

氯法拉宾注射液细菌内毒素检查法的建立

程春雷¹, 高天勤² (1.山东省药品检验所, 济南 250101; 2.山东滨州医学院附属医院, 山东 滨州 256603)

摘要: 目的 建立氯法拉宾注射液细菌内毒素检查方法。方法 根据中国药典2005年版二部附录收载的细菌内毒素检查方法进行实验。结果 氯法拉宾注射液稀释4倍以后, 对细菌内毒素检查无干扰; 3批样品细菌内毒素检查均符合规定。结论 细菌内毒素检查方法可用于该产品的质量控制。

关键词: 氯法拉宾注射液; 细菌内毒素检查; 干扰试验

中图分类号: R927.33 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2009)08-0675-03

Bacterial Endotoxin Test for Clofarabine Injection

CHENG Chunlei¹, GAO Tianqin² (1. *Shandong Institute for Drug Control, Jinan 250101, China*; 2. *Shandong Binzhou Medical College Affiliated Hospital, Binzhou 256603, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish bacterial endotoxin test method for clofarabine injection. **METHODS** The experiment was carried out according to the bacterial endotoxin test method indexed in the appendix of Ch.P(2005) Vol II. **RESULTS** After dilution 4 times, clofarabine injection showed no interference in the bacterial endotoxin test. The bacterial endotoxin tests of 3 batches of samples were all up to the standards. **CONCLUSION** The bacterial endotoxin test method can be applied in the quality

作者简介: 程春雷, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0531)81216530 E-mail: chengchunl2002@yahoo.com.cn

control.

KEY WORDS: clofarabine injection; bacterial endotoxin test; interference test

目前全球儿童白血病的患病率很高,但适合于儿童的抗白血病药物仍然是空白。儿童使用成人药物往往产生很多严重的不良反应、严重影响儿童患者的生活质量。氯法拉滨(clofarabine)为核苷酸类似物,由于其在II期临床实验中的显著疗效,2004年12月28日,美国FDA通过快速通道批准氯法拉滨用于治疗儿童急性粒细胞性白血病。该药物既抑制DNA聚合酶,又抑制核糖核酸还原酶;而且具有患者耐受性好,无可预知的不良反应和潜在的广谱抗肿瘤特性等优点^[1]。笔者参照文献[2]进行试验,建立了该品种的细菌内毒素检查法。

1 仪器与试剂

试管恒温仪(湛江安度斯生物有限公司)。细菌内毒素工作标准品(中国药品生物制品检定所,批号:2005-10)。鲎试剂(批号:0604102, $\lambda = 0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.1 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$, 湛江安度斯生物有限公司;批号:0609280, $\lambda = 0.5 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.1 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$, 湛江博康海洋生物有限公司);细菌内毒素检查用水(批号:0609280, 湛江安度斯生物有限公司)。氯法拉滨注射液(规格:20 mL:20 mg, 批号:0710111, 0710112, 070601, 由济南一公司生产)。

2 方法与结果

2.1 供试品内毒素限制(L)确定

由药品说明书可知,本品用于治疗1到21岁复发性或难治性急性淋巴细胞性白血病,用法为静脉滴

注。该药的每日剂量为 $52 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$,我国成人每千克体重体表面积为 $0.0287 \text{ m}^2 [1.72 \text{ m}^2 \cdot (160 \text{ kg})^{-1}]$,根据小儿体重与体表面积折算情况,小儿每千克体重最大体表面积为1岁时的 $0.047 \text{ m}^2 (0.46/0.87)$,则小儿每千克体重每小时的最大用药量(M)为 $52 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \times 0.047 \text{ m}^2 = 2.44 \text{ mg}^{[3]}$ 。

采用公式 $L=K/M$,根据公式 $L=K/M$,注射剂 $K=5 \text{ EU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 式中M为人用每千克体重每小时最大剂量,则 $L=K/M=5/2.44=2.05$,为严格限制及便于计算,将本品的细菌内毒素限值规定为每毫克氯法拉滨中含内毒素的量小于2 EU。

2.2 鲎试剂灵敏度复核(λ)

按中国药典2005年版附录方法进行操作,结果2批鲎试剂复核灵敏度 λ 均在规定范围内。

2.3 干扰实验

2.3.1 干扰预实验 根据公式 $MVD=C\lambda/L$,目前市售鲎试剂 λ 通常在 $0.5 \sim 0.03 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$,则氯法拉滨注射液的对应有有效稀释倍数为4, 8, 16, 32, 64。将氯法拉滨注射液用细菌内毒素检查用水分别配制成为4, 8, 16, 32, 64倍稀释液,将此系列溶液记为NPC。同法制备上述系列溶液,在其中加入细菌内毒素标准溶液,使每一浓度的溶液中均含有 2λ 浓度的细菌内毒素,记此系列溶液为PPC。取2个不同厂家的TAL,分别与上述NPC和PPC进行反应,每一浓度重复2管,并设阳性和阴性对照,干扰预试验结果见表1。

表1 氯法拉滨注射液细菌内毒素检查干扰预试验结果

Tab 1 The result of preliminary interference test for TAL endotoxin and clofarabine injection

TAL	样品	溶液	样品稀释倍数					NC	PC
			4	8	16	32	64		
0604102	0710111	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		
	0710112	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		
	0710113	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		
0609280	0710111	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		
	0710112	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		
	0710113	NPC	--	--	--	--	--	--	++
		PPC	++	++	++	++	++		

2.3.2 干扰实验 为了最终确认是否存在干扰因素的影响,取氯法拉宾注射液用细菌内毒素检查用水分别进行稀释,使其最终干扰试验稀释倍数为4倍,按中国药典2005年版二部附录中的“细菌内毒素检查供试品干扰试验”项进行试验,结果见表2。

表2 氯法拉宾注射液细菌内毒素检查干扰试验结果

Tab 2 The result of formal interference test for TAL endotoxin and clofarabine injection

TAL	样品	细菌内毒素浓度/EU·mL ⁻¹						Es	Et
		1.0	0.5	0.25	0.125	0.06	NC		
0604102	0710111	/	++++	++++	-----	-----	--		0.25
	0710112	/	++++	++++	-----	-----	--		0.25
	0710113	/	++++	++++	-----	-----	--		0.25
	BET水	/	++++	++++	-----	-----	--	0.25	0.25
0609280	0710111	++++	++++	-----	-----	/	--		0.5
	0710112	++++	++++	-----	-----	/	--		0.5
	0710112	++++	++++	-----	-----	/	--		0.5
	BET水	++++	++++	-----	-----	/	--	0.5	0.5

正式干扰试验结果表明,采用安度斯公司和博康海洋公司生产的TAL Et / Es 均在0.5~2.0内,确认这2个厂家TAL在供试品稀释4倍无干扰影响。

2.4 样品细菌内毒素检查

根据“2.3”项下结果,取3批样品用细菌内毒素检查用水稀释4倍后,使用2批TAL按中国药典2005年版二部细菌内毒素检查法,分别对样品进行细菌内毒素检查,结果3批样品细菌内毒素检查均符合规定,见表3。

表3 氯法拉宾注射液细菌内毒素检查结果

Tab 3 The bacterial endotoxin test for clofarabine injection

TAL	样品	NPC	PPC	阳性	阴性	结果判定
0604102	0710111	--	++	++	--	符合规定
	0710112	--	++	++	--	符合规定
	0710113	--	++	++	--	符合规定
0609280	0710111	--	++	++	--	符合规定
	0710112	--	++	++	--	符合规定
	0710112	--	++	++	--	符合规定

3 讨论

氯法拉宾作为第一个特别适合用于儿童白血病的治疗药物,具有重大的意义。氯法拉宾在复发或抵抗性急性髓细胞性白血病患者中也显示出希望,FDA的肿瘤药咨询委员会已经要求在这部分患儿中进行进一步的研究,同时用于成人白血病和其

他实体瘤的治疗正在研究中。

众所周知,引起热原反应是注射液常见的问题之一。目前,常见的热原检查方法为家兔法和鲎试剂法。鲎试剂因其具有方法简单、成本低等优点而被广泛采用。鲎试剂方法其关键内容是确立药品的细菌内毒素限值,建立细菌内毒素的检查方法学。目前还未见氯法拉宾的国内药厂生产上市,也未见该品种的热原控制方法报道。本试验在参考中国药典2005年版附录IXE 细菌内毒素检查法的基础上,建立了氯法拉宾注射液的内毒素检查限值与检测方法,并进行了研究。结果表明,氯法拉宾的L为2 EU·mg⁻¹,而且样品稀释4倍以后对内毒素检查无干扰。此可为氯法拉宾注射液的质量标准之一,从而为保证其临床安全使用服务。

REFERENCES

[1] NIE Y L, FU D X, HU X, et al. A new anti-leukemia drug clofarabine [J]. Chin New Drugs J (中国新药杂志), 2007(16): 821-824.
[2] Ch.P(2005)Vol II (中国药典 2005 版.二部)[S]. 2005: Appendix 861.
[3] XU S Y. Chinese Clinical Materia Medica (中华临床药理学)[M]. 1st ed. Beijing: People Health Press, 2003: 543.

收稿日期: 2008-07-08