

3 配伍试验

3.1 空白对照液的制备 空白对照液 I :10 μ g/mL 加替沙星注射液,在 25 $^{\circ}$ C 下 6h 内在所测定波长处的吸收度不得改变,否则应重新配制。

3.2 稳定性实验 移取肌苷氯化钠注射液 100mL (200mg) 置 200 mL 量瓶中,并加入注射用加替沙星 0.2g,加 0.9% 氯化钠溶液至刻度,摇匀,得配伍液,模拟临床浓度(含肌苷 1mg/mL,加替沙星 1mg/mL),在室温 25 $^{\circ}$ C 不避光条件下放置,分别在 0、1、2、3、4、6h 时各取配伍液 0.50mL,用 0.9% 氯化钠溶液稀释至含利巴韦林与加替沙星均为 10 μ g/mL,用空白对照液 I 作空白,在 247nm 波长处测肌苷 A 值并计算含量;用 0.9% 氯化钠溶液作空白在 280nm 波长处测加替沙星 A 值并计算含量,同时测定配伍液 pH 值,结果见表 3

3.3 外观及 pH 值 在各测定时间与配伍液澄清,无沉淀生成和颜色变化,pH 值变化见表 3

3.4 吸收曲线变化 在测定含量的同时,对各配伍液进行紫外扫描,结果吸收曲线在 6h 内无明显变化,峰形和峰位无变化,无新的吸收峰产生。

表 3 配伍液相对百分含量(%)及 pH 值

药物	时间(h)					
	0	1	2	3	4	6
肌苷(%)	100.00	100.00	100.00	100.10	99.81	98.47
加替沙星(%)	100.00	100.10	100.02	100.21	99.94	99.54
pH 值	5.00	5.07	5.11	5.02	5.07	5.01

4 讨论

实验证明,测定时以不含待测样品的溶液为空白,可消除二种药物在紫外区的相互干扰。

加替沙星与肌苷氯化钠注射液配伍后,6h 内不同时间观察,外观无变化,含量、pH 值变化很小,提示加替沙星与肌苷氯化钠注射液可以配伍应用。

参考文献:

- 1 马洪峰,钱小蕾,谭才宏.左氧氟沙星与肌苷氯化钠注射液配伍稳定性考察[J].中国药房,2004,15(10):627
- 2 杨继章,杨树民,刘瑞琴,等.注射用加替沙星与头孢曲松钠配伍的稳定性考察[J].中国医院药学杂志,2005,25(3):256.

收稿日期:2005-04-27

动态浊度法检测盐酸克林霉素注射液中细菌内毒素研究

苑庆华,孙淑莲,芮菁,华晓东(天津市药品检验所,天津 300070)

摘要 目的:对盐酸克林霉素注射液进行细菌内毒素定量检查试验,建立定量检测盐酸克林霉素注射液中细菌内毒素试验方法 方法:采用《中国药典》2000 年版附录检测细菌内毒素动态比浊法。结果:盐酸克林霉素注射液在稀释药液浓度为 0.075mg/mL 时检测可排除干扰因素的影响,内毒素回收率在 50%~200% 范围 结论:用细菌内毒素动态比浊法定量检查盐酸克林霉素注射液中的内毒素是可行的。

关键词 盐酸克林霉素注射液;动态比浊法;细菌内毒素;干扰试验

中图分类号:R953

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2005)05-0306-03

Measurement of endotoxin in clindamycin hydrochloride injection by the kinetic-turbidimetric technique

YUAN Qing-Hua, SUN Shu-Lian, RUI Jing, HUA Xiao-dong(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT Objective: To Establish the kinetic-turbidimetric technique for practical quality control on endotoxin content in clindamycin hydrochloride injection **Methods:** The kinetic-turbidimetric technique and eliminated interfere factors approved by Chinese pharmacopoeia 2000 edition were used. **Results:** Endotoxin added to clindamycin hydrochloride injection was recovered in a quantitative manner showing neither inhibition nor enhancement in diluted solution concentration 0.075 mg/mL, the endotoxin recovery was more than 50 percent and less than 200 percent. **Conclusion:** These results suggested that the kinetic-turbidimetric technique of LAL-test was suitable for the detection of endotoxin in clindamycin hydrochloride injection .

基金项目:天津市科委自然科学基金项目(003610811)

作者简介:苑庆华(1964-)男,硕士,副主任药师

KEY WORDS clindamycin hydrochloride injection; kinetic-turbidimetric technique; bacterial endotoxin

盐酸克林霉素为林可霉素的半合成衍生物,抗菌谱与林可霉素相同,主要对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、溶血性链球菌、肺炎球菌、白喉杆菌等革兰阳性菌以及消化球菌、消化链球菌、梭杆菌属、真杆菌、丙酸杆菌等各种厌氧菌具有抗菌作用。临床上主要适用于以上各类细菌感染所致疾病的治疗。目前国家药监局质量标准中其热源检查为家兔升温试验法^[1],该法不仅费时、费力、实验条件高,而且易受药品本身药理、毒理等作用干扰;细菌内毒素动态比浊法系根据细菌内毒素与鲎试剂反应在形成凝胶过程中的浊度变化进行定量检测的一种体外实验方法,具有快速、简便及定量准确等优点,目前已被各国药典所收载;本实验报道了用内毒素动态比浊法定量检测盐酸克林霉素注射液细菌内毒素的可行性研究。

1 材料与仪器

1.1 材料 盐酸克林霉素注射液(重庆莱美药业有限公司,批号:020509、020510、020511,规格:2mL:0.15g;批号:020502、020503,规格:4 mL:0.3g) 鲎试剂(福州新北生化工业有限公司,批号:020114,λ₁=0.01 EU/mL,规格3.1 mL/瓶);鲎试剂(湛江海洋生物制品厂,批号:011228,λ = 0.01 EU/mL,规格0.5 mL/瓶);细菌内毒素1作标准品(中国药品生物制品检定所,批号:2002-12,规格100EU/瓶);细菌内毒素检查用水(湛江安度斯生物有限公司,批号:0209110,25mL/瓶)

1.2 仪器 EDS-99细菌内毒素检测系统(北京金山川科技发展有限公司)

2 方法与结果

2.1 供试品内毒素限值的确立 按内毒素限值公式^[2] $L = K/M$, K 为规定的给药途径,即人用每公斤体重每小时最大可接受的内毒素剂量,注射剂为5.0EU/kg, M 为1 h内每公斤体重静脉滴注时的最大给药剂量为10mg/(kg·h),计算内毒素限值 $L = 5.0/10 = 0.5 EU/mg$;该值与美国药典USP24版磷酸克林霉素注射液规定限值0.58 EU/mg相当,因此实验时以计算内毒素限值0.5 EU/mg为准

2.2 内毒素标准曲线的制备及可靠性 用细菌内毒素检查用水将细菌内毒素1作标准品溶解并进行2倍稀释,使其最终内毒素浓度分别为0.5、0.25、0.125、0.06、0.03 EU/mL稀释系列,各取0.1mL,分别加到预先加有0.1mL鲎试剂反应管内,混合均匀,立刻插入EDS-99细菌内毒素检测系统内进行自动检测,其中每种浓度重复3管。分别使用2批鲎试剂进行实验;结果批号020114的鲎试剂,其直

线回归方程 $\text{Log}T = 3.10082 - 0.30308 \text{Log}C$,相关系数 $r = -0.99068$;批号为011228 鲎试剂,其直线回归方程 $\text{Log}T = 2.86706 - 0.30404 \text{Log}C$,相关系数 $r = -0.99528$;其中 C 为内毒素浓度(EU/mL), T 为平均反应时间以秒表示(S);最低内毒素浓度λ₁=0.03 EU/mL,由于空白对照管均在规定的检测时间外,故细菌内毒素标准曲线成立

2.3 干扰试验

2.3.1 供试品无干扰浓度计算 按计算公式 $MIC = \lambda_1/L$, L 为盐酸克林霉素注射液细菌内毒素限值,λ₁为标准曲线的最低内毒素稀释浓度0.03 EU/mL,计算克林霉素注射液的理论最小无干扰浓度MIC为0.06 mg/mL

2.3.2 供试品溶液配制及预干扰试验 将批号为020509的盐酸克林霉素注射液用细菌内毒素检查用水依次稀释,使其最终药液浓度分别为75、7.5、0.75、0.075 mg/mL溶液,记为A_i液,同时另取4管,进行同样浓度稀释,但在稀释液中添加标准曲线中点浓度为λ_m(0.125 EU/mL)的细菌内毒素标准溶液,作为供试品添加内毒素阳性对照管,记为B_i液,分别取上述各液0.1mL,加入预先加有0.1mL鲎试剂的反应管内,混匀立刻插入EDS-99细菌内毒素检测系统内进行检测,其中每一浓度重复3管,分别使用2批鲎试剂进行实验,计算平均回收率,回收率(%) = (B_i液内毒素值 - A_i液内毒素值)/λ_m × 100%,结果见表1

表1 盐酸克林霉素注射液预干扰试验结果

试剂批号	稀释浓度 (mg/mL)	A _i 液浓度 (EU/mL)	B _i 液浓度 (EU/mL)	回收率 (%)
020114	75	>0.50 ¹	>0.50	0.00 ²
	7.5	>0.50 ¹	>0.50	0.00 ²
	0.75	<0.03	0.0154	12.32
	0.075	<0.03	0.1189	95.12
011228	75	0.2554 ¹	0.0619	0.00 ²
	7.5	<0.03 ¹	<0.03	0.00 ²
	0.75	<0.03	0.2156	172.48
	0.075	0.0218	0.1827	128.72

注:1.由于药液干扰因素影响,出现测定值超出B_i添加液测定值,计算结果为负值时按“0”计

其中批号020114的鲎试剂,标准曲线回归方程 $\text{Log}T = 3.29692 - 0.23304 \text{Log}C$,相关系数 $r = -0.98067$ 批号011228的鲎试剂,直线回归方程 $\text{Log}T = 3.11534 - 0.35799 \text{Log}C$,相关系数 $r = -0.99159$

表1预干扰试验结果发现:盐酸克林霉素注射液在原液(75 mg/mL)时检测存在很强的干扰作用,

当将药液浓度稀释至 0.075 mg/mL 时可完全排除干扰,添加内毒素回收率正好处在 50% ~ 200% 之间。而且两批鲎试剂的检测结果一致。因此正式干扰试验选用药液稀释浓度 0.075 mg/mL 进行。

2.3.3 供试品溶液正式干扰试验^[2,3] 取另外 5 批不同批号的盐酸克林霉素注射液分别用细菌内毒素检查用水制成 0.075 mg/mL 稀释液,记为 A_i 液,同时另取 5 管进行同样倍数稀释,并在稀释液中添加内毒素中点浓度为 λ_m (0.125 EU/mL) 的内毒素标准稀释液,作为供试品阳性对照,记为 B_i 液,分别取上述各液 0.1 mL 加入预先加有 0.1 mL 鲎试剂反应管内,混匀立刻插入 EDS-99 细菌内毒素检测系统内进行检测,每一浓度重复 3 管,计算平均回收率。结果见表 2。

表 2 盐酸克林霉素注射液正式干扰试验结果

试剂批号	样品批号	A _i 液浓度 (EU/mL)	B _i 液浓度 (EU/mL)	回收率 (%)
020114	020509	<0.03	0.104 5	83.60
	020510	<0.03	0.115 2	92.16
	020511	<0.03	0.106 2	84.96
	020502	<0.03	0.104 2	83.36
	020503	<0.03	0.108 7	86.96
011228	020509	<0.03	0.1244	99.52
	020510	<0.03	0.142 1	113.68
	020511	<0.03	0.137 9	110.32
	020502	<0.03	0.138 8	111.04
	020503	<0.03	0.136 7	109.36

其中批号为 020114 的鲎试剂,回归方程 $\text{Log } T = 3.100 82 - 0.303 08 \text{ Log } C$, 相关系数 $r = -0.990 68$; 批号为 011228 的鲎试剂,直线回归方程 $\text{Log } T = 2.892 15 - 0.318 43 \text{ Log } C$, 相关系数 $r = -0.997 38$ 。表 2 结果发现:5 批盐酸克林霉素注射液中的细菌内毒素含量均在内毒素规定限值 0.5 EU/mg 以下,内毒素回收率均在 50% ~ 200% 范围,且两个不同厂家的鲎试剂检测结果一致,再次确认盐酸克林霉素注射液在稀释浓度 0.075 mg/mL 下用定量鲎试剂检测无干扰因素影响。因此常规内

毒素定量检查时使用浓度为 0.075 mg/mL 稀释液即可。

2.4 供试品的常规检测 根据中国药典 2000 年版附录 XIX F 附细菌内毒素定量测定法规定方法,内毒素限值按 0.5 EU/mg 对 5 批盐酸克林霉素注射液在稀释浓度为 0.075 mg/mL 时进行内毒素定量检测,并同时进行了半定量凝胶法对比检测,结果显示两种内毒素检测的实测值均在细菌内毒素规定限值以下,相符率 100%,结果见表 3。

表 3 盐酸克林霉素注射液中内毒素含量检测结果比较 (EU/mg)

样品批号	动态比浊法内毒素含量	凝胶法内毒素含量
010928	<0.0626	<0.5
010929	<0.0626	<0.5
010930	<0.0626	<0.5
010925	<0.0626	<0.5
010926	<0.0626	<0.5
010927	<0.0626	<0.5

3 讨论

由表 1、表 2 试验结果可以确认:盐酸克林霉素注射液在稀释浓度 0.075 mg/mL 以上,用鲎试剂检测存在抑制干扰作用;当稀释至 0.075 mg/mL 浓度以下时才完全排除来自样品中的抑制干扰作用。且样品中的内毒素含量值在规定限值 $L(0.5 \text{ EU/mg})$ 以下,与凝胶检测法结果一致;因此可以认为用内毒素动态比浊法定量检查盐酸克林霉素注射液中的内毒素是可行的。

参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局标准(试行), WS-149 (X-129)-2002(1) [S].
- [2] 中国药典 2000 年版. 二部[S]. 附录 2000; 204.
- [3] USP-NF XX IV (2000). Bacterial endotoxins test [S]. 2000; 1829 ~ 1831.

收稿日期:2004-12-05

《中国医院药学杂志》2006 年征订启事

《中国医院药学杂志》系中国科协主管、中国药学会主办的综合性医院药学专业性学术核心期刊。本刊主要面向全国医院药学工作者、医务人员和广大药学工作者,主要介绍国内外医院药学创新成果、药学先进技术、临床合理用药、中西药制剂、药剂科的科学管理与改革、药学基础知识及理论等。栏目有研究论文(制剂研究、新药研究、治疗药物监测、药动学、药品质量、药物配伍和相互作用、药物应用再评价、药物不良反应及其防治)、综述、药事管理、科研简报、药物不良反应、读者园地、信息动态、医药企业及产品介绍等。

本刊为月刊,大 16 开,从 2006 年起每期 120 页,每期定价 12.50 元,全年 150 元。每月 18 号出版,国内邮发代号 38-50,国外代号:M65-38。欢迎广大作者订阅和投稿。编辑部地址:武汉市胜利街 155 号(邮政编码:430014);电话:027-82836596;传真:027-82856411;Email:pharmacy@vip.163.com.