

文章编号 1006-8147(2013)05-0424-03

论著

# 左卡尼汀口服液稳定性的研究

刘青, 王姿婧, 戴学文, 杨金荣, 房志仲

(天津医科大学药学院药剂学教研室, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

**摘要** 目的:研究左卡尼汀口服液的稳定性,并预测其在室温下的有效期。方法:采用 HPLC 法测定口服液中左卡尼汀的含量,用经典恒温法预测其有效期。结果:左卡尼汀口服液的降解过程符合一级动力学过程;经典恒温法测得左卡尼汀口服液在 25 °C 的分解速度常数  $K_{25} = 9.19049E-05$ ,在 25 °C 下存放其有效期  $t_{0.9} = 3.19$  年。结论:左卡尼汀口服液有效期暂定为 3.0 年。

**关键词** 左卡尼汀口服液;经典恒温法;稳定性;有效期

中图分类号 R927.11

文献标志码 A

## Study of the stability of L-carnitine oral liquid

LIU Qing, WANG Zi-jing, DAI Xue-wen, YANG Jin-rong, FANG Zhi-zhong

(Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To investigate the stability of L-carnitine oral liquid and to forecast its expiration date in storage at room temperature. **Methods:** The contents of L-carnitine were determined by HPLC. The expiration date was tested by classical constant-temperature method. **Results:** The pyrolytic degradation kinetics of L-carnitine oral liquid was corresponded with the first-order kinetics. The value of constant K determined by the classical constant-temperature method was  $9.19049E-05$  at 25 °C. The calculated time for 10% disintegration was 3.19 years. **Conclusion:** The expiration date for L-carnitine oral liquid may tentatively set on 3.0 years.

**Key words** L-carnitine oral liquid; classical constant-temperature method; stability; expiration date

左卡尼汀是哺乳动物能量代谢中必需的体内天然物质,其主要功能是协助细胞中的长链脂肪酰辅酶 A 穿过线粒体内膜而进入线粒体基质内进行  $\beta$  氧化而产生能量,与机体的器官、组织代谢密切相关<sup>[1]</sup>。左卡尼汀的缺乏会导致能量供应障碍及脂肪酸代谢的各种中间产物累积中毒,出现心肌病变、心律失常、机体疲劳等症状<sup>[2]</sup>。由于其正常剂量内不良反应少、安全性高的特点,现临床上得到了广泛的应用<sup>[3]</sup>。目前临床上使用的主要剂型有注射剂和口服剂,但室温下贮存期应多长时间为有效,尚未见相关报道。为此,笔者对左卡尼汀口服液的稳定性进行科学考察。本文采用经典恒温加速试验法对左卡尼汀口服液的稳定性进行试验,为制定其有效期提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试药

1.1.1 仪器 ALC-210.4 型电子天平(北京赛多利斯系统仪器有限公司);KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);美国高效液相色谱 Spectra-Physics, 检测器 Spectra Focus100, 输液泵 SP8810, 色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub> (200 mm×4.6 mm 5

$\mu\text{m}$ , P/N 91182045);Anastar 色谱工作站 2DY-II-IKVA 型高精度单相交流稳压电源(国营启动电讯厂);SYC-15 型超级恒温水浴(南京桑力电子设备厂);SWQ 智能数字恒温控制器(南京桑力电子设备厂);酸度计 PHS-25(数显)pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.1.2 试药 酒石酸左旋肉碱原料药(郑州安诚生物科技有限公司,批号:120102AC);左卡尼汀注射液对照品(意大利西格马生物制药公司,批号:111595);阿斯巴甜(日本味之素株式会社,批号:T06X22003);甲醇(天津市风船化学试剂科技有限公司,分析纯,批号:20121018);磷酸二氢钾(天津市风船化学试剂科技有限公司,分析纯,批号:20100108);磷酸(天津市化学试剂三厂,分析纯,批号:20090108);重蒸水(自制)。

### 1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub> (200 mm×4.6 mm 5  $\mu\text{m}$ );流动相 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液(80%磷酸调节 pH 至 2.4):甲醇=95:5,流速 0.5 mL·min<sup>-1</sup> 检测波长 225 nm 柱温 室温 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

1.2.2 供试液的配制 供试液 I:精密量取左卡尼汀对照品适量,加流动相制成每 1 mL 中约含有左卡尼汀 2 mg 的溶液,即得。

作者简介 刘青(1989-),女,硕士在读,研究方向 药物制剂与质量控制,通信作者:房志仲, E-mail: fangzhi zhong@tjmu.edu.cn。

1.2.3 标准曲线的绘制 精密称取酒石酸左旋肉碱约 3.638 3 g,置 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密量取此溶液 0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,按照“1.2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。

1.2.4 精密度试验 取供试药液 I,按照“1.2.1”项下色谱条件于同一天内平行进样 6 次,计算 RSD 值,得到日内精密度。连续进样 6 d,计算 RSD 值,得到日间精密度。

1.2.5 稳定性试验 取供试药液 I,按照“1.2.1”项下色谱条件分别于 0、3、6、9、12、24 和 48 h 进样,计算 RSD 值。

1.2.6 回收率试验 精密称取酒石酸左旋肉碱,按处方量的 80%、100%、120% 分别精密加入相应的辅料,加入流动相稀释为 3 种不同浓度的溶液,每组不同比例各 3 份(共 9 份),按“1.2.1”项下色谱条件,测定峰面积(A),按照外标一点法,计算浓度,并将测得值与加入值比较,计算回收率。

1.2.7 破坏性试验

1.2.7.1 酸破坏 精密称取酒石酸左旋肉碱 3.638 3 g 于 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 50 mL,水浴加热,每隔 30 min 取样 2 mL,试验进行 3 h。每个样品冷却至室温后,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 中和,过滤,精密吸取续滤液 0.2 mL 于 10 mL 量瓶,流动相稀释定容,于上述色谱条件进样,测定,记录其色谱图。

1.2.7.2 碱破坏 精密称取酒石酸左旋肉碱 3.638 3 g 于 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 50 mL,水浴加热,每隔 30 min 取样 2 mL,试验进行 3 h。每个样品冷却至室温后,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 中和,过滤,精密吸取续滤液 0.2 mL 于 10 mL 量瓶,流动相稀释定容,于上述色谱条件进样,测定,记录其色谱图。

1.2.7.3 氧破坏 精密称取酒石酸左旋肉碱 3.638 3 g 于 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50 mL,水浴加热,每隔 30 min 取样 2 mL,试验进行 3 h。取出的样品敞口加热,使 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解,过滤,精密吸取续滤液 0.2 mL 于 10 mL 量瓶,流动相稀释定容,于上述色谱条件进样,测定,记录其色谱图。

1.2.8 经典恒温试验<sup>[4]</sup> 将左卡尼汀口服液样品灌装于 10 mL 安瓿中,熔封,分别置于 60、70、80、90 °C 的恒温水浴中,各温度按试验设计时间取样,每次分别取出 2 支安瓿,自然冷却至室温,按“1.2.2”项下配制供试品溶液,进样 20 μL 测定。

2 结果

2.1 标准曲线 按“1.2.3”项下条件进行测定,左卡

尼汀的回归方程为  $C=38\ 189A+27\ 720$   $r=0.999\ 8$ 。结果表明左卡尼汀在 0.50~10.00 mg·mL<sup>-1</sup> 范围内与峰面积线性关系良好。

2.2 精密度 测得左卡尼汀样品溶液的日内精密度的相对标准偏差为 0.48%,日间精密度的相对标准偏差为 0.39%,均小于 2%,方法重现性良好,符合要求。

2.3 稳定性 测得左卡尼汀样品溶液稳定性的相对标准偏差为 0.39%,小于 2%,结果表明供试品溶液在 48 h 内基本稳定。

2.4 回收率 测得样品中左卡尼汀的平均回收率为 100.38%,RSD 为 0.85%,回收率在 98%~102% 之间,相对标准偏差小于 2%,符合规定。结果见表 1。

表 1 左卡尼汀回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test of L-carnitine(n=9)

加入百分比	加入质量/g	测得质量/g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
80%	1.60	1.61	100.34	100.38	0.85
	1.60	1.63	101.57		
	1.60	1.61	100.82		
100%	2.00	2.02	101.01		
	2.00	2.01	100.49		
	2.00	2.03	101.35		
120%	2.40	2.37	99.22		
	2.40	2.38	99.30		
	2.40	2.39	99.31		

2.5 破坏试验 酒石酸左卡尼汀在强酸条件下较稳定,在强碱、氧化破坏时,左卡尼汀均不易与酒石酸分离,影响测定结果。见图 1~3。

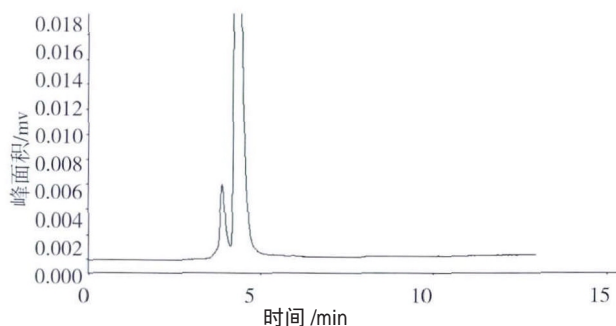


图 1 左卡尼汀酸破坏 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of L-carnitine acid destruction

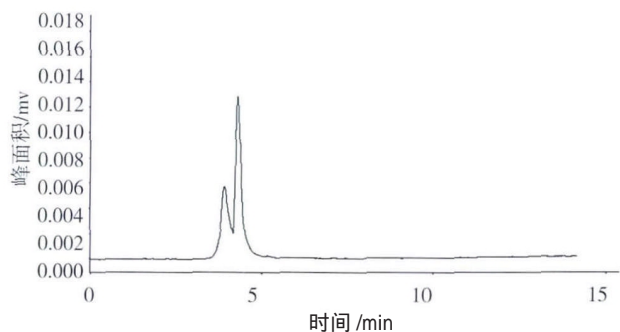


图 2 左卡尼汀碱破坏 HPLC 图

Fig 2 HPLC chromatograms of L-carnitine base destruction

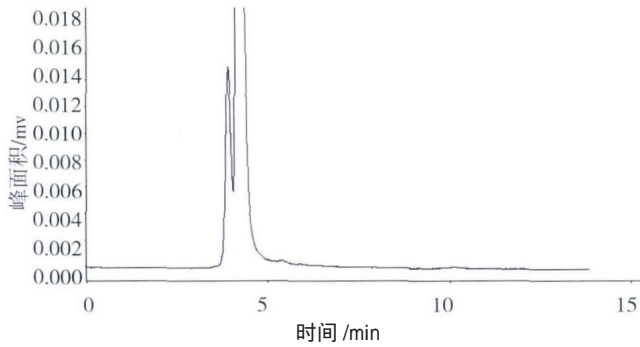


图3 左卡尼汀氧破坏 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatograms of L-carnitine oxidant destruction

2.6 经典恒温试验 按“1.2.8”项下方法进行测定,得出左卡尼汀口服液在不同温度下的分解数据。见表 2。

表 2 左卡尼汀口服液在不同温度下的分解数据

Tab 2 Degradation of L-carnitine oral liquid at different temperatures

温度 T/°C	取样 时间 t/d	相对质量 分数 C/%	相对质量分数 的对数 lgC
60	0	100.00	2.000
	12	78.68	1.895 864 351
	18	69.86	1.844 228 581
	21	64.75	1.811 259 152
	26	58.44	1.766 738 381
70	29	54.73	1.738 255 483
	0	100.00	2.000
	10	74.71	1.873 394 803
	12	70.15	1.846 045 563
	14	65.57	1.816 705 184
	18	58.35	1.766 007 720
80	22	51.20	1.709 309 107
	0	100.00	2.000
	5	72.85	1.862 445 315
	8	59.02	1.770 999 205
	10	51.86	1.714 800 968
	12	45.11	1.654 283 361
90	14	40.03	1.602 422 558
	0	100.00	2.000
	2	81.53	1.911 317 442
	4	66.67	1.823 930 455
	6	54.15	1.733 598 461
8	44.89	1.652 149 605	
10	35.23	1.546 969 147	

以相对质量分数的对数(lgC)对时间(t)作图,得到不同温度下左卡尼汀的回归方程及分解速度常数。结果见表 3。

表 3 左卡尼汀口服液在不同温度下的回归方程及分解速度常数

Tab 3 Regression equations and the degradation rate constants of L-carnitine oral liquid at different temperatures

T/°C	回归方程	r	K/d <sup>-1</sup>	lgK
60	lgC=-0.009 0t+2.002 4	0.999 6	0.020 727 0	-1.683 463 553
70	lgC=-0.013 2t+2.002 4	0.999 7	0.030 399 6	-1.517 132 131
80	lgC=-0.028 7t+2.001 6	0.999 6	0.066 096 1	-1.179 824 165
90	lgC=-0.044 8t+2.001 8	0.999 5	0.103 174 4	-0.986 428 048

根据 Arrhenius 指数定律  $\lg K = -E/2.303RT + \lg A$ , 以  $\lg K$  对  $1/T$  做线性回归, 得回归方程  $\lg K = -2.934.5/T + 5.805 7$ ;  $|r| = 0.990 4$ 。由此推算室温(25 °C)的分解速度常数 K 及有效期为  $K_{25^\circ\text{C}} = 9.190 49E-05$ ,  $t_{0.9} = 0.105 4/K_{25^\circ\text{C}} = 1 146.84 \text{ d} \approx 3.19 \text{ 年}$ 。

### 3 讨论

稳定性试验的目的是考察原料药或药物制剂在温度、湿度、光线等因素的影响下随时间变化的规律, 为药品的生产、包装、运输、贮藏条件提供依据, 并通过试验数据分析确定药品的有效期<sup>[5-6]</sup>。多数情况下, 药物的降解都符合一级反应动力学规律<sup>[7]</sup>。加速预测法中的经典恒温法尤其适用于液体制剂, 其原理是根据 Arrhenius 的指数定律  $K = Ae^{-E/RT}$ , 主要反映温度对于反应速率常数的影响, 从而预测药物在常温下的稳定性情况<sup>[8]</sup>。以  $\lg K$  对  $1/T$  作图得一直线, 由直线的斜率可以计算出活化能 E, 将直线外推至室温, 可以求出室温时的降解常数(K), 由  $K_{25^\circ\text{C}}$  可以求出分解 10%所需的时间(即  $t_{0.9}$ )<sup>[9]</sup>。

由于加速试验的试验条件有别于实际贮存条件, 得出的结果存在一定的偏差。因此, 加速试验的数据可以用来指导制剂处方设计、制备工艺的确定及其有效期的预测, 及时发现问题并加以纠正, 但是不能以此作为确定药物稳定性及有效期的唯一依据<sup>[10]</sup>。

本试验采用经典恒温法考察左卡尼汀口服液的稳定性。加速试验结果表明, 温度和时间不影响其颜色、澄明度和 pH 值。经推算左卡尼汀口服液在室温下有效期为 3 年, 表明本品在室温下是稳定的。

#### 参考文献:

- [1] Crill C M, Helms R A. The use of carnitine in pediatric nutrition[J]. Nutr Clin Pract, 2007, 22(2):204
- [2] 陈静, 尹定丛. 左卡尼汀的临床应用进展[J]. 中国医药导报, 2010, 7(22):9
- [3] Bain M A, Milne R W, Evans A M. Disposition and metabolite kinetics of oral L-carnitine in humans[J]. J Clin Pharmacol, 2006, 46(10):1163
- [4] 黄玉香. 恒温加速法预测药品有效期[J]. 海峡药学, 2008, 20(1):53
- [5] 杨颖. 改善药物稳定性的方法综述[J]. 中国药师, 2007, 10(2):138
- [6] 张星一. 化学药物稳定性研究的设计和评价[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(14):1209
- [7] Rizwan M, Aqil M, Azeem A, et al. Study of the degradation kinetics of carvedilol by use of a validated stability-indicating LC method[J]. Chromatographia, 2009, 70(7):1283
- [8] 王海荣, 李国亭. “物理化学”中 3 个方程的关联探析[J]. 河南教育学院学报, 2010, 19(1):57
- [9] Patel S S, Keshalkar R S, Patel M B. Stability-indicating HPTLC method for analysis of moclobemide, and use of the method to study degradation kinetics[J]. Chromatographia, 2008, 68(9):855
- [10] 陈海峰. 药物建立有效期的考虑要点[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(19):1831

(2013-05-10 收稿)