

• 研究报告 •

经典恒温法预测托拉塞米注射液的有效期

张燕琴¹, 许晓红² (1. 兰州军区西安药材供应站, 陕西 西安 710043; 2. 成都医学院, 四川 成都 610500)

[摘要] 目的 预测托拉塞米在室温下的有效期。方法 采用 HPLC 法测定主药含量, 用经典恒温法预测其有效期。结果 托拉塞米的降解反应属一级反应, 在室温 (25 °C) 条件下的分解速度常数 $K_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 5.1869 \times 10^{-6}$, 该注射液在 25 °C 时的有效期 $t_{0.9} = 2.32$ 年。结论 自制的托拉塞米注射液的有效期暂定为 2 年。

[关键词] 托拉塞米; 经典恒温法; 稳定性; 有效期

[中图分类号] R944.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0357-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.019

Predicting expiration date of torasemide injection by classical constant-temperature experiment

ZHANG Yanqin¹, XU Xiaohong² (1. Xi'an Medicine Supply Station, Lanzhou Military Region, Xi'an 710043, China, 2. Chengdu Medical College, Chengdu, 610500, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the stability of torasemide injection and predict its expiration date in room temperature. **Methods** The contents of torasemide were determined by HPLC. The expiration date was predicted by classical constant-temperature experiment. **Results** The contents of torasemide degradation with time according to a first order reaction at room temperature (25 °C). The disintegration rate constant K was $K_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 5.1869 \times 10^{-6} \text{ h}^{-1}$ and the expiration date of torasemide injection was $t_{0.9} = 2.32$ years. **Conclusion** The torasemide injection expiration date was tentatively scheduled for two years.

[Key words] torasemide; classical constant-temperature experiment; stability; expiration date

托拉塞米 (torasemide) 为高效袪利尿剂^[1], 其 pK_a 值为 6.44^[2], 在水中几乎不溶, 略溶于 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液^[3], 结构式如图 1。本实验室自制托拉塞米注射液, 采用经典恒温法系统研究了自制托拉塞米注射液在不同温度下主药含量的变化情况, 利用阿伦乌纽斯理论, 推算其在常温下的分解常数, 预测托拉塞米注射液的有效期。

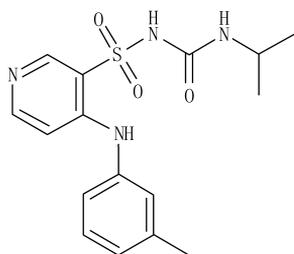


图 1 托拉塞米结构式

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Dionex U3000 型高效液相色谱仪, 包括 P680 低压四元梯度泵, ASI-100 自动进样装置, TCC-100 柱温箱, UVD170U 紫外检测器 (美国戴安公司)。pH 值计 (上海雷磁 PHS-3C)。

托拉塞米 (浙江诚意药业有限公司, 批号 2008-0601, 含量 99.9%), 托拉塞米对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100605-200401), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

1.2 测定方法学研究

1.2.1 色谱条件^[4] 色谱柱: Agilent Zorbax C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸缓冲盐 (将 2.7 g KH₂PO₄ 溶解于 950 ml 的水中, 并用磷酸将 pH 值调至 3.5, 然后用水稀释至 1 000 ml): 甲醇 (60 : 40), 紫外检测波长 288 nm; 流速 0.8 ml, 进样量 20 μl。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 105 °C 干燥至恒重的托拉塞米对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1 ml 中含 0.05 mg 的溶液, 作为标准

[作者简介] 张燕琴, 本科, 主管药师。研究方向: 药事管理。Tel: 18991342155; E-mail: yanqin513@126.com

品溶液。

1.2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品适量,用流动相定量稀释制成每1 ml中含0.05 mg的溶液,作为供试品溶液。

1.2.4 标准曲线的绘制 取托拉塞米对照品储备液适量,分别加流动相制备系列溶液,进样测定。以峰面积(A)对质量浓度(C)进行线性回归。

1.2.5 系统适用性试验 取自制托拉塞米注射液,按“1.2.1”项下方法进样,记录色谱图;另取自制托拉塞米注射液,置油浴120℃加热2 h,按“1.2.1”项下方法进样,记录色谱图。

1.2.6 日内精密度 配制高、中、低浓度分别为70、50、20 μg/ml的托拉塞米溶液,分别于0、2、4、6、8 h内测定,计算各浓度供试品测定结果的相对偏差RSD(%)。

1.2.7 回收率试验 分别精密吸取托拉塞米对照品储备液0.4、0.5、0.6 ml(每个体积重复3份)置9个10 ml量瓶中,并按处方比例加入托拉塞米注射液的空白辅料并定容,振摇使溶解,依法测定主药含量,计算回收率。

1.3 不同 pH 值条件下托拉塞米注射液稳定性试验 制备 pH 值分别为 8.0、8.3、8.6、8.9、9.2、9.5 的托拉塞米注射溶液,于 120℃加热 1 h,自然冷却至室温,依法测定主药含量。以 pH 值为横坐标,含量百分比为纵坐标制作含量变化图。

1.4 经典恒温试验 将数支托拉塞米注射液(pH 值 8.9)分别置于 90、100、110、120℃条件下加热,于不同时间取样,自然冷却至室温,依法测定主药含量。

2 结果

2.1 测定方法学研究结果 托拉塞米测定标准曲线方程为: $A = 959.99 C - 2.4183$ ($r = 0.9998$, $n = 6$),其中 A 为托拉塞米峰面积, C 为溶液浓度(μg/ml),可见托拉塞米在 20.0~70.0 μg/ml 范围内线性关系良好。图 2 为系统适用性试验结果(检测波长 288nm),供试液经高温加热后,主成分峰与杂质峰分离度符合要求。日内精密度试验中,高、中、低 3 个浓度的平均 RSD 分别为 1.21%、1.13%、1.42%,均 < 2%,表明该方法的重现性好。表 1 为回收率试验结果,均符合测定要求。

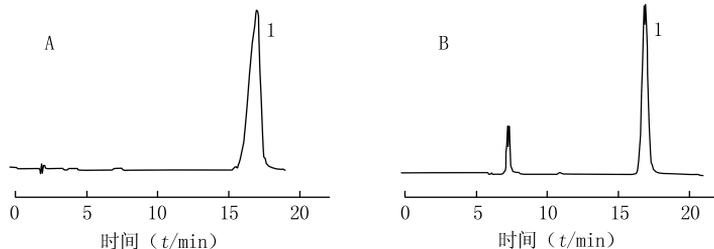


图 2 托拉塞米注射液系统适用性试验 HPLC 图

A.托拉塞米对照品溶液;B.120℃加热2 h后的托拉塞米注射液;1.托拉塞米

表 1 托拉塞米回收率试验结果

加样后理论浓度(mg/ml)	实测浓度(mg/ml)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.0409	0.0411	100.28	99.92	0.59
0.0409	0.0407	99.46		
0.0409	0.0406	99.20		
0.0512	0.0513	100.22		
0.0512	0.0507	98.98		
0.0512	0.0511	99.81		
0.0614	0.0615	100.17		
0.0614	0.0617	100.44		
0.0614	0.0618	100.69		

托拉塞米注射液在 pH 值为 8.9 时稳定性较好。

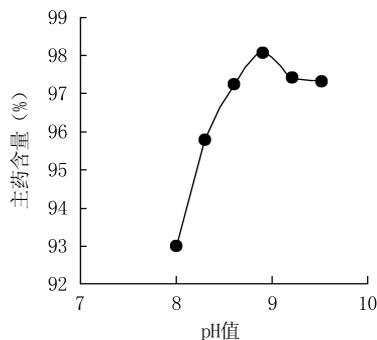


图 3 不同 pH 值托拉塞米注射液于 120℃加热 1 h 的百分含量

2.2 不同 pH 值条件下托拉塞米注射液稳定性试验结果 图 3 为不同 pH 值托拉塞米注射液于 120℃加热 1 h 的百分含量变化图,结果表明,托拉

2.3 经典恒温法试验结果 表 2 为托拉塞米注射液于不同温度(115、110、102、90℃)下各时间点的

(下转第 384 页)

[17] Valeur N, Engel P, Carbajal N, *et al.* Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(2): 1176-1181.

[18] Collado MC, Gonzalez A, Gonzalez R, *et al.* Antimicrobial peptides are among the antagonistic metabolites produced by

Bifidobacterium against *Helicobacter pylori*[J]. *Int J of Antimicrob Agents*, 2005, 25(5): 385-391.

[19] 陈峰. 现代医学统计学方法与Stata应用[M]. 2版. 北京: 中国统计出版社, 2003.

[收稿日期] 2015-11-16 [修回日期] 2016-05-10
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 358 页)

表 2 托拉塞米注射液在不同绝对温度 (K)下各时间点的相对浓度(%)

取样时间 (t/h)	388 K	383 K	375 K	363 K
0	100.00	100.00	100.00	100.00
1	94.43	94.68	99.29	98.62
2	87.95	89.93	93.55	97.97
6	70.58	78.09	81.22	95.01
8	62.33	68.16	76.80	93.13
12	48.77	55.55	67.80	90.37

相对浓度。

2.4 反应级数的确定及不同温度降解反应速率常数 K 的计算 将不同温度条件下得到的降解数据用零级至二级化学反应动力学方程式进行拟合, 结果见表 3。根据相关系数 r 判断降解动力学过程的反应级数, 结果表明, 托拉塞米注射液的降解遵循一级动力学过程, 回归方程及速度常数 K 值见表 4。

表 3 托拉塞米注射液不同反应级数降解动力学拟合结果(r, n=6)

反应级数	363 K	375 K	383 K	388 K
零级反应	0.985 5	0.997 1	0.965 7	0.990 5
一级反应	0.998 4	0.997 1	0.996 2	0.999 7
二级反应	0.873 6	0.929 7	0.999 2	0.914 9

表 4 托拉塞米注射液在不同温度下的回归方程及分解速度常数

绝对温度 (T/K)	回归方程	相关系数 r	速度常数 K
363	$\ln c = -0.003 6 t - 0.001 0$	0.998 4	0.003 6
375	$\ln c = -0.014 6 t + 0.002 7$	0.997 1	0.014 6
383	$\ln c = -0.020 8 t + 0.000 6$	0.996 2	0.020 8
388	$\ln c = -0.025 8 t - 0.000 1$	0.999 7	0.025 8

c: 浓度; t: 时间

2.5 有效期的计算 根据 Arrhenius 指数定律 $\lg K = -E/2.303 RT + \lg A$ (T: 绝对温度, K; R: 气体常数, kJ/mol·K), 以 lg K 对 1/T 做线性回归, 得回归方程: $\lg K = -4 831.8 / T + 10.929$, $r = 0.974 4 (n = 4)$ 。由此推算室温 25 °C 下的分解速度常数 $K = 5.186 9 \times 10^{-6}$, 有效期 $t_{0.9} = 2.32$ 年。

3 讨论

由于托拉塞米在水中几乎不溶, 配制时需加入适量的 NaOH 溶液以增加其溶解的速度和溶解度。用盐酸溶液回调后, 溶液的 pH 值对托拉塞米注射液的稳定性影响较大, 本研究对注射液的 pH 值进行了筛选, 结果表明, 当托拉塞米注射液 pH 值为 8.9 时, 其稳定性较好。参照已上市产品, 本品中加入了 PEG400 作为增溶剂, 对其用量及加入次序也进行了考察。

通过经典恒温法, 可以在较短的实验周期内考察液体制剂的稳定性, 并预测其有效期, 但准确的有效期数值还有待于加速试验及长期试验的研究。本实验发现, 在加热过程中, 托拉塞米的降解产物增加较快, 其有效期的确定还应与此有关物质的限量及增加速率有关, 因此, 还需对灭菌条件进行深入研究。

【参考文献】

[1] 胡瑞钺, 田波, 喻建勇. 托拉塞米的临床应用与比较探讨[J]. *中国医药导报*, 2010, 7(2): 189-190.

[2] 国家食品与药品监督管理局. 托拉塞米质量标准(试行) YBH05982005[S]. 2005: 1.

[3] 美国药典委员会. 美国药典(第 34 修订版)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 4474.

[收稿日期] 2015-10-13 [修回日期] 2016-04-12
[本文编辑] 李睿旻