文章编号:1000-5404(2012)05-0431-03

论著

辐照对去甲肾上腺素注射液含量变化的影响

胡大强[1],卢 华[2],管海燕[1],李卓恒[1],藕顺龙[1],卢来春[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科[1];266000 山东 即墨,山东即墨市中医院妇产科[2])

[摘要] **目的** 建立 HPLC 测定重酒石酸去甲肾上腺素注射液中重酒石酸去甲肾上腺素含量的方法,考察重酒石酸去甲肾上腺素注射液经不同强度 γ 射线辐照后主药的含量变化。**方法** 将同批号重酒石酸去甲肾上腺素注射液置^{60}Co-γ 射线放射原中,分别一次性接受 1、2、4、8、16、25 kGy 辐照剂量照射,以 0.14% 庚烷磺酸钠溶液(磷酸调节 pH = 3.0)-甲醇 = 65∶35 为流动相,流速 1 ml/min,检测波长 286 nm,进样量 20 μl,测定重酒石酸去甲肾上腺素注射剂含量。**结果** HPLC 测定方法的线性范围 5 ~ 25 μg/ml(r = 0.999 9);低、中、高浓度(8,10,12 mg/ml)的平均回收率分别为 99.685%、96.366%、97.557%;日间(n = 3)及日内精密度(n = 3)均小于 2%,重酒石酸去甲肾上腺素辐照后外观及澄明度没有明显变化,含量随辐照强度增加其含量显著下降(P < 0.05),且吸收 8kGy 辐照剂量以上含量下降超出质量合格范围。**结论** 所建方法可用于重酒石酸去甲肾上腺素注射液的含量测定,辐照对重酒石酸去甲肾上腺素注射液的稳定性有显著影响。

[关键词] 重酒石酸去甲肾上腺素;辐照;含量测定
[中图法分类号] R927.2; R971.93; R817 [文献标志码] A

Effect of irradiation on content of Norepinephrine Bitartrate Injection

Hu Daqiang[1], Lu Hua[2], Guan Haiyan[1], Li Zhuoheng[1], Ou Shunlong[1], Lu Laichun[1] ([1]Department of Pharmacy, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Department of Obstetrics and Gynecology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Jimo, Jimo, Shandong Province, 266000, China)

[**Abstract**] **Objective** To develop a high performance liquid chromatography (HPLC) method to analyze the content of norepinephrine bitartrate in Norepinephrine Bitartrate Injection, and study the content changes of the injection after exposure to γ-ray irradiation at different intensities. **Methods** Norepinephrine Bitartrate Injection of the same batch was under the exposure to ^{60}Co-γ ray radiation at 1, 2, 4, 8, 16, and 25 kGy by one time. After that, 0.14% heptanesulfonic acid sodium salt solution (pH value adjusted to 3.0 by using phosphate): methanol (65∶35) as mobile phase, flow rate 1 ml/min, detection wavelength 286 nm, injection volume 20 μl were used to determinate the norepinephrine bitartrate content. **Results** The linear range of norepinephrine bitartrate was 5 to 25 μg/ml (r = 0.999 9). the yield rates at low, medium and high concentrations of norepinephrine bitartrate (8, 10 and 12 μg/ml) was 99.685%, 96.366%, and 97.557%, respectively. The inter-day (n = 3) and intra-day precision (n = 3) were less than 2%. The appearance and clarity of the Injection had no significant change, but the content of norepinephrine bitartrate was decreased in an irradiation dose-dependent manner (P < 0.05). Especially, when the dose was above 8 kGy, and the content was even lower than the range of acceptable quality. **Conclusion** Our developed HPLC method can be used to determine the active ingredient content in Norepinephrine Bitartrate Injection. Irradiation has a significant impact on the stability of Norepinephrine Bitartrate Injection.

[**Key words**] norepinephrine bitartrate; radiation intensity; content determination

Corresponding author: Lu Laichun, Tel: 86-23-68757092, E-mail: lulaicq@163.com

重酒石酸去甲肾上腺素作为急救时补充血容量的辅助治疗,以使血压回升,暂时维持脑与冠状动脉灌注,直到补充血容量治疗发生作用;临床常用于治疗急性心肌梗死、体外循环等引起的低血压;对血容量不足所致的休克、低血压或嗜铬细胞瘤切除术后的低血压;椎管内阻滞时的低血压及心跳骤停复苏后血压维持。要求遮光,密闭,在阴凉处保存。

辐照常规用于食品、医疗保健用品灭菌、包装材料灭菌,被辐照物质的物理性能和化学组成可能发生变化,生物体(微生物等)可能受到不可恢复的损失和破坏[1-7]。而近年来心脑血管疾病、肿瘤发病率较高,常会采用一些能量较低、穿透性较弱的辐射原所产生的射

[通信作者] 卢来春,电话:(023)68757092,E-mail: lulaicq@163.com

线对使用药物后的患者进行介入、放疗等治疗,相关的研究报道较多[8-10],但在这些治疗、研究下均忽略了辐照对药物的影响,特别是核泄漏事故引发的辐射,使药品在核辐射的情况下的稳定性研究极为迫切。目前为止也尚未见辐照在药物稳定性方面的研究。因此,考察辐射下急救药品的稳定性是极为有意义的研究。本研究以重酒石酸去甲肾上腺素注射液为模型药物研究在不同剂量辐照下注射液的稳定性,为一定辐照强度下重酒石酸去甲肾上腺素注射剂的存贮、使用重酒石酸去甲肾上腺素注射剂后接触放射原的安全性提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

辐照设备(^{60}Co-γ射线,第三军医大学辐照研究中心提供),色谱仪:Agilent Technologies 1 200 series HPLC(美国安捷伦公司),色谱柱:Diamonsil Technology C_{18}柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm),电子分析天平:Sartorius BT 124S(德国赛多利斯公司)。

1.2 试药

重酒石酸去甲肾上腺素对照品(中国药品生物制品鉴定所,含量为99.9%,批号100169-199505);重酒石酸去甲肾上腺素注射液(武汉远大制药有限公司,1 ml:2 mg,批号:100302);甲醇为色谱纯;磷酸、庚烷磺酸钠等试剂均分析纯。

1.3 色谱条件[11]

色谱柱:Diamonsil Technology C18柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm);流动相:0.14%庚烷磺酸钠溶液(磷酸调节pH = 3.0)-甲醇 = 65∶35;流速:1 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:30 ℃,进样量:20 μl。

1.4 线性考察

精密称取重酒石酸去甲肾上腺素对照品,加流动相溶解,并稀释至浓度5、10、15、20、25 μg/ml,分别进样20 μl。记录色谱峰面积,以浓度(C)为横坐标,峰面积积分值(A)为纵坐标作图,计算回归方程。

1.5 日内精密度考察

配制8、10、12 μg/ml的低、中、高浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液。按1.3色谱条件,每个浓度分别进样3次进行含量测定。

1.6 日间精密度、稳定性考察

配制8、10、12 μg/ml的低、中、高3个浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液,密封避光于4 ℃保存。按1.3色谱条件,同一溶液分别进样进行含量测定3 d。

1.7 回收率的考察

配制为8、10、12 μg/ml的3个浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液,每个浓度平行配制3份,按1.3色谱条件进样测定。

1.8 辐照处理

以《中华人民共和国药典》[10]2010年版药品常用辐射灭菌吸收剂量25kGy为最大辐射吸收剂量为参考,取同一批号重酒石酸去甲肾上腺素注射液,分为6组,分别在^{60}Co-γ射线放射原中一次性吸收1、2、4、8、16、25 kGy的辐照剂量后取出。

1.9 辐照处理后注射液外观、澄明度考察

采用灯检法,在暗室中以不反光的黑色背景,不反光的白色底部,用肉眼与未经辐照处理的注射液比较。

1.10 不同强度辐照后供试品的含量测定

取辐照前及辐照后的重酒石酸去甲肾上腺素注射液,以流动相配制理论浓度约为20 μg/ml的待测溶液。分别按1.3色谱条件进样测定,记录色谱峰面积,计算浓度。

1.11 数据统计

采用Excel软件,将浓度数据以辐照强度(X)为横坐标,浓度(Y)为纵坐标拟合,计算回归方程。采用SPSS 18.0软件,以未辐照与吸收1、2、4、8、16、25 kGy辐照剂量的注射液含量测定结果进行独立样本的t检验;以吸收8 kGy辐照剂量重酒石酸去甲肾上腺素注射液即时含量测定结果与吸收8 kGy辐照剂量放置4个月的含量测定结果进行独立样本的t检验。

2 结果

2.1 色谱条件结果

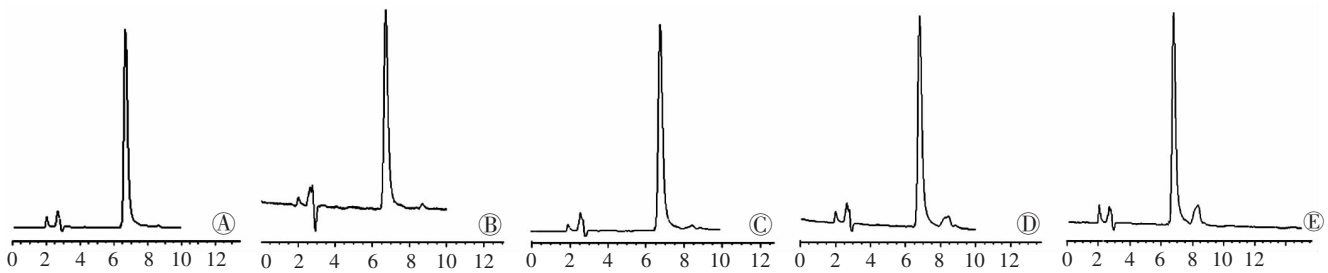
色谱条件下重酒石酸去甲肾上腺素注射液含量测定色谱峰如图1,由图谱可知,采用该色谱条件进行重酒石酸去甲肾上腺素注射液以及辐照后的重酒石酸去甲肾上腺素注射液的含量测定,注射液中重酒石酸去甲肾上腺素与辅料能达到基线分离。

2.2 线性考察结果

重酒石酸去甲肾上腺素在5~25 μg/ml浓度范围内线性关系良好,回归方程为:A = 10.101 7C - 2.665 4(r = 0.999 9)。

2.3 日内精密度考察结果

8、10、12 μg/ml的低、中、高3个浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液,日内精密度较好,RSD分别为0.26%、0.86%、0.23%,均小于2%。



A:重酒石酸去甲肾上腺素对照品;B:重酒石酸去甲肾上腺素注射液;C:辐照1 kGy后重酒石酸去甲肾上腺素注射液;D:辐照8 kGy后重酒石酸去甲肾上腺素注射液;E:辐照25 kGy后重酒石酸去甲肾上腺素注射液

图1 重酒石酸去甲肾上腺素注射液色谱分析

2.4 日间精密度、稳定性考察结果

8、10、12 μg/ml的低、中、高3个浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液，密封避光于4 ℃保存3 d稳定，日间精密度较好，RSD分别为0.25%、0.83%、0.23%，均小于2%。

2.5 回收率的考察结果

8、10、12 μg/ml的3个浓度重酒石酸去甲肾上腺素溶液，平均回收率分别为99.685%、96.366%、97.557%，总体平均回收率为97.87%，RSD为1.72%。回收率在95%～105%范围内，且RSD小于2%，表明其准确度较好。

2.6 辐照处理后注射液外观、澄明度考察结果

吸收不同强度辐照剂量与未接受辐照处理的重酒石酸去甲肾上腺素注射液比较，澄明度没有变化，无沉淀产生，但重酒石酸去甲肾上腺素注射液随着辐照吸收剂量的增加，注射液颜色从无色逐渐加深。

2.7 不同强度辐照后含量测定数据及统计结果

将不同强度辐照后供试品含量测定具体数据，以辐照强度(X)为横坐标，浓度(Y)为纵坐标拟合，得到回归方程为：$Y = -0.188X + 19.46$（$r = 0.924\ 1$）。根据测得数据可知当吸收1、2、4、8、16、25 kGy辐照剂量后含量分别下降至98.70%、94.47%、90.43%、84.22%、83.53%、74.54%。重酒石酸去甲肾上腺素注射液辐照前与吸收1 kGy辐照剂量后比较，其含量变化显著（$P<0.05$），与吸收2、4、8、16、25 kGy辐照剂量后比较，其含量变化极显著（$P<0.01$）。吸收8 kGy辐照剂量的重酒石酸去甲肾上腺素注射液放置4个月后含量为（16.887±0.059）μg/ml，是未辐照前的82.73%，与吸收8 kGy辐照剂量后即刻测定所得含量（16.963±0.024）μg/ml相比含量变化极显著（$P<0.01$）。

3 讨论

本研究采用0.14%庚烷磺酸钠溶液（磷酸调节pH=3.0）-甲醇=65∶35为流动相进行重酒石酸去甲肾上腺素药品含量测定，与2010年中华人民共和国药典方法中使用0.14%庚烷磺酸钠溶液：甲醇（65∶35）磷酸调节pH=（3.0±0.1）为流动相测定重酒石酸去甲肾上腺素含量的方法比较，本方法仅在流动相pH调整顺序上进行了改进，将药典中调整流动相pH值改为调整缓冲液pH值，经方法学验证其辅料与主成分能较好分离，方法学精密度、准确度均较好，可用于本试验中重酒石酸去甲肾上腺素注射液的含量测定。

重酒石酸去甲肾上腺素注射液吸收不同强度的辐照剂量后其含量变化随辐照剂量的增加而下降明显，外观及澄明度没有明显变化；根据SPSS 18.0软件统计结果可知辐照对重酒石酸去甲肾上腺素注射液含量具有显著影响，当吸收4 kGy辐照剂量后含量下降至90.43%，虽然含量变化在统计学上有显著差异，但仍在药典标准中的标示量90%～115%之内[10]，属质量合格范围之内，初步认为吸收小于4 kGy辐照剂量对重酒石酸去甲肾上腺素注射液含量没有显著影响；而吸收8 kGy辐照剂量后含量下降至84.22%，吸收25 kGy辐照剂量后含量下降至74.54%，说明在辐照下重酒石酸去甲肾上腺素注射液外观虽然变化不明显，但含量下降极显著，从而反映了重酒石酸去甲肾上腺素注射液在辐照下是极度不稳定的，应注意在辐照情况下的防辐射保存。

本实验对8 kGy辐照处理后放置4个月的重酒石酸去甲肾上腺素注射液进行了含量测定，虽然暂时没有显著性差异但还需进一步考察长期放置影响，以探究一次性吸收一定辐照剂量后重酒石酸去甲肾上腺素注射液长期放置的含量变化情况。

根据所测定的辐照后重酒石酸去甲肾上腺素注射液中重酒石酸去甲肾上腺素含量的结果数据知，自2 kGy后主药的含量下降，注射剂的颜色加深，同时从不同强度辐照后的重酒石酸去甲肾上腺素注射液色谱图上可知，随着辐照剂量的增加，可能使重酒石酸去甲肾上腺素分解或组合成了某种新的物质，从而导致了注射液颜色的变化及含量的变化，该部分研究还有待进一步深入。

参考文献：

[1] 杨水芝，戚焕江，谢彤. 提高^{60}Co辐照装置的经济效益探讨[J]. 核农学报，2006，20(1)：57－59.
[2] 赵树铭，林武存. 辐照血液预防输血相关性移植物抗宿主病的研究进展[J]. 重庆医学，2011，40(8)：822－824.
[3] 黎儒青，胡建，林武存. 辐照技术在输血安全中的研究进展[J]. 重庆医学，2007，36(24)：2509－2511.
[4] 赵敏，王成，李晓明，等. 辐照灭菌对保健食品功效成分的影响[J]. 上海食品药品监管情报研究，2008，(95)：44－47.
[5] 祝青，刁庆春，白晋，等. 聚焦超声辐照豚鼠慢性湿疹模型的实验研究[J]. 中国超声医学杂志，2008，24(7)：594－597.
[6] 郑美扬，金国华，沈根芳. ^{60}Co辐照室环境放射防护评价[J]. 核电子学与探测技术，2010，30(9)：1224－1226.
[7] 袁侨英，黄晶，司良毅，等. 心腔内超声辐照增加基因表达技术的安全性研究[J]. 第三军医大学学报，2011，33(3)：299－302.
[8] 邹海蓉，邹建中，欧霞，等. 首次低剂量超声辐照对HIFU消融兔肝VX2瘤的影响[J]. 第三军医大学学报，2011，33(2)：116－118.
[9] 卢永辉，何旻蒂，张彦文，等. 葡萄糖干预对电磁辐射所致大鼠学习记忆功能障碍的影响[J]. 第三军医大学学报，2011，33(4)：327－330.
[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2010年版 二部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2010. 571－572，附录ⅩⅦ灭菌法：190－193.

（收稿：2011-10-13；修回：2011-12-21）
（编辑 张 维）