

# 正交实验法优选注射用单磷酸阿糖腺苷的配伍条件

王会品(郑州市第三人民医院药剂科, 郑州 450004)

**摘要:** 目的 考察多因素对注射用单磷酸阿糖腺苷与不同溶媒配伍后稳定性的影响。方法 选择温度、光照、放置时间、溶媒、溶媒用量 5 个影响因素, 采用  $L_{18}(3^5)$  正交试验表, 以单磷酸阿糖腺苷含量、配伍液的 pH 值变化及不溶性微粒数为检测指标, 采用高效液相色谱法测定配伍液中单磷酸阿糖腺苷的含量, pHs-2C 型精密酸度计测定配伍前后 pH 值的变化, GWJ-4 型智能微粒检测仪测定溶液中微粒数。结果 配伍液的外观、性状在考察时间内均无明显变化。温度、放置时间对配伍液中单磷酸阿糖腺苷的含量有显著性影响; 光照对溶液中微粒的含量有显著性影响; 溶媒及溶媒用量对所有考察指标均无显著性影响。结论 注射用单磷酸阿糖腺苷合理配伍条件为 25 °C、白炽灯光照下与 100 mL 0.9% 氯化钠注射液配伍放置 4 h。

**关键词:** 注射用单磷酸阿糖腺苷; 配伍条件; 配伍稳定性

中图分类号: R978.7

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)10-1220-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.10.015

## Optimize the Compatibility Condition of Vidarabine Monophosphate for Injection by Orthogonal Test

WANG Huipin(Pharmacy of the Third Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate multiple factors on the compatibility stability of Vidarabine Monophosphate for Injection mixed with different solvents. **METHODS**  $L_{18}(3^5)$  of orthogonal design was used with five factors: temperature, illumination, storage time, solvent and amount of solvent. With the content of vidarabine monophosphate, pH value changes of the compatibility solution and the insoluble particles as indexes, the content of vidarabine monophosphate in the mixture was determined by HPLC, the change of pH value before and after compatibility determined by pHs-2C type precision acidity meter, the insoluble particles were observed by GWJ-4 type particle analyzer. **RESULTS** There were no significant changes in appearance and character of the mixture in the inspection time. The temperature and time showed significant effects on the contents of vidarabine monophosphate in the mixture, and illumination could influence the number of insoluble particles. The solvent and amount of solvent had no significant influence on all indexes. **CONCLUSION** The optimal compatibility conditions as follows: temperature of 25 °C, under the incandescent lights, compatibility time of 4 h, and 100 mL 0.9% sodium chloride injections as the solvent.

**KEY WORDS:** Vidarabine Monophosphate for Injection; compatibility conditions; compatible stability

单磷酸阿糖腺苷为抗脱氧核糖核酸病毒药, 其药理作用是 与病毒的脱氧核糖核酸聚合酶结合, 使其活性降低而抑制 DNA 合成。单磷酸阿糖腺苷为广谱的抗病毒药, 临床主要用于治疗慢性乙型肝炎和其他病毒性感染如带状疱疹、单纯疱疹、生殖器疱疹等, 此外在 手足口病及儿童水痘方面也有一定的疗效<sup>[1-2]</sup>。

有关注射用单磷酸阿糖腺苷与溶媒配伍后稳定性研究目前主要集中于温度、放置时间对稳定性的影响<sup>[3-4]</sup>, 而忽视了溶媒种类、溶媒体积、光照条件对稳定性的影响。此外, 当多因素共同作用时, 其稳定性是否会产生新的变化, 也未见相关报道。本实验采用正交试验, 选择温度、光照、放置时间、溶媒、溶媒用量 5 个影响因素, 以单

磷酸阿糖腺苷含量、配伍液的 pH 值变化及不溶性微粒数为检测指标, 优选合理的配伍条件, 为临床安全、合理用药提供理论依据。

### 1 仪器与试剂

LC-2010A 高效液相色谱仪, LC Solution 色谱工作站(日本岛津公司); Agilent 8453 紫外可见分光光度计(美国 Agilent 公司); XS205 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); 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); VS-840-1(2) 型单人净化工作台(苏州净化设备有限公司); 狮鼎 SHB 循环水式多用真空泵(郑州长城工贸有限公司); GWJ-4 型智能微粒检测仪(天大天发科技有限公司)。

单磷酸阿糖腺苷对照品(中国药品生物制品检

作者简介: 王会品, 女, 主管药师 Tel: 13938222761 E-mail: 147689768@qq.com

定研究院,批号:140710-200401,纯度:98%);注射用单磷酸阿糖腺苷(广东先强药业,批号:140806/1,规格:0.1 g);5%葡萄糖注射液(国内某厂家,规格:100,250,500 mL);10%葡萄糖注射液(国内某厂家,规格:100,250,500 mL);0.9%氯化钠注射液(国内某厂家,规格:100,250,500 mL)。试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 实验用水制备

取注射用水,用0.45 μm微孔滤膜过滤,弃去初滤液,收集续滤液得实验用水。经检测符合中国药典2010年版微粒检查用水有关规定。

### 2.2 试验用具准备

于层流净化台上将实验用具用实验用水冲洗至洁净,备用。

### 2.3 样品溶液制备

在层流净化台上进行配制。按表1、2正交试验设计要求,精取注射用单磷酸阿糖腺苷置量瓶中,分别加0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液至刻度,摇匀,根据表2试验方案安排试验,每号试验做3次,共制备54个样品溶液。

### 2.4 外观

取洁净的20 mL具塞纳氏比色管若干支,分别加入“2.3”项下样品溶液各15 mL,用未加药的小儿电解质补给注射液作对照,在正交实验表中的各时间点分别检查外观变化。结果表明,配伍液的外观、性状在各考察时间均无明显变化,各配伍液外观均澄清透明,无颜色、气体、沉淀、浑浊产生,与未加药的小儿电解质补给注射液相比也无差异。

### 2.5 不溶性微粒

取各配伍液按中国药典2010年版二部微粒检测法中的光阻法,用GWJ-4型智能微粒检测仪检查微粒。

**2.5.1 空白试验** 取试验用注射用单磷酸阿糖腺苷和不同溶媒各3份,测定其不溶性微粒,取平均值。结果表明本次试验所用药液均符合规定。

**2.5.2 样品溶液微粒测定** 取“2.3”项下的54个样品溶液按中国药典2010年版二部微粒检测法中的光阻法进行不溶性微粒测定<sup>[5]</sup>,每个样品重复测定5次取平均值。

**2.6 样品溶液pH稳定性测定** 按照中国药典2010年版(一部)附录VII G pH测定法检查“2.3”项

下各样品溶液的pH,及其混合后0 h的pH,每个样本连测3次,取平均值,并进行比较,计算其差值。

### 2.7 含量测定<sup>[3]</sup>

**2.7.1 色谱条件** 流动相:水(含6.8 g磷酸二氢钾与15 mL四丁基氢氧化铵10%加至1 000 mL)-甲醇(85:15);柱温:室温;流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量:20 μL。

**2.7.2 测定波长的选择** 称取单磷酸阿糖腺苷对照品适量,加流动相稀释后,在200~400 nm内扫描,结果单磷酸阿糖腺苷在258 nm处有最大吸收。

**2.7.3 标准曲线的绘制** 精密称取单磷酸阿糖腺苷对照品100 mg于10 mL量瓶中加流动相至刻度。分别取上述对照品溶液0.5,4,5,6,8,10 mL于100 mL量瓶中加流动相至刻度,配成系列浓度的单磷酸阿糖腺苷的对照溶液。按“2.6.1”项下的色谱条件分别进样测定,以峰面积 $A$ 为纵坐标,浓度 $C$ 为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=6.79 \times 10^5 C - 325$ , $r=0.9998(n=6)$ ,结果表明单磷酸阿糖腺苷在50~1 000 μg·mL<sup>-1</sup>内呈良好的线性关系。

**2.7.4 仪器精密度试验** 配制单磷酸阿糖腺苷低(400 μg·mL<sup>-1</sup>)、中(500 μg·mL<sup>-1</sup>)、高(600 μg·mL<sup>-1</sup>)系列浓度的对照品溶液,重复进样20 μL( $n=9$ ),考察其仪器精密度。结果低、中、高浓度的单磷酸阿糖腺苷峰面积的RSD分别为:0.92%,0.51%,0.19%。

**2.7.5 稳定性试验** 取“2.6.3”项下浓度为500 μg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液,分别于0,1.0,2.0,3.0,5.0,6.0,8.0 h进样测定峰面积,RSD为1.17%( $n=7$ ),结果表明,单磷酸阿糖腺苷在8 h内稳定性良好。

**2.7.6 回收率试验** 取“2.6.4”项下配制的单磷酸阿糖腺苷低(400 μg·mL<sup>-1</sup>),中(500 μg·mL<sup>-1</sup>),高(600 μg·mL<sup>-1</sup>)系列浓度的对照品溶液,每个浓度重复进样20 μL( $n=3$ ),测定其峰面积,计算回收率。结果单磷酸阿糖腺苷低、中、高浓度的平均回收率为101.0%( $n=9$ ),RSD分别为0.31%,0.55%,0.71%。

**2.7.7 配伍液中药物含量测定** 按“2.6.1”项下色谱条件和表1、2正交试验设计要求,取各条件的配伍液5 mL分别置于10 mL量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得样品溶液,取以上样品溶液分别进样20 μL,测定配伍液中药物含量。

## 2.8 正交试验

**2.8.1 因素水平确定** 以溶液中的有效成分(单磷酸阿糖腺苷)含量、微粒(10, 25  $\mu\text{m}$ )含量及 pH 值变化为指标, 采用正交试验, 选择温度、光照条件、放置时间、溶媒种类、溶媒体积 5 个因素, 每个因素又各选 3 个水平。选用  $L_{18}(3^5)$  正交试验表进行试验。

表 1 因素水平表

Tab. 1 Factors level Table

水平	因素				
	A 温度/ $^{\circ}\text{C}$	B 光照	C 时间/h	D 溶媒	E 溶媒 体积/mL
1	5	避光	0	0.9%氯化钠注射液	100
2	25	白炽灯	4	5%葡萄糖注射液	250
3	35	日光紫外线	8	10%葡萄糖注射液	500

**2.8.2 试验结果及分析** 实验结果见表 2, 对试验结果进行直观分析和方差分析, 见表 3~4。

表 2 配伍试验结果

Tab. 2 Compatibility test results

试验号	ABCDE	$\geq 10 \mu\text{m}/$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$	$\geq 25 \mu\text{m}/$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$	单磷酸阿 糖腺苷/%	$\Delta\text{pH}$
1	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	50.7	30.5	100.51	0
2	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	40.6	29.1	99.87	0.01
3	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	37.5	28.7	99.56	0.02
4	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	45.2	30.2	100.10	0
5	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	46.1	28.1	99.01	0.03
6	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	12.7	9.2	98.89	0.01
7	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	15.8	11.7	97.89	0.02
8	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	20.9	15.3	96.79	0.01
9	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	22.8	15.8	99.59	0
10	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	48.9	35.4	99.95	0.01
11	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	49.3	33.1	99.65	0
12	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	10.8	6.8	98.89	0.02
13	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	36.2	32.5	99.25	0.01
14	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	34.3	27.2	97.68	0.01
15	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	30.5	25.5	99.56	0
16	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	52.7	31.8	96.87	0.03
17	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	50.8	29.9	98.87	0
18	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	30.4	25.7	98.25	0.02

分析各因素对于实验结果的影响, 由上述表格可知, 对于  $\geq 10 \mu\text{m}$  的微粒而言, 各因素的影响大小为:  $A < E$ 、 $D < C < B$ ; 对于  $\geq 25 \mu\text{m}$  的微粒,  $C < D < A < E < B$ 。可见, 光照条件对于微粒的影响是最大的, 其中, 对于  $\geq 10 \mu\text{m}$  微粒含量有显著性影响; 放置时间对于  $\geq 10 \mu\text{m}$  的微粒含量有一定的影响, 但对于  $\geq 25 \mu\text{m}$  的微粒而言, 影响甚微; 溶媒种类和温度对  $\geq 10 \mu\text{m}$ 、 $\geq 25 \mu\text{m}$  的微粒无影响;

表 3 直观分析表

Tab. 3 Intuitive analysis table

因素	A	B	C	D	E
$\geq 10 \mu\text{m}$					
$K_1$	237.8	249.5	249.3	193.2	182.1
$\bar{K}_1$	39.6	41.6	41.6	32.2	30.4
$K_2$	205.0	242.0	179.9	200.7	222.2
$\bar{K}_2$	34.2	40.3	30.0	33.4	37.0
$K_3$	193.4	144.7	207	242.3	231.9
$\bar{K}_3$	32.2	24.1	34.5	40.4	38.6
R	7.4	17.5	11.6	8.2	8.2
$\geq 25 \mu\text{m}$					
$K_1$	163.6	172.1	165.0	137.4	124.2
$\bar{K}_1$	27.3	28.7	27.5	22.9	20.7
$K_2$	152.7	162.7	133.9	138.7	163.4
$\bar{K}_2$	25.4	27.1	22.3	23.1	27.2
$K_3$	130.2	111.7	147.6	170.4	158.9
$\bar{K}_3$	21.7	18.6	24.6	28.4	26.5
R	5.6	10.1	5.2	5.5	6.5
单磷酸阿糖腺苷					
$K_1$	598.43	594.57	598.28	596.23	593.20
$\bar{K}_1$	99.7	99.1	99.7	99.4	98.9
$K_2$	594.49	591.87	593.16	592.87	595.44
$\bar{K}_2$	99.1	98.6	98.9	98.8	99.2
$K_3$	588.26	594.74	589.74	592.08	592.54
$\bar{K}_3$	98.0	99.1	98.3	98.7	98.8
R	1.7	0.5	1.4	0.7	0.4
pH					
$K_1$	0.06	0.09	0.05	0.06	0.06
$\bar{K}_1$	0.010	0.015	0.008	0.010	0.010
$K_2$	0.07	0.04	0.1	0.07	0.05
$\bar{K}_2$	0.012	0.007	0.017	0.012	0.008
$K_3$	0.09	0.09	0.07	0.09	0.11
$\bar{K}_3$	0.015	0.015	0.012	0.015	0.018
R	0.005	0.008	0.009	0.005	0.010

溶媒体积对二者均无显著性影响。对于单磷酸阿糖腺苷的含量, 各因素的影响次序为:  $E < B < D < C < A$ 。由此可知, 温度对单磷酸阿糖腺苷含量有极显著性影响, 放置时间对单磷酸阿糖腺苷的含量也有显著性影响; 而光照条件对单磷酸阿糖腺苷的含量几乎没有影响; 溶媒种类对单磷酸阿糖腺苷含量有一定的影响, 而溶媒体积对其则无显著性影响。对于 pH 而言, 各影响因素排列顺序为  $A$ 、 $D < B < C < E$ , 可见, 溶媒体积对于 pH 的影响是最大的, 但没有显著性影响, 其他因素则对其基本无影响。

表4 方差分析表

Tab. 4 Variance analysis table

因素	离差平方和	自由度	F	P
≥10 μm	176.76	2	1.00	>0.1
	1139.25	2	6.44	<0.05
	407.78	2	2.31	<0.1
	233.20	2	1.32	>0.1
	232.34	2	13.1	>0.1
误差	1759.26	7		
≥25 μm	96.70	2	0.343	>0.1
	352.08	2	1.250	<0.1
	80.98	2	0.287	>0.1
	116.42	2	0.413	>0.1
	153.39	2	0.544	>0.1
误差	985.99	7		
单磷酸阿糖腺苷	8.765	2	0.017	<0.01
	0.864	2	0.002	>0.1
	6.158	2	0.012	<0.01
	1.619	2	0.003	<0.1
	0.770	2	0.002	>0.1
误差	1782.58	7		
ΔpH	0.000	2	0.000	>0.1
	0.000	2	0.000	>0.1
	0.001	2	0.017	>0.1
	0.000	2	0.000	>0.1
	0.000	2	0.000	>0.1
误差	0.20	7		

**2.8.3 正交试验优选结果** 经直观分析和方差分析并结合实际工作情况, 得出注射用单磷酸阿糖腺苷最佳配伍条件为温度 25 ℃、室内白炽灯照射环境、选择氯化钠注射液 100 mL 作溶媒, 时间 4 h 内滴完为好。

**2.8.4 验证试验** 按正交试验优选结果, 配制 3 份样品, 分别测定样品中 ≥10 μm、≥25 μm 微粒量, 以及单磷酸阿糖腺苷含量和 ΔpH。结果见表 5。

表5 注射用单磷酸阿糖腺苷配伍实验结果

Tab. 5 Compatibility results of Vidarabine Monophosphate for Injection

样品号	≥10 μm/ 个·mL <sup>-1</sup>	≥25 μm/ 个·mL <sup>-1</sup>	单磷酸阿糖 腺苷/%	ΔpH
1	61.7	42.3	99.28	0.01
	55.3	40.4	98.79	0.03
	52.7	43.5	100.12	0.02
2	52.7	47.3	100.21	0.02
	59.2	59.1	97.87	0.02
	48.3	43.5	99.58	0.04
3	54.3	41.3	101.27	0.02
	61.2	40.9	100.11	0.04
	49.5	52.1	99.46	0.03

以上实验结果表明, 配伍方案重复性良好, 溶液质量稳定。

### 3 讨论

由以上实验数据可知, 对于单磷酸阿糖腺苷含量而言, 温度的影响是极显著的, 导致单磷酸阿糖腺苷含量降低的温度是 35 ℃ 以上温度, 25 ℃ 以下温度对其影响甚微, 且温度对其他指标影响不显著。因此, 配伍温度选择 25 ℃。

配伍溶液中微粒含量受光照条件的影响, 其中, 对于 ≥10 μm 微粒含量有显著性影响。可能是由于光照使得配伍液中的粒子聚集所致。而光照对其他指标影响不显著。

放置时间对注射用单磷酸阿糖腺苷有效成分单磷酸阿糖腺苷的含量是有显著影响的。放置时间对于 ≥10 μm 的微粒含量也有一定的影响, 但对于 ≥25 μm 的微粒而言, 影响甚微; 经综合分析, 注射用单磷酸阿糖腺苷配伍后放置时间以 4 h 内为宜。

溶媒种类对溶液中微粒含量影响不显著, 对单磷酸阿糖腺苷含量有一定的影响。经过综合分析, 以选择氯化钠注射液作为溶媒较好。溶媒体积对于 pH 的影响是最大的, 但没有显著性影响, 其他因素则对其基本无影响。参考注射用单磷酸阿糖腺苷的说明书, 溶媒用量选择 100 mL。

综上所述, 注射用单磷酸阿糖腺苷最佳配伍条件为: 于温度 25 ℃ 室内灯光照射条件下, 将 0.1 g 注射用单磷酸阿糖腺苷溶解于 100 mL 0.9% 氯化钠注射液中, 于 4 h 内静滴完毕。本实验为临床合理用药以及国家相关部门和企业制定该药品使用法规提供了科学依据。

### REFERENCES

- [1] 文九芳. 注射用单磷酸阿糖腺苷治疗疱疹性咽峡炎的疗效观察[J]. 临床合理用药杂志 2011(24): 64-65.
- [2] 唐晓燕, 田春, 杨山, 等. 单磷酸阿糖腺苷治疗小儿支气管肺炎临床疗效观察[J]. 中国医药指南, 2012(10): 142-143.
- [3] HE J, ZHANG Y. Study on the stability of vidarabine monophosphate in pediatric electrolyte supplements injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(2): 165-168.
- [4] 陈丽娜, 金描真, 欧少英. 注射用单磷酸阿糖腺苷与盐酸利多卡因注射液配伍稳定性考察[J]. 广东药学院学报, 2000(3): 214-217.
- [5] 中国药典. 二部[S]. 2010: 附录: 99-101.

收稿日期: 2015-04-25