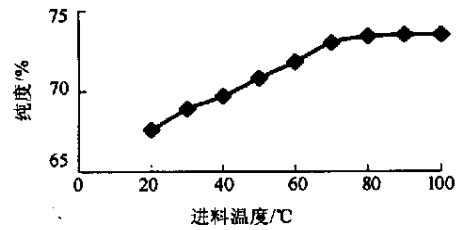


趋势减小。进料速率为 90 mL/h, 蒸馏温度为 100 , 操作压力为 0.3 Pa 时进料温度对 α -亚麻酸纯度的影响见图 3。



酸纯度的影响见图 4。

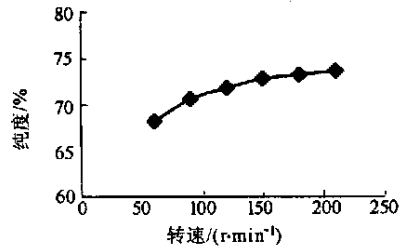


图 4 刮膜器转速对 α -亚麻酸纯度的影响
Fig 4 Effects of rotating speed on purity of α -linolenic acid

3.6 分离级数的影响: 为了得到高纯度的 α -亚麻

酸产品, 单级操作无法满足要求, 这时就要进行多级操作。研究发现经过 4 级操作, α -亚麻酸含量可以从 70.5% 上升到 82.3%, 见表 1。

表 1 各级 α -亚麻酸含量随蒸馏级数的变化

Table 1 Changes of various α -linolenic acid along with distillation frequency

蒸馏级数	温度/℃	压力/Pa	α -亚麻酸含量/%	α -亚麻酸收率/%
1	90	2.0~2.3	70.5	96.7

4.3 应用短程蒸馏技术提纯亚麻酸比其他提纯方法操作简便、步骤少、效率高, 容易实现产业化。

References:

[1] Greenberg D B. A theoretical and experimental study of the centrifugal molecular still [J]. *A ICH E J*, 1972, 18(2): 269-276.

[2] Wang J W, Xu S L, Xu S M, et al. Application status of molecular distillation [J]. *Chem Ind Eng Proc (化工进展)*, 2002, 21(7): 499-501.

[3] Zhang H M, Liu Z. Review on function resource and production of α -linolenic acid [J]. *China Oils Fats (中国油脂)*, 2000, 25(6): 192-194.

[4] Zhou L X, Huang F H, Yan F H, et al. α -linolenic acid and β -linolenic acid [J]. *China West Cereals Oils Tech (西部粮油科技)*, 2000, 25(6): 46-48.

参麦冻干粉针剂中细菌内毒素检查干扰试验

苟 虹, 程一帆*

(重庆市中医研究院, 重庆 400013)

摘 要: 目的 对参麦冻干粉针中细菌内毒素检查干扰试验进行研究, 证明使用细菌内毒素检查法(BET)的可行性。方法 用干扰初筛试验和干扰试验考察参麦冻干粉针对 BET 有无干扰, 并寻求排除干扰的方法。结果 使用 λ 为 0.5 EU/mL 的鲎试剂有抑制作用, 使用 λ 为 0.25 EU/mL 的鲎试剂, 供试品溶液作适当稀释可消除干扰。结论 参麦冻干粉针的细菌内毒素检查应使用灵敏度为 0.25 EU/mL 或更高灵敏度的鲎试剂。

关键词: 参麦冻干粉针; 细菌内毒素检查法; 干扰试验

中图分类号: R 286.012

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)03-0266-03

* 收稿日期: 2003-05-30
基金项目: 国家新药基金开发项目(92-11-10); 国家科技部科技型中心企业技术创新基金资助项目(00C26215110425)

Interference test in bacterial endotoxins detection of Shenmai Freeze-dried Powder Injection

GOU Hong, CHENG Yi-fan

(Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400013, China)

Abstract: **Object** To prove the feasibility of bacterial endotoxin test (BET) in Shenmai Freeze-dried Powder Injection by interference test **Methods** Interference primary screening test and interference test were conducted in BET of Shenmai Freeze-dried Powder Injection to detect whether the interference existed or not and to explore the method of removing the interference **Results** There was inhibition on BET with 0.5 EU/mL tachypleus amebocyte lysate (TAL). Interference could be excluded by using 0.25 EU/mL TAL dilution. **Conclusion** It is feasible to use 0.25 EU/mL TAL with

成药的差距。为了验证参麦冻干粉针应用BET 法的可行性, 本实验对参麦冻干粉针的BET 干扰试验进行了研究。

1 材料与仪器

参麦冻干粉针, 规格 30 mg/瓶(用 30 mL 注射用糖水或盐水溶解), 批号: 20020801, 20020802, 20020803, 20021017, 20021105, 20030121, 20030129, 由重庆市中医研究院研制。鲎试剂(TAL) (福州东方鲎试剂厂、湛江海洋生物制品厂产品), 灵敏度 $\lambda = 0.25 \text{ EU/mL}$: 批号 20000808 (东方), 20000809 (东方), 20021109 (海洋), 20030610 (海洋); $\lambda = 0.5 \text{ EU/mL}$: 批号 20000815 (东方), 20010608 (东方), 20021022 (海洋), 20030403 (海洋)。细菌内毒素工作标准品(CSE, 湛江安度斯生物有限公司): 效价为 12 EU/支, 批号: 0110222; 效价为 10 EU/支, 批号: 0304010。细菌内毒素检查用水(BET 水): 2 mL/Amp, 湛江海洋生物制品厂, 批号: 010719, 标示的内毒素含量 $< 0.03 \text{ EU/mL}$, pH 6.8~7.2。

检查用的刻度吸管及器皿经 250 °C, 1.5 h 干热灭菌。旋涡混合器 XW—80A (上海医科大学仪器厂), HHS—112—5 电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)。

2 方法与结果

2.1 TAL, CSE 标示值复核: 经重庆市药品检验所复核, 符合规定。

2.2 TAL 灵敏度复核试验: 按《中华人民共和国药

(东方)		
20002809(东方)	0.25	0.25
20021109(海洋)	0.25	0.30
20030610(海洋)	0.25	0.27
20000815(东方)	0.5	0.42
20010608(海洋)	0.5	0.50
20021022(海洋)	0.5	0.59
20030403(海洋)	0.5	0.42

2.3 参麦冻干粉针的干扰初筛试验

2.3.1 参麦冻干粉针的细菌内毒素理论限值(L): 参麦冻干粉针为静脉注射固体制剂, 成人最大剂量(M)为 $90 \text{ mg}/60 \text{ kg} = 1.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$; 细菌内毒素阈值(K)为 $5.0 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, 则 $L = K/M = 5.0 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h}) \div 1.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h}) = 3.33 \text{ EU/mg}$ 。

2.3.2 参麦冻干粉针的最大有效稀释倍数(MVD): 鲎试剂灵敏度的选择可以在 0.03~0.5 EU/mL, 根据常用和方便选择了 λ 为 0.25 EU/mL 和 0.5 EU/mL 的 TAL, 供试品的最大有效稀释倍数按 $MVD = CL/\lambda$ 计算。用灵敏度为 0.25 EU/mL 的 TAL: $MVD = 13.32$; 用灵敏度为 0.5 EU/mL 的 TAL: $MVD = 6.66$ 。

2.3.3 供试品溶液的稀释: 采用二倍稀释系列, 用 BET 水把样品稀释至半最大有效稀释浓度附近, 配制相同系列浓度的 S 液两组, 稀释倍数分别为 1, 2, 4, 8, S 液浓度分别为 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 mg/mL。

2.3.4 CSE 的稀释: 在上面一组系列浓度的 S 液中均加入 2λ 浓度的内毒素, 即得。

2.3.5 与 TAL 反应: 取 λ 为 0.25 EU/mL 和 0.5

EU /mL 的 TAL , 分别与 S 稀释系列反应为NPC 系列; 与 CSE 稀释系列反应为 PPC 系列, 每个浓度重复 1 次, 结果见表 2。

表 2 参麦冻干粉针的干扰初筛试验结果

Table 2 Interference primary screening test results of Shenmai Freeze-dried Powder Injection

鲎试剂	TAL 批号	S 稀释倍数			
		1	2	4	8
TAL	NPC				

表 2 表明, 供试品 1~ 4 倍稀释液对 TAL 与内毒素的凝集反应有干扰。供试品的 8 倍稀释液对 BET 的干扰作用消失。为了进一步证实, 使用 λ 为 0. 25 EU /mL 的 TAL 与 8 倍稀释度的 S 液做 BET 检查的干扰试验。

2. 4 参麦冻干粉针的干扰试验: 干扰试验参照《中华人民共和国药典》2000 年版二部附录 XI E BET 法和 USP23 BET 凝胶法 结果见表 3。

供制

Table 3 Interference test results of Shenmai Freeze-dried Powder Injection

TAL 批号	BET 水供试品	浓度/(EU · mL ⁻¹)				NC		E _s	E _t
		0. 5	0. 25	0. 125	0. 062 5	(w)	(s)		
20000808	010719	+	+	+	+	-	-	0. 23	
	020801	+	+	+	+	-	-		0. 21
20000809	010719	+	+	+	+	-	-	0. 25	
	020801	+	+	+	+	-	-		0. 30
20021109	010719	+	+	+	+	-	-	0. 30	
	020801	+	+	+	+	-	-		0. 30
20021109	010719	+	+	+	+	-	-	0. 25	
	020802	+	+	+	+	-	-		0. 30
20000809	010719	+	+	+	+	-	-	0. 25	
	020803	+	+	+	+	-	-		0. 25
20030610	010719	+	+	+	+	-	-	0. 27	
	021017	+	+	+	+	-	-		0. 27
20030610	010719	+	+	+	+	-	-	0. 27	
	021105	+	+	+	+	-	-		0. 30
20030610	010719	+	+	+	+	-	-	0. 27	
	030121	+	+	+	+	-	-		0. 27
20030610	010719	+	+	+	+	-	-	0. 27	
	030129	+	+	+	+	-	-		0. 25

3. 2 用灵敏度为 0. 25 EU /mL 的 TAL 检测参麦冻干粉针, 最大有效稀释倍数为 13. 32。选用将 S 原液稀释至 8 倍做干扰试验是基于干扰初筛试验的结果和检测的方便。

3. 3 做好参麦冻干粉针的 BET 检查的干扰试验是鲎法替代免法的关键。因此在做干扰试验的研究时, 采用了两个生产厂家 8 个批次的 TAL 对 7 个不同批号的参麦冻干粉针进行了多次试验, 实验结果基本一致。

3. 4 在进行干扰试验研究前, 对 7 个批号的参麦冻干粉针用免法进行了热原检查, 结果均符合规定。在

完成干扰试验后, 又对相同的 7 个批号的参麦冻干粉针进行了 BET 检查, 结果符合规定。说明参麦冻干粉针不含有鲎试剂不能检出的其他致热物质。

综上所述, 参麦冻干粉针对 BET 的干扰可通过选用灵敏度 ≥ 0. 25 EU /mL 的 TAL 排除, 用 BET 检测参麦冻干粉针的细菌内毒素是可行的。检测时若选用 0. 25 EU /mL 的 TAL , 参麦冻干粉针的稀释倍数只要在 8 至 MVD 的范围内, 由检测人员视方便而选定。

致谢: 朱祯禄主任药师的指导和帮助。