

甲硝哒唑注射剂的稳定性研究

屠锡德 刘 晋* 郑梁元

(药剂学教研室)

摘 要 本文采用初均速法对甲硝哒唑注射剂进行了稳定性试验,以紫外分光光度法在320nm处测定含量。结果表明:制剂的有效期为1.6年以上, $(\text{pH})_m$ 为5.89。该制剂对兔股四头肌有轻度刺激性。溶血性试验表明不发生溶血现象。根据寇氏法计算测得 LD_{50} 为 $419.76 \pm 3.02 \text{mg/kg}$ 。

关键词 甲硝哒唑, 注射剂, 初均速法, 紫外分光光度法

甲硝哒唑(Metronidazole)是一种高效抗滴虫药,临床用于治疗滴虫、贾第虫及各类阿米巴病。近年来,甲硝哒唑又已成为抗厌氧菌感染的首选药物^[1]。目前国内有片剂、霜剂、栓剂^[5]等制剂用于临床,而这些制剂的生物利用度不尽理想。近来国内有生产供静脉注射用的0.5%浓度的100ml输液剂^[2,3]。我们试制成2.5%浓度的静脉注射剂。本实验旨在提高甲硝哒唑在水中的溶解度并考察其制剂的稳定性及安全性。

实 验

一、主要仪器及药品

752型紫外光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂), pH_S-2 型酸度计(上海第二分析仪器厂);甲硝哒唑(本院制药厂),聚乙二醇400(上海化学试剂采购供应站),吐温-80(上海第十八药厂)。

二、实验原理及方法

(一)处方及配制 1. 处方 甲硝哒唑:25.0g,助溶剂:QS,注射用水加到1000ml。2. 配制 取助溶剂适量于1000ml量瓶中,加新鲜注射用水约900ml使完全溶解。精密取25.0g甲硝哒唑置于量瓶中,加注射用水至刻度,振摇至全溶,经3号垂熔玻璃漏斗过滤,灌封于2ml安瓿瓶中,煮沸30min后迅速倒置于冷水中检漏,冰箱贮存,备用。

(二)主药含量测定

1. 测定原理 甲硝哒唑注射液用 $\text{pH}7.0$ 磷酸盐缓冲液稀释至 $10\mu\text{g/ml}$,在波长320nm处有最大吸收。经UV-300紫外扫描得知,甲硝哒唑加助溶剂后,在 $\text{pH}7.0$ 磷酸盐缓冲液中,于波长320nm处仍有最大吸收。

2. 标准曲线的绘制 精密称取甲硝哒唑2.506g于500ml量瓶中,溶解后加注射用水至刻度,摇匀,备用。精密吸取上述溶液0.05、0.15、0.25、0.35、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50ml,分别于250ml量瓶中稀释至刻度(用 $\text{pH}7.0$ 磷酸盐缓冲液),摇匀,以 $\text{pH}7.0$ 磷酸盐

1985年10月18日收稿 * 本院1985届毕业生

缓冲液作为空白对照,于波长320nm处测定吸收值A,得标准曲线(见图)。

3. 制剂中主药含量测定 精密吸取药液0.5ml于25ml量瓶中,用pH7.0磷酸盐缓冲液稀释至刻度,摇匀。精密吸取1.0ml移入50ml量瓶中,加pH7.0磷酸盐缓冲液至刻度,摇匀,以pH7.0磷酸盐缓冲液作为空白对照,于320nm处测其吸收值A。

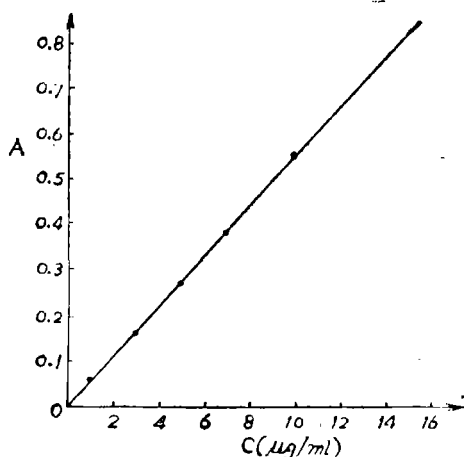


图 甲硝哒唑标准曲线

(三) 稳定性试验^[4,5] 按初均速法进行稳定性试验。分解初均速 $V = -\frac{C - C_0}{t}$ 。通过求算各温度不同时间下的吸收值 A_i ,由 $\log V = \log \frac{A_0 - A_i}{t}$ 求得 $\log V$, 由 $\log V - \frac{1}{T} \times 10^3$ 作图

(T 为 t 的绝对温度), 得回归方程 $\log V = R \left(\frac{1}{T} \times 10^3 \right) + b$, 求出 $V_{25^\circ\text{C}}$, 由 $t_{0.95}^{25^\circ\text{C}} =$

$\frac{0.05A_0}{V_{25^\circ\text{C}}}$ 求出有效期。

(四) 最适 pH 值的考察 将制剂用磷酸盐分别调至 pH4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5 等, 以上溶液分别稀释成 $10\mu\text{g/ml}$, 测定各自的 A_0 后, 分别灌封于 2ml 安瓿瓶中, 煮沸 12h 后取出, 再测其各自吸收值 A , 然后以 A_0/A -pH 值作图, 求出 $(\text{pH})_m$ 。

(五) 动物刺激性试验 于健康家兔左侧后肢股四头肌上注射药液 1.0ml, 48h 后处死, 观察并记录用药部位肌肉组织是否出现红肿, 出血, 变性, 坏死等刺激症状, 以了解制剂的毒性及选择合理的给药途径。

(六) 溶血性检查 取兔耳缘静脉血 5~6ml, 除去纤维蛋白, 用生理盐水冲洗 3~5 次至上清液不显红色, 然后按红细胞量用生理盐水配成 2% 的混悬液备用。取八支试管, 编号, 前五管分别加梯度量药液, 后三管分别加蒸馏水, 生理盐水和皂甙, 然后各管中加入定量的红细胞, 于室温 $25\sim 27^\circ\text{C}$ 放置 3h, 分别记录 0.5、1.0、2.0、3.0h 的结果。以前第三管在 3h 内不溶血为宜。

(七) 急性毒性试验 (LD_{50}) 取体重 18~22g 健康成长的小白鼠 50 只, 随机均匀分成 5 组, 每组尾静脉注射甲硝哒唑, 剂量以 588mg/kg 开始, 1:0.85 的剂量间隔比各组依次递减, 一次给药后, 观察记录 7 天内各组小鼠死亡数。

三、结果及讨论

(一) 初均速试验结果

表 注射剂在各种温度下的试验结果

t℃	100	95	90	85	80	75	70	65
S(h)	5	10	18	24	30	36	42	48
$\frac{1}{T} \times 10^3$	2.681	2.717	2.755	2.793	2.833	2.874	2.915	2.959
A	0.542	0.542	0.541	0.543	0.544	0.542	0.543	0.543
±SD	±0.0042	±0.0007	±0.0014	±0.0007	±0.0000	±0.0007	±0.0007	±0.0000
logV	-3.000	-3.301	-3.477	-3.678	-3.778	-3.924	-4.033	-4.079

$$A_0 = 0.547$$

由上述结果得回归方程 $\log V = -3.7709 \left(\frac{1}{T} \times 10^3 \right) + 6.9595$, 求得 $V = 2.0206 \times 10^{-8}$, $r = -0.9717$. $t_{0.95}^{25^\circ\text{C}}$ 为1.6年。由Carstensen公式统计得出 $g(X) = 0.08462$, 故上述回归方程可写成: $\log V = -3.7709 \left(\frac{1}{T} \times 10^3 \right) + 6.9595 \pm g(X)$, 当 $T = 298$ 时, $t_{0.95}^{25^\circ\text{C}}$ 的置信区为: $1.87\text{年} > t_{0.95}^{25^\circ\text{C}} > 1.27\text{年}$ 。

(二) 最适pH值求算 按上前法(四)求得最适pH值为5.89。

(三) 刺激性试验结果 按照前法(五)试验结果表明该制剂有轻度刺激性。

(四) 溶血性试验结果 按溶血性检查结果(每管中加2.5ml 红细胞悬液)该制剂不发生溶血现象。

(五) 半数致死量(LD₅₀)试验结果 所得结果根据寇氏法计算测得LD₅₀为419.76 ± 30.2mg/kg。

结 语

1. 本实验中,为解决溶解度问题,曾使用有机溶媒聚乙二醇400及丙二醇,增溶剂吐温-80,助溶剂M和N。结果表明:吐温-80用量达5%以上增溶效果仍不明显,有机溶媒的效果也欠佳,且粘度大;而助溶剂M效果好,可配成10%注射剂,但因毒性大而未被采用,故用毒性小且效果较好的N作为处方的助溶剂。

2. 紫外测定结果表明:处方中助溶剂N添加与否及添加量对甲硝哒唑的紫外吸收无影响。

3. 实验得知制剂的最适pH值在5.89左右,而按处方量配得的溶液pH值在6.0~6.5间,受热后溶液的pH虽有降低,但仍接近(pH)_m。

4. 该制剂进行了初期动物实验,结果表明:甲硝哒唑注射液毒性较小,无溶血、有轻度刺激等症状。经用小白鼠和家兔两种动物进行安全试验,表明正常人用剂量远远低于中毒剂量。

5. 使用初均速法对方进行稳定性试验, 结果表明, 该注射剂的有效期为1.6年以上。本品在贮存过程中, 制剂的色泽、pH值等变化均很小。

参 考 文 献

1. Brogden RN. Med Prog 1979 6(1):17(引自国外医学. 药学分册 1980 7(1):64)
2. 陈冠荣. 中国医院药学杂志 1985 5(2):7
3. USP/NF X X I 1985:691
4. 庞贴慧, 鲁纯素. 药学学报 1982 17(3):207
5. 庞贴慧, 鲁纯素. 药物稳定性预测方法. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1984:76

STUDY ON STABILITY OF METRONIDAZOLE INJECTIONS

Tu Xide¹, Liu Jin² and Zheng Liangyuan¹

Abstract

The stability test of metronidazole injections was studied by using the initial average rate method and metronidazole was determined by UV spectrophotometry at 320nm. The accelerated stability test showed that the shelf-life($t_{0.95}$) of the injections under room temperature was over 1.6 years; (pH)_m was 5.89. The irritative and hemolysis tests showed that the injections had light irritation to muscle quadriceps femoris in rabbits and had no hemolytic phenomenon. The LD₅₀ in mice was 419.76 ± 3.02 mg/kg.

Key words Metronidazole Injections, UV spectrophotometry, Tinitial average rate method, Shelf life

1. Department of Pharmaceutics
2. Student of 1985