

鲎试验法检测盐酸林可霉素内毒素

解放军 55301 部队(山东 277000) 马守江

近几年来,国内外在内毒素的结构、功能、检测以及应用方面的研究不断深入。随着内毒素检测技术的不断发展,药品热原的家兔检测法正逐步稳妥地被鲎试验法所代替^{[1][2]},笔者试用鲎试验法检测盐酸林可霉素内毒素获得成功,建立了盐酸林可霉素内毒素的鲎试验法,报告如下。

一、实验仪器和材料

内毒素测定仪: CNX-I 型,江苏无锡洛社实验电器厂。

内毒素: RSE 1200 Eu/支,924,中国药品生物制品检定所;鲎试剂: 0.5Eu/ml, 920901, 厦门鲎试剂厂;鲎试剂溶解剂:

920902, 厦门鲎试剂厂提供;注射用盐酸林可霉素: 0.6,921124,靖江葡萄糖厂。

实验用注射器、针头、试管、镊子等均经 270℃, 1 h 除热原。

二、方法与结果

配制含内毒素浓度相同的盐酸林可霉素浓度梯度系列溶液,各取 0.1 ml 与 0.1ml 鲎试剂溶液混匀后,置 37±1℃ 内毒素测定仪内,监测每支试管的凝胶反应时间。每一药物浓度做 2 支,同时做阴性、阳性(含内毒素与盐酸林可霉素溶液中内毒素浓度相同)。结果见表 1。

表 1 不同浓度盐酸林可霉素对鲎试验凝胶时间的影响

林可霉素注射液(mg)	600	300	150	75	37.5	18.75	0
内毒素(Eu/ml)	100	100	100	100	100	100	100
凝胶时间(h)	/	/	0.6917	0.2681	0.1986	0.1497	0.1500

结果表明,稀释32倍的盐酸林可霉素对鲎试验无干扰作用。

将稀释32倍的盐酸林可霉素做为最大有效稀释(MVD)

产品效价: 300mg/ml; 内毒素限量: 0.5 Eu/mg。

由 $MVD = \text{内毒素限量} \times \text{产品效价} / \lambda$
得: $\lambda = 4.7 \text{ Eu/ml} \cdot \text{h}$

所以,盐酸林可霉素的内毒素检测法是:用无热原蒸馏水将供试品稀释至浓度为 18.75 mg/ml,用灵敏度小于 4.7 Eu/ml·h 的鲎试剂依法^[3]进行检测即可。

讨 论

本实验为盐酸林可霉素的检测提供了一种简便可靠的方法。用该法控制盐酸林可霉素的内毒素最高含量,仅为中国药典法检测其热原最高限量的 1/20。笔者用灵敏度为 0.5 Eu/ml·h 的鲎试剂依法检测 4 批不同厂家生产的注射用盐酸林可霉素内毒素,结果均为阴性,与家兔法完全一致。所以,鲎试验做为检测盐酸林可霉素内毒素的初试方法是可行的。

考虑到无法确认实验用盐酸林可霉素绝对无热原污染,试验前先将其用 0.3 mg/kg

的剂量进行家兔法热原检查,结果阴性。家兔的致热阈值为 10 Eu/kg,证实实验用盐酸林可霉素的内毒素含量在 10 Eu/ml 以下,本实验选用 100 Eu/ml 的内毒素进行试验,稀释4倍的盐酸林可霉素才出现凝胶反应(药物中的内毒素同样被稀释 4 倍),可以认为,药物所含内毒素不会对实验结果产生影响。

实验用鲎试剂溶解剂溶解鲎试剂,因鲎

试剂溶解剂具有一定的缓冲能力,可消除药物 pH 值对鲎试验的影响。

参 考 文 献

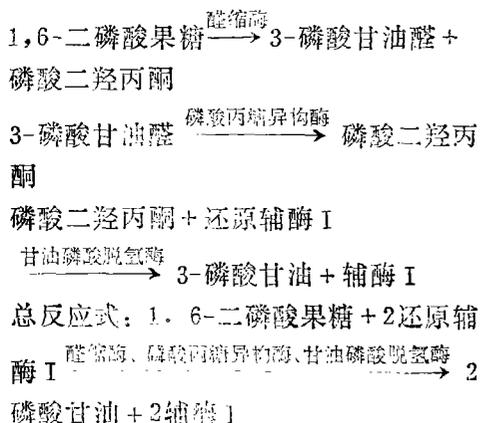
- [1] 周海钧.热原的本质.药学通报,1988, 23(5):277
- [2] USP 21th NF 16th,1984:1164
- [3] 部颁标准.细菌内毒素检查法,1991:22

果糖二磷酸钠注射液含量测定

海军医学研究所(上海 200433) 杨其库 徐汉标

果糖二磷酸钠是去年国家批准的二类新药,其粉针剂主要用于心血管系统疾病的治疗。果糖二磷酸钠含量的法定测定方法是二苯胺法,本注射液采用酶法。与二苯胺法相比,酶法专属性较强,准确度和精密度也符合制剂测定要求,不需要对照品,操作简便。现将酶法研究的要点介绍如下:

一、化学反应式



二、试剂配制

1. 0.1mol/l, pH7.6Tris溶液:称取6.06gTris(A.R)溶于400ml的水,稀盐酸调 pH 到7.6.加水稀释至 500 ml。

2. 复合酶液:取 1 ml 复合酶浆状物(自提),溶于 250 mlTris 溶液,轻轻摇匀,取 50 ml 作为三酶溶液; 剩余 200 ml 加还原辅酶 I, 加量控制在 340 nm 处吸光度为 0.6~0.8,作为四酶溶液。

3. 样品溶液:精密量取本品 5 ml 于 50 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,精取 2 ml 于 100 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

三、测定方法

三酶和四酶溶液各精取 3 ml 分置于石英比色皿的对照杯与样品杯中,在 340nm 处以对照杯调零,读记样品杯的吸光度为 E。然后在对照杯和样品杯分别加入 0.1 ml 样品溶液,用玻棒搅匀,经过 2 分钟以对照杯调零,读记样品杯的吸光度为 E₁。

重量容积百分比计算公式:

$$\begin{aligned}
 \text{果糖二磷酸钠}\% &= \frac{E_0 - E_1 \times \frac{3.1}{3}}{6.22 \times 10^3} \times \frac{M}{2000} \\
 &\times 3 \times \frac{100}{V} \times F
 \end{aligned}$$