昆明学院学报　2015, 37(6):99~102　CN 53-1211/G4　ISSN 1674-5639
Journal of Kunming University

注射用脑蛋白水解物的配伍稳定性试验探究

刘向芳,刘　幸,王　璐,杨赛祯
(昆明市第三人民医院 药剂科,云南 昆明 650041)

摘要:考察注射用脑蛋白水解物在0.9%氯化钠注射液中的配伍稳定性.采用注射用脑蛋白水解物质量控制标准,测定其配伍后在室温下放置6 h内的溶液稳定性.结果显示,与配伍0 h比较,配伍液放置6 h内的质量无明显变化,表明注射用脑蛋白水解物在0.9%氯化钠注射液中配伍稳定性良好,不溶性微粒在可控范围之内.建议临床输液时,加药后必须充分溶解,有必要增加灯检,符合输液要求后方可输注.

关键词:注射用脑蛋白水解物;溶液外观;pH值;不溶性微粒;总氮;氨基酸
中图分类号:R289.1　**文献标识码**:A　**文章编号**:1674-5639(2015)06-0099-04
DOI:10.14091/j.cnki.kmxyxb.2015.06.025

Study Compatible Stability of Cerebroprotein Hydrolysate Injection

LIU Xiang-fang, LIU Xing, WANG Lu, YANG Sai-zhen
(Department of Pharmacy, The Third People's Hospital of Kunming City, Yunnan Kunming 650041, China)

Abstract: Study the compatible stability of Cerebroprotein Hydrolysate injection in 0.9% of Sodium Chloride injection with the Cerebroprotein Hydrolysate injection quality control standards, we determine after its compatible the solution stability within 6 h at room temperature. Results show that, compared with the combination of 0 h, 6 h in the mixed solution quality did not change significantly; the brain protein hydrolysate injection in 0.9% Sodium Chloride injection has good stability with insoluble particles in the controllable range. Suggestion is that for clinical transfusion, it must be fully dissolved after dosing and if necessary, to increase the inspection. It must be in accordance with the requirements before the infusion.

Key words: cerebroprotein hydrolysate injection; appearance of solution; pH value; insoluble particles; total nitrogen; amino acid

注射用脑蛋白水解物是健康猪脑经酶水解制得的无菌冻干制剂.内含有16种氨基酸,并含有少量的肽,不含蛋白质[1].本品主要用于颅脑外伤、脑血管病后遗症伴有记忆减退及注意力集中障碍的症状改善[2].昆明市某医院临床上用其稀释配伍于0.9%的氯化钠溶液进行静脉滴注,用于改善脑循环.但注射用脑蛋白水解物在0.9%氯化钠注射液中配伍稳定性如何尚未见相关报道,本文拟通过对不同时间内注射用脑蛋白水解物配伍溶液的pH值、不溶性微粒、总氮、氨基酸的变化情况进行考察,旨在明确其稳定性.

1　仪器和试药

1.1　仪器

超净工作台(上海上净有限公司);注射器(10 mL,上海双鸽实业有限公司);pH计(上海雷磁,编码QC-030);微粒检测器(天大天发,编码QC-026);水浴锅(HWS24型);福斯自动定氮仪;Waters1525型泵;Waters2487型检测器;Waters5CH型柱温箱;WatersBREEZE数据处理软件;水浴恒温器±0.1 ℃.

1.2　试剂与药品

注射用脑蛋白水解物(云南盟生药业有限公司,规格:60 mg,批号:20130809-3);0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业有限公司,规格:250 mL/瓶,批号:N13100909-1);硼砂pH9.182;邻苯二甲酸氢钾pH4.003;混合磷酸盐pH6.864(天津市科密欧化学试剂有限公司);硫酸滴定液(汕滇药有限公司,批号:20120707);硫酸铜(天津市大茂化学试剂厂,批号:20110302);硫酸钾(汕头市达

收稿日期:2015-04-13
作者简介:刘向芳(1980—),女,云南昆明人,药师,主要从事处方审核及药学研究.

濠区精细化学品有限公司,批号:2007410);16 种氨基酸对照品(中国生物制品检定所提供);AccQ-Fluor 衍生剂(6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀氨基氨基甲酸酯);AccQTag醋酸-磷酸盐缓冲液;乙腈(色谱纯).

2 方法与结果

2.1 配伍液的制备

按照静脉药物调配中心调配操作规程操作,在万级区域局部百级水平层流操作台上操作,取注射用脑蛋白水解物 1 支,加入 250 mL 0.9% 氯化钠注射液中,制备配伍液,备用(因检验需要须制备 4 份配伍液).

2.2 溶液外观及 pH 值测定

取不同时间间隔配伍液 10 mL,置于小烧杯中,用供试液淋洗电极数次,将电极浸入供试液中,轻摇供试液平衡稳定后,进行读数. 两次 pH 值的读数相差应不超过 0.1,取两次 pH 读数的平均值为其 pH 值[2],另外,用纳氏比色管观察颜色变化[3],结果见下表 1.

2.3 不溶性微粒

取各时间点的配伍液,在万级区域局部 100 级的层流净化操作台中,对其微粒进行测定,各时间点配伍液应平行测定 3 次,每次取样 5 mL,第 1 次数据不计,取后续测定结果的平均值计算[3],结果见下表 2.

表 1 供试品溶液外观及 pH 值结果

时间间隔/h	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
外观	浅黄色澄清液	浅黄色澄清液	浅黄色澄清液	浅黄色澄清液	浅黄色澄清液	浅黄色澄清液
pH 值	6.8	6.8	6.8	6.9	7.0	7.0

表 2 供试品溶液不溶性微粒测定结果

时间间隔/h	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
不溶性微粒≥10 μm/(个·mL^{-1})	1.5	1.7	2.7	2.3	3.0	3.7
不溶性微粒≥25 μm/(个·mL^{-1})	1.0	1.0	1.2	1.4	1.5	1.8

注:0.9% 氯化钠注射液的不溶性微粒检测结果为每毫升中含不溶性微粒≥10 μm 为 2 粒;≥25 μm 为 0 粒,符合规定.

2.4 总氮

2.4.1 取样

精密量取各时间点的配伍液 125 mL(约相当于含氮量 25 ~ 30 mg)[4],置于干燥的 500 mL 凯氏烧瓶中.

2.4.2 消化

在凯氏烧瓶中加入硫酸钾 10 g 和硫酸铜粉末 0.5 g,取硫酸 20 mL 沿凯氏烧瓶壁缓缓加入,再加入玻璃珠 3 粒. 在斜置为 45°的烧瓶瓶口处放置一小漏斗,将其置于可调压电炉上缓缓加热,使溶液的温度保持在沸点以下,等泡沸停止,强热至沸腾,待溶液成澄清的绿色后,继续加热 30 min,放冷[4],沿烧瓶壁缓缓加入注射用水 250 mL,摇匀,放冷.

2.4.3 蒸馏

沿瓶壁加入 75 mL 40% 的氢氧化钠溶液,自成一液层,加锌粒数粒,用氮气球将凯氏烧瓶与冷凝管连接;另取 2% 硼酸溶液 50 mL,置 500 mL 干燥锥形瓶中,加甲基红 - 溴甲酚绿指示液 10 滴,将冷凝管尖端浸入硼酸溶液液面下;轻摇凯氏烧瓶,使溶液混合均匀,加热蒸馏,至接受液的总体积为 250 mL 时,将冷凝管尖端提出液面,蒸汽冲洗约 1 min,用注射用水淋洗尖端后停止蒸馏[4].(注:蒸馏过程中不可突然降低温度,以免硼酸吸收液倒吸.)

2.4.4 滴定

馏出液用 0.05 mol/L 硫酸滴定液滴定,至溶液由蓝绿色变为灰紫色,记录 0.05 mol/L 硫酸滴定液体积,并将滴定结果用空白试验校正[4]. 每 1 mL 的 0.05 mol/L 硫酸滴定液相当于 1.401 mg 的氮.

2.4.5 空白试验

取 125 mL 注射用水置于干燥的 500 mL 凯氏烧瓶中,按照消化、蒸馏、滴定的全过程,以相同条件下做空白试验,用 0.05 mol/L 硫酸滴定液滴定至相同的终点,其读数用于校正供试品滴定的读数. 测定结果见表 3.

表 3 供试品溶液总氮质量分数

时间间隔/h	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
总氮质量分数/%	97.5	97.6	97.2	97.5	97.3	97.1

2.5　氨基酸

2.5.1　标准品溶液的制备

分别精密称取 16 种氨基酸标准品,用注射用水配制成含氮量测定 1 mg 氮的氨基酸中限值的混合标准液. 取 0.1 mL,加注射用水 0.9 mL,旋涡器混匀,得标准品溶液.

2.5.2　供试品溶液的制备

取配伍液 0.42 mL,加注射用水 0.58 mL,旋涡混匀,得供试品溶液.

2.5.3　衍生剂配制

将恒温水浴锅温度设置为 55 ℃,待温度为 55 ℃,取 AccQFluor 衍生剂 2A,轻轻弹击,确保 AccQFluor 衍生剂 2A 粉末全落在瓶底,吸取 AccQFluor 衍生稀释剂 2B 1 mL 并放掉,清洗移液器管,再吸取 AccQFluor 衍生稀释剂 2B 1 mL,加入到 AccQFluor 衍生剂 2A 的瓶中,振荡 10 s,在加热水浴器中溶解,时间不超过 10 min.

2.5.4　色谱条件

氨基酸分析柱:高效 Nora-Pak™ C_{18} 柱(3.9 mm × 150 mm,4 μm)是 AccQTag 方法的专用柱;检测波长 248 nm;流速 1 mL/min;柱温 37 ℃;流动相 A 为 AccQTag醋酸 - 磷酸盐缓冲液(由 AccQTagEluent A 浓缩制备 AccQTag 洗脱液,用前稀释 10 倍),流动相 B 为 60% 乙腈溶液,梯度洗脱系统见表 4.

2.5.5　测定法

分别取各时间点制备好供试品溶液、氨基酸标准品溶液各 20 μL 加入衍生专用管底部,放置于旋涡混旋仪中混匀,再加入 20 μL 衍生剂,封口放置 1 min,放入 55 ℃恒温水浴锅中恒温 10 min,取出衍生后的标准品溶液及供试品溶液各 5 μL 注入高效液相色谱仪中[5],记录色谱图,按外标法以峰面积计算各氨基酸的质量分数(每 1 mg(以总氮量计算)氨基酸质量分数).

2.5.6　氨基酸质量分数测定

按上述项下的方法,对本品配伍液在不同时间点进行氨基酸质量分数测定,计算结果见表 5,色谱图见图 1 ~ 图 7.

表 4　梯度洗脱程序

时间/min	流速/(mL · min^{-1})	*A*/%	*B*/%	梯度洗脱
起始	1.0	100	0	*
0.5	1.0	98	2	6
15.0	1.0	93	7	6
19.0	1.0	90	10	6
32.0	1.0	67	33	6
33.0	1.0	67	33	6
34.0	1.0	0	100	6
37.0	1.0	0	100	6
38.0	1.0	100	0	6
64.0	1.0	100	0	6

表 5　供试品溶液氨基酸测定结果　　mg/mg

时间间隔/h	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0
门冬氨酸($C_4H_7NO_4$)	0.490	0.580	0.450	0.430	0.460	0.470
谷氨酸($C_5H_9NO_4$)	0.640	0.800	0.620	0.590	0.620	0.620
丝氨酸($C_3H_7NO_3$)	0.060	0.061	0.052	0.063	0.051	0.045
组氨酸($C_6H_9N_3O_2$)	0.210	0.230	0.210	0.220	0.201	0.210
甘氨酸($C_2H_5NO_2$)	0.240	0.280	0.230	0.220	0.250	0.230
苏氨酸($C_4H_9NO_3$)	0.050	0.044	0.047	0.064	0.051	0.037
丙氨酸($C_3H_7NO_2$)	0.490	0.590	0.450	0.460	0.470	0.520
精氨酸($C_6H_{14}N_4O_2$)	0.090	0.100	0.100	0.140	0.100	0.080
缬氨酸($C_5H_{11}NO_2$)	0.301	0.380	0.320	0.290	0.320	0.380
蛋氨酸($C_{15}H_{11}NO_2S$)	0.090	0.101	0.106	0.096	0.084	0.078
色氨酸($C_{11}H_{12}N_2O_2$)	0.080	0.084	0.080	0.067	0.065	0.087
异亮氨酸($C_6H_{13}NO_2$)	0.310	0.370	0.340	0.270	0.310	0.340
苯丙氨酸($C_9H_{11}NO_2$)	0.310	0.350	0.380	0.290	0.033	0.360
亮氨酸($C_6H_{13}NO_2$)	0.960	1.140	1.000	0.830	0.950	1.040
赖氨酸($C_6H_{14}N_2O_2$)	0.920	1.160	0.910	0.800	0.890	1.190
脯氨酸($C_5H_9NO_2$)	0.320	0.380	0.310	0.320	0.360	0.350

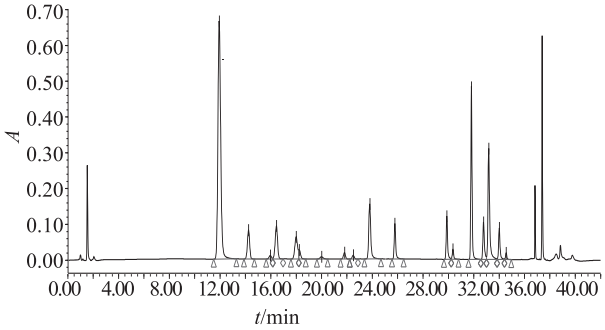

图1 氨基酸对照色谱图

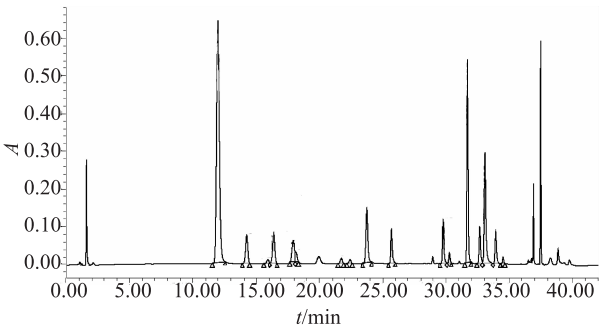

图2 供试品溶液0 h色谱图

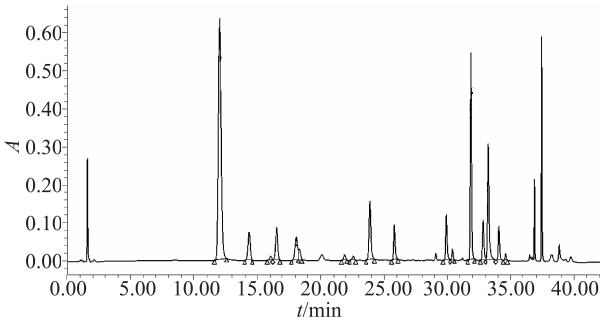

图3 供试品溶液0.5 h色谱图

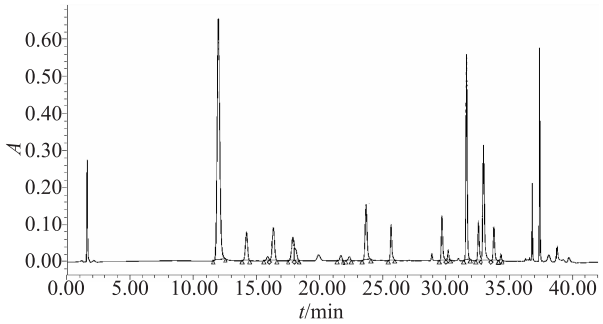

图4 供试品溶液1 h色谱图

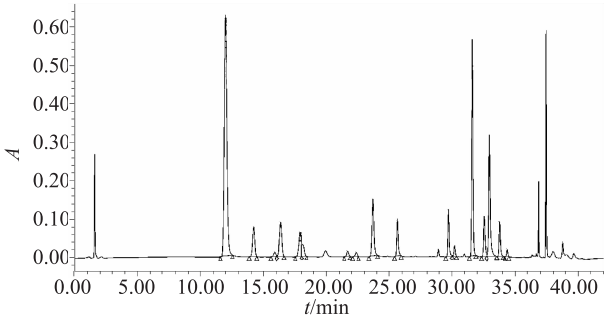

图5 供试品溶液2 h色谱图

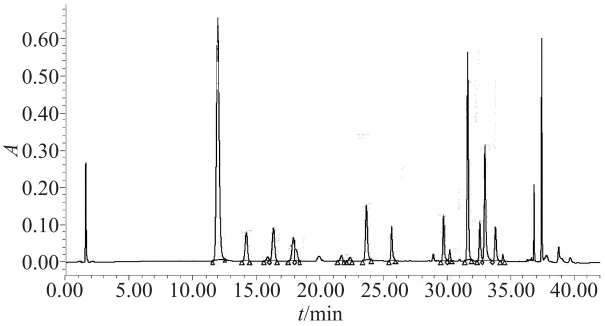

图6 供试品溶液4 h色谱图

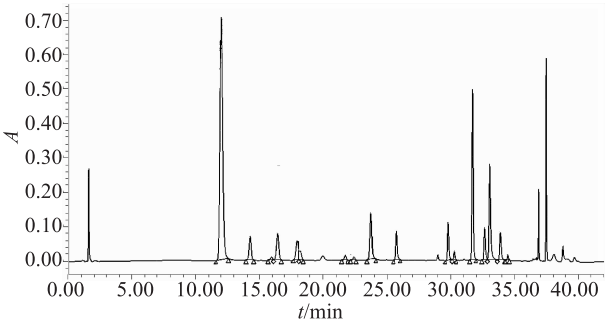

图7 供试品溶液6 h色谱图

3 讨论

0.9%氯化钠注射液中加入注射用脑蛋白水解物后,随着时间变化,不溶性微粒≥25 μm(个/mL),1 h 后微粒数有增加趋势;不溶性微粒≥10 μm(个/mL),2 h 后微粒数有增加趋势.说明微粒数的变化与粉针剂本身的因素如质量、溶解度有关,同时还与静置时间、沉降速度有关.因此,建议临床输液时,加药后必须充分溶解,有必要增加灯检,符合输液要求后方可输注.

[参考文献]

[1]王玲,陈刚.猪脑蛋白水解物注射液的多种氨基酸含量分析[J].长春中医学院学报,2002,18(9):308-310.

[2]陈新谦,金有豫,汤光.新编药物学[M].北京:人们卫生出版社,2011.

[3]国家药典委员会.中华人民共和国药典:附录ⅦD[M].北京:中国医药科技出版社,2010

[4]李云龙.中国药品检验标准操作规范[M].北京:中国医药科技出版社,2010.

[5]兰韬,王风云,唐涛,等.脑蛋白水解物中氨基酸的柱前衍生高效液相色谱测定[J].分析科学学报,2007,23(5):535-538.