

注射用乌司他丁与2种常用溶剂在输液泵中的配伍稳定性考察[△]

林淑瑜*, 甘惠贞, 李玉堂, 潘丹婷, 陈志民[#](解放军第180医院药学科, 福建泉州 362000)

中图分类号 R969.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)08-1041-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.08.09

摘要 目的:考察注射用乌司他丁与2种常用溶剂在输液泵中的配伍稳定性。方法:将注射用乌司他丁500 000单位分别与0.9%氯化钠注射液和5%葡萄糖注射液各50 mL配伍后,分别在25℃和37℃下于0、1、2、4、8、12、24 h时观察配伍液的外观变化,测定其pH值和不溶性微粒数,采用高效液相凝胶过滤色谱法测定配伍液中乌司他丁的相对百分含量。结果:在上述条件下,配伍液在24 h内外观和pH值均无明显变化; $\geq 10\ \mu\text{m}$ 的微粒数 < 25 粒/mL, $\geq 25\ \mu\text{m}$ 的微粒数 < 3 粒/mL,均符合药典标准;乌司他丁在24 h内各时间点的相对百分含量为99.45%~102.55%。结论:注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液配伍后,在25℃和37℃条件下,24 h内保持稳定,可在输液泵中持续给药。

关键词 乌司他丁;高效液相凝胶过滤色谱法;含量;配伍;稳定性;输液泵

Study on Compatibility Stability of Ulinastatin for Injection with 2 Commonly Used Solvents in the Infusion Pump

LIN Shuyu, GAN Huizhen, LI Yutang, PAN Danting, CHEN Zhimin (Dept. of Pharmacy, No. 180 Hospital of PLA, Fujian Quanzhou 362000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the compatibility stability of Ulinastatin for injection with 2 commonly used solvents in the infusion pump. METHODS: After Ulinastatin for injection 500 000 U was respectively added into 0.9% Sodium chloride injection and 5% Glucose injection 50 mL, the appearance of the mixture at 25℃, 37℃ were observed at 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h, respectively. pH value and the number of insoluble particles were measured. The relative percentage of ulinastatin in the mixture was determined by HPGFC. RESULTS: Under this condition, the appearance and pH value of the mixture had no significant change within 24 h; the number of particles $\geq 10\ \mu\text{m}$ was lower than 25 particle/mL, and that $\geq 25\ \mu\text{m}$ was lower than 3 particle/mL, which was in line with the pharmacopeia standard. The relative percentage of ulinastatin within 24 h ranged 99.45% -102.55%. CONCLUSIONS: After mixed with 0.9% Sodium chloride injection and 5% Glucose injection, Ulinastatin for injection keep stable within 24 h at 25℃, 37℃ and can be used for continuous administration in the infusion pump.

KEYWORDS Ulinastatin; HPGFC; Content; Compatibility; Stability; Infusion pump

乌司他丁是由肝脏分泌的、具有广谱蛋白酶抑制作用的糖蛋白,属于人体内源性抗炎物质。乌司他丁可抑制胰蛋白酶、 α -糜蛋白酶和粒细胞弹性蛋白酶等多种蛋白水解酶的活性,促进酶的降解,在临床上广泛应用于急/慢性胰腺炎的治疗、各种休克或大手术时的脏器功能保护及脓毒血症患者凝血功能的改善^[1-5]。应用注射用乌司他丁治疗急性胰腺炎时,其药品说明书推荐静脉滴注1~2 h;但该药的消除半衰期约为40 min,故给药完成时药物可能已被代谢完全。为了维持患者体内的有效血药浓度,并结合输液泵方便、快速和流量可控等特点,临床常以输液泵24 h输注的方式给药。而注射用乌司他丁在不同溶剂中的配伍稳定性如何、配伍液可放置多

长时间而不影响其治疗效果等问题均未见相关报道。鉴于此,本研究采用高效液相凝胶过滤色谱法考察注射用乌司他丁在0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液中的配伍稳定性,为临床合理用药提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Ultimate 3000型高效液相色谱仪(戴安中国有限公司);JA2003型电子分析天平(上海方瑞仪器有限公司);ZWJ-4C型不溶性微粒检测仪(天津医疗器械研究所);PHS-3C型pH计(上海诚宁环保科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

乌司他丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号:140785-201001,纯度: $\geq 99\%$);注射用乌司他丁(广东天普生化医药股份有限公司,批号:H031304023,规格:100 000单位);5%葡萄糖注射液(华仁药业股份有限公司,批号:G1503041,规格:100 mL:5 g);0.9%氯化钠注

[△] 基金项目:解放军第180医院医院基金课题项目(No.11D3007)

* 药师。研究方向:药物临床应用。电话:0595-28929536。E-mail: yidalsy2005@163.com

[#] 通信作者:主管药师。研究方向:医院药事管理。电话:0595-28919531。E-mail: 13313835566@163.com

射液(四川太平洋药业有限责任公司,批号:B1504192,规格:100 mL:0.9 g);乙腈、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠均为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 配伍液的制备

模拟临床常用给药剂量^[6-7],取注射用乌司他丁各500 000单位分别与0.9%氯化钠注射液50 mL、5%葡萄糖注射液50 mL混合,置于输液泵中,混匀,即得质量浓度均为10 000单位/mL的配伍液。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:TSK-GEL G3000SWxL凝胶色谱柱(300 mm×7.8 mm,5 μm);流动相:0.001 mol/L磷酸二氢钠-0.001 mol/L磷酸氢二钠混合溶液(39:61,V/V)-乙腈(90:10,V/V);流速:0.7 mL/min;柱温:25 ℃;检测波长:280 nm;进样量:20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取乌司他丁对照品100 000单位,置5 mL量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,得质量浓度为20 000单位/mL的对照品溶液,避光、室温下保存。

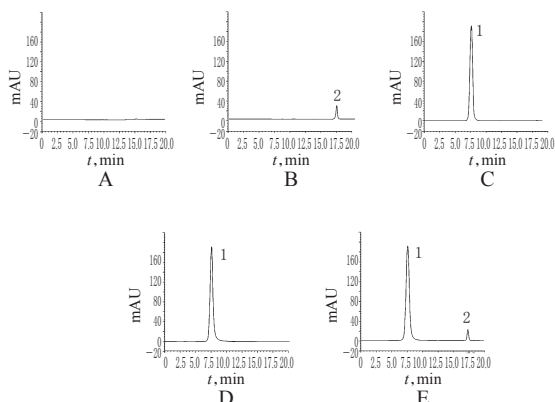
2.2.3 供试品溶液的制备 取“2.1”项下的配伍液适量,用0.22 μm微孔滤膜滤过,续滤液即为供试品溶液。

2.2.4 专属性考察 取0.9%氯化钠注射液和5%葡萄糖注射液各适量,经0.22 μm微孔滤膜滤过后,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,得色谱图1A和1B;精密量取“2.2.2”项下乌司他丁对照品溶液适量,经0.22 μm微孔滤膜滤过后,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,得色谱图1C;取“2.2.3”项下供试品溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,得色谱图1D和1E。结果表明,在此色谱条件下,乌司他丁的保留时间约为7.68 min,且其含量测定不受干扰。

2.2.5 标准曲线的绘制 精密吸取乌司他丁对照品溶液适量,分别用流动相稀释,配制成质量浓度为375.0、750.0、1 500.0、3 000.0、6 000.0、12 000.0单位/mL的系列溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以待测物质量浓度(x)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $A=0.265 2x-0.048 7$ ($r=0.999 9, n=3$)。结果表明,乌司他丁质量浓度在375.0~12 000.0单位/mL范围内线性关系良好。

2.2.6 精密度试验 配制低、中、高质量浓度(800、6 000、10 000单位/mL)的样品溶液各3份,按“2.2.1”项下色谱条件重复测定6次,连续测定5 d,记录峰面积,考察精密度。结果显示,各样品溶液的日内RSD分别为0.57%、0.46%、0.88%,日间RSD分别为0.62%、0.68%、0.92%,表明精密度良好。

2.2.7 重复性试验 配制低、中、高质量浓度(800、6 000、10 000单位/mL)的样品溶液各3份,各样品平行测定6



A. 0.9%氯化钠注射液; B. 5%葡萄糖注射液; C. 乌司他丁对照品溶液; D. 注射用乌司他丁与氯化钠注射液的配伍液; E. 注射用乌司他丁与葡萄糖注射液的配伍液; 1. 乌司他丁; 2. 葡萄糖

A. 0.9% Sodium chloride injection; B. 5% Glucose injection; C. ulinastatin control; D. the mixture of Ulinastatin for injection with Sodium chloride injection; E. the mixture of Ulinastatin for injection with Glucose injection; 1. ulinastatin; 2. glucose

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

次,记录峰面积,考察方法的重复性。结果显示,各样品的RSD分别为0.55%、0.74%、0.66%,表明重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取注射用乌司他丁适量,精密称定,加流动相溶解,配制成乌司他丁质量浓度为500单位/mL的溶液,取上述溶液各1 mL,共9份,分成3组,每组分别加入精密称定的不同质量乌司他丁对照品(300、5 500、9 500单位),配制成最终质量浓度分别为800、6 000、10 000单位/mL的样品溶液,取20 μL进样分析,各样品重复测定3次,计算加样回收率及RSD。结果显示,各样品的加样回收率为99.47%~99.87%,RSD<1%,详见表1。

表1 加样回收率试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Results of recovery tests($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品量,单位	加入量,单位	测得量,单位	回收率,%	RSD,%
500.1±0.8	300.1±0.3	798.9±0.5	99.83	
501.1±0.4	299.6±0.8	797.6±0.9	99.61	0.14
500.3±0.2	300.3±0.5	799.6±0.3	99.87	
499.8±1.2	5 502.6±4.2	5 987.7±3.5	99.75	
499.6±1.3	5 501.4±4.6	5 989.0±3.7	99.80	0.12
501.2±0.5	5 501.5±3.2	5 977.8±3.2	99.58	
500.3±1.8	9 501.0±5.8	9 986.2±6.0	99.85	
499.3±1.9	9 501.5±4.4	9 968.3±5.2	99.68	0.18
500.3±1.1	9 500.2±3.8	9 947.9±4.8	99.47	

2.2.9 稳定性试验 配制低、中、高质量浓度(800、6 000、10 000单位/mL)的样品溶液各3份,分别于0、2、4、6、8、24 h进样分析,考察方法的稳定性。结果显示,各样品稳定性良好,RSD分别为0.59%、0.72%、0.96%($n=3$),表明稳定性良好。

2.3 配伍稳定性试验

2.3.1 外观变化 取“2.1”项下各配伍液分别在25 ℃和

37 ℃下放置,并于0、2、4、6、8、12、24 h观察其外观变化。结果显示,各配伍液均为澄清透明液体,24 h内外观无明显变化。

2.3.2 pH值变化 取“2.1”项下各配伍液分别在25 ℃和37 ℃下放置,并于0、2、4、6、8、12、24 h采用pH计测定其pH值。结果显示,各配伍液的pH值无明显变化,RSD<1%,详见表2。

2.3.3 不溶性微粒变化 取“2.1”项下各配伍液分别在25 ℃和37 ℃下放置,并于0、2、4、6、8、12、24 h采用光阻法检查其不溶性微粒,各样品重量测定3次。判定标准参考2015年版《中国药典》,即在澄明度检查符合规定

表3 各配伍液中不溶性微粒的检查结果($\bar{x} \pm s, n=3$,粒/mL)

温度	溶剂	粒径, μm	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h
25 ℃	0.9%氯化钠注射液	≥ 10	5.52±0.31	4.21±0.23	4.13±0.33	4.42±0.15	4.62±0.27	4.81±0.45	5.80±0.43
		≥ 25	0.22±0.05	0.31±0.04	0.11±0.01	0.12±0.02	0.20±0.03	0.21±0.02	0.32±0.05
	5%葡萄糖注射液	≥ 10	8.90±0.51	5.91±0.26	3.62±0.42	4.00±0.33	4.81±0.37	4.92±0.29	6.21±0.37
		≥ 25	0.10±0.01	0.02±0.06	0.12±0.04	0.21±0.02	0.22±0.07	0.33±0.03	0.41±0.05
37 ℃	0.9%氯化钠注射液	≥ 10	2.72±0.16	2.31±0.18	1.10±0.21	1.90±0.26	3.12±0.44	3.31±0.27	3.72±0.46
		≥ 25	0.52±0.07	0.21±0.02	0.11±0.03	0.10±0.05	0.22±0.02	0.30±0.08	0.52±0.06
	5%葡萄糖注射液	≥ 10	3.82±0.56	3.61±0.33	2.60±0.41	2.80±0.23	2.71±0.16	2.92±0.36	5.52±0.21
		≥ 25	0.21±0.02	0.10±0.04	0.13±0.01	0.12±0.07	0.21±0.04	0.32±0.06	0.32±0.01

变化不大, $\geq 10 \mu\text{m}$ 的微粒数<25粒/mL, $\geq 25 \mu\text{m}$ 的微粒数<3粒/mL,均符合药典要求^[8]。

2.3.4 相对百分含量变化 取“2.1”项下各配伍液分别在25 ℃和37 ℃下放置,并于0、2、4、6、8、12、24 h采用“2.2”项下方法测定乌司他丁的质量浓度。以0 h的质量浓度为100%,换算出其他时间点的相对百分含量。结果显示,各时间点、各配伍液中乌司他丁的相对百分含量为99.45%~102.55%,RSD<1%,表明注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液配伍后,24 h内配伍稳定性良好,详见表4。

表4 注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液配伍后24 h内相对百分含量的变化

Tab 4 Relative percentage of Ulinastatin for injection after mixed with 0.9% Sodium chloride injection and 5% Glucose injection within 24 h

温度	溶剂	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	RSD, %
25 ℃	0.9%氯化钠注射液	100	102.55	102.43	102.09	102.11	102.10	101.88	0.84
	5%葡萄糖注射液	100	100.66	100.44	100.51	100.46	100.35	100.24	0.21
37 ℃	0.9%氯化钠注射液	100	101.88	101.64	101.52	101.61	101.04	100.96	0.63
	5%葡萄糖注射液	100	100.11	100.09	100.01	99.91	99.96	99.45	0.22

3 讨论

3.1 乌司他丁含量测定方法的建立

注射用乌司他丁为大分子多肽类糖蛋白,相对分子质量为67 000,是一种广谱蛋白酶抑制剂^[9]。为了能很好地分离该物质,选用TSK-GEL G3000SWxL凝胶色谱柱,该色谱柱适用于分析单分散性的生物大分子,如蛋白质、多肽等。本课题组前期进行了有关乌司他丁含量

表2 各配伍液pH值测定结果

Tab 2 Determination results of pH value for mixture

温度	溶剂	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	RSD, %
25 ℃	0.9%氯化钠注射液	6.85	6.82	6.82	6.83	6.83	6.80	6.74	0.52
	5%葡萄糖注射液	6.98	7.08	7.07	7.02	7.04	7.00	6.94	0.74
37 ℃	0.9%氯化钠注射液	6.88	6.86	6.84	6.86	6.89	6.87	6.81	0.39
	5%葡萄糖注射液	6.97	7.10	7.10	7.05	7.08	7.04	7.02	0.67

后,标示量为100 mL及以上的静脉用注射液除另有规定外,每1 mL中含 $10 \mu\text{m}$ 及以上($\geq 10 \mu\text{m}$)的微粒数不得超过25粒,含 $25 \mu\text{m}$ 及以上($\geq 25 \mu\text{m}$)的微粒数不得超过3粒^[8],详见表3。

由表3可见,24 h内各配伍液中的不溶性微粒数目

测定的方法探索^[9],为缩小峰展宽和提高柱效,在2015年版《中国药典》(取磷酸二氢钠6.90 g、磷酸氢二钠17.91 g和氯化钠8.77 g,加水800 mL溶解,调节pH值为6.8,加水至1 000 mL为流动相,流速为0.7 mL/min)^[10]的基础上调整了磷酸盐的加入量,同时增加了一定量的有机溶剂,最终将流动相确定为0.001 mol/L磷酸二氢钠-0.001 mol/L磷酸氢二钠混合溶液(39:61, V/V)-乙腈(90:10, V/V),流速为0.7 mL/min。专属性考察(见图1)结果显示,乌司他丁在该色谱条件下,保留时间约为7.68 min,且不受其他物质的干扰,故该方法可用于乌司他丁的含量测定。

3.2 注射用乌司他丁在输液泵中持续给药的稳定性

本研究所选配伍液的质量浓度主要参考我院重症医学科(ICU)患者的给药剂量(10 000单位/mL)。乌司他丁是一种糖蛋白,易受温度的影响,故本研究考察了2种温度(25 ℃和37 ℃)下配伍液的稳定性。结果表明,注射用乌司他丁分别与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液配伍后,在25 ℃和37 ℃条件下,各配伍液均为澄清透明液体,24 h内外观无明显变化;不溶性微粒数目变化不大, $\geq 10 \mu\text{m}$ 和 $\geq 25 \mu\text{m}$ 的微粒数均符合药典要求。25 ℃下,24 h内2种配伍液的pH值分别为6.74~6.85(0.9%氯化钠注射液)、6.94~7.08(5%葡萄糖注射液),RSD分别为0.52%(0.9%氯化钠注射液)和0.74%(5%葡萄糖注射液);37 ℃下,24 h内2种配伍液的pH值分别为6.81~6.89(0.9%氯化钠注射液)、6.97~7.10(5%葡萄糖注射液),RSD分别为0.39%(0.9%氯化钠注

注射液)和0.67%(5%葡萄糖注射液)。

由表4可见,24 h内各配伍液中乌司他丁的相对百分含量为99.45%~102.55%,RSD<1%,表明24 h内各配伍液的稳定性良好,可用于输液泵中24 h内持续给药。绝大多数蛋白质和酶,在低离子强度的溶液中都有较大的溶解度:如在纯水中加入少量中性盐,蛋白质的溶解度会有所增加,这是由于少量离子活动,减少了偶极分子之间极性基团的静电吸引力,增加了溶质和溶剂分子间的相互作用力^[11]。故乌司他丁与0.9%氯化钠注射液配伍后,其相对百分含量>100%,且在该溶剂中的相对百分含量高于其在5%葡萄糖注射液中的相对百分含量。对于蛋白质、酶和多肽等生物大分子,在高离子强度溶液中,温度升高,其溶解度反而减小^[11]。因此,在常温(25℃)下,注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液配伍后,其相对百分含量略高于37℃下各配伍液的相对百分含量。

3.3 注射用乌司他丁输液泵中持续给药的优势

注射用乌司他丁药品说明书的用法用量为:每次100 000单位溶于500 mL 5%葡萄糖注射液或0.9%氯化钠注射液中静脉滴注,每次1~2 h,每日1~3次。但乌司他丁的药动学特点提示,健康男性以30 000单位/mL静脉滴注给药,3 h内血药浓度直线下降,其消除半衰期为40 min,给药6 h后,给药量的24%经由尿液排出。临床应用过程中,因该药的半衰期极短,用于抢救急性胰腺炎、治疗重症肺炎或处理各类休克时,上述给药剂量难以维持患者体内的血药浓度^[12]。因此,医师将药物放置于输液泵中持续给药,以便更好地控制给药剂量和给药速度、维持患者体内的有效血药浓度。

综上所述,本研究采用高效液相凝胶色谱法对注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液在输液泵中的配伍稳定性进行研究。结果显示,在25℃和37℃下,注射用乌司他丁与0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液的配伍液(质量浓度为10 000单位/mL)均澄清透明,24 h内外观无明显变化,不溶性微粒数符合药典规定,且各配伍液的pH值、相对百分含量均保持稳定,可在输液泵中持续给药。目前,乌司他丁除用于治疗急性胰腺炎外,还可用于脓毒症、重症肺炎的治疗,各种休克的处理和肝、肾、肺等脏器功能的保护^[12-15]。由于临床用途的差异,其剂量、给药途径也有所不同,但本试验仅考察了输液泵中乌司他丁单一剂量的配伍稳定性,而未对其他剂量进行考察,有待后续研究的进一步探讨。

参考文献

- [1] 陈聪聪,柳子明,王慧华,等. 乌司他丁对大鼠肾缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中华麻醉学杂志, 2004, 24(11):828-832.
- [2] 郭华,陈昊,索冬卫. 奥曲肽联合乌司他丁治疗急性重症胰腺炎临床疗效及安全性分析[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(19):1471-1474.
- [3] Feng C, Su X, Zhou X, *et al.* Early peritoneal lavage with ulinastatin improves outcome and enhances multi-organ protection in a model of severe acute pancreatitis[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(4):1171-1177.
- [4] Lin B, Liu Y, Li T, *et al.* Ulinastatin mediates protection against vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7):7685-7693.
- [5] 王淑颖,应春晓,何许伟,等. 乌司他丁对ICU脓毒症患者凝血功能障碍的影响[J]. 中国药房, 2015, 26(29):4094-4096.
- [6] 田先雨,黄卫东,韩再萍,等. 乌司他丁辅助治疗脓毒症患儿外周血一氧化氮和诱导型一氧化氮合酶浓度变化的研究[J]. 儿科药学杂志, 2014, 20(3):1-3.
- [7] 温珍亮,马林浩. 乌司他丁对脓毒症患者降钙素原水平的影响及临床意义[J]. 现代医学卫生, 2014, 30(22):3385-3386.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:113-115.
- [9] 甘惠贞,林淑瑜,潘丹婷,等. 高效液相凝胶过滤色谱法测定注射用乌司他丁中乌司他丁的含量[J]. 医药导报, 2015, 34(6):814-816.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:82-84.
- [11] 曲萌,孙立伟,王艳双. 分子生物学实验技术[M]. 上海:第二军医大学出版社, 2012:32-33.
- [12] 曲毓平,许倍铭,张震华,等. 本院住院患者乌司他丁超说明书用药情况分析[J]. 中国新药与临床杂志, 2015, 34(8):639-642.
- [13] 张燕. 注射用乌司他丁辅助治疗小儿重症肺炎临床观察[J]. 中国药物与临床, 2014, 14(6):811-812.
- [14] 韩再萍,田先雨,麦光兴,等. 乌司他丁对脓毒性休克患儿巨噬细胞抑制因子及危重程度的影响研究[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(1):57-59.
- [15] 颜云盈,邱宝强,李梅. 乌司他丁治疗小儿脓毒症临床观察[J]. 儿科药学杂志, 2013, 19(1):90-91.

(收稿日期:2016-04-02 修回日期:2016-09-05)

(编辑:张元媛)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅