

注射用血栓通(冻干)与3种生物化学注射剂配伍稳定性研究

孔 艳, 邢 雪, 李 娜, 于巧红, 王 萌*, 刘志东

天津中医药大学, 组分中药国家重点实验室, 天津 301617

摘要: 目的 从制剂分析角度进行中药注射剂与生物化学注射剂配伍稳定性研究。方法 注射用血栓通(冻干)(XST)分别与注射用脑蛋白水解物(III)、小牛血清去蛋白注射液以及骨瓜提取物注射液按临床实际条件进行联合使用, 采用2, 4-二硝基氟苯(DNFB)柱前衍生HPLC法, 测定配伍生物化学制剂中16种氨基酸含量。并以2015版《中国药典》为依据, 检查配伍7 h内溶液渗透压、不溶性微粒、粒径、pH值、澄明度、颜色等各项制剂分析指标变化情况, 综合评价药物配伍联合使用稳定性变化。结果 XST与3种生物化学药物配伍在7 h内各指标(渗透压、pH值及颜色、澄明度)均保持稳定。与小牛血清去蛋白注射液配伍在生理盐水(NS)和5%葡萄糖注射液(5% GS)中粒径波动均较大, 但在NS中配伍1 h内粒径值保持稳定; 与骨瓜提取物注射液配伍7 h后, 在NS输液基质中, 甘氨酸含量略有升高、亮氨酸含量略有下降; 在5% GS输液基质中, 不溶性微粒数值随时间呈增长趋势, 但仍处于合格范围内。结论 建议临床XST与小牛血清去蛋白注射液配伍选用NS作为药物溶媒, 现用现配, 并慢速滴入, 观察患者情况; 使用XST与骨瓜提取物注射液配伍时建议选用5% GS作为输液剂基质即配即用; 为中药注射剂质量再评价和临床合理应用提供理论参考。

关键词: 注射用血栓通(冻干); 注射用脑蛋白水解物(III); 小牛血清去蛋白注射液; 骨瓜提取物注射液; 配伍稳定性

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2020)10-1988-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.10.011

Study on compatibility stability of Xueshuantong (freeze-drying) Injection and three biochemical injections

KONG Yan, XING Yue, LI Na, YU Qiaohong, WANG Meng, LIU Zhidong

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: **Objective** The stability of compatibility between traditional Chinese medicine injection and biochemical injection was studied from the perspective of preparation analysis. **Methods** Xueshuantong Injection (lyophilized) (XST) respectively with Cerebroprotein Hydrolysate for Injection (III), Deproteinised Calf Blood Serum Injection, and Guguatiquwu Injection according to the clinical used in combination with actual conditions, 2, 4-dinitrofluorobenzene pre-column derivative HPLC method was used, the determination of compatibility of 16 kinds of amino acids in biological chemicals. Based on the 2015 edition of the Chinese pharmacopoeia, the changes in the analytical indexes of various preparations including osmotic pressure, insoluble particles, particle size, pH value, clarity and color within seven hours of compatibility were examined, and the changes in the stability of drug compatibility combined with use were comprehensively evaluated. **Results** All indexes (osmotic pressure, pH value, color and clarity) of the three biochemical drugs compatible with XST remained stable for seven hours. The particle size of XST and Deproteinised Calf Blood Serum Injection fluctuated greatly in NS and 5% GS, but remained stable within one hour. After seven hours of compatibility between XST and Guguatiquwu Zhusheye, glycine content increased slightly and leucine content decreased slightly in 0.9% sodium chloride injection (NS) infusion matrix. In 5% GS infusion matrix, the insoluble particle value increased with time, but was still in the qualified range. **Conclusion** The stability changes of drug compatibility were evaluated from the perspective of preparation analysis, and the results suggested that NS should be used as the drug solvent for XST and deproteinized calf serum injection, which was currently used and prepared, and slowly dripped into the solution; 5% GS should be selected as the

收稿日期: 2020-01-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873191); 天津市科技计划项目: 中药组分库构建关键技术的建立(20ZYJJC00120)

第一作者: 孔 艳(1996—), 女, 在读硕士, 从事制剂分析研究。Tel: 13793729062 E-mail: 18434371257@163.com

*通信作者: 王 萌(1983—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药制剂分析及新药开发研究。Tel: 13821079089 E-mail: wangmeng@tjutcm.edu.cn

infusion matrix for the clinical compatibility of XST and Guguatiquwu Zhusheye. This study provides theoretical reference for the re-evaluation of the quality of traditional Chinese medicine injections and the rational clinical application.

Key words: Xueshuantong (lyophilized) Injection; Cerebroprotein Hydrolysate for Injection (III); Deproteinised Calf Blood Serum Injection; Guguatiquwu Zhusheye; compatible stability

注射用血栓通(冻干)(XST)为三七总皂苷的冻干粉针剂,有活血化瘀、通经活络的功效,现代药理学表明其具有抑制血小板聚集、降低血液黏稠度^[1]、修复受损神经^[2]、抑制脂质过氧化^[3]、减轻血管内皮损伤^[4]等作用。临床上与注射用脑蛋白水解物(III)、小牛血清去蛋白注射液以及骨瓜提取物注射液等营养性生物化学制品联用可调节和改善神经元代谢,促进神经细胞的再生和修复^[5-7]。生化制品系指在微生物、动物、植物等生物体中,经分离提取、生物-化学合成等生物技术制成的一类防病治病的药物^[8],主要包括氨基酸、核苷酸及其衍生物、多肽、酶及多糖类等生物物质,具有化学结构复杂,易水解、易于氧化等特征^[9]。基于生物化学药品的特点,其自身稳定性研究要求较为严格,但生物化学制品,特别是生物化学注射剂与中药注射剂联合使用配伍稳定性研究却鲜有报道。中药注射剂自身化学成分较为复杂,联合用药后物理化学环境的改变可能会导致主要药效成分稳定性发生变化。配伍稳定性研究即是针对临床使用条件下与其他药物联合使用过程中可能产生的不同类型的变化开展的系统稳定性监测研究。目前,已经成为中药注射剂质量再评价研究中重要的组成部分。

现有中药注射剂配伍稳定性研究与单一注射剂稳定性研究方法较为接近,仍以主要药效成分含量监测及形态变化直接观察为主^[10]。随着配伍稳定性研究不断深入,吴斌等^[11]、胡婷婷等^[12]先后针对胰岛素与中药注射剂临床配伍稳定性进行了研究,根据具体品种的临床使用特点,提出具有针对性的研究方案已然成为配伍稳定性研究首要解决的问题。课题组前期根据《广西省不良反应监测报告》,考察了中药注射剂XST在临床使用环境下发生降解情况及其与47种中、西药注射剂品种联合使用后多种物理、化学稳定性指标变化情况^[13]。然而,目前对中药注射剂XST与生物化学制剂联合使用时稳定性变化情况仍未见报道。

本实验在遵循国家药品监督管理局及人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)稳定性研究指导原则的基础上,选取了地区不良反应监测报告中临床上使用频率最高的3种生物化学制剂——注射

用脑蛋白水解物(III)、小牛血清去蛋白注射液以及骨瓜提取物注射液为配伍稳定性研究对象,进行XST与生物化学制剂配伍稳定性研究。参照《中国药典》2015年版中注射剂制剂通则^[14],选取对注射剂使用患者血液内环境稳态可能产生影响的主要制剂分析指标,考察注射剂联合使用0~7 h内的渗透压、粒径、pH值、不溶性微粒、颜色、澄明度及注射剂中主要药效成分等7项主要制剂分析指标的变化情况。在前期检测XST中5种主要成分(人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re、Rd,三七皂苷R₁)含量基本稳定,排除由XST主成分含量变化这一因素造成其配伍安全性问题的基础上^[13],采用高效液相色谱(HPLC)柱前衍生法检测3种生物化学药品中共计16种氨基酸(L-天门冬氨酸、L-谷氨酸、丝氨酸、L-精氨酸、甘氨酸、苏氨酸、脯氨酸、L-丙氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、L-赖氨酸和酪氨酸)的含量变化。本研究通过对XST与3种生物化学注射剂配伍联合用药过程中多种物理、化学指标随时间发生的变化趋势进行较为全面的跟踪监测,从制剂分析角度完善中药注射剂配伍稳定性研究内容,为中药注射剂质量再评价研究提供技术经验和参考。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

超纯水(Millipore超纯水净化系统);乙腈、甲酸(色谱纯,Fisher Scientific);DNFB(上海麦克林生化科技有限公司);其余试剂均为分析纯。

XST(批号16010216),规格250 mg/瓶,购自广西梧州制药(集团)股份有限公司;注射用脑蛋白水解物(III)(批号161121E1),规格60 mg/瓶,购自哈尔滨三联药业股份有限公司;小牛血清去蛋白注射液(批号20160406),规格10 mL:0.4 g/支,购自锦州奥鸿药业有限责任公司;骨瓜提取物注射液(批号161210),5 mL:25 mg/支,购自哈尔滨松鹤制药股份有限公司;5%葡萄糖注射液(5% GS,批号D16121403-1),购自江西科伦药业有限公司;生理盐水(NS,批号1601236Q),购自安徽双鹤药业股份有限公司;对照品L-谷氨酸(批号111576-200201,供鉴别用)、丝氨酸(批号140688-201102,质量分数

100.0%)、甘氨酸(批号140689-201605,质量分数100.0%)、组氨酸(批号110890-200001,供鉴别用)、苏氨酸(批号140682-201302,质量分数99.9%)、脯氨酸(批号140677-201507,质量分数99.9%)、酪氨酸(批号140609-201513,质量分数99.8%)、异亮氨酸(批号140683-201302,质量分数99.9%)、亮氨酸(批号140687-201503,质量分数99.9%)、苯丙氨酸(批号111615-200301,供鉴别用)、色氨酸(批号140686-201303,质量分数99.9%)、甲硫氨酸(批号140684-201102,质量分数100.0%),均购自中国食品药品检定研究院;对照品L-天门冬氨酸(批号BCBG3906V,质量分数99.0%)、L-丙氨酸(批号S20A6G16672,质量分数98.0%)、L-精氨酸(批号MKBD3032V,质量分数98.0%)、L-赖氨酸(批号S16A6G2,质量分数98.0%),均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 主要仪器

HITACHI 高效液相色谱仪(日本日立公司); Milli-QII超纯水仪(美国Millipore公司); HHS型电热恒温水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); Mettler Toledo XS 205天平(瑞士Mettler Toledo公司); 渗透压测定仪STY-1(天大天发科技有限公司); DELTA 320 pH仪(瑞士Mettler Toledo公司); 澄明度检测仪YB-2(中国瑞莱特仪器有限公司); 马尔文激光粒度仪Nano ZS(英国马尔文公司); 荧光倒置显微镜(日本Nikon仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 XST与3种生物化学药物配伍稳定性的定量分析研究

2.1.1 对照品溶液制备 氨基酸混合对照品储备液(1):精密称取L-天门冬氨酸12.63 mg、L-谷氨酸16.12 mg、L-精氨酸5.25 mg、甘氨酸10.51 mg、脯氨酸8.70 mg、L-丙氨酸19.34 mg、异亮氨酸7.42 mg、亮氨酸24.24 mg、苯丙氨酸8.38 mg、组氨酸5.37 mg和L-赖氨酸35.23 mg,置同一25 mL量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。氨基酸混合对照品储备液(2):精密称取丝氨酸5.14 mg、苏氨酸4.92 mg、甲硫氨酸9.54 mg、色氨酸10.45 mg和酪氨酸5.06 mg,置同一100 mL量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

氨基酸混合对照品衍生化溶液:精密量取氨基酸混合对照品储备液(1)和(2)各100 μ L,置10 mL棕色量瓶中,加水800 μ L摇匀,再分别加入5%碳酸氢钠与0.5% 2,4-二硝基氟苯(DNFB)各1 mL,混合

均匀,置60 $^{\circ}$ C水浴中放置60 min,每隔20分钟振摇1次,60 min后取出,冷却至室温,加磷酸盐缓冲液(pH 7.0)至刻度,摇匀即得。

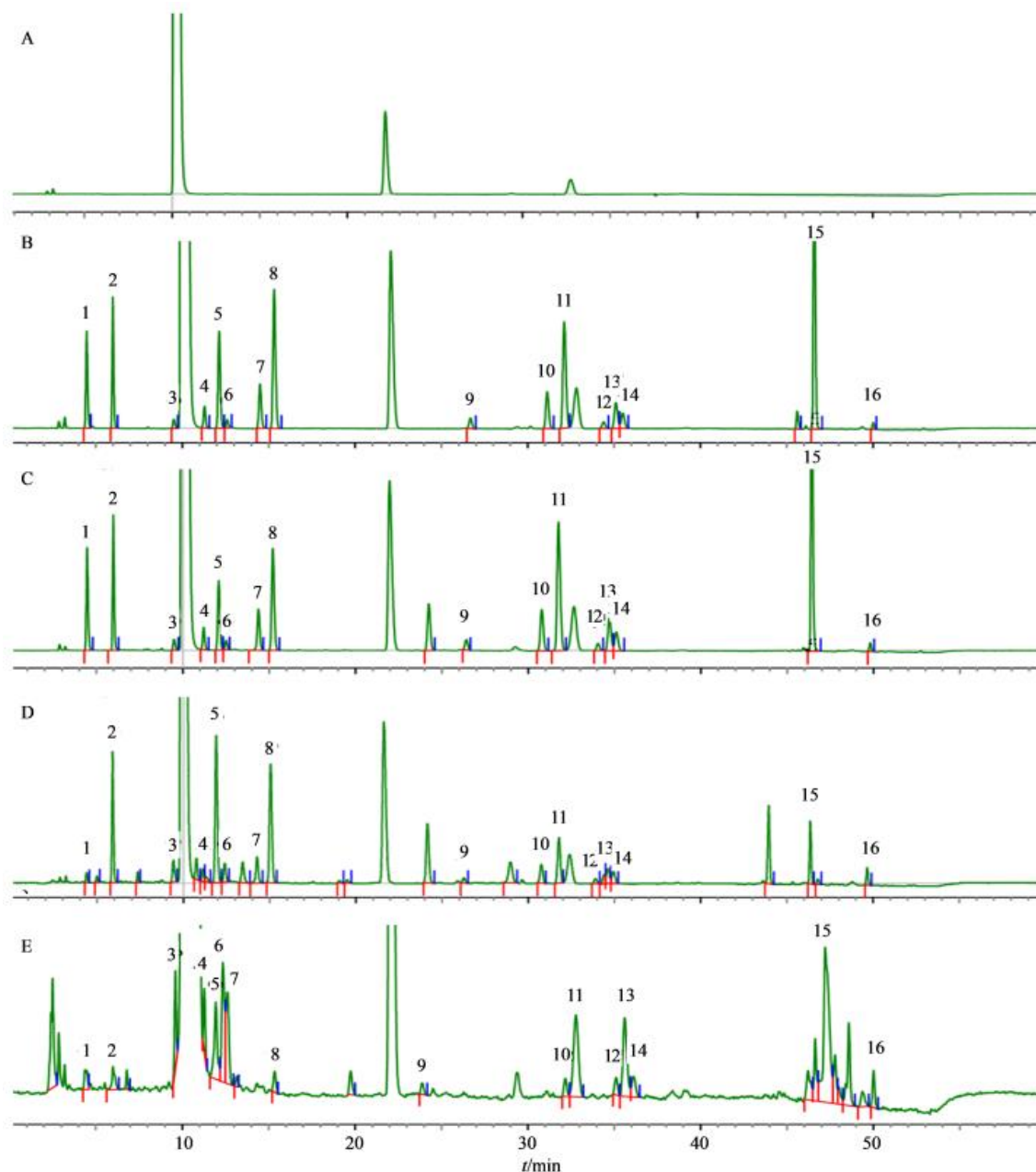
2.1.2 供试品溶液制备 注射用脑蛋白水解物(III)样品衍生化溶液:称取注射用脑蛋白水解物(III)约50 mg,置25 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取上述注射用脑蛋白水解物(III)溶液0.5 mL,置10 mL棕色量瓶中,加水0.5 mL,摇匀,按"2.1.1"项下进行衍生化。同法精密量取超纯水1 mL,制备空白溶液。

配伍样品衍生化溶液:取1瓶XST分别用适量NS、5% GS溶解,15 min后,分别加入1支小牛血清去蛋白注射液、骨瓜提取物注射液或注射用脑蛋白水解物(III)(已有报道^[15],注射用脑蛋白水解物(III)在5% GS中配伍使用不稳定,并按产品说明书要求^[16],仅采用NS为输液剂基质),将两者混合溶液转移至25 mL量瓶中,用相应输液基质稀释至刻度,摇匀。将上述配伍溶液置于37 $^{\circ}$ C水浴中,避光条件下分别在0、1、2、3、5、7 h精密量取配伍样品溶液1 mL,置10 mL棕色量瓶中,按"2.1.1"项下进行衍生化,进样分析。

2.1.3 色谱条件 Waters XBridge C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)色谱柱;检测波长360 nm;A相:14 mmol/L磷酸二氢钾(氢氧化钠调pH为8.2);B相:50%乙腈;梯度洗脱(0~2 min, 20%~33%B; 2~29 min, 33%~59%B; 29~38 min, 59%B; 38~40 min, 59%~80%B; 40~50 min, 80%~100%B);柱温28 $^{\circ}$ C,体积流量1.0 mL/min,进样体积为10 μ L。

2.1.4 专属性考察 取"2.1.1"和"2.1.2"项下空白溶液、氨基酸混合对照品衍生化溶液及各配伍样品衍生化溶液,分别进样分析。结果显示,空白溶液色谱峰对各氨基酸出峰无干扰;注射用脑蛋白水解物(III)配伍样品衍生化溶液色谱图各氨基酸峰间最小分离度为1.5(甘氨酸与苏氨酸);其余配伍样品衍生化色谱图各氨基酸峰间分离度不低于1.0(图1)。表明该方法专属性良好。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取"2.1.1"项下氨基酸储备液(1)和(2)各50、75、100、150、200 μ L,分别置10 mL棕色量瓶中,加超纯水适量补足体积至1 mL,按"2.1.1"项下方法衍生化后,按"2.1.3"项下色谱条件进样,以各氨基酸质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得16种氨基酸的线性回归方程和线性范围见表1,表明各氨基酸在相应检测质量浓度范围内线性关系良好。



1-*L*-天门冬氨酸; 2-*L*-谷氨酸; 3-丝氨酸; 4-*L*-精氨酸; 5-甘氨酸; 6-苏氨酸; 7-脯氨酸; 8-*L*-丙氨酸; 9-甲硫氨酸; 10-异亮氨酸; 11-亮氨酸; 12-色氨酸; 13-苯丙氨酸; 14-组氨酸; 15-*L*-赖氨酸; 16-酪氨酸

1-*L*-aspartic acid; 2-*L*-glutamic acid; 3-serine; 4-*L*-arginine; 5-glycine; 6-threonine; 7-proline; 8-*L*-alanine; 9-methionine; 10-isoleucine; 11-leucine; 12-tryptophan; 13-PHE(phenylalanine); 14-histidine; 15-*L*-lysine; 16-tyrosine.

图1 空白溶液(A)、氨基酸混合对照品溶液(B)、注射用脑蛋白水解物(III)配伍样品溶液(C)、小牛血清去蛋白注射液配伍样品溶液(D)、骨瓜提取物注射液配伍样品溶液(E)色谱图

Fig.1 Chromatogram of blank solution (A), amino acid mixture (B), sample solution of Cerebroprotein Hydrolysate for Injection(III) (C), sample solution of Deproteinised Calf Blood Serum Injection(D), and sample solution of Guguatiquwu Zhusheye (E)

2.1.6 精密度试验 取“2.1.1”项下氨基酸混合对照品衍生化溶液,按照“2.1.3”项下色谱条件连续进样6次测定峰面积,计算*L*-天门冬氨酸、*L*-谷氨酸、丝氨酸、*L*-精氨酸、甘氨酸、苏氨酸、脯氨酸、*L*-丙氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、*L*-赖氨酸、酪氨酸峰面积的RSD值分别为0.3%、0.2%、0.2%、0.5%、0.2%、0.7%、0.8%、0.4%、

1.2%、0.2%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1%、0.4%、0.5%,表明方法精密度良好。

2.1.7 重复性试验 按“2.1.1”项下方法平行配制6份注射用脑蛋白水解物(III)样品衍生化溶液,并按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。计算*L*-天门冬氨酸、*L*-谷氨酸、丝氨酸、*L*-精氨酸、甘氨酸、苏氨酸、脯氨酸、*L*-丙氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色

表1 线性关系考察结果

Table 1 Investigation results of linear relationship			
氨基酸	线性回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
L-天门冬氨酸	$y=291\,084x-16\,583$	0.999 0	2.50~10.00
L-谷氨酸	$y=261\,426x-22\,696$	0.999 2	3.22~12.90
丝氨酸	$y=361\,407x-3\,662.5$	0.999 8	0.26~1.03
L-精氨酸	$y=194\,814x-9\,902.1$	0.999 3	1.03~4.11
甘氨酸	$y=545\,237x-39\,719$	0.999 2	2.10~8.41
苏氨酸	$y=340\,382x+1\,933.9$	0.999 3	0.25~0.98
脯氨酸	$y=261\,952x-26\,160$	0.999 6	1.74~6.96
L-丙氨酸	$y=452\,031x-66\,618$	0.999 1	3.79~15.16
甲硫氨酸	$y=255\,070x-12\,747$	0.999 7	0.48~1.91
异亮氨酸	$y=304\,750x-16\,836$	0.999 2	1.48~5.93
亮氨酸	$y=302\,303x-57\,535$	0.999 2	4.84~19.37
色氨酸	$y=169\,769x-8\,192.7$	0.999 2	0.52~2.09
苯丙氨酸	$y=236\,975x-20\,575$	0.999 4	1.68~6.70
组氨酸	$y=181\,055x+13\,561$	0.999 1	1.07~4.30
L-赖氨酸	$y=344\,465x-132\,243$	0.999 1	6.91~27.62
酪氨酸	$y=231\,545x-2\,451.8$	0.999 7	0.25~1.01

氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、L-赖氨酸、酪氨酸峰面积的RSD值分别为0.9%、1.0%、1.3%、0.9%、0.8%、1.8%、1.1%、0.9%、2.1%、1.0%、0.7%、1.8%、1.0%、2.3%、0.9%、2.0%，表明方法重复性良好。

2.1.8 准确度试验 按“2.1.1~2.1.2”项下方法配制混合对照品储备液及注射用脑蛋白水解物(III)样品衍生化溶液，脑蛋白水解物样品加标衍生化溶液：精密量取“2.1.2”项下注射用脑蛋白水解物(III)溶液0.25 mL，置10 mL棕色量瓶中，再精密量取氨基酸混合对照品储备液(1)和(2)各50 μL ，置同一10 mL棕色量瓶中，加水0.65 mL，摇匀，进行衍生化。平行配制6份，按“2.1.3”项下色谱条件进行测定，计算各氨基酸回收率及RSD值。结果见表2，各氨基酸回收率平均值在92.8%~104.2%，RSD($n=6$)在1.4%~5.5%。表明方法准确度良好。

2.1.9 衍生化条件的考察 采用异硫氰酸苯酯和DNFB作为衍生化试剂，其中异硫氰酸苯酯实验过程中对色谱柱伤害较大，柱效明显下降；而DNFB可与一、二级氨基酸在60 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下同时反应，生成一种稳定衍生产物，但该衍生试剂毒性较大，过量衍生试剂对分析有一定影响^[17-18]。因此，本实验考察了衍生剂DNFB的用量，供试品溶液1.0 mL，加入DNFB溶液1.0、1.5 mL，确定加入1.0 mL衍生剂即可使供试品中氨基酸成分衍生完全，实验结果稳定，又可减少衍生剂的毒性。

表2 16种氨基酸回收率实验结果

Table 2 Results of recovery of 16 amino acids				
氨基酸	已知含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)	加标量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)	平均回收 率/%	RSD/%
L-天门冬氨酸	24.59	25.01	98.6	1.6
L-谷氨酸	33.52	32.24	98.1	1.5
丝氨酸	2.72	2.57	99.0	3.1
L-精氨酸	10.05	10.29	99.3	1.9
甘氨酸	11.99	21.02	98.0	1.4
苏氨酸	2.69	2.46	92.8	3.6
脯氨酸	16.52	17.38	96.7	2.8
L-丙氨酸	23.90	37.91	97.9	1.4
甲硫氨酸	4.89	4.77	94.9	5.5
异亮氨酸	16.23	14.83	97.9	1.8
亮氨酸	53.37	48.43	98.0	1.5
色氨酸	5.15	5.22	98.4	4.9
苯丙氨酸	18.35	16.76	98.9	1.9
组氨酸	10.72	10.74	104.2	5.3
L-赖氨酸	76.75	69.05	98.2	2.0
酪氨酸	3.08	2.52	93.4	3.6

2.1.10 含量测定 采用DNFB柱前衍生HPLC法检测XST与3种生物化学注射剂在NS和5% GS中16种氨基酸含量变化，实验平行2次。实验结果见表3，配伍后各氨基酸含量稳定性良好。与骨瓜提取物注射液在NS基质中配伍1 h内各氨基酸含量保持稳定，其含量在80%~120%内波动，7 h内甘氨酸含量略有升高，亮氨酸含量略有下降。

2.2 XST与3种生物化学药物配伍稳定性pH变化测定

配伍溶液制备：按照产品说明书要求，模拟临床用药浓度，取XST一瓶分别溶于NS或5% GS中(250 mL)，15 min后，分别加入小牛血清去蛋白注射液20 mL、骨瓜提取物注射液10 mL、注射用脑蛋白水解物(III)60 mg(仅采用NS为输液剂基质)进行配伍，摇匀。将上述配伍药液置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中，避光条件下分别于0、1、2、3、5、7 h取样，使用精密校正pH计测定其溶液pH变化。

根据XST与3种生物化学药物在不同输液剂基质中(NS和5% GS)配伍7 h内pH值的变化情况，计算pH变化RSD值(表4)，绘制pH变化曲线(图2)。注射剂pH值的控制范围一般为4~9，也可根据具体品种确定，同一品种的pH值都有严格的控制范围^[19]。一旦超出这个pH范围，由静脉注射导致的患者短时间内体液偏酸会导致人体血液黏度增大、红细胞携氧能力降低，进而削弱血液循环的效

率,导致血管硬化、管腔变窄,血压增高,可能对人体造成极大的危害^[20]。结果可知,在NS和5%GS中XST与3种生物化学药物配伍后pH保持稳定,无明显变化。

表3 XST与3种生物化学药物配伍后16种氨基酸含量

Table 3 Content of 16 amino acids after the combination of XST and three biochemical drugs

序号	氨基酸名称	注射用脑蛋白水解物(III)/%	小牛血清去蛋白注射液/%		骨瓜提取物注射液/%		
		NS 7 h	5% GS 7 h	NS 7 h	5% GS 7 h	NS 1 h	NS 7 h
1	L-天门冬氨酸	98.7	105.7	—	106.5	100.3	90.8
2	L-谷氨酸	99.1	103.6	100.5	101.0	92.0	84.2
3	丝氨酸	103.1	103.1	—	104.4	111.3	119.2
4	L-精氨酸	97.1	107.8	—	102.4	102.5	100.7
5	甘氨酸	99.5	102.6	97.6	101.7	118.6	123.1
6	苏氨酸	100.9	98.9	—	100.6	—	—
7	脯氨酸	98.6	98.1	—	100.6	—	—
8	L-丙氨酸	99.0	103.4	93.6	101.7	106.4	109.6
9	甲硫氨酸	99.1	89.3	—	102.3	—	—
10	异亮氨酸	97.2	104.0	—	99.9	—	—
11	亮氨酸	97.2	105.9	—	115.9	91.7	72.2
12	色氨酸	103.3	112.5	—	102.9	—	—
13	苯丙氨酸	99.7	108.3	—	106.0	112.0	120.4
14	组氨酸	96.4	102.0	—	102.9	—	—
15	L-赖氨酸	98.5	108.3	93.4	100.9	95.8	84.6
16	酪氨酸	96.1	108.9	—	104.4	111.8	112.9

—:未检测到相关成分

—: no related components were detected

表4 配伍溶液pH变化RSD值

Table 4 RSD value of pH changes in the compatibility solution

配伍注射液	输液基质	pH均值	RSD值/%
注射用脑蛋白水解物(III)	NS	7.053	0.3
小牛血清去蛋白注射液	NS	7.075	2.8
	5% GS	6.953	0.5
骨瓜提取物注射液	NS	6.122	0.6
	5% GS	5.812	0.2

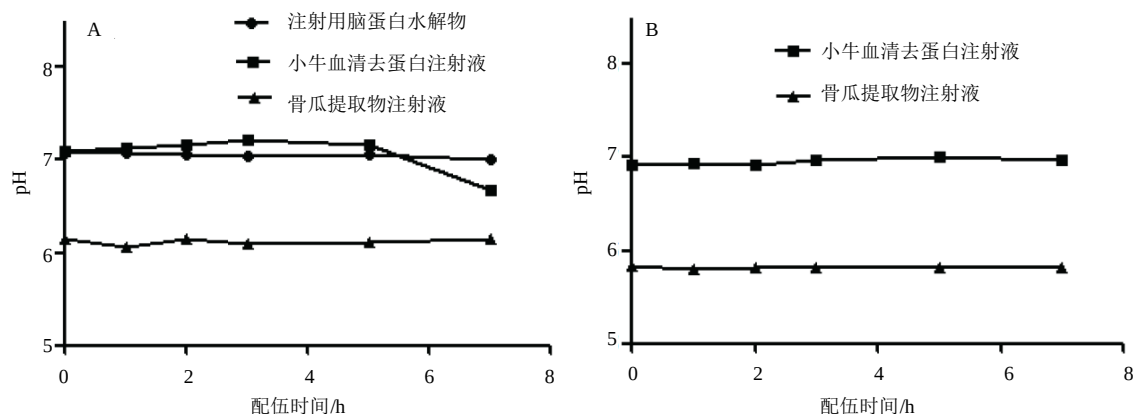


图2 XST与3种生物化学药物配伍在NS(A)和5%GS(B)中的pH值变化曲线

Fig. 2 pH change curve of XST injection and three biochemical drugs in NS (A) and 5% GS (B)

2.3 XST与3种生物化学药物配伍稳定性渗透压测定

渗透压在涉及溶质的扩散或通过生物膜的液体转运各种生物过程中,都起着极其重要的作用^[14],注射剂的渗透压应尽量与血液等渗,过高或过低都会对人体产生损害,大量输入低渗或高渗溶液可能会造成溶血或血栓^[21]。取“2.2”项下配伍溶液,使用渗透压测定仪分别检测XST与3种生物化学药物于NS和5% GS 2种输液剂基质中配伍7 h内渗透压值变化情况,绘制渗透压变化曲线(图3),并计算渗透压变化RSD值(表5)。结果可知,XST与3种生物化学药物配伍后渗透压值在7 h内保持稳定,无明显变化。

2.4 XST与3种生物化学药物配伍稳定性粒径测定

生物化学制品活性成分一般为蛋白质和多肽

等大分子物质^[22],本身在糖盐环境中易于波动,与中药注射剂联用后物理化学环境的变化可能会使粒径过大导致血管内皮损伤、肉芽肿、静脉炎等不良反应发生^[23],本实验取“2.2”项下配伍溶液,使用马尔文激光粒度仪检测在NS和5% GS中XST与3种生物化学药物配伍7 h内粒径值变化情况,并绘制变化曲线(图4)。XST分别与注射用脑蛋白水解物(III)、骨瓜提取物注射液配伍后7 h内粒径值有波动但均小于10 nm。与小牛血清去蛋白注射液配伍在NS和5% GS中波动均较大,可能与配伍后游离的氨基酸聚集有关^[24],但在NS中配伍1 h内粒径值保持稳定。建议临床XST与小牛血清去蛋白注射液配伍选用NS作为药物溶媒,现用现配,并慢速滴入,观察患者情况。

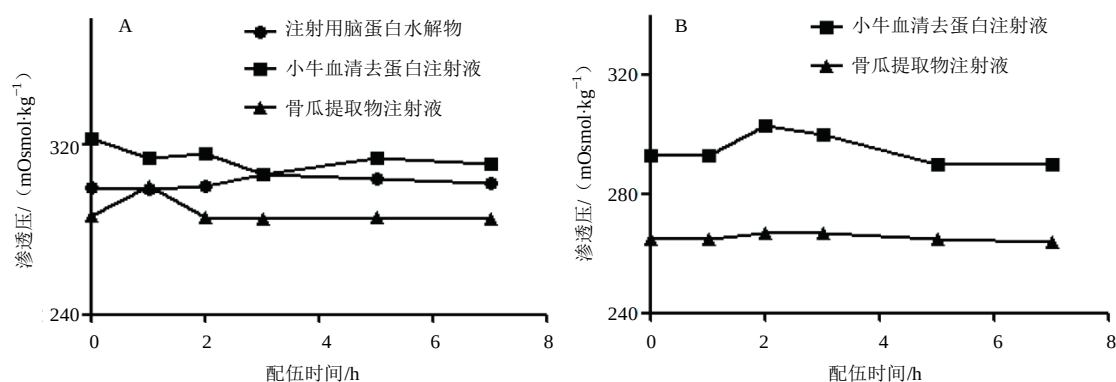


图3 XST与3种生物化学药物配伍的渗透压值在NS(A)和5% GS(B)中变化曲线

Fig. 3 Change curve of osmotic pressure between XST and three biochemical drugs in NS (A) and 5% GS (B)

表5 配伍溶液渗透压变化RSD值

Table 5 RSD value of osmotic pressure change of compatible solution

配伍注射液	输液基质	RSD值/%
注射用脑蛋白水解物(III)	NS	0.9
小牛血清去蛋白注射液	NS	1.8
	5% GS	1.8
骨瓜提取物注射液	NS	2.2
	5% GS	0.5

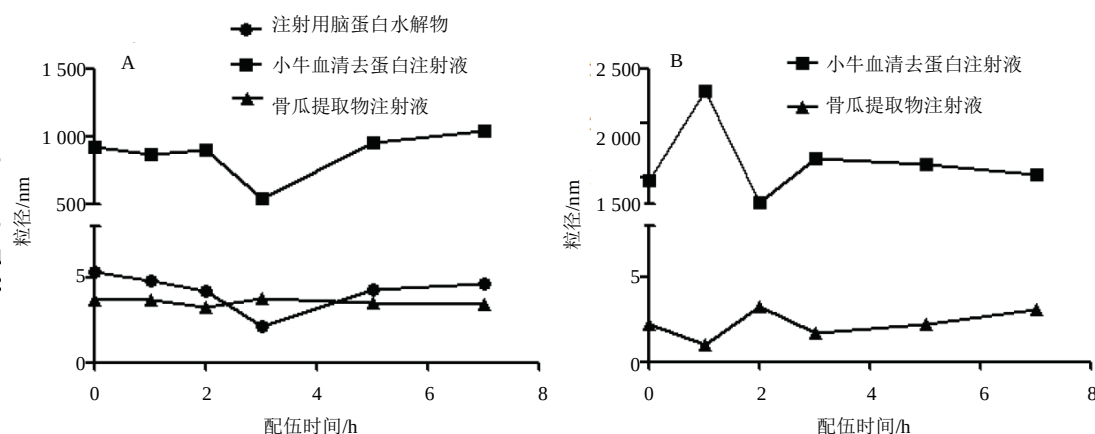


图4 XST与3种生物化学药物配伍在NS(A)和5% GS(B)中的粒径值变化曲线图

Fig. 4 Change curve of particle size value of XST mixed with three biochemical drugs in NS (A) and 5% GS (B)

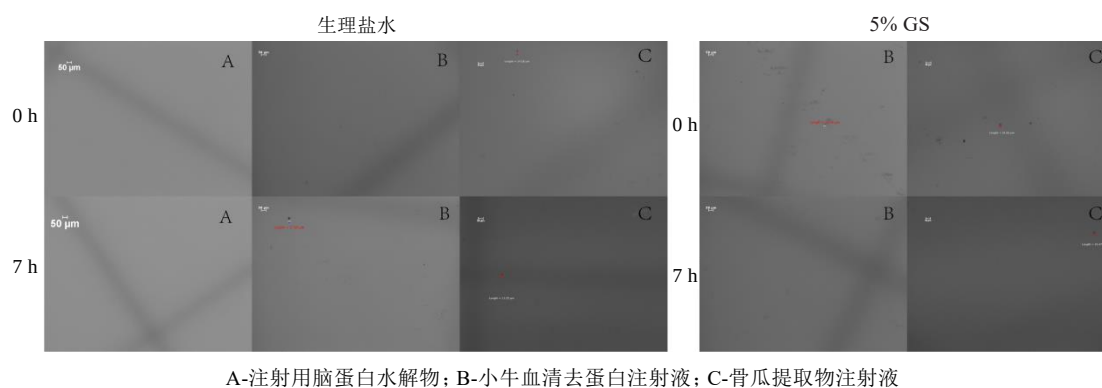
2.5 XST与3种生物化学药物配伍稳定性不溶性微粒及可见异物测定

中药注射剂与生物化学制品配伍后不良反应常有发生,但其中变态反应和过敏反应文献分析多归纳为多肽的抗原性^[25],对配伍后的不溶性微粒研究较少。二者化学成分复杂,联用后容易发生氧化、聚合反应,导致氨基酸聚集,表面吸附,也可因配伍引起pH值变化而析出,形成不溶性微粒^[26]。正常人体的毛细血管为6~9 μm,微粒进入体内可引起局部循环障碍、肿瘤样反应及热原样反应,严重危害人体健康^[27]。取“2.2”项下配伍溶液,使用荧光倒置显微镜检测XST与3种生物化学药物分别于NS和5%GS中配伍后0~7h不溶性微粒数(图5)。计算配伍溶液中不溶性微粒个数。

$$\text{不溶性微粒个数} = S_{\text{滤}} \times n \times V_{\text{配}} / (25 \text{ mL} \times S_{\text{显}})$$

$S_{\text{滤}}$ 为有效滤过面积144 mm²; $S_{\text{显}}$ 为显微镜视野面积3.569 7 mm²; n 表示不溶性微粒个数; $V_{\text{配}}$ 为配伍试剂体积(注射用脑蛋白水解物(III)250 mL、小牛血清去蛋白注射液270 mL、骨瓜提取物注射液260 mL)。

由表6可得,XST分别与注射用脑蛋白水解物(III)、小牛血清去蛋白注射液配伍后,不溶性微粒数在7 h内均符合《中国药典》2015年版不溶性微粒显微计数法规定(标示量为100 mL或以上的静脉注射液,除另有规定外,每1 mL中含10 μm以上的微粒不得超过12粒,含25 μm以上的微粒不得超过2粒)。与骨瓜提取物注射液配伍后7 h内不溶性微粒数值呈增长趋势,但仍符合药典规定。建议临床使用XST与骨瓜提取物注射液配伍应现用现配并随时注意患者情况。



A-注射用脑蛋白水解物; B-小牛血清去蛋白注射液; C-骨瓜提取物注射液
A-Cerebroprotein Hydrolysate for Injection; B-Deproteinised Calf blood Serum Injection; C-Guguatiquwu Zhusheyue
图5 XST与3种生物化学药物不溶性微粒图

Fig. 5 Diagram of insoluble particles in XST and three biochemical drugs

表6 XST与3种生物化学药物配伍的不溶性微粒数值变化
Table 6 Numerical changes in insoluble particles of XST in combination with three biochemical drugs

配伍注射液	输液基质	0~7 h不溶性微粒数	
		10~25 μm	25 μm
注射用脑蛋白水解物(III)	NS	0	0~133
小牛血清去蛋白注射液	NS	0~144	0
	5% GS	0~144	144
骨瓜提取物注射液	NS	138~281	138~281
	5% GS	420~701	138~281

2.6 XST与3种生物化学药物配伍稳定性澄明度与颜色测定

采用澄明度仪及色度仪检测XST分别与3种生物化学药物配伍7 h内变化情况,配伍后溶液澄清,颜色无变化且无沉淀或气体产生,符合《中国药典》2015年版注射剂澄明度和颜色项下要求。

3 讨论

本实验根据注射剂临床使用实际情况,利用多种制剂分析指标对XST与3种生物化学制剂在7 h内配伍使用稳定性情况进行检测,从制剂分析角度对中药注射剂配伍稳定性变化进行探讨。结果表明,XST与3种生物化学制品分别在NS或5%GS中配伍,pH值、渗透压、澄明度均无明显变化。与骨瓜提取物注射液配伍7 h内不溶性微粒数值随时间呈增长趋势,但仍在药典要求范围内;在NS中配伍7 h后,甘氨酸含量略有升高,亮氨酸含量有所下降,但在1 h内含量无明显变化,建议临床使用时即配即用并随时注意患者情况。与3种生物化学药物配伍后液体粒径均有较大波动,可能与游离氨基酸在盐糖环境中存在聚集行为有关^[28-30]。

XST是治疗脑血管及微循环障碍的常用中药注射剂大品种,其临床功能明确、销量大、使用范围广。不良反应报道中主要有皮肤损害、消化道反

应、神经系统反应、牙龈出血、口干等,严重者有肝肾损害、心慌、胸闷、血压异常等^[31],这可能与使用过程中联合用药配伍不当有关。特别是与生物化学制品联用,所有生物化学制剂多具有生物活性,工艺条件或配伍联用条件的改变,可能会中和药物活性,导致药效降低或丧失,甚至引起严重的不良反应,如输液过敏反应等^[9],导致二者配伍所带来的不良反应难以预测。本实验通过以上系统稳定性监测研究基本阐明了XST与3种生物化学药物分别在NS、5%GS中配伍后的稳定性,为临床合理应用提供了理论参考。

参考文献

- [1] 顾玉梅, 杨旭. 血栓通注射液对后循环脑梗死病人血小板参数、神经功能相关因子及神经功能评分的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 15(19): 2460-2462.
- [2] 楚远珍, 张玉梅, 蔡丹, 等. 血栓通联合抗氧化药物对糖尿病周围神经病变患者神经传导功能及氧化应激反应的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 23(13): 1694-1697.
- [3] Xing W, Song Y L, Li H L, et al. Fufang Xueshuantong protects retinal vascular endothelial cells from high glucose by targeting YAP [J]. Biomed Pharmacoth, 2019, 120: 1-11.
- [4] 罗艳, 刘冠萍. XST在脑血管疾病的临床运用进展[J]. 大众科技, 2019, 21(5): 78-80.
- [5] 韦强, 肖望重, 戴冰, 等. 注射用血栓通及红花黄色素超功能主治与联合用药分析[J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(8): 187-188.
- [6] 王冬梅. 使用血栓通分别联合脑蛋白水解物与奥拉西坦治疗急性脑梗死的疗效对比[J]. 当代医药论丛, 2014, 12(16): 276-277.
- [7] 曾华杰. 小牛血去蛋白注射液联合血栓通注射液治疗椎-基底动脉供血不足的临床疗效观察[J]. 中外医疗, 2011, 30(3): 116.
- [8] 张云楚. 我国生化药品行业的现状与展望[J]. 科技与经济, 1997(3): 23-25.
- [9] 任丽萍, 范慧红. 我国生化药品的质量现状与展望[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(10): 1-4, 173.
- [10] 王萌, 赵珺睿, 刘志东. 中药注射剂配伍稳定性研究方法的研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2016, 36(6): 409-413.
- [11] 吴斌, 沈夕坤, 张夏兰. 胰岛素与其他药物在葡萄糖注射液中的配伍稳定性研究进展[J]. 中国处方药, 2015, 13(6): 26-27.
- [12] 胡婷婷, 孙言才, 胡世林, 等. 注射用紫杉醇脂质体与胰岛素注射剂在葡萄糖注射液中的配伍稳定性[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 28(3): 201-204.
- [13] Wang M, Zhang H, Dong R, et al. Compatible Stability Study of *Panax Notoginseng Saponin* (PNS) Injection (Xueshuantong®) in combination with 47 different injectables [J]. Biomed Chromatogr, 2016, 30(10): 1599-1610.
- [14] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [15] 劳荣巨, 冯凤芳, 李伟恩, 等. 520例住院患者注射用脑蛋白水解物应用合理性分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(5): 684-686, 690.
- [16] 国家药品监督管理局. 注射用脑蛋白水解物(III) [J]. 中国药品标准, 2019, 20(1): 58-64.
- [17] 李婷, 刘力, 徐德生. 氨基酸柱前衍生化法在动物药质量控制中的应用[J]. 中国药业, 2014, 23(2): 16-18.
- [18] 吕莹果, 张晖, 孟祥勇. 氨基酸分析测定及衍生化方法[J]. 粮食与油脂, 2009(7): 35-38.
- [19] 王珂欣, 高丽, 秦雪梅, 等. 中药注射剂色差与安全性研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(9): 2219-2223.
- [20] 刘佳. 体液pH值与人体健康[J]. 生物学教学, 2010, 35(8): 45-47.
- [21] 曹凤习, 张文. 常见静脉注射剂渗透压考察[J]. 中国药业, 2008, 16(10): 36-37.
- [22] Davison Emma K, Sperry Jonathan. Natural products with heteroatom-rich ring systems [J]. J Nat Prod, 2017, 80(11): 3060-3079..
- [23] 李金玲, 薛强, 等. 中药注射剂的现状分析及发展前景[J]. 中药与临床, 2012, 3(3): 60-62.
- [24] 纪芳, 赵伍西. 7例小牛血清去蛋白注射液聚集性不良反应分析[J]. 安徽医药, 2014, 18(7): 1403-1404.
- [25] 高声传, 刘美彤, 付诗渊. 注射用骨瓜提取物与不同注射液的配伍研究[J]. 中国药物警戒, 2016, 13(12): 748-752.
- [26] 居晓伟. 输液中不溶性微粒的危害、来源及预防[J]. 武警医学, 2001, 12(4): 212-213.
- [27] 董琪. 影响中药注射剂安全性的因素与对策[J]. 海峡药学, 2010, 22(12): 298-299.
- [28] 王艳敏. 氨基酸对花鲢肌球蛋白不同盐浓度下热聚集行为影响的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018.
- [29] 吕凤柱. 端基为糖的聚氨基酸的合成及其聚集行为研究[A]. // 中国化学会高分子学科委员会. 2005年全国高分子学术论文报告会论文摘要集[C]. 北京: 中国化学会高分子学科委员会: 中国化学会, 2005: 1.
- [30] 连智慧, 王海燕, 王中奎, 等. 游离氨基酸对A β 多肽异常聚集作用的影响[J]. 化学学报, 2012, 70(17): 1858-1862.
- [31] 于佳, 阮靖华, 万明香, 等. 血栓通注射剂不良反应的meta分析[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(14): 66-72.