

注射用曲札芪苷与常用输液配伍稳定性研究^{*}

唐嘉悦^{1,2}, 方 芳², 陈云建^{2△}

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650500; 2. 昆明制药集团股份有限公司, 云南 昆明 650100)

摘要: **目的** 观察注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液在 4 种条件下配伍的稳定性。**方法** 将注射用曲札芪苷分别与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液配伍后, 放置于室温、低温 2~8℃避光、室温避光、室温强光照(4500lx±500lx)条件下。采用高效液相色谱法测定含量、降解产物, 同时测定 pH 值、外观。**结果** 注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液配伍后在低温 2~8℃避光、室温避光条件下 0~8h 内其外观、pH 值及含量、降解产物均无显著性改变。**结论** 研究提示注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液配伍后在低温 2~8℃避光、室温避光条件下较为稳定, 实验结果可供临床配伍使用参考。

关键词: 曲札芪苷; 配伍; 稳定性

中图分类号: R285.6

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)01-0023-04

曲札芪苷是从蓼科植物拉萨大黄(*Rheum lhasense* A. J. Li et P. K. Hsiao)的干燥根或根茎中提取出的有效成分之一。化学名为 3,5,3',4'-四羟基芪-3-O-β-葡萄糖苷, 属二苯乙烯苷类化合物。近年研究表明二苯乙烯苷类化合物具有抗氧化清除自由基^[1-2]、抗肿瘤^[3]、降血脂^[4-6]、抗动脉粥样硬化^[7-9]等生物活性。本文将模拟临床用法, 对注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液在 4 种条件下的配伍稳定性进行考察^[10-15]。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UltiMate 3 000 型液相色谱仪(美国戴安公司), BP221S 型电子天平(sartorius 公司), FE20 型 pH 计(梅特勒-托利多公司), KBF240 型光照箱(德国 Binder 公司), YB-2 型澄明度检测仪(天大天发科技有限公司)。

1.2 试药

注射用曲札芪苷(昆明制药集团股份有限公司, 规格: 20mg/瓶, 批号: 21021031-02); 0.9%氯化钠注射液(昆明南疆制药有限公司, 批号:

B121022D2); 5%葡萄糖注射液(昆明南疆制药有限公司, 批号: B121122); 10%葡萄糖注射液(昆明南疆制药有限公司, 批号: C121006); 曲札芪苷对照品(昆明制药集团股份有限公司, 纯度: 99.5%); 甲醇(色谱纯, SIGMA, 批号: S93191); 所有用水均为注射用水。

2 方法和结果

2.1 配伍液的配制

模拟临床用法, 各取注射用曲札芪苷 2 支(约相当于曲札芪苷 40mg) 用适量 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液溶解后, 再注入至 100mL 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液中摇匀。取配伍后的溶液分别密闭, 放置于室温、低温 2~8℃避光、室温避光、室温强光照(4 500lx±500lx) 条件下, 于 0, 2, 4, 6, 8h 进行考察。

2.2 外观

取配伍后的溶液, 按考察时间点取样, 置于澄明度检测仪下检测其澄明度, 溶液应澄清。溶液颜色依照中国药典 2010 版一部附录 XI A 第一法检测, 其溶液颜色应低于黄色 4 号标准比色液。

^{*} 基金项目: 云南省重大新产品开发计划资助项目(2013BC001)

收稿日期: 2014-11-10

作者简介: 唐嘉悦(1988-), 女, 内蒙赤峰人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 原料药及制剂质量标准的研究。

△通信作者: 陈云建, E-mail: chyjkm@163.com

2.3 降解产物

取配伍后的溶液,按考察时间点取样,作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 1mL 置于 100mL 量瓶中加入 75%甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。依照含量测定方法中的色谱条件进行检测,考察药液放置过程中主药的降解产物。

2.4 pH 值

取配伍好的溶液,按考察时间点取样,依照中国药典 2010 年第一版附录 VII G 进行检测。

2.5 含量

2.5.1 溶液的配制

2.5.1.1 对照品溶液的配制

精密称取 20mg 曲札芪苷对照品,置于 50mL 量瓶中,加入适量 75%甲醇,溶解,稀释,定容,摇匀;精密量取 1mL 置 10mL 量瓶中,加入 75%甲醇定容后摇匀。

2.5.1.2 供试品溶液的配制

按考察时间点取样,精密量取配伍液 1mL 置于 10mL 量瓶中,加入 75%甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.5.2 色谱条件

色谱柱:Cosmosil C₁₈(250mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈(A):0.1%磷酸(B),梯度洗脱 0~25min,15%~30%A,25~30min,30%~40%A,30~35min,40%~15%A,35~40min,保持 15%A 不变;流速:1.0mL/min;检测波长:319nm;进样量:10μL。理论塔板数按曲札芪苷计算应不低于 8 000。曲札芪苷的保留时间为 12.5min,色谱图如图 1。

2.5.3 方法学验证

2.5.3.1 线性关系考察

精密称取曲札芪苷对照品适量,分别稀释成浓度为 0.495, 0.990, 1.98, 7.92, 15.84, 19.80, 39.60, 99.0, 198.0, 396.0μg/mL 的溶液。精密量取 10μL 进高效液相色谱仪进行测定,以对照品的浓度(μg/

mL)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程,得到线性回归方程: $Y=43.164x+2.7561$, $r=0.999\ 9$ ($n=10$)结果表明曲札芪苷在 0.495μg/mL~396μg/mL 范围内线性关系良好。

2.5.3.2 精密度实验

精密称取注射用曲札芪苷 6 份,制备供试品溶液,记录色谱图,测定峰面积。结果:注射用曲札芪苷峰面积的相对标准偏差(RSD)为 0.034%($n=6$)。

2.5.3.3 稳定性实验

精密称取注射用曲札芪苷供试品及曲札芪苷对照品适量,分别配制成供试品溶液及对照品溶液,避光放置。分别于 0,2,8,14,24,38h 用高效液相色谱仪进行测定,考察对照品和供试品溶液的稳定性。结果:注射用曲札芪苷供试品溶液和曲札芪苷对照品溶液的峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为 0.276%、0.576%,表明其在室温避光条件放置 38h 稳定。

2.5.3.4 重复性实验

由同一分析人员精密称取注射用曲札芪苷供试品 6 份,依照含量测定项下测定,求各份供试品含量及含量的相对标准偏差,结果平行操作测定的 6 份供试品溶液含量的相对标准偏差(RSD)为 1.50%($n=6$)。

2.5.3.5 回收率实验

精密称取曲札芪苷对照品约 10mg 置于 100mL 量瓶中,溶解,稀释,定容作为对照品储备液。精密称取注射用曲札芪苷供试品约 120mg(约相当于曲札芪苷 20mg),置于 100mL 量瓶中,溶解,稀释,定容作为供试品储备液。分别精密量取供试品储备液 9 份,每份 1mL 置 10mL 量瓶中,每 3 份分别精密加入对照品储备液 1mL、2mL、5mL,稀释定容。配制成 30,40,50μg/mL 3 个水平的溶液,共 9 份。计算加样回收率分别为 100.41%,100.90%,100.64%,RSD 值分别为 1.01%,1.03%,0.98%。

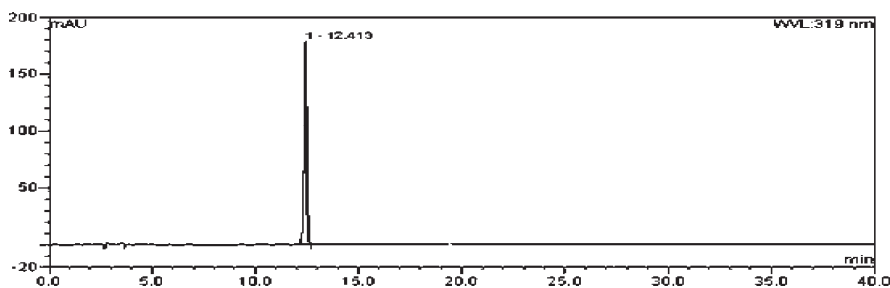


图 1 注射用曲札芪苷色谱图(曲札芪苷主峰保留时间:12.413min)

2.6 配伍稳定性实验结果

2.6.1 外观及 pH 考察

取配伍后的溶液,分别置于室温、低温 2~8℃避光、室温避光、室温强光照(4 500lx±500lx)条件下,并于 0,2,4,6,8h 分别观察其外观并测定其 pH。结果

表明:注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液配伍后在室温、低温 2~8℃避光、室温避光条件下外观均为浅黄色澄清液体,pH 均无显著性变化,在强光照室温条件下,外观也为浅黄色澄清液体,pH 有明显下降,见表 1。

表 1 注射用曲札芪苷与 3 种输液在 4 种条件下 8h 内 pH 值

配伍输液及条件	0h	2h	4h	6h	8h
0.9%氯化钠注射液在自然光室温条件下	6.02	5.98	6.00	5.89	6.01
0.9%氯化钠注射液在室温避光条件下	6.02	6.02	5.99	6.04	5.98
0.9%氯化钠注射液在室温强光照条件下	6.04	5.96	5.43	5.39	5.39
0.9%氯化钠注射液在低温 2~8℃避光条件下	6.03	6.03	6.01	5.98	6.00
5%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	6.13	6.12	6.08	6.09	6.10
5%葡萄糖注射液在室温避光条件下	6.09	6.08	6.09	6.10	6.11
5%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	6.10	6.04	6.07	6.08	6.10
5%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	6.09	6.01	5.90	5.78	5.67
10%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	6.10	6.08	6.07	6.09	6.06
10%葡萄糖注射液在室温避光条件下	6.14	6.11	6.13	6.06	6.10
10%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	6.10	5.98	5.97	5.87	5.65
10%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	6.13	6.08	6.09	6.10	6.11

2.6.2 含量测定

将配伍后的溶液,分别置于室温、低温 2~8℃避光、室温避光、室温强光照(4 500lx±500lx)条件下,并于 0,2,4,6,8h 分别测定其含量。结果表明:注射

用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、10%葡萄糖注射液、5%葡萄糖注射液配伍后在室温、低温 2~8℃避光、室温避光条件下含量均无显著性变化,在强光照室温条件下,含量有明显降低,见表 2。

表 2 注射用曲札芪苷与 3 种输液在 4 种条件下 8h 内含量测定结果

配伍输液及条件	0h(%)	2h(%)	4h(%)	6h(%)	8h(%)
0.9%氯化钠注射液在自然光室温条件下	100.61	100.23	100.38	100.49	100.36
0.9%氯化钠注射液在室温避光条件下	100.11	100.05	100.71	100.41	100.48
0.9%氯化钠注射液在室温强光照条件下	100.03	93.68	88.25	84.78	81.73
0.9%氯化钠注射液在低温 2~8℃避光条件下	100.63	100.42	100.21	100.20	100.46
5%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	100.88	99.87	100.65	100.31	99.78
5%葡萄糖注射液在室温避光条件下	100.61	100.01	100.54	100.34	100.67
5%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	100.12	99.31	101.00	100.55	100.23
5%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	100.96	97.21	92.46	89.88	87.32
10%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	100.58	100.44	100.37	100.46	100.50
10%葡萄糖注射液在室温避光条件下	100.04	100.33	100.08	100.07	100.92
10%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	99.74	97.19	93.99	91.25	89.88
10%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	100.13	100.75	100.99	100.69	100.56

2.6.3 降解产物考察

取配伍后的溶液分别置于室温、低温 2~8℃避光、室温避光、室温强光照(4 500lx±500lx)条件下,

并于 0,2,4,6,8h 分别测定其降解产物。结果表明:注射用曲札芪苷与 0.9%氯化钠注射液、10%葡萄糖注射液、5%葡萄糖注射液配伍后在低温 2~8℃避

表 3 注射用曲杞芪苣与 3 种输液在 4 种条件下 8h 内降解产物测定结果

配伍输液及条件	0h (%)	2h (%)	4h (%)	6h (%)	8h (%)
0.9%氯化钠注射液在自然光室温条件下	0.65	0.77	0.88	0.90	0.97
0.9%氯化钠注射液在室温避光条件下	0.57	0.64	0.66	0.68	0.64
0.9%氯化钠注射液在室温强光照条件下	0.68	1.97	3.46	5.00	6.47
0.9%氯化钠注射液在低温 2~8℃避光条件下	0.65	0.66	0.68	0.69	0.66
5%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	0.63	0.72	0.89	0.90	0.94
5%葡萄糖注射液在室温避光条件下	0.67	0.66	0.66	0.68	0.64
5%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	0.61	0.66	0.68	0.69	0.66
5%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	0.69	1.87	3.66	5.13	6.87
10%葡萄糖注射液在自然光室温条件下	0.64	0.79	0.79	0.93	0.97
10%葡萄糖注射液在室温避光条件下	0.67	0.64	0.65	0.61	0.64
10%葡萄糖注射液在室温强光照条件下	0.71	2.01	4.12	5.53	6.97
10%葡萄糖注射液在低温 2~8℃避光条件下	0.65	0.68	0.68	0.69	0.66

光、室温避光条件下降解产物均无显著性变化,在室温条件下降解产物略有增加。在强光照室温条件下,降解产物有明显增,结果见表 3。

3 讨论

①结果表明:注射用曲杞芪苣与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液配伍后在室温、低温 2~8℃避光、室温避光条件下 8h 内含量、降解产物、pH 值、外观均无显著性变化。可见其在这 3 种条件下与 0.9%氯化钠注射液,5%葡萄糖注射液,10%葡萄糖注射液配伍稳定,为临床用药提供了理论依据。

②注射用曲杞芪苣与 0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、10%葡萄糖注射液在室温强光照条件下 8h 内含量、pH 均有明显下降,降解产物有明显增多,证明其在光照条件下不稳定,因此在临床用药时应注意避光。

参考文献:

- [1] 吕丽爽,汤坚,何其悦. 何首乌中二苯乙烯苷的制备及抗氧化机理研究[D]. 无锡:江南大学,2006.
- [2] 刘厚淳,陈万生. 何首乌水溶性成分 2,3,5,4-四羟基二苯乙烯 2-O-β-D 葡萄糖苷体外抗氧化作用研究[J]. 药学实践杂志,2000,18(4):232-234.
- [3] 孙向红,孙玉维,李红,等. 何首乌主要成分大黄素、大黄酸和二苯乙烯苷对肝细胞、肝癌细胞的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2010,11(1):234-236.
- [4] 韩晓,吴成爱,王伟,等. 何首乌二苯乙烯苷降血脂作用机理研究[J]. 中华中医药学刊,2008,8(11):818-822.
- [5] 王春英,张兰桐,袁志芳,等. 何首乌醋酸乙酯提取部位与

二苯乙烯苷的调血脂作用[J]. 中草药,2008,39(1):78-83.

- [6] 相聪坤,王蕊,袁志芳. 何首乌二苯乙烯苷类提取物对高脂血症大鼠血脂代谢的影响及其抗氧化作用[J]. 中国药业,2009,24(18):19-20.
- [7] 刘庆,彭鹏,熊国祚. 二苯乙烯苷抑制血管平滑细胞增殖和迁移的研究进展[J]. 临床合理用药杂志,2014,7(8):178-180.
- [8] 崔慧辉,田英,龙石银. 二苯乙烯苷抗动脉粥样硬化的作用和机制[J]. 现代生物医学进展,2009,20(19):3968-3971.
- [9] 张燕堂,张颖,商战平. 二苯乙烯苷对动脉粥样硬化作用的研究[J]. 中国实用医药,2011,12(6):241-243.
- [10] 薛咏梅,孙赞,王文静,等. 云南不同产地夜交藤中的二苯乙烯苷的含量测定[J]. 云南中医学院学报,2012,35(2):18-20.
- [11] 徐雅贞,杨兆祥,张伟. 紫外分光光度法测定曲杞芪苣的解离常数[J]. 云南中医学院学报,2012,35(3):43-46.
- [12] 张隽,王振军. 灯盏花素粉针与 4 种输液配伍的稳定性考察[J]. 医药沙龙,2006,30(12):566-568.
- [13] Serajuddin AT, Thakur AB, Ghoshal RN, et al. Selection of solid dosage form composition through drug excipient compatibility testing[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences 1999, American Chemical Society, 1999, 30(7):696-704.
- [14] 陈冰冰,余澄清,李俊伟,等. 注射用头孢孟多酯钠与常用输液的配伍试验[J]. 黑龙江医药,2009(4):540-542.
- [15] 张洪峰,陈晨,王乐,等. 清开灵注射液配伍注射用头孢西丁钠的稳定性研究[J]. 现代药物与临床,2014,29(2):189-191.

(编辑:杨阳)

(英文摘要见第 30 页)

- tenuates Her-2, p38 MAPK, p-AKT, and mTOR Levels in Ovarian Carcinoma of Ethanol-Preferring Rats[J]. J Cancer, 2014, 5(9): 728-735.
- [9] 马岩, 李玛琳. 中药及提取物阻滞胃癌细胞周期及其机制的研究进展[J]. 云南中医学院学报, 2014, 37(3): 94-97.
- [10] Li, YC, He SM, He ZX, et al. Plumbagin induces apoptotic and autophagic cell death through inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway in human non-small cell lung cancer cells[J]. Cancer Lett, 2013, 344(2): 239-259.
- [11] Han S, Zhang G, Li M, et al. L-securinine induces apoptosis in the human promyelocytic leukemia cell line HL-60 and influences the expression of genes involved in the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Oncol Rep, 2014, 31(5): 2245-2251.
- [12] 何聪, 陈清勇, 王剑, 等. 姜黄素下调 mTOR 诱导人肺癌 A549 细胞自噬的研究 [J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(5): 363-368.
- (编辑: 杨阳)

*Capparis spinosa*L. Inhibit the Invasion and Metastasis of Renal Cell Carcinoma through Down-regulation of p-mTOR

LIN Hai¹, YAN Jie², YING Xu-min³

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. The 117th Hospital of PLA, Hangzhou 310004, China; 3. Hangzhou Emergency Medical Center, Hangzhou 310021, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the effect of *Capparis spinosa*L. on the proliferation, invasion and metastasis on the renal cell carcinoma 786-0 cells and reveal the mechanisms. **Methods** The cells were treated with different concentrations of *Capparis spinosa*L. The proliferation, invasion and metastasis were detected by MTT, Transwell assay and the level of mTOR and p-mTOR protein was detected by Western blot. **Results** *Capparis spinosa*L. inhibited the proliferation, invasion and metastasis of 786-0 cells depend on the time and drug concentration, 10, 20, 40ug/ml of the drug can significantly down-regulated the level of p-mTOR protein ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), but the drug has no effect on the expression of the mTOR protein ($P > 0.05$). **Conclusion** *Capparis spinosa*L. inhibit the proliferation, invasion and metastasis of 786-0 cells may through down-regulated the level of p-mTOR protein.

KEY WORDS: *Capparis spinosa*L.; renal cell carcinoma; mTOR; invasion; metastasis

(原文见第 23 页)

Quzhazhigan for Injection with Common Infusion Compatibility Test

TANG Jia-yue^{1,2}, FANG Fang², CHEN Yun-jian²

(1. Yunnan University of TCM, Kunming 650500, China;

2. Kunming Pharmaceutical Corporation, Kunming 650100, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the stability of compatible Quzhazhigan for injection with 0.9% sodium chloride injection, 5% glucose injection, 10% glucose injection, under four conditions. **Methods** Quzhazhigan for injection was mixed with 5% and 10% glucose infusions, and 0.9% sodium chloride Injection at the room temperature, 2~8℃ in dark, room temperature in dark, room temperature in strong light conditions, within 8h after which the changes of appearance, pH value, the changes of degradation products and the changes of Quzhazhigan contents in them were determined by HPLC. **Results** There are no significant changes in appearance, pH value of the mixture solutions, degradation products and Quzhazhigan contents in them within 8h after they were prepared at the 2~8℃ in dark, room temperature in dark conditions. **Conclusion** The test that prompts Quzhazhigan for injection can be mixed with the 3 infusions for clinical use within 8h at the 2~8℃ in dark, room temperature in dark conditions. And its are available for clinical use compatibility reference.

KEY WORDS: Quzhazhigan; compatibility; stability