

大蒜素注射液中细菌内毒素检测方法的研究

王宗春¹, 刘 红², 冯晓东¹

(1. 武汉大学人民医院 药学部, 湖北 武汉 430060; 2. 湖北省医药工业研究院, 湖北 武汉 430061)

大蒜素注射液对深部霉菌感染, 如新形隐球菌、白色念珠菌等感染有效, 并适用于治疗深部真菌感染, 如肺部、消化道白色念珠球菌感染, 隐球菌脑膜炎, 中枢神经系统炎症, 伤寒, 百日咳, 细菌性肠炎, 菌痢, 阿米巴痢疾等疾病。本实验采用凝胶法对大蒜素注射液进行干扰试验, 并建立了其中细菌内毒素检查的方法。

1 材料

50~250 μ L 微量取液器(上海金林生化试剂仪器厂); SW—80A 型旋涡混合器(上海医科大学仪器厂); 细菌内毒素检查用水(厦门鲎试剂实验厂, 批号 20030124, 每支 2 mL); 细菌内毒素标准品(中国药品生物制品检定所, 批号 20030721, 每支 10 EU); 鲎试剂(厦门鲎试剂实验厂: 批号 20030401, 灵敏度 1.0 EU/mL; 批号 20030604, 灵敏度 0.5 EU/mL。湛江安度斯生物有限公司: 批号

20030325, 灵敏度 0.5 EU/mL); 细菌内毒素检查用具(厦门鲎试剂实验厂); 大蒜素注射液(上海禾丰制药有限公司, 规格 5 mL: 60 mg, 批号 030223、030421、030615)。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂灵敏度复核^[1]: 将细菌内毒素标准品用细菌内毒素检查用水溶解, 在旋涡混合器上混匀 15 min, 然后稀释成 2.0、1.0、0.5、0.25 λ 4 个浓度等级的内毒素标准溶液, 每稀释一步均应在旋涡混合器上混合 30 s。每一浓度平行做 4 支, 每管加入待复核的鲎试剂 0.1 mL 和内毒素标准溶液 0.1 mL。同时用细菌内毒素检查用水做 2 支阴性对照管, 共 18 管, 轻轻混匀后, 封闭管口, 垂直放入 (37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中, 保温 (60 $\pm$ 2) min, 结果表明 0.5 λ < λ c < 2 λ , 见表 1。

2.2 初筛试验

表 1 鲎试剂灵敏度复核结果

Table 1 Checking result of limulus lysate's sensitivity

厂 家	批 号	λ / (EU $\cdot$ mL ⁻¹)	细菌内毒素浓度				阴性对照	λ c/ (EU $\cdot$ mL ⁻¹)
			2.0 λ	1.0 λ	0.5 λ	0.25 λ		
厦门鲎试剂	20030401	1.0	++++	++++	----	----	---	1.00
	20030604	0.5	++++	++++	----	----	---	0.50
湛江安度斯	20030325	0.5	++++	++++	+---	----	---	0.42

2.2.1 细菌内毒素限值(L)的确定^[2]: 大蒜素注射液临床每次最大用量为 120 mg, 加入于 500 mL 5% 葡萄糖注射液中在 2 h 内滴注完毕, 故 $M=120/(1 \times 60)=2$ mg/(kg $\cdot$ h) (输液时间不足 1 h 按 1 h 计算, 人平均体质量按 60 kg 计算), 静脉注射剂的致热阈值 K 为 5 EU/(kg $\cdot$ h), 因此细菌内毒素限值 $L=K/M=2.5$ EU/mg。

2.2.2 稀释供试品^[2,3]: 以鲎试剂灵敏度 1.0 EU/mL 为基准, 按 $C_{MVD}=\lambda/L=1.0/2.5=0.4$ mg/mL 为样品的基准稀释浓度, 用细菌内毒素检查用水倍比稀释, 得样品质量浓度为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/mL 的系列溶液, 备用。

2.2.3 稀释内毒素工作标准品: 用上述不同质量浓度的样品系列溶液将内毒素标准品稀释成 2.0 EU/mL (2 λ) 的浓度, 备用。

2.2.4 加样及反应^[4]: 进行供试品阴性对照(NPC)和供试品阳性对照(PPC)两个系列的反应。

NPC 系列: 取经灵敏度复核合格的鲎试剂($\lambda=1.0$ EU/mL)加细菌内毒素检查用水溶解, 分别取 0.1 mL 于 10 支反应管中, 再各加入稀释好的供试品 0.1 mL, 每一供试品质量浓度重复两反应管。

PPC 系列: 取鲎试剂($\lambda=1.0$ EU/mL)加细菌内毒素检查用水溶解, 分别取 0.1 mL 于 10 支反应管中, 再各加入稀释好的 2 λ 的内毒素标准品 0.1

收稿日期: 2007-07-17

作者简介: 王宗春(1967—), 男, 江苏省兴化市人, 硕士, 副主任药师, 1991 年毕业于中国药科大学, 1991 年~1993 年工作于中国药科大学, 1993 年至今工作于武汉大学人民医院药学部, 研究方向为中药制剂。
Tel: (027)61235345 E-mail: w-zongchun@163.com

mL, 每一供试品浓度重复两反应管。将两系列的反应管置 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴中, 保温 (60 ± 2) min。反应结果见表 2。

2.3 干扰试验: 根据初筛试验结果, 选择样品稀释质

表 2 大蒜素注射液初筛试验结果

Table 2 Screening test for Allitride Injection

对照	样品稀释浓度/(mg · mL ⁻¹)				
	0.4	0.2	0.1	0.05	0.025
NPC 系列	—	—	—	—	—
PPC 系列	+	++	++	++	++

表 3 大蒜素注射液干扰试验结果

Table 3 Results of interference test for Allitride Injection

厂 家	批 号	内毒素浓度/(EU · mL ⁻¹)				阴性对照	结 果
		1.0	0.5	0.25	0.125		
厦门鲎试剂	检查用水	++++	++++	+-	----	—	Es=0.416
	20030511	++++	++++	----	----	—	Et=0.596
	20030315	++++	++++	+-	----	—	Et=0.416
	20030429	++++	++++	+-	----	—	Et=0.416
湛江安度斯	检查用水	++++	++++	----	----	—	Es=0.596
	20030511	++++	++++	+-	----	—	Et=0.416
	20030315	++++	++++	----	----	—	Et=0.596
	20030429	++++	++++	+-	----	—	Et=0.416

2.4 细菌内毒素检查法与热原检查法对比试验: 取 3 批热原检查合格的大蒜素注射液 (每批各取 5 支) 分别用细菌内毒素检查用水稀释至 0.2 mg/mL, 使用灵敏度为 0.5 EU/mL 的鲎试剂按药典方法检查, 结果全部呈阴性。

3 讨论

注射剂质量控制中, 采用家兔法控制细菌内毒素, 由于操作复杂, 影响因素多, 而且费时, 采用鲎试验法操作简单、迅速且灵敏度高。

初筛试验只是一种预试验, 最终要经干扰试验验证, 其目的是评价样品质量浓度对鲎试剂与内毒素凝集反应的干扰程度及干扰性质, 以便初步筛选出对检查无干扰的样品质量浓度范围及相应的鲎试

剂灵敏度, 从而为干扰试验提供必要的参数, 避免鲎试剂的浪费。样品对细菌内毒素检查的干扰性质为抑制作用, 质量浓度为 0.4 mg/mL 时对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应呈不明显的干扰作用, 质量浓度为 0.2 mg/mL 时无干扰作用, 故选择灵敏度为 0.5 EU/mL 的鲎试剂对相应的样品稀释质量浓度作干扰试验。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 二部. 2005.
- [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] 何清林, 田 洪. 不同浓度依达拉酮注射液的细菌内毒素检测方法[J]. 中国医院药理学杂志, 2003, 23(5): 270.
- [4] 施 震, 尹银嘉, 李 华. 注射用头孢替唑中细菌内毒素的检测[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(5): 377.

HPLC 法测定四味益气胶囊中人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg₁

郑新元¹, 赵 晨¹, 黎先军², 吕曙华¹

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津宏仁堂制药有限公司, 天津 300122)

四味益气胶囊是由人参茎叶总皂苷、维生素 E、维生素 B₂ 和刺五加提取物等加工制成的制剂, 具有益气健脾等功效, 主要适用于气虚证, 症见精神倦

怠, 气短乏力, 食欲不振, 肢冷, 健忘等。处方中人参茎叶总皂苷为君药, 故参考有关文献报道^[1,2]以人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg₁ 为定量指标, 制定人参茎

大蒜素注射液中细菌内毒素检测方法的研究

作者：[王宗春](#)，[刘红](#)，[冯晓东](#)
作者单位：[王宗春, 冯晓东 \(武汉大学人民医院药学部, 湖北, 武汉430060\)](#)，[刘红 \(湖北省医药工业研究院, 湖北, 武汉430061\)](#)
刊名：[中草药](#) 
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (5)
被引用次数：1次

参考文献(4条)

1. [中华人民共和国药典\(二部\)](#) 2005
2. [黄清泉;夏振民](#) [药品细菌内毒素检查的实验设计](#) 1997 (02)
3. [何清林;田洪](#) [不同浓度依达拉酮注射液的细菌内毒素检测方法](#) [期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2003 (05)
4. [施震;尹银嘉;李华](#) [注射用头孢替唑中细菌内毒素的检测](#) [期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2003 (05)

本文读者也读过(10条)

1. [蔡晓青](#) [大蒜素注射液过敏1例报告](#) [期刊论文]-[中国中西医结合杂志](#) 2007, 27 (12)
2. [吴秀珍. 傅颖媛. 李剑平. 陶建华. 刘婷](#) [黄芩苷对白色念珠菌超微结构的影响](#) [期刊论文]-[江西医学院学报](#) 2007, 47 (4)
3. [王军. 张倩](#) [甲氧沙林分散片的研制及其体外性质考察](#) [期刊论文]-[中国药师](#) 2008, 11 (8)
4. [郭成希. 刘新云. Guo Xianxi. Liu Xinyun](#) [N-三甲基壳聚糖对丙酸倍氯米松凝胶体外促透作用的考察](#) [期刊论文]-[中国药师](#) 2009, 12 (11)
5. [乐岭. 赵林双. 夏帮顺](#) [大蒜素膀胱冲洗治疗尿路白色念珠菌感染](#) [期刊论文]-[华南国防医学杂志](#) 2000, 14 (4)
6. [刘文利. 王惠兰. LIU Wenli. WANG Huilan](#) [大蒜素注射液减轻化疗不良反应及提高患者生活质量的临床观察](#) [期刊论文]-[河北医药](#) 2009, 31 (4)
7. [管军. 杨兴易. 赵良. 林兆奋. 许永华. 刘军英. 严鸣](#) [大蒜素注射液预防真菌性呼吸机相关肺炎的体会及意义](#) [期刊论文]-[中国急救医学](#) 2003, 23 (10)
8. [迟芳振. 刘群. 李伟妮](#) [黄柏胶囊中盐酸小檗碱的含量测定](#) [期刊论文]-[医药导报](#) 2005, 24 (9)
9. [任保艳. 杨文勇](#) [真菌性阴道炎患者菌种分布及耐药性分析](#) [期刊论文]-[医学理论与实践](#) 2011, 24 (1)
10. [罗云. 刘刚. LUO Yun. LIU Gang](#) [荧光素钠滴眼液的制备及质量控制](#) [期刊论文]-[中国药房](#) 2008, 19 (4)

引证文献(1条)

1. [细菌内毒素定量检测方法在中药注射剂质量控制中的应用研究](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2009 (12)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805023.aspx