

注射剂中常用4种抗氧化剂的细菌内毒素检查方法研究

张劲松, 王丹(浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要:目的 建立4种抗氧化剂(无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠和硫代硫酸钠)的细菌内毒素检查方法。方法 按中国药典2005年版二部附录收录的细菌内毒素检查方法进行实验。结果 4种抗氧化剂在200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以下对鲎试剂无干扰作用。细菌内毒素限值订为2.5 $\text{EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。结论 这4种抗氧化剂采用细菌内毒素检查方法是可行的。

关键词:无水亚硫酸钠;亚硫酸氢钠;焦亚硫酸钠;硫代硫酸钠;细菌内毒素

中图分类号:R927.33 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2009)13-1153-02

Methodology Study on Bacterial Endotoxin Test of Four Antioxidants Used in Injections

ZHANG Jinsong, WANG Dan(*Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standard for the bacterial endotoxins test of four antioxidants(anhydrous sodium sulfite, sodium bisulfite, sodium pyrosulfite and sodium thiosulfate). **METHODS** The test was operated according to the method for examination of bacterial endotoxin test in Ch. P(2005) Vol II. **RESULTS** The four antioxidants did not interfere with TAL reagent under the concentration of 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The appropriate limit of endotoxin was 2.5 $\text{EU} \cdot \text{mg}^{-1}$. **CONCLUSION** It was feasible to use this method in the examination of the four antioxidants.

KEY WORDS: anhydrous sodium sulfite; sodium bisulfite; sodium pyrosulfite; sodium thiosulfate; bacterial endotoxin

中国药典2005年版二部附录注射剂项下有如下规定:对于配制注射剂时,可根据药物的性质加入适宜的附加剂。如渗透压调节剂、pH值调节剂、增溶剂、助溶剂、抗氧化剂、抑菌剂、乳化剂、助悬剂等。常用的抗氧化剂有无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠,一般浓度为0.1%~0.2%^[1]。其中无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠在中国药典2005年版二部中收录,但未将细菌内毒素或热原项目列入标准中。中国药典2010年版将对这些辅料标准进行修订和提高,因此笔者对上述4种抗氧化剂辅料的细菌内毒素检查进行了方法学研究。

1 试验材料

1.1 鲎试剂(湛江安度斯生物有限公司,批号:0708241,灵敏度0.03 $\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$;福州新北生化工业有限公司,批号:07090122,灵敏度0.03 $\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$);细菌内毒素检查用水(湛江安度斯生物有限公司,批号:0709060);细菌内毒素工作标准品(中国药品生物制品检定所,批号:2007-4,规格150EU)。

1.2 供试品

无水亚硫酸钠(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20040815;浙江省永嘉县化工试剂厂,批号:

000703);亚硫酸氢钠(湖南尔康制药有限公司,批号:20060702、20070602、20071001;上海试剂总厂,批号:20030316);焦亚硫酸钠(湖南尔康制药有限公司,批号:20061001、20070501;浙江省永嘉县化工试剂厂,批号:060112;上海试四赫维化工有限公司,批号:011116);硫代硫酸钠(浙江杭州萧山化学试剂厂,批号:20040311;国药集团化学试剂有限公司,批号:F20060227;宜兴市辉煌化学试剂厂,批号:20070201;浙江中星化工试剂有限公司,批号:20060926)。

2 方法与结果

2.1 内毒素限值的确定

按注射剂每支最大装量为20 mL,使用抗氧化剂最大浓度为0.2%,临床安全系数为3倍计算,临床一次使用抗氧化剂的量为120 mg。限度订为 $L = K/M = 5 \text{ EU} \cdot \text{kg}^{-1} \div (120 \text{ mg} \div 60 \text{ kg}) = 2.5 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

2.2 最大有效稀释倍数(MVD)的确定

取供试品适量,精密加细菌内毒素检查用水制成30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液作为原液。 $MVD = L \times C/\lambda = 2.5 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1} \times 30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \div 0.03 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1} = 2500$ 倍,即浓度为12 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 供试品的干扰预试验与结果

作者简介:张劲松,男,副主任药师 Tel:(0571)86458378 E-mail:zjsonly@hotmail.com

取供试品适量,精密加细菌内毒素检查用水制成 $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液作为原液,再用细菌内毒素检查用水将供试品稀释制成 $3\ 000$ 、 400 、 200 、 100 、 50 、 24 和 $12 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,分别采用两个厂家的

鲎试剂进行干扰预试验。预试结果表明无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠和硫代硫酸钠的最大无干扰浓度可能分别在 400 、 200 、 200 和 $3\ 000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果见表 1。

表 1 干扰预试验结果
Tab 1 Results of interference preparatory test

品 种	厂 家	批 号	不同厂家鲎试剂最大无干扰浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	
			安度斯	新北
无水亚硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司	F20040815	400	400
	浙江省永嘉县化工试剂厂	000703	3 000	3 000
亚硫酸氢钠	湖南尔康制药有限公司	20060702	400	400
		20070602	400	200
		20071001	400	400
焦亚硫酸钠	上海试剂总厂	20030316	400	400
	湖南尔康制药有限公司	20061001	400	200
		20070501	400	400
硫代硫酸钠	浙江省永嘉县化工试剂厂	060112	200	200
	上海试四赫维化工有限公司	011116	400	200
	浙江杭州萧山化学试剂厂	20040311	3 000	3 000
	国药集团化学试剂有限公司	F20060227	3 000	3 000
	宜兴市辉煌化学试剂厂	20070201	3 000	3 000
	浙江中星化工试剂有限公司	20060926	3 000	3 000

2.4 供试品的干扰试验与结果

根据初试结果,取供试品 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度,按文献[1]方法进行干扰实验。实验结果显示无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠和硫代硫酸

钠的 Et/Es 值均在 $0.5 \sim 2.0$ 之间,表明这 4 种抗氧化剂在 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以下时均无干扰作用。结果见表 2。

表 2 干扰试验结果
Tab 2 Results of interference test

品 种	厂 家	批 号	不同厂家鲎试剂 (Et/Es)	
			安度斯	新北
无水亚硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司	F20040815	0.67	0.50
	浙江省永嘉县化工试剂厂	000703	1.00	1.00
亚硫酸氢钠	湖南尔康制药有限公司	20060702	2.00	2.00
		20070602	2.00	2.00
		20071001	1.33	1.00
焦亚硫酸钠	上海试剂总厂	20030316	1.00	1.33
	湖南尔康制药有限公司	20061001	1.00	1.00
		20070501	1.33	1.00
硫代硫酸钠	浙江省永嘉县化工试剂厂	060112	1.00	1.00
	上海试四赫维化工有限公司	011116	1.33	2.00
	浙江杭州萧山化学试剂厂	20040311	1.00	1.00
	国药集团化学试剂有限公司	F20060227	1.00	1.00
	宜兴市辉煌化学试剂厂	20070201	1.00	1.00
	浙江中星化工试剂有限公司	20060926	1.00	1.00

3 讨论

试验采用两个厂家的鲎试剂对注射剂中常用的 4 种抗氧化剂进行了干扰试验,结果表明无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠和硫代硫酸钠在 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以下对鲎试剂无干扰作用,采用细菌内毒素检查方法是可行的。

参考文献

[1] Ch. P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 85-87.

收稿日期:2008-04-25