

# 苦参碱氯化钠注射液中细菌内毒素检查方法研究

萧 珍, 阎凌霄, 姚 华

(陕西省药品检验所, 陕西 西安 710061)

**摘要:**苦参碱氯化钠注射液对其中细菌内毒素检查有抑制作用, 通过稀释的方法可排除其干扰, 其最大不干扰浓度为 0.15 mg/mL。试验结果表明, 选择适宜灵敏度的鲎试剂, 本品的热原检查可用检查细菌内毒素的方法代替家兔法。

**关键词:**苦参碱氯化钠注射液; 细菌内毒素检查; 干扰试验

**中图分类号:**R965.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274 X (2002)04-0413-03

一百多年前, 在西方医学的发展史上, 一个重要的发展就是注射给药(特别是静脉注射)方式的创立。毫无疑问, 它在人类与疾病斗争的过程中起了重大的作用。但是, 无论过去还是现在, 临床上使用注射剂时, 经常伴随着注射引起的发热、头痛、恶心、呕吐、昏迷等<sup>[1]</sup>, 有时极为凶险甚至死亡, 这些反应总称为不良反应。不良反应可分为热原反应和过敏反应。因此, 药品注射剂的热原检查是保证药品安全的重要检验项目之一。1942年美国药典首先收入用家兔检查热原的方法, 中国药典1953年版也收录了这一方法。半个世纪以来, 家兔法对保证药品安全检查发挥了重要的作用。随着科学技术和制药工业的发展, 这一检查法的局限性越来越明显, 从而提出了用细菌内毒素检查法控制热原<sup>[2]</sup>。该方法灵敏度高, 重现性好, 简便省时, 已被国内外药典收载。

本文研究了苦参碱氯化钠注射液对细菌内毒素检查法的干扰试验, 为该品种中细菌内毒素检查法的建立提供了依据。

## 1 实验材料

### 1.1 试药

鲎试剂(TAL)批号: 010405 灵敏度( $\lambda$ ) 0.5 EU/mL (1EU = 0.016667  $\mu$ mol/s 或 1 $\mu$ mol/min, 以下同), 厦门鲎试剂实验厂。

鲎试剂(TAL)批号: 001028 灵敏度( $\lambda$ ) 0.25 EU/mL, 湛江海洋生物制品厂。

鲎试剂(TAL)批号: 000907 灵敏度( $\lambda$ ) 0.25 EU/mL, 福州新北生化工业有限公司。

细菌内毒素国家标准品(NSE)批号: 981 规格: 9000 EU/支, 中国药品生物制品检定所。

细菌内毒素检查用水(BET水)批号: 001031。规格: 5 mL/支, 湛江海洋生物制品厂。

苦参碱氯化钠注射液批号: 20000301, 20000302, 20000303。规格: 250 mL: 150 mg; 西安新通药物研究有限公司提供。

### 1.2 仪器

ZH-2 自动漩涡混合器, 天津药典标准仪器厂。

PYX-DHS 隔水式恒温培养箱, 上海市跃进医疗器械厂出品。

## 2 方法与结果

### 2.1 鲎试剂灵敏度的复核

按中国药典2000年版鲎试剂灵敏度复核试验项下进行<sup>[3]</sup>, 用BET水将细菌内毒素的国家标准品溶解, 置漩涡器上混合15 min, 将其按等比稀释成1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.062 5 EU/mL的溶液进行试验, 结果均符合规定。见表1。

收稿日期: 2001-02-04

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目(98SM58)

作者简介: 萧 珍(1950-), 女, 湖北洪湖人, 陕西省药品检验所副主任药师, 从事药检药理与新药安全评价及药效学研究。

表 1 TAL 灵敏度复核结果  
Tab. 1 Sensitive test for TAL

TAL 批号	细菌内毒素浓度/EU · mL <sup>-1</sup>					NC
	1.0	0.5	0.25	0.125	0.062 5	
010405	++++	++++	-----	-----		--
001028		++++	++++	-----	-----	--
000907		++++	++++	-----	-----	--

2.2 样品中细菌内毒素限值(L)的确定

根据公式  $L = K/M$ ,  $K$  为规定给药途径, 人用每公斤体重每小时最大可接受的内毒素剂量, 静脉给药时  $K = 5 \text{ EU/kg} \cdot \text{h}$ ;  $M$  为临床人用最大剂量, 按人用量每公斤体重每小时苦参碱氯化钠注射液最大用药量为 4.16 mL, 因此本品  $L = K/M$ , 即限值为 1.2 EU/mL。

2.3 干扰试验预试验<sup>[2]</sup>

用 BET 水将苦参碱氯化钠注射液分别稀释成

表 2 苦参碱氯化钠注射液干扰试验预试验结果(TAL 批号: 010405 及 001028)

Tab. 2 Result of inhibition of enhancement test for matrine and sodium chloride injection

TAL 厂名( $\lambda$ )	系列	原液	样品稀释倍数					PC	NC
			2	4	8	16	32		
厦门 TAL $\lambda = 0.5 \text{ EU/mL}$	NPC 管	--	--	--	--	--	--	--	--
	PPC 管	---	---	++	++	++	++	++	
湛江海洋 $\lambda = 0.25 \text{ EU/mL}$	NPC 管	--	--	--	--	--	--	--	--
	PPC 管	--	-+	++	++	++	++	++	

2.4 干扰试验正式试验

预试结果表明, 苦参碱氯化钠注射液的原液及 2 倍稀释液, 对两个厂家的 TAL 均有干扰, 但稀释体积至 4 倍后, 基本无干扰, 用 BET 水将 3 批样品分别稀释 4 倍后, 用这些稀释液分别稀释内毒素工作标准品成 2  $\lambda$ , 1  $\lambda$ , 0.5  $\lambda$ , 0.25  $\lambda$  4 个系列浓度(即

体积为原液的 2, 4, 8, 16, 32 倍(记为 NPC 管); 另制备同样浓度系列的供试液, 并使每一浓度的样品溶液均含有 2  $\lambda$  的内毒素(记为 PPC 管), 选择灵敏度为 0.5 及 0.25 EU/mL 的鲎试剂。每一浓度分别取 0.1 mL, 加入盛有 0.1 mL 鲎试剂的试管中, 每一浓度作 2 管, 同时设阴性对照管(NC), 阳性对照管(PC), 轻轻混匀封口, 放置在 37°C  $\pm$  1°C 保温 60  $\pm$  2 min, 结果见表 2。

0.5, 0.25, 0.125, 0.062 5 EU/mL); 另外用 BET 水将细菌内毒素工作标准品作同样的稀释, 各浓度平行取 4 管; 同时分别以样品稀释液和 BET 水各取 2 管阴性对照管。按中国药典 2000 年版二部附录(XIE)进行干扰实验。用不同生产厂家的鲎试剂重复上述实验, 结果见表 3。

表 3 不同厂家 TAL 对苦参碱氯化钠注射液的干扰试验结果

Tab. 3 TAL of difference plants result of inhibition or enhancement test

TAL 厂名批号	供试品批号	内毒素浓度/EU · mL <sup>-1</sup>				阴性	反应终点 浓度/EU · mL <sup>-1</sup>	干扰作用	
		0.5	0.25	0.125	0.062 5				
新北 TAL	20000301	++++	++++	-----	-----	--	0.25	无	
	000907	20000302	++++	++++	-----	-----	--	0.25	无
	$\lambda = 0.25$	20000303	++++	++--	-----	-----	--	0.35	无
EU · mL <sup>-1</sup>	BET 水	++++	++++	-----	-----	--	0.25		
湛江海洋	20000301	++++	++++	-----	-----		0.25	无	
	001028	20000302	++++	+++-	-----	-----		0.30	无
	$\lambda = 0.25$	20000303	++++	+++-	-----	-----		0.30	无
EU · mL <sup>-1</sup>	BET 水	++++	++++	-----	-----		0.25		

## 2.5 供试品中细菌内毒素的检查

将 3 批样品分别用 BET 水稀释体积至 4 倍后,使用  $\lambda=0.25$  EU/mL 的鲎试剂,按中国药典 2000 年版二部附录 XI E 依法检查,结果表明 3 批样品管

和阴性对照管均为阴性,供试品的阳性管及阳性对照管均为阳性,3 批样品中的细菌内毒素的检查结果均符合规定。结果见表 4。

表 4 苦参碱氯化钠注射液中细菌内毒素的检查结果(TAL 批号 001028)

Tab. 4 Result of bacterial endotoxins test

供试品批号	供试液	供试液阳性管	阳 性	阴 性	结 果
20000301	(-)(-)	(+)	(+)	(-)	符合规定
20000302	(-)(-)	(+)	(+)	(-)	符合规定
20000303	(-)(-)	(+)	(+)	(-)	符合规定

## 3 讨 论

1) 取本品适量,用细菌内毒素检查用水稀释体积至 4 倍后,依法检查(中国药典 2000 年版二部附录 XI E),本品每 1 mL 含细菌内毒素量应小于 1.2 EU。

2) 将 3 批样品用两个厂家的鲎试剂进行干扰试验,结果表明苦参碱氯化钠注射液的原液及 2 倍稀释液有干扰作用,经 4 倍稀释后,排除了干扰,使

用  $\lambda=0.25$  EU/mL 的 TAL 检查细菌内毒素,结果均符合规定,因此本品用检查细菌内毒素的方法来控制热原是可行的。

3) 当鲎试剂、供试品的来源、供试品的配方或生产工艺有变化时,须重新进行干扰试验。

4) 遇到上述任何一种情况,应使用至少两个生产厂家的鲎试剂进行同一品种的干扰试验,每品种至少做 3 个不同批号样品的干扰试验,找出不干扰的浓度范围后,方可检查细菌内毒素。

## 参考文献:

- [1] 夏振民. 略谈药品注射剂之热原[J]. 中华核医学杂志, 1991, 11: 273.
- [2] 胡可可, 夏振民. 药品注射剂的热原检查[J]. 中国海洋药物杂志, 1991, 4: 26-29.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 86-87; 204-205.
- [4] 国家药典委员会. 国内外药典(制剂)对照手册·细菌内毒素检查法[S]. 北京: 化学工业出版社, 1999. 552-571.
- [5] 中国药品生物制品检定所. 中国药品检验标准操作规范·细菌内毒素检查法[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001.

(编辑 徐象平)

## A study on testing for bacterial endotoxin in matrine and sodium chloride injection

XIAO Zhen, YAN Ling-xiao, YAO hua

(Shaanxi Provincial Institute for Drug control, Xi'an 710061, China)

**Abstract:** The concentration of matrine in matrine and sodium chloride injection disturbs testing for bacterial endotoxin, the backdrop can be avoided through diluting the preparation to 0.15 mg per ml. The result shows that testing for bacterial endotoxin can instead of testing for pyrogen in matrine and sodium chloride injection.

**Key words:** matrine and sodium chloride injection; bacterial endotoxin; testing for disturbance