

的剂量进行家兔法热原检查,结果阴性。家兔的致热阈值为 10 Eu/kg,证实实验用盐酸林可霉素的内毒素含量在 10 Eu/ml 以下,本实验选用 100 Eu/ml 的内毒素进行试验,稀释4倍的盐酸林可霉素才出现凝胶反应(药物中的内毒素同样被稀释 4 倍),可以认为,药物所含内毒素不会对实验结果产生影响。

实验用鲎试剂溶解剂溶解鲎试剂,因鲎

试剂溶解剂具有一定的缓冲能力,可消除药物 pH 值对鲎试验的影响。

参 考 文 献

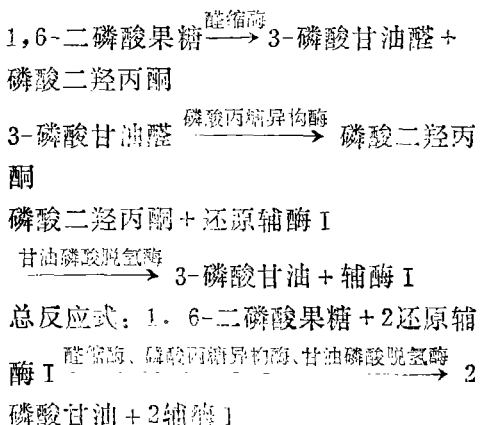
[1] 周海钧.热原的本质.药学通报,1988, 23(5):277  
 [2] USP 21th NF 16th,1984:1164  
 [3] 部颁标准.细菌内毒素检查法,1991:22

## 果糖二磷酸钠注射液含量测定

海军医学研究所(上海 200433) 杨其库 徐汉标

果糖二磷酸钠是去年国家批准的二类新药,其粉针剂主要用于心血管系统疾病的治疗。果糖二磷酸钠含量的法定测定方法是二苯胺法,本注射液采用酶法。与二苯胺法相比,酶法专属性较强,准确度和精密度也符合制剂测定要求,不需要对照品,操作简便。现将酶法研究的要点介绍如下:

### 一、化学反应式



### 二、试剂配制

1. 0.1mol/l, pH7.6Tris溶液:称取6.06gTris(A.R)溶于400ml的水,稀盐酸调 pH 到7.6.加水稀释至 500 ml。

2. 复合酶液:取 1 ml 复合酶浆状物(自提),溶于 250 mlTris 溶液,轻轻摇匀,取 50 ml 作为三酶溶液; 剩余 200 ml 加还原辅酶 I, 加量控制在 340 nm 处吸光度为 0.6~0.8,作为四酶溶液。

3. 样品溶液:精密量取本品 5 ml 于 50 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,精取 2 ml 于 100 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

### 三、测定方法

三酶和四酶溶液各精取 3 ml 分置于石英比色皿的对照杯与样品杯中,在 340nm 处以对照杯调零,读记样品杯的吸光度为 E。然后在对照杯和样品杯分别加入 0.1 ml 样品溶液,用玻棒搅匀,经过 2 分钟以对照杯调零,读记样品杯的吸光度为 E<sub>1</sub>。

重量容积百分比计算公式:

$$\begin{aligned}
 \text{果糖二磷酸钠}\% &= \frac{E_0 - E_1 \times \frac{3.1}{3}}{6.22 \times 10^3} \times \frac{M}{2000} \\
 &\times 3 \times \frac{100}{V} \times F
 \end{aligned}$$

式中, M 为果糖二磷酸钠的分子量

406.2;

F 为修正系数 1.03;

V 为 0.1 ml 样品溶液相当于注射液的毫升数,即 0.0002 ml;

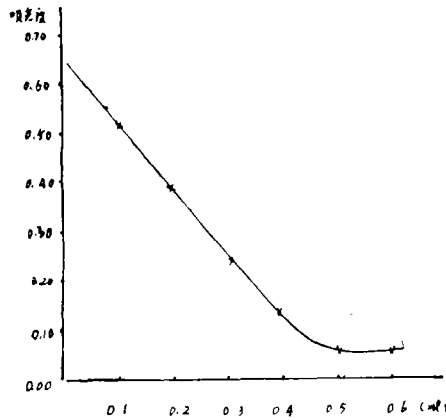
$6.22 \times 10^3$  为还原辅酶 I 的摩尔吸收系数;

2000 为 1,6-二磷酸果糖的氧化

系数。

#### 四、线性试验

在盛有 3ml 四酶液的样品杯中, 分别加入不同体积的样品溶液, 以等体积的三酶液调零, 读记 340 nm 处每次加样前后的吸光度值, 将加样后吸光度值修正为 3ml 的数值, 作图。当加样前吸光度为 0.65 时, 加 0.1—0.4 ml 样品溶液, 吸光度呈直线下降。



样品溶液加量与吸光度的线性关系

#### 五、重复性试验

将同一份果糖二磷酸钠注射液样品, 进行了十二次平行测定, 各次吸光度下降值如下: 0.130, 0.130, 0.133, 0.130, 0.131, 0.131, 0.132, 0.128, 0.132, 0.130, 0.129,

0.132

经统计学处理得:  $\bar{x} \pm SD = 0.1305 \pm 0.0014, CV = 1.1\%$

六、二苯胺法与酶法对三批样品含量测定结果的比较列于下表:

二苯胺法与酶法对样品含量测定结果

样品批号	二苯胺法测得含量 %(g/ml)	酶法测得的含量 %(g/ml)	酶法量/二苯胺法量 %(g/g)
900801	10.06	9.93	98.2
900901	10.07	10.22	101.5
900902	10.10	10.00	99.0

#### 七、小结

果糖二磷酸钠注射液是我们在果糖二磷酸钠原料药及其粉针剂研制成功后的相关研究课题。用酶法测定其含量, 与法定二苯胺

法测定结果相一致。酶法测定具有简便、快速、准确、特异性高和重现性好的优点, 既适用于本注射液的含量测定, 又可用于果糖二磷酸钠原料药及其粉针剂的含量测定。