

微生物比浊法测定口服阿奇霉素的效价含量

李霞,刘映倩(重庆市药品检验所,重庆 401121)

摘要:目的 建立以微生物比浊法测定口服阿奇霉素效价含量的方法。方法 采用比浊法测定阿奇霉素的含量,并对微生物比浊法、管碟法测定阿奇霉素效价的结果进行评价。结果 阿奇霉素的线性范围为 $0.4 \sim 1.32 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9959$),分散片与颗粒的平均回收率分别为 100.11% 、 100.27% ,方法重复性良好 (RSD为 0.4%),比浊法与管碟法测定结果一致。结论 微生物比浊法具有简便、精确、快速的特点,可以应用于该产品的质量控制。

关键词:比浊法;阿奇霉素;效价含量

中图分类号: R927.32 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)04-0321-02

Determination the Microbiological Assay of Oral Azithromycin by Turbidimetric Method

LI Xia, LIU Yin-qian (Chongqing Institute for Drug Control, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determining the microbial assays of oral azithromycin by turbidimetric method.

METHODS To determine the microbiological assay of oral azithromycin by turbidimetric method, and compare the result of turbidimetric method with the result of cylinder-plate method. **RESULTS** The linearity range of azithromycin was $0.4 \sim 1.32 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9959$). The average recoveries of dispersible tablets and granules were 100.11% and 100.27% respectively. The method had a good reproducibility (RSD: 0.4%). The results of turbidimetric method were consistent with that of cylinder-plate method.

CONCLUSION The results indicate that the turbidimetric method can be used as quality control because of its convenience, accuracy and quickness.

KEY WORDS: turbidimetric method; azithromycin; microbiological assay

阿奇霉素为大环内酯类抗生素,其作用机制是通过与敏感微生物的 50S核粒体的亚单位结合,从而干扰其蛋白质的合成。中国药典对阿奇霉素的效价测定只收录了管碟法。实际上,比浊法因其灵敏度高,操作简便,耗时短,被各国药典广泛采用。笔者对用比浊法进行口服阿奇霉素制剂的效价测定方法进行了可行性研究。

1 材料

1.1 试药

阿奇霉素标准品(中国药品生物制品检定所,批号:130352-200405,效价: $936 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$);阿奇霉素颗粒(西南合成制药股份有限公司,批号:051001、051002、051003);阿奇霉素分散片(重庆药友制药有限责任公司,批号:20050801、20050802、20050803);金黄色葡萄球菌 [CMCC(B) 26003] (中国药品生物制品检定所);培养基 III(北京三药科技开发公司,批号:060403)。

1.2 仪器

WBS-100微生物比浊法测定仪(北京先驱威锋技术开发公司);ZX-300A抑菌圈测量仪(北京先驱威锋技术开发公司)。

2 方法与结果

2.1 金黄色葡萄球菌悬液的制备

取金黄色葡萄球菌的营养琼脂斜面培养基,接种于营养琼脂斜面上,在 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ 培养 $20 \sim 22 \text{ h}$ 。临用时,用 0.9% 灭菌氯化钠溶液将菌苔洗下,备用。

2.2 试验培养基的配置

取实验菌液 2 mL ,加到 400 mL 抗生素培养基 III中,摇匀,备用。

2.3 线性试验^[1]

精密称取阿奇霉素标准品适量,加乙醇适量(每 2 mg 约加乙醇 1 mL)使溶解,加灭菌水制成 $1000 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,用 $\text{pH } 7.8$ 的磷酸盐缓冲液稀释到 $0.4, 0.48, 0.6, 0.72, 0.88, 1.08, 1.32 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为线性实验用溶液。分别量取上述溶液各 1.0 mL 置高温灭菌的石英比色管中,每一浓度平行试验 3 管,再分别向每个比色管中加入 9 mL 实验培养基,振摇,在 WBS-100微生物比浊法仪上培养 $2 \sim 4 \text{ h}$,培养温度 37°C ,在 530 nm 的波长处测定吸光度,计算每一浓度吸光度的平均值。以浓度的对数 (x) 为横坐标,每一浓度吸光度的平均值 (y) 为纵坐标作线性回归曲线,求线性方程。结果,在 $0.4 \sim 1.32 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度内,抗生素浓度的对数

与吸收度成良好线性关系,线性方程为 $y = -0.3649x + 0.5993$, $r = 0.9959$ 。

2.4 加样回收率试验

精密称取阿奇霉素标准品、样品 1(标准品按处方量加入一定比例的阿奇霉素分散片辅料)及样品 2(标准品按处方量加入一定比例的阿奇霉素颗粒辅料)适量,分别加乙醇适量(每 2 mg 约加乙醇 1 mL)使溶解,加灭菌水制成 1 000 U·mL⁻¹的溶液,以 0.80,1.20 U·mL⁻¹分别作为高低浓度的测定浓度,剂间比为 1:1.5,用 pH 7.8 的磷酸盐缓冲液将供试液稀释至 0.72,1.08 U·mL⁻¹(90%样品溶液),0.80,1.20 U·mL⁻¹(100%样品溶液),0.88,1.32 U·mL⁻¹(110%样品溶液)。采用抗生素微生物检定法的二剂量法进行试验,加样方法及培养条件同前述线性试验,每一样品溶液平行四管,测定吸光度,将所得试验数据进行生物统计,计算效价值。上述实验平行进行了 3 次,结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果

Tab 1 Results of recovery test

加入量 /%	样品 1		样品 2	
	回收率 /%	平均回收率 /%	回收率 /%	平均回收率 /%
90	99.06		100.26	
	100.23	99.59	100.78	100.18
	99.51		100.25	
100	101.03		100.37	
	100.52	100.66	100.28	100.46
	100.43		100.73	
110	100.27		99.81	
	99.79	100.09	100.53	100.17
	100.21		100.16	
RSD /%	0.58		0.30	

上述实验结果表明,在效价测定范围内,实验方法的回收率良好。

2.5 精密度试验

精密称取阿奇霉素标准品适量,加乙醇溶解(每 2 mg 约加 1 mL),用 pH 7.8 的磷酸盐缓冲液溶解并稀释至 1 000 U·mL⁻¹的溶液,用 pH 7.8 的磷酸盐缓冲液稀释成 0.8,1.2 U·mL⁻¹高低浓度的测定溶液,采用抗生素微生物检定法的二剂量法以自身为对照进行实验,加样方法及培养条件同前述线性试验,每一样品溶液平行四管,测定吸光度,将所得试验数据进行生物统计,计算效价值。取上述溶液重复实验 6 次,结果分别为 100.23%,99.97%,100.67%,101.05%,100.09%,100.58%,6 次测量的平均值为 100.43%,RSD 为 0.4%,结果表明此方法的精密度良好。

2.6 重复性试验

取同一批号的阿奇霉素颗粒 5 份,以标准品为对照,按 2.5 所述方法,各测定 5 次,求得 RSD 为 0.94%。

2.7 比浊法与管碟法的比较

取样品,用比浊法和管碟法同时测定,比较测定结果及结果的可信限率。结果见表 2。

表 2 比浊法与管碟法对比实验结果比较

Tab 2 Contrast result of turbidimetric method and cylinder plate method

批号	比浊法		管碟法	
	效价 /%	可信限率 /%	效价 /%	可信限率 /%
051001	98.8	1.72	98.1	4.35
051002	99.1	2.01	99.6	3.55
051003	99.8	2.37	99.3	3.72
20050801	100.1	1.88	99.0	4.12
20050802	99.3	1.92	99.1	3.56
20050803	99.6	2.22	101.3	3.89

上述结果表明:两种方法测定结果无显著性差异,可信限率均小于 5%,比浊法可信限率小于管碟法。

3 结论

本实验结果表明,比浊法测定口服阿奇霉素制剂的效价具有明显优点,其操作方便、快速,结果准确,重复性好,辅料无干扰,可信限率低,培养 2~4 h 即可出结果。因此,比浊法可以应用于口服阿奇霉素制剂的效价测定,也可应用于制药企业对中间产品的质量控制在医院制剂中需要测定效价的阿奇霉素类制剂的质量控制。

4 讨论

4.1 比浊法测定抗生素效价时抗生素溶液的浓度非常低,因此测定时所用的器具应严防抗生素残留和污染。

4.2 微生物污染对比浊法测定效价有很大影响,若实验用器具、材料被微生物污染,将导致生物反应紊乱,各管形成的吸收度精密变差,可信限率显著增高,测定结果的精密度和准确度变差,因此,实验过程中应严防微生物污染。

4.3 培养温度应均匀,应按照随机排列的方式进行培养(二剂量法和三剂量法按照拉丁方排列),以消除局部温度不均匀对结果的影响。

培养时间不可过长,吸收度不可过高,高低剂量达到 0.3 以上即可。若发现某种剂量下细菌生长缓慢或停止生长应停止实验,否则测定结果变化较大。

REFERENCES

[1] Ch. P(2005). Vol II (中国药典 2005 年版,二部) [S]. 2005: Appendix(附录) 79-85.

收稿日期:2007-11-27