

多因素多水平多指标考察注射用硝普钠与溶媒配伍的稳定性

林小明, 韦宝含, 曾毅, 韦平原, 梁汉钦, 谢伟乾, 陈明忠(广西贵港市人民医院, 广西 贵港 537100)

摘要: 目的 研究注射用硝普钠的最佳配伍方案。方法 选择温度、溶媒、溶媒用量、光照、时间 5 个影响因素, 采用 $L_{16}(4^3 \times 2^6)$ 因素水平表, 用高效液相色谱法对各样品溶液中的硝普钠含量进行测定, 用 GWF-5J 型微粒分析仪对各样品溶液中的微粒含量进行测定, 用 pH-2C 型精密酸度计对各样品溶液中的 pH 值进行测定, 并结合综合评分对注射用硝普钠的最佳配伍方案进行优选研究。结果 最佳配伍方案为硝普钠 50 mg, 溶于 250 mL 氯化钠注射液中, 避光下, 在 26 h 内用完。结论 该方案为临床用药提供了科学依据。

关键词: 硝普钠; 高效液相色谱法; 配伍

中图分类号: R969.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)07-0878-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.07.029

Stability of Nitroprusside Sodium for Injection Compatibility with Solvent Multiple Factors and Levels Multicriteria

LIN Xiaoming, WEI Baohan, ZENG Yi, WEI Pingyuan, LIANG Hanqin, XIE Weiqian, CHEN Mingzhong
(People's Hospital of Guigang City, Guigang 537100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To research the best compatibility program of nitroprusside sodium for injection. **METHODS** $L_{16}(4^3 \times 2^6)$ of orthogonal design was used with five factors: temperature, solvent, solvent dosage, illumination and time; the content of sodium nitroprusside was detected by HPLC; the insoluble particles were observed by a GWF-5J type particle analyzer; the pH were observed by a pH-2C precision acidity meter; the integrated brading method was used in selecting the optimum process. **RESULTS** The optimized processing was sodium nitroprusside 50 mg, dissolved in 250 mL sodium chloride injection, avoiding light, used in 26 h. **CONCLUSION** This scheme provides the scientific basis for the clinical medication.

KEY WORDS: sodium nitroprusside; HPLC; combination

注射用硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)是一种速效和短时作用的血管扩张药, 临床上用于高血压急症, 如高血压危象、高血压脑病、嗜铬细胞瘤手术前后阵发性高血压等的紧急降压, 也用于外科麻醉期间进行控制性降压。此外, 也可用于急性心力衰竭, 包括急性肺水肿; 亦用于急性心肌梗死或瓣膜关闭不全时的急性心力衰竭^[1]。药品说明书规定静脉滴注时应加入 5%葡萄糖注射液(GS)中静滴, 溶液内不宜加入其他药品。而临床使用过程中, 因治疗需要, 经常使用氯化钠注射液(NS)作其溶媒, 但 NS 是否可以作为 SNP 的溶媒未见有报道。本实验以溶液中的 SNP 和微粒(10, 25 μm)含量以及 pH 变化值(ΔpH)为指标, 采用正交试验, 选择温度、溶媒、溶媒用量、光照、时间 5 个因素, 温度选择 3 个水平, 时间因素选择 4

个水平, 其余各因素选择 2 个水平, 并考察 $A \times D$ 交互作用, 因素水平表见表 1。选用 $L_{16}(4^3 \times 2^6)$ 正交表进行试验, 最后选择较合理的配伍条件, 为临床用药及相关部门制定正确的用法用量提供科学依据。

表 1 因素水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	因素				
	A (温度/ $^{\circ}\text{C}$)	B (放置时/h)	C (溶媒用量/mL)	D (光照)	E (溶媒)
1	5	2	250	避光	NS
2	25	4	1000	不避光	5%GS
3	35	12			
4	35	26			

1 仪器与试药

SSI1500 高效液相色谱仪(美国 Scientific

基金项目: 广西贵港市科技攻关项目(20130528)

作者简介: 林小明, 男, 副主任药师 Tel: (775)4200310 E-mail: lxm168@126.com

Systems Inc); GWF-5J 型微粒分析仪(天河医疗器械设备有限公司); pHs-2C 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂); DK-8D 型电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司)。

SNP(晋城海斯制药有限公司, 规格: 50 mg, 批号: 20120501); 5%GS(规格: 250, 500 mL, 批号: H12051506, L12101908)、NS(规格: 250, 500 mL, 批号: L13051512, L13031704), 均购自广西裕源药业有限公司; 硝普钠对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 101137-201101, 纯度: 99.5%); 甲醇为色谱纯; 硫酸氢铵四丁基为色谱纯; 磷酸氢二钠、磷酸等为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试验用水制备

取注射用水, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 初滤液弃去, 得试验用水。经检测符合中国药典 2010 版微粒检查用水有关规定。

2.2 试验用具准备

于层流净化台上将试验用具用试验用水冲洗至洁净, 备用。

2.3 样品溶液制备

在层流净化台上进行配制。取 SNP 16 支等分成 16 份, 分别用相应规定的溶媒 5 mL 溶解, 并转入规定的量瓶(避光用棕色, 未避光用透明无色)中, 再加入相应的溶媒至刻度, 摇匀。每号试验做 3 次, 共制备 48 份样品溶液。

2.4 不溶性微粒检查^[2]Appendix IX: 1-5。

用 GWF-5J 型微粒分析仪测定溶液样品: 取样品, 于层流净化台上, 用试验水将量瓶表面洗净, 小心翻转 20 次, 立即小心打开瓶塞, 先倒出部分样品溶液冲洗瓶口及取样杯, 再将样品溶液(约 50 mL)倒入取样杯中, 静置 2 min, 置于取样器上。按“药典标准”键, 开启搅拌, 搅拌速度为 300 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 再按“5 mL”键, 仪器自动进行 3 次检测, 通道指示灯停止闪烁时, 按动“选择”键查看 $\geq 10 \mu\text{m}$ 、 $\geq 25 \mu\text{m}$ 两个通道的检测结果, 并记录。

SNP 样品: 取样品 4 支, 于层流净化台上用试验水将容器表面洗净, 小心开启瓶盖, 分别精密加入 5 mL 试验用水, 缓缓振摇使内容物溶解, 静置 2 min, 调节样品台位置, 移开搅拌器, 将进样吸管插入样品容器中, 使进样吸管口距样品容器底约 1 mm。按“药典标准”键, 缓缓转动容器, 按“针剂/取消”键, 注意观察样品下落距进

样吸管口剩 1~2 mm 时, 按“暂停键”, 更换下一支样品, 连续测试完毕, 按“N/结束”键, 按动“选择”键查看 $\geq 10 \mu\text{m}$ 、 $\geq 25 \mu\text{m}$ 两个通道的检测结果, 并记录。第 1 个样品的数据不计, 取后续 3 个样品结果平均值。

2.4.1 空白试验 取试验用 SNP 和溶媒 3 瓶, 按“2.4”项下方法操作, 分别测定其不溶性微粒, 取平均值, 结果见表 2。结果表明本次试验所用药品均符合规定。

表 2 注射剂的不溶性微粒($n=3$)

Tab. 2 The insoluble particle of injection($n=3$)

不溶性微粒规格	不溶性微粒/个 $\cdot\text{mL}^{-1}$				
	SNP	5%GS (250 mL)	5%GS (500 mL)	NS (500 mL)	NS (250 mL)
$\geq 10 \mu\text{m}$	310.6	3.3	1.3	1.6	2.3
$\geq 25 \mu\text{m}$	95.3	0.6	0.6	0.3	0.3

2.4.2 样品溶液微粒测定 取“2.3”项下各样品溶液, 按“2.4”项下方法操作, 测定其不溶性微粒, 结果见表 3。

2.4.3 样品溶液 pH 值稳定性测定^[2] 用 pHs-2C 型精密酸度计测定溶液的 pH 值。测定前, 用苯二甲酸盐标准缓冲液、磷酸盐标准缓冲液对仪器进行定位、校正, 取“2.4.2”项下剩下的样品溶液依法检查其 pH 值, 并计算各样品溶液 0 h 与最终溶液的 pH 差值, 每个样品测定 3 次, 结果见表 3。

2.5 含量测定^[3-4]

2.5.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil ODS C_{18} 柱 (250 nm $\times$ 4.6 nm, 5 μm); 流动相: 0.34%硫酸氢四丁基铵与 0.284%无水磷酸氢二钠溶液(用磷酸调 pH 值至 6.0)-甲醇(50:50); 流速: 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 254 nm, 柱温: 室温。硝普钠对照品溶液、样品溶液的 HPLC 色谱图见图 1。

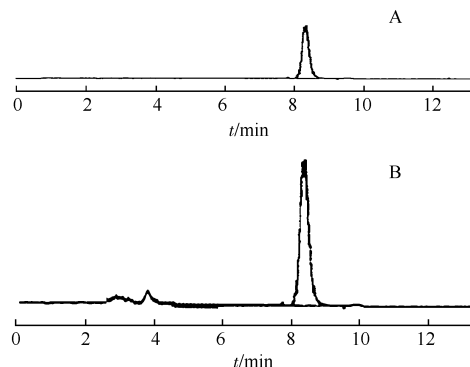


图 1 硝普钠的高效液相色谱图

A-对照品; B-样品

Fig. 1 HPLC chromatogram of sodium nitroprusside

A-reference substance; B-sample

2.5.2 标准曲线 精密吸取浓度为 $996.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的硝普钠对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 mL, 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 加试验用水至刻度, 摇匀, 按“2.5.1”项下色谱条件, 分别进样 $20 \mu\text{L}$, 测定峰面积, 以峰面积 X 对浓度 Y 回归, 得其回归方程为: $Y=1.965 \times 10^{-4}X-0.531$,

$r=0.9998$ 。硝普钠在 $9.96\sim 637.44 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内具有良好的线性关系。

2.5.3 样品测定 取“2.4.3”项下剩下的样品溶液, 各 $20 \mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪, 按“2.5.1”项下色谱条件测定其峰面积, 由线性方程计算得硝普钠含量, 结果见表 3。

表 3 正交试验结果($n=3$)

Tab. 3 Results of the orthogonal test($n=3$)

编号	AB3CDA×DE	0 h				放置规定时间								综合得分
		≥10 μm	≥25 μm	SNP (标示量%)	pH 值	≥10 μm	得分	≥25 μm	得分	SNP (标示量%)	得分	Δ pH	得分	
1	A ₁ B ₁ 1C ₁ D ₁ 111E ₁	1.3	0.6	100.00	5.58	2.1	5	0	5	100.01	10.00	0.01	5	25.00
2	A ₁ B ₂ 2C ₁ D ₁ 222E ₂	2.3	0.6	100.00	3.97	1.3	5	1.1	5	99.59	9.96	0.05	5	24.96
3	A ₁ B ₃ 3C ₂ D ₂ 112E ₂	1.0	0	100.00	3.95	28.3	3	3.0	5	70.32	7.03	0.28	3	18.03
4	A ₁ B ₄ 4C ₂ D ₂ 221E ₁	0.6	0.3	100.00	5.61	18.5	5	2.1	5	61.61	6.61	0.31	3	19.61
5	A ₂ B ₁ 2C ₂ D ₂ 121E ₂	1.6	0	100.00	3.96	27.9	3	3.3	3	90.87	9.08	0.26	3	18.08
6	A ₂ B ₂ 1C ₂ D ₂ 212E ₁	2.3	0	100.00	5.67	37.5	3	2.5	5	82.18	8.21	0.38	3	19.21
7	A ₂ B ₃ 4C ₁ D ₁ 122E ₁	2.6	0.6	100.00	5.66	2.3	5	1.3	5	100.41	10.00	0.03	5	25.00
8	A ₂ B ₄ 3C ₁ D ₁ 211E ₂	1.6	0.3	100.00	3.98	13.5	5	2.6	5	98.48	9.85	0.08	5	24.85
9	A ₃ B ₁ 3C ₁ D ₂ 222E ₁	1.3	0.3	100.00	5.60	31.9	3	2.8	5	90.95	9.10	0.29	3	20.10
10	A ₃ B ₂ 4C ₁ D ₂ 111E ₂	1.6	1.3	100.00	4.00	36.0	3	2.1	5	80.39	8.03	0.28	3	19.03
11	A ₃ B ₃ 1C ₂ D ₂ 221E ₂	1.1	0	100.00	3.96	2.3	5	0	5	98.68	9.87	0.05	5	24.87
12	A ₃ B ₄ 2C ₂ D ₁ 112E ₁	2.5	0.8	100.00	5.57	1.9	5	1.1	5	99.65	9.97	0.03	5	24.97
13	A ₄ B ₁ 4C ₂ D ₁ 212E ₂	6.1	1.5	100.00	3.95	2.2	5	0.8	5	99.58	9.96	0.08	5	24.96
14	A ₄ B ₂ 3C ₂ D ₁ 121E ₁	4.2	0	100.00	5.59	2.8	5	1.5	5	99.75	9.98	0.05	5	24.98
15	A ₄ B ₃ 2C ₁ D ₂ 211E ₁	3.1	0.5	100.00	5.68	6.9	5	3.1	3	75.65	7.57	0.29	3	18.57
16	A ₄ B ₄ 1C ₁ D ₂ 122E ₂	1.6	0.8	100.00	4.01	5.8	5	4.0	5	59.63	5.96	0.68	3	18.96
	K ₁	87.60	88.14	88.04	176.47	199.59	174.05	174.62	174.99	177.44				
	K ₂	87.14	88.18	86.58	174.71	151.59	177.13	176.56	176.19	173.74				
	K ₃	88.97	86.47	87.96										
	K ₄	87.47	88.39	88.60										
	R	1.83	1.92	2.42	1.76	49.00	3.08	1.94	1.20	3.70				

2.6 评分标准

试验结果以综合评分的办法对微粒、pH 差(|Δ pH|)、SNP 含量进行评价。

评分标准的制订: 溶液中的不溶性微粒、pH 值与硝普钠的分解率有一定关联, 为了使考核指标尽可能不重叠考查, 将不溶性微粒、|Δ pH|的考核分满分定为硝普钠含量(含量=100%)指标得分的 1/2, 并根据考核结果分为: 好=5、一般=3、差=1 进行评分。综合评分标准见表 4, 综合评分结果见表 3, 方差分析见表 5。

2.7 试验结果

由表 3 可知, 对注射用硝普钠配伍溶液质量影响, 各因素影响大小为光照>溶媒>放置时间>温度>溶媒用量, 最佳搭配为 A₃B₃C₁D₁E₁。由表 5 可知, 对注射用硝普钠配伍溶液质量光照(D)有极显著影响, 溶媒(E)有显著影响, 而温度(A)、放置时间(B)、溶媒用量(C)对其无影响, 且温度和光照之间无交互作用。综合临床实际及医疗费用考虑, 得出注射用硝普钠与输液的配伍方案为: 取注射用硝普钠 50 mg, 溶于 250 mL 氯化钠注射液中, 避光下, 在 26 h 内用完能保证药品质量。

表 4 综合评分标准

Tab. 4 Integrated grading standard

评 分	5	3	1
$\geq 10\ \mu\text{m}$ 微粒/个 $\cdot\text{mL}^{-1}$	≤ 25	26~50	>50
$\geq 25\ \mu\text{m}$ 微粒/个 $\cdot\text{mL}^{-1}$	≤ 3	4~10	>10
ΔpH	≤ 0.20	0.21~1.00	>1.00
SNP 含量得分	标示量 $\%\times 10$ (>10 时, 仍取 10)		

表 5 方差分析表

Tab. 5 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P
A	0.49	3			
B	0.60	3	0.20	1.25	>0.1
C	0.20	1			
D	144.00	1	144.00	900.00	<0.01
E	0.86	1	0.86	5.38	<0.05
A $\times$ D	0.93	3	0.31	1.94	>0.1
3	0.55	3			
误差	1.24	8	0.16		

2.8 配伍方案验证试验

取注射用硝普钠 50 mg,溶于 250 mL 氯化钠注射液中,避光放置 26 h。配制 3 份样品。分别测定样品中 0 h 和 26 h 溶液的微粒($\geq 10\ \mu\text{m}$ 、 $\geq 25\ \mu\text{m}$)含量、pH 值、硝普钠含量,结果见表 6。结果表明 3 份样品综合得分均为 25 分,优选出的配伍方案重复良好性,溶液质量稳定。

表 6 验证结果

Tab. 6 Test results

验证号	时间	不溶性微粒数/ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$		$ \Delta\text{pH} $	SNP (标示量 $\%$)	综合 评分
		$\geq 10\ \mu\text{m}$	$\geq 25\ \mu\text{m}$			
1	26 h	5.2	0	0.05	99.89	25
2	26 h	6.3	0	0.04	100.21	25
3	26 h	4.3	0	0.02	99.95	25

3 讨论

硝普钠对光极敏感,不论贮藏、配制注射液和临床使用,均需严密避光。本实验结果表明,硝普钠在氯化钠注射液和 5%GS 中,在避光和 $\leq 35\ ^\circ\text{C}$ 条件下,26 h 内其溶液质量是稳定的。

硝普钠 5%GS 的 pH 值为 3~4,硝普钠 NS 溶液的 pH 值为 5~6;而注射用硝普钠水溶液的 pH 值要求为 5~7^{[2]945-946}。因此从 pH 值看,氯化钠注射液更适合作为硝普钠的溶解和稀释溶媒。本实验表明,硝普钠在 NS 中的稳定性优于 5%GS,这可能与 GS 中含有某些分解产物,如 5-羟甲基糠醛和酸性氧化物有关。本研究优选出硝普钠的最佳配伍方案为:取注射用硝普钠 50 mg,溶于 250 mL 氯化钠注射液中,在 35 $^\circ\text{C}$ 以下和避光条件下,在 26 h 内用完能保证药品质量。用氯化钠注射液作注射用硝普钠溶媒,不仅能保证硝普钠的稳定性,而且优于 5%GS,具有适用性强、广的特点,值得临床推广使用。

REFERENCES

[1] XU F H, LI J H, WANG Q, et al. The study on sodium nitroprusside for injection [J]. China Med Her(中国医药导报), 2010,17(18): 69-87.

[2] Ch.P(2010)Vol. II(中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: Appendix. IX: 1-5, 945-946.

[3] LIN X M, WEI B H, ZENG Y, et al. Determination the content of sodium nitroprusside in Sodium Nitroprusside and Sodium Chloride injection by HPLC [J]. J North Pharm(北方药学), 2013, 10(12): 11-12.

[4] LIN X M, WEI B H, ZENG Y, et al. Determination the content of sodium nitroprusside in Sodium Nitroprusside and Glucose injection by HPLC[J]. Chin J Clin Ration Drug Use(临床合理用药杂志), 2014, 7(3): 84-85.

收稿日期: 2013-09-13