

加速实验法测定细辛脑注射液的稳定性

丁晓爽, 于小童, 赵昌军*

(淄博市食品药品检验研究院, 淄博 255086)

摘要: **目的** 考察细辛脑注射液在不同条件下的稳定性, 为药品生产及临床用药提供参考。 **方法** 将细辛脑注射液在强酸、强碱、氧化、加热、光照条件下进行加速实验, 照国家食品药品监督管理局批准的国家药品标准 WS-10001-(HD-0437)-2002-2016 中有关物质的测定方法进行杂质检验, 并按照自行建立的高效液相色谱质谱联用法对两种光照条件下破坏的样品进行定量测定。 **结果** 细辛脑注射液在酸性条件下易发生降解, 毒性物质 β -细辛脑及其他未知杂质均明显增加, 在强碱、氧化、加热条件下杂质变化不大, 在光照条件下毒性物质 β -细辛脑明显增加。 **结论** 细辛脑注射液对光照敏感, 建议生产企业在该品种生产过程中优化生产条件, 降低原料及制剂的曝光时长; 制剂包装使用避光材料; 临床用药时采取适当的避光措施, 并在药物说明书中提示操作。

关键词: 细辛脑注射液; β -细辛脑; 高效液相色谱质谱联用法

0 引言

细辛脑(asarone)注射液作为临床治疗肺炎、支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病伴咳嗽、咯痰、喘息^[1-3]等症状的用药被广泛应用。在细辛脑注射液中主要成分为 α -细辛脑^[4-5], 在来源上多采用全合成工艺来保证药源和用药安全^[6-8]。 α -细辛脑在一定条件下可降解为其异构体 β -细辛脑。有研究证实 β -细辛脑具有一定的毒性^[9-10], 因此本实验对本机构从市场上抽取的 26 批细辛脑注射液进行研究, 采用加速实验方法, 模拟高温、高湿、高热等极端条件, 加速药品老化, 考察其在剧烈条件下的稳定性, 试验毒性物质 β -细辛脑的产生条件并采用高效液相色谱质谱联用法测定其在细辛脑注射液含量, 为药品的生产、储存、运输条件及临床用药、降低临床不良反应^[11-15]提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

QEFocus 高效液相色谱质谱联用仪(Thermo)、LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津)、CP225D 电子天平(北京赛多利斯)、GZX-9030MBE 电热鼓风干燥箱(上海博讯)、WFH-203C 四用紫外分析仪(上海驰唐)

1.2 试剂

β -细辛脑对照品(批号: DR220214-02 含量: 99.57% 来源:

Stanford Chemical)、甲醇(色谱纯)默克、盐酸(分析纯)烟台远东、氢氧化钠(分析纯)烟台远东、30% 过氧化氢(分析纯)沪试、水为超纯水。

26 批次细辛脑注射液来自国内 5 个生产厂家(A~E)。规格有两种, 一种是 2 mL: 8 mg(23 批次, 均为无色低硼硅玻璃安瓿瓶); 另一种是 5 mL: 16 mg(3 批次, 均为棕色低硼硅玻璃安瓿瓶)。

1.3 试验方法

1.3.1 法定检验方法

国家食品药品监督管理局批准国家药品标准 WS-10001-(HD-0437)-2002-2016^[16] 中“有关物质”试验方法。

1.3.2 自行建立高分辨液质联用检验方法

(1)色谱条件。色谱柱: C_{18} 柱(4.6×100 mm, 3 μ m), 流动相: 0.1% 甲酸水: 甲醇(35: 65), 检测波长: 258 nm, 进样量: 1 μ L, 柱温: 25°C, 离子源: ESI, 电离模式: Positive; 鞘气流速: 35, 辅助气流速: 10, 喷雾电压: 2.8 kV, 离子传输管温度: 350°C, S-lens 电压: 55.0, 选择 SIM 扫描模式, 以 β -细辛脑分子量 209.11722 作为监测离子。

(2)对照品线性系列标准溶液的制备。称取 β -细辛脑对照品适量, 配制 118.6 μ g/mL、23.72 μ g/mL、11.86 μ g/mL、1.186 μ g/mL、118.6 ng/mL、23.72 ng/mL、5.93 ng/mL 的线性对照品溶液。

第一作者: 丁晓爽, 主管药师, 研究方向为药品质量分析。

*** 通信作者:** 赵昌军, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药品质量分析。E-mail: 27070960@qq.com

1.3.3 破坏方法

(1)强酸破坏：取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，混匀后，各取 1 mL 分别置 25 mL(2 mL：8 mg 规格)、20 mL(5 mL：16 mg 规格)容量瓶中，各加入 1 mol/L HCl 溶液 1 mL，60℃ 水浴加热 2 h，放冷，加适量 1 mol/L NaOH 溶液中和后，用 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

(2)强碱破坏：取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，混匀后，各取 1 mL 分别置 25 mL(2 mL：8 mg 规格)、20 mL(5 mL：16 mg 规格)容量瓶中，各加入 1 mol/L NaOH 溶液 1 mL，60℃ 水浴加热 2 h，放冷，加适量 1 mol/L HCl 溶液中和后，用 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

(3)氧化破坏：取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，混匀后，各取 1 mL 分别置 25 mL(2 mL：8 mg 规格)、20 mL(5 mL：16 mg 规格)容量瓶中，各加入 30% 过氧化氢溶液 1 mL，60℃ 水浴加热 2 h，放冷，用 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

(4)加热试验：取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，置 105℃ 鼓风干燥箱中加热 2 h，取出放冷后混匀，取 26 批次混匀后溶

液各 1 mL，分别置 25 mL(2 mL：8 mg 规格)、20 mL(5 mL：16 mg 规格)容量瓶中，用 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

(5)光照破坏：取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，去除标签纸，置 254 nm 紫外灯下照射 24 h 后混匀，取 26 批次混匀后溶液各 1 mL，置 25 mL(2 mL：8 mg 规格)、20 mL(5 mL：16 mg 规格)容量瓶中，用 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

2 结果与分析

2.1 正常试验条件结果分析

取 26 批次细辛脑注射液，按照法定标准中“有关物质”项下供试品溶液配制方法制备供试品并检定。标准中规定 β -细辛脑不得过 1.0%，其他单个杂质不得过 0.5%，各杂质总和不得过 1.5%，结果均符合规定，合格率 100%。其中检出 β -细辛脑的有 13 批，含量为 0.04%~0.28%，各杂质总和含量为 0.05%~0.3%，由上述两组结果可以看出 β -细辛脑在总杂质中占比较高。结果见表 1。

表 1 26 批次细辛脑注射液法定标准检定结果

生产企业	批次数	β -细辛脑最大值(%)	β -细辛脑最小值(%)	其他单杂平均(%)	总杂最大值(%)	总杂最小值(%)	总杂 RSD(%)
A	5	0.28	0	0	0.28	0	63.1
B	13	0.16	0	0.11	0.18	0	47
C	3	0	0	0.02	0.05	0	173.2
D	3	0.12	0.04	0.07	0.28	0.06	74.2
E	2	0.13	0.11	0.1	0.23	0.21	6.4
均值	—	0.14	0.03	0.06	0.2	0.05	—

2.2 破坏试验结果分析

为模拟临床用药时，静脉滴注用溶媒或药品配伍可能造成的药物环境 pH 值改变，进行极端强酸破坏，测得 β -细辛脑含量增加明显，同时其他未知杂质的含量增加更加明显，说明 α -细辛脑在酸性条件下易发生降解，但不是产生 β -细辛脑的特定条件，其他杂质相同保留时间集中情况不显著，因此暂时对强酸破坏下生成杂质成分不研究；强碱破坏后，测得 β -细

辛脑含量相对正常试验条件下变化不大，含量均低于 1.0%，其他未知杂质含量整体变化不大；氧化破坏和加热破坏后，测得 β -细辛脑含量较正常试验条件下变化不大，说明 α -细辛脑在这两个条件下相对稳定；光照破坏后，测得各厂家 β -细辛脑含量均明显增加，其他未知杂质含量变化不大，说明 α -细辛脑在光照情况下易被降解为 β -细辛脑。 β -细辛脑含量及总杂质含量见表 2。

表 2 各试验条件破坏后 β -细辛脑含量及杂质总量

生产企业	批次数	强酸破坏		强碱破坏		氧化破坏		加热试验		光照破坏	
		β -细辛脑平均含量(%)	总杂质平均含量(%)	β -细辛脑平均含量(%)	总杂质平均含量(%)	β -细辛脑平均含量(%)	总杂质平均含量(%)	β -细辛脑平均含量(%)	总杂质平均含量(%)	β -细辛脑平均含量(%)	总杂质平均含量(%)
A	5	6.53	288.15	0.17	23.45	0.01	0.17	0.01	0.14	10.73	11.05
B	13	5.36	145.30	0.02	0.41	0.01	0.08	0.01	0.07	17.27	18.57
C	3	6.14	239.85	0.50	23.86	0.00	0.09	0.01	0.10	2.10	2.17
D	3	5.19	186.66	0.06	0.61	0.04	0.08	0.14	0.17	11.42	11.53
E	2	5.40	115.54	0.10	0.97	0.01	0.01	0.11	0.12	9.00	9.62
均值	—	5.72	195.10	0.17	9.86	0.01	0.09	0.06	0.12	10.10	10.59

2.3 自然光照射 24 h 破坏试验结果分析

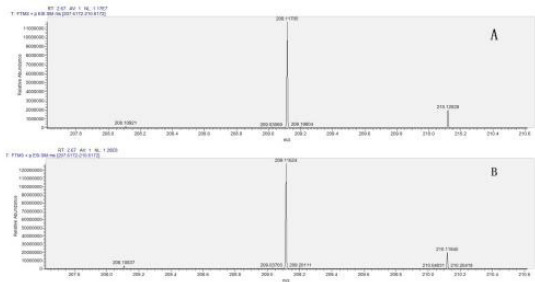
由 2.2 的试验结果可以看出细辛脑注射液主成分 α -细辛脑在紫外光照条件下易降解为有毒物质 β -细辛脑，因此本机构另

抽取 26 批次细辛脑注射液各 5 支，去除标签纸，置自然光下照射 24 h 后按 1.3.3(5)下供试品配制方法配制供试品，按照本机构自行建立的测定方法，通过高效液相色谱质谱联用技术，对

上述供试品、按照法定标准配制的供试品溶液及 1.3.3(5)下的供试品溶液,3 份样品进行了定量测定。

结果显示,在 254 nm 光照条件下破坏生成的 β -细辛脑是按法定标准配制供试品测定结果的 4~50 倍;在自然光条件下,细辛脑注射液同样可以降解并生成 β -细辛脑,并且在光照时长一样的条件下,自然光照射后生成的 β -细辛脑含量是 254 nm 紫外灯照射后生成 β -细辛脑含量的 3~10 倍,是按法定标准配制供试品测定结果的 50~140 倍,说明 α -细辛脑对自然光敏感。5 家企业在同样试验条件破坏后,C 厂家生成的 β -细辛脑含量最低,说明该厂家使用的棕色低硼硅玻璃安瓿瓶包装材

料,具有避光作用。试验图谱见图 1,结果见表 3。



注: A. 对照品, B. 供试品

图 1 β -细辛脑含量定量测定图谱

表 3 β -细辛脑定量测定结果

生产企业	批次数	正常试验条件下	254 nm 紫外灯破坏	日光破坏
		β -细辛脑含量($\mu\text{g/mL}$)	β -细辛脑含量($\mu\text{g/mL}$)	β -细辛脑含量($\mu\text{g/mL}$)
A	5	10.70	184.85	1001.05
B	13	8.35	416.48	1105.14
C	3	10.34	41.36	506.11
D	3	14.29	409.55	1346.76
E	2	9.59	330.46	1246.48
均值	—	10.66	276.54	1041.11

3 讨论与结论

本文对 26 批次细辛脑注射液照法定检验标准进行了有关物质检测,结果显示各杂质含量均符合规定,其中 β -细辛脑在总杂质中占比较高。有文献指出 β -细辛脑具有毒性,因此采用加速试验方法,模拟药品在生产、运输、储存、使用过程中可能面临的极端环境,试验 β -细辛脑可能产生的原因。采用强酸、强碱、氧化、加热、光照等五种条件进行了破坏,通过试验发现 α -细辛脑在光照条件易降解为有毒物质 β -细辛脑。由于在正常试验条件下 β -细辛脑含量较低,因此为提高试验灵敏度,本研究建立了高效液相色谱质谱联用方法,对正常试验条件下配制的供试品溶液和两种光照条件破坏后的供试品溶液进行了定量测定,结果显示破坏后的供试品中 β -细辛脑最高含量是正常试验条件下的 140 倍。针对该药品对光照敏感的性质,建议涉及该药品制剂在加工过程中,关注降解杂质产生条件,生产全流程避光,避免原料药的降解,在制剂包装上使用深色玻璃封装,并且在产品使用说明书中增加该品种需避光使用的说明。

参考文献

[1] 周颖,张琼丹,张卫萍.儿科细辛脑注射液使用调查分析[J].西北药学杂志,2016,31(06):643-646.
[2] 叶林虎,王宇奇,陶晨,等. α -细辛脑注射剂的研究进展与临床应用[J].中国比较医学杂志,2017,27(03):87-90.
[3] 李宜檀,钟斯卉,翟新卉,等.高效液相色谱法测定细辛脑注射液有关物质[J].广州化工,2020,48(10):98-100.
[4] 高文雅,冯敏,高畅,等.石菖蒲中 α -细辛脑含量测定方法

建立及其在开心散中量值传递研究[J].中国中医药信息杂志,2023,30(07):132-136.
[5] 赵李宏,吴建梅,武凤兰. α -细辛脑近 10 年研究概述[J].中国中药杂志,2007,32(07):562-565,650.
[6] 陈毅平.石菖蒲有效成分 α -细辛脑的合成[J].中国药物化学杂志,2020,30(08):477-480.
[7] 张宁,邓志坚,柳春,等. α -细辛脑的合成研究进展[J].大众科技,2014,16(183):71-73.
[8] 谢芳,何幼鸾.一种合成 α -细辛脑的新方法[J].科技创新月刊,2015,18:116-117.
[9] 张梦林,林娜,邓强,等.细辛脑的临床前毒性研究进展[J].药理学杂志,2019,33(02):161-165.
[10] 孙春艳,赵亚萍,郭江红.细辛脑注射液质量评价与标准现状分析[J].中国药品标准,2012,13(03):181-184.
[11] 焦凤兰,金宁.细辛脑过敏反应 6 例报告[J].儿科药学杂志,2010,16(06):60.
[12] 白忠.细辛脑注射液静滴致过敏反应 3 例报道[J].中外医学研究,2012,10(27):153-154.
[13] 杜红.细辛脑注射液致幼儿过敏反应 1 例[J].儿科药学杂志,2012,18(01):64-65.
[14] 杨启英.细辛脑注射液常见不良反应及护理干预效果观察[J].中国民康医学,2013,25(10):81,86.
[15] 刘受先,肖丹,易小民.我院 2017—2019 年 23 例细辛脑注射液药物不良反应分析[J].中国民间疗法,2021,29(07):96-97.
[16] 国家食品药品监督管理总局.细辛脑注射液:WS-10001-(HD-0437)-2002-2016[S].北京:国家药典委员会,2016.