

不同介质制备制霉菌素搽剂的稳定性考察及医院调剂管理

李松龙, 王琦, 王福根* (杭州市西溪医院药剂科, 杭州 310023)

摘要:目的 建立一种测定制霉菌素搽剂含量的高效液相色谱法,考察不同介质制备的制霉菌素搽剂稳定性。方法 使用0.9%氯化钠注射液、2.5%碳酸氢钠溶液、开塞露、纯甘油等制备制霉菌素搽剂,各搽剂分为2组,分别在 $(25.0\pm0.5)^{\circ}\text{C}$ 及 $(5.0\pm0.5)^{\circ}\text{C}$ 下保存,于第0,7,14,21,28 d测定制霉菌素含量,考察各搽剂药物含量稳定性。结果 4周内0.9%氯化钠、开塞露、纯甘油3种介质制备的制霉菌素搽剂含量变化不明显,测定结果分别为 $(102.2\pm1.3)\%$ 与 $(102.7\pm1.3)\%$, $(102.0\pm1.9)\%$ 与 $(103.1\pm1.3)\%$, $(99.9\pm3.3)\%$ 与 $(101.5\pm2.0)\%$;2.5%碳酸氢钠制备的制霉菌素搽剂含量变化显著,第0天测定结果为 $(85.2\pm2.1)\%$ 与 $(84.3\pm1.26)\%$,第28天测定结果为 $(59.2\pm1.7)\%$ 与 $(65.1\pm2.4)\%$ 。结论 使用0.9%氯化钠、开塞露、纯甘油3种介质制备的制霉菌素搽剂4周内含量变化不明显,必要时3种介质可相互替代,而制霉菌素在2.5%碳酸氢钠中不稳定,2.5%碳酸氢钠不能作为调剂介质使用。

关键词: 制霉菌素; 搽剂; 稳定性; 高效液相色谱法; 调剂管理

中图分类号: R944.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)23-3123-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.23.011

引用本文: 李松龙, 王琦, 王福根. 不同介质制备制霉菌素搽剂的稳定性考察及医院调剂管理[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(23): 3123-3126.

Investigation on Stability and Hospital Dispensing Management of Nysfungin Liniment Prepared with Different Media

LI Songlong, WANG Qi, WANG Fugen* (Department of Pharmacy, Xixi Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method to determine the content of nysfungin liniment, and to investigate the stability of nysfungin liniment prepared with different solvents. **METHODS** Nysfungin liniment was prepared by 0.9% sodium chloride injection, 2.5% sodium bicarbonate solution, glycerol enema and pure glycerol. Each liniment was divided into two groups and stored at $(25.0\pm0.5)^{\circ}\text{C}$ and $(5.0\pm0.5)^{\circ}\text{C}$, respectively. The content of nysfungin was determined on day 0, 7, 14, 21 and 28, and the stability of each liniment was investigated. **RESULTS** The content of nysfungin liniment prepared with 0.9% sodium chloride, glycerine enema and pure glycerol did not change significantly within 4 weeks, and the measured results were $(102.2\pm1.3)\%$ and $(102.7\pm1.3)\%$, $(102.0\pm1.9)\%$ and $(103.1\pm1.3)\%$, $(99.9\pm3.3)\%$ and $(101.5\pm2.0)\%$, respectively. The content of nysfungin liniment prepared by 2.5% sodium bicarbonate changed significantly, the measured results were $(85.2\pm2.1)\%$ and $(84.3\pm1.26)\%$ on day 0 and $(59.2\pm1.7)\%$ and $(65.1\pm2.4)\%$ on day 28. **CONCLUSION** The content of nysfungin liniment prepared with 0.9% sodium chloride, glycerine enema and pure glycerol don't change significantly within 4 weeks, and the three media can replace each other when necessary. However, nysfungin in 2.5% sodium bicarbonate was unstable and 2.5% sodium bicarbonate can not be used as a mediator.

KEYWORDS: nysfungin; liniment; stability; HPLC; dispensing management

口腔念珠菌病是口腔黏膜的一种急性、亚急性或慢性真菌疾病,又称鹅口疮,多见于儿童和免疫低下患者,主要由念珠菌感染引起,是最常见的口腔真菌感染^[1-3]。临床常局部使用制霉菌素搽剂等药物治疗^[4-7]。制霉菌素又称制霉菌素,是一种多烯类抗真菌药物,具有广谱抗真菌作用,对隐球菌、念珠菌、曲霉菌有很强的抗真菌活性,临床上用于治疗皮肤、阴道和食道念珠菌病,治疗口腔念珠菌病时常制备成制霉菌素甘油搽剂^[8]。但因制霉菌素具有共轭多烯大环内酯结构,溶液状态下稳定差^[9],目前没有

市售的口腔用制霉菌素成品制剂,一般现配现用,调剂时将制霉菌素片研碎后加入甘油中调匀供患者使用,可稳定保存3个月^[10-11],但近年来有“国药准字”的甘油获取困难,致使制霉菌素甘油搽剂的医院调剂无法进行,临床多改用含甘油开塞露、0.9%氯化钠注射液等来代替甘油,用于制备制霉菌素搽剂,因此带来了药物稳定性的不确定。基于以上临床实际,本研究考察了不同介质制备的制霉菌素搽剂稳定性,以期临床合理、有效应用制霉菌素及提高制霉菌素医院调剂管理水平提供一定参考。

基金项目: 杭州市卫生科技计划项目(A20220087)

作者简介: 李松龙,男,副主任药师 E-mail: naihan1050@163.com

*通信作者: 王福根,男,主任药师

E-mail: wfg85463955@126.com

1 仪器与试剂

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); FA2104N 型分析天平及 SL-N 型电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); DNP-9082 型电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司); HYC-940 医用冷藏箱(青岛海尔生物医疗股份有限公司)。

制霉素片(浙江震元制药有限公司, 批号: 20121; 规格: 每片 50 万 U); 0.9%氯化钠注射液(杭州民生药业股份有限公司, 批号: B2112011; 规格: 每袋 100 mL); 5%碳酸氢钠注射液(山东齐都药业有限公司, 批号: 1A21070201; 规格: 每瓶 250 mL); 含甘油开塞露(杏辉天力杭州药业有限公司, 批号: 211006; 规格: 每支 20 mL); 丙三醇(甘油, 杭州双林化工试剂厂, 分析纯, 批号: 20160223); 甲醇和乙腈为色谱纯(德国 merck)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[10-11]

Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 乙腈-水(43:57)为流动相; 流速 1 mL·min⁻¹; 进样量 10 μL; 检测波长为 306 nm; 柱温 20 ℃。

2.2 标准溶液配制

取制霉素片 20 片, 含制霉素 1 000 万 U, 精密称重为 6.543 4 g, 将上述片剂研细成粉末, 每 0.065 4 g 含制霉素 10 万 U。精密称取上述制霉素片粉末 0.130 8 g, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇适当, 振摇, 超声 10 min, 甲醇定容至刻度, 溶液过 0.22 μm 的微孔滤器, 续滤液即得含制霉素 4 000 U·mL⁻¹ 的标准液, 依次稀释成含制霉素 2 000, 1 000, 500, 250 U·mL⁻¹ 的系列标准液。将上述标准液进样测定, 记录色谱图, 见图 1。以主成分峰(1, 2, 3)的峰面积之和为 Y_1 、以浓度(U·mL⁻¹)为 X 进行线性回归, 得回归方程 A: $Y_1 = 4.676 5X + 56.583$, $R^2 = 0.999 8$; 以主成分峰 3 的峰面积为 Y_2 、以浓度(U·mL⁻¹)为 X 进行线性回归, 得回归方程 B: $Y_2 = 0.482 2X + 15.133$, $R^2 = 0.999 6$, 线性范围为 250~4 000 U·mL⁻¹。

2.3 精密度试验

取上述 2 000, 1 000, 500 U·mL⁻¹ 的制霉素标准溶液, 每份进样测定 5 次, 常温下连续测定 5 d, 按回归方程 A 计算, 结果见表 1。

2.4 回收率试验

精密称取“2.2”项下制霉素片粉末, 加入 0.9%氯化钠注射液、2.5%碳酸氢钠溶液、开塞露、甘

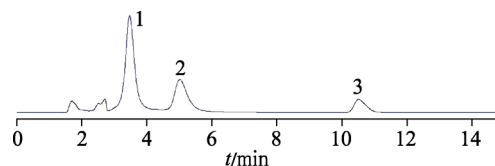


图 1 制霉素标准液色谱图(浓度 2 000 U·mL⁻¹)

1-制霉素成分峰 1; 2-制霉素成分峰 2; 3-制霉素成分峰 3。

Fig. 1 Chromatogram of standard solution for nysfungin (concentration 2 000 U·mL⁻¹)

1-nysfungin component peak 1; 2-nysfungin component peak 2; 3-nysfungin component peak 3.

表 1 精密度试验结果($n=5$)

Tab. 1 Precision test results($n=5$)

进样浓度/ U·mL ⁻¹	日内精密度		日间精密度	
	测得浓度/ U·mL ⁻¹	RSD/%	测得浓度/ U·mL ⁻¹	RSD/%
2 000	2 003.7±25.1	1.3	1 994.8±28.5	1.4
1 000	995.4±16.8	1.7	998.7±18.6	1.9
500	498.6±5.6	1.1	495.4±7.3	1.5

油各 10 mL, 分别制备 4 种介质的 50 000, 20 000, 10 000 U·mL⁻¹ 高中低浓度样品各 3 份, 充分振摇后精密吸取各样品 500 μL(甘油制样品按相对密度折算称重), 甲醇稀释至 10 mL, 过 0.22 μm 的微孔滤器, 续滤液进样测定, 记录色谱图, 按回归方程 A 与 B 计算, 结果表明, 除 2.5%碳酸氢钠组 A 方程计算值外, 其他回收率均接近 100%, 2.5%碳酸氢钠组按回归方程 A 计算的值偏低, 可能与制霉素主成分峰 1, 2 在碱性溶液中不稳定有关, 结果见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=6$)

Tab. 2 Recovery test results($n=6$)

制备 介质	进样浓度/ U·mL ⁻¹	A 方程计算结果		B 方程计算结果	
		平均回收率/ %	RSD/ %	平均回收率/ %	RSD/ %
0.9%氯 化钠	2 500	99.5	1.4	99.4	1.2
	1 000	101.2	1.6	100.3	1.7
	500	98.9	1.5	98.7	1.3
2.5%碳 酸氢钠	2 500	89.7	4.1	98.9	1.3
	1 000	88.8	5.8	102.1	1.2
	500	87.3	4.3	99.2	1.3
开塞露	2 500	100.3	1.5	99.5	1.3
	1 000	102.7	1.7	101.5	1.5
	500	99.3	1.4	99.5	1.1
纯甘油	2 500	101.9	2.1	100.6	1.9
	1 000	99.7	2.6	99.3	2.3
	500	101.3	1.8	99.7	2.0

2.5 制霉素搽剂稳定性考察

2.5.1 制霉素搽剂制备 称取“2.2”项下制霉素片粉末适量置于研钵中, 按 50 000 U·mL⁻¹ 分别加入 0.9%氯化钠注射液、2.5%碳酸氢钠溶液、开塞露、甘油, 研磨均匀后即得。

2.5.2 供试液制备 测定前将样品充分振摇均匀, 精密吸取 500 μL(甘油制样品按相对密度折算

称重), 甲醇稀释至 10 mL, 过 0.22 μm 的微孔滤器, 续滤液作为供试液(约为 2 500 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$), 供含量测定用。

2.5.3 搽剂中 3 种主要成分稳定性 按“2.5.1”项下方法制备 4 种介质的搽剂, 使制霉素浓度为 50 000 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$, 在 $(25.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 下放置, 在 0, 7, 14, 21, 28 d 按“2.5.2”项下方法制备供试液, 按“2.1”项下方法测定, 记录色谱图, 见图 2, 测定结果见表 3。主成分峰(1, 2)在碱溶液中不稳定, 含量随保存时间延长而下降(2.5%碳酸氢钠制搽剂按回归方程 A 的计算值, $\text{RSD}>10.0\%$); 主成分峰 3 稳定性好, 含量在 4 周内无明显变化(按回归方程 B 的计算值, $\text{RSD}\leq 2.9\%$)。

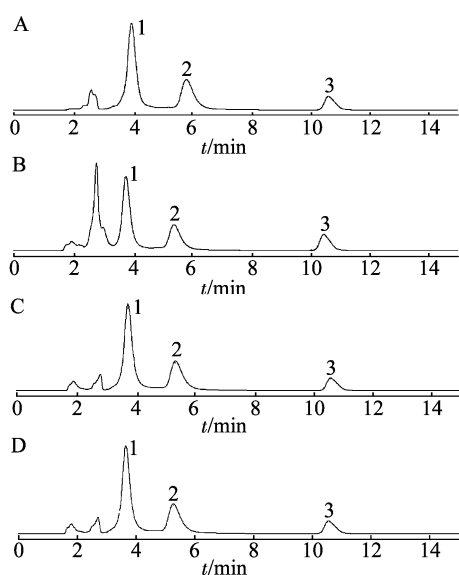


图 2 制霉素搽剂高效液相色谱图(第 28 天测定)
1—制霉素成分峰 1; 2—制霉素成分峰 2; 3—制霉素成分峰 3。A—0.9% 氯化钠制; B—2.5%碳酸氢钠制; C—开塞露制; D—纯甘油制。

Fig. 2 HPLC chromatogram of nystatin liniment(measured on day 28)

1—nystatin component peak 1; 2—nystatin component peak 2; 3—nystatin component peak 3. A—prepared with 0.9% sodium chloride; B—prepared with 2.5% sodium bicarbonate solution; C—prepared with glycerine enema; D—prepared with pure glycerol.

表 3 制霉素主成分稳定性测定结果($n=5$)

Tab. 3 Determination results of the stability of the principal component of nystatin($n=5$)

制备介质	A 方程计算结果		B 方程计算结果	
	测得浓度/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	测得浓度/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %
0.9%氯化钠	2 414.6 $\pm$ 76.3	3.2	2 426.8 $\pm$ 43.9	1.8
2.5%碳酸氢钠	1 919.8 $\pm$ 209.1	10.9	2 510.2 $\pm$ 41.0	1.7
开塞露	2 434.2 $\pm$ 80.2	3.3	2 460.6 $\pm$ 48.6	2.0
纯甘油	2 440.7 $\pm$ 89.5	3.7	2 456.9 $\pm$ 61.1	2.9

2.5.4 搽剂含量测定与稳定性评价 按“2.5.1”项下方法制备 4 种介质的制霉素搽剂, 制霉素浓度约为 50 000 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$, 每种搽剂分为 6 份, 3 份

放置在 $(25.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 下保存, 3 份放置在 $(5.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 下保存。在 0, 7, 14, 21, 28 d 按“2.5.2”项下方法制备供试液, 按“2.1”项下方法测定, 记录色谱图, 以回归方程 A 计算值/回归方程 B 计算值表示药物标示量百分含量, 结果表明, 在 $(25.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 及 $(5.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 下保存, 4 周内 0.9%氯化钠、开塞露、纯甘油 3 种介质制备的制霉素搽剂含量变化不明显, 5 次测定平均值分别为 $(102.2\pm1.3)\%$ 与 $(102.7\pm1.3)\%$, $(102.0\pm1.9)\%$ 与 $(103.1\pm1.3)\%$, $(99.9\pm3.3)\%$ 与 $(101.5\pm2.0)\%$; 2.5%碳酸氢钠制备的制霉素搽剂含量变化显著, 第 0 天测定结果为 $(85.2\pm2.1)\%$ 与 $(84.3\pm1.26)\%$, 而第 28 天测定结果则降为 $(59.2\pm 1.7)\%$ 与 $(65.1\pm2.4)\%$, 冷藏条件下测定结果稍高, 结果见图 3。

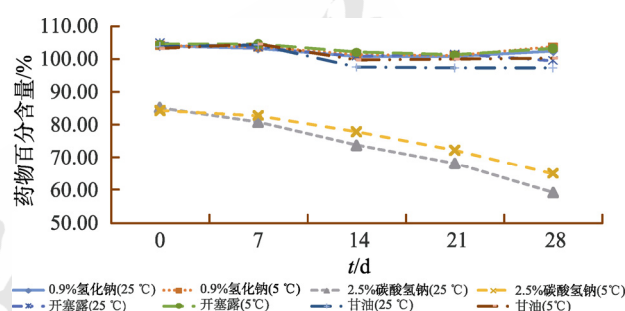


图 3 4 种介质制备的制霉素搽剂药物百分含量变化曲线($n=3$)

Fig. 3 Change curve of drug percentage of nystatin liniment adjusted by 4 kinds of media($n=3$)

2.6 医院调剂管理

“2.5”项下稳定性考察结果表明, 甘油、0.9%氯化钠注射液及开塞露(含甘油)制备的 3 种制霉素搽剂在 4 周内含量均无明显变化, 从药物稳定性方面来说, 后两者可以替代甘油使用; 而制霉素主成分含量在 2.5%碳酸氢钠中明显下降, 不宜作为调剂介质使用。药剂部门应加强医院调剂管理, 参考以上稳定性考察结果, 严格审方和处方调配管理, 采取以下措施, 确保患者安全、有效地使用制霉素搽剂。对于选用碳酸氢钠注射液配伍的处方应坚决拒绝调配, 作退方处理。

鉴于开塞露(含甘油)具有一定黏性, 制备的搽剂摇匀后药物颗粒沉降较慢, 且其含有 50%(质量比)以上的甘油, 具有一定的防腐效果, 相对而言更适合用于制备制霉素搽剂, 因此, 在药学实践中, 如甘油无法获取, 药师应优先推荐使用开塞露(含甘油)代替甘油。

制霉素搽剂应做到现配现用, 不允许药师为求方便而提前、大量配制, 如处方量大, 为提高

配方速度,减少患者等待时间,可以根据近期处方调剂情况,每天预调配最小数量,张贴药品标签,标注含量及调配日期,并保证尽快使用。同时应控制处方量,发放患者治疗所需的最小处方量,避免患者长期存放后使用。窗口药师则应做好用药交代,交代患者每次使用前需振摇均匀,使用过程中避免污染瓶中药液;对于有储存条件的患者,应建议其把搽剂存放于冰箱中冷藏,治疗结束后残余药品应丢弃。

3 讨论

制霉素甘油搽剂是治疗鹅口疮的常用药物,临床使用中有很多优点,如易于涂布、可在创面上附着较长时间等,但近年来由于医院无法在平台采购“国药准字”甘油产品,药房调剂时无药可用,导致临床使用多种溶媒替代,如使用 0.9%氯化钠注射液、开塞露(含甘油)、碳酸氢钠注射液等,但使用替代溶媒制备的搽剂能否保证制霉素在一定时间内稳定,满足治疗需要,相关研究少见。本研究通过制备 4 种常用介质的制霉素搽剂,并使用 HPLC 考察常温及冷藏放置条件下药物的含量变化,对比评价各搽剂的药物稳定性,结果显示,0.9%氯化钠注射液和开塞露(含甘油)替代甘油可保证制霉素含量稳定,而制霉素主成分含量在 2.5%碳酸氢钠溶液中下降速度快,这可能是因为制霉素具有共轭多烯大环内酯结构,在酸碱条件下易分解,故碳酸氢钠溶液不宜作为调剂介质使用。

本研究选用制霉素片作为对照品,而不是制霉素标准品,主要考虑以下几点:①因为制霉素片更容易获得、价格低;②制霉素为混合物,厂家不同、工艺不同的制霉素,其主成分的占比可能略有差异^[9]。从本研究方法学考察结果看,3 种主要成分稳定性有明显差异,选用制备搽剂的同种片剂作为对照,更能反映搽剂实际的成分变化;③中检院的制霉素标准品说明书上标注只适用于微生物效价测定用,没有适用于 HPLC 测定的品种;④本研究的目的是建立产品检测方法,追求数据精准,而是用于考察医院自制制霉素搽剂的大致稳定性,选择制霉素片作为对照品,完全能够满足研究需要。

研究中发现,制霉素片含有的 3 种主要组分中,主成分峰 1 及 2 稳定性差,随时间和介质变化而变化,特别是在碱性条件下出现分解(图 2);而主成分峰 3 稳定性好,4 周内测定值无明显变化,除在甘油介质中 RSD 为 2.9%,其余测定值 RSD 均 $\leq 2.0\%$,这可能与甘油介质涂剂取样困难有关。

鉴于 2.5%碳酸氢钠制涂剂稳定性差、0.9%氯化钠注射液和开塞露(含甘油)制涂剂沉降快、甘油制涂剂难取样,而制霉素主成分峰 3 稳定性好的特点,在涂剂稳定性考察中,采用制霉素主成分峰 3 作为内标峰,以回归方程 A 计算值/回归方程 B 计算值表示各涂剂的含量变化,能很好地解决上述问题。

本研究结果既能为临床选用合适的制霉素搽剂介质提供依据,也能为制霉素搽剂的新制剂开发提供参考。甘油虽然具有诸多优点,但缺点也很突出,如制备的制霉素搽剂只能保存 3 个月左右^[10-11],不利于上市流通;甘油黏度大,不利于患者自助均匀调配,结合本研究结果,如能使用其他介质或配方代替甘油,可开发更利于市场化的产品,如把其开发成临配型制剂等。

REFERENCES

- [1] VILA T, SULTAN A S, MONTELONGO-JAUREGUI D, et al. Oral candidiasis: A disease of opportunity[J]. J Fungi (Basel), 2020, 6(1): 15.
- [2] FANG J Y, HUANG B, DING Z. Efficacy of antifungal drugs in the treatment of oral candidiasis: A Bayesian network meta-analysis[J]. J Prosthet Dent, 2021, 125(2): 257-265.
- [3] YANG X, SUN X. Research progress on pathogenic and drug-resistance mechanism of *Candida albicans*[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(8): 1021-1024.
- [4] HELLFRITZSCH M, POTTEGARD A, PEDERSEN A J T, et al. Topical antimycotics for oral candidiasis in warfarin users[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2017, 120(4): 368-372.
- [5] ZHANG J, WANG L J, ZHANG Z L, et al. Effect of local nystatin treatment on AIDS patients with oral mucosal damage[J]. Chin J Hum Sex(中国性科学), 2020, 29(10): 132-135.
- [6] LIU H Y. Overall effect of fluconazole and nystatin in the treatment of children with thrush[J]. J Math Med(数理医药学杂志), 2019, 32(3): 424-425.
- [7] ZHAO X, GE H B, HE J, et al. Clinical effect of nystatin tablets combined with compound chlorhexidine gargle on treatment of fixed orthodontics patients with oral *Candida* infection[J]. Chin J Nosocomiology(中华医院感染学杂志), 2020, 30(9): 1385-1388.
- [8] HAN X Y, SONG Y L, BAI P, et al. Systematic classification of antifungal drugs, resistance mechanisms and development of new drugs[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(11): 1430-1436.
- [9] HE Q, ZHOU M Y, CAI S L, et al. Research advances on nysfungin biosynthesis[J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2020, 37(5): 458-465.
- [10] JIANG Z L, ZHU P, HE R. Quality control and stability of nysfungin liniment[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2010, 22(7): 18-20.
- [11] LIN Y, SHENG B Y, WANG J. Study on the stability of nystatin glycerol by HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2001, 18(6): 485-487.

收稿日期: 2022-03-28
(本文责编: 陈怡心)