

注射用两性霉素B与不同厂家5%葡萄糖注射液的配伍稳定性考察[△]

刘荣*,路霞林,董平*(上海市公共卫生临床中心药剂科,上海 201508)

中图分类号 R969.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)20-2771-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.20.12

摘要 目的:考察注射用两性霉素B与不同厂家的5%葡萄糖注射液配伍的稳定性影响因素,为注射用两性霉素B选择合适的溶剂载体提供可靠的依据。方法:注射用两性霉素B与不同厂家(A、B、C、D、E厂家)的5%葡萄糖注射液配伍后,在避光条件下,室温(25℃)放置0、1、2、4、6、8 h,采用高效液相色谱(HPLC)法,测定样品中两性霉素B的含量变化,同时观察样品溶液的性状、澄明度、pH值变化。结果:随着放置时间的延长,两性霉素B与pH<4.2的5%葡萄糖注射液配伍均出现不溶性杂质,主药含量明显下降。只有A厂家的5%葡萄糖注射液符合与两性霉素B的配伍要求。结论:两性霉素B与5%葡萄糖注射液的配伍稳定性与溶剂的pH值密切相关,建议溶剂生产厂家在药品说明书中注明其pH值,以便临床在使用类似药品时选择合适的溶剂,安全用药。
关键词 两性霉素B;葡萄糖注射液;配伍;稳定性

Study on the Compatible Stability of Amphotericin B for Injection and 5% Glucose Injection from Different Manufacturers

LIU Rong, LU Xia-lin, DONG Ping (Dept. of Pharmacy, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the factors affecting the compatible stability of amphotericin B (AmB) and 5% glucose injection from different manufacturers, and to provide reliable evidence for the selection of solvent carrier of AmB. METHODS: After the combination of AmB and 5% glucose injection from different manufacturers (manufacturer A, B, C, D, E), it was shielded from light with room temperature (25℃) for 0, 1, 2, 4, 6 and 8 h. HPLC was conducted to determine the content changes of AmB in samples and observe the character, clarity and pH values. RESULTS: With the prolonging of time, insoluble impurities were detected in AmB and 5% glucose injection with the pH value less than 4.2 and the content of main drugs was decreased. Only 5% glucose injection from manufacturer A was in line with the requirements of AmB compatibility. CONCLUSIONS: The compatible stability of AmB and 5% glucose injection is closely related to pH values. It is suggested that manufacturers of infusions make clear descriptions of the pH value to select suitable infusions and safe drugs.

KEYWORDS Amphotericin B; Glucose injection; Compatibility; Stability

两性霉素B是由结节性链霉菌产生的一种用于治疗深部真菌感染的多烯类抗真菌药。由于临床致病性真菌感染的发生率不断增加,特别在免疫缺陷患者以及人类免疫缺陷病毒(HIV)感染患者中,两性霉素B的临床使用量日渐增多^[1]。虽然该药毒性大,不良反应多见^[2],但它又是治疗危重深部真菌感染的有效药物,所以在临床治疗隐球菌脑膜炎等疾病时必须使用的药物。该药说明书要求其在静脉滴注时,先以灭菌注射用水5 ml溶解注射用两性霉素B 25 mg,然后用5%葡萄糖注射液稀释(不可用氯化钠注射液,因可产生沉淀),输液中药物浓度不超过10 mg/100 ml,且应避光缓慢静脉滴注,每次滴注时间需在6 h以上,稀释用葡萄糖注射液的pH值应在4.2以上。

5%葡萄糖注射液是临床上常用的一类水与能量补充剂,该类药物能直接供给人体热能、补充体液,同时也可作为一些药物的稀释剂和稳定剂。《中国药典》(2010年版)规定该输液的pH值范围为3.2~6.5^[3]。考察中5个厂家的5%葡萄糖注射液的说明书中均未列出其产品的明确pH值,仅列出pH值范围为3.2~6.5,这对于临床正确选择合适的葡萄糖注射液作为两性霉素B的溶剂带来了困难。本试验考察了现在市场上销售的5个不同厂家的5%葡萄糖注射液与两性霉素B的配伍情况,探讨其配伍的稳定性影响因素,以评价其配伍的可行性,为注射用两性霉素B选择合适的溶剂载体提供可靠的依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT 高效液相色谱仪,包括LC solution 色谱数据工作站软件(日本岛津公司);310P-01 型 pH 计(美国 Thermo 公司);AJY-6000-U 型超纯水仪(英国 Aquapro 公司);TB-215D 型电子天平(美国 Denver 公司);UV-2550 型紫外分光光度仪(日本岛津公司);BSC- II A2 型生物安全柜(上海上净净化设

△ 基金项目:上海医院药学科科研项目(No.2014-YY-02-03)

* 主管药师,硕士研究生。研究方向:医院药学。电话:021-37990333-5313。E-mail:liurong@shaphc.org

通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:021-37990333-5313。E-mail:dongping@shaphc.org

备有限公司);一次性无菌注射器(上海康德莱企业发展集团有限公司)。

1.2 药品与试剂

注射用两性霉素B(上海新先锋药业股份有限公司,规格:25 mg,批号:101001);5%葡萄糖注射液[规格:每袋500 ml,5个厂家:A厂(批号:2G84G4,塑瓶包材)、B厂(批号:S1108159,非PVC包材)、C厂(批号:712651007,非PVC包材)、D厂(批号:120113B43,非PVC包材)、E厂(批号:D11121402,非PVC包材)];两性霉素B对照品(上海新先锋药业有限公司,批号:A1070401,含量>98%);灭菌注射用水(上海信谊金朱药业有限公司,批号:120602);乙二胺四乙酸二钠为分析纯,甲醇、二甲亚砜为色谱纯,试验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 两性霉素B含量测定方法的建立

2.1.1 对照品贮备液的配制 准确称取两性霉素B对照品适量,用二甲亚砜溶解,置10 ml棕色量瓶中,甲醇定容,摇匀,配制成质量浓度为1 mg/ml的对照品贮备液,于4℃冰箱避光保存。

2.1.2 检测波长的选择 取“2.1.1”项下对照品贮备液适量,用流动相稀释成质量浓度为50 µg/ml的对照品溶液,并将各厂家的溶剂与两性霉素B的配伍溶液稀释成同浓度的测试溶液,分别在190~900 nm波长范围内扫描,测定紫外吸收光谱。结果对照品溶液与测试溶液均在405 nm波长处有最强吸收,故选择检测波长为405 nm。两性霉素B紫外扫描光谱图见图1。

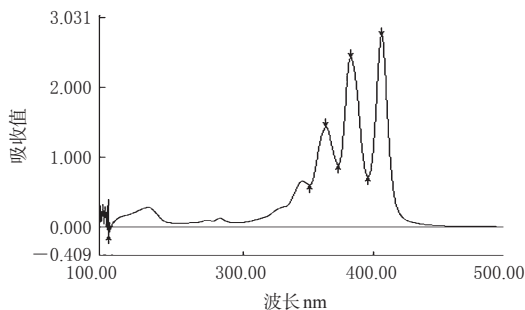


图1 两性霉素B紫外扫描光谱图

Fig 1 UV scanning spectrum of AmB

2.1.3 色谱条件及专属性试验 色谱柱:Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 µm);流动相:0.005 mol/L乙二胺四乙酸二钠-甲醇(30:70, V/V);检测波长:405 nm;流速:1 ml/min,柱温:30℃;进样量:20 µl。所有样品进样前用0.45 µm微孔滤膜滤过。取空白葡萄糖注射液、两性霉素B对照品溶液进样测定,记录色谱;另取注射用两性霉素B 1支(含两性霉素B 25 mg),配制成含两性霉素B质量浓度约为50 µg/ml的样品溶液,同法进样。在此色谱条件下两性霉素B的保留时间为6.05 min,葡萄糖注射液对测定无影响。色谱见图2。

2.1.4 标准曲线的制备及最低定量限考察 准确称取对照品贮备液适量,置10 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成质量浓度为1、5、10、20、30、40、50、80、100 µg/ml的系列标准溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进行测定,记录色谱。外标法测定,以峰面积(y)对检测浓度(x)进行线性回归,得线性回归方程为: $y=8.22 \times 10^6x-2.89$ ($r=0.9997$)。结果表明,两性霉素B检测浓度在1~100 µg/ml范围内与线性关系良好。取质控样品

按信噪比为5确定定量限,最低定量限为1 µg/ml。

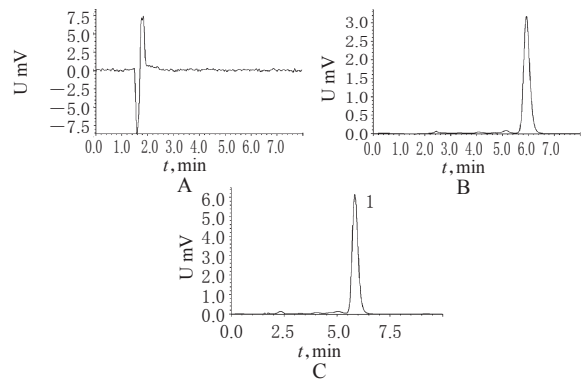


图2 高效液相色谱图

A.空白葡萄糖注射液;B.两性霉素B对照品溶液;C.注射用两性霉素B溶剂样品;1.两性霉素B

Fig 2 HPLC chromatograms

A. blank glucose injection; B. reference of AmB; C. amB for injection; 1.amphotaricin B

2.1.5 精密度试验 取质量浓度为1、50和100 µg/ml的对照品溶液适量,按“2.1.3”项下色谱条件连续进样测定5次,计算峰面积,并连续测定3 d。根据当日工作曲线,计算质控样品的测得浓度,根据质控样品结果,考察其准确度以及日内、日间精密度。结果显示,低、中、高梯度质量浓度溶液的日内、日间精密度良好,详见表1。

表1 精密度及提取回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of precision and recovery tests(n=5)

配制浓度,µg/ml	日内RSD,%	日间RSD,%	提取回收率,%
1	10.44	7.61	100.37
50	7.12	5.90	98.48
100	5.04	3.11	100.22

2.1.6 提取回收率试验 精密量取两性霉素B对照品贮备液适量,置10 ml量瓶中,用5%葡萄糖注射液稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度为1、50、100 µg/ml的溶液各5份,按“2.1.3”项下色谱条件测定峰面积,与相应浓度的对照品溶液的峰面积比较,计算提取回收率,结果见表1。

2.1.7 稳定性试验 配制低、中、高梯度浓度的质控样品3份,考察在避光条件下室温放置2、4、8、12、24 h的稳定性。结果,在上述条件下,RSD分别为0.34%、0.55%和0.69%,表明溶液室温放置24 h稳定。

2.2 配伍稳定性考察

2.2.1 供试品溶液的配制 在我院静脉用药调配中心的净化环境下,按照临床常用的浓度,遵照注射用两性霉素B说明书中的配置方法,在生物安全柜内将注射用两性霉素B 1支(25 mg)先用灭菌注射用水5 ml溶解,再将溶液分别加入到5个不同厂家的5%葡萄糖注射液中,作为供试品溶液。

2.2.2 外观性状考察 模拟临床用药,将“2.2.1”项下供试品溶液在室温(25℃)避光条件下保存,分别于0、1、2、4、6、8 h时观察颜色变化及溶液透明度。各溶液在配置后均为浅黄色液体,澄明无杂质。放置1 h后观察,B厂家的配伍溶液出现黄色絮状杂质,漂浮于溶液上方;C厂家的配伍溶液出现黄色颗粒沉淀;C厂家以及E厂家的配伍溶液均出现黄色絮状悬浮物漂浮在溶液中。随着时间的延长,沉淀及絮状物量明显增加。

放置8 h后,只有A厂家的配伍溶液依旧澄清,无沉淀及浑浊产生。

2.2.3 pH值考察 根据《中国药典》(2010年版)(二部)附录VI H pH值测定法^[3]测定。两性霉素B与5个厂家的5%葡萄糖注射液配伍后,其pH值在各时间点的测定结果见表2。由表2可见,只有A厂家的5%葡萄糖注射液pH值在4.2以上,与两性霉素B配伍后溶液pH值均>6。其他厂家的5%葡萄糖注射液pH值均<4.2,不符合两性霉素B说明书要求的5%葡萄糖注射液的pH值要求,与两性霉素B配伍后,pH值均<6。两性霉素B的水溶液pH值保持在7.6~7.9间,符合《中国药典》(2010年版)^[3]的要求。

表2 注射用两性霉素B与5个厂家的5%葡萄糖注射液配伍前后的pH值变化

Tab 2 pH changes of AmB for injection and infusions from 5 manufacturers before and after compatibility

厂家	配伍前	配伍后放置时间,h					
		0	1	2	4	6	8
两性霉素B水溶液	7.84	7.84	7.79	7.75	7.72	7.68	7.67
A厂家	4.36	6.43	6.47	6.56	6.55	6.53	6.50
B厂家	3.80	5.01	5.07	4.95	4.96	4.98	4.97
C厂家	4.03	5.47	5.72	5.60	5.66	5.68	5.65
D厂家	3.81	4.95	5.03	4.98	5.02	5.06	5.04
E厂家	3.77	4.85	4.80	4.70	4.71	4.74	4.77

2.2.4 不同放置时间样品含量变化 将“2.2.1”项下配伍溶液在室温避光条件下保存,分别于0、1、2、4、6、8 h时将溶剂摇匀后取样,将各供试品溶液经过0.45 μm一次性微孔滤膜过滤后,按“2.1.3”项中的色谱条件测定,按外标法计算两性霉素B的含量,结果见表3。放置8 h后,只有A厂家的配伍溶液中两性霉素B的含量变化在4%以内,其他厂家的配伍溶液中两性霉素B的含量平均下降了70%,说明两性霉素B在这些溶剂中配伍不稳定,发生了降解或是生成了其他物质。

表3 两性霉素B与5个厂家的5%葡萄糖注射液配伍前后的含量变化(%)

Tab 3 Content changes of AmB and infusions from 5 manufacturers before and after compatibility (%)

厂家	配伍后放置时间,h					
	0	1	2	4	6	8
A厂家	100	99.35	99.12	98.36	98.02	96.12
B厂家	100	76.14	67.23	48.89	40.11	32.88
C厂家	100	81.14	72.90	53.82	44.12	26.31
D厂家	100	75.10	63.01	49.20	37.31	28.09
E厂家	100	83.00	70.41	51.06	46.03	30.03

3 讨论

试验结果表明,注射用两性霉素B在室温避光条件下,在不同厂家的5%葡萄糖注射液中,由于溶剂pH值的不同,药品在溶剂中的稳定性受到了较大的影响。随着放置时间的延长,溶剂的pH值变化不大,但是溶剂的性状及主成分含量变化较大。放置1 h后,除A厂家的溶剂依旧保持澄清,其他厂家的溶剂中均出现不溶性杂质。而且两性霉素B的含量下降明显。随着放置时间的延长,B、C、D、E厂家的5%葡萄糖注射液与两性霉素B产生了大量杂质,主药的含量低于59.40%,已

经不能供临床使用。由于两性霉素B需要避光滴注,输液以及输液器外均需要加避光袋,病区护士及患者无法及时观察到输液的配伍稳定性情况,所以当两性霉素B的5%葡萄糖注射液出现配伍反应后,无法及时终止滴注,会对患者用药的安全性带来极大的风险。

两性霉素B结构中有一个羧基和一个氨基,属于两性化合物,化学性质不稳定,容易受到外界条件的破坏和影响,发生多种降解反应,产生无活性甚至有毒性的降解物,直接影响产品质量和临床用药的安全。在酸性(pH=2~4)室温条件下,两性霉素B容易定向降解,生成一个对热不稳定的降解产物^[4]。在碱性(pH>8)条件下,其大环内脂环容易被打开,生成其开环降解物^[5]。所以两性霉素B在临床使用过程中,对于其溶剂载体的选择,有着严格的条件。由于我院药剂科试验条件的限制,并未对配伍中产生的杂质进行进一步的定性分析,也未对不溶性微粒的数量及粒径进行测定,有待于进一步的试验分析。

本研究结果表明,5个不同厂家的5%葡萄糖注射液只有A厂家的产品可以与两性霉素B配伍,其他厂家的5%葡萄糖注射液均不能与其配伍。而目前医院所用的溶剂往往只有1~2个溶剂厂家的产品,且由于各医院药学部门受到科研及药物分析试验条件的限制,并不能对每种药品与溶剂进行相关的配伍试验,所以在临床使用中会出现配伍安全性的问题。目前,《中国药典》(2010年版)对于该类药品的质量控制及合理使用均无明确的规定,医院药学部门在采购药品及溶剂时均无依据可循。为了确保药品在临床上安全、合理使用,建议溶剂生产厂家对于大家一直忽略的溶剂的pH值在药品说明书中进行明确说明,控制pH值的范围,以便于医师和药师能够选择合适的溶剂与药品配伍,从而安全用药。

参考文献

- [1] Elgart A, Farber S, Domb AJ, *et al.* Polysaccharide pharmacokinetics: amphotericin B arabinogalactan conjugate-A drug delivery system or a new pharmaceutical entity?[J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(8): 1 972.
- [2] Milhaud J, Ponsinet V, Takashi M, *et al.* Interactions of the drug amphotericin B with phospholipid membranes containing or not ergosterol: new insight into the role of ergosterol[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1 558(2): 95.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 329、928、附录VI H.
- [4] 牛长群, 祝仕清, 刘素彦. LC-ESI-MS分析两性霉素B降解产物[J]. *分析测试学报*, 2003, 23(增刊): 12.
- [5] Song DQ, Wang Y, Wu L Z, *et al.* Benzoylurea Derivatives as a novel class of antimetabolic agents: synthesis, anticancer activity and structure-activity relationships[J]. *J Med Chem*, 2008, 51(11): 3 094.

(收稿日期:2014-11-24 修回日期:2015-03-27)

(编辑:李 劲)