

鲎试剂法检测抗生素类药品的细菌内毒素

李敏红,汪穗福,刘效昌

(广州市医药中专学校,广东 广州 510430)

中图分类号:R915

文献标识码:B

文章编号:1006-4931(2001)02-0018-01

摘要 综述 1995~1999 年间鲎试剂法用于检测抗生素类药品细菌内毒素的研究情况。

关键词 鲎试剂法;抗生素类药品;细菌内毒素

细菌内毒素检查法(简称鲎试剂法,IT法),是运用鲎试剂与细菌内毒素产生凝集反应的机理,以判断供试品中细菌内毒素是否符合规定的一种方法。与传统的家兔法比较,用该法检测药品中的热原质,具有灵敏度高,重现性好,标准化,实验过程时间短,消耗样品量少,所用设备简单,费用低,且一次可完成多批供试品检测等优点。在《中国药典》2000年版新收载的用细菌内毒素检查法检验的47个品种中有22种为抗生素类药物。本文就《中国药典》(2000版)尚未收载的抗生素品种,简要综述国内学者在1995~1999年间进行的鲎试验情况,供同行们参考。

1 青霉素类抗生素

李敏玲等^[1]对44批注射用氨苄青霉素钠进行了细菌内毒素的检测,发现氨苄青霉素钠溶液在浓度为25、12.5mg/ml时对鲎试剂有抑制作用,10mg/ml为最高非抑制浓度,且未超过最大有效稀释浓度(1:80)。在实验中各浓度氨苄青霉素钠液酸碱性均在pH8.0以上,而鲎试剂的最佳pH在6.25~7.25,氨苄青霉素钠液(10mg/ml)与等量鲎试剂的混合液pH为7.0,表明鲎试剂有一定的缓冲作用,可克服氨苄青霉素钠液碱度的影响。实验结果表明鲎试剂法可克服家兔法对氨苄青霉素中微量内毒素不敏感的缺点。

刘穗和袁小波^[2]进行了注射用氨苄西林钠细菌内毒素检测方法的探讨,所用鲎试剂灵敏度为0.5EU/ml。当注射用氨苄西林钠浓度为20mg/ml时,样品对鲎试剂有明显的抑制作用,样品稀释至10mg/ml,对鲎试剂无抑制作用。此浓度比1995年版《中国药典》二部家兔法使用的浓度(25mg/ml)低2.5倍,与临床用药浓度接近,能够代表实际用药情况,且鲎试剂的缓冲作用可克服注射用氨苄西林钠碱性对试验的影响,可采用此方法。

2 头孢菌素类抗生素

隋丽娅等^[3]对头孢唑林钠进行了细菌内毒素检查法的实验研究,本品对细菌内毒素检查法有一定的抑制作用,但对0.5EU/ml或更高灵敏度的鲎试剂在使用最小有效浓度时可排除干扰因素。此法在USP23-NF18中该品种规定限值为0.15EU/ml,我国的理论限值为0.08UE/ml,表明按1995年版《中国药典》该品种家兔法剂量60mg/ml,1ml/kg换算成的限值USP23版规定更严格。细菌内毒素检查法与家兔法实验结果均为阴性,说明本品适宜用该法检查。

焦庆安等^[4]对注射用头孢哌酮钠120批样品做了与家兔法平行的检查。用灵敏度为0.06EU/ml的鲎试剂试验,发现样品浓度在2.5mg/ml以下没有抑制作用;而当样品浓度为1.6mg/ml时,119批样品呈阴性,1批呈阳性。换用0.125EU/ml灵敏度的鲎试剂检测这批阳性样品,结果不凝集,其细菌内毒素含量为0.078EU/mg,低于美国药典23版的限值(0.20EU/mg),家兔法结果也均为阴性。

陈吉生等^[5]对注射用头孢噻肟钠进行了细菌内毒素检查,通过

干扰试验证明样品对细菌内毒素检查的干扰性质为抑制作用,使用 $\lambda=0.5$ 或0.25EU/ml的鲎试剂将样品稀释至浓度为2.5或1.25mg/ml,可消除其对检查的干扰。本品按《中国药典》1995年版规定的热原检查剂量100mg/kg计算,其内毒素限值应为0.05EU/mg,与美国药典的限值要求0.2EU/mg比较有4倍的差距。在该实验中按人用最大剂量计算,其限值为0.19EU/ml与美国药典的限值要求十分接近。实验结果表明,对注射用头孢噻肟钠可以用细菌内毒素检查法取代热原检查法。梁希月和李仁秋^[6]亦对注射用头孢噻肟钠进行了检测,鲎试剂灵敏度为0.5EU/ml,当稀释浓度为10000U/ml时,既不会对鲎试剂产生抑制作用又可检出细菌内毒素,结果与家兔法一致,说明该法作为临床上确定该药物的热原反应方法是可行的。

3 氨基糖甙类抗生素

陶静婷^[7]用细菌内毒素检查取代热原检查单硫酸卡那霉素,结果表明样品的细菌内毒素限度不超过0.13EU/mg卡那霉素,符合美国药典23版的要求(0.67EU/mg卡那霉素)。

硫酸卡那霉素注射液美国药典22版第5增补本已采用鲎试剂法检查而《中国药典》1995年版二部仍规定用家兔法检查热原。戴子贞、陈宝清^[8]用鲎试剂检查法检查12批硫酸卡那霉素注射液并做了十批试验,结果均为阴性,可用该法取代家兔法。范兵等^[9]也做了硫酸卡那霉素注射液的细菌内毒素检查,所用鲎试剂灵敏度为0.25EU/ml,本品2000U/ml溶液不干扰细菌内毒素检查,结果75批样品均未检出细菌内毒素阳性情况,与家兔法一致。

4 四环素类抗生素

张成文^[10]对注射用盐酸四环素等12种抗生素进行了细菌内毒素检测,所用鲎试剂灵敏度为1EU/ml,按药品效价浓度稀释10倍(即得2.5mg/ml)试验,证明鲎试剂法可用于测定盐酸四环素中的细菌内毒素。

5 喹诺酮类抗生素

马静芬^[11]进行了硫酸阿米卡星注射液的细菌内毒素检测方法的研究,鲎试剂灵敏度为0.25EU/ml,样品1:10稀释后无抑制增强作用,结果12批样品热原检查均符合规定。柯正方和袁惠德^[12]亦考察了硫酸阿米卡星注射液细菌内毒素检查法的可行性,实验表明1:40的样品溶液无干扰作用,将硫酸阿米卡星注射液稀释40倍可用灵敏度为0.5EU/ml的鲎试剂作细菌内毒素检查,结果与家兔法一致。

6 其他类型抗生素

陈琼和杨斌^[13]采用细菌内毒素检查法对注射用盐酸阿霉素进行可行性试验,证明采用鲎试剂灵敏度为0.06EU/ml,将样品浓度稀释为0.55mg/ml,检查结果与热原检查法一致。

参考文献:

- [1] 李敏玲,李剑方,邱文庆. 鲎试剂检测注射用氨苄青霉素钠中内毒素的研究[J]. 中国药杂志,1996,31(2):104.
- [2] 刘穗,袁小波. 注射用氨苄西林钠细菌内毒素检测方法的探讨[J].

牛黄消炎片的薄层色谱鉴别

祝君¹, 霍霞¹, 侯连芬²

(1. 齐齐哈尔市药品检验所, 黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省依安县药品检验所, 黑龙江依安 161500)

中图分类号: R927

文献标识码: B

文章编号: 1006-4931(2001)02-0019-01

摘要 采用薄层色谱法(TLC)对牛黄消炎片中主要成分牛黄、大黄和蟾酥进行定性鉴别, 以便控制其内在质量。

关键词 牛黄消炎片; 鉴别; 薄层色谱

牛黄消炎片是由牛黄、大黄和蟾酥等7味中药材组成的中成药, 功能清热解毒, 消肿止痛, 用于治疗咽喉肿痛、痈、疔等, 有很好的疗效。该制剂收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第七册, 但原标准仅列出显微鉴别一项。为提高该品种的质量标准, 我们用薄层色谱法对其主要成分牛黄、大黄和蟾酥进行定性鉴别。

1 实验材料

365紫外分析仪(上海科艺光学仪器厂), 硅胶G、硅胶H(青岛海洋化工厂生产), 所用试剂均为分析纯。

胆酸、猪去氧胆酸、大黄酸、雌甾毒配基对照品, 大黄对照药材均由中国药品生物制品检定所提供。

牛黄消炎片为市售品, 分别由哈尔滨世一堂制药厂、齐齐哈尔市鼎恒升制药厂、大兴安岭乌苏里江制药厂、齐齐哈尔市第二制药厂生产。

中药牛黄、大黄、蟾酥等均购自齐齐哈尔市药材公司, 经鉴定与《中国药典》1995年版所收载的品种相同。

2 实验方法

2.1 牛黄的定性鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备: 取牛黄消炎片4片, 研细, 加氯仿20ml研磨10分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇1ml使溶解即得。

2.1.2 阴性对照溶液的制备: 取不含牛黄的本处方药材, 按牛黄消炎片的生产工艺及其供试品溶液的制备方法制备。

2.1.3 对照品溶液的制备: 取胆酸、猪去氧胆酸对照品加甲醇制成每毫升各含1mg的混合溶液。

2.1.4 薄层条件及结果

层析板制备: 取青岛海洋化工厂市售的硅胶G, 涂布成0.5mm的薄层板, 105℃活化30分钟, 置干燥器中备用。

分别吸取上述三种溶液各5μl, 点于同一硅胶G板上, 以正己烷-醋酸乙酯-醋酸-甲醇(20:25:2:3)的上层溶液为展开剂, 展开, 展距8cm, 取出, 晾干, 喷以10%硫酸乙醇溶液, 在105℃烘约10

分钟, 置紫外光灯(365nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的两个荧光斑点; 在与阴性对照溶液色谱相应的该位置上, 无相同颜色的荧光斑点, 结果见图1。

2.2 大黄的定性鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备: 取牛黄消炎片20片, 研细, 加甲醇30ml, 浸液1小时, 过滤, 取滤液10ml, 蒸干; 残渣加水10ml使溶解, 再加盐酸1ml, 置水浴上加热30分钟, 立即冷却; 用乙醚提取两次, 每次20ml, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加氯仿溶解, 使成1ml即得。

2.2.2 阴性对照溶液的制备: 取不含大黄的本处方药材, 按牛黄消炎片的生产工艺及其供试品溶液的制备方法制备。

2.2.3 对照品溶液的制备: 取大黄酸对照品加甲醇制成每毫升含1mg的混合溶液。

2.2.4 薄层条件及结果

层析板制备: 取青岛海洋化工厂市售的硅胶H, 加0.3%羧甲基纤维素钠溶液, 涂布成0.3mm的薄层板, 105℃活化30分钟, 置干燥器中备用。

分别吸取上述三种溶液各4μl, 点于同一硅胶H板上, 以石油醚-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 上行展开, 展距7cm, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm)下检视, 供试品色谱在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的五个荧光斑点; 在与阴性对照溶液色谱相应的该位置上, 无相同颜色的荧光斑点。再将该薄层板置氨气中熏数分钟后, 在日光下检视, 斑点变为红色, 结果见图2。

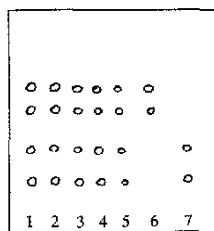


图1 牛黄的薄层色谱图

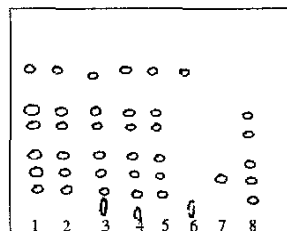


图2 大黄的薄层色谱图

1-5. 牛黄消炎片 6. 阴性对照液 7. 胆酸、猪去氧胆酸对照品 8. 大黄对照药材

中国药业, 1999, 8(5):40.

[3] 隋丽娅, 张吉增, 黄萍. 注射用头孢唑林钠的细菌内毒素检查[J].

中国抗生素杂志, 1998, 23(6):467.

[4] 焦庆安, 赖婉枫, 吕浩然, 等. 注射用头孢唑林钠热原检查法和细菌内毒素检查法的比较性研究[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(增刊):478.

[5] 陈吉生. 注射用头孢唑林钠细菌内毒素检查方法的研究[J]. 中国现代应用药学, 1999, 16(5):41.

[6] 梁希月, 丽仁秋. 注射用头孢唑林钠细菌内毒素检测方法的研究[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(5):325.

[7] 陶钢静. 单硫酸卡那霉素细菌内毒素检查的研究[J]. 上海医药, 1999, 20(1):33.

[8] 戴子页, 陈宝清. 鉴别剂检查硫酸卡那霉素注射液中的细菌内毒素[J].

中国药理学杂志, 1996, 31(6):337.

[9] 范兵, 傅文, 王慧川. 三种抗生素注射剂的细菌内毒素检查法研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1998, 20(2):148.

[10] 张成文. 鉴别剂用于检测抗生素中的内毒素[J]. 海洋药物, 1986, 5(4):23.

[11] 马静芬. 硫酸阿米卡星注射液的细菌内毒素检测方法研究[J]. 中国药业, 1998, 7(3):15.

[12] 柯正方, 袁惠德. 硫酸阿米卡星注射液的鉴别细菌内毒素检测[J]. 中国医院医学杂志, 1999, 19(5):285.

[13] 陈琼, 杨斌. 注射用盐酸阿霉素细菌内毒素检查法的研究[J]. 广东药学院学报, 1998, 14(2):108.

(收稿日期: 2000-06-08)

鲎试剂法检测抗生素类药品的细菌内毒素

作者: 李敏红, 汪穗福, 刘效昌
作者单位: 广州市医药中专学校, 广东广州 510430
刊名: 中国药业 **ISTIC**
英文刊名: CHINA PHARMACEUTICALS
年, 卷(期): 2001, ""(2)
被引用次数: 4次

参考文献(13条)

1. 李敏玲, 李剑青, 邱文庆. 鲎试验检测注射用氨苄青霉素钠中内毒素的研究 1996(02)
2. 刘穗, 袁小波. 注射用氨苄西林钠细菌内毒素检测方法的探讨
3. 隋丽娅, 张吉增, 黄萍. 注射用头孢唑林钠的细菌内毒素检查 1998(06)
4. 焦庆安, 赖婉枫, 吕浩然. 注射用头孢哌酮钠热原检查法和细菌内毒素检查法的比较性研究 1995(z1)
5. 陈吉生. 注射用头孢噻肟钠细菌内毒素检查方法的研究[期刊论文]-中国现代应用药学 1999(05)
6. 梁希月, 丽仁秋. 注射用头孢噻肟钠细菌内毒素检测方法的研究[期刊论文]-药物分析杂志 1997(05)
7. 陶铜静. 单硫酸卡那霉素细菌内毒素检查的研究 1999(01)
8. 戴子贞, 陈宝清. 鲎试剂检查硫酸卡那霉素注射液中的细菌内毒素 1996(06)
9. 范兵, 傅文, 王慧川. 三种抗生素注射剂的细菌内毒素检查法研究
10. 张成文. 鲎试剂用于检测抗生素中的内毒素 1986(04)
11. 马静芬. 硫酸阿米卡星注射液的细菌内毒素检测方法研究 1998(03)
12. 柯正方, 袁惠德. 硫酸阿米卡星注射液的鲎法细菌内毒素检测[期刊论文]-中国医院药学杂志 1999(05)
13. 陈琼, 杨斌. 注射用盐酸阿霉素细菌内毒素检查法的研究 1998(02)

引证文献(4条)

1. 徐德琴. 细菌内毒素检查法的影响因素及预防对策[期刊论文]-数理医药学杂志 2004(2)
2. 李敏红, 汪穗福, 周宁. 2002年鲎试剂法检测抗生素类药物细菌内毒素概况[期刊论文]-中华综合临床医学杂志 2003(9)
3. 汪玲, 王桂平. 细菌内毒素的检测方法及其应用概况[期刊论文]-中国药师 2003(5)
4. 方士年. 细菌内毒素检查法在中药注射剂中的应用[期刊论文]-中国药师 2002(5)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgyy200102018.aspx

授权使用: 复旦大学图书馆(fddxtsg), 授权号: fc5e205c-ce0b-4436-ae84-9dc300e5e32b

下载时间: 2010年7月30日