

辛夷鼻炎丸微生物限度检查法的建立

刘国强

(湖北省襄阳市中心医院药学部,441021)

摘要 目的 建立辛夷鼻炎丸微生物限度检查方法,并对方法进行验证。方法 依据《中华人民共和国药典》2010年版一部附录XIII C微生物限度检查法进行。细菌计数为薄膜过滤法(冲洗量每皿400 mL),真菌和酵母菌计数以及控制菌检查均为常规法。结果 在3次独立的平行实验中,5株实验菌回收率均>70%,符合验证要求。结论 该方法消除了样品的抑菌性,可用于该品种的微生物限度检查。

关键词 辛夷鼻炎丸;微生物限度检查;验证

中图分类号 R286;R927.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)02-0230-03

辛夷鼻炎丸收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第10册,并被列入2010年版《中华人民共和国药典》一部增补本拟收载品种目录。该药处方由辛夷、薄荷、紫苏叶、甘草、广藿香、苍耳子、鹅不食草、板蓝根、山白芷、防风、鱼腥草、菊花、三叉苦等13味药组成,具有祛风清热、消炎解毒的功效,用于治疗鼻炎(包括过敏性鼻炎、慢性鼻炎等)、神经性头痛、感冒流涕、鼻塞不通等^[1-5]。方中板蓝根、鱼腥草等具有很强的抑菌作用。笔者根据《中华人民共和国药典》2010年版的要求,建立了该药微生物限度检查方法,并进行了验证。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LDZX-40BI立式自动电热压力蒸气灭菌器(上海申安医疗器械厂),DNP-9162型电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司),HH·B11·600型电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂),LRH-150B生化培养箱(广东医疗器械厂),超净台(苏净集团安泰公司)。

1.2 培养基 营养琼脂培养基、玫瑰红钠琼脂培养基、营养肉汤培养基、胆盐乳糖培养基、胆盐乳糖发酵培养基、乳糖发酵培养基、改良马丁培养基、改良马丁琼脂培养基、MUG培养基、曙红亚甲蓝琼脂培养基(四川省食品药品检验所)。

1.3 阳性对照菌 金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]、白念珠菌[CMCC(F)98001]、黑曲霉菌[CMCC(F)98003](四川省食品药品检验所)。

1.4 供试品 辛夷鼻炎丸(四川省新鹿药业有限公司制备,批号:100901,100902,100903)。

2 方法与结果

2.1 供试液的制备 取供试品细粉10g,加pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至100mL,混匀,作为1:10供试液。

2.2 阳性对照菌液的制备 取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物,接种于营养肉汤培养基中,30~35℃培养18h,用无菌0.9%氯化钠溶液10倍递增稀释成每毫升含菌50~100cfu的菌悬液,备用;接种白念珠菌的新鲜培养物于改良马丁琼脂培养基,25℃培养24h,用无菌0.9%氯化钠溶液10倍递增稀释制成每毫升含菌50~100cfu的菌悬液,备用;接种黑曲霉的新鲜培养物于改良马丁琼脂斜面培养基,25℃培养5d,加入含0.05%聚山梨酯80的无菌0.9%氯化钠溶液5mL,将孢子洗脱,吸出孢子悬液至无菌试管内,用含0.05%聚山梨酯80的无菌0.9%氯化钠溶液10倍递增稀释,制成每毫升孢子数50~100cfu的悬液,备用。

2.3 实验方法

2.3.1 常规法 取供试液1mL注皿。

2.3.2 培养基稀释法 第一法:取供试液1mL注入5个平皿中(每皿0.2mL);第二法:取供试液1mL注入10个平皿中(每皿0.1mL)。

2.3.3 薄膜过滤法 取供试液10mL,加至pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液100mL中,混匀,薄膜过滤,总冲洗量为400mL。

2.4 回收率实验

2.4.1 实验组 取规定量供试液及各实验菌50~100cfu,分别注入同一平皿中,立即倾注琼脂培养基,平行制备2个平皿,凝固后,置规定温度下,细菌培养24~48h,白念珠菌和黑曲霉培养48~72h。

2.4.2 菌液组 取50~100cfu各实验菌注入平皿中,立即倾注琼脂培养基,平行制备2个平皿,凝固后,置规定温度下,细菌培养24~48h,白念珠菌和黑曲霉

收稿日期 2011-07-29 修回日期 2011-10-11

作者简介 刘国强(1962-),男,湖北襄阳人,主管药师,主要研究方向:医院制剂,临床药学。E-mail:7244752@qq.com。

培养 48 ~ 72 h, 测定所加入的实验菌数。

2.4.3 供试品对照组 取规定量供试液, 立即倾注琼脂培养基, 凝固后, 置规定温度下, 细菌培养 24 ~ 48 h, 白念珠菌和黑曲霉培养 48 ~ 72 h, 测定供试品本底菌数。

2.4.4 稀释剂对照组 取稀释剂 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液 1 mL 和实验菌 50 ~ 100 cfu, 分别注入同一平皿中。考察稀释剂对实验有无干扰。

2.4.5 回收率计算 回收率 (%) = [(实验组平均菌落数 - 供试品对照组平均菌落数) / 菌液组平均菌落数] × 100%。

2.5 稀释剂干扰实验 使用常规法对稀释剂进行回收率实验, 稀释剂对照组大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、白念珠菌、黑曲霉菌回收率分别为

100.6% , 97.8% , 100.5% , 97.3% 和 96.1%。结果表明稀释剂 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液无抑菌作用, 对实验无干扰(表 1)。

2.6 细菌、真菌和酵母菌计数测定方法的确定 对辛夷鼻炎丸按常规法、培养基稀释法(每皿 0.2 mL)、培养基稀释法(每皿 0.1 mL)、薄膜过滤法(冲洗量每皿 400 mL)的顺序进行实验。在薄膜过滤法实验中, 另设稀释剂对照组, 取稀释剂 10 mL, 薄膜过滤, 用 0.9% 氯化钠溶液冲洗 4 次, 每次 100 mL, 在最后一次冲洗液中加入实验菌 50 ~ 100 cfu, 过滤, 取出滤膜, 菌面朝上贴于琼脂平板, 置规定温度培养 48 h 观察, 测定稀释剂对照组的回收率。用 3 批辛夷鼻炎丸样品进行验证。见表 2, 3。

结果表明, 辛夷鼻炎丸的微生物限度检验, 真菌、

表 1 稀释剂回收率实验结果

组别	大肠埃希菌		金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌		白念珠菌		黑曲霉菌	
	1 次	2 次	1 次	2 次	1 次	2 次	1 次	2 次	1 次	2 次
稀释剂对照组	91	87	85	89	93	95	90	93	88	84
菌液组	88	89	86	92	90	97	94	94	92	87

表 2 消除供试品抑菌活性回收率实验结果 %

测定方法	大肠埃希菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	白念珠菌	黑曲霉菌
	常规法	80.2	28.4	47.9	89.7
培养基稀释法(每皿 0.2 mL)	87.6	41.0	74.7
培养基稀释法(每皿 0.1 mL)	89.9	68.7	89.3
薄膜过滤法(每皿 400 mL)	93.0	87.0	93.5
稀释剂对照组	98.3	96.8	101.7

“...”表示未检测到

表 3 3 批辛夷鼻炎丸回收率实验结果 %

批号	大肠埃希菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	白念珠菌	黑曲霉菌
	100901	90.1	84.5	95.1	92.6
100902	87.9	80.7	89.7	89.1	88.3
100903	88.6	91.0	92.2	91.4	84.5

酵母菌采用常规法其回收率均 > 70% , 采用薄膜过滤法(冲洗量每皿 400 mL), 可确保细菌数的回收率均 > 70% , 符合《中华人民共和国药典》2010 年版的规定, 方法可行。

2.7 控制菌大肠埃希菌检验方法的建立及验证

2.7.1 菌液的制备 菌液的制备同“2.2”项。

2.7.2 常规法 实验组: 取 1 : 10 供试液 10 mL, 接种至胆盐乳糖培养基 100 mL, 同时加入大肠埃希菌 50 ~ 100 cfu, 35 °C 培养 24 ~ 48 h。取培养物 0.2 mL 接种

至含 MUG 培养基 5 mL 的试管中, 35 °C 培养 24 h, 366 nm 波长紫外灯下观察荧光, 然后进行靛基质实验, 观察结果。另取培养物划线接种于曙红亚甲蓝平板, 35 °C 培养 18 ~ 24 h, 观察其菌落形态。阴性菌对照组: 取金黄色葡萄球菌作为阴性对照实验菌, 方法同实验组。

常规法实验结果: 经胆盐乳糖培养基增菌培养后, 实验组有明显产酸产气现象, 检出大肠埃希菌, 而阴性对照组未检出大肠埃希菌。结果表明采用常规法进行大肠埃希菌检验, 方法成立(表 4)。

表 4 大肠埃希菌检查常规法实验结果

组别	胆盐乳糖培养基	MUG, 靛基质	曙红亚甲蓝平板
	实验组	+	+, +
阴性对照组	-	- , -	-

“+”表示检查出, “-”表示未检查出

3 讨论

辛夷鼻炎丸的微生物限度检查方法: 细菌计数方法为薄膜过滤法(冲洗量每皿 400 mL), 真菌及酵母菌计数方法为常规法, 控制菌大肠埃希菌检查采用常规法。

参考文献

[1] 卫生部药品标准中药成方制剂第十册[S]: 73.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北

京:中国医药科技出版社,2010:附录 79.

[3] 彭涛,曾友志,李红光,等. 辛夷鼻炎丸治疗急、慢性鼻炎及变应性鼻炎多中心随机对照实验[J]. 中国医药指南, 2010,3(8):24-27.

[4] 李胜前,杨思芸,曾友志,等. 辛夷鼻炎丸治疗变应性鼻炎的疗效观察[J]. 中国药房,2010,36(10):3404-3407.

[5] 何刚,王槐富,徐仲明,等. 辛夷鼻炎丸和鼻舒适片治疗过敏性鼻炎疗效观察[J]. 实用医院临床杂志,2006,11(6):

22-23.

[6] 曹柳英,梁瑞燕,潘华新,等. 辛夷鼻炎丸抗炎作用实验研究[J]. 广州医药,2005,12(2):74-76.

[7] 黄杰芳,李惠霞,邓慧敏,等. 辛夷鼻炎丸的质量标准研究[J]. 中草药,2009,11(8):1245-1247.

[8] 丘文珍. HPLC 法测定辛夷鼻炎丸中升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 中草药,2003,5(5):422-424.

DOI 10.3870/yydb.2012.02.038

乙酰半胱氨酸口服溶液的制备与质量控制

包倩倩^{1,2},温天文¹,陶亮¹,夏秋月¹,孙柏旺²,朱怀柏¹,邢华训¹

(1. 南京市纳米粒口服溶液工程技术中心、南京特丰药业股份有限公司,211314;2. 东南大学化学化工学院,南京 210096)

摘要 目的 制备乙酰半胱氨酸口服溶液并建立其质量控制方法。方法 以乙酰半胱氨酸为主药,采用溶剂煮沸、充氮气保护等措施制备口服溶液,采用高效液相色谱法测定乙酰半胱氨酸含量,并进行方法学验证和初步稳定性考察。结果 制得的口服溶液澄清透明,味甜,气清香,质量稳定;建立的含量测定方法,浓度在 0.1~2.0 mg·mL⁻¹ 范围内与峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $A = -50\ 714.33 + 7.21 \times 10^6 \times C$, $r = 0.999\ 5$;精密密度实验 RSD=0.922% ($n=5$);平均回收率 99.32%,RSD=0.826% ($n=5$)。结论 该口服溶液处方组成、制备工艺、质量控制方法科学、合理,适用于该产品工业化生产和质量控制。

关键词 乙酰半胱氨酸;质量控制;色谱法,高效液相

中图分类号 TQ460.1;R286;R927.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)02-0232-02

乙酰半胱氨酸(acetylcysteine, NAC),化学名称为 *N*-乙酰基-*L*-半胱氨酸,是 *L*-半胱氨酸的乙酰化合物,因其含有活跃的巯基(-SH),在 20 世纪 60 年代初就作为祛痰药用于临床,是一种疗效好、安全性高的治疗呼吸道感染祛痰药。近年来,随着研究的深入,很多文献报道^[1-2],NAC 不仅具有溶解黏液的作用,还具有较强的抗氧化作用和促进肺表面活性物质生成的作用。目前 NAC 产品剂型有注射剂^[3-5]、泡腾片、颗粒剂、胶囊剂、喷雾剂。与现有 NAC 产品比较,口服溶液具有使用更方便、用药更准确等优点,更适宜于儿童及老年人临床用药。由于 NAC 易氧化,制备口服溶液有一定难度,导致目前国内还没有该药的口服溶液剂型生产。笔者在本实验中对 NAC 口服溶液的处方及制备工艺进行研究,同时建立其质量控制方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 万分之一电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),LC-10ATvp(VP)液相色谱仪(SHIMADZU),SPD-10Avp(VP)UV-VIS 检测器(SHIMADZU),pHS-3CW 实验室 pH 计(上海理达仪器厂)。

1.2 试剂 NAC 对照品(中国药品生物制品检定所),NAC 原料药(武汉远大弘元药业有限公司,批号:20100903,含量:99.8%),磷酸二氢钾(批号:11012720094)和硫酸铵(批号:101222)均由上海凌峰化学试剂有限公司生产,庚烷磺酸钠(天津市化学试剂研究所,批号:20101129),氢氧化钠(NaOH,上海化学试剂有限公司)和维生素 C(批号:F20101020)、乙二胺四乙酸二钠(批号:F20091021)均由国药集团化学试剂有限公司生产等。

2 方法与结果

2.1 处方与制备 每瓶 10 mL,含 NAC 0.2 g,阿斯巴甜 0.01 g,维生素 C 0.004 g,乙二胺四乙酸二钠 0.000 3 g,山梨酸钾 0.001 g,橘子香精 0.000 6 g,柠檬香精 0.000 3 g,按扩大 1 000 倍进行制备。

配制 0.1 mol·L⁻¹NaOH 溶液作为溶剂,煮沸,通

收稿日期 2011-06-17 修回日期 2011-08-11

作者简介 包倩倩(1987-),女,浙江东阳人,硕士,主要从事化学工程专业药物制剂研究。电话:025-52165007, E-mail: 877bqq@163.com。

通讯作者 温天文(1975-),男,药师,学士,从事新药研究、注册申报工作。电话:025-52165007, E-mail: wtwnice@yahoo.com.cn。