

红霉素稳定性及抑菌作用与溶液 pH 值的关系研究

胡 敏(湖北省咸宁市通城县人民医院检验科 437400)

【摘要】 目的 探讨溶液 pH 值对红霉素稳定性和抑菌作用的影响。**方法** 运用高效液相色谱法、最小抑菌浓度测定法及 pH 测定法评价溶液 pH 值对红霉素稳定性和抑菌作用的影响,分析红霉素稳定性、抑菌作用与溶液 pH 值之间的关系。**结果** 在红霉素葡萄糖滴注溶液中加入碳酸氢钠对其 pH 值进行调节后,红霉素葡萄糖滴注溶液的 pH 值稳定性显著提高,而且溶液对部分菌株的抑菌作用也大幅度增强。**结论** 在红霉素葡萄糖滴注溶液中加入碳酸氢钠,有助于提高其稳定性及抑菌活性。在临床使用中,严格按照药品说明书规定的用量加入葡萄糖和碳酸氢钠对乳糖酸红霉素进行稀释,也有助于更好地保证其稳定性和抑菌活性。

【关键词】 红霉素; 稳定性; 抑菌作用; 活性; pH 值
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.08.039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)08-1091-02

为探讨 pH 值对红霉素稳定性与抑菌作用的影响,作者采用高效液相色谱法、最小抑菌浓度测定法及 pH 测定法分析了 pH 值与红霉素的稳定性和抑菌作用的关系,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 美国安捷伦公司 HP1100 型高效液相色谱仪,德国西门子 MicroScanWalkAway-40 型自动微生物鉴定和药敏分析仪。红霉素(作为对照品,红霉素 A 浓度为 92.3%),注射用乳糖酸红霉素(0.25 g),葡萄糖注射液(500 mL),灭菌注射用水,碳酸氢钠注射液(10 mL),M-H 肉汤,调节阳离子浓度的 MH 肉汤+LB 培养基(浓度为 2%~5%),M-H 琼脂。磷酸氢二钾(分析纯试剂),乙腈(色谱纯试剂)。标准菌株采用金黄色葡萄球菌、粪肠球菌。试验菌株均为本实验室保存的临床菌株,包括金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、粪肠球菌和无乳链球菌。

1.2 方法

1.2.1 稳定性试验 (1)色谱条件及适用性试验:采用美国 Sigma 公司 SUNTEK Kromasil C18 色谱柱,温度设为 30℃,以浓度为 0.01 mol/L 的磷酸氢二钾-乙腈作为流动相,检测波长设为 215 nm,流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL。理论塔板数不低于 1 000,红霉素 A 峰值与其他杂质峰值之间的分离度不小于 5.0。(2)对照品配制:精确称取 20 mg 红霉素对照品,加入葡萄糖溶液,于 10 mL 容量瓶中溶解,摇匀并稀释至刻度。(3)供试品制备:精确称取 100 mg 乳糖酸红霉素,加入葡萄糖注射液,于 100 mL 容量瓶中溶解,摇匀并稀释至刻度,标记为供试品 I。精确量取 50 mL 供试品 I 溶液加入 100 mL 三角烧瓶中,然后加入 0.5 mL 碳酸氢钠注射液,摇匀,标记为供试品 II。(4)精度试验:取浓度为 1.08 g/L 的对照品连续测量 5 次,计算相对标准差(RSD)。如果 RSD 为 0.56%,则表明试验方法精度良好。(5)回收试验:精确称取 5 mg 注射用乳糖酸红霉素,放入 10 mL 量瓶中,另精确称取红霉素对照品 3 份,重量分别为 1、5、10 mg,分别加入葡萄糖注射液中摇匀,稀释至刻度。检测溶液中红霉素 A 的浓度,计算红霉素的回收率分别为 95.6%、99.8%、102.7%,相应的 RSD 分别为 3.98%、2.12%、2.96%。(6)重复性试验:称取适量的乳糖酸红霉素,依照步骤(3)的方法制备供试品溶液,检测供试品溶液红霉素 A 的浓度并计算 RSD,应为 0.31%。(7)供试品 pH 值检测:取适量供试品 I 及供试品 II 溶液,分别在供试品溶液配

制后 0、0.5、1、2、4、8 h 时检测溶液 pH 值,并使用高效液相色谱仪对红霉素 A 的浓度进行检测。(8)线性范围检测:取适量红霉素对照品,以葡萄糖注射液将其溶解,并稀释、配制浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 g/L 对照品溶液;按照步骤(1)中的色谱条件,以 10 μL 进样后进行检测,对峰面积和浓度进行线性回归分析,计算回归方程为 $A=377.8C-10.9$ (A 为峰面积,C 为浓度), $r=0.999\ 9$,说明峰面积与浓度具有良好的线性关系。

1.2.2 最小抑菌浓度检测 按照 1.2.1 中步骤(3)的方法,制备对照品溶液。精确称取 64 mg 乳糖酸红霉素,加入灭菌注射用水,于 50 mL 容量瓶中溶解,稀释至刻度后摇匀。取适量的供试品 I、II,置无菌试管中,加入 5% 的葡萄糖注射液 100 mL、碳酸氢钠注射液 1 mL 和灭菌注射用水,再用浓度为 0.1 mol/L 的盐酸将溶液 pH 值调节至 4.0,所制备的供试品 I、II 的质量浓度梯度均为 256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5 mg/L,分别编号为供试品 I 1~I 10 和供试品 II 1~II 10。将受试菌株(粪肠球菌标准菌株、粪肠球菌临床菌株、无乳链球菌临床菌株、金黄色葡萄球菌标准菌株、金黄色葡萄球菌临床菌株、肺炎链球菌临床菌株)配制成浓度为 0.5 麦氏浊度的菌悬液。取 50 μL 菌悬液加入 10 mL M-H 肉汤中,振荡器摇匀后,取混悬液 100 μL 加入 96 孔板中。设立阴性对照空,然后按照供试品编号,分别加入孔中,(35±2)℃ 条件下培养 24 h 后读取结果。

2 结 果

供试品 I、II 的 pH 值在测定时间内非常稳定,结果见表 1。供试品 I、II 红霉素浓度测定结果见表 2。随着放置时间延长,使用 5% 葡萄糖注射液进行稀释的乳糖酸红霉素与加碳酸氢钠的供试品相比,前者红霉素峰面积呈减小趋势,而杂质的峰面积则呈增加趋势。高效液相色谱仪检测结果见图 1。在 0~8 h 以内,随着时间的延长,供试品最小抑菌浓度值从 8 mg/L 升高至 32 mg/L。以葡萄糖注射液进行稀释时,加入 1 mL 浓度为 4% 或 5% 的碳酸氢钠注射液,二者 pH 值分别为 4.2±1.4 与 4.0±1.3,相差 0.19±0.05。

表 1 不同时间点供 pH 值检测结果

供试品	0 h	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	均值	标准差
I	5.47	5.29	5.56	5.36	5.36	5.42	5.41	1.76
II	7.62	7.70	7.76	7.69	7.73	7.71	7.70	0.60

表 2 不同时间点红霉素 A 及乳糖酸红霉素检测结果(μg/mL)							
供试品	检测指标	0 h	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h
I	红霉素 A	0.73	0.72	0.71	0.68	0.66	0.57
	乳糖酸红霉素	1.09	1.08	1.06	1.02	0.98	0.85
II	红霉素 A	0.74	0.73	0.72	0.73	0.71	0.70
	乳糖酸红霉素	1.11	1.09	1.08	1.09	1.06	1.05

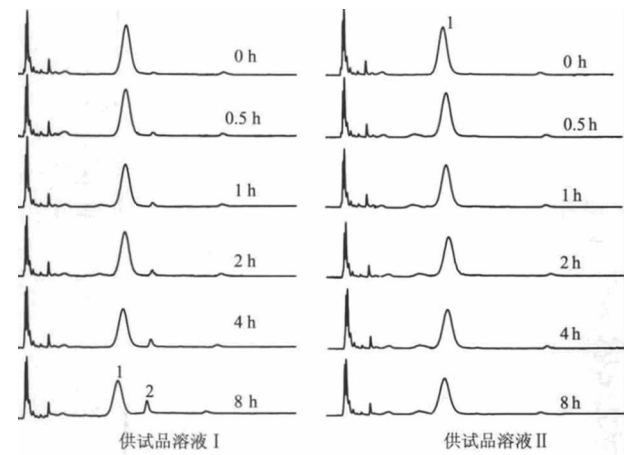


图 1 高效液相色谱仪检测结果

3 讨 论

在临床应用中,按照乳糖酸红霉素的说明书用药时,可发现若使用葡萄糖注射液进行稀释,必须以 1 : 100 的比例在其溶液中加入浓度为 4% 的碳酸氢钠,从而可有效提高乳糖酸红霉素的抑菌活性和稳定性^[1-4]。但就目前情况而言,在临床具体操作中,碳酸氢钠注射液的标准浓度均为 5%,使用规格一般为 12.5 g/250 mL 或 0.5 g/10 mL^[5-7]。本研究结果显示,使用葡萄糖注射液进行稀释时,加入 1 mL 浓度为 4% 或 5% 的碳酸氢钠注射液,其二者的 pH 值只相差 0.19±0.05。因此,为了兼顾临床的可操作性,作者认为浓度为 5% 的碳酸氢钠注射液可用于调节乳糖酸红霉素的 pH 值,且对溶液 pH 值的影响在可接受范围之内^[8-10]。

就本研究中的最小抑菌浓度测试结果而言,在供试品放置时间不超过 8 h 时,只有使用 4% 的葡萄糖注射液进行稀释的供试品,其红霉素 A 浓度呈现下降趋势。就高效液相色谱分析结果而言,在放置超过 1 h 后,红霉素 A 的峰面积开始减小,而杂质的峰面积则开始增大。在放置 4 h 后,红霉素 A 的浓度降低明显。而在加入碳酸氢钠注射液的供试品中,红霉素 A 的浓度较为稳定,在 4 h 内红霉素 A 的浓度稍有降低。高效液相色谱图中也没有杂质峰的出现。这是因为红霉素在 pH 至呈中性的水中比较稳定,但在酸性溶液中,则较易分解。临床医用葡萄糖注射液的 pH 值大约为 3.5~5.5,呈弱酸性。因此,直接使用葡萄糖注射液对乳糖酸红霉素进行稀释,容易导致红霉素的分解,使其抑菌作用大大减弱。

本研究结果显示,随着放置时间的延长,红霉素的最小抑菌浓度值呈上升趋势,提示红霉素的抑菌活性有所下降。这是

因为 pH 值为 4.0 的酸性溶液对红霉素的影响非常明显。药品说明书中要求使用 4% 的碳酸氢钠注射液进行稀释,其目的在于中和葡萄糖注射液稀释所导致的酸性环境。一般而言,在 100 mL 乳糖酸红霉素滴注溶液中加入葡萄糖注射液后,使用 1 mL 浓度为 4% 的碳酸氢钠注射液,可使溶液的 pH 值从初始的 3.5~5.5 提高至 7.0 左右,基本呈弱碱性。这有助于保持红霉素 A 的抑菌作用。

除此之外,红霉素对血管壁具有强烈的刺激作用。因此,在给药时需要进行缓慢的静脉滴注。在临床应用过程中,从药品配制直至滴注完毕,经历的时间长达数小时。因此,如果忽视碳酸氢钠对于红霉素稳定性的保持作用,极易导致在长时间的滴注过程中,红霉素的抑菌作用由于酸性环境的影响而大大减弱,进而影响临床治疗效果。

综上所述,在红霉素葡萄糖滴注溶液中加入碳酸氢钠,有助于提高其稳定性及抑菌活性。在临床使用中,严格按照药品说明书规定的用量加入葡萄糖和碳酸氢钠对乳糖酸红霉素进行稀释,也有助于更好地保证其稳定性和抑菌活性。

参考文献

[1] 伍蓉,刘融融,万莉. 高效液相色谱法测定红霉素肠溶胶囊的含量[J]. 中国药业,2012,21(12):47-49.

[2] 陈万胜. 红霉素原料药微生物限度检查法探索及方法验证[J]. 中国实用医药,2012,7(9):246-248.

[3] 毛培学,陈葵,纪利俊,等. 硫氰酸红霉素在酸性溶液中的稳定性研究[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(3):218-222.

[4] 李雅静,王晨,陈雷,等. 注射用盐酸柔红霉素与胰岛素在葡萄糖注射液中的配伍稳定性考察[J]. 中国药师,2011,14(9):1359-1360.

[5] 官妍,谢萌,汪长中,等. 连翘苷和黄芩苷对表皮葡萄球菌生物膜抑制作用的研究[J]. 中国微生态学杂志,2010,22(10):886-893.

[6] 官妍,周华娜,石晶金,等. 亚抑菌浓度的苦参碱及其与红霉素联用对表皮葡萄球菌生物被膜抑制作用的初步研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2013,33(2):86-87.

[7] 农朝赞,黄婵娟,叶海洪,等. 芒果苷协同红霉素对痤疮致病菌抑菌作用的实验研究[J]. 检验医学与临床,2011,8(1):6-8.

[8] 刘珂. HPLC 法测定注射用乳糖酸红霉素中的有关物质[J]. 中国药事,2010,24(5):486-488.

[9] El-Mahdy TS, Abdalla S, El-Domany R, et al. Systemic antibiotic therapy of acne vulgaris[J]. J Dtsch Dermatol Ges,2010,8(Suppl 1):31-46.

[10] Patel M, Bowe WP, Heughebaert C, et al. The development of antimicrobial resistance due to the antibiotic treatment of acne vulgaris: a review[J]. J Drugs Dermatol,2010,9(6):655-664.