

# 注射用复方荭草冻干粉针稳定性影响因素考察

王爱民<sup>1,2</sup>, 朱迪<sup>1</sup>, 陈思颖<sup>1,2</sup>, 郑林<sup>2,3</sup>, 兰燕宇<sup>1,2\*</sup>

- (1. 贵阳医学院 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004;  
2. 贵阳医学院 药学院, 贵阳 550004;  
3. 贵阳医学院 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的:考察强光、高温、高湿条件下注射用复方荭草冻干粉针的稳定性,为该制剂的临床用药安全性和有效性提供参考。方法:根据注射用复方荭草冻干粉针质量标准草案的规定对本品进行稳定性影响因素试验,检测药物含量、可见异物、不溶性微粒、吸湿增重、无菌、热原等指标的变化情况。采用 HPLC 测定异荭草素、荭草素、野黄芩苷含量,流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82),检测波长 350 nm。结果:样品均为棕黄色疏松状物,色泽均为黄色标准溶液 7 号色,可见异物、无菌、热原和吸湿增重均符合规定;10 批样品在高温条件下 17 个色谱峰峰面积和保留时间相对稳定,相似度均 >0.99,无血管刺激性,无溶血与凝聚现象;每瓶样品中异荭草素、荭草素、野黄芩苷质量分别约 5.80,3.90,16.50 mg;各项指标均达到注射用复方荭草冻干粉针质量标准草案的规定。结论:注射用复方荭草冻干粉针稳定性良好。

**[关键词]** 稳定性试验;注射用复方荭草冻干粉针;异荭草素;荭草素;野黄芩苷

**[中图分类号]** R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0005-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080005

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150225.1603.001.html>

**[网络出版时间]** 2015-02-25 16:03

## Influencing Factors Investigation of Stability of Compound Hongcao Freeze-dried Powder for Injection

WANG Ai-min<sup>1,2</sup>, ZHU Di<sup>1</sup>, CHEN Si-ying<sup>1,2</sup>, ZHENG Lin<sup>2,3</sup>, LAN Yan-yu<sup>1,2\*</sup> (1. Engineering Research Center for Development and Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China; 2. School of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate stability of compound Hongcao freeze-dried powder for injection under strong light, high temperature and humidity conditions, and provide a reference for clinical drug safety and efficacy of this formulation. **Method:** According to the draft quality standards of compound Hongcao freeze-dried powder for injection, influencing factors test on its stability was carried out, changes of indexes including drug content, visible particles, particulate matter, hygroscopic weight, asepsis, pyrogen etc were determined. HPLC was employed to determine contents of isoorientin, orientin and scutellarin with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (18:82) and detection wavelength at 350 nm. **Result:** Samples were loose-like brown substance, color was the 7th yellow standard solution, visible foreign matter, sterile, pyrogen and moisture absorption weight gain were in line with precisions. Peak areas and retention times of 17 chromatographic peaks in 10 batches of samples at high temperatures was stable with similarity of >0.99, no vascular irritation, no hemolysis and agglomeration. Contents of isoorientin, orientin and scutellarin in samples were 5.80, 3.90, 16.50 mg, respectively. Each indicators all reached provisions of quality standards draft of compound Hongcao freeze-dried powder. **Conclusion:** Compound Hongcao freeze-dried powder for injection has good stability.

**[收稿日期]** 20140807(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360664);贵州省中药现代化科技产业专项(黔科合重G字[2013]4001)

**[第一作者]** 王爱民,教授,硕士生导师,从事中药新药研究与开发,Tel:0851-690486-8708,E-mail:gywam100@163.com

**[通讯作者]** \*兰燕宇,教授,硕士生导师,从事中药新药研究与开发,Tel:0851-6908899,E-mail:yanyu626@126.com

[ **Key words** ] stability test; compound Hongcao freeze-dried powder for injection; isoorientin; orientin; scutellarin

注射用复方荭草冻干粉针源于贵州民间验方,是在传统苗族药应用理论上,结合现代制药新技术与新方法研制开发的中药新药,已批准进入临床研究。本品由荭草、灯盏细辛等提取后采用现代制备工艺研制而成,具有化瘀通络、活血止痛功能,用于治疗冠心病心绞痛心血瘀阻证<sup>[1-10]</sup>。近年来,中药注射剂安全事故频发,开展稳定性研究有助于临床正确应用中药注射剂,以便更安全、有效地发挥疗效。参照2010年版《中国药典》和国家食品药品监督管理局颁布的《中药、天然药物注射剂基本技术要求》<sup>[11]</sup>,本实验拟考察注射用复方荭草冻干粉针在高温、强光和高湿度因素下的稳定性,为该制剂的质量评价提供参考。

### 1 材料

LC-10Avp型高效液相色谱仪(日本岛津公司),WD-B和WD-A型药物稳定性检查仪(天津药典标准仪器厂),AE240型电子天平(上海梅特勒-脱利多仪器有限公司),ZF-401型紫外检测仪(上海顾村光电仪器厂),CH20型显微镜(日本奥林巴斯)。异荭草素和荭草素对照品(自制,纯度均>98%),野黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号110842-201204),注射用复方荭草冻干粉针(贵州省民族药与中药开发应用工程技术研究中心,规格100 mg/支,批号20120105)。

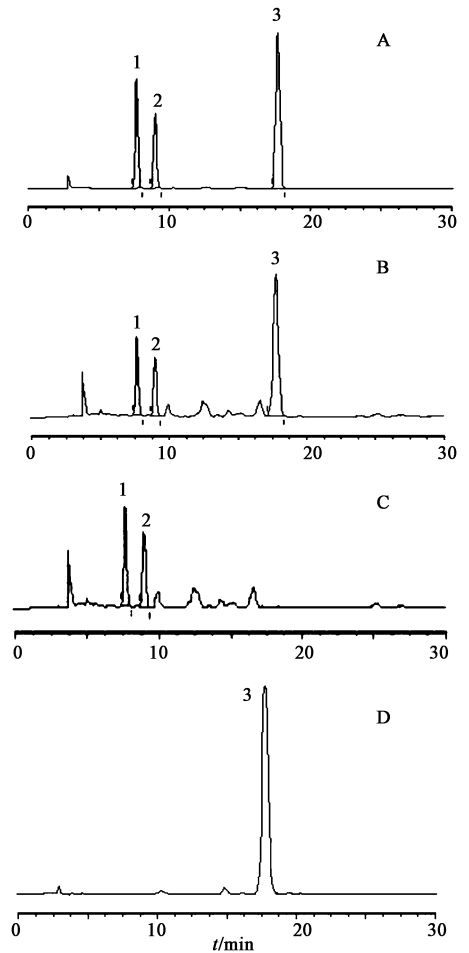
### 2 方法与结果

#### 2.1 异荭草素、荭草素和野黄芩的含量测定

**2.1.1 色谱条件** Diamonsil ODS C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82),柱温40℃,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长350 nm,进样量10 μL。理论塔板数以异荭草素、荭草素、野黄芩苷峰计分别为8 100,8 410,10 000,见图1。

**2.1.2 溶液制备** 精密称取异荭草素、荭草素和野黄芩苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为0.248,0.158,0.819 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。精密称取本品约50 mg,置100 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得供试品溶液。精密称取缺灯盏细辛的复方荭草冻干粉针和缺荭草的复方荭草冻干粉针各50 mg,置100 mL量瓶中,分别加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得阴性样品溶液。

**2.1.3 方法学考察** 精密量取混合对照品溶液



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品(缺灯盏细辛); D. 阴性样品(缺荭草); 1. 异荭草素; 2. 荭草素; 3. 野黄芩苷

图1 注射用复方荭草冻干粉针 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of compound Hongcao freeze-dried powder

0.5, 1, 2, 4, 8 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,按 2.1.1 项下方法测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得异荭草素、荭草素及野黄芩苷回归方程分别为  $Y = 1.51 \times 10^6 X - 3.48 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y = 1.41 \times 10^5 X - 1.56 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y = 1.19 \times 10^6 X - 3.03 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围依次为 0.049 6 ~ 0.794, 0.031 6 ~ 0.506, 0.15 ~ 2.40 μg。异荭草素精密度试验 RSD 0.8%, 重复性试验 RSD 1.2%, 稳定性试验 RSD 0.8%, 平均加样回收率 98.40%, RSD 2.2%; 荭草素精密度试验 RSD 0.7%, 重复性试验 RSD 2.0%, 稳定性试验 RSD 0.8%, 平均加样回收率 99.90%, RSD

1.3% ;野黄芩苷精密度试验 RSD 0.7% ,重复性试验 RSD 1.3% ,稳定性试验 RSD 0.6% ,平均加样回收率 99.82% ,RSD 1.3%<sup>[1-2]</sup>。

## 2.2 指纹图谱研究

**2.2.1 色谱条件** Inersil ODS-3 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.1% 磷酸溶液(A)-80% 乙腈(B)梯度洗脱(0~45 min, 17%~27% B; 45~90 min, 27%~70% B; 90~100 min, 70% B),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35℃,检测波长 300 nm,进样量 20 μL。

**2.2.2 溶液制备** 精密称取野黄芩苷对照品适量,加甲醇制成 0.15 g·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。取本品 25 mg,置 25 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得供试品溶液。

**2.2.3 方法学考察** 以供试品溶液中野黄芩苷的色谱峰的保留时间和峰面积为 1,计算其他色谱峰的相对保留时间和峰面积比值。精密度试验中保留时间比值的 RSD 均 < 0.4%;峰面积比值的 RSD < 0.7%,符合指纹图谱技术要求。稳定性试验结果显示样品在 12 h 内各色谱峰相对保留时间和峰面积比值的 RSD 分别为 < 0.7% 和 < 1.8%。重复性试验表明各共有峰的保留时间比值和峰面积比值基本一致,保留时间比值的 RSD < 1.1%,峰面积比值的 RSD < 0.7%。通过对 10 批样品的测定,建立了本品的指纹图谱检测方法,野黄芩苷指纹图谱参照峰色谱图见图 2,样品图谱见图 3。

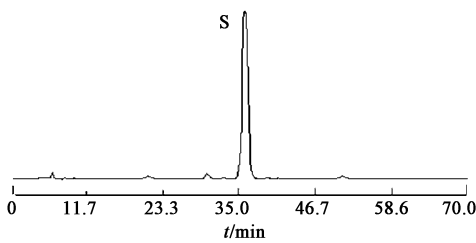


图 2 野黄芩苷(S)指纹谱参照峰  
Fig.2 Fingerprint reference peak of scutellarin (S)

## 2.3 稳定性试验

**2.3.1 光照** 采用除去包装的最小单位制剂,置 WD-A 型药物稳定性检查仪中,室温下以 4 500 Lx 强光照射 10 d,分别于第 0,5,10 天取样,考察样品的外观性状、可见异物、不溶性微粒、色泽、吸湿增重等参数。结果样品均为棕黄色疏松状物,色泽均为黄色标准溶液 7 号色,可见异物、无菌、热原和吸湿增重均符合规定,10 批样品在强光条件下 17 个色谱峰的峰面积和保留时间相对稳定,相似度均 >

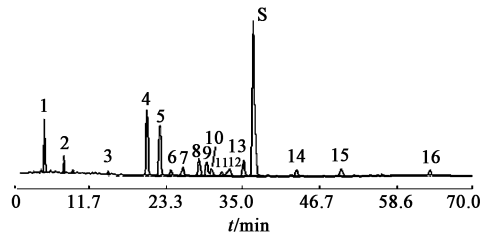


图 3 注射用复方荭草冻干粉针指纹谱  
Fig.3 Fingerprint chromatogram of compound Hongcao freeze-dried powder for injection

0.99<sup>[3]</sup>,无血管刺激性,无溶血与凝聚现象,其他参数见表 1。

表 1 注射用复方荭草冻干粉针强光照射稳定性试验  
Table 1 Stability test of compound Hongcao freeze-dried powder under strong light

| 取样时间<br>/d | 不溶性微粒<br>/粒/mL | pH   | 每瓶样品中质量/mg |      |      |
|------------|----------------|------|------------|------|------|
|            |                |      | 异荭草素       | 荭草素  | 野黄芩苷 |
| 0          | 0.5(0.4)       | 7.20 | 5.82       | 3.96 | 16.8 |
| 5          | 0.7(0.3)       | 7.18 | 5.76       | 3.91 | 16.5 |
| 10         | 0.8(0.2)       | 7.20 | 5.86       | 3.90 | 16.7 |

注:不溶性微粒括号外表示 ≥ 10 μm 的微粒,括号内表示 ≥ 25 μm 的微粒。表 2,3 同。

**2.3.2 高温** 将除去包装的最小单位制剂置 WD-B 型药物稳定性检查仪中,设置温度 60℃,分别于第 0,5,10 天取样,考察样品的外观性状、可见异物、不溶性微粒等参数。结果样品均为棕黄色疏松状物,色泽均为黄色标准溶液 7 号色,可见异物、无菌、热原和吸湿增重均符合规定,10 批样品在高温条件下 17 个色谱峰峰面积和保留时间相对稳定,相似度均 > 0.99,无血管刺激性,无溶血与凝聚现象,其他参数见表 2。

表 2 注射用复方荭草冻干粉针高温稳定性试验  
Table 2 High temperature stability test of compound Hongcao freeze-dried powder

| 取样时间<br>/d | 不溶性微粒<br>/粒/mL | pH   | 每瓶样品中质量/mg |      |      |
|------------|----------------|------|------------|------|------|
|            |                |      | 异荭草素       | 荭草素  | 野黄芩苷 |
| 0          | 0.5(0.4)       | 7.20 | 5.82       | 3.96 | 16.8 |
| 5          | 0.9(0.3)       | 7.16 | 5.80       | 3.93 | 16.5 |
| 10         | 0.6(0.4)       | 7.22 | 5.88       | 3.98 | 16.7 |

**2.3.3 高湿** 将除去包装的最小单位制剂置 WD-B 型药物稳定性检查仪中,设置温度 25℃,相对湿度 92.5%,放置 10 d,于第 0,5,10 天取样,考察样品的各项参数。结果样品均为棕黄色疏松状物,色泽均为黄色标准溶液 7 号色,可见异物、无菌、热原

和吸湿增重均符合规定,10批样品在高湿条件下17个色谱峰的峰面积和保留时间相对稳定,相似度均>0.99,无血管刺激性、溶血与凝聚现象,其他参数见表3。

表3 注射用复方荭草冻干粉针高湿稳定性试验

Table 3 High humidity stability test of compound Hongcao freeze-dried powder

| 取样时间<br>/d | 不溶性微粒<br>/粒/mL | pH   | 每瓶样品中质量/mg |      |      |
|------------|----------------|------|------------|------|------|
|            |                |      | 异荭草素       | 荭草素  | 野黄芩苷 |
| 0          | 0.5(0.4)       | 7.20 | 5.82       | 3.96 | 16.8 |
| 5          | 0.8(0.3)       | 7.24 | 5.86       | 3.88 | 16.6 |
| 10         | 0.7(0.2)       | 7.16 | 5.78       | 3.93 | 16.9 |

### 3 讨论

稳定性研究是对中药注射剂安全性和有效性评价的重要指标。本文考察了注射用复方荭草冻干粉针的稳定性影响因素,通过检测外观性状、指纹图谱、含量测定、可见异物、不溶性微粒、色泽、吸湿增重、无菌、热原等指标,分析高温、强光、高湿条件下该制剂的稳定性,采用HPLC测定制剂中异荭草素、荭草素和野黄芩的含量,结果均达到注射用复方荭草冻干粉针质量标准草案的规定。提示注射用复方荭草冻干粉针在储存、运输过程中受温度、光照和高湿度的影响较小,生产到临床运用的储藏运输条件较为简便,稳定性较好,为该产品的临床用药安全性及有效性提供质量保证。

#### [参考文献]

[1] 兰燕宇,王爱民,何迅,等. RP-HPLC测定注射用复方

荭草冻干粉针中异荭草素、荭草素的含量[J]. 中国药理学杂志,2005,40(14):1100-1101.

[2] 吴莹,王永林,兰燕宇,等. 注射用复方荭草冻干粉针中野黄芩苷的含量测定[J]. 中国药业,2005,14(7):32-33.

[3] 兰燕宇,刘丽娜,王永林,等. 注射用复方荭草(冻干粉针)指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(6):440-442.

[4] 董永喜,李美珍,董莉,等. 基于耐缺氧能力的注射用复方荭草冻干粉生物活性测定方法[J]. 贵阳医学院学报,2012,37(4):348-351.

[5] 刘志宝,兰燕宇,王永林,等. 注射用复方荭草中荭草不同工艺提取物对大鼠心肌缺血的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(8):21-23.

[6] 孙中义. 复方荭草冻干粉针质量控制技术[J]. 中国科技博览,2014(1):270.

[7] 郑琳,王永林,王爱民,等. 注射用复方荭草冻干粉针除鞣质工艺研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(17):1811-1813.

[8] 陶玲,沈祥春,王永林,等. 注射用复方荭草冻干粉针剂对兔离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药,2006,17(9):1650-1652.

[9] 陶玲,沈祥春,王永林,等. 注射用复方荭草冻干粉针剂(FFHC)对垂体后叶素诱导大鼠急性心肌缺血的保护作用[J]. 井冈山学院学报:自然科学版,2006,27(2):117-119.

[10] 李勇军,何迅,刘丽娜,等. 荭草化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(6):444-446.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录45-46,58-60,66-67,75-79,103,131-132.

[责任编辑 刘德文]