

盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂最适浓度考察及抑菌效力评价

钱凌^{1,2}, 王银环², 李小玲³, 陈枢青^{1*} (1.浙江大学药学院, 杭州 310058; 2.浙江省食品药品检验研究院, 浙江省药品接触材料质量控制重点实验室, 杭州 310052; 3.福州华为医药技术开发有限公司, 福州 350015)

摘要: 目的 探索盐酸卡替洛尔滴眼液中苯扎氯铵的最适添加浓度。方法 根据苯扎氯铵药敏试验结果, 选择抑菌剂浓度 5~70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸卡替洛尔滴眼液进行初步抑菌效力考察, 筛选出适宜的抑菌剂添加量。分别于不同苯扎氯铵浓度的盐酸卡替洛尔滴眼液中加入一定浓度的金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌悬液和黑曲霉孢子悬液, 进行挑战实验, 测试上述微生物在不同时间点的存活情况。结果 苯扎氯铵 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对 5 种挑战微生物的生长有良好的抑制作用, 且为最低有效剂量。结论 苯扎氯铵 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 可作为盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂的最适添加浓度。

关键词: 盐酸卡替洛尔; 抑菌剂; 苯扎氯铵; 抑菌效力

中图分类号: R927.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)16-1977-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.16.010

引用本文: 钱凌, 王银环, 李小玲, 等. 盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂最适浓度考察及抑菌效力评价[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(16): 1977-1981.

Studies on the Optimal Bacteriostatic Concentration of Bacteriostat and the Evaluation of Bacteriostatic Efficacy of Carteolol Hydrochloride Eye Drops

QIAN Ling^{1,2}, WANG Yinhuan², LI Xiaoling³, CHEN Shuqing^{1*} (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Key laboratory of Drug Contacting Materials Quality Control of Zhejiang Provincial, Hangzhou 310052, China; 3.Fuzhou Harvester Pharmaceutical R&D Co., Ltd., Fuzhou 350015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the optimal concentration of benzalkonium chloride that added to carteolol hydrochloride eye drops. **METHODS** According to the minimum inhibitory concentration of benzalkonium chloride. The initial bacteriostatic effect of carteolol hydrochloride eye drops with the concentration of 5–70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ was investigated, and the appropriate amount of bacteriostatic agent was selected. In addition, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger* spore suspension were added to test the survival of the above microorganisms in different periods of time. **RESULTS** Benzalkonium chloride 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ had a good inhibitory effect on the growth of 5 challenging microorganisms and it was the lowest effective dose. **CONCLUSION** Benzalkonium chloride 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ can be used as optimal concentration of bacteriostatic agent in carteolol hydrochloride eye drops.

KEYWORDS: carteolol hydrochloride eye drops; bacteriostat; benzalkonium chloride; bacteriostatic efficacy

盐酸卡替洛尔滴眼液是 β -肾上腺能阻滞剂, 用于治疗原发性开角型青光眼, 继发性青光眼和高眼压症^[1-3]。本品为多剂量包装滴眼剂, 但本身不具有充分的抗菌效力。中国药典 2015 年版抑菌效力检查法(通则 1121)规定: 如果药物本身不具有充分的抗菌效力, 则应根据制剂特性(如水溶性制剂)添加适宜的抑菌剂^[4]。因此, 为了防止盐酸卡替洛尔滴眼液在正常贮藏或使用过程中由于微生物污染和繁殖, 使药物变质而对使用者造成危害, 本品中应添加一定浓度的抑菌剂。

苯扎氯铵作为一种广谱杀菌剂, 由于其具有

良好的安全性和有效性, 已经成为眼用制剂常用防腐剂^[5-7]。目前, 市场上的盐酸卡替洛尔滴眼液中多添加苯扎氯铵, 然而添加浓度无明确的规定。但是大量动物实验和临床研究表明, 苯扎氯铵浓度过高时可产生眼毒性, 引起角膜上皮细胞形态和功能的改变^[8-9]。因此, 苯扎氯铵的添加浓度应为最低有效浓度。

抑菌效力评价用于指导生产企业在研发阶段制剂中抑菌剂浓度的确定, 然而, 目前国内外尚无盐酸卡替洛尔滴眼液抑菌效力研究的报道, 对于盐酸卡替洛尔滴眼液中苯扎氯铵的合理添加浓

作者简介: 钱凌, 女, 硕士生, 初级药师 Tel: 13758143178
(0571)88208411 E-mail: chenshuqing@zju.edu.cn

E-mail: lindaqueen@yeah.net

*通信作者: 陈枢青, 男, 博士, 教授

Tel:

度的研究也极少。盐酸卡替洛尔滴眼液作为仿制药,其抑菌剂使用情况多照搬国外处方,少见科学评估。本课题以苯扎氯铵作为盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂的处方,并对其进行抑菌效力评价,以期盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂合理添加浓度的筛选奠定实验基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ME2002E 电子天平(上海 Mettler Toledo 公司); HFsafe-1200 生物安全柜(上海力康医疗设备有限公司); MLS-3781 高压蒸汽灭菌器(日本 Panasonic 公司); IF450 恒温培养箱、ICP450 低温培养箱、SF450 灭菌箱均来自德国 Memmert 公司; HTY-601 集菌仪(浙江泰林生物技术股份有限公司)。

1.2 菌种

金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、铜绿假单胞菌[CMCC(B)10104]、大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、白色念珠菌[CMCC(F)98001]和黑曲霉[CMCC(F) 98003]均由中国医学细菌保藏管理中心(CMCC)提供,用于菌液制备的工作菌株均为第3代。

1.3 培养基

胰酪大豆胨琼脂培养基(tryptic soy agar, TSA)(批号: 3303005)、沙氏葡萄糖琼脂培养基(sabouraud dextrose agar, SDA)(批号: 20160901)、胰酪大豆胨液体培养基(tryptic soy broth, TSB)(批号: 3302035)、沙氏葡萄糖液体培养基(sabouraud dextrose broth, SDB)(批号: 3302126)均购自广东环凯微生物科技有限公司; 水解酪蛋白(mueller hinton, MH)肉汤(青岛高科园海博生物科技有限公司, 批号: 20170627), 培养基适用性检查结果均符合中国药典 2015 年版规定。以上培养基均按使用说明配制。pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(青岛蓝雁绿检生物科技有限公司, 批号: 20180603)。

1.4 样品

苯扎氯铵[泰柯棕化(张家港)有限公司, 批号: 20160919]; 盐酸卡替洛尔滴眼液(福州华为医药技术开发有限公司, 批号: X20180502)。

2 方法

2.1 菌液制备

金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、铜绿假单

胞菌[CMCC(B)10104]、大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、白色念珠菌[CMCC(F)98001]和黑曲霉[CMCC(F) 98003]均按照中国药典 2015 年版四部抑菌效力检查法(通则 1121)中提供的方法制成适宜浓度的菌液, 备用。

2.2 苯扎氯铵药敏试验

用二倍微量肉汤稀释法考察苯扎氯铵的最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)和最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。

2.3 方法适用性研究

按“2.2”项下试验结果, 取对全部试验菌都表现出抑制作用的最低浓度作为抑菌剂的浓度, 制成滴眼液供试品。按照中国药典 2015 年版四部通则<1106>非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法进行存活菌数测定及方法适用性试验。

2.4 抑菌剂浓度考察预试验

按“2.2”项下试验结果, 在对全部试验菌都表现出杀灭作用的最低浓度和都无抑制作用的最高的浓度区间内平均取 5 个浓度, 制成一系列抑菌浓度梯度的滴眼液供试品, 选取上述试验菌中抗菌活性较弱的菌作为挑战菌, 按“2.3”项下经验证的计数方法对该菌的存活情况进行测定, 初步确定抑菌剂浓度。

2.5 抑菌效力测定

按“2.4”项下试验结果, 在符合标准限度的抑菌浓度范围内设置高中低 3 个实验组, 分别取包装完整的样品, 按照中国药典 2015 年版四部(通则 1121)抑菌效力检查法的要求, 分别接种金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌菌悬液和黑曲霉孢子悬液, 使得最终含菌量约为 $10^5 \sim 10^6$ cfu·mL⁻¹。按“2.3”项下经验证的计数方法对 3 组供试液 5 种菌株的存活情况进行测定, 并按照上述法规中提供的方法进行结果分析。

3 结果

3.1 苯扎氯铵药敏试验

取 MH 肉汤为稀释液, 用二倍稀释法制成一系列含苯扎氯铵浓度梯度溶液, 后加入适宜浓度的上述 5 种试验菌, 使得最终菌浓度为 $10^5 \sim 10^6$ cfu·mL⁻¹。苯扎氯铵含量分别为 280, 140, 70, 35, 17.5, 8.75, 4.375, 2.188, 1.094, 0.547, 0.273 μg·mL⁻¹。将接种好的样本置于 37 °C 孵育 48 h。设置酶标仪 OD 值 600, 检查各管浑浊情况。

无菌生长(澄清)的最高稀释度所对应的抑菌剂浓度为该样品对受试菌的 MIC 值^[10]。从上述测试的没有明显浑浊的管中取 50 μL 的样品液,涂布在新鲜的 TSA 平板中。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,计菌落数。实验重复 3 次。计算没有出现明显浑浊的管中菌数相对于初始菌数对数变化值,以相对初始菌数下降 3 个对数值所对应最低的抑菌剂浓度为该样品对受试菌的 MBC 值^[11]。结果见表 1。

表 1 苯扎氯铵药敏试验

Tab. 1 Benzalkonium chloride drug susceptibility test

苯扎氯铵/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	金黄色 葡萄球菌	大肠 埃希菌	铜绿假 单胞菌	白色 念珠菌	黑曲霉
280	—	—	—	—	—
140	—	—	—	—	—
70	—	—	— ^②	— ^②	—
35	—	—	— ^①	— ^①	—
17.5	—	— ^②	+	+	—
8.75	—	— ^①	+	+	— ^②
4.375	—	+	+	+	— ^①
2.188	— ^②	+	+	+	+
1.094	— ^①	+	+	+	+
0.547	+	+	+	+	+
0.273	+	+	+	+	+
阳性对照	+	+	+	+	+
阴性对照	—	—	—	—	—

注:“+”-试验管长菌;“-”-试验管未长菌;①-最低抑菌浓度 MIC;②-最低杀菌浓度 MBC。

Note:“+”-test tube growth;“-”-no bacteria were found in the test tube;① -minimum inhibitory concentration; ② -minimum bactericidal concentration.

3.2 方法适用性研究

取含 70.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 苯扎氯铵的供试品,分别加入金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、白色念珠菌和黑曲霉,采用平皿法进行计数方法适用性试验,结果 5 种菌株的回收率均<70%,无法达到药典要求。后续采用薄膜过滤法进行计数方法适用性试验,金黄色葡萄球菌回收率仍<70%;铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、白色念珠菌和黑曲霉四株菌回收率>70%。根据中国药典 2015 年版通则 1105 规定,如果供试品对微生物生长的抑制作用无法以其他方法消除,供试液可经中和、稀释或薄膜过滤处理后再加入试验菌悬液进行方法适用性试验。经试验验证,最终细菌选择经薄膜过滤处理后再加入试验菌悬液的方法进行方法适用性试验,真菌选择薄膜过滤法进行计数方法适用性试验。结果见表 2。

方法适用性试验结果的回收率=(试验组菌落

数-供试品对照组菌落数)/菌液对照组菌落数 $\times$ 100%,均不低于中国药典规定的 70%。表明本品抑菌效力检查细菌计数方法可采用薄膜过滤法:取供试品原液 1 mL,加至 100 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液中,摇匀,薄膜过滤,每膜用上述缓冲液 500 mL 分次冲洗,依法检查[中国药典 2015 年版薄膜过滤法(通则 1105)],应符合规定。

表 2 方法适用性试验结果

Tab. 2 Results of method applicability test

实验菌株	菌液对照组 计数结果/ cfu	菌液对照组 计数结果平 均值/cfu	供试品对 照组计数 结果/cfu	试验组计 数结果/ cfu	回收 率/%
金黄色葡萄球菌	66, 75	70	0	50	71.4
铜绿假单胞菌	56, 70	63		60	95.2
大肠埃希菌	67, 72	70		57	81.4
白色念珠菌	31, 32	32	0	29	90.6
黑曲霉	43, 37	40		35	87.5

3.3 抑菌剂浓度考察预试验

苯扎氯铵对铜绿假单胞菌的抗菌活性相对较弱,对金黄色葡萄球菌的抗菌活性相对较强。当苯扎氯铵含量>70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,表现出对 5 种试验菌较强的抑制作用;<2.188 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,则表现出对 5 种试验菌无抑制作用。故在苯扎氯铵含量 2.188~70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间做进一步筛选。以浓度具有代表性和易于制备样品为原则,进行 5 种挑战微生物的试验。设计供试品条件:a 组(苯扎氯铵浓度 70.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、b 组(苯扎氯铵浓度 50.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、c 组(苯扎氯铵浓度 30.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、d 组(苯扎氯铵浓度 10.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、e 组(苯扎氯铵浓度 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。由于苯扎氯铵对铜绿假单胞菌和白色念珠菌的抑制作用最弱,故用这 2 种菌株代表细菌和真菌做微生物挑战试验的预实验。在上述 6 组供试品中分别接种铜绿假单胞菌和白色念珠菌,使得最终含菌量约为 $10^5\sim 10^6$ cfu $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。按照中国药典 2015 年版四部抑菌效力检查法(通则 1121)中提供的方法进行结果分析。

铜绿假单胞菌挑战试验中,a、b、c 组供试品在整个试验过程中与初始值相比始终表现为下降趋势;d 组虽然一开始表现下降趋势,但后来出现上升趋势;e 组则一开始就表现出上升趋势。参照中国药典 2015 年版四部抑菌效力检查法(通则 1121)中眼用制剂的抑菌效力判断标准,a、b 2 组可以达到 A 标准;c、d、e 3 组不达标。结果见表

3. 白色念珠菌挑战试验中, 所有试验组在整个试验过程中, 与初始值相比始终均表现为下降趋势。参照中国药典 2015 年版四部抑菌效力检查法(通则 1121)中眼用制剂的抑菌效力判断标准, a、b 2 组可以达到 A 标准, c 组可以达到 B 标准, d、e 2 组不达标。结果见表 4。

表 3 以铜绿假单胞菌为挑战菌的抑菌效力测定结果

Tab. 3 *Pseudomonas aeruginosa* was used to determine the bacteriostatic efficacy of challenge bact

试验组	初始值	减少的 lg 值			
		6 h	24 h	7 d	28 d
a	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9(NR)
b	5.9	5.2	5.9	5.9	5.9(NR)
c	5.9	4.2	5.9	5.9	1.9
d	5.8	0.1	0.7	0.9	1.2
e	5.8	-0.1	-0.5	0.8	1.5

注: NR-试验菌未恢复生长。

Note: NR-test bacteria did not resume growth.

表 4 以白色念珠菌为挑战菌的抑菌效力测定结果

Tab. 4 *Candida albicans* was used to determine the bacteriostatic efficacy of challenge bact

试验组	初始值	减少的 lg 值		
		7 d	14 d	28 d
a	5.4	5.4	5.4	5.4(NI)
b	5.4	4.2	4.8	5.4(NI)
c	5.4	1.8	2.6	4.8(NI)
d	5.3	1.8	0.9	2.8
e	5.3	1.2	0.5	1.6

注: NI-未增加, 是指对前一个测定时间, 试验菌增加的数量 ≤ 0.5 lg。

Note: NI-No increase, in the table means that for the previous measurement time, the number of the test bacteria increase ≤ 0.5 lg.

3.4 抑菌效力测定结果

综上分析, 最适的抑菌剂浓度应该介于 c 组和 b 组之间, 即本品中添加苯扎氯铵最佳浓度大约在 $30.00 \sim 50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。故在该浓度区间设计供试品条件以进一步筛选。进行抑菌效力检查正式试验的供试品条件: A 组(苯扎氯铵浓度 $50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、B 组(苯扎氯铵浓度 $40.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、C 组(苯扎氯铵浓度 $30.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

取上述 A、B、C 3 组供试液, 分别接种金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌悬液和黑曲霉孢子悬液, 使得最终含菌量约为 $10^5 \sim 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。采用“3.2”项下经验证的计数方法对该 3 组供试液 5 种菌株的存活情况进行测定, 并按照中国药典 2015 年版四部抑菌效力检查法(通则 1121)中提供的方法进行结果分析。结果见表 5。

表 5 抑菌效力测定结果

Tab. 5 Results of antimicrobial effectiveness

试验组	试验菌株	初始值	减少的 lg 值				
			6 h	24 h	7 d	14 d	28 d
A	金黄色葡萄球菌	5.7	5.7	5.7	5.7	-	5.7(NR)
	大肠埃希氏菌	5.7	4	5.7	5.7	-	5.7(NR)
	铜绿假单胞菌	5.9	5.2	5.9	5.9	-	5.9(NR)
	白色念珠菌	5.4	-	-	4.2	4.8	5.4(NI)
	黑曲霉	5.2	-	-	4.5	5.2	5.2(NI)
B	金黄色葡萄球菌	5.7	5.7	5.7	5.7	-	5.7(NR)
	大肠埃希氏菌	5.9	3.8	5.9	5.9	-	5.9(NR)
	铜绿假单胞菌	5.4	2.7	2.5	3	-	5.4(NR)
	白色念珠菌	5.3	-	-	2.3	3.3	4.5(NI)
	黑曲霉	5.8	-	-	5.3	5.8	5.8(NI)
C	金黄色葡萄球菌	5.7	4.7	5.7	5.7	-	5.7(NR)
	大肠埃希氏菌	5.9	4.4	3.4	-0.4	-	-0.5
	铜绿假单胞菌	5.9	4.2	5.9	5.9	-	1.9
	白色念珠菌	5.4	-	-	1.8	2.6	4.8
	黑曲霉	5.6	-	-	3.6	5	5.3(NI)

注: NR-试验菌未恢复生长; NI-未增加, 是指对前一个测定时间, 试验菌增加的数量 ≤ 0.5 lg。

Note: NR-no recovery; NI-No increase, in the table means that for the previous measurement time, the number of the test bacteria increase by ≤ 0.5 lg.

根据抑菌效力测定结果, 参照滴眼剂抑菌效力判断标准, A 组(苯扎氯铵浓度 $50.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和 B 组(苯扎氯铵浓度 $40.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)对细菌和真菌的抑菌效力均能达到中国药典的抑菌效力判断标准。其中 A 组对 5 个试验菌的抑制作用均能达到 A 标准。B 组对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、白色念珠菌和黑曲霉的抑制作用能达到 A 标准; 对铜绿假单胞菌的抑制作用在时间间隔 24 h 时减少的 lg 值未能达到 3, 但达到 1; 在时间间隔 7 d 时减少的 lg 值达到 3, 故 B 组的抑菌效力达到 B 标准。C 组对大肠埃希菌的抑制作用在时间间隔 7 d 时增加了 0.4 lg, 达不到药典规定的至少降低 3 lg 的标准, 对铜绿假单胞菌的抑制作用在时间间隔 28 d 与 7 d 比较增加了 4 lg, 超过药典规定的 0.5 lg; 对白色念珠菌的抑制作用在时间间隔 28 d 时, 试验菌增加数量为 4.8 lg, 超过标准规定的 0.5 lg。故 C 组的抑菌效力达不到药典要求。

4 讨论

盐酸卡替洛尔滴眼液的适应症是青光眼。该类患者需要长期不间断使用滴眼剂, 且该类患者本身就有眼睛干涩, 酸胀, 疲劳等不适反应, 所以需要选择安全有效的成分作为其抑菌剂配方。眼用制剂中添加抑菌剂的浓度要求是, 既可避免滴眼剂受到微生物污染, 又要减轻抑菌剂对眼组

组织的伤害。苯扎氯铵是目前应用最广泛的经典抗菌剂之一,超过 70%的眼科制剂以苯扎氯铵为抗菌剂^[7]。美国食品药品监督管理局(FDA)规定了苯扎氯铵作为抗菌剂在滴眼剂中的最高使用浓度为 0.012%(溶剂)和 0.025%(混悬剂)^[12]。作为滴眼剂的防腐剂,苯扎氯铵的浓度一般控制在 0.000 4%~0.020 0%^[5]。本研究中 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的苯扎氯铵作为滴眼液的抗菌剂处方符合上述浓度要求,且该浓度下盐酸卡替洛尔滴眼液对 5 种菌株的抗菌效力均达到中国药典要求。

苯扎氯铵药敏试验表明,苯扎氯铵对铜绿假单胞菌和白色念珠菌的抗菌活性相对较弱,对金黄色葡萄球菌的抗菌活性较强。方法适用性研究表明,相同浓度的抗菌剂条件下,铜绿假单胞菌和白色念珠菌的回收率较高,金黄色葡萄球菌的回收率较低。抗菌效力结果表明,苯扎氯铵对铜绿假单胞菌的抗菌性较弱,对白色念珠菌次之,对金黄色葡萄球菌的抗菌性最强。综上所述,当滴眼剂本身抑菌性较弱或无抑菌性时,滴眼剂中抗菌剂的最低有效量与抗菌剂本身的 MIC 有一定关系。但由于供试品整体的 pH 值等因素的影响,仍然需要考察滴眼剂整体的抗菌效力来确定抗菌剂的最低有效量。故在设计抗菌效力试验方案时,应当先进行 MIC 试验大致确定抗菌剂浓度范围;再用对应抗菌活性最弱的试验菌进行抗菌效力的挑战试验,进一步缩小范围;最后按照中国药典 2015 年版四部抗菌效力检查法(通则 1121)中提供的方法确定最低有效浓度。苯扎氯铵在中国药典 2015 年版中的定义为氯化二甲基苄基烃铵的混合物。熊亚群等^[13]发现不同烷基组成的苯扎氯铵同系物对革兰氏阳性菌,革兰氏阴性菌和真菌的抑菌活性差异较大,说明烷基组成比率可能影响其抑菌效力。故应结合滴眼剂本身特性,调整苯扎氯铵同系物之间的比例,以期获得较低的“最低有效剂量”。

对于眼用制剂中抗菌效力的测定,美国药典和欧洲药典都有相关的方法与规定,中国药典 2015 年版将之前版本中的“抗菌效力检查法指导原则”改为“抗菌效力检查法强制性标准”,说明

我国对药品抑菌剂的要求越来越严格,正确认识和合理使用抑菌剂显得尤为重要。

REFERENCES

- [1] ZHANG H Z, SUN H B, WANG B, et al. Intraocular pressure and cardiovascular effects of timolol or carteolol in combination with travoprost in patients with primary open-angle glaucoma and ocular hypertension [J]. *Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci*(中华眼视光学与视觉科学杂志), 2017, 19(2): 107-110.
- [2] YAO B Q, PANG Y Y, LI Y X. Effect of 0.004% travoprost and 2% carteolol on intraocular pressure in patients with ocular hypertension after laser peripheral iridotomy or trabeculectomy in primary angle-closure glaucoma [J]. *Chin J Ophthalmol*(中华眼科杂志), 2013, 49(4): 340-344.
- [3] WANG Z, LI X Y, WANG X X, et al. Effect of carteolol hydrochloride eye drops on 24-hour variation of intraocular pressure [J]. *Chin J Geriatr*(中华老年医学杂志), 2011, 30(5): 393-395.
- [4] 中国药典. 四部[S]. 2015: 通则 1121: 151-153.
- [5] HUANG C H, CHEN W S, CHEN Y X, et al. Toxicity research status of benzalkonium chloride on ocular surface [J]. *Chin J Ophthalmol*(中华眼科杂志), 2014, 50(4): 303-306.
- [6] 梁光江, 王延东, 叶成添, 等. 滴眼剂中常用几种抑菌剂的应用和观察[J]. *今日药学*, 2010, 20(3): 43-44.
- [7] WANG L, TANG Z, WANG Q. Advances in antibacterial and synergistic research of eye drops [J]. *Chin J New Drugs Clin Remedies*(中国新药与临床杂志), 2017, 36(12): 693-700.
- [8] TORKILDSEN G, FRISCH S, BAI M Q, et al. Safety and comfort evaluation of a new formulation of Visine® lubricant eye drops containing HydroBlend™ and GentlePur™ [J]. *Clin Ophthalmol*, 2016, 10: 331.
- [9] LI J, YAN X M. Toxicity of benzalkonium chloride on human corneal epithelial cells *in vitro* [J]. *Chin Ophthalm Res*(眼科研究), 2008, 26(11): 814-817.
- [10] DING B, GONG L P, XIE Y C. Studies on antimicrobial preservatives screening and antimicrobial effectiveness of azithromycin eye drops [J]. *Drug Stand China*(中国药品标准), 2012, 13(4): 281-284.
- [11] QIAO Z H, CHENG Y Q, LU Z H, et al. Antibacterial and bactericide activity of lactic acid against three strains of food-borne pathogenic bacteria [J]. *Food Sci Technol*(食品科技), 2008, 33(10): 187-191.
- [12] FDA. Inactive ingredient search for approved drug products [EB/OL]. (2017-07-05)[2017-07-31]. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>.
- [13] XIONG Y Q, LIU Y M, LONG H Y, et al. Research on quality differences in benzalkonium chloride from domestic and abroad [J]. *Chin Pharmacist*(中国药师), 2016, 19(4): 808-811.

收稿日期: 2019-07-02

(本文责编: 沈倩)