

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准—中药成方制剂 [S]. 第八册. 北京: 中国医药科技出版社, 1995. 115.
[2] 耿红梅, 王广庆, 段春改, 等. 当归拈痛丸的鉴别及黄芩苷的

测定 [J]. 华西药学期刊, 2007, 22 (6) : 673 - 675.

- [3] 沈印君. 中药药理学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 47.
[4] 廖丽云, 徐小平, 贺英菊, 等. HPLC测定熊胆贝母止咳胶囊中牛磺熊去氧胆酸的含量 [J]. 华西药学期刊, 2004, 19 (2) : 135 - 137.

收稿日期: 2007 - 12

浊度法测定硫酸妥布霉素注射液的含量

湛文青, 彭洁

(广东省药品检验所, 广东 广州 510180)

摘要: 目的 采用浊度法测定硫酸妥布霉素注射液的含量。方法 选用金黄色葡萄球菌 [CMCC (B) 26 003] 为试验菌, 利用妥布霉素在含菌液体培养基中, 于 530 nm 的吸光度与浓度的对数呈良好线性关系的原理进行测定。结果 妥布霉素 0.3 ~ 1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 线性关系良好 ($r=0.9977$), 平均回收率为 102.3%, $RSD=1.6\%$ ($n=9$)。结论 所建方法较常用的管碟法操作简便快速、灵敏、准确、稳定, 是测定硫酸妥布霉素注射液含量的较好方法。

关键词: 浊度法; 硫酸妥布霉素注射液; 妥布霉素; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103 (2008) 04 - 0494 - 02

Determination of Tobramycin sulfate injection by turbidimetric assay method

ZHAN Wen - qing, PENG Jie

(Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510180, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a turbidimetric assay method to determine Tobramycin sulfate injection. **METHODS** The test bacteria was *staphylococcus aureus* [CMCC (B) 26 003]; A good linear relationship between the logarithm of concentration and its absorbance was obtained at the wavelength of 530 nm when tobramycin was in the liquid medium containing the test bacteria. **RESULTS** The standard curve was linear over the range of 0.3 - 1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9977$). The average recovery was 102.4% with RSD of 1.6% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is more simple, rapid, accurate and reliable than cylinder - plate method and could be used for the determination of Tobramycin sulfate injection.

Key words: Turbidimetry; Tobramycin sulfate injection; Tobramycin; Determination

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103 (2008) 04 - 0494 - 02

硫酸妥布霉素注射液的原含量测定方法为管碟法, 方法操作烦琐, 耗时, 影响因素较多, 结果欠稳定。现采用新载的抗生素微生物检定浊度法^[1]测定妥布霉素的含量, 与原方法的对比分析表明, 本方法具简便、快速、稳定可靠的优点, 可作为硫酸妥布霉素注射液的质量控制方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

WBS - 100型微生物比浊仪 (北京先驱威锋科技开发公司) hoenixSpec比浊仪 (美国 BD)。妥布霉素对照品 (批号: 0340 - 200002, $880\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)、培养基号 (批号: 060403)、金黄色葡萄球菌 [CMCC (B) 26 003] (中国药品生物制品检定所); 硫酸妥布霉素注射液 [广州天心药业股份有限公司, 批号:

060102; 广东新北江制药股份有限公司, 批号: 0605004、0605005, 自编号依次为 1、2、3, 规格为 2 ml: 80 mg (8万单位)]; 其他试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 培养管的制备与测定条件 取已灭菌的石英培养管, 加入 1.0 ml 待测溶液 (9.0 ml 2.5% 试验菌液的 1 号培养基), 每一浓度制备 4 管, 按拉丁方排列, 加塞, 置测定仪内, 37 培养 3 ~ 4 h, 在 530 nm 处测定吸光度。

1.2.2 溶液的制备 取金黄色葡萄球菌甘油冷冻管菌液 (第二代) 接种至 50 ml 1 号培养基中, 35 培养约 20 h, 浊度 > 2.6 McFarland (麦氏浊度单位), 备用。精密称取约 28.4 mg 妥布霉素对照品, 置 50 ml 量瓶中, 加灭菌水定容, 摇匀得 $500\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 贮备液。精密量取 5 ml 贮备液, 置 250 ml 量瓶

作者简介: 湛文青, 从事药品检验工作。

中,加 pH7.8 灭菌磷酸盐缓冲液,定容得 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。精密量取 2.5 mL 硫酸妥布霉素注射液置 200 mL 量瓶中,加灭菌水定容得 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品贮备液。同对照溶液制法得 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品溶液。取辅料按处方量制成缺妥布霉素的对照液,按供试品溶液制备法制得阴性对照液。取灭菌 pH7.8 磷酸盐缓冲液代替被测供试液作空白对照溶液。

1.2.3 标准曲线的制备 取 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 妥布霉素标准品溶液,用 pH7.8 灭菌磷酸盐缓冲液,分别配制、稀释成 0.3、0.5、0.7、0.9、1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 系列浓度的溶液,按“1.2.1 项测定”,以浓度对数值对吸光度进行线性回归,得回归方程: $Y = -0.7619X + 0.2190$ ($r=0.9977$),表明妥布霉素 0.3~1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对数值与吸光度呈良好线性关系。

1.2.4 测定方法 取对照品溶液、供试品溶液,分别用 pH7.8 灭菌磷酸盐缓冲液制成高、低剂量分别为 0.6、0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液(剂间比为 1.5),按浊度法中的二剂量法测定,计算结果。

1.2.5 专属性考察 取“1.2.4 项 0.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液、空白对照溶液各 1 mL,按“1.2.1 项测定”。结果对照品与供试品溶液的吸光值基本相同,分别为 0.459 和 0.453,表明供试品与妥布霉素对照品对试验菌的抑制作用一致;阴性对照液与空白对照液的吸光值基本相同,分别为 0.676 和 0.681,表明辅料不产生抑菌作用,对妥布霉素的测定无干扰。

1.2.6 重复性试验 取同一样品 6 份,按“1.2.4 项测定”每份样品的含量,分别为 102.5%、103.4%、104.3%、102.1%、103.3%、100.8%,平均为 102.7%, $RSD = 1.2\%$ ($n=6$)。

1.2.7 中间精密度试验 不同日期、不同分析人员按“1.2.4 项测定”同批样品,结果分别为 102.5%、103.4%、102.1%、102.8%,平均为 102.6%, $RSD = 0.6\%$ ($n=4$)。

1.2.8 样品的稳定性试验 取同一供试品贮备液第 1、2、3 天分别按“1.2.4 项测定”样品的含量,分别为 102.8%、100.2%、103.0%,平均为 102.0%, $RSD = 1.6\%$ ($n=3$)。表明 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品贮备液在 4~8 48 h 内稳定。

1.2.9 加样回收率试验 取已知含量的 3 号样品,分别精密量取 2.0、2.5、3.0 mL 供试品贮备液各 3 份,各精密加入对照品贮备适量液使成 5 mL,置 250

mL 量瓶中,加灭菌 pH7.8 磷酸盐缓冲液定容得 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品加对照品溶液,按“1.2.4 项测定”(表 1)。

表 1 加样回收率试验结果(μg , $n=9$)

Table 1 Results of recovery test(μg , $n=9$)

Original	Added	Detected	Recovery/%	$\bar{X}/\%$	$RSD/\%$
4.10	5.98	10.01	98.8	102.3	1.6
4.10	6.03	10.20	101.2		
4.10	5.98	10.17	101.5		
5.13	4.98	10.30	103.8		
5.13	5.02	10.24	101.8		
5.13	4.98	10.26	103.0		
6.15	3.99	10.26	103.0		
6.15	4.02	10.34	104.2		
6.15	3.99	10.28	103.5		

1.2.10 样品的测定 按“1.2.4 项方法测定”3 批样品,结果妥布霉素的含量分别为 104.3%、102.3%、102.5%, $RSD < 1.3\%$ ($n=3$)。分别用浊度法和管碟法测定 3 号样品各 4 份,测得妥布霉素含量的平均值分别为 102.2%、100.2%, RSD 分别为 1.0%、1.8% ($n=4$)。经统计学分析,两种方法无显著差异 ($P > 0.05$)。

2 讨论

曾选用大肠杆菌 [CMCC (B) 44103] 作试验菌,因其繁殖速度较快而与抗生素作用的量值变化不稳定,故选用繁殖速度适中,与抗生素作用的量值变化较稳定的金黄色葡萄球菌作试验菌。将试验菌接种至液体培养基中,所得的菌液不但均匀易分散,且生长较稳定,曲线中相邻浓度的吸光度差大于 0.1。实验初期选择将试验菌接种至营养肉汤培养基中培养,所得菌液的浓度较低,浊度只有 0.5 个单位,做标准曲线考察时,试验菌易被高浓度的抗生素抑制,几乎不生长,造成其浓度的对数值与吸光度的线性关系发生偏离,影响结果的稳定性,所以改为接种至 9 号培养基中培养。由于试验菌繁殖较好,菌液的浓度较高,浊度达 2.6 个单位以上,因此,获得良好的线性关系,结果也稳定。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典 [S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005. 附录 A. 79, 270.

收稿日期: 2007-07