

Stella VJ等^[11]曾在文献中提到药物环糊精的包合常数 K 一般在 $100 \sim 20\,000 \text{ mol/L}$ 之间,本文测得的 K 值较小,说明药物与环糊精之间的作用力较弱,主要是分子之间的范德华力和氢键作用力。

参考文献:

- [1] 宋沁馨,于立杰. 多西他赛的临床应用进展[J]. 中国新药杂志, 2001, 10(12): 900.
- [2] Immodino ML, Brusa P, Apicco S, *et al* Preparation, characterization, cytotoxicity and pharmacokinetics of liposomes containing docetaxel[J]. J Controlled Release, 2003, 91(4): 417.
- [3] Dhanikula AB, Khalid NM, Lee SD, *et al* Long circulating lipid nanocapsules for drug detoxification[J]. Biomaterials, 2007, 28(6): 1248.
- [4] Jakate AS, Einhaus CM, DeAnglis AP, *et al* Preparation, characterization, and preliminary application of fibrinogen-coated olive droplets for the targeted delivery of docetaxel to solid malignancies[J]. Cancer Res, 2003, 63(21): 7314.
- [5] 王文波,卞淑琴. 浅谈环糊精在药物制剂中的应用及其作用机制[J]. 中国制药信息, 2001, 17(2): 21.
- [6] Gould S, Scott RC. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review[J]. Food Chem Toxicol, 2005, 43(10): 1451.
- [7] 谢伯泰,杨国武,谢薇梅. 羟丙基-环糊精特性及其在医药领域中的应用与安全性[J]. 国外医药:合成药、生化药、制剂分册, 2002, 23(5): 302.
- [8] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 1998: 32.
- [9] 王敏,任勇,马学琴,等. 盐酸哌唑嗪/羟丙基-环糊精包合作用研究[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(5): 423.
- [10] Pekka J, Arto U, David WP, *et al* Increase in aqueous solubility, stability and in vitro corneal permeability of anandamide by hydroxypropyl- β -cyclodextrin[J]. International Journal of Pharmaceutics 1996, 137(2): 209.
- [11] Stella VJ, Rajewski RA. Cycloextrins: their future in drug formulation and delivery[J]. Pharm Res, 1997, 14(5): 556.

收稿日期: 2007-10-08

复方氯解磷定注射液细菌内毒素的检查方法

高锦¹,付聪²,嵇扬¹,聂渝琼¹,胡丹¹ (1. 总后勤部卫生部药品仪器检验所,北京 100071; 2. 中国人民解放军第307医院药学部,北京 100039)

摘要 目的:建立复方氯解磷定注射液细菌内毒素检查法。方法:采用《中国药典》2005年版附录细菌内毒素检查法。结果:复方氯解磷定注射液稀释至含氯解磷定 10 mg/mL 及以下浓度时,用灵敏度为 0.25 EU/mL 的鲎试剂检测细菌内毒素,无干扰因素影响。结论:复方氯解磷定注射液细菌内毒素限值确定为 0.2 EU/mg ,可应用鲎试剂进行细菌内毒素法检查。

关键词 复方氯解磷定注射液;细菌内毒素;干扰试验

中图分类号: R927.11 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)02-0133-03

Application of bacterial endotoxin test to compound pralidoxime chloride injection

GAO Jin¹, FU Cong², JI Yang¹, NIE Yu-Qiong¹, HU Dan¹ (1. Institute for Drug and Instrument Control of Health Dept GLD of PLA, Beijing 100071, China; 2. Department of Pharmacy, 307 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

ABSTRACT Objective: To establish an application of bacterial endotoxin test to compound pralidoxime chloride injection. **Methods:** The experiment was carried out based on the bacterial endotoxin test in Chinese pharmacopoeia 2005 edition. **Results:** It was proved that the maximum noninterference concentration of compound pralidoxime chloride injection was pralidoxime chloride 10 mg/mL and the sensitivity of TAL was 0.25 EU/mL . **Conclusion:** The results suggested that the bacterial endotoxin test was suitable for the detection of endotoxin in compound pralidoxime chloride injection and the bacterial endotoxin limit was 0.2 EU/mg .

KEY WORDS compound pralidoxime chloride injection; bacterial endotoxin test; interfere factors test

复方氯解磷定注射液是将具有较强中枢作用和外周作用的抗胆碱药(硫酸阿托品与盐酸苯那辛)与起效快的胆碱酯酶重活化剂(氯解磷定)配

伍而成。有机磷中毒时,胆碱酯酶失活,大量乙酰胆碱堆积,该药能竞争地与M胆碱受体结合,从而对抗乙酰胆碱的作用,对失活的胆碱酯酶亦有重新活化的作用。该药是《国家药品标准》收载的品种,原质量标准中无热原检查项,对复方氯解磷定注射液细菌内毒素检查法的研究,未见国内文献报道。为了更好的对该注射剂进行质量控制,本文参照《中国药典》2005年版^[1]二部附录细菌内毒素检查法,对复方氯解磷定注射液应用鲎试剂进行细菌内毒素检查的可行性做了研究。

1 药品和试剂

复方氯解磷定注射液(北京四环医药科技股份有限公司。规格:2 mL:0.4 g氯解磷定;3 mg硫酸阿托品;3 mg盐酸苯那辛;批号:0702081,0708081,0708082);鲎试剂(以下简称TAL,湛江安度斯生物有限公司。规格0.1 mL,批号0512072,灵敏度0.25 EU/mL;批号0612291,灵敏

度0.25 EU/mL;厦门鲎试剂实验厂有限公司,规格0.1 mL,批号051033,灵敏度0.25 EU/mL);细菌内毒素工作标准品(以下简称WSE,中国药品生物制品检定所,效价150 EU/支,批号2003-3);细菌内毒素检查用水(以下简称BET水,中国药品生物制品检定所,规格10 mL,批号2003-3)。

2 方法和结果

2.1 细菌内毒素限值(L)的确定 根据复方氯解磷定注射液说明书得知该药用法用量为:静脉注射,规格为2 mL:0.4 g氯解磷定,重度中毒3支(以下浓度均为含氯解磷定浓度)。根据公式: $L = K/M$,其中M为 $1200 \text{ mg}/(60 \text{ kg} \cdot \text{h}) = 20 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$; $K = 5 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,则限值 $L = 0.25 \text{ EU}/\text{mg}$,考虑到重症可能联合用药,最终确定限值为0.2 EU/mg

2.2 鲎试剂灵敏度复核 按照《中国药典》2005年版细菌内毒素检查法规定^[1],进行鲎试剂的标示灵敏度复核,结果见表1。

表1 鲎试剂灵敏度复核

批号	标示灵敏度, (EU/mL)	内毒素浓度 (EU/mL)					灵敏度, c (EU/mL)
		0.5	0.25	0.125	0.06	阴性	
0512072	0.25	++++	++++	----	----	--	0.25
0612291	0.25	++++	++++	----	----	--	0.25
051033	0.25	++++	++++	----	----	--	0.25

3批鲎试剂经细菌内毒素工作标准品检查 c 与 一致,结果均符合规定。

2.3 干扰试验预试验

2.3.1 复方氯解磷定注射液有效稀释浓度(maximum valid concentration, MVC)的计算 计算公式为 $MVC = L$,其中L为复方氯解磷定注射液的细菌内毒素限值0.2 EU/mg, 为鲎试剂标示灵敏度,目前市售鲎试剂灵敏度 通常在0.5~0.03 EU/mL,则复方氯解磷定注射液的对应有效稀释浓度为: $C_{0.5} = 2.5 \text{ mg}/\text{mL}$; $C_{0.25} = 1.25 \text{ mg}/\text{mL}$; $C_{0.125} = 0.625 \text{ mg}/\text{mL}$; $C_{0.06} = 0.3 \text{ mg}/\text{mL}$; $C_{0.03} = 0.15 \text{ mg}/\text{mL}$ 。

2.3.2 实验操作 将复方氯解磷定注射液(0702081)用

BET水稀释为含氯解磷定浓度20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125 mg/mL的溶液,将此系列浓度溶液记为NPC(negative product control)。另制备同样系列浓度的供试液,并使每一浓度的供试液中均含有2 (0.5 EU/mL)浓度的细菌内毒素,记此系列溶液为PPC(positive product control)。取灵敏度为0.25 EU/mL的鲎试剂,分别与上述NPC和PPC进行反应,每一浓度重复两管,并设阳性对照记为PC(positive control)和阴性对照记为NC(negative control),混匀后封口,置37 恒温水浴60 min,结果见表2。

表2 复方氯解磷定注射液干扰预试验结果(鲎试剂批号:0512072, =0.25 EU/mL)

样品		样品浓度 (mg/mL)						NC	PC
		20	10	5	2.5	1.25	0.625		
批号 0702081	NPC	--	--	--	--	--	--	--	++
	PPC	--	++	++	++	++	++	++	

NPC:用细菌内毒素检查用水稀释的复方氯解磷定注射液;PPC:含有2 浓度细菌内毒素的复方氯解磷定注射液

干扰试验预试验结果表明:用灵敏度为0.25 EU/mL的鲎试剂对复方氯解磷定注射液的

细菌内毒素试验,结果在10 mg/mL及以下浓度时无抑制干扰。

2.4 正式干扰试验 为了最终确认是否存在抑制因素的影响,进行正式干扰试验。取 3 批复方氯解磷定注射液样品用 BET水稀释至 1.25 mg/mL,用该浓度溶液和 BET水分别将 WSE稀释为含内毒素 0.5 (2)、0.25 ()、0.125 (0.5)、0.06

(0.25) EU/mL的溶液,分别与 2个厂家灵敏度为 0.25 EU/mL的鲎试剂反应,每一浓度重复 4管,并设阴性对照,按《中国药典》2005年版细菌内毒素检查供试品干扰试验项进行实验^[1],结果见表 3。

表 3 复方氯解磷定注射液的干扰试验

鲎试剂批号 (=0.25 EU/mL)	样品	内毒素浓度 (EU/mL)				阴性对照 (NC)	Es(EU/mL)	Et(EU/mL)
		0.5	0.25	0.125	0.06			
0612291	水溶液	++++	++++	----	----	--	0.25	
	0702081	++++	++++	----	----	--		0.25
	0708081	++++	++++	----	----	--		0.25
	0708082	++++	++++	----	----	--		0.25
051033	水溶液	++++	++++	----	----	--	0.25	
	0702081	++++	++++	----	----	--		0.25
	0708081	++++	++++	----	----	--		0.25
	0708082	++++	++++	+-	----	--		0.21

正式干扰试验结果表明:液浓度为 1.25 mg/mL,3批复方氯解磷定注射,用 2个厂家灵敏度均为 0.25 EU/mL的鲎试剂进行试验,结果 Es/E_t均在 0.5~2.0范围之内,符合药典规定,确认无干扰影响。

2.5 样品细菌内毒素检查 按《中国药典》2005年版细菌内毒素检查法^[1],将 3批复方氯解磷定注射液样品稀释至浓度为 1.25 mg/mL,用 2个厂家灵敏度为 0.25 EU/mL的鲎试剂进行细菌内毒素检查,结果见表 4。

表 4 复方氯解磷定注射液细菌内毒素检查结果

鲎试剂批号	供试品批号	供试品	供试品阳性对照	阳性对照	阳性对照	结果
0612291	0702081	--	++	++	--	符合规定
	0708081	--	++	++	--	符合规定
	0708082	--	++	++	--	符合规定
051033	0702081	--	++	++	--	符合规定
	0708081	--	++	++	--	符合规定
	0708082	--	++	++	--	符合规定

3 讨论与结论

由预干扰试验结果可知复方氯解磷定注射液稀释至 10 mg/mL 及以下浓度后与灵敏度为 0.25 EU/mL的鲎试剂反应无抑制性干扰。正式干扰试验用 3批样品稀释至浓度为 1.25 mg/mL,用 2个厂家灵敏度为 0.25 EU/mL的鲎试剂进行试验,结果 Es/E_t均在 0.5~2.0范围之内,确认无干扰影响。对 3批复方氯解磷定注射液依法检验(《中国药典》2005年版二部附录细菌内毒素检查

法^[1]),结果均符合规定。

实验结果证实,复方氯解磷定注射液细菌内毒素限值确定为 0.2 EU/mg,可应用鲎试剂进行细菌内毒素法检查。因此为提高药品质量标准,更有效的控制药品质量,建议复方氯解磷定注射液增加细菌内毒素检查项。

参考文献:

[1] 中国药典.二部[S].附录,2005:85~88.