

- Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2009, 26(4): 381-383.
- [3] TAN S J, CHI J P, HE Y Q, et al. Determination of hydroxysafflor yellow A in Qiangjin Jiangu powder by HPLC [J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学报), 2013, 29(5): 464-479.
- [4] YU L Q, HE X Y, HUANG Y R. Simultaneous determination of paeoniflorin, salviolic acid B and hydroxysafflor yellow A in guangxinkang granules by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(5): 561-564.
- [5] LIU H T, LEI P, LIU Y H, et al. Simultaneous determination of protocatechuic acid, chlorogenic acid and caffeic acid in herba patriniae by dual-wavelength HPLC [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(4): 611-615.
- [6] 郑敏. 双波长 HPLC 同时测定清营颗粒中绿原酸与甘草酸铵含量[J]. 天津药学, 2014, 26(2): 17-19.
- [7] QIN Q F. Determination of chlorogenic acid, forsythoside, rhein, emodin and chrysophanol in lianhuan qingwen capsules by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(2): 210-213.
- [8] ZUO X, LIU C X, YANG J X, et al. Determination of chlorogenic acid in Honeysuckle stem Honeysuckle from different sources in different harvest periods by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2015, 18(4): 682-684.
- 收稿日期: 2015-09-16

提高注射用替考拉宁澄清度和稳定性的探讨

孟玉芳, 侯国枝, 邹琦, 谭新衡(浙江医药股份有限公司新昌制药厂, 浙江 新昌 312500)

摘要: 目的 制备含有氯化钠的注射用替考拉宁, 并对其澄清度和稳定性进行考察。方法 分别采用含有多羟基的醇类、单糖类和双糖类化合物为赋形剂制备注射用替考拉宁, 考察不同辅料对澄清度的影响; 利用正交试验设计优化注射用替考拉宁冻干工艺, 考察其加速和长期稳定性。结果 处方中加入聚乙二醇 400, 采用速冻至 -50°C 后保持 3 h; 5 h 内从 -50°C 升至 -20°C 后保持 20 h; 2 h 内从 -20°C 升至 40°C 后保持 6 h 的冻干工艺能有效提高澄清度。结论 该方法制备的注射用替考拉宁澄清度良好, 质量稳定, 可以室温保存。

关键词: 注射用替考拉宁; 澄清度; 正交试验; 稳定性

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2016)03-0328-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.03.016

Study on the Improvement of Clarity and Stability for Teicoplanin for Injection

MENG Yufang, HOU Guozhi, ZOU Qi, TAN Xinheng(Zhejiang Medicine Co., Ltd., Xinchang Pharmaceutical Factory, Xinchang 312500, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the teicoplanin for injection containing sodium chloride, study the clarity and stability. **METHODS** The teicoplanin for injection including hydroxyl alcohols, monosaccharide and disaccharides compounds were prepared separately and their clarity were tested, the influence of clarity from different materials were compared. The optimization freeze-drying process were selected by orthogonal experimental design. The stability study were conducted in an accelerated testing and long-time testing. **RESULTS** The best formulation was that containing PEG400, the optimization freeze-drying process were fast frozen to -50°C and keep 3 h; 5 h from -50°C to -20°C and keep 20 h; 2 h from -20°C to 40°C and keep 6 h. **CONCLUSION** The teicoplanin for injection produced with this method has good clarity, stable quality and could be kept in room temperature.

KEY WORDS: teicoplanin for injection; clarity; orthogonal test; stability

替考拉宁又名肽可霉素(teicoplanin A_2)^[1], 是 Parenti 等于 1978 年发现的一种与万古霉素类似的新的糖肽类抗菌药物, 由游动放线菌(*Actinoplanes teichomyceticus*)产生。替考拉宁是一种多组分抗菌药物, 分子量约为 1 900, 主要由 5 个结构非常相

似的化合物 TA_{2-1} 、 TA_{2-2} 、 TA_{2-3} 、 TA_{2-4} 和 TA_{2-5} 组成(简称 TA_2), 另含有少量降解产物 TA_{3-1} 及其他杂质, 是目前临床上用于治疗多重耐药菌感染的重要抗菌药物。

替考拉宁由安万特公司研制开发, 1988 年在

作者简介: 孟玉芳, 女, 硕士, 高级工程师 Tel: (0575)86021680 E-mail: myf@xcpharma.com

德国获准上市,2000年12月由意大利安万特公司引入中国市场。安万特公司生产的注射用替考拉宁(他格适, Targocid), 辅料为氯化钠和注射用水; <25℃贮藏有效期为36个月; 临床使用配置好后为等渗溶液, 可以直接注射。目前国产注射用替考拉宁的辅料为注射用水; <10℃贮藏有效期为24个月; 注射剂溶解后为非等渗溶液, 需加入5%葡萄糖注射液或0.9%氯化钠注射液中使用。与原研制剂相比, 国产制剂存在稳定性差、临床使用不方便等缺点。

国产制剂与原研制剂最大的区别是国产制剂中不含氯化钠^{[2]916-918}, 氯化钠的加入既能满足等渗的要求, 又能提高其稳定性, 但是氯化钠加入后溶液的澄清度显著下降。采用仪器法^[3]测定澄清度, 中国药典2010年版1号浊度标准液的浊度值为3 NTU, 2号浊度标准液的浊度值为6 NTU。注射用替考拉宁中不含有氯化钠时, 浊度值为3.48 NTU, 当加入等渗量的氯化钠后, 浊度值增加至6.10 NTU。本研究考察加入含有多羟基的醇类、单糖类和双糖类化合物等赋形剂以及冻干工艺对含氯化钠的注射用替考拉宁澄清度的影响, 并将优化条件下的样品进行稳定性考察, 为提高国产注射用替考拉宁质量水平提供参考。

1 仪器与试剂

德国 Christ EPSILON 2-6D 中试型冻干机(Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH); Hach 2100AN 台式浊度仪(美国哈希公司); 梅特勒 SevenEasy S20 台式 pH 计(梅特勒-托利多国际股份有限公司); MS4002S 电子天平(METTLER TOLEDO); 岛津 LC-15C 高效液相色谱仪(日本岛津公司); SHH-SD 系列药品稳定性试验箱(上海建恒仪器有限公司)。

替考拉宁(浙江医药股份有限公司新昌制药厂, 批号: 306T141006); 聚乙二醇 400(南京威尔化工有限公司, 批号: 20120402); 甘露醇(广西南宁化学用料厂, 批号: F855A); 丙二醇(南京威尔化工有限公司, 批号: 20120404); 无水葡萄糖(山东西王药业有限公司, 批号: 20140306); 乳糖(邢台精品药业有限公司, 批号: 131101); 高效液相试剂为色谱纯, 均由浙东特种试剂有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 样品制备

精密称取替考拉宁 5.00 g、氯化钠 0.45 g, 注

射用水加至 100 mL, 用 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液调整 pH 至 7.2~7.8, 0.22 μm 滤膜过滤, 以每瓶 4 mL 分装于西林瓶中, 按冻干曲线冷冻干燥即得。

2.2 澄清度检查法

采用 Hach 2100AN 台式浊度仪进行测定。取冻干后的样品 6 瓶, 加注射用水配制成每 1 mL 含约 50 mg 的溶液^[3]。2100AN 台式浊度仪用标准液校正合格后, 加入配制好的溶液进行测定。

2.3 替考拉宁组分测定^{[2]916-918}

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo Scientific ODS 柱(5 μm, 4.6 mm×250 mm); 以二水合磷酸二氢钠 7.8 g, 加高纯水约 1 650 mL 使溶解, 加乙腈 300 mL, 用氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6.0, 加水稀释至 2 000 mL 为流动相 A。以二水合磷酸二氢钠 7.8 g, 加高纯水约 550 mL 使溶解, 加乙腈 1 400 mL, 用氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6.0, 加水稀释至 2 000 mL 为流动相 B; 进样体积为 20 μL; 流速为 1.8 mL·min⁻¹; 检测波长为 254 nm; 梯度洗脱程序如下: 0~32 min, 100%A→70%A; 32~40 min, 70%A→50%A; 40~42 min, 50%A→100%A; 42~52 min, 100%A。

2.3.2 溶液的配制 精密称取供试品 20 mg, 用水溶解并稀释至 10.0 mL, 制成供试品溶液浓度为 2 mg·mL⁻¹。

精密称取对照品 50 mg, 用水溶解并稀释至 25.0 mL, 制成对照品溶液浓度为 2 mg·mL⁻¹。

2.3.3 系统适用性 取对照品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 替考拉宁 TA_{2,2} 组分峰的保留时间约 24 min, 各组分的出峰顺序及相对保留时间见表 1。

表 1 替考拉宁各组分峰的出峰顺序及相对保留时间

Tab. 1 Peak elution order and RRT for each component of teicoplanin

组分名称	相对于 TA _{2,2} 的保留时间(RRT)
TA ₃ 组份	RRT≤0.42
TA _{3,1}	约 0.29
TA ₂ 组份	0.42<RRT≤1.25
TA _{2,1}	约 0.91
TA _{2,2}	1.00
TA _{2,3}	1.04
TA _{2,4}	1.17
TA _{2,5}	1.20
其他组分	RRT>1.25

拖尾因子以 TA_{3-1} 计算 ≤ 2.2 , 重复进样 3 次, 以 TA_{2-2} 峰面积计算, 相对标准偏差 $\leq 2.0\%$ 。

2.3.4 组分测定 取供试品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图。替考拉宁各组分按表 1 顺序先后出峰。以 TA_{2-2} 峰的保留时间为基准, 各组分峰相对于 TA_{2-2} 峰的相对保留时间(RRT)见表 1。量取各组分峰的峰面积, 按面积归一化法计算各组分的含量。色谱图见图 1。

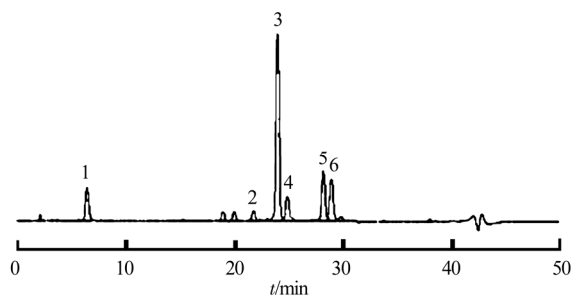


图 1 高效液相色谱图

1- TA_{3-1} ; 2- TA_{2-1} ; 3- TA_{2-2} ; 4- TA_{2-3} ; 5- TA_{2-4} ; 6- TA_{2-5} 。

Fig.1 HPLC chromatograms

1- TA_{3-1} ; 2- TA_{2-1} ; 3- TA_{2-2} ; 4- TA_{2-3} ; 5- TA_{2-4} ; 6- TA_{2-5} 。

2.4 辅料对澄清度的影响

按“2.1”项下方法制备样品, 精密称取替考拉宁 5.00 g、氯化钠 0.45 g, 分别加入不同量的聚乙二醇 400、甘露醇、丙二醇、无水葡萄糖、乳糖, 注射用水加至 100 mL, 按“2.2”项下方法检测浊度。辅料用量及加入不同辅料的浊度值见表 2。

表 2 不同辅料对澄清度的影响

Tab. 2 The impact of different excipients for clarity

辅料名称	用量/g	浊度值/NTU
聚乙二醇 400	1.00	4.53
	1.25	3.97
	1.50	4.11
甘露醇	0.20	5.44
	0.25	4.63
	0.50	4.69
丙二醇	0.50	5.81
	0.75	5.68
	1.00	5.73
无水葡萄糖	0.50	5.71
	0.75	5.51
	1.00	5.81
乳糖	0.10	5.86
	0.25	5.70
	0.50	5.83

结果表明, 含有多羟基的醇类、单糖类和双糖类化合物能提高注射用替考拉宁的澄清度。相比而言, 加入 1.25 g 聚乙二醇 400 的效果最显著,

以下研究中所有样品制备以此方法进行。

2.5 冻干工艺对澄清度的影响

注射用替考拉宁共晶点温度约 $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$, 通过正交实验设计^[4], 摸索不同预冻速度和时间、一次升华温度和时间、二次升华温度和时间对冻干复溶后浊度的影响, 正交试验因素水平见表 3。

表 3 因素水平表

Tab. 3 Factors and levels graph

水平	因素		
	A(预冻速度和时间)	B(一次升华温度和时间)	C(二次升华温度和时间)
1	速冻至 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 3 h	5 h 内从 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 20 h	2 h 内升至 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 6 h
2	1 h 内降至 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 3 h	5 h 内从 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 20 h	2 h 内升至 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 6 h
3	3 h 内降至 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 3 h	5 h 内从 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 20 h	2 h 内升至 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 6 h

参照 $L9(3^4)$ 正交表进行试验, 以冻干前后的浊度变化值作为评分标准, 具体见表 4。

表 4 $L9(3^4)$ 试验设计表

Tab. 4 Design of orthogonal test

实验号	因素			浊度差
	A	B	C	
1	1	1	1	0.39
2	1	2	2	0.10
3	1	3	3	0.03
4	2	1	2	0.43
5	2	2	3	-0.07
6	2	3	1	0.19
7	3	1	3	0.49
8	3	2	1	0.01
9	3	3	2	0.11
K_1	0.52	1.31	0.59	
K_2	0.55	0.04	0.64	
K_3	0.61	0.33	0.45	
k_1	0.173	0.437	0.197	
k_2	0.183	0.013	0.213	
k_3	0.203	0.11	0.15	
R	0.03	0.424	0.063	
主次顺序	B>C>A			
优水平	A1	B2	C3	
优组合	A1B2C3			

试验结果显示, 一次升华温度和时间对浊度值的影响最大, 预冻速度和时间对浊度值的影响最小。最佳的冻干工艺为速冻至 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后保持 3 h; 5 h 内从 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后保持 20 h; 2 h 内从 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后保持 6 h。

2.6 优化条件下样品澄清度及稳定性考察^{[2]附录 199-201}

根据“2.4”和“2.5”项下得出的最佳处方和冻干工艺参数生产含有氯化钠的注射用替考拉宁注射液,通过加速试验[(40±2)℃,RH(75±5)%]、长期试验[(25±2)℃,RH(60±5)%]考察,分别于0,3,6月取样,考察浊度、水分、替考拉宁组分等(参照中国药典2010年版执行)。结果见表5。

表5 加速试验和长期试验考察结果

Tab. 5 Results of accelerated and long-term testing

试验类别	时间/ 月	浊度/ NTU	水分/% (≤5.0%)	替考拉宁组分/%		
				TA ₂ 组份 (≥78.0%)	TA ₃ 组份 (≤17.0%)	其他组分之 和(≤5.0%)
加速试验	0	4.13	0.46	89.9	8.7	1.4
	3	4.20	1.5	88.3	10.8	0.93
	6	4.19	2.6	87.3	11.9	0.76
长期试验	0	4.13	0.46	89.9	8.7	1.4
	3	4.28	1.1	89.6	9.9	0.45
	6	4.05	1.6	89.5	9.6	0.85

采用优化条件生产含有氯化钠的注射用替考拉宁,冻干复溶后浊度值为4.13 NTU。加速和长期试验考察结果表明,随着放置时间延长,浊度值几乎无变化,水分增加,替考拉宁 TA₂ 组分之和、替考拉宁 TA₃ 组分之和、其他组分之和没有明显变化。

3 讨论

注射用替考拉宁常见规格为200 mg(20万单位),临床上以3 mL注射用水溶解后再使用,每瓶注射用替考拉宁中含有24 mg氯化钠。替考拉

宁原料含有的氯化钠量不得>5.0%,以3%计,每支注射用替考拉宁中由原料带入的氯化钠量约为6 mg,每支注射用替考拉宁需要补加的氯化钠量约为18 mg。

聚乙二醇400为常用的冻干粉针溶剂,被中国药典、FDA《非活性成分指南》收载,可用于静脉注射、关节和滑膜腔内注射。采用该方法制备的注射用替考拉宁复溶后浊度值为4.13 NTU,原研厂家安万特公司生产的200 mg规格注射用替考拉宁(他格适)复溶后浊度值为6.66~7.27 NTU,表明本研究所开发的注射用替考拉宁处方及相关冻干工艺能有效地提高注射用替考拉宁澄清度,产品质量优于原研产品。

采用该方法制备含有氯化钠的注射用替考拉宁,澄清度优于原研制剂,可以常温贮藏,具有先进性,对于商业化生产具有积极的参考意义。

REFERENCES

- [1] XIA Z Q, GU Y, GUAN J F. Study of teicoplanin-a glycopeptide antibiotic [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2005, 17(2): 247-252.
- [2] 中国药典. 二部[S]. 2010: 916-918, 附录 199-201.
- [3] 钱洪智, 徐伟, 王炫征, 等. 应用 Hach 2100AN 浊度仪测定水质浑浊度[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(11): 2706-2726.
- [4] 徐仲安, 王天宝, 李常英, 等. 正交试验设计法简介[J]. 科技情报开发与经济, 2002, 12(5): 148-150.

收稿日期: 2015-08-07

HPLC 波长转换法同时测定天麻头痛片中天麻素、欧前胡素、阿魏酸、胡薄荷酮和 11-羧基-β-乙酰乳香酸的含量

陈香玲, 陈红军* (深圳市中医院, 广东 深圳 518033)

摘要: 目的 建立同时测定天麻头痛片中天麻素、欧前胡素、阿魏酸、胡薄荷酮和 11-羧基-β-乙酰乳香酸含量的 HPLC 方法。方法 采用 Agilent Zorbax TC-C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈-0.5%磷酸溶液, 流速为 1.2 mL·min⁻¹, 梯度洗脱, 进样量为 10 μL, 柱温为 35℃。结果 天麻素、欧前胡素、阿魏酸、胡薄荷酮和 11-羧基-β-乙酰乳香酸检测浓度分别在 1.25~25.00, 0.50~10.00, 10.00~200.00, 0.50~10.00, 0.50~10.00 μg·mL⁻¹ 内与峰面积积分值呈良好的线性关系; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均≤1.0%; 平均加样回收率分别为 100.0%, 99.4%, 99.1%, 98.9%, 98.6%, RSD 分别为 1.33%, 1.38%, 0.79%, 3.12%, 1.26%(n=9)。结论 该方法简便、准确、重复性好, 可为天麻头痛片的质量控制提供实验依据。

关键词: 天麻头痛片; 天麻素; 欧前胡素; 阿魏酸; 胡薄荷酮; 11-羧基-β-乙酰乳香酸; 高效液相色谱法; 含量测定

作者简介: 陈香玲, 女, 主管中药师 Tel: 15813703200
(0755)88359666 E-mail: 577132822@qq.com

E-mail: 398011813@qq.com

*通信作者: 陈红军, 女, 副主任中药师 Tel: