

注射用单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦注射液配伍稳定性考察

刘跃林(如皋市中医院,江苏如皋 226500)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)05-0616-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.05.12

摘要 目的:考察注射用单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦注射液的配伍稳定性。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法,测定在5、25、35℃避光和光照条件下8h内配伍液中两药的含量变化,并考察配伍前后外观、性状、pH及不溶性微粒(24h内)的变化。结果:在避光条件下,8h内配伍液的外观、pH均无明显变化,不溶性微粒均符合《中国药典》(2010年版)规定,配伍液中单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的百分含量均在99%以上(相对于0h);在光照条件下,随着温度的升高,放置时间的延长,配伍液中单磷酸阿糖腺苷的含量没有明显下降,而阿昔洛韦的含量下降较明显(4h及以后),配伍液pH也有一定程度的升高,不溶性微粒则无明显变化。结论:注射用单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦注射液在0.9%氯化钠注射液中配伍后,8h内于避光条件下可稳定共存。为保障临床用药的安全性,建议临床最好在单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦配伍后的4h内用完,且尽量避光。

关键词 单磷酸阿糖腺苷;阿昔洛韦;配伍稳定性;高效液相色谱法

Compatible Stability of Vidarabine Monophosphate for Injection and Aciclovir Injection

LIU Yuelin(The Chinese Medicine Hospital of Rugao, Jiangsu Rugao 226500)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the stability of Vidarabine monophosphate for injection combined with Aciclovir injection. METHODS: HPLC method was adopted. The content variations of two drugs in mixture were determined within 8 h at 5 °C, 25 °C, 35 °C under dark and light. The changes in appearance, property, pH value and insoluble particles (within 24 h) were investigated before and after compatibility. RESULTS: There were no significant changes in appearance and pH value at 5 °C, 25 °C, 35 °C under dark, and insoluble particles were in line with *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition), and the relative content of vidarabine monophosphate and aciclovir were above 99% (compared with 0 h) within 8 h. Under the light conditions, as the temperature raised and the extension of storage time, the content of vidarabine monophosphate did not significantly decrease, but that of aciclovir had declined significantly (4 h and after 4 h), while pH value also had a certain degree of rise; the insoluble particles had no obvious change. CONCLUSIONS: The mixture of vidarabine monophosphate and aciclovir in 0.9% Sodium chloride injections is stable under dark conditions within 8 h; it is suggested that the mixture should be used up within 4 h after mixing and protect from light to guarantee the safety of drug use in the clinic.

KEYWORDS Vidarabine monophosphate; Aciclovir; Compatible stability; HPLC

单磷酸阿糖腺苷为抗脱氧核糖核酸(DNA)病毒药,其药理作用是和病毒的DNA聚合酶结合,使其活性降低而抑制DNA合成,目前临床上广泛用于病毒感染的治疗^[1]。阿昔洛韦为一种合成的嘌呤核苷类似物,主要用于病毒性、皮肤或黏膜感染的预防和治疗,也可用于乙型肝炎、单纯疱疹性角膜炎、带状疱疹病毒感染等。临床证明,单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦联合使用治疗带状疱疹较两种药物单独使用疗效更好^[2],之前关于单磷酸阿糖腺苷、阿昔洛韦稳定性的研究均有文献^[3-4]报道,但两药配伍是否稳定未见相关文献,其安全性无确切的理论依据。为保障临床用药安全,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法考察了单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦在0.9%氯化钠注射液中的配伍稳定性,现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

HPLC仪,包括1525型溶液输送泵、2487型紫外可变波长检测器、Breeze工作站(美国Waters公司);AG135型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);868型酸度计(美国奥立龙公司);8453型紫外可见分光光度计(美国安捷伦科技有限公司);

*副主任药师。研究方向:药事管理、临床药学。电话:0513-87518148。E-mail: 2365360834@qq.com

GWJ-4型智能微粒检测仪(天大天发科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

注射用单磷酸阿糖腺苷(广东先强药业有限公司,批号:130704/1,规格:0.1g/支);阿昔洛韦注射液(成都平原药业有限公司,批号:1308031,规格:10ml:0.5g);0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号:20130916,规格:100ml:0.9g);单磷酸阿糖腺苷对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号:140710-200401);阿昔洛韦对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号:130480-200302);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法

2.1 配伍液的配制

模拟临床用药浓度^[1-2],将注射用单磷酸阿糖腺苷1支(0.1g/支)与阿昔洛韦注射液1支(10ml:0.5g)同时溶解到0.9%氯化钠注射液100ml中,摇匀,分为若干份。各配伍液分别在下列条件下放置:避光条件(5、25、35℃)和光照条件(5、25、35℃)。每种条件下均平行配制样品各3份($n=3$),在0、1、2、4、6、8h时分别检查外观,测定pH、不溶性微粒数及单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的含量。

2.2 含量测定^[5]

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Dikxna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水(含磷酸二氢钾 6.8 g 与 10% 四丁基氢氧化铵 15 ml, 加水至 1 000 ml)-甲醇(85:15, V/V); 柱温: 25 °C; 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 20 μl。单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦色谱峰理论板数均>2 000, 分离度>1.5, 专属性良好。色谱见图 1。

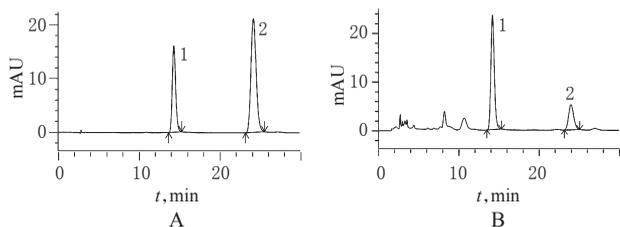


图 1 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦对照品的 HPLC 图

A.258 nm 波长; B.254 nm 波长; 1.阿昔洛韦峰; 2.单磷酸阿糖腺苷峰

Fig 1 HPLC chromatograms of vidarabine monophosphate and aciclovir

A.258 nm; B.254 nm; 1.aciclovir; 2.vidarabine monophosphate

2.2.2 测定波长的选择 分别称取单磷酸阿糖腺苷对照品、阿昔洛韦对照品各适量, 用流动相溶解后, 于 200~400 nm 波长范围内扫描, 得知单磷酸阿糖腺苷在 258 nm 波长处有最大吸收, 阿昔洛韦在 254 nm 波长处有最大吸收。

2.2.3 标准曲线的制备 准确称取单磷酸阿糖腺苷对照品 100 mg、阿昔洛韦对照品 500 mg 于 100 ml 量瓶中, 加流动相至刻度; 取 1、3、5、7、8 ml 于 10 ml 量瓶中, 加流动相至刻度, 配成系列质量浓度的单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的对照品溶液。按“2.2.1”项下的色谱条件分别进样测定, 以峰面积(A)为纵坐标, 质量浓度(C)为横坐标, 进行线性回归, 得单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的回归方程分别为 $A=5.31 \times 10^5 C - 2.17 \times 10^3$ ($r=0.999 5, n=5$)、 $A=2.32 \times 10^5 C - 2.77 \times 10^2$ ($r=0.999 7, n=5$)。结果表明, 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦检测质量浓度分别在 100~800 μg/ml 与 500~4 000 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.2.4 精密度的试验 (1)单磷酸阿糖腺苷: 取“2.2.3”项下 100 μg/ml 的单磷酸阿糖腺苷对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 结果得峰面积的 RSD 为 0.83% ($n=6$)。(2)阿昔洛韦: 取“2.2.3”项下 500 μg/ml 的阿昔洛韦对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得峰面积的 RSD 为 0.76% ($n=6$)。

2.2.5 重复性试验 分别取单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦同一批样品各适量, 按“2.1”项下配伍液配制方法平行制备 6 份。精密量取单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦配伍液 5 ml, 稀释至 10 ml 后进样, 记录峰面积。结果, 单磷酸阿糖腺苷 RSD 为 0.72% ($n=6$), 阿昔洛韦 RSD 为 0.49% ($n=6$)。

2.2.6 回收率试验 配制单磷酸阿糖腺苷低(400 μg/ml)、中(500 μg/ml)、高(600 μg/ml)与阿昔洛韦低(2 000 μg/ml)、中(2 500 μg/ml)、高(3 000 μg/ml)系列质量浓度的对照品溶液, 重复进样 20 μl ($n=5$)。测定其峰面积, 代入回归方程计算质量浓度, 并计算回收率。结果, 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的回收率分别为 102.19%、105.26%, RSD 分别为 3.19%、3.74%, 结果见表 1。

2.2.7 配伍液中药物含量测定 按照“2.2.1”项下色谱条件,

表 1 回收率试验结果($n=5$)

Tab 1 The results of recovery tests($n=5$)

药品	加入量, μg/ml	测得量, μg/ml	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
单磷酸阿糖腺苷	400	399.48	99.87	102.19	3.19
	500	516.55	103.31		
	600	620.34	103.39		
阿昔洛韦	2 000	2 071.80	103.59	105.26	3.74
	2 500	2 560.75	102.43		
	3 000	3 292.80	109.76		

于 0、1、2、4、6、8 h 时取避光和光照情况下不同温度条件(5、25、35 °C)的配伍液各 5 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 即得样品溶液, 取以上样品溶液分别进样 20 μl, 记录色谱图, 结果见图 2; 同时考察 0.9% 氯化钠注射液的色谱图, 见图 3。以 0 h 时含量为 100%, 观察以上各配伍液中主药的百分含量。结果表明, 5、25、35 °C 避光条件下该配伍液中单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的含量在 0~8 h 内均无明显变化; 5 °C 及 25 °C 光照条件下该配伍液中单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的含量在 0~4 h 无明显变化, 在 4~8 h 内阿昔洛韦的含量有所降低; 35 °C 光照条件下该配伍液中阿昔洛韦的含量在 0~4 h 略有下降, 4 h 相对 0 h 降低了 5.56%, 4~8 h 明显降低, 8 h 相对 0 h 降低了 15.38%, 而配伍液中单磷酸阿糖腺苷的含量则无明显变化, 结果见表 2、表 3。

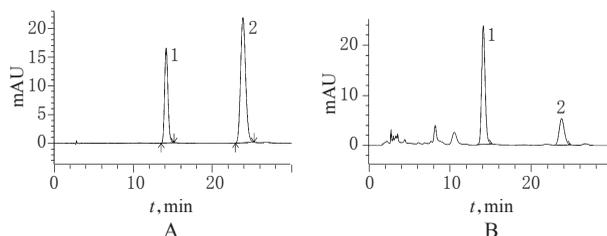


图 2 配伍液中单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的 HPLC 图

A.258 nm 波长; B.254 nm 波长; 1.阿昔洛韦峰; 2.单磷酸阿糖腺苷峰

Fig 2 HPLC chromatograms of vidarabine monophosphate and aciclovir in mixture

A.258 nm; B.254 nm; 1.aciclovir peak; 2.vidarabine monophosphate peak

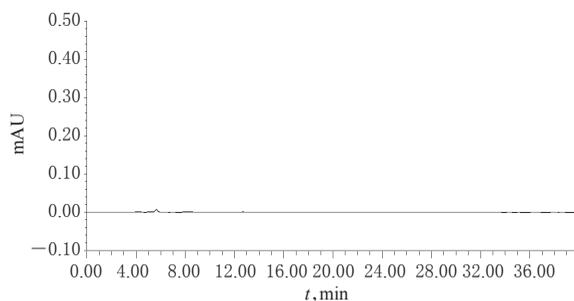


图 3 0.9%氯化钠注射液的 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatogram of 0.9% Sodium chloride injection

2.3 外观观察

取洁净的 20 ml 具塞纳氏比色管若干支, 分别加入上述配伍液各 15 ml, 用未加药的 0.9% 氯化钠注射液作对照, 在上述时间点分别检查外观变化。结果表明, 8 h 内 6 种放置条件下各配伍液外观均澄清透明, 无颜色、气体、沉淀、浑浊产生, 与未加药的 0.9% 氯化钠注射液相比也无差异。

表2 6种放置条件下配伍液中阿昔洛韦的相对百分含量变化 (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 The relative percentages of aciclovir in mixture under 6 different conditions (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

取样时间, h	避光			光照		
	5℃	25℃	35℃	5℃	25℃	35℃
	0	100	100	100	100	100
1	99.87	99.88	99.86	99.85	99.86	96.58
2	99.89	99.87	99.88	99.87	99.85	96.18
4	99.85	99.84	99.87	99.85	99.83	94.44
6	99.86	99.85	99.84	91.84	91.86	85.97
8	99.85	99.86	99.87	90.83	90.82	84.62

表3 6种放置条件下配伍液中单磷酸阿糖腺苷的相对百分含量变化 (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 3 The relative percentages of vidarabine monophosphate in mixture under 6 different conditions (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

取样时间, h	避光			光照		
	5℃	25℃	35℃	5℃	25℃	35℃
	0	100	100	100	100	100
1	99.87	99.88	99.86	99.85	99.86	99.58
2	99.89	99.87	99.88	99.87	99.85	99.68
4	99.85	99.84	99.87	99.85	99.83	99.91
6	99.86	99.85	99.84	99.84	99.86	99.97
8	99.85	99.86	99.87	99.83	99.82	99.44
24	99.84	99.83	99.85	99.72	99.61	99.62

2.4 pH测定

取上述配伍液于0、1、2、4、6、8 h时测定pH, 每个样本连测3次, 取平均值。结果表明, 5、25、35℃避光条件下该配伍液pH在0~8 h时均无明显变化; 而在光照条件下该配伍液pH在0~1 h无明显变化, 1 h后, pH有较明显的上升趋势, 结果见表4。

表4 6种放置条件下配伍液的pH变化(n=3)

Tab 4 pH change of mixture in 6 conditions(n=3)

取样时间, h	避光			光照		
	5℃	25℃	35℃	5℃	25℃	35℃
	0	6.85	6.84	6.83	6.86	6.83
1	6.82	6.83	6.84	6.92	6.92	6.91
2	6.83	6.84	6.83	7.84	7.91	7.90
4	6.82	6.85	6.82	7.85	7.88	7.89
6	6.85	6.83	6.83	7.87	7.89	7.88
8	6.84	6.82	6.84	7.85	7.85	7.86

2.5 不溶性微粒

取“2.1”项下的配伍液及用0.9%氯化钠注射液溶解的注射用单磷酸阿糖腺苷和阿昔洛韦注射液在0、1、2、4、6、8、24 h按《中国药典》(2010年版)二部微粒检测法中的光阻法检查微粒^[6]。结果表明, 两药配伍并未使配伍液微粒数增加, 结果见表5。

3 讨论

为排除单个药物成分在0.9%氯化钠注射液中的不稳定因素, 笔者分别测试了单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦在0.9%氯化钠注射液中的稳定性。试验结果说明, 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦配伍后, 在避光条件下的3种温度情况, 8 h内配伍液的

表5 两药配伍不同时刻的不溶性微粒数

Tab 5 The number of insoluble particles of mixture at different time points

时间, h	注射用单磷酸阿糖腺苷		阿昔洛韦注射液		注射用单磷酸阿糖腺苷+阿昔洛韦注射液	
	≥10 μm	≥25 μm	≥10 μm	≥25 μm	≥10 μm	≥25 μm
0	8.2	0.5	7.7	0.1	15.3	0.5
1	8.3	0.3	8.2	0.3	16.2	0.4
2	7.3	0.4	5.6	0.2	12.6	0.6
4	5.5	0.5	5.1	0.3	10.7	0.7
6	4.8	0.5	4.3	0.3	8.9	0.8
8	3.4	0.1	3.8	0.5	6.7	0.5
24	4.2	0.3	3.2	0.2	7.1	0.6

pH、外观及不溶性微粒均无明显变化, 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的百分含量也没有明显下降; 而在光照条件下, 随着温度的升高, 放置时间的延长, 配伍液中阿昔洛韦的含量下降较为明显(4 h后), 可见在影响单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦配伍变化的因素中, 光照是最主要的。考虑到配伍液中阿昔洛韦的相对含量有下降趋势, 为保障临床用药的安全性, 建议临床最好在单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦配伍后的4 h内滴完, 且尽量避光。

色谱条件的选择方面, 综合考虑单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦各自含量测定项下的流动相比, 我们最终选择水(含6.8 g磷酸二氢钾与10%四丁基氢氧化铵15 ml, 加水至1 000 ml)-甲醇(85:15, V/V)(单磷酸阿糖腺苷含量测定项下的流动相条件)作为本试验的流动相。当选择阿昔洛韦含量测定项下的流动相条件[甲醇-水(10:90, V/V)]测试时, 色谱图中出现了很多不明杂质峰, 且单磷酸阿糖腺苷的峰型不好, 拖尾较严重, 对称因子超出规定范围。

检测波长的选择方面, 从图1、2可以看出, 当检测波长为258 nm(单磷酸阿糖腺苷的最大紫外吸收)时, 单磷酸阿糖腺苷与阿昔洛韦的峰型较好, 分离度符合要求, 且色谱图中没有明显的杂峰; 而当检测波长为254 nm(阿昔洛韦的最大紫外吸收)时, 色谱图中出现了多个不明杂峰。这可能是阿昔洛韦中有关杂质的吸收引起的, 但阿昔洛韦在254 nm波长处的峰面积明显大于在258 nm波长处的峰面积, 可见当两者共存时, 可采用双波长检测法分别测定二者在不同波长处的峰面积, 以外标法定量; 也可采用单波长(258 nm)检测。

参考文献

- [1] 徐元芹, 陈真真, 徐静. 单磷酸阿糖腺苷治疗疱疹性咽峡炎效果观察[J]. 青岛大学医学院学报, 2012, 48(6): 498.
- [2] 李卫红, 范团起. 阿昔洛韦联合单磷酸阿糖腺苷治疗带状疱疹74例疗效观察[J]. 山东医药, 2009, 5(15): 98.
- [3] 王嫒嫒, 张少华. 阿糖胞苷与7种输液配伍的稳定性[J]. 西北药学杂志, 2000, 4(15): 164.
- [4] 张碧玫, 李娟. 阿昔洛韦与3种注射液配伍稳定性试验[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(4): 373.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 国家食品药品监督管理局标准: YBH40032005[S]. 2005.
- [6] 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: 附录IXC: 71.

(收稿日期: 2015-03-03 修回日期 2015-12-08)

(编辑: 李 劲)