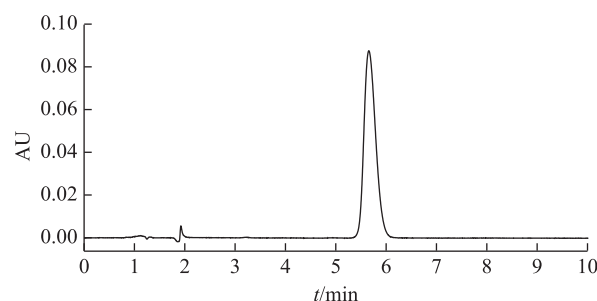


图1 异甘草酸镁对照品 HPLC 图

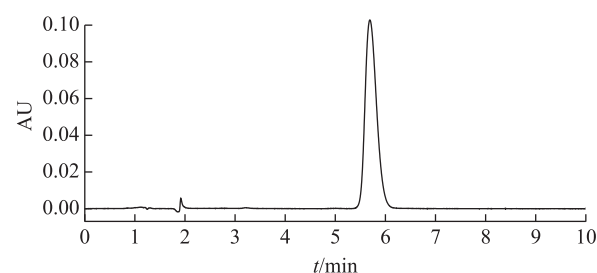


图2 异甘草酸镁注射液 HPLC 图

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制 精密称取异甘草酸镁对照品50.00 mg置于10 mL棕色容量瓶中,用超纯水稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.2 供试品溶液的配制 精密量取异甘草酸镁注射液1 mL置于10 mL棕色容量瓶中,用超纯水稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.3 磷酸盐缓冲液(pH=7.4)的配制 精密称取磷酸二氢钾6.8 g,纯水溶解,加入0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ NaOH溶液约395 mL,加水至1000 mL,混匀,过0.45 μ m微孔滤膜,超声脱气备用^[12]。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密称取异甘草酸镁对照品1.25 mg,置于5 mL棕色容量瓶中,配制质量浓度为250 μ g $\cdot$ mL⁻¹的溶液,并逐级稀释质量浓度为200、150、100、50、25、10、5、1 μ g $\cdot$ mL⁻¹的溶液,摇匀。按2.1.2色谱条件,分别注入HPLC中,记录色谱图。以峰面积为纵坐标,异甘草酸镁浓度为横坐标。结果显示,异甘草酸镁的线性回归方程为: $Y=10\,390X-24\,388$ ($r=0.999\,6$),说明在1~200 μ g $\cdot$ mL⁻¹线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 精密吸取高(150 μ g $\cdot$ mL⁻¹)、中(50 μ g $\cdot$ mL⁻¹)、低(10 μ g $\cdot$ mL⁻¹)3个质量浓度的异甘草酸镁对照品溶液,分别重复进样6次,测定其

峰面积, 计算异甘草酸镁的浓度, 计算 RSD 分别为 0.345%、1.06%、2.2%, 表明精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 将一定浓度的样品溶液在上述色谱条件下于间隔时间为 0、2、4、6、8、10、12、24 h 重复进样, 测定其峰面积, 计算 RSD 值为 1.5%, 表明稳定性良好。

2.3.4 重复性试验 按 2.2.2 项配制 6 份供试品溶液, 进样测定其峰面积, 计算异甘草酸镁的浓度, 计算 RSD 为 1.5%, 表明重复性良好。

2.3.5 加样回收率的考察 精密量取 100 μL 的异甘草酸镁注射液于 10 mL 容量瓶中, 加入 100 μL 的对照品溶液, 纯水定容, 混匀, 平行制备 6 次, 进样测定其峰面积, 计算异甘草酸镁的浓度, 测得加样回收率分别为 97.5%、95.2%、100.4%、96.4%、96.7%、98.9%, RSD 为 1.8%。

2.4 异甘草酸镁注射液在不同 pH 条件下的降解动力学研究

用磷酸二氢钾、氢氧化钠和盐酸制备 pH 分别为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 的缓冲溶液, 精密量取异甘草酸镁注射液 200 μL , 置于 10 mL 的棕色容量瓶中, 分别用上述缓冲溶液定容至刻度, 得到异甘草酸镁在不同 pH 条件下的样品溶液, 间隔一定的时间(0.5、1、2、3、4、5、6、7、8 h)取样, HPLC 测定溶液中异甘草酸镁的残余浓度(C_t), 根据化学动力学规律, 百分剩余浓度的对数 $\ln(C_t/C_0)$ 为纵坐标, 时间 t 为横坐标, 绘制降解曲线, 见图 3。

$$\ln(C_t/C_0) = -Kt \quad (1)$$

其中 C_t 为 t 时刻药物浓度, C_0 为初始时刻药物浓度, t 为反应时间, K 为反应速率常数。

为研究注射液降解的机理、影响其降解的因素及预测注射液的有效期, 通过化学反应动力学方法计算降解速率常数 K 和半衰期($t_{1/2}$), 结果见表 1。

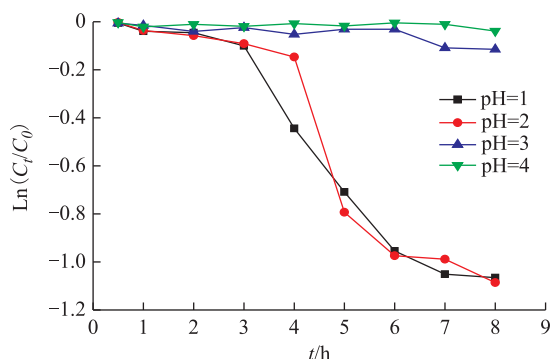


图3 异甘草酸镁注射液在不同 pH 条件下的降解动力学曲线

表1 异甘草酸镁注射液在不同 pH 条件下的降解动力学参数

pH	$K(\text{h}^{-1})$	$t_{0.5}/\text{h}$	$t_{0.9}/\text{h}$
1	0.142 00	4.880 2	0.742 96
2	0.137 00	5.058 3	0.770 10
3	0.012 00	57.750 0	8.791 67
4	0.000 05	13 860.000 0	2 110.000 00

结果显示, 异甘草酸镁注射液在强酸(pH 1~2)条件下有明显的降解, 其他 pH 条件下(pH 5~12)基本无降解, 与 pH 4 曲线图近似, 故没有在图表中体现, 表明异甘草酸镁注射液在强酸条件下不稳定, 提示不宜在此条件下提取、保存、运输。

2.5 异甘草酸镁注射液在不同温度下的降解动力学研究

2.5.1 异甘草酸镁对照品 精密量取异甘草酸镁对照品溶液 200 μL , 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用超纯水定容, 混匀, 制得样品溶液。并用 HPLC 测定溶液中异甘草酸镁浓度 C_0 。将样品溶液密封, 分别置于温度为 70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中, 间隔 0、0.5、1、2、3、4、5、6 h 取样 10 μL , 测定溶液中异甘草酸镁浓度 C_t , 以 $\ln(C_t/C_0)$ 对 t 作图, 得到温度对异甘草酸镁降解速率的影响, 结果见图 4。

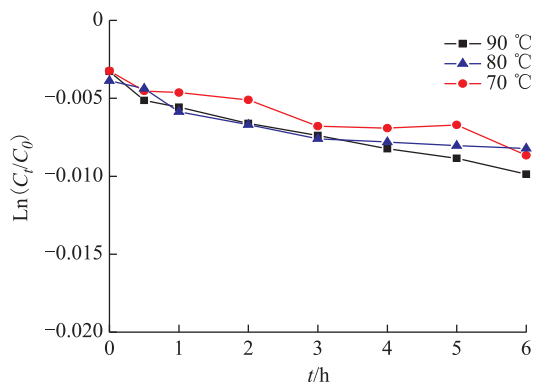


图4 异甘草酸镁对照品在不同温度下的降解动力学曲线

根据阿伦尼乌斯方程($\ln K = \ln A - E_a/RT$), (其中 E_a 为活化能)计算在 70~90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 异甘草酸镁对照品的降解活化能(E_a) = 24.33 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

2.5.2 异甘草酸镁注射液 精密量取异甘草酸镁注射液 200 μL , 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用超纯水定容, 混匀, 制得样品溶液。并用 HPLC 测定溶液中异甘草酸镁浓度 C_0 。将样品溶液密封, 分别置于温度为 70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中, 间隔 0、0.5、1、2、3、4、5、6 h 取样 10 μL , 测定溶液中异甘草酸镁浓度 C_t , 以 $\ln(C_t/C_0)$ 对 t 作图, 结果见图 5。

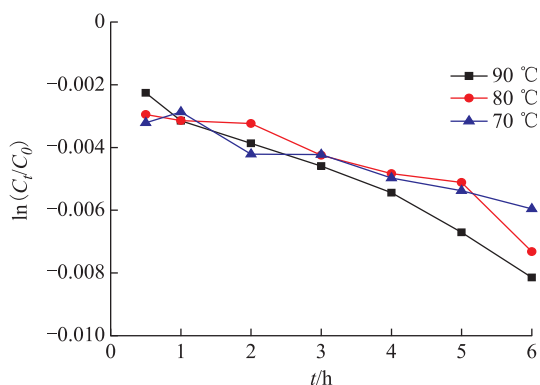


图5 异甘草酸镁注射液不同温度下的降解动力学曲线

根据阿伦尼乌斯方程($\ln K = \ln A - E_a/RT$), 计算在70~90 °C条件下, 异甘草酸镁注射液的降解活化能(E_a) = 20.99 kJ·mol⁻¹。

结果显示, 异甘草酸镁注射液和对照品溶液的降解速率随温度的升高而加快, 且注射液的降解速率对温度变化稍不敏感, 较稳定。

2.6 异甘草酸镁注射液在不同离子条件下的降解动力学研究

精密量取异甘草酸镁注射液100 μL, 置于10 mL棕色容量瓶中, 分别用不同离子储备液(0.1 mol·L⁻¹ NaCl、CaCl₂、CuCl₂、AlCl₃溶液)定容至刻度, 混匀, 制得待测样品, 以纯水作对比, 用UV-Vis分光光度计在0、0.5、1、3、5 h内测定异甘草酸镁注射液的吸光度值并观察溶液外观变化, 变化曲线见图6。

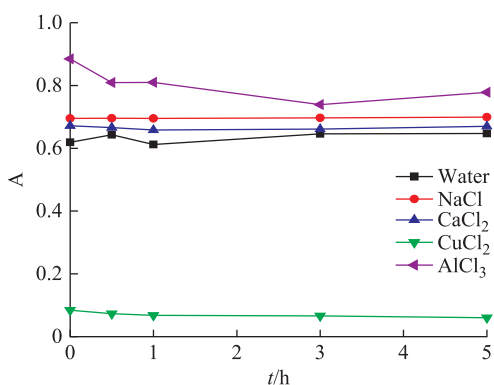


图6 吸光度变化曲线图

结果显示, 随静置时间增加, 各待测液颜色无明显变化, 且溶液澄清, 无可见异物, 与纯水比较, 加入Al³⁺后注射液的吸光度有明显变化, Cu²⁺使注射液的吸光度明显降低, 表明异甘草酸镁注射液在不同离子条件下未发生降解, 只是与不同金属离子

发生了络合反应导致吸光度发生变化, 这可能与异甘草酸镁三萜骨架结构有关, 此研究主要的目的是为注射液的保存、运输过程提供参考。

2.7 与临床常用注射液配伍后的稳定性试验

2.7.1 与不同溶媒配伍 按临床常用浓度, 取异甘草酸镁注射液3支, 分别注入5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液、0.9%氯化钠注射液, 定容至10 mL, 振荡摇匀, 室温下放置。

2.7.1.1 pH值检查 取上述溶液, 分别于0、0.5、1、3、5 h观察溶液外观变化并测定pH, 结果各配伍液在5 h内均澄清, 颜色无明显变化, 无可见异物, pH变化曲线见图7。

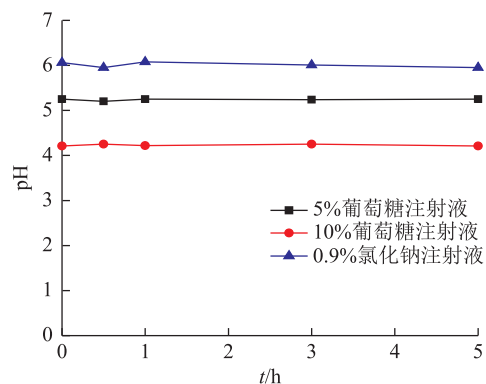


图7 pH值变化曲线图

2.7.1.2 含量测定 取上述溶液, 采用紫外分光光度计分别于0、0.5、1、3、5 h下测定, 可见异甘草酸镁与3种注射液配伍后的吸光度无显著变化, 吸光度变化曲线见图8。

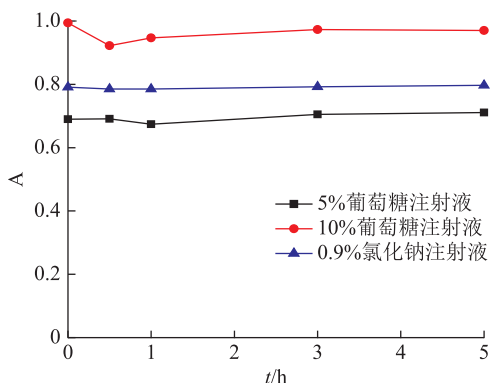


图8 吸光度变化曲线图

结果表明, 异甘草酸镁注射液与5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液、0.9%氯化钠注射液配伍后5 h内外观、pH值、含量、可见异物等考察指标无明显变化, 说明异甘草酸镁注射液可与3种注射

液配伍且保持稳定。

2.7.2 与乳酸环丙沙星注射液配伍 乳酸环丙沙星注射液属于喹诺酮类抗菌药,主要用于治疗胃肠道和泌尿系感染等^[13-14],环丙沙星为合成的第三代喹诺酮类抗菌药物,具有杀菌力强、抗菌谱广、在组织中易于分布等特点,在临床上应用日益广泛,其不良反应也就随之不断增加^[15]。

无菌注射器抽取2 mL乳酸环丙沙星液体备用,将1支异甘草酸镁注射液加入0.9%氯化钠溶液100 mL中,混匀稀释备用。分别用5 mL无菌注射器取以上药液各1 mL置于干燥试管中,两者混合后立即出现白色浑浊,呈絮状液;放置2 h后,仍呈白色浑浊絮状液。

结果表明,乳酸环丙沙星与异甘草酸镁注射液混合后,生成了白色浑浊的絮状液,两种药物之间有相互作用,存在药物配伍禁忌。

3 讨论

本实验所采用HPLC测定重复性、精密度、稳定性及加样回收率较好,方法准确、可靠。

配伍稳定性实验表明:异甘草酸镁注射液与5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液、0.9%氯化钠注射液3种输液配伍后,5 h内外观、pH、含量等考察指标无明显变化,建议临床配伍使用。乳酸环丙沙星与异甘草酸镁注射液混合后,生成了白色浑浊的絮状液,表明两种药物之间有相互作用,存在药物配伍禁忌,该实验结果提示,医护人员在临床上联合使用这两种药物时,应间隔用药。

异甘草酸镁注射液在强酸条件下(pH 1、2)不稳定,分析原因可能是异甘草酸镁自身特殊结构的影响,在强酸条件下羟基脱水,增加双键结构,再经双键移位,分子缩合等原因,在高温条件下不稳定、发生降解,可能与结构中官能团被破坏有关,故不宜在此条件下提取、保存、运输。金属离子 Ca^{2+} 和 Na^{+} 对注射液稳定性影响很小,而 Al^{3+} 和 Cu^{2+} 对其稳定性影响很大,分析原因可能是 Al^{3+} 和 Cu^{2+} 的空

间结构和电子排布及发生络合反应的影响,应用过程中应注意,以上具体作用机制还需研究者继续探讨。

参考文献

- [1] 任钧国,刘建勋. 中药注射剂上市后作用机制研究的思路与方法[J]. 中国现代中药, 2018, 20(11): 1319-1322, 1329.
- [2] 罗佳,陈光建,杨立平,等. 异甘草酸镁注射液致过敏反应27例分析[J]. 中国药房, 2016, 27(29): 4080-4082.
- [3] 梁晓宇,张晓荧,柯巍,等. 异甘草酸镁注射液致不良反应1例[J]. 中国药师, 2017, 20(1): 135-136.
- [4] 夏宏,耿魁魁,汝婷婷,等. 异甘草酸镁注射液与5%葡萄糖注射液、10%果糖注射液配伍的稳定性[J]. 中国医院用药评价与分析, 2014, 14(3): 234-237.
- [5] 欧明洪. 异甘草酸镁药理与临床研究进展[J]. 中国药业, 2010, 19(15): 83-85.
- [6] 王素辉,朱晓丽,王彩霞. 异甘草酸镁治疗慢性乙型肝炎临床疗效观察[J]. 北方药学, 2018, 15(2): 49.
- [7] 沈金芳,逢晓云,孙黎. 异甘草酸镁注射液人体内药动力学研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 39(10): 769-771.
- [8] 张俊江. 异甘草酸镁注射液治疗慢性乙型肝炎的观察[J]. 中国实用医药, 2016, 11(24): 111-112.
- [9] 汤晟凌,梁晓美. 异甘草酸镁注射液与5种输液配伍的稳定性考察[J]. 中国药业, 2013, 22(7): 20-21.
- [10] 李艳丽,张建英,吴爽. 异甘草酸镁注射液的临床应用[J]. 实用药物与临床, 2011, 14(6): 521-522.
- [11] 林洁,林晖,吴明钊,等. 异甘草酸镁与3种含果糖输液配伍的稳定性考察[J]. 中国药师, 2013, 16(1): 142-144.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 附录 111.
- [13] 姚婷,张萍. 乳酸环丙沙星与异甘草酸镁注射液之间存在配伍禁忌[J]. 临床护理杂志, 2010, 9(6): 81.
- [14] 杨春雨,孙丹. 乳酸环丙沙星氯化钠注射液与异甘草酸镁注射液存在配伍禁忌[J]. 护理学报, 2010, 17(2): 1978.
- [15] 王航,冯天杰. 乳酸环丙沙星注射液致血糖异常1例[J]. 实用医药杂志, 2016, 33(6): 531-532.

(收稿日期: 2018-12-15 编辑: 王笑辉)