

注射用灯盏花素调配方法优化及其在不同溶媒中稳定性的研究

王晓宇, 邓晓媚, 吴妍, 史天陆, 刘圣

作者单位: 中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)药剂科, 安徽 合肥 230001

通信作者: 刘圣, 男, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为中药制剂和临床药学研究, E-mail: lslechl@163.com

基金项目: 安徽省卫生和计划生育委员会中医药科研课题(2014zy20)

摘要: **目的** 确定注射用灯盏花素的最佳调配方法, 考察其在不同溶媒中的稳定性。 **方法** 采用正交实验的方法优选注射用灯盏花素的最好溶解方法; 高效液相色谱法(HPLC)测定在 25℃下, 0、2、4、6、8 h 时, 不同溶媒输液中注射用灯盏花素的主成分野黄芩苷的含量变化, 同时测定输液中 pH 和微粒的变化。 **结果** 注射用灯盏花素最佳调配工艺为 20 mg 粉针加入 3 mL 灭菌注射用水溶于西林瓶中, 以 1 200 r/min 频率振荡 2 min; 室温下, 注射用灯盏花素在 250 mL 0.9% 氯化钠、5% 葡萄糖、葡萄糖氯化钠输液中 8 h 内主成分含量稳定, 不溶性微粒和 pH 均符合要求; 在 250 mL 10% 葡萄糖输液中 8 h 内含量较稳定, 在第 4 小时 pH < 5, 第 8 小时不溶性微粒数超过药典标准。 **结论** 临床使用时, 将注射用灯盏花素使用最佳调配方法溶解后, 选用 50 mL 0.9% 氯化钠、5% 葡萄糖或者葡萄糖氯化钠溶液作为稀释溶媒, 并且 8 h 内使用。

关键词: 注射用灯盏花素; 正交试验; 稳定性

Optimization of mixture method about breviscapine for injection and its stability in different kinds of solvent

WANG Xiaoyu, DENG Xiaomei, WU Yan, SHI Tianlu, LIU Sheng

Author Affiliation: Department of Pharmacy, The First Hospital Affiliated to University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei, Anhui 230001, China

Abstract: **Objective** To optimize the mixture method of breviscapine for injection, and to investigate their stability in different solvents. **Methods** The orthogonal test was adopted to choose the optimum dissolution method. High performance liquid chromatography (HPLC) was adopted to measure the content changes of scutellarin, the main constituent of breviscapine for injection, in different solvents at 0, 2, 4, 6, 8 h at the temperature of 25℃. Meanwhile the changes in pH values and particles of the solvents were determined. **Results** The optimal mixture method of breviscapine for injection was as follows: 3 mL sterile water for injection was added to 20 mg powder-injection in the vial, which was shaken for 2 min with the frequency of 1 200 r/min. At room temperature, the main constituents of breviscapine were stable within 8 h in 250 mL 0.9% sodium chloride solution, 5% glucose solution and glucose and sodium chloride solution. The pH value and the unsolvable particles conformed to requirements. The contents were stable in 250 mL 10% glucose solution at 8 h. The pH value was below 5 at 4 h and the number of unsolvable particles at 8 h exceeded the standard of Chinese pharmacopoeia. **Conclusion** It is recommended that in clinical use, after breviscapine is dissolved in accordance with the optimal solvent method, 50 mL 0.9% sodium chloride solution, 5% glucose solution or glucose sodium chloride solution can be used as diluent. And the injection needs to be used within 8h.

Key words: Breviscapine for injection; Orthogonal test; Stability

灯盏花素为菊科植物灯盏花提取精制的黄酮类有效成分, 其有效成分为野黄芩苷, 含量占总黄酮的 95% 以上。该提取物具有通络止痛、活血化瘀之功效^[1]。目前, 灯盏花素制剂种类较多, 其中注射用灯盏花素是治疗心脑血管疾病较常用的中药注射剂, 具有扩张脑血管、抑制血栓形成、增加脑部血流量、改善脑部血液循环等效果^[2]。但随着注射用灯盏花素的广泛应用, 与其相关的输液反应也相

继发生^[3-4]。输液反应的发生主要与注射剂中的杂质、不溶性微粒等相关^[5]。临床使用注射用灯盏花素时, 常将 0.9% 氯化钠注射液、5% 葡萄糖注射液和 10% 葡萄糖注射液作为溶媒。但注射用灯盏花素的主要成分野黄芩苷在酸性介质中易产生沉淀, 说明书中也指出, 注射用灯盏花素不宜与 pH 值小于 4.2 的溶液配伍。因此, 为了减少输液相关不良反应的发生, 保证其有效成分的含量合格, 确保该

药在临床上安全有效的使用。本试验研究时间为2016年6—8月,本研究首先采用正交试验优选出注射用灯盏花素的溶解方法,并且考察其用不同溶媒调配的成品输液在室温8 h内的稳定性,以确定临床使用的最佳调配方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-2010AHT 高效液相色谱仪(岛津企业管理中国有限公司);色谱柱(Intertsil ODS-SP, 4.6 mm×150 mm);pHs-3C 型 pH 计(上海雷磁仪器厂);GWF-5JS 微粒分析仪(天河医疗仪器有限公司);FA2004B 电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司);KQ2200E 型数据超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);KJ-202 型振荡器(江苏康健医疗用品有限公司)。

1.2 试药 野黄芩苷标准品(中国食品药品检定研究院,批号:110842-201508);注射用灯盏花素(湖南恒生,规格:20 mg,批号:15150103);0.9%氯化钠注射液(丰原药业,规格:250 mL,批号:16061199),5%葡萄糖注射液(丰原药业,规格:250 mL,批号:15081179);10%葡萄糖注射液(丰原药业,规格:250 mL,批号:15090698);葡萄糖氯化钠注射液(丰原药业,规格:250 mL,批号:14061994);甲醇(TEDIA,色谱纯)。

2 方法与结果

2.1 溶解方法正交实验 以溶媒体积(A)、振荡时间(B)和振荡强度(C)为因素,设计三因素二水平正交试验^[6-7],以不溶性微粒总数为评价指标,见表1。取对应体积的灭菌注射用水作为溶媒,加入西林瓶中,以相应的频率和时间振荡溶解,静置5 min后,使用微粒检测仪检测不溶性微粒数,微粒数结果见表2,结果分析见表3。结果显示,各因素对不溶性微粒数的影响程度大小为:A>C>B。且根据最终微粒数,确定最佳溶解调配工艺为:3 mL 灭菌注射用水注入注射用灯盏花素西林瓶中使药物溶解,以1 200 r/min 频率振荡2 min。

表1 正交实验因素水平表

水平	因素		
	A 溶媒体积/mL	B 振荡时间/min	C 振荡频率/(r/min)
1	2	1	慢(1 000)
2	3	2	快(1 200)

2.2 不同输液的稳定性试验 实验以输液中主成分含量、pH 值以及不溶性微粒数为稳定性指标。注射用灯盏花素说明书建议调配方法为20~50 mg 药

表2 $L_4(2^3)$ 正交设计与结果

编号	因素 A	因素 B	因素 C	不溶性微粒数	
				10 $\mu\text{mol/L}$	25 $\mu\text{mol/L}$
实验 1	1	1	1	2 450	25
实验 2	1	2	2	2 230	18
实验 3	2	1	2	1 641	9
实验 4	2	2	1	2 028	10

表3 不溶性微粒正交实验结果分析表

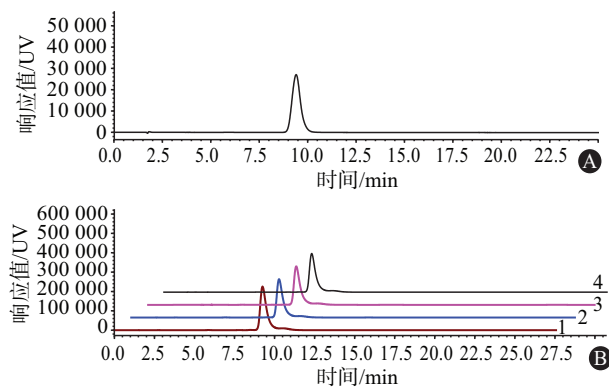
交互因素	因素 A		因素 B		因素 C	
	≥ 10 $\mu\text{mol/L}$	≥ 25 $\mu\text{mol/L}$	≥ 10 $\mu\text{mol/L}$	≥ 25 $\mu\text{mol/L}$	≥ 10 $\mu\text{mol/L}$	≥ 25 $\mu\text{mol/L}$
K_1	2 340.0	21.5	2 129.0	17	2 239.0	17.5
K_2	1 834.5	9.5	2 045.5	14	1 935.5	13.5
R	505.5	12.0	37.3	3	303.65	4.0

物稀释至250~500 mL 溶媒中,且临床常选择50 mg 药物稀释至250 mL 溶媒,据此,本实验对溶媒分别为0.9%氯化钠注射液(0.9% NaCl)、5%葡萄糖注射液(5% GS)、10%葡萄糖注射液(10% GS)以及葡萄糖氯化钠注射液(GNS),且浓度为0.2 mg/mL 的注射用灯盏花素输液进行稳定性考察。

2.2.1 主成分含量变化 根据2015年版《中国药典》规定,注射用灯盏花素的主要成分为野黄芩苷,且主成分的含量测量采用高效液相色谱法(HPLC)。(1)溶液配制。对照品溶液,精密称取野黄芩苷标准品10 mg,置于25 mL 容量瓶中,得0.4 mg/mL 储备液后等倍稀释成0.200,0.100,0.050,0.025 mg/mL 溶液。供试品溶液:取注射用灯盏花素(20 mg)3支,分别用3 mL 灭菌注射用水溶解,并且置于振荡器中,以1 200 r/min 频率振荡2 min,静置后,用注射器从其中一支抽取1.5 mL,另外两支完全抽取加入250 mL 溶媒中,得到浓度为0.2 mg/mL 的注射用灯盏花素输液。溶媒包括0.9% NaCl、5% GS、10% GS 以及 GNS 等注射液。

(2)色谱条件和专属性考察。采用 HPLC 测定色谱柱(Intertsil ODS-SP, 4.6 mm×150 mm);流动相为0.8%磷酸溶液:甲醇=65:35;流速为1 mL/min;检测波长:335 nm;柱温25℃;进样体积10 μL 。在此条件下,将野黄芩苷标准品、4种不同空白输液以及4种成品输液分别进样,保留时间约为9.3 min,分离度良好,且与空白溶剂对比无干扰(图1)。

(3)线性考察。取“溶液配制”项下浓度为0.400,0.200,0.100,0.050,0.025 mg/mL 对照品溶液,按照“色谱条件和专属性考察”项条件,测定峰面



注: 1 为 0.9% 氯化钠注射液 + 注射用灯盏花素; 2 为 5% 葡萄糖注射液 + 注射用灯盏花素; 3 为 10% 葡萄糖注射液 + 注射用灯盏花素; 4 为葡萄糖氯化钠注射液 + 注射用灯盏花素
图 1 标准品与成品输液 HPLC 色谱图: A 为野黄芩苷标准品; B 为成品输液

积,以试液浓度为 X 坐标,峰面积为 Y 坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=42\,066\,034.78X-7\,683.62$ ($r=0.999\,9$)。结果显示,野黄芩苷浓度在 $0.025\sim0.400\text{ mg/mL}$ 范围内,与峰面积线性关系良好。

(4)精密度试验。取“溶液配制”项下 0.025 、 0.100 、 0.400 mg/mL 三种浓度野黄芩苷标准品溶液,各进样 3 次,记录峰面积,RSD 分别为 1.6% 、 0.6% 和 0.4% ,结果表明该方法精密度良好。经以上的方法学考察,结果表明上述方法测定野黄芩苷专属性、线性、精密度均良好,适合精密测定野黄芩苷的含量。

(5)不同输液中含量变化。根据“溶液配制”中的方法配制 0.9% NaCl、 5% GS、 10% GS 以及 GNS 四种不同溶媒的注射用灯盏花素输液,采用上述 HPLC 色谱条件,分别检测四种输液在 0 、 2 、 4 、 6 、 8 h 时的峰面积,并且计算相对含量,以 0 h 峰面积为 100% 。一般情况下,若注射液中有 10% 的有效成分降解,则不应选择该溶媒^[8]。结果显示 0.2 mg/mL 注射用灯盏花素的 0.9% NaCl、 5% GS、 10% GS 以及 GNS 输液,在 8 h 内有效成分野黄芩苷的含量下降均未超过 10% ,见表 4。

2.2.2 pH 值、微粒变化 根据 2015 年版《中国药

表 4 不同输液中野黄芩苷含量变化

时间	相对含量(100%)			
	0.9% NaCl	5% GS	10% GS	GNS
0 h	100.00	100.00	100.00	100.00
2 h	97.55	99.24	100.55	100.90
4 h	97.38	97.54	100.45	100.14
6 h	97.32	97.32	100.64	101.45
8 h	97.13	96.96	100.40	99.12

注: 0.9% NaCl 为 0.9% 氯化钠注射液, 5% GS 为 5% 葡萄糖注射液, 10% GS 为 10% 葡萄糖注射液, GNS 为葡萄糖氯化钠注射液

典》“pH 值测定法”和“微粒测定法”,测定室温($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下 0 、 2 、 4 、 6 、 8 h 时间点四种成品输液的 pH 值和不溶性微粒数,其中微粒数每个样品测 3 次。pH 结果见表 5,不溶性微粒数测量结果见表 6。

表 5 成品输液 pH 值变化

时间	0.9% NaCl		5% GS		10% GS		GNS	
	pH	外观	pH	外观	pH	外观	pH	外观
0 h	5.91	淡黄	5.99	淡黄	5.05	淡黄	5.56	淡黄
2 h	5.89	淡黄	6.01	淡黄	5.00	淡黄	5.56	淡黄
4 h	5.92	淡黄	5.80	淡黄	4.99	淡黄	5.59	淡黄
6 h	5.98	淡黄	6.02	淡黄	4.94	淡黄	5.49	淡黄
8 h	5.96	淡黄	6.00	淡黄	4.90	淡黄	5.45	淡黄

注: 0.9% NaCl 为 0.9% 氯化钠注射液, 5% GS 为 5% 葡萄糖注射液, 10% GS 为 10% 葡萄糖注射液, GNS 为葡萄糖氯化钠注射液

药品说明书中指出,注射用灯盏花素不宜与 pH 值小于 4.2 的溶液配伍,实验结果显示,成品输液在 8 h 内 pH 值均未小于 4.2 。2015 年版《中国药典》第四部规定光阻法检测不溶性微粒时^[9],标示装量为 100 mL 或以上的静脉用注射液除另有规定外,每 1 mL 中含 $10\text{ }\mu\text{m}$ 及 $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上的微粒数不得超过 25 粒,含 $25\text{ }\mu\text{m}$ 及 $25\text{ }\mu\text{m}$ 以上的微粒数不得超过 3 粒。结果显示, 0.9% NaCl、 5% GS、GNS 成品输液在 8 h 内微粒数均符合药典要求, 10% GS 成品输液在 8 h 时大于 $10\text{ }\mu\text{m}$ 微粒数超出药典要求。

表 6 成品输液微粒变化/ $(\bar{x}\pm s, n=3)$

时间	每毫升不溶性微粒数/粒							
	0.9% NaCl		5% GS		10% GS		GNS	
	$\geq 10\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 25\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 10\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 25\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 10\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 25\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 10\text{ }\mu\text{mol/L}$	$\geq 25\text{ }\mu\text{mol/L}$
0 h	10.07 ± 1.40	0.13 ± 0.11	14.06 ± 1.55	0.13 ± 0.23	15.13 ± 0.46	0.33 ± 0.31	16.00 ± 1.91	0.13 ± 0.11
2 h	11.53 ± 2.76	0.00 ± 0.00	9.93 ± 1.28	0.13 ± 0.11	7.06 ± 1.60	0.26 ± 0.23	9.40 ± 1.59	0.13 ± 0.11
4 h	9.73 ± 0.31	0.20 ± 0.20	9.27 ± 1.62	0.93 ± 0.61	9.06 ± 0.94	0.20 ± 0.20	7.73 ± 1.50	0.13 ± 0.10
6 h	9.06 ± 2.73	0.40 ± 0.20	12.26 ± 1.62	0.53 ± 0.31	4.00 ± 0.53	0.20 ± 0.20	19.20 ± 1.10	0.40 ± 0.20
8 h	14.60 ± 1.44	0.27 ± 0.12	9.47 ± 0.70	0.53 ± 0.23	89.60 ± 7.80	0.27 ± 0.11	10.53 ± 1.89	0.20 ± 0.20

注: 0.9% NaCl 为 0.9% 氯化钠注射液, 5% GS 为 5% 葡萄糖注射液, 10% GS 为 10% 葡萄糖注射液, GNS 为葡萄糖氯化钠注射液

3 讨论

注射用灯盏花素溶解正交实验结果显示,在相同溶媒的条件下,溶媒量对微粒数的影响最大,3 mL 微粒数小于 2 mL;振荡强度的影响次之,1 200 r/min 振荡频率微粒数小于 1 000 r/min 振荡频率;振荡时间影响相对较小,且振荡 2 min 微粒数小于振荡 1 min。综上所述,优选的溶解方法为:每支 20 mg 粉针,加入 3 mL 灭菌注射用水,以 1 200 r/min 频率振荡 2 min。

在注射用灯盏花素成品输液稳定性试验中,8 h 内所有输液中野黄芩苷含量均在 0 h 时含量 90% 以上,符合含量下降不超过 10% 的要求。不溶性微粒方面,使用 0.9% NaCl、5% GS、GNS 作为溶媒时,8 h 内微粒数符合要求,以 10% GS 为溶媒时,成品输液在 8 h 时大于 10 μm 微粒数超出药典要求。注射用灯盏花素说明书不建议其与 pH 小于 4.2 的溶液配伍,实验结果显示,所有输液调配完成后,pH 值均不小于 4.2。但人体血浆正常 pH 为 7.35~7.45,当输液 pH 过酸或者过碱,可能会引起静脉炎。文献[10]规定,pH 小于 5 以及大于 9 时,建议中心静脉给药,实验结果显示,使用 10% 葡萄糖作为溶媒时,4 h 时输液 pH 值小于 5,因此不推荐静脉输液,建议调配注射用灯盏花素时,溶媒选用 0.9% NS、5% GS 或者 GNS 注射液,且于常温下 8 h 内使用。

对于灯盏花素的输液稳定性,也有学者进行过研究。王霞和梅玲^[11]不建议将注射用灯盏花素与 5% GS 配伍,理由为主成分野黄芩苷含量下降较多(6 h 时,0.5、0.2、0.1 mg/mL 注射液含量分别为 0 h 的 97.48%、95.78%、97.76%)。一般认为若注射液中有 10% 的有效成分降解,则不应选择该溶媒,但实验中 6 h 内主成分含量并未下降 10%。国内另有一些研究结果与本实验结果相似,丁汀等^[12]采用正交试验的方法,研究在 4~37 $^{\circ}\text{C}$ 下,0.04、0.10、0.220 mg/mL 注射用灯盏花素的输液稳定性,其结论为与 0.9% NaCl、5% GS 或者 GNS 输液配伍,4 h 内含量无显著变化,可配伍使用。杨亚青等^[13]研究结果显示,在 18 $^{\circ}\text{C}$ 时,浓度为 0.1 mg/mL 的 0.9% NaCl、5% GS 注射用灯盏花素输液,8 h 内基本稳定,认为可配伍,但与 10% GS 输液配伍时,不溶性微粒数变化较大,不建议配伍。也有学者们^[14]的研究结

果支持注射用灯盏花素与 0.9% NaCl 和 5% GS 配伍,且在 8 h 内使用,但避免与 10% GS 配伍。以上的研究结果更加支持了本实验的结论,为临床的应用提供了更多参考。

综上所述,随着中药注射剂的广泛应用,有关其安全性的报道也日益增多,发生原因可能包括药物本身的因素和调配因素^[15]。因此,在临床的使用中,仍需继续研究摸索,在调配环节按照药物的理化性质来选择溶媒,从而确保用药安全。

参考文献

- [1] 郭晓,王萌,任晓亮,等.野黄芩苷及其在灯盏花素注射液中降解动力学研究[J].中草药,2016,47(11):1861-1866.
- [2] 苏延玲,王红丽,张中华,等.灯盏花素注射液对急性脑梗死患者血液生化指标和血液流变学的影响[J].中国药房,2016,27(27):3802-3804.
- [3] 周其如,鲁德林,陈君,等.灯盏花素注射液致过敏反应分析[J].西部中医药,2014,27(3):88-92.
- [4] 杨翠琳,邓晓莉.灯盏花素的不良反应与原因分析[J].海峡药理学,2008,20(7):145-147.
- [5] 孙丽静,白丽华,赵惠.心脑血管疾病常用中药注射液的不利反应[J].临床合理用药杂志,2014,7(1):90-91.
- [6] 耿魁魁,汝婷婷,唐祺,等.注射用血栓通调配技术正交优化及其在不同溶媒中稳定性考察[J].中国医院药学杂志,2014,34(8):660-664.
- [7] 吴妍,曹教育,吴凤芝,等.正交试验优化注射用左卡尼汀调配条件[J].安徽医药,2015,19(9):1642-1646.
- [8] 吴凤芝,唐祺,吴妍,等.注射用丹参(冻干)调配技术正交优化及其成品输液质量稳定性[J].中成药,2016,38(5):1159-1163.
- [9] 国家药典委员会.中国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:通则 114-115.
- [10] Infusion Nurses Society. Infusion nursing standards of practice[J]. J Infus Nurs,2011,34(Suppl 1):1-110.
- [11] 王霞,梅玲.注射用灯盏花素与常用溶媒配伍稳定性考察[J].华西医学,2014,29(2):293-296.
- [12] 丁汀,魏妙华,周慧萍,等.正交法考察注射用灯盏花素在不同输液中的稳定性[J].海峡药理学,2008,20(8):8-10.
- [13] 杨亚青,张智琪,林辉,等.注射用灯盏花素在 7 种注射液中的稳定性研究[J].中国医院用药评价与分析,2012,12(1):53-55.
- [14] 陈青华,吴亚萍.注射用灯盏花素在大输液中的稳定性考察[J].海峡药理学,2012,24(10):23-25.
- [15] 谭乐俊,王萌,朱彦.中药注射剂的不良反应研究进展[J].中国中药杂志,2014,39(20):3889-3898.

(收稿日期:2017-09-23,修回日期:2018-02-06)