

[1] 中国药典 2000 年版. 一部[S]. 2000:57.

[2] 戈升荣,俞一心,谢更新. 丹酚酸的药理作用研究进展[J]. 中药材,2002,25(9):683.

[3] 郭莹,梁晓原,念维林. 云南丹参酚酸类成分水醇法制备工艺的初步研究[J]. 云南中医学院学报,2001,24(4):6.

收稿日期:2003-10-28

盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素检测法实验研究

金卫红, 居红枫(江苏省药品检验所, 江苏 南京 210008)

摘要 目的:建立盐酸罂粟碱氯化钠注射液的细菌内毒素检查方法。方法:用两个生产厂的鲎试剂对盐酸罂粟碱氯化钠注射液进行干扰试验研究。结果:盐酸罂粟碱氯化钠注射液对细菌内毒素检查无干扰作用。结论:可以用细菌内毒素检查法(凝胶法)代替家兔热原检查法控制其热原。

关键词 盐酸罂粟碱氯化钠注射液;细菌内毒素;凝胶法

中图分类号:R954 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2003)06-0341-03

Assay for bacterial endotoxin in papaverine hydrochloride and sodium chloride injection

JIN Wei-hong JU Hong-feng(Jiangsu Provincial Institution for Drug Control, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method of assay for the bacterial endotoxin in papaverine hydrochloride and sodium chloride injection. **METHODS:** Inhibition and enhancement test was performed with limulus amoebocyte lysate manufactured by two different companies. **RESULTS:** The injection will not interfere to the bacterial endotoxins test. **CONCLUSIONS:** The results suggest that bacterial endotoxins test (gel-clot method) can be used as an replaceable method for the rabbit pyrogen test for papaverine hydrochloride and sodium chloride injection.

KEY WORDS papaverine hydrochloride and sodium chlorid injection; bacterial endotoxin; Gel-clot method

盐酸罂粟碱氯化钠注射液临床主要用于治疗脑、心以及外周血管痉挛所致的缺血,肾、胆或胃肠道等内脏痉挛。鉴于细菌内毒素检查法灵敏快速、简便易行、重现性好等优点,为扩大其应用范围,我们对盐酸罂粟碱氯化钠注射液进行了细菌内毒素检查法的研究,探讨以细菌内毒素检查法取代热原检查法检测盐酸罂粟碱氯化钠注射液的可行性。

1 实验材料

1.1 盐酸罂粟碱氯化钠注射液,为无色澄明液体,由上海通用药业股份有限公司第三公司提供,批号 011209、011210、011211,规格:100mL,盐酸罂粟碱 30mg、氯化钠 0.9g。试验前热原试验均符合规定。

1.2 鲎试剂(TAL):湛江海洋生物有限公司生产,批号 010804,福州新北生化工业有限公司生产批号 010630,灵敏度 λ:均为 0.25EU/mL。试验前二批鲎试剂灵敏度复核均符合规定。

1.3 细菌内毒素工作标准品(冻干品):中国药品生物制品检定所制备,批号 2001-3,效价 70EU/

Amp。

1.4 细菌内毒素检查用水(BET水):中国药品生物制品检定所制备,批号 W2001-3,10mL/Amp。内毒素含量 < 0.03EU/mL。

2 方法与结果

2.1 盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素限值的计算

盐酸罂粟碱氯化钠注射液为大输液品种,根据有关规定,一般定(M)为 10mL/kg^[1],细菌内毒素阈值(K)5.0EU/kg^[2],则盐酸罂粟碱氯化钠注射液的细菌内毒素限值(L)为 $L = K/M = 5.0EU/kg \div 10mL/kg = 0.5EU/mL$ 。

2.2 盐酸罂粟碱氯化钠注射液稀释液浓度的确定

由于盐酸罂粟碱氯化钠注射液限值 L 为 0.5 EU/mL,所以对对应于灵敏度 0.5~0.03 EU/mL 的鲎试剂,按照公式 $MVD = CL/\lambda$ 计算得到系列浓度的样品溶液,即原液,1:2,1:4,1:8,1:16。

2.3 干扰试验预试验 为排除供试品溶液对细菌

内毒素检查的干扰,求出最高非抑制浓度,正式试验前进行了干扰试验预试验。实验前对所用的鲎试剂的灵敏度进行复核、供试品热原试验均符合规定。将盐酸罂粟碱氯化钠注射液用 BET 水配制成原液、1:2,1:4,1:8,1:16,稀释液作为供试品溶液

(NPC),并配制此系列稀释浓度含 2λ 的供试品阳性液(PPC),即每个稀释液中均含0.5 EU/mL的内毒素标准液。选择两个生产厂 λ 为0.5 EU/mL的TAL,分别与上述两个系列液反应,同时作阳性(PC)和阴性对照(NC),试验重复两管,结果见表1。

表1 盐酸罂粟碱氯化钠注射液求最高无干扰浓度实验结果

供试品批号	鲎试剂批号	供试品液名称	供试品浓度(稀释度)					NC	PC
			原液	1:2	1:4	1:8	1:16		
011209	010804	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-
	010630	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-
011210	010804	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-
	010630	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-
011211	010804	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-
	010630	NPC	-	-	-	-	-	-	++
		PPC	++	++	++	++	++	-	-

表1结果表明,盐酸罂粟碱氯化钠注射液对细菌内毒素检查无干扰作用。

2.4 供试品的干扰试验^[3] 为进一步确证供试品溶液对0.25 EU/mL鲎试剂是否存在干扰作用,分别用BET水和1:2的供试品稀释液,将细菌内毒

素工作标准品配制为 2λ 、 λ 、 0.5λ 、 0.25λ 浓度的系列内毒素溶液,即0.500、0.250、0.125、0.062 EU/mL。并与两个生产厂 λ 为0.25 EU/mL的TAL反应。同时作供试品溶液的对照,试验重复四管,结果见表2。

表2 盐酸罂粟碱氯化钠注射液干扰试验结果

供试品批号	鲎试剂批号	细菌内毒素(EU/mL)				供试品液对照	λ 值(EU/mL)	干扰作用
		0.500	0.250	0.125	0.062			
011209	010804	++++	++++	-++	-----	-----	0.177	无
	010630	++++	++++	-+++	-----	-----	0.149	无
011210	010804	++++	++++	+---	-----	-----	0.210	无
	010630	++++	++++	+---	-----	-----	0.177	无
011211	010804	++++	++++	-++-	-----	-----	0.177	无
	010630	++++	++++	-++-	-----	-----	0.149	无
内毒素标准溶液	010804	++++	++++	-----	-----	-----	0.250	
	010630	++++	++++	-----	-----	-----	0.210	

表2试验结果表明:三个批号供试品的 λ 值均在0.5~2.0 λ (0.500~0.125 EU/mL)之间无干扰作用。

2.5 盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素检查

取盐酸罂粟碱氯化钠注射液,用BET水配制成1:2的稀释溶液,然后用灵敏度为0.25 EU/mL鲎试剂试验(L应<0.25 EU/mL),并设供试品阳性对照(2λ)和阴性对照,结果见表3。

表3 盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素检查结果

供试品批号	鲎试剂批号	供试品	供试品阳性(2λ)	阴性对照	阳性对照	结果
011209	010804	-	++	-	++	符合规定
	010630	-	++	-	++	符合规定
011210	010804	-	++	-	++	符合规定
	010630	-	++	-	++	符合规定
011211	010804	-	++	-	++	符合规定
	010630	-	++	-	++	符合规定

表3结果表明,三批盐酸罂粟碱氯化钠注射液细菌内毒素检查均符合规定。

3 讨论

3.1 本实验评价了盐酸罂粟碱氯化钠注射液对

TAL 与内毒素凝聚反应是否有干扰作用,实验结果证明盐酸罂粟碱氯化钠注射液经按《中国药典》2000 年版二部附录细菌内毒素检查法应用指导原则试验,盐酸罂粟碱氯化钠注射液对细菌内毒素检查无干扰作用,使用灵敏度 λ 为 0.25 EU/mL 的 TAL 进行细菌内毒素检查是可行的,确证了细菌内毒素检查法完全可以代替传统的兔法作盐酸罂粟碱氯化钠注射液的热原检查。

3.2 盐酸罂粟碱氯化钠注射液的细菌内毒素检查标准制定参考:取本品,依法检查(中国药典 2000 年

版二部附录 XI E),每 1mL 盐酸罂粟碱氯化钠注射液中含细菌内毒素的量应小于 0.5EU。

参考文献:

- [1] 王思理. 中国药典 2000 年版《细菌内毒素检查法》培训班讲义[M]. 中国药品生物制品检定所, 2000, 10.
- [2] 黄清泉, 夏振民. 药品细菌内毒素检查的实验设计[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(2): 72
- [3] 中国药典 2000 年版. 二部[S]. 2000: 附录 86.

收稿日期: 2003-10-28

高效液相色谱法测定注射用唑来膦酸的含量

郑国钢¹, 方滢芝² (1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 浙江省邵逸夫医院, 浙江 杭州 310016)

摘要 目的: 用反相离子对高效液相色谱法测定注射用唑来膦酸的含量。方法: 以 Diamonsil C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5 μ m) 柱为分析柱, 乙腈-离子对缓冲盐(含 0.02mmol/mL 的四丁基氢氧化铵和磷酸二氢铵, 并用 50% 的磷酸溶液调节 pH 至 2.3) (25:75) 为流动相, 检测波长为 210nm。结果: 唑来膦酸浓度在 50~240 μ g/mL 范围内峰面积与浓度线性关系良好($r=1.0$); 平均回收率为 100.0%, RSD 为 0.4%。结论: 本方法准确、简便、快速, 适用于测定唑来膦酸的含量。

关键词 注射用唑来膦酸; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2003)06-0343-03

Determination of zoledronic acid for injection by HPLC

ZHENG Guo-gang¹, FANG Ying-zhi² (1. Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Zhejiang Sir Run Run Shaw Hospital, Hangzhou 310016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an HPLC method for the determination of zoledronic acid for injection.

METHOD: The analysis was achieved by using Diamonsil C₁₈ column with acetonitrile-ion-pair buffer solution (25:75) as mobile phase and UV-detector at wavelength 210nm. The ion-pair buffer solution was a mixture of 0.02mmol/mL tetrabutyl ammonium hydroxide and 0.02mmol/mL ammonium dihydrogen phosphate adjusted pH 2.3 with 50% phosphoric acid. **RESULTS:** The linear range was from 50 to 240 μ g/mL ($r=1.0$). The average recovery was 100.0% ($RSD=0.4\%$). **CONCLUSIONS:** This method is simple, sensitive, accurate and suitable for the determination of zoledronic acid for injection.

KEY WORDS zoledronic acid for injection; determination; HPLC

唑来膦酸(ZoLedronic acid)为第三代双膦酸盐,他通过抑制破骨细胞再吸收,防止恶性高钙血症^[1]。目前国内外还没有唑来膦酸分析方法的文献报道。本文建立高效液相色谱法测定唑来膦酸的含量,方法简便、快速、专属性强。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦)

1.2 试剂 乙腈为色谱纯,10%的四丁基氢氧化铵溶液、磷酸二氢铵与磷酸均为分析纯。唑来膦酸精制品、中间体(1-咪唑乙酸)及注射用唑来膦酸(规格: 4mg; 批号: 20010820、20010825、20010828)

作者简介: 郑国钢,男,主管药师