

效浓度之后药物持续缓慢释放,可以使得药物浓度水平维持在有效浓度范围之内。体内的药代动力学实验结果显示,与姜黄素混悬液相比,姜黄素-PLGA 纳米粒具有吸收快、消除慢,血药浓度高的优点。

REFERENCES

- [1] HAAS JIMOH AKANBI M, POST E, METER-ARKEMA A, et al. Use of hydrophobins in formulation of water insoluble drugs for oral administration [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 75(2): 526-531.
- [2] MERISKO-LIVERSIDGE E, LIVERSIDGE G G. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(6): 427-440.
- [3] CHEN M C, SONAJE K, CHEN K J, et al. A review of the prospects for polymeric nanoparticle platforms in oral insulin delivery [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(36): 9826-9838.
- [4] GAUCHER G, SATTURWAR P, JONES M C, et al. Polymeric micelles for oral drug delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(2): 147-158.
- [5] ENSIGN L M, CONE R, HANES J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(6): 557-570.
- [6] SINHA S, ALI M, BABOOTA S, et al. Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(2): 518-527.
- [7] GOU M L, MEN K, SHI H S, et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanoscale*, 2012, 3(4): 1558-1567.
- [8] CHEN J, DAI W T, XING H Y, et al. Research progress of microcarrier drug delivery system for curcumin [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(10): 885-889.
- [9] REJINOLD N S, MUTHUNARAYANAN M, DIVYARANI V V, et al. Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2011, 360(1): 39-51.
- [10] YALLAPU M M, JAGGI M, CHAUHAN S C. Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer [J]. *Drug Discov Today*, 2012, 17(1/2): 71-80.
- [11] DANHIER F, VROMAN B, LECOUTURIER N, et al. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with paclitaxel [J]. *J Control Release*, 2009, 140(2): 166-173.

收稿日期: 2013-07-07

消毒护肤喷雾剂的研制

李健和¹, 江爱², 陈贵秋³, 胡焰¹, 王琼², 邱细敏² (1.中南大学湘雅二医院药学部, 长沙 410011; 2.湖南师范大学, 长沙 410012; 3.湖南省疾病预防控制中心, 长沙 410005)

摘要: 目的 研制开发一种消毒护肤喷雾型溶液剂。方法 拟定处方组成与制备工艺, 进行性状、鉴别、检查、含量测定等质量研究, 采用加速法考察其稳定性, 观察载体喷雾杀菌试验的杀菌效果, 评价急性经口毒性试验、刺激试验、微核试验以及亚急性毒性试验的安全性, 并进行样品腐蚀性试验。结果 样品的各项质量检测结果均符合规定。样品原液作用 0.5 min 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌的杀灭对数值各次均>3.00。经稳定性加速试验确定其有效期为 2 年。对昆明种小鼠急性经口无毒, 对家兔多次完整皮肤、1 次破损皮肤及急性眼刺激试验均无刺激性。微核试验结果呈阴性。样品亚急性经口毒性试验对♀♂SD 大鼠未观察到有害作用的最大剂量为 1 000 mg·kg⁻¹, 对不锈钢、碳钢基本无腐蚀, 对铝、铜有轻度腐蚀。结论 该制剂处方合理, 制备工艺简便可行, 质量可控, 对细菌繁殖体和真菌杀菌效果好, 无毒、无刺激性、性能稳定。

关键词: 消毒护肤喷雾剂; 处方工艺; 质量控制; 杀菌效果; 稳定性; 安全性; 腐蚀性

中图分类号: R944.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0721-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.021

Preparation of the Skin-protective and Disinfectant Spray

LI Jianhe¹, JIANG Ai², CHEN Guiqiu³, HU Yan¹, WANG Qiong², QIU Ximin² (1.Department of Pharmacy, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China; 2.Hunan Normal University, Changsha 410012, China; 3.Hunan Provincial Center for Disease Prevention and Control, Changsha 410005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare a spray solution for skin-protective and disinfectant spray. **METHODS** To develop the prescription composition and preparation process, and to conduct a quality study of character, identification, inspection, and content determination, et al. An acceleration method was used to investigate its stability, vector spray quantitative germicidal test to observe its bactericidal effect, acute oral toxicity test, stimulation test, the micronucleus test, subacute toxicity and corrosiveness test to evaluate the safety. **RESULTS** The quality test results of the sample were in line with provisions. The killing logarithm value of samples after 0.5 min reaction to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* were >3.00. Its validity was determined to be 2 years by accelerated stability test. It was non-toxic of acute toxicity test orally, and it had no irritation to several intact skin of rabbits, a broken skin and eyes. The results of micronucleus test were negative. The subacute toxicity test of the sample showed that it was not harmful to male and female SD rats until the maximum dose was 1 000 mg·kg⁻¹ by oral. The sample had no corrosion to stainless steel and carbon steel, while slight corrosion on aluminum and copper. **CONCLUSION** The formulation is reasonable in formulation, feasible in preparation technique, accurate in quality control, good in stability and effective for multiplication of bacteria and fungus, and it is non-toxic and non-irritating.

KEY WORDS: skin-protective and disinfectant spray; prescription process; quality control; bactericidal effect; stability; security; corrosive

随着消毒剂的广泛应用,耐消毒剂细菌也开始出现于人们的视线中。如何避免或延缓细菌对消毒剂产生抗性成为当前消毒工作者研究的热点,而消毒剂复配是比较认可的方法之一。葡萄糖酸氯己定与乙醇复配,可起到协同作用,增强杀菌效果,提高杀菌速度^[1-3],并配以恰当的护肤保湿剂,使其既不影响杀菌效果,又有护肤作用,能滋润皮肤,避免医护人员长期用液体消毒剂造成的脱脂、过敏,以及碘酊对皮肤的蓄积伤害,避免冬天浸泡、刷洗手部寒冷刺骨的痛苦,改变洗手引起的皮肤粗糙干裂状况,具有杀菌快速、使用方便、安全舒适的优点。2001年6月美国FDA批准了由3M Health Care公司研制开发的一种以1%葡萄糖酸氯己定和61%乙醇为主药,并辅以护肤成分的溶液型洗手剂,商品名为:Avagard,用于外科医生洗手并消毒以及医务人员洗手^[4]。据此,笔者立项研制开发以1%葡萄糖酸氯己定和61%乙醇为主药,并辅以护肤保湿成分的皮肤消毒护肤喷雾剂。现将其处方工艺、质量控制、杀菌效果、稳定性考察、毒理学研究以及样品腐蚀性试验等报道如下。

1 试药与仪器

20%葡萄糖酸氯己定溶液(锦州九泰药业有限责任公司,批号:20120607);乙醇(湖南九典制药有限公司,批号:20120515);皮肤消毒护肤喷雾剂(中南大学湘雅二医院药学部,批号:20120919);环磷酰胺(cyclophosphamide, CP, 山西泰盛制药有限公司,批号:20120301);金黄色葡萄球菌 ATCC6538、大肠杆菌 8099、铜绿假单胞菌 ATCC15442、白色念珠菌 ATCC10231 均由军事医学科学院提供;胰蛋白胍大豆琼脂培养基(TSA,

青岛海博生物技术有限公司,批号:20120425);胰蛋白胍大豆肉汤琼脂培养基(TSB, 青岛海博生物技术有限公司,批号:20120308);沙堡氏琼脂培养基(上海信然生物技术有限公司,批号:20120806);中和剂:1.0%聚山梨酯 80 和 0.1%卵磷脂的磷酸盐缓冲液(PBS)。

pHS-3C 精密 pH 计(深圳市三诺电子仪器有限公司); AE200 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); BHC-II A2 生物安全柜(阿尔泰实验室设备北京有限公司); Sysmex XT-2000i 全自动血球计数仪(日本希森美康株式会社); Beckman AU680 全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司)。

2 处方工艺

2.1 处方

葡萄糖酸氯己定溶液 500.0 mL,乙醇 6 100.0 g,护肤保湿剂适量,纯化水加至 10 000.0 g。

2.2 工艺

称取护肤保湿剂适量,加入装有 2 000 mL 40~50℃纯化水的配料罐中,搅拌溶解后加入乙醇 6 100.0 g 和葡萄糖酸氯己定溶液 500.0 mL,补加纯化水至 10 000.0 g,搅匀,取样测定药液 pH 值和葡萄糖酸氯己定、乙醇含量,合格后,过滤,灌装,贴签,包装,即得。

3 质量控制

3.1 性状

本品为无色澄明液体,微有特臭,味灼烈,易挥发。

3.2 鉴别

取本品 2 mL,加水 8 mL,加硫酸铜 0.5 mL,即生成沉淀,煮沸使沉淀凝聚,即显淡紫色。

取本品 2 mL,加水 8 mL,加三氯化铁试液 0.5 mL,缓慢加热至沸,即显深橘红色,加盐酸 1 mL,即变成黄色。

取本品 2 mL,加水 5 mL 与氢氧化钠试液 1 mL 后,缓慢滴加碘试液 2 mL,即发生碘仿的臭气,并生成黄色沉淀。

3.3 pH 值

取样品,按中国药典 2010 年二部附录 VI H 检查, pH 值应为 5.5~7.5。

3.4 装量

取样品,按中国药典 2010 年二部附录 X F 检查,应符合规定。

3.5 含量测定

3.5.1 葡萄糖酸氯己定含量测定 精密称取本品 10 g,置于 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀;然后从中精密量取 2 mL,置 200 mL 量瓶中,加乙醇 10.6 mL,再用 80%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,按中国药典 2010 年版二部附录 VI A 紫外-可见分光光度法,在 259 nm 处测定吸光度,按 $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$ 的吸收系数($E_{1cm}^{1\%}$)为 413 计算,即得。

3.5.2 乙醇含量测定 取本品,调节温度至 20℃,精密量取 25 mL,置 150~200 mL 蒸馏瓶中,加水约 50 mL,加玻璃珠数粒,连接冷凝管,直火加热,缓缓蒸馏,速度以馏出液一滴接一滴为准。馏出液导入 50 mL 量瓶中,当馏出液约达 48 mL 时,停止蒸馏。调节馏出液温度至 20℃,加 20℃的水至刻度,摇匀,在 20℃时按中国药典 2010 年版一部附录 VII A 相对密度测定法测定相对密度。在乙醇相对密度表内查出乙醇的含量,将查得所含乙醇的含量与 2 相乘,即得。

4 稳定性试验

依据 2002 年版《消毒技术规范》^[5]要求,将批号为 20120919 的皮肤消毒护肤喷雾剂样品置于 37℃温箱 90 d 后,测得其 0 d 和 90 d 葡萄糖酸氯己定的含量分别为 1.00%和 0.96%,乙醇的含量分别为 62.0%和 61.0%,葡萄糖酸氯己定和乙醇的下降率分别为 4.00%和 1.61%,该产品有效期可定为 2 年。

5 杀灭微生物效果试验

5.1 菌悬液制备

分别取经 24 h 培养的新鲜斜面培养物金黄色葡萄球菌 ATCC6538(第 5 代)、大肠杆菌 8099(第 5

代)、铜绿假单胞菌 ATCC15442(第 5 代)、白色念珠菌 ATCC10231(第 5 代),均先用胰蛋白胍生理盐水(TPS)洗下菌苔,混匀,稀释至所需浓度,然后均用 TSB 对倍稀释,用滴染法取 10 μL 菌液于灭菌布片(1 cm×1 cm),室温自然干燥备用,使回收菌落数均达 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu·片⁻¹。

5.2 中和剂鉴定试验

试验在 20℃恒温控制器内进行。先将染菌载体(布片)平铺于无菌平皿内,再按 6 组进行中和剂载体定量鉴定试验。试验微生物为金黄色葡萄球菌、白色念珠菌,拟选中和剂为 1.0%聚山梨酯 80 和 0.1%卵磷脂的 PBS,待检品为皮肤消毒护肤喷雾剂,杀菌作用时间为 0.5 min。取出布片载体并加入相应的试管内,用电动混匀器混匀 20 s,中和作用 10 min,进行 10 倍系列稀释,分别取样 1.0 mL 菌药混合稀释液,金黄色葡萄球菌用 TSA、白色念珠菌用沙堡氏琼脂培养基倾皿计数。试验重复 3 次,结果见表 1。

经 3 次重复试验证明:金黄色葡萄球菌第 1、2 组为无菌生长,第 3、4、5 组平均生长菌数分别为 2.72×10^6 , 2.77×10^6 , 3.10×10^6 cfu·片⁻¹,组间误差率为 5.47%,第 6 组无菌生长;将消毒剂 and 中和剂 1:1 稀释后重做第 1、2 组试验,结果第 1 组无菌生长,第 2 组生长菌数分别为 60, 80, 70 cfu·片⁻¹,平均生长菌数为 70 cfu·片⁻¹。白色念珠菌第 1、2 组为无菌生长,第 3、4、5 组平均生长菌数分别为 2.70×10^6 , 2.98×10^6 , 2.70×10^6 cfu·片⁻¹,组间误差率为 8.54%,第 6 组无菌生长;将消毒剂和中和剂 1:1 稀释后重做第 1、2 组试验,结果第 1 组无菌生长,第 2 组生长菌数分别为 90, 80, 100 cfu·片⁻¹,平均生长菌数为 90 cfu·片⁻¹。中和剂含 1.0%聚山梨酯 80 和 0.1%卵磷脂的 PBS 可中和残留的皮肤消毒护肤喷雾剂对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀灭作用,且中和剂及中和产物对受试菌的生长和培养基均无不良影响。

5.3 载体喷雾杀菌试验

试验在 20℃恒温控制器内进行。先将染菌载体(布片)平铺于无菌平皿内,预温 5 min。再用皮肤消毒护肤喷雾剂均匀喷雾于染菌载体上至湿润,作用至预定时间后,用无菌镊子将布片载体取出,分别移入含 5.0 mL 中和剂试管中,用电动混匀器混匀 20 s。中和 10 min 后,进行 10 倍系列

表 1 中和剂鉴定试验结果

Tab 1 Results of neutralizer appraisal test

菌 组	组 号	组 别	各次试验回收菌数/cfu·片 ⁻¹			回收菌数均值/ cfu·片 ⁻¹
			第 1 次	第 2 次	第 3 次	
金黄色葡萄球菌	1	消毒剂+菌片	0	0	0	0
	2	(消毒剂+菌片)+中和剂	0	0	0	0
	3	中和剂+菌片	2.30×10 ⁶	3.00×10 ⁶	2.85×10 ⁶	2.72×10 ⁶
	4	(消毒剂+中和剂)+菌片	2.70×10 ⁶	3.10×10 ⁶	2.50×10 ⁶	2.77×10 ⁶
	5	正常菌对照	2.80×10 ⁶	3.40×10 ⁶	3.10×10 ⁶	3.10×10 ⁶
	6	PBS、中和剂、培养基对照	0	0	0	0
白色念珠菌	1	消毒剂+菌片	0	0	0	0
	2	(消毒剂+菌片)+中和剂	0	0	0	0
	3	中和剂+菌片	1.40×10 ⁶	1.85×10 ⁶	1.70×10 ⁶	1.65×10 ⁶
	4	(消毒剂+中和剂)+菌片	1.60×10 ⁶	1.85×10 ⁶	1.90×10 ⁶	1.78×10 ⁶
	5	正常菌对照	1.90×10 ⁶	2.10×10 ⁶	2.20×10 ⁶	2.07×10 ⁶
	6	PBS、中和剂、培养基对照	0	0	0	0

稀释，分别取样 1.0 mL 菌药混合稀释液，其中金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌用 TSA，白色念珠菌用沙堡氏琼脂培养基倾皿计数。试验同时设阳性对照和阴性对照(无菌生长)，试验重复 3 次，结果表明，皮肤消毒护肤喷雾剂原液作用 0.5 min 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌的杀灭对数值各次均>3.00。结果见表 2。

表 2 样品对试验菌株的杀灭效果

Tab 2 The killing effect of samples to strains

菌种	试验 序号	阳性对照组菌 数的对数值	作用不同时间的杀灭对数值		
			0.5 min	1.0 min	1.5 min
金黄色葡萄球菌	1	6.39	>3.00	>3.00	>3.00
	2	6.41	>3.00	>3.00	>3.00
	3	6.47	>3.00	>3.00	>3.00
铜绿假单胞菌	1	6.41	>3.00	>3.00	>3.00
	2	6.36	>3.00	>3.00	>3.00
	3	6.45	>3.00	>3.00	>3.00
大肠杆菌	1	6.54	>3.00	>3.00	>3.00
	2	6.61	>3.00	>3.00	>3.00
	3	6.53	>3.00	>3.00	>3.00
白色念珠菌	1	6.32	>3.00	>3.00	>3.00
	2	6.40	>3.00	>3.00	>3.00
	3	6.47	>3.00	>3.00	>3.00

6 消毒现场试验

依据《消毒技术规范》2002 年版^[5]要求，在局部 100 级空气洁净实验室、温度 22~24 ℃、湿度 62%~68%条件下，用皮肤消毒护肤喷雾剂进行手、物表、皮肤喷雾消毒现场试验。

6.1 手

用样品原液对左手进行喷雾消毒至湿润，作用 1.0 min 后，用无菌棉拭在含 10 mL 中和剂中湿润后，对左手五指屈面指尖至指根往返涂擦 2 遍，每涂擦一遍将无菌棉拭转动 1 次，作为试验组样本；同时用稀释液代替中和剂，方法同上采样，所采样本作对照组。结果本品经 30 人次手消毒现场试验，其作用 1.0 min 对手上自然菌的最低杀灭对数值为 1.78。

6.2 物表

用样品原液对木质表面进行喷雾消毒至湿润，作用 3.0 min 后，将规格版(5.0 cm×5.0 cm)放入木质表面，用无菌棉拭在含 10 mL 中和剂中湿润后，对木质表面横竖往返涂擦 8 次，每涂擦一遍将无菌棉拭转动 1 次，作为试验组样本；同时用稀释液代替中和剂，方法同上采样，所采样本作对照组。结果本品经 30 次木质表面喷雾消毒现场试验，其作用 3.0 min 对物表自然菌的最低杀灭对数值为 1.71。

6.3 皮肤

用样品原液对右臂内侧进行喷雾消毒至湿润，作用 1.0 min 后，将规格版(5.0 cm×5.0 cm)放入受试者左臂内侧中段表面，用无菌棉拭在含 10 mL 中和剂中湿润后，在规格版框定的区域内，横向往返涂擦 10 遍，纵向往返涂擦 3 遍，作为试验组样本；同时用稀释液代替中和剂，方法同上采样，所采样本作对照组。结果本品经 30 人次皮肤喷雾消毒现场试验，其作用 1.0 min 对皮肤上自

然菌的最低杀灭对数值为 1.46。

7 安全性实验

依据 2002 年版《消毒技术规范》^[5]要求,用皮肤消毒护肤喷雾剂进行急性经口毒性试验,多次皮肤、一次破损皮肤、急性眼刺激试验,小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验以及亚急性毒性试验。新西兰兔,体质量 2.1~2.5 kg,饲养条件为普通环境、温度 22~25℃、湿度 52%~56%;SPF 级 SD 种♀♂大鼠,体质量为 140~160 g,饲养条件为屏蔽环境、温度 22~24℃,湿度 52%~56%;SPF 级昆明种♀♂小鼠,体质量为 18~30 g,饲养条件为屏蔽环境、温度 22~24℃,湿度 50%~56%。上述试验动物均购自于长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2009-0012。

7.1 急性经口毒性试验

20 只 SPF 级昆明种小鼠,♀♂各半,体质量(20.24±1.07)g。采用一次最大限度试验,剂量为 5 000 mg·kg⁻¹。试验时称取样品 12.50 g,加蒸馏水定容至 50 mL,混匀,按 0.2 mL·(10 g)⁻¹给小鼠一次性经口灌胃。灌胃前禁食 16 h,灌胃后连续观察 14 d,记录中毒表现及死亡情况:灌胃后小鼠无明显中毒表现,观察 14 d 无死亡。试验末处死全部动物进行大体解剖,肝、肾、脾、胃、肠、心、肺等主要脏器未见肉眼可见的异常改变。在本实验条件下,样品对昆明种♀♂小鼠的急性经口 LD₅₀>5 000 mg·kg⁻¹,属实际无毒级^[5]。

7.2 刺激试验

7.2.1 多次皮肤刺激试验 取健康白色♀新西兰兔 3 只,体质量(2.35±0.11)kg,将样品 0.5 mL 直接涂抹于一侧 2.5 cm×2.5 cm 大小的去毛皮肤上,另一侧去毛皮肤作为空白对照。涂抹 4 h 后,用蒸馏水清除残留受试物。每天涂抹 1 次,连续涂抹 14 d。在每次涂抹后 24 h 观察结果,并进行皮肤刺激反应和刺激强度评价。结果样品组和对照组红斑、水肿的评分均为 0 分,14 d 的总积分均值以及平均每天每只动物积分均值也均为 0 分,表明本品对家兔多次皮肤刺激强度为无刺激性。

7.2.2 一次破损皮肤刺激试验 取健康白色♀新西兰兔 3 只,体质量(2.32±0.13)kg,将样品 0.5 mL 直接涂抹于一侧破损皮肤区,然后用一层无刺激油纸覆盖,再用无刺激胶布固定。另一侧去毛破损皮肤用等量灭菌生理盐水作为对照,与前作同样处理。敷用 4 h 后,用蒸馏水除去残留受试物,

分别于去除受试物后 1, 24, 48 h, 观察皮肤局部反应并进行刺激反应评分和刺激强度评价,结果除样品组一只兔 1 h 水肿的评分为 1 分外,其余 1, 24, 48 h 样品组与对照组红斑、水肿的评分均为 0 分,观察各时点受试物对家兔的一次破损皮肤刺激反应的最高积分均值为 0.33 分,表明本品对家兔的一次破损皮肤刺激强度为无刺激性。

7.2.3 急性眼刺激试验 取健康白色♀新西兰兔 3 只,体质量(2.30±0.15)kg,吸取样品原液 0.1 mL,滴入家兔一侧眼结膜囊内,另一侧眼以灭菌生理盐水作为对照。滴受试物后,将眼被动闭合 4 s, 30 s 后用灭菌生理盐水冲洗。于滴眼后 1 h 和 1, 2, 3, 7, 14, 21 d, 眼观察家兔眼结膜、虹膜和角膜的损伤与恢复情况,记录眼刺激反应评分,按眼刺激反应分级标准判定受试物对眼睛的刺激程度。结果染毒后 1 h, 3 只家兔染毒侧眼结膜血管充血呈鲜红色, 2 只家兔结膜轻微水肿, 1 只家兔明显水肿,伴有部分眼睑外翻,角膜、虹膜无损伤;1 d 观察时点有 2 只家兔结膜充血评分均为 1 分, 2 只家兔结膜水肿评分均为 1 分, 1 只家兔结膜水肿评分为 2 分;2 d 观察时点 2 只家兔结膜水肿评分均为 1 分;3 d 内眼刺激反应完全消失,故观察 7 d 终止试验。对照侧在上述不同观察时点均未见角膜与虹膜损害、结膜充血和结膜水肿。在本实验条件下,受试物对家兔的急性眼刺激试验结果为 3 只动物的平均评分:角膜损害=0,虹膜损害=0,结膜充血<1,结膜水肿<2,表明本品对家兔急性眼刺激试验的刺激强度为无刺激性。

7.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

取 SPF 级昆明小鼠♀♂各 25 只,体质量(27.82±1.06)g,按体质量随机分为 5 组,每组 10 只,♀♂各半,采用经口灌胃 30 h 染毒法进行动物染毒。以 40 mg·kg⁻¹剂量的环磷酰胺为阳性对照,蒸馏水为阴性对照,受试物 3 个剂量分别为 5 000, 2 000, 500 mg·kg⁻¹,分别称取皮肤消毒护肤喷雾剂 25.00, 10.00, 2.50 g 加蒸馏水定容至 100 mL,间隔 24 h 给小鼠灌胃 2 次,每次灌胃体积为 0.2 mL·(10g)⁻¹。末次给样后 6 h 颈椎脱臼处死动物,取胸骨骨髓用小牛血清稀释涂片,甲醇固定,Giemsa 染色。在光学显微镜下,每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞,观察含有微核的嗜多染红细胞数,计算微核率(以千分率计);计数 200 个嗜

多染红细胞, 计算嗜多染红细胞与成熟红细胞的 比例(PCE/NCE)。采用 SPSS 11.0 软件统计分析。 结果表明, 样品各剂量组微核率与阴性对照组比 较差异无显著性, 而环磷酸胺组与阴性对照组比

较差异有高度显著性($P<0.01$)。各组 PCE/NCE 比 值均在正常范围内。在本实验室条件下, 样品小 鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验结果为阴性。结果 见表 3。

表 3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验结果($n=5, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Results of mouse bone marrow polychromatic erythrocyte micronucleus test($n=5, \bar{x} \pm s$)

性别	组别/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	受检 PCE 数/个	微核 PCE 数/个	微核率/%	受检 PCE 数/个	NCE 数/个	PCE/NCE
♂	5 000	5 000	6	1.2 ± 1.1	1 000	895	1.125 ± 0.104
	2 000	5 000	6	1.2 ± 0.8	1 000	874	1.155 ± 0.123
	500	5 000	3	0.6 ± 0.9	1 000	901	1.116 ± 0.095
	0	5 000	5	1.0 ± 0.7	1 000	914	1.098 ± 0.073
	40(CP)	5 000	127	$25.4\pm 4.1^{1)}$	1 000	989	1.012 ± 0.040
♀	5 000	5 000	7	1.4 ± 0.9	1 000	924	1.094 ± 0.129
	2 000	5 000	4	0.8 ± 0.8	1 000	872	1.152 ± 0.088
	500	5 000	8	1.6 ± 0.5	1 000	918	1.098 ± 0.107
	0	5 000	7	1.4 ± 0.5	1 000	887	1.131 ± 0.076
	40(CP)	5 000	115	$23.0\pm 3.5^{1)}$	1 000	977	1.025 ± 0.045

注: 与阴性对照组比较, $^{1)}P<0.01$

Note: Compared to control group, $^{1)}P<0.01$

7.4 亚急性毒性试验

依据《消毒技术规范》2002 年版^[5]要求, 取 SPF 级 SD 种大鼠 ♀ ♂ 各 20 只, 随机分为 4 组, 即对照组及 1 000, 250, 63 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个受试物组, 每组 10 只, ♀ ♂ 各半。试验时分别取样品 20.00, 5.00, 1.26 g 加蒸馏水定容至 200 mL, 分别给受试动物灌胃, 对照组予以等体积的蒸馏水, 每天 1 次, 灌胃体积为 $1.0\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$, 连续 28 d。每天观察动物的活动表现及中毒症状, 每周称 1 次体质量。试验末期, 禁食 16 h 采血, 考察样品对大鼠血常规指标、生化指标的影响。颈椎脱臼处死动物作大体解剖检查, 称肝、肾、脾、心、脑、肺、睾丸、卵巢重量, 计算脏器与体质量比值, 取心、肝、脾、肺、肾、胃、十二指肠、睾丸、卵巢、脑、肾上腺作病理切片检查。结果以 1 000, 250, 63 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的受试物经口灌胃 28 d, 试验期间剂量组动物体质量、增重、脏器重量及脏器/体质量与对照组比较无显著性差异 ($P>0.05$)。各剂量对大鼠的血常规、生化指标未见明显影响。动物作大体解剖, 未发现明显病变。病理切片检查结果未见与样品有关的病理改变。提示在本试验条件下, 样品亚急性经口毒性试验对 ♀ ♂ SD 大鼠未观察到有害作用的最大剂量为 $1\ 000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

8 腐蚀性试验

依据《消毒技术规范》2002 年版^[5]要求, 用带盖的玻璃缸盛装皮肤消毒护肤喷雾剂原液, 消毒剂量按 $200\text{ mL}\cdot\text{片}^{-1}$, 浸泡前将待试金属样片(金属样片为不锈钢、碳钢、铜、铝, 圆形直径 $24\pm 0.1\text{ mm}$, 厚 1.0 mm , 总表面积约为 9.80 cm^2 , 光洁度 4~6, 由中国预防医学科学院消毒检测中心提供)脱脂洗净置 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱干燥 1 h 后称重, 浸泡至 72 h 后除去金属样片上腐蚀产物, 并吸滤干水分置 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱干燥 1 h 后称重, 记录浸泡前后失重均值, 计算腐蚀速率。试验同时设不锈钢片浸泡蒸馏水对照。结果皮肤消毒护肤喷雾剂浸泡金属片 72 h 后对不锈钢、碳钢、铝、铜的腐蚀速率分别为 $0.000\ 0, 0.005\ 8, 0.010\ 6, 0.023\ 7\text{ mm}\cdot\text{年}^{-1}$, 依据腐蚀性分级标准判定: 本品对不锈钢、碳钢基本无腐蚀, 对铝、铜有轻度腐蚀。

9 讨论

葡萄糖酸氯己定是外用广谱抗菌剂及阳离子表面活性剂, 与皮肤有良好亲和性, 吸附并残留在皮肤表面, 具有长效抗菌性能, 与乙醇复配, 可起到协同作用, 增强杀菌效果, 提高杀菌速度, 高乙醇含量将微生物迅速浸湿穿透, 提供了快速杀菌的先决条件。并由于含醇类, 可在手清沽干燥的基础上直接进行擦拭消毒, 操作更简便, 皮

肤干燥速度快,减少临床操作程序。4%氯己定乙醇溶液或异丙醇溶液(醇浓度 70%)作为皮肤消毒剂长期使用,容易使皮肤干裂粗糙。本研究的消毒液乙醇含量为 61%,比以往使用浓度(70%)有所降低,增加了水溶液含量,使用方便(用后不用水洗),可避免出现因长期使用造成皮肤干裂粗糙的问题。配方中辅以护肤保湿成分,其在杀灭肠道致病菌、化脓性球菌、致病性酵母菌和医院感染常见细菌的同时,还具有保护及滋润皮肤的作用。用于外科手、注射部位皮肤、一般物体表面等的消毒。本品具有以下优点:杀菌效率高,且具长效抗菌性能;消毒过程一次性完成,方便省时;适用价值大,使用范围广;安全可靠,无刺激性及过敏性;性能稳定可靠;解决了外科医护人员洗手泡手的痛苦;本消毒液配方科学,制备工艺简单,使用方便。本品的研制成功,将带来良好的社会效益和经济效益。

REFERENCES

- [1] YANG H M, YI B. Modern Hospital Disinfection(现代医院消毒学) [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2002: 133-140.
- [2] ZHANG Z H, YANG M L, WANG F L, et al. Study on germicidal effect and toxicity of chlorhexidine gluconate disinfectant mixed alcohol [J]. South China J Prev Med(华南预防医学), 2011, 37(1): 63-65.
- [3] HUANG S X, MA J B, ZUO Y S, et al. Study on disinfection property of chlorhexidine gluconate ethanol disinfectant [J]. China Mod Doc(中国现代医生), 2009, 47(27): 187-188.
- [4] U S FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Avagard (Chlorhexidine gluconate 1% solution & ethylalcohol 61% w/w) [EB/OL]. 3M Health Care [2001-02-10]. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2001/21-074_Avagard.cfm.
- [5] THE MINISTRY OF HEALTH LEGAL SYSTEM AND SUPERVISION. Standardization for sterilization techniques (消毒技术规范) [S]. Beijing: The People's Republic of China the ministry of health, 2002: 15, 43, 109, 124, 126, 129, 131, 135-136, 150.

收稿日期: 2013-06-16

UPLC-MS/MS 快速测定大鼠血浆中的氯沙坦及其代谢产物

邹晓华¹, 王双虎², 胡国新³, 周云芳^{2*} (1.丽水市第二人民医院药剂科, 浙江 丽水 323000; 2.丽水市人民医院临床药学实验室, 浙江 丽水 323000; 3.浙江省温州医科大学药学院药理教研室, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 建立快速测定大鼠体内氯沙坦及其代谢产物(E-3174)浓度的 UPLC-MS/MS 方法。方法 Waters XEVO TQD 三重四级杆液质联用仪, 色谱柱为 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-水(含 0.1% 甲酸和 0.5% 氨水)(60:40), 流速为 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 内标为地西泮; 质谱条件: 电喷雾离子化源(ESI), 正离子检测模式; 加入 200 μL 乙腈沉淀蛋白, 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 转移至 1.5 mL EP 管中取 2 μL 上样。结果 E-3174 的保留时间为 1.54 min, 线性范围为 6.25~800 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 8$), 最低定量限为 0.5 ng·mL⁻¹, 回收率为 96.6%~98.37%; 氯沙坦的保留时间为 1.38 min, 线性范围为 12.5~1 600 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 6$), 最低定量限为 1.0 ng·mL⁻¹, 回收率为 98.4%~100.6%。两者的日内、日间 RSD 均<5%, 孵育体系中的其他内源性物质不干扰测定。结论 该方法操作简便, 重复性好, 适于快速测定大鼠体内氯沙坦及其代谢产物浓度。

关键词: CYP2C9; 氯沙坦; 药动学; 高效液相色谱-质谱法

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)06-0727-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.022

Rapid Determination of Losartan and Its Metabolite by UPLC-MS/MS

ZOU Xiaohua¹, WANG Shuanghu², HU Guoxin³, ZHOU Yunfang^{2*} (1.Department of Pharmacy, the Second People's Hospital of Lishui City, Lishui 323000, China; 2.The Laboratory of Clinical Pharmacy, People's Hospital of Lishui City, Lishui 323000, China; 3.Department of Pharmacology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

基金项目: 卫生部行业科研专项经费项目(201302008)

作者单位: 邹晓华, 女, 副主任药师 Tel: 13857098970 E-mail: Lszxh8@163.com 王双虎, 男, 硕士, 主任医师 Tel: (0578) 2780158 E-mail: zyf2808@sohu.com *通信作者: 周云芳, 男, 硕士, 主任药师 Tel: (0578)2780158 E-mail: zyf2808@sohu.com