

# 膦甲酸钠和苦参素注射液体外配伍稳定性考察

温海燕, 宋金春<sup>△</sup>

(武汉大学人民医院药学部, 湖北 武汉 430060)

**摘要:**目的 考察膦甲酸钠和苦参素注射液在不同条件下体外配伍的稳定性。方法 按照临床剂量配伍膦甲酸钠和苦参素注射液, 分别保存于4℃, (23±2)℃及45℃环境下, 分别于0, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 360 h时观察配伍液有无浑浊、沉淀、云状物、气泡、变色等现象, 并取样测定pH变化; 分别于0, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 360 h时取配伍液, 建立高效液相色谱法并检查样品含量的变化。结果 在15 d的检测过程中, 4℃, (23±2)℃及45℃条件下膦甲酸钠和苦参素配伍液液体澄清, 未出现浑浊、沉淀等现象, pH稳定, 含量较稳定。结论 膦甲酸钠氯化钠注射液和苦参素注射液体外配伍稳定性较好, 配伍液至少在15 d内可保持稳定。

**关键词:** 膦甲酸钠; 苦参素; 体外配伍; 稳定性考察

中图分类号: R965.3; R978.7

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)22-0014-04

## Compatible Stability of Foscarnet Sodium Chloride Injection and Oxymatrine Injection *in Vitro*

Wen Haiyan, Song Jinchun

(Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China 430060)

**Abstract: Objective** To investigate the compatible stability of Foscarnet Sodium Chloride Injection and Oxymatrine Injection *in vitro* under different conditions. **Methods** The initial solutions were prepared according to the clinical dose of Foscarnet Sodium Chloride Injection and Oxymatrine Injection, and stored at 4℃, (23±2)℃ and 45℃. The solutions were inspected for changes in pH and the visual inspection such as the turbidity, precipitation, cloudiness, bubble and discoloration at each sampling interval (0, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 360 h). The samples were taken at 0, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 360 h to check the sample content changes by HPLC method. **Results** During the 15-day detection process, the compatibility solution of Foscarnet Sodium Chloride Injection and Oxymatrine Injection was clarified under the conditions of 4℃, (23±2)℃ and 45℃ without turbidity and precipitation. The pH and the content were stable. **Conclusion** The stability of the compatibility solution of Foscarnet Sodium Chloride Injection and Oxymatrine Injection *in vitro* is good, and the compatibility solution is stable for at least 15 d.

**Key words:** foscarnet sodium; oxymatrine; compatibility *in vitro*; stability testing

膦甲酸钠为非核苷类广谱抗病毒药物, 体内外研究表明, 能有效抑制乙型病毒性肝炎(简称乙肝)病毒DNA的复制, 目前已用于慢性乙肝或重度乙肝的治疗<sup>[1]</sup>。苦参素注射液的主要成分为氧化苦参碱(含量>98%), 是从中药植物苦参及苦豆子中提取的生物碱, 临床主要用于慢性乙肝、肝纤维化等疾病的辅助治疗, 具有一定的抗病毒作用<sup>[2]</sup>。作为《慢性乙型肝炎防治指南》唯一推荐的抗病毒中药, 苦参素能有效降低乙肝病毒DNA水平, 还有保护肝脏、抗肝纤维化、消炎、免疫调节等多重作用<sup>[3]</sup>。近年来的大量研究表明, 苦参素和膦甲酸钠对体内外的乙肝病毒具有良好的抑制作用<sup>[4-5]</sup>。两药联用治疗重度慢性肝炎安全有效, 可明显促进患者肝功能的恢复, 但少数患者出现头晕、恶心、乏力等轻微不良反应<sup>[6]</sup>。本研究中对膦甲酸钠和苦参素在不同条件下体外配伍的稳定性进行了考察。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

WD-A型药物稳定性检查仪(天津药典标准仪器厂);

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司); TG328A型电子分析天平(上海天平仪器厂); UV-1800型紫外分光光度计(日本岛津公司); 雷磁PHS-25型pH计(上海圣科仪器设备有限公司)。

#### 1.2 试药

膦甲酸钠氯化钠注射液(武汉大安制药有限公司, 规格为每瓶250 mL: 膦甲酸钠3 g: 氯化钠2.5 g, 批号为21707061-1); 苦参素注射液(江苏正大天晴制药有限公司, 规格为每支2 mL: 苦参碱0.6 g, 批号为160824204); 膦甲酸钠标准品(上海扶生实业有限公司, 批号为FS-1490, 纯度≥99%); 苦参素对照品(阿拉丁试剂有限公司, 批号为D1408005, 规格为100 mg, 纯度为98.14%); 甲醇为色谱纯; 四己基硫酸氢铵、磷酸二氢钠、三乙胺均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 含量测定

##### 2.1.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);

第一作者: 温海燕, 在读硕士研究生, 研究方向为临床药学, (电子信箱)wenhaiyan2000@126.com。

<sup>△</sup>通信作者: 宋金春, 博士研究生, 教授, 主任药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱)songjc1234@126.com。

流动相:40 mmol/L 磷酸盐缓冲液(含 0.25 mmol/mL 四己基硫酸氢铵和 50 mmol/L 三乙胺, pH=7.6) - 甲醇(V/V, 75:25);流速:1.0 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

### 2.1.2 溶液制备

对照品贮备液:分别称取膦甲酸钠和苦参素对照品 120 mg,精密称定,置 100 mL 容量瓶中,加入流动相定容至刻度,即得。

对照品配伍液:按照临床配伍,称取膦甲酸钠对照品 0.3 g 和苦参素对照品 0.06 g,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,用流动相定容至刻度,即得。

供试品配伍液:按临床配伍,取膦甲酸钠氯化钠注射液 250 mL,注入苦参素注射液 2 mL,震荡混匀,即得。

### 2.1.3 测定波长选择

分别量取上述已配制的膦甲酸钠和苦参素对照品贮备液适量,均用流动相稀释至质量浓度为 5 μg/mL,得紫外样品。在 200~500 nm 波长范围内进行紫外全波长扫描,分别得膦甲酸钠和苦参素的紫外光谱图,两种样品图谱交点对应波长 230 nm 即为高效液相色谱法的检测波长。

### 2.1.4 方法学考察

标准曲线制备:取对照品贮备液,采用流动相分别稀释至 2,4,5,6,8,10 倍,各取 20 μL 进样,按照 2.1 项下色谱条件测定峰面积,分别以膦甲酸钠和苦参素的质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程,膦甲酸钠为  $Y = 536.81X - 17\,398$ ,  $R^2 = 0.9997$  ( $n=6$ );苦参素为  $Y = 4\,606.6X - 39\,912$ ,  $R^2 = 0.9997$  ( $n=6$ )。结果表明,膦甲酸钠和苦参素质量浓度均在 0.1~1.2 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:分别取标准曲线制备项下质量浓度为 1 g/L 膦甲酸钠和 0.20 g/L 的苦参素对照品溶液各 20 μL,重复进样 5 次,测定峰面积,计算日内精密密度;连续进样 5 d,计算日间精密密度。结果日内精密密度的 RSD 磷

甲酸钠为 1.55% ( $n=5$ )、苦参素为 1.63% ( $n=5$ ),日间精密密度的 RSD 磷甲酸钠为 1.64% ( $n=5$ )、苦参素为 1.71% ( $n=5$ ),表明仪器精密度较好。

重复性试验:分别取膦甲酸钠氯化钠注射液和苦参素注射液,平行制备供试品配伍液 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件进样。结果膦甲酸钠和苦参素峰面积的 RSD 分别为 1.43% 和 1.52% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

稳定性试验:按照 2.1.2 项下方法制备对照品配伍液各 5 份,摇匀。置常温下,分别于 0,2,4,6,8 h 时进样。结果膦甲酸钠和苦参素峰面积的 RSD 分别为 1.32% 和 1.35% ( $n=5$ ),表明膦甲酸钠与苦参素对照品配伍液在室温 8 h 内较稳定。

加样回收试验:称取膦甲酸钠原料药和苦参素各 9 份,均分为 3 组,精密称定,置 100 mL 容量瓶中,每组中分别加入高(120.00%)、中(100.00%)、低(80.00%)浓度的膦甲酸钠与苦参素对照品,用流动相稀释定容,再用超纯水稀释 5 倍,取上述稀释溶液各 20 μL,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表 1。

### 2.2 配伍稳定性考察

配伍液制备:按照 2.2 项下制备供试品配伍液,摇匀。置不同条件下,稀释 10 倍后,按照 2.1.1 项下色谱条件进样 20 μL,考察不同条件对膦甲酸钠和苦参素配伍液的影响。

不同条件下配伍液图谱:取 2.1.1 项下供试品配伍液,分别置强光照射、高温(60 ℃)条件下放置 8 h 后进样,观察图谱变化。结果见图 1。

配伍液的外观及 pH 变化:将供试品配伍液分别置 4 ℃、(23±2) ℃(室温)及 45 ℃(高温)条件下,分别于 0,8,12,24,48,72,96,120,168,240,360 h 时观察上述配伍液外观是否有浑浊、沉淀、云状物、气泡、变色[控制条件,相对湿度(25±5)%,避光]。结果在 15 d 内配伍液澄清,无浑浊、变色现象,未发生沉淀。在上述不同时间配伍液的 pH 变化见表 2。

配伍液含量变化:分别在 0,2,4,8,24,48,72,96,

表 1 加样回收试验结果( $n=9$ )

| 样品含量(mg) |      | 加入量(mg) |      | 测得量(mg) |      | 回收率(%) |       | $\bar{X}$ (%) |      | RSD(%) |      |
|----------|------|---------|------|---------|------|--------|-------|---------------|------|--------|------|
| A        | B    | A       | B    | A       | B    | A      | B     | A             | B    | A      | B    |
| 5.00     | 2.00 | 4.02    | 1.62 | 8.97    | 3.59 | 98.76  | 98.15 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 3.99    | 1.59 | 8.96    | 3.55 | 99.25  | 97.48 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 4.04    | 1.61 | 8.93    | 3.57 | 97.28  | 97.52 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 5.02    | 2.02 | 9.95    | 4.00 | 98.61  | 99.01 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 5.01    | 1.98 | 9.96    | 3.95 | 99.00  | 98.48 | 98.78         | 1.01 | 98.21  | 0.87 |
| 5.00     | 2.00 | 4.98    | 2.05 | 9.93    | 3.98 | 99.00  | 96.59 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 5.99    | 2.43 | 10.91   | 4.41 | 98.66  | 99.18 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 6.01    | 2.39 | 10.97   | 4.36 | 99.33  | 98.74 |               |      |        |      |
| 5.00     | 2.00 | 6.03    | 2.41 | 10.98   | 4.38 | 99.17  | 98.76 |               |      |        |      |

注:A 为膦甲酸钠,B 为苦参素。

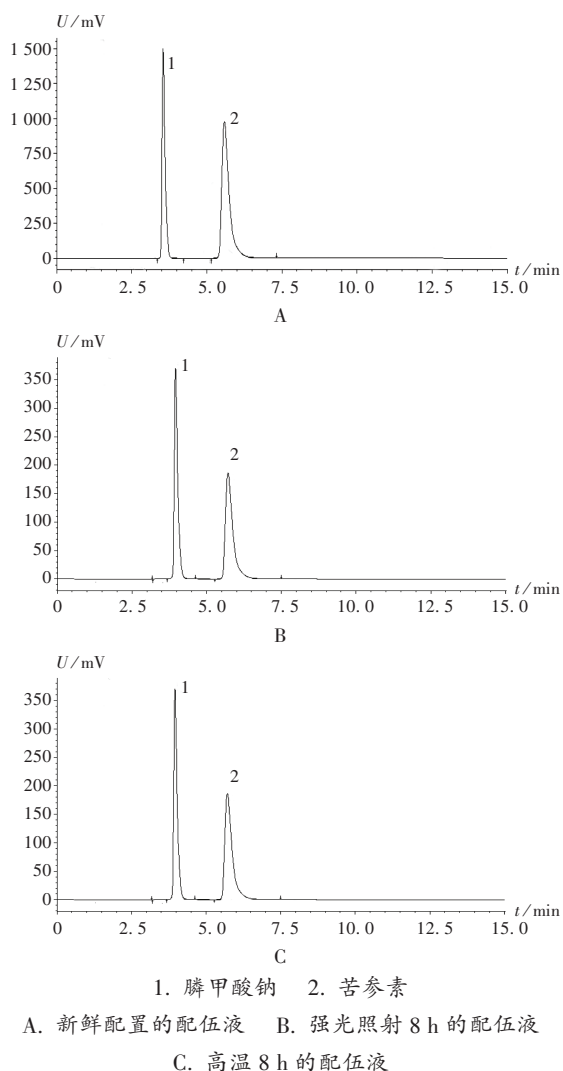


图1 不同条件下配伍液高效液相色谱图

120, 168, 240, 360 h 时抽取上述供试品配伍液, 用超纯水将抽取液稀释 5 倍, 照 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 计算配伍溶液中 2 种药物的含量。在 4 ℃ 条件下, 样品含量较稳定, 经过 15 d 后仍大于 90%; 而在室温及 45 ℃ 条件下, 样品含量开始下降, 且在 15 d 内含量小于 90%, 认为其含量不稳定。在 4 ℃, (23 ± 2) ℃ 和 45 ℃ 下, 膦甲酸钠质量浓度分别为 (2.29 ± 0.07) g/L, (2.26 ± 0.08) g/L, (2.18 ± 0.11) g/L, 苦参素质量浓度分别为 (0.45 ± 0.02) g/L, (0.45 ± 0.01) g/L, (0.44 ± 0.02) g/L。相对百分含量见表 3。

### 3 讨论

#### 3.1 流动相选择

参考文献[7-9], 对不同的液相条件进行检测, 对

表3 膦甲酸钠与苦参素配伍相对百分含量变化试验结果(n=3)

| 时间<br>(h) | 膦甲酸钠(%) |            |        | 苦参素(%) |            |        |
|-----------|---------|------------|--------|--------|------------|--------|
|           | 4 ℃     | (23 ± 2) ℃ | 45 ℃   | 4 ℃    | (23 ± 2) ℃ | 45 ℃   |
| 0         | 100.00  | 100.00     | 100.00 | 100.00 | 100.00     | 100.00 |
| 2         | 99.95   | 98.15      | 98.77  | 99.85  | 98.36      | 97.32  |
| 4         | 98.86   | 97.66      | 97.71  | 98.62  | 97.27      | 94.80  |
| 8         | 98.45   | 97.31      | 93.06  | 97.54  | 95.60      | 91.77  |
| 12        | 97.33   | 96.28      | 92.35  | 97.02  | 93.82      | 90.37  |
| 24        | 97.04   | 93.97      | 90.41  | 96.59  | 93.77      | 89.78  |
| 48        | 96.78   | 92.74      | 88.16  | 94.53  | 91.52      | 86.31  |
| 72        | 95.91   | 91.63      | 87.53  | 93.31  | 90.44      | 85.90  |
| 120       | 93.46   | 90.50      | 85.34  | 92.52  | 89.43      | 83.62  |
| 168       | 92.36   | 89.96      | 84.06  | 92.23  | 87.34      | 82.25  |
| 240       | 91.72   | 86.54      | 82.00  | 91.40  | 85.05      | 80.08  |
| 360       | 90.47   | 85.74      | 81.97  | 90.54  | 84.93      | 77.80  |

流动相的条件进行选择 and 调整, 最终选择文中所用流动相。其中四己基硫酸氢铵作为离子对试剂, 能有效与膦甲酸钠结合, 使其在色谱柱上能有效保留; 而加入三乙胺, 能减少苦参素的拖尾, 改善峰形。在此条件下, 可以获得较满意的峰形, 出峰时间适宜, 且膦甲酸钠和苦参素分离度较好, 可同时测定两者的含量。

#### 3.2 不同条件对峰形和保留时间的影响

由于药品通常于避光、阴凉环境下保存, 而在配伍制备的过程中, 通常会受到光照、温度等不同环境因素的影响。因此, 对高温(60 ℃)、强光照条件下放置 8 h 的样品进行观察, 结果表明, 在以上条件下, 色谱峰的保留时间和峰形均未受影响。

#### 3.3 不同条件对配伍含量的影响

在药物配伍过程中, 时间、温度等条件的改变, 易使其稳定性和含量发生变化, 从而影响其药理和生化活性<sup>[10]</sup>。一般来说, 随着时间的延长和温度的升高, 由于可能产生的化学或物理变化会导致其稳定性和药物含量下降, 故需对其长期稳定性进行考察<sup>[11]</sup>。上述试验结果表明, 两者配伍液在 4 ℃ 条件下含量变化较稳定, 而在室温和 45 ℃ 条件下药物含量明显下降, 提示两者配伍应保存于低温条件下尽快使用。

综上所述, 膦甲酸钠和苦参素按临床常用剂量进行配伍, 稳定性较好, 液体澄清, pH 稳定。但本研究中仅对物理化学变化做了初步探究, 未对其长期使用的微生物等生物污染进行考察, 故在临床应用中需现配现用。

表2 膦甲酸钠和苦参素配伍液不同温度条件下不同时间 pH 测定结果(n=5)

| 温度         | 0 h  | 8 h  | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 96 h | 120 h | 168 h | 240 h | 360 h |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| 4 ℃        | 7.90 | 7.89 | 7.88 | 7.88 | 7.87 | 7.83 | 7.86 | 7.87  | 7.86  | 7.87  | 7.88  |
| (23 ± 2) ℃ | 7.95 | 7.95 | 7.95 | 7.94 | 7.94 | 7.92 | 7.95 | 7.98  | 7.96  | 7.95  | 7.97  |
| 45 ℃       | 7.89 | 7.87 | 7.86 | 7.85 | 7.86 | 7.84 | 7.87 | 7.89  | 7.90  | 7.89  | 7.92  |