

注射用益气复脉(冻干)与氯化钠注射液配伍稳定性考察

苏小琴^{1,2}, 周学谦^{1,2}, 尚献召^{1,2}, 李德坤^{1,2}, 张磊^{1,2*}, 鞠爱春^{1,2*}

1. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

2. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

摘要:目的 考察不同温度及光照条件下, 注射用益气复脉(冻干)(YQFM)与0.9%氯化钠注射液的配伍稳定性, 为临床用药提供参考。方法 模拟临床应用, 以0.9%氯化钠注射液为溶媒, 按说明书要求与YQFM进行混合, 考察配伍溶液在室温、高温、光照、暗处条件下, 6 h内溶液颜色及性状、pH、不溶性微粒及人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁和五味子醇甲含量以及指纹图谱的变化。结果 YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍后6 h内, 室温、高温、光照、暗处条件下, 配伍液颜色及外观、pH变化不明显, 溶液中粒径 $\geq 10 \mu\text{m}$ 、 $\geq 25 \mu\text{m}$ 的微粒数均符合《中国药典》规定范围; 人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁和五味子醇甲含量变化RSD $< 2.50\%$; 且各时间点指纹图谱与0 h相比, 相似度均大于0.997。结论 YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍后6 h内, 在室温、高温、光照、暗处条件下, 溶液均较稳定。

关键词: 注射用益气复脉(冻干); 配伍稳定性; 氯化钠注射液; 颜色; pH; 不溶性微粒; 含量; 指纹图谱

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)08-1554-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.08.014

Study on stability of Yiqi Fumai Lyophilized Injection mixed with sodium chloride injection

SU Xiaoqin^{1,2}, ZHOU Xueqian^{1,2}, SHANG Xianzhao^{1,2}, LI Dekun^{1,2}, ZHANG Lei^{1,2}, JU Aichun^{1,2}

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

2. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

Abstract: **Objective** To investigate the compatibility stability of Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM) combined with 0.9% sodium chloride injection under different temperature and light conditions to provide reference for clinical medication. **Methods** We mixed YQFM with 0.9% sodium chloride injection according to the requirements of the instructions. The color, pH, and insoluble particles were observed and determined. The content changes of main compounds including ginsenosides Rg₁, Re, Rb₁, and schisandrin in YQFM were determined by HPLC at 0, 2, 4, 6 h after mixing. **Results** Within 6 hours after YQFM and 0.9% sodium chloride injection were mixed, there is no obvious change in color and pH value. The number of particles (≥ 10 and $\geq 25 \mu\text{m}$) met the requirements of Chinese Pharmacopoeia. There is no change was found in ginsenosides Rg₁, Re, Rb₁, and schisandrin values (RSD $< 2.50\%$). The similarity of fingerprint was larger than 0.997. **Conclusion** Within 6 hours after YQFM and 0.9% sodium chloride injection were mixed, the solution was stable under room temperature, high temperature, light, and dark conditions.

Key words: Yiqi Fumai Lyophilized Injection; compatibility stability; sodium chloride injection; color; pH; insoluble particles; content; fingerprint

注射用益气复脉(冻干)(YQFM)来源于古方生脉散, 由红参、麦冬、五味子3味中药组成, 主要化学成分为人参皂苷、木质素、糖类等^[1]。YQFM具有益气复脉、养阴生津之功效, 临床上主要用于冠心病

劳累性心绞痛气阴两虚证和冠心病所致慢性左心功能不全II、III级气阴两虚证。中药注射剂在临床使用时应注重静滴液的稳定性及安全性, 溶媒、温度、光照、pH等因素都会对药物的稳定性及安全性

收稿日期: 2020-05-28

基金项目: 天津市科技计划项目(18YFCZCC00430)

第一作者: 苏小琴(1990—), 女, 研究方向为中药注射剂质量控制研究。Tel: (022) 26735672 E-mail: TSL-SUXIAOQIN2015@tasly.com

*通信作者: 张磊, 男, 博士, 研究方向为中药生产全过程质量控制。Tel: (022) 26732030 E-mail: zhanglei201312@tasly.com

鞠爱春, 男, 正高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。Tel: (022) 86342096 E-mail: juach@tasly.com

产生一定影响^[24]。YQFM在临床上配伍溶媒为0.9%氯化钠注射液和5%葡萄糖注射液,之前已有学者对YQFM与这2种溶媒的配伍稳定性进行了研究^[5],但仅考察了室温(27℃)条件下的配伍液的稳定性,且观察指标仅为外观、pH、紫外吸收光谱和不溶性微粒。本研究将从临床实际用药环境出发,系统研究YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍后在室温、高温、光照和暗处4种条件下的稳定性,依据YQFM现行药品标准(YBZ07062006-2009Z-2015)、2015版《中国药典》,并结合影响临床安全性的常见因素,选择了外观、pH、不溶性微粒及人参皂苷R_{g1}、Re、Rb₁和五味子醇甲的含量以及指纹图谱相似度作为考察指标。观测指标在之前学者考察的指标基础上增加含量测定和指纹图谱研究,为临床医护人员使用YQFM提供更加充分的证据参考。

1 仪器与材料

Waters Alliance 高效液相色谱仪,包括2695溶剂管理系统,2489紫外检测器,Empower 3.0色谱工作站(美国Waters公司);色差计Color i5(美国X-rite公司生产);E161072 恒温恒湿箱(德国MMM集团);SevenCompact™ S210型pH计(梅特勒-托利多仪器有限公司);DZKW-D-2水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司);JNOEC牌XS-213型显微镜;微孔滤膜(孔径0.45 μm,直径25 mm,白色带格栅);XS105型1/10万天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);水为超纯水(Milli-Q型超纯水系统,美国Millipore公司);ProElut™ PLS SPE柱(500 mg/6 mL,北京迪科马科技有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国Merck公司),磷酸(色谱级,天津市华东试剂厂),其余试剂均为分析纯。

对照品人参皂苷R_{g1}(批号110703-201933)、人参皂苷Re(批号110754-201827)、人参皂苷Rb₁(批号110704-201827)、五味子醇甲(批号110857-201815),均购自中国食品药品检定研究院;YQFM(天津天士力之骄药业有限公司,规格0.65 g/瓶,批号20171106);0.9%氯化钠注射液(石家庄四

药有限公司,规格250 mL:2.25 g,批号1911173503)。

2 方法与结果

2.1 配伍液的制备

按照说明书给药剂量要求,取8瓶YQFM,每瓶用5 mL 0.9%氯化钠注射液溶解,然后使用一次性注射器将药液转入250 mL 0.9%氯化钠注射液中,同法制备4份,按照设置的室温(约25℃)、高温(水浴35℃)、光照(照度610LUX)、暗处(铝箔密封)4种条件,将配置好的YQFM氯化钠溶液分别置于4种条件下进行试验。同时,取各条件下的0.9%氯化钠注射液作为空白溶液,在药液静置0、2、4、6 h后,取样测定。

2.2 颜色及性状考察

置于各条件下的YQFM药液,分别于0、2、4、6 h取样,观察药液的澄明度变化及浑浊的产生情况,并用色差计测定色泽变化,结果见表1。结果表明,不同条件下,YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍6 h后,配伍液颜色无明显变化(RSD<2.50%),始终保持澄清透明,且无浑浊及可见异物产生。

2.3 pH的测定

分别于0、2、4、6 h吸取适量“2.1”项下YQFM药液,用酸度计测定pH值,并计算0~6 h内pH值的RSD,结果见表1。结果表明,不同条件下,YQFM溶解于0.9%氯化钠注射液后,6 h内均未发生明显变化(RSD<2.00%)。

2.4 不溶性微粒的测定

参照2015版《中国药典》(四部)通则中不溶性微粒检测法(显微镜法),分别于0、2、4、6 h量取“2.1”项下YQFM药液适量,测定溶液中≥10 μm和≥25 μm的微粒数,结果见表2。结果显示,不同条件下,YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍6 h内均未超出《中国药典》规定范围。《中国药典》规定:标示装量为100 mL或100 mL以上的静脉用注射液,除另有规定外,以显微计数法计,每1 mL中含10 μm及以上的微粒数不得过12粒,含25 μm及以上的微粒数不得过2粒。

表1 色泽及pH变化情况
Table 1 Change of colour and pH values

条件	色差值				RSD/%	pH				RSD/%
	0 h	2 h	4 h	6 h		0 h	2 h	4 h	6 h	
室温	25.88	25.48	25.10	24.88	1.74	5.67	5.70	5.68	5.68	0.22
高温	26.64	26.18	25.85	25.73	1.56	5.70	5.71	5.68	5.66	0.39
光照	25.27	24.74	24.32	24.00	2.24	5.68	5.71	5.71	5.70	0.25
暗处	25.15	24.89	24.62	24.53	1.13	5.69	5.63	5.67	5.65	0.46

表2 不溶性微粒变化情况

Table 2 The change of insoluble particles

条件	d/ μm	微粒数(粒·mL ⁻¹)			
		0 h	2 h	4 h	6 h
室温	≥ 10	1.0	1.0	1.0	1.0
	≥ 25	1.0	1.0	1.0	1.0
高温	≥ 10	1.0	1.0	2.0	2.0
	≥ 25	1.0	1.0	1.0	1.0
光照	≥ 10	1.0	1.0	1.0	1.0
	≥ 25	1.0	1.0	1.0	1.0
暗处	≥ 10	1.0	1.0	1.0	2.0
	≥ 25	1.0	1.0	1.0	1.0

2.5 含量测定

依据 YQFM 现行药品标准(YBZ07062006-2009Z-2015)中“红参”和“五味子”项下的人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rb₁ 及五味子醇甲测定方法进行含量测定研究。

2.5.1 色谱条件 色谱条件 A: 色谱柱为 Symmetry[®] C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸水, 梯度洗脱表见表 3; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 203 nm; 进样量 20 μL 。此色谱条件用于测定人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rb₁。

表3 HPLC梯度洗脱表

Table 3 Gradient elution procedures

t/min	乙腈/%	0.05% 磷酸水/%	体积流量/(mL·min ⁻¹)
0	19	81	1.2
15	19	81	1.2
24	22	78	1.2
25	22	78	1.0
32	24	76	1.0
35	30	70	1.0
43	31	69	1.0
53	33	67	1.0
55	100	0	1.0
63	100	0	1.0
65	19	81	1.0
70	19	81	1.0

色谱条件 B: 色谱柱为 Symmetry[®] C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(65:35), 等度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 250 nm; 进样量 10 μL 。此色谱条件用于测定五味子醇甲。

2.5.2 混合对照品溶液的制备 精密称取对照品 Rg₁、Re 各 20 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶

解并稀释至刻度, 制成对照品母液①和②。再取 25 mg 人参皂苷 Rb₁, 置于 50 mL 量瓶, 分别吸取对照品母液①和②各 5 mL, 加甲醇至刻度, 制成混合对照品溶液, 人参皂苷 Rg₁、Re 及 Rb₁ 质量浓度分别为 0.204 4、0.200 6 和 0.499 8 mg/mL。

精密称取对照品五味子醇甲 25 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 再经稀释制成五味子醇甲浓度为 30.15 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5.3 供试品溶液的制备 在配伍液静置 0、2、4、6 h 后, 分别精密量取药液 60 mL, 上已处理好的 SPE 柱, 体积流量为 1.0 mL/min, 弃去流出液, 用 2 mL 含 0.5 mol/L NaOH 30% 甲醇溶液分 2 次冲洗, 再用 5 mL 浓度为 30% 甲醇冲洗, 弃去洗脱液, 最后用适量甲醇洗脱, 收集洗脱液于 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.5.4 测定方法及结果 分别吸取“2.5.3”项下各供试液 20 μL 和 10 μL , 按“2.5.1”项下色谱条件 A 和 B 进样测定, 重复 2 次, 记录各色谱峰峰面积, 采用外标法计算不同时间点各成分的含量及 RSD。色谱图见图 1, 含量测定结果见表 4。结果显示, 不同条件下, YQFM 与 0.9% 氯化钠注射液配伍 6 h 内, 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 及五味子醇甲的含量变化较小, RSD 均小于 2.50%。

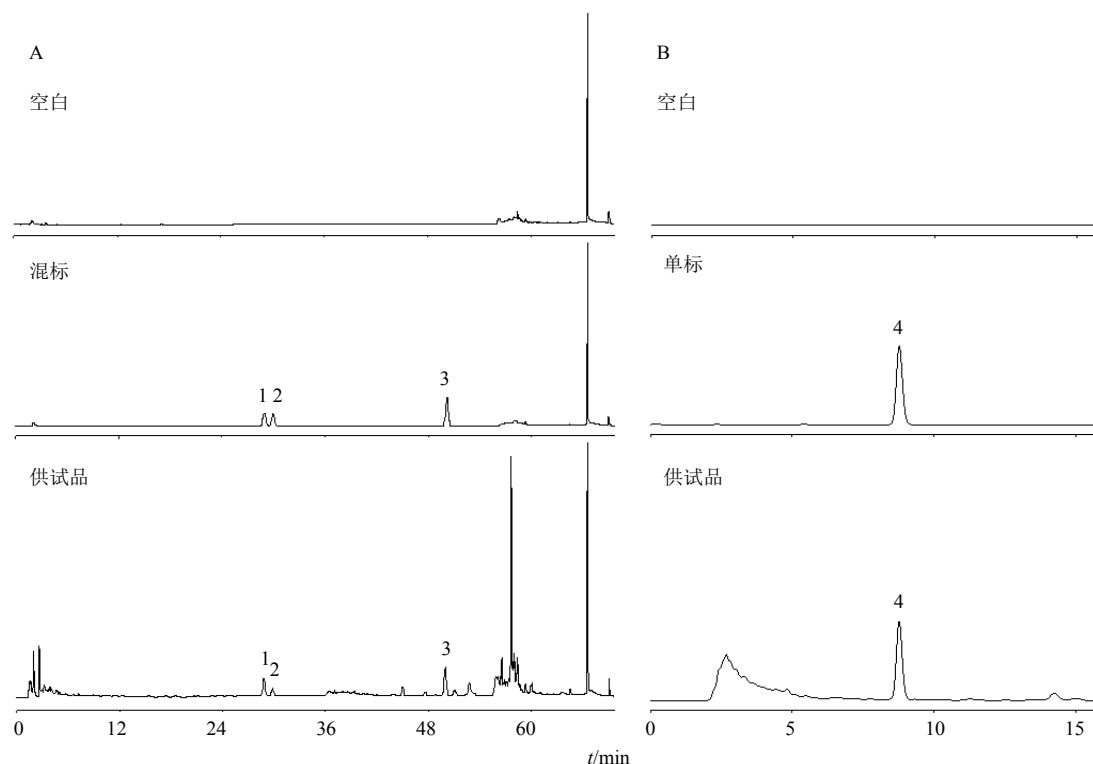
2.6 指纹图谱

2.6.1 色谱条件 色谱柱 Symmetry[®] C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.05% 磷酸水(B), 梯度洗脱条件见表 5; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 203 nm; 进样量 20 μL 。理论塔板数按人参皂苷 Rg₁ 峰计算应不低于 20 000。积分范围 8~70 min。

2.6.2 指纹图谱的建立及相似度计算 分别吸取“2.5.3”项下 YQFM 配伍 0.9% 氯化钠注射液 0、2、4、6 h 后的供试品溶液 20 μL , 注入 HPLC 仪, 按“2.6.1”项下色谱条件采集图谱, 将各样品的分析信息导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2.0 版)中, 将 0 h 所测图谱作为参照图谱, 2、4、6 h 所测图谱与其进行比较, 经多点校正, 全谱峰匹配后, 并计算相似度, 结果见表 6 和图 2。结果显示, YQFM 氯化钠溶液在 0~6 h 内, 各时间点色谱图与 0 h 相比, 相似度均大于 0.997, 说明稳定性较好。

3 讨论

本实验依据说明书给药剂量和要求, 系统综合外观考察、pH、不溶性微粒、含量测定及指纹图谱等



1-人参皂苷 R_{g1}; 2-人参皂苷 R_e; 3-人参皂苷 R_{b1}; 4-五味子醇甲
1-ginsenoside R_{g1}; 2-ginsenoside R_e; 3-ginsenoside R_{b1}; 4-schisandrin

图1 空白溶液(氯化钠注射液)、混合对照品、样品的人参皂苷(A)和五味子醇甲(B)的HPLC色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of ginsenosides (A) and schisandrin (B) of blank control, mixed reference substances and sample

表4 配伍液各成分的含量测定结果(n=2)

Table 4 Content of different mixtures(n=2)

条件	成分	质量分数/%				RSD/%
		0 h	2 h	4 h	6 h	
室温	人参皂苷 R _{g1}	0.048 5	0.049 3	0.050 6	0.048 9	1.85
	人参皂苷 R _e	0.024 2	0.024 6	0.025 3	0.024 6	1.85
	人参皂苷 R _{b1}	0.102 2	0.103 9	0.106 5	0.103 6	1.72
	五味子醇甲	0.012 3	0.012 1	0.012 7	0.012 6	2.22
高温	人参皂苷 R _{g1}	0.047 5	0.048 6	0.049 5	0.048 8	1.71
	人参皂苷 R _e	0.023 8	0.024 2	0.024 9	0.024 7	2.04
	人参皂苷 R _{b1}	0.099 5	0.102 3	0.104 7	0.104 1	2.27
	五味子醇甲	0.012 2	0.012 3	0.012 7	0.012 6	1.91
光照	人参皂苷 R _{g1}	0.047 3	0.047 9	0.048 9	0.048 0	1.37
	人参皂苷 R _e	0.024 0	0.024 0	0.024 4	0.024 0	0.83
	人参皂苷 R _{b1}	0.101 1	0.101 3	0.103 2	0.101 1	1.00
	五味子醇甲	0.012 3	0.012 1	0.012 5	0.012 4	1.39
暗处	人参皂苷 R _{g1}	0.048 8	0.048 3	0.048 2	0.048 3	0.56
	人参皂苷 R _e	0.024 4	0.024 4	0.024 2	0.024 1	0.62
	人参皂苷 R _{b1}	0.102 4	0.102 4	0.101 9	0.101 4	0.47
	五味子醇甲	0.012 4	0.012 2	0.012 4	0.012 3	0.78

表5 HPLC梯度洗脱表

Table 5 Gradient elution procedures

t/min	乙腈/%	0.05% 磷酸水/%
0	20	80
8	30	70
13	35	65
20	40	60
55	70	30
60	95	5
65	95	5
67	100	0
72	100	0
77	20	80
81	20	80

表6 指纹图谱相似度变化情况

Table 6 Change of similarity

条件	指纹图谱相似度			
	0 h	2 h	4 h	6 h
室温	1.000	0.999	0.999	0.999
高温	1.000	0.998	0.998	0.999
光照	1.000	0.997	0.997	0.997
暗处	1.000	1.000	1.000	0.999

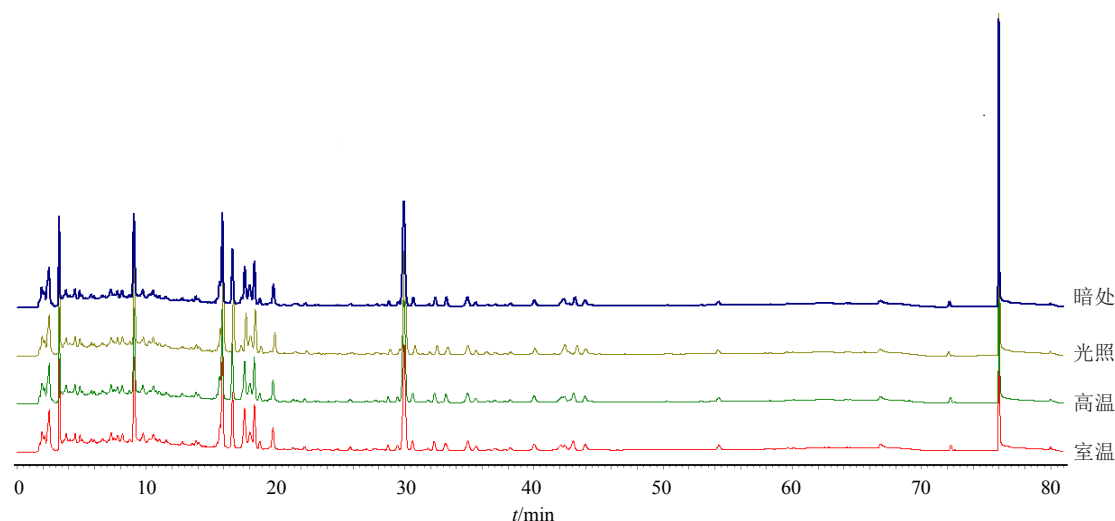


图2 不同条件下的对照指纹图谱

Fig. 2 Control fingerprint under different conditions

多项指标,全面考察不同温度及光照条件下,YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍6 h内稳定性,结果显示,不同温度及光照条件下,YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍6 h内溶液颜色无明显变化,溶液始终保持澄清,pH亦未发生明显变化($RSD < 2.00\%$),配伍以后的不溶性微粒符合《中国药典》显微计数法的规定,人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 及五味子醇甲的含量变化较小, RSD 均小于2.50%,YQFM氯化钠溶液在0~6 h内,各时间点指纹图谱与0 h相比,相似度均大于0.997。以上研究结果,说明不同温度及光照条件下,YQFM氯化钠溶液在6 h内是相对稳定的。

中药注射剂在临床使用中,其与临床常用溶媒或注射剂配伍后的静滴液稳定性不仅影响药物疗效,甚至会导致不良反应的发生。本实验从影响中药注射剂稳定性的温度、pH、光照、化学成分等因素考虑,结合易引发不良反应的安全性指标——不溶性微粒^[6],全面考察YQFM与0.9%氯化钠注射液的配伍稳定性,可以为临床使用提供参考。虽然研究

结果显示YQFM与0.9%氯化钠注射液配伍6 h内稳定,但临床上仍建议现配现用,充分保证临床应用安全性。

参考文献

- [1] 鞠爱春, 罗瑞芝, 苏小琴, 等. 注射用益气复脉(冻干)化学成分及质量控制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 365-371.
- [2] 王 萌, 任晓亮, 刘 虹. 中药注射剂稳定性研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(6): 1294-1297.
- [3] 王秋婷, 苗秋丽, 张 杰, 等. 不同溶媒对中药注射剂稳定性和安全性的影响 [J]. 中成药, 2019, 41(1): 233-237.
- [4] 郑 雪. 中药注射剂溶媒选择的统计分析 [J]. 中国药事, 2014, 28(7): 795-798.
- [5] 赵彬琳, 乔化民. 注射用益气复脉与两种常规输液配伍的稳定性 [J]. 医药导报, 2011, 30(10): 1363-1364.
- [6] 刘文清, 王 玥, 杜守颖, 等. 不溶性微粒引发中药注射剂不良反应的原因及分析 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(3): 575-578.