

中图分类号: R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)14-0084-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.14.017



# 富马酸福莫特罗吸入溶液细菌内毒素检查方法的建立\*

刘娜<sup>1,2,3</sup>, 赵艳霞<sup>1,2,3</sup>, 耿雪<sup>1,2,3</sup>, 祝清芬<sup>1,2,3,Δ</sup>

(1. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101; 2. 山东省食品药品检验研究院产品技术基础公共服务平台, 山东 济南 250101; 3. 山东省食品药品检验研究院仿制药研究与评价重点实验室, 山东 济南 250101)

**摘要:**目的 建立富马酸福莫特罗吸入溶液细菌内毒素的检查方法。方法 参照美国药典和国家处方集(USP43-NF38), 2020年版《中国药典(四部)》通则1143细菌内毒素检查法及指导原则9251细菌内毒素检查法应用指导原则和指导原则9301注射剂安全性检查法应用指导原则, 采用凝胶法对富马酸福莫特罗吸入溶液进行了细菌内毒素检查方法学研究。结果 供试品溶液的细菌内毒素限值可设定为1.4 EU/μg; 使用细菌内毒素检查用水将供试品溶液质量浓度稀释至0.312 5 μg/mL及以下, 用0.25 EU/mL及以上灵敏度的鲎试剂进行细菌内毒素检查时, 该供试品对鲎试剂与细菌内毒素的反应无干扰作用。对某厂家3批样品进行细菌内毒素检查, 结果内毒素终点浓度均低于拟订的限值。结论 富马酸福莫特罗吸入溶液可采用凝胶法进行细菌内毒素检查。为保证用药安全, 有必要在吸入溶液的质量控制过程中增加细菌内毒素检查项。

**关键词:**富马酸福莫特罗吸入溶液; 细菌内毒素; 鲎试剂; 干扰试验; 凝胶法

## Establishment of Bacterial Endotoxin Test Method for Formoterol Fumarate Inhalation Solution

Liu Na<sup>1,2,3</sup>, Zhao Yanxia<sup>1,2,3</sup>, Geng Xue<sup>1,2,3</sup>, Zhu Qingfen<sup>1,2,3,Δ</sup>

(1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan, Shandong 250101, China; 2. Industrial Technology Foundation Public Service Platform, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan, Shandong 250101, China; 3. NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drugs, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan, Shandong 250101, China)

**Abstract: Objective** To establish a bacterial endotoxin test method for Formoterol Fumarate Inhalation Solution. **Methods** Referring to the *United States Pharmacopoeia* and the *National Formulary* (USP43-NF38), the General Rule 1143 Bacterial Endotoxin Test and Guiding, Principle 9251 Bacterial Endotoxin Test Application Guiding Principle and Principle 9301 Injection Safety Test Application Guiding Principle of the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition, Volume IV), the gel method was adopted to study the bacterial endotoxin test methodology of Formoterol Fumarate Inhalation Solution. **Results** The bacterial endotoxin limit of the test solution was set to 1.4 EU/μg; when using bacterial endotoxin test water to dilute the mass concentration of the test solution to 0.312 5 μg/mL or below, and using tachypleus amebocyte lysate with sensitivity of 0.25 EU/mL or above for bacterial endotoxin test, the test sample had no interference effect on the reaction between the limulus amebocyte lysate and bacterial endotoxin. Bacterial endotoxin testing was conducted on three batches of samples from a certain manufacturer, and the endpoint concentrations of endotoxins were all below the proposed limit. **Conclusion** The gel method can be used for bacterial endotoxin test of Formoterol Fumarate Inhalation Solution. To ensure medication safety, it is necessary to add bacterial endotoxin test items in the quality control process of inhaled solutions.

**Key words:** Formoterol Fumarate Inhalation Solution; bacterial endotoxin; limulus amebocyte lysate; interference test; gel method

吸入制剂可使药物随吸入气流经呼吸道到达肺部, 从而发挥治疗作用。吸入给药可使药物从肺部直接进入血, 从而达到快速吸收的效果, 同时可避免首过效应<sup>[1]</sup>。目前, 吸入给药已在临床广泛应用<sup>[2]</sup>。富马酸福莫特罗吸入溶液作为支气管β<sub>2</sub>受体激动剂, 适用于哮喘和慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者的维持治疗。该品种近两年在国内批准生产销售的企业有5家, 还有26家企业正在申报注册, 未来更会有大批量相应品种上市销售。2020年版《中国药典(四部)》对吸入溶液类制剂

虽未规定需进行细菌内毒素检查, 但吸入制剂的生产过程为常规无菌生产工艺<sup>[3-4]</sup>, 与注射剂极为相似, 国内外的指导原则均已将该类制剂列为高风险级别<sup>[5]</sup>。鉴于该类药物在国内的生产上市和临床使用越来越广泛, 且尚无注射剂生产、上市销售, 为提高该品种吸入溶液的质量, 确保临床用药安全, 按2020年版《中国药典(四部)》通则1143细菌内毒素检查法及指导原则9251细菌内毒素检查法应用指导原则和指导原则9301注射剂安全性检查法应用指导原则<sup>[6]</sup>要求建立了富马

\*基金项目: 国家科技重大专项[2018ZX09101001-003-005]; 国家药品标准制修订研究课题[2023Y33]。

第一作者: 刘娜, 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药品、食品、化妆品有效性及安全性评价, (电子信箱)liuli3011580@sohu.com。

Δ通信作者: 祝清芬, 男, 博士, 主任药师, 研究方向为药品、食品、化妆品有效性、安全性评价, (电子信箱)13969128018@163.com。

酸福莫特罗吸入溶液的细菌内毒素检查凝胶法。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:ET-96 型内毒素凝胶法测定仪(天津市天大天发科技有限公司);88882012 型涡旋振荡器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);JJ-CJ-2A 型洁净工作台(苏州净化设备有限公司)。

试剂:富马酸福莫特罗吸入溶液(企业 A,批号为 23NJ0、23E66、24A62,规格均为 2 mL:20  $\mu\text{g}$ );鲎试剂-1(湛江安度斯生物有限公司,批号为 2211282,灵敏度为 0.25 EU/mL,规格为 0.1 mL/支),鲎试剂-2(湛江博康海洋生物有限公司,批号为 2407101,灵敏度为 0.25 EU/mL,规格为 0.1 mL/支)。细菌内毒素工作标准品(中国食品药品检定研究院,批号为 150601-2022 92,规格为 90 EU/支);细菌内毒素检查用水(湛江博康海洋生物有限公司,批号为 2403152,规格为 5 mL/支)。

1.2 方法

供试品溶液细菌内毒素限值( $L$ )确定:参考美国药典和国家处方集(USP43-NF38)细菌内毒素检查法表述,非肠道给药制剂人体最大可接受的内毒素剂量( $K$ )<sup>[7]</sup>为 5.0 EU/( $\text{kg}\cdot\text{h}$ );根据品种使用说明,富马酸福莫特罗吸入溶液常规用量为每次 12  $\mu\text{g}$ (部分患者可提高至每次 24  $\mu\text{g}$ ),人均体质量按 60 kg 计算,该品种人用最大供试品剂量( $M$ )为 0.4  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ ,按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 1143 细菌内毒素检查法中公式( $L=K/M$ )计算,则该品种的  $L$  为 12.5 EU/ $\mu\text{g}$ 。考虑到样品临床常用人群为老年人及儿童,以及临床联合用药情况,根据 2020 年版《中国药典(四部)》指导原则 9301 注射剂安全性检查法应用指导原则,为严格质量标准,将供试品溶液的  $L$  设定为 1.4 EU/ $\mu\text{g}$ 。

试验用鲎试剂标示灵敏度( $\lambda$ )复核:按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 1143 细菌内毒素检查法中方法 1 凝胶法鲎试剂灵敏度复核试验的方法及要求,并设立阴性对照(NC),复核试验用 2 批鲎试剂的灵敏度测定值( $\lambda_c$ )。

干扰试验预试验:目前,市售鲎试剂的灵敏度在 0.5~0.015 EU/mL 之间。根据最大有效稀释倍数(MVD)的计算公式( $MVD=C\cdot L/\lambda$ ,其中  $C$  为供试品溶液质量浓度,即 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ );计算,得到供试品的有效稀释倍数为 28~933 倍,对应的有效稀释质量浓度范围为 0.357~0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。为真实反映富马酸福莫特罗吸入溶液的最大不干扰质量浓度,按《中国药品检验标准操作规程》中细菌内毒素检查法进行干扰试验预试验。取 3 批样品原液,选择鲎试剂-1,用细菌内毒素检查用水分别稀释至 2,4,8,16,32,64 倍,得质量浓度为 10(原

液),5,2.5,1.25,0.625,0.3125,0.156  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列供试品(P)溶液;同法配制含 0.50 EU/mL(即 2 $\lambda$ )细菌内毒素的上述质量浓度的供试品阳性对照(PPC)溶液;同时设阳性对照(PC)和 NC;每组溶液平行 2 管,轻轻混匀各管,于(37 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$  条件下保温(60 $\pm$ 2)min,观察并记录各管的试验结果。

正式干扰试验:取细菌内毒素工作标准品 1 支,以细菌内毒素检查用水 0.9 mL 复溶旋涡振荡,用细菌内毒素检查用水稀释,制成含细菌内毒素 0.5,0.25,0.125,0.0625 EU/mL 的细菌内毒素溶液。3 批样品分别用细菌内毒素检查用水稀释至 0.3125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,同时制备含上述浓度的内毒素及 0.3125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  样品的混合溶液。分别用鲎试剂-1 和鲎试剂-2 进行正式干扰试验,统计内毒素终点浓度,计算几何平均值( $C$ ,分为  $E_s$  和  $E_t$ ,其中  $E_s$  对应检查用水, $E_t$  对应供试品溶液),观察 3 批样品质量浓度为 0.3125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对试验的干扰情况。

细菌内毒素检验:取上述 3 批样品,用细菌内毒素检查用水稀释至 56 倍(0.18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),取灵敏度为 0.25 EU/mL 的 2 个厂家的鲎试剂,按 2020 年版《中国药典(四部)》方法及要求进行样品的细菌内毒素检查,同时按要求设立 PC、NC。

2 结果

2.1 试验用鲎试剂灵敏度复核结果

2 个厂家的鲎试剂的  $\lambda_c$  均在 0.5 $\lambda$ ~2.0 $\lambda$  之间,均可用于细菌内毒素检查试验,并以  $\lambda$  为 2 个鲎试剂的灵敏度。详见表 1。

表 1 试验用鲎试剂灵敏度的复核试验结果

Tab. 1 Results of the sensitivity test of tachypleus amebocyte lysate

| 鲎试剂<br>批号 | $\lambda$<br>(EU/mL) | 内毒素浓度(EU/mL) |      |       |        | NC | $\lambda_c$<br>(EU/mL) |
|-----------|----------------------|--------------|------|-------|--------|----|------------------------|
|           |                      | 0.5          | 0.25 | 0.125 | 0.0625 |    |                        |
| 2211282   | 0.25                 | ++++         | ---- | ----  | ----   | -- | 0.5                    |
| 2407101   | 0.25                 | ++++         | ++++ | ----  | ----   | -- | 0.25                   |

注: + 为阳性(形成凝胶), - 为阴性(未形成凝胶)。表 2 至表 4 同。

Note: + indicates positive (gel formed), - indicates positive (no gel formed)(for Tab. 1 - 4).

2.2 干扰试验预试验结果

供试品溶液质量浓度为 0.625  $\mu\text{g}/\text{mL}$ (稀释 16 倍)时对鲎试剂与细菌内毒素的反应无明显干扰作用,能满足市售鲎试剂灵敏度的检测需求。详见表 2。正式干扰试验时,选用此不干扰质量浓度的下一个梯度值作为正式干扰试验的质量浓度,即 0.3125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.3 正式干扰试验

$E_s$  在 0.5 $\lambda$ ~2.0 $\lambda$  范围内, $E_t$  则在 0.5 $E_s$ ~2.0 $E_s$  范围内。详见表 3。提示供试品溶液质量浓度为 0.3125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对 2 个厂家的鲎试剂与细菌内毒素的反应均无明显干

表 2 供试品溶液干扰试验预试验结果

Tab. 2 Pre - test results of the interference test for the test solution

| 供试品<br>批号 | 溶液  | 供试品质量浓度(μg/mL) |    |     |      |       |         |          | PC | NC |
|-----------|-----|----------------|----|-----|------|-------|---------|----------|----|----|
|           |     | 10             | 5  | 2.5 | 1.25 | 0.625 | 0.312 5 | 0.156 25 |    |    |
| 23NJ0     | P   | --             | -- | --  | --   | --    | --      | --       |    |    |
|           | PPC | --             | -- | --  | --   | ++    | ++      | ++       |    |    |
| 23E66     | P   | --             | -- | --  | --   | --    | --      | --       | -- | ++ |
|           | PPC | --             | -- | --  | --   | ++    | ++      | ++       |    |    |
| 24A62     | P   | --             | -- | --  | --   | --    | --      | --       |    |    |
|           | PPC | --             | -- | --  | --   | ++    | ++      | ++       |    |    |

表 3 供试品溶液正式干扰试验结果

Tab. 3 Results of the interference test for the test solution

| 鲎试剂<br>批号 | 供试品<br>批号 | 内毒素浓度(EU/mL) |      |       |         | NC | Es/Et<br>(EU/mL)  |
|-----------|-----------|--------------|------|-------|---------|----|-------------------|
|           |           | 0.5          | 0.25 | 0.125 | 0.062 5 |    |                   |
| 2211282   | 无(检查用水)   | ++++         | ++-- | ----  | ----    | -- | 0.35 <sup>*</sup> |
|           | 23NJ0     | ++++         | ++-- | ----  | ----    |    | 0.42              |
|           | 23E66     | ++++         | ++-- | ----  | ----    |    | 0.35              |
|           | 24A62     | ++++         | ++-- | ----  | ----    |    | 0.42              |
| 2407101   | 无(检查用水)   | ++++         | ++++ | ----  | ----    | -- | 0.25 <sup>*</sup> |
|           | 23NJ0     | ++++         | ++++ | ----  | ----    |    | 0.30              |
|           | 23E66     | ++++         | ++++ | ----  | ----    |    | 0.30              |
|           | 24A62     | ++++         | ++++ | ----  | ----    |    | 0.35              |

注: \*为 Es。  
Note: \* indicates Es.

表 4 供试品溶液细菌内毒素检查结果

Tab. 4 Results of the bacterial endotoxin test for the test solution

| 鲎试剂批号    | 供试品批号 | P  | PPC | PC | NC |
|----------|-------|----|-----|----|----|
| 2311222  | 23NJ0 | -- | ++  | ++ | -- |
|          | 23E66 | -- | ++  |    |    |
|          | 24A62 | -- | ++  |    |    |
| 22120312 | 23NJ0 | -- | ++  | ++ | -- |
|          | 23E66 | -- | ++  |    |    |
|          | 24A62 | -- | ++  |    |    |

扰作用。

2.4 细菌内毒素检查结果

3批供试品溶液中细菌内毒素的含量均 < 1.4 EU/μg, 均符合拟订的限值规定。详见表 4。

3 讨论

细菌内毒素是无菌制剂安全性评价的重要项目之一, 其为革兰阴性细菌细胞壁破裂后释放的毒素, 可引起动物体温异常升高的物质, 具有耐热性、可滤过性和水溶性, 药物生产过程中一旦引入细菌内毒素很难去除。细菌内毒素还是肺部损伤动物模型造模的常用诱导剂, 可通过气管滴注、腹腔注射、静脉注射等方式, 给予一定量的细菌内毒素以复制小鼠、大鼠或兔等实验动物急性肺损伤模型<sup>[8-11]</sup>。近年来, 国内吸入制剂的仿制药申报量和批准量均大幅增长, 处于趋热化状态, 但

其风险级别也较高<sup>[12-15]</sup>。

美国药典和国家处方集(USPNF2021 修订本)<sup>[16]</sup>, 在吸入用无菌水的质量标准中规定了其细菌内毒素检查限值。国内已上市的吸入用乙酰半胱氨酸溶液, 其质量标准中设置了细菌内毒素检查项目<sup>[17]</sup>。有研究者参照盐酸氨溴索注射液的质量标准建立了吸入用盐酸氨溴索溶液的细菌内毒素检查法。单剂量包装的吸入溶液制剂生产工艺与小容量注射剂基本一致, 均属无菌生产工艺<sup>[18]</sup>。而富马酸福莫特罗的上市销售剂型主要有片剂、吸入粉剂及吸入溶液剂, 目前尚无相关注射剂上市, 因此其生产过程和质量标准尚无相应注射剂可供参考。基于吸入用溶液的生产工艺和安全风险, 建议在富马酸福莫特罗吸入溶液的开发和质量控制过程中增设细菌内毒素检查项, 并列入质量标准, 以确保临床用药安全。为此, 本研究中根据供试品临床使用剂量及相关指导原则的要求, 采用凝胶法对富马酸福莫特罗吸入溶液进行了细菌内毒素检查方法学研究, 结果表明, 富马酸福莫特罗吸入溶液细菌内毒素限值可设定为 1.4 EU/μg, 使用细菌内毒素检查用水将供试品溶液质量浓度稀释至 0.312 5 μg/mL 及以下。使用灵敏度为 0.25 EU/mL 及以上的鲎试剂进行细菌内毒素检查时, 该供试品对试验无干扰作用。

综上所述, 富马酸福莫特罗吸入溶液可采用凝胶法进行细菌内毒素检查。为保证用药安全, 建议富马酸福莫特罗吸入溶液的质量标准中增加细菌内毒素检查项。

参考文献

[1] 雷亚亚, 冯军, 王虹, 等. 甘草次酸钠晶混悬液的稳定化研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(2): 115 - 119.  
[2] 黄玉泉. 雾化吸入治疗中存在的问题与护理对策[J]. 山西医药杂志(下半月刊), 2011, 40(5): 520 - 521.  
[3] U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for industry: nasal spray and inhalation solution, suspension, and spray drug products - chemistry, manufacturing, and controls documentation[EB/OL]. [2025 - 10 - 31]. <https://www.fda.gov/media/70857/download>.  
[4] FDA, CDER. Guidance for industry: sterility requirement for aqueous - based drug products for oral inhalation - small entity compliance guide[EB/OL]. [2025 - 10 - 31]. <https://www.fda.gov/media/72306/download>.  
[5] 国家食品药品监督管理局. 化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则[A/OL]. 2012 - 09 - 07. <http://www.nmpa.gov.cn/wwwroot/gsyjz12267/fj.rar>.  
[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 178, 515 - 516.  
[7] The United States Pharmacopieial Convention. USP43 - NF38 [M]. Rockville: The United States Pharmacopieial Convention, 2020: 6508.