

门冬氨酸鸟氨酸注射液安全性检查法的研究

许雷鸣¹, 武谷¹, 堵伟锋¹, 顾倩^{2*} (1.安徽省食品药品检验所, 合肥 230051; 2.皖南医学院, 安徽 芜湖 241000)

摘要: 目的 建立门冬氨酸鸟氨酸注射液的安全性检查方法。方法 在原国家标准热原检查的基础上增设了异常毒性、过敏反应、降压物质 3 个安全性检查项目, 确定了检查限值, 并按照中国药典 2010 年版附录方法进行相关的检查验证。结果 门冬氨酸鸟氨酸注射液的异常毒性检查限值为 $0.87 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 过敏反应检查限值为 $0.83 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 降压物质检查限值为 $0.15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。结论 本研究为门冬氨酸鸟氨酸注射液质量标准的完善和提高提供了实验依据。

关键词: 门冬氨酸鸟氨酸注射液; 异常毒性; 过敏反应; 降压物质

中图分类号: R927.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2014)01-0087-04

Study on the Safety Test of Ornithine Aspartate Injection

XU Leiming¹, WU Gu¹, DU Weifeng¹, GU Qian^{2*} (1. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China; 2. Wannan Medical College, Wuhu 241000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the safety test method for Ornithine Aspartate injection. **METHODS** Abnormal toxicity test, allergic response test, and depressor substances test were added and their limit values were set separately on the basis of pyrogen test in present national standard. The correlative verification tests were carried out according to the methods indexed in the Appendix of Ch.P 2010 Vol II. **RESULTS** The limit value of abnormal toxicity test was $0.87 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, the limit value of allergic response test was $0.83 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and the limit value of depressor substances test was $0.15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. **CONCLUSION** This study provided experimental basis for the improved quality standard of Ornithine Aspartate injection.

KEY WORDS: Ornithine Aspartate injection; abnormal toxicity; allergic response; depressor substances

门冬氨酸鸟氨酸注射液为肝胆疾病辅助用药, 临床上主要用于因急、慢性肝病引发的血氨升高及治疗肝性脑病, 尤其适用于治疗肝昏迷早期或肝昏迷期的意识模糊状态。门冬氨酸鸟氨酸注射液属于氨基酸类生化药品, 国家食品药品监督管理局进口药品注册标准 JX20020348 所涉及的门冬氨酸鸟氨酸注射液生物安全性检查项目仅有热原检查一项, 按照“化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”的要求显然是不够的。本实验根据中国药典 2010 年版附录“化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”^[1], 以及相关安全性检查法的文献^[2-4], 结合门冬氨酸鸟氨酸注射液的原料来源、生产工艺、临床实际应用情况, 增设了异常毒性、过敏反应、降压物质 3 个安全性检查项目, 确定了各项目的检查限值, 并按照中国药典 2010 年版二部附录方法进行了相关的检查验证。

1 试验材料

1.1 药品、试剂与仪器

门冬氨酸鸟氨酸注射液(合肥某公司, 规格:

10 mL: 5 g, 批号: 110901, 110902, 110903); 磷酸组胺标准品(中国食品药品检定研究院, 每支 25 mg, 批号: 150510-200412); 戊巴比妥钠(北京化学试剂公司, 批号: 061222); 注射用苯巴比妥钠(福建闽东力捷迅药业有限公司, 批号: 100507, 规格: 0.1 g); 肝素钠注射液(江苏常州千红生化制药股份有限公司, 批号: 110518, 规格: 2 mL: 12 500 单位); 0.9%氯化钠注射液(安徽丰原药业股份有限公司, 批号: 120306-26); MP100 16 导生理信号记录仪(BIOPAC systems Inc)。

1.2 试验动物

Hartley 豚鼠, 普通级, 280~320 g, ♀ ♂ 不限, 无孕, 购自南京青龙山动物繁殖场, 生产许可证号: SCXK(苏)2007-0008; 昆明种小鼠, SPF 级, 17~22 g, ♀ ♂ 各半, 购自安徽省医学动物中心, 生产许可证号: SCXK(皖)2011-002; 猫, 3.6 kg, ♂, 购自市场, 并在实验室适应性饲养 2 周。

2 方法与结果

2.1 异常毒性检查

基金项目: 安徽省食品药品监管系统科研项目(0004)

作者简介: 许雷鸣, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0551)63368779
Tel: (0553)3932474 E-mail: bjql10@sina.com

E-mail: xuleiming1980@163.com *通信作者: 顾倩, 女, 硕士, 讲

2.1.1 急性毒性实验^[2] 预实验结果显示,本品有一定毒性,故测定其LD₅₀值。取小鼠60只,体质量18~22g,♀♂各半,随机分为6组,每组10只,根据预试结果确定剂量分组,按Bliss法设间距为1:0.85,分别尾静脉注射给予门冬氨酸鸟氨酸注射液(批号:110901)6 136, 5 216, 4 434, 3 769, 3 204, 2 723 mg·kg⁻¹,注射剂量为25 mL·kg⁻¹,注射速度为0.1 mL·s⁻¹。给药后立即观察动物反应情况并记录,连续观察14 d。Bliss法计算72 h内LD₅₀值。动物死亡数、LD₅₀值和LD₅₀可信限见表1。

表1 门冬氨酸鸟氨酸注射液小鼠尾静脉注射LD₅₀

剂量/ mg·kg ⁻¹	动物数/ 只	死亡数/ 只	死亡率/ %	LD ₅₀ 值/ mg·kg ⁻¹	95%的可信限/ mg·kg ⁻¹
6 136	10	10	100		
5 216	10	10	100		
4 434	10	8	80	3 768	3 470~4 086
3 769	10	5	50		
3 204	10	2	20		
2 723	10	0	0		

2.1.2 异常毒性检查限值确定与质量标准起草 根据“化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”,门冬氨酸鸟氨酸注射液半数致死量与其临床体质量剂量之比<20,因此对门冬氨酸鸟氨酸注射液采用1/4的LD₅₀可信限下限的剂量,作为异常毒性的检查限值,计算结果为1/4×3 470 mg·kg⁻¹=867.5 mg·kg⁻¹。按照异常毒性检查法(中国药典2010年版二部附录XIC),小鼠体质量范围按17~20g计,注射体积为0.5 mL计,每只小鼠注射的供试品溶液浓度范围为:29.5~34.7 mg·mL⁻¹,因此确定异常毒性检查的供试品溶液浓度为30 mg·mL⁻¹。拟定门冬氨酸鸟氨酸注射液异常毒性检查方法如下:取本品,用氯化钠注射液制成每1 mL中含30 mg的溶液,依法检查(中国药典2010年版二部附录XIC),按静脉注射法给药,应符合规定。

2.1.3 样品异常毒性检查验证 另取小鼠15只,体质量17~20g,♀♂不限,随机分成3组,每组5只,分别进行3批门冬氨酸鸟氨酸注射液样品的异常毒性检查验证。每组分别尾静脉注射30 mg·mL⁻¹的供试品溶液各0.5 mL,注射速度为0.1 mL·s⁻¹,观察48 h。注射后各组动物均未见毒性反应,48 h后均健康存活。试验结果表明3批

门冬氨酸鸟氨酸注射液样品的异常毒性检查均符合起草的质量标准要求。

2.2 过敏反应检查

2.2.1 过敏反应检查限值确定与质量标准起草

取豚鼠12只,随机分成2组,每组6只。取门冬氨酸鸟氨酸注射液样品1批(批号:110901),一组腹腔注射原液0.5 mL,另一组股静脉注射原液1.0 mL,观察72 h,均未见出现急性毒性反应。根据致敏和激发剂量应小于豚鼠该途径的急性毒性反应剂量,激发剂量应大于致敏剂量的指导原则^[1],本品取原液进行致敏和激发,致敏0.5 mL,激发1.0 mL。即设定致敏剂量为0.83 g·kg⁻¹,激发剂量为1.67 g·kg⁻¹(豚鼠体质量以300g计)。拟定门冬氨酸鸟氨酸注射液过敏反应检查方法如下:取本品,依法检查(中国药典2010年版二部附录XIK),应符合规定。

2.2.2 样品过敏反应检查验证 另取豚鼠18只,随机分成3组,每组6只,按照过敏反应检查法(中国药典2010年版二部附录XIK),分别进行3批门冬氨酸鸟氨酸注射液样品的过敏反应检查验证。每组豚鼠隔日一次腹腔注射门冬氨酸鸟氨酸注射液原液0.5 mL,共3次,进行致敏。然后将各组豚鼠再均分为2组,每组3只,分别在首次注射后14 d及21 d,由股静脉注射门冬氨酸鸟氨酸注射液原液1.0 mL激发。每日观察每只动物的行为和体征,首次致敏和激发前测定并记录每只动物的体质量。观察激发后30 min内,动物有无竖毛、发抖、干呕、连续喷嚏3声、连续咳嗽3声、紫癜、呼吸困难、二便失禁、步态不稳或倒地、抽搐、休克、死亡等过敏反应症状。试验结果表明,3批门冬氨酸鸟氨酸注射液样品对豚鼠均无明显的致敏性,过敏反应检查均符合起草的质量标准要求。

2.3 降压物质检查

2.3.1 试验用猫的灵敏度检查 取健康合格,体质量3.6 kg的猫。用苯巴比妥钠(100 mg·mL⁻¹)和戊巴比妥钠(15 mg·mL⁻¹)按每千克体质量1 mL剂量腹腔注射麻醉后,按照降压物质检查法(中国药典2010年版二部附录XIG)进行试验。自股静脉注射磷酸组胺标准品,剂量按动物体质量每1 kg注射组胺0.05, 0.1及0.15 μg,重复3次,结果见表2。试验结果表明0.1 μg剂量所致的血压下降值均≥2.67 kPa,同时相应各剂量所致反应的平均值有

差别, 试验用猫的灵敏度符合要求。

表 2 动物灵敏度检查结果

Tab 2 Results of animal sensitivity test

标准品剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	第1次反应值/ mmHg	第2次反应值/ mmHg	第3次反应值/ mmHg
0.05	21.7	22.2	22.7
0.1	28.9	30.5	31.1
0.15	33.5	37.2	35.0

2.3.2 降压物质检查限值确定与质量标准起草
取样品 1 批(批号: 110901), 用氯化钠注射液制成不同稀释倍数的溶液, 照降压物质检查法进行试验, 注射剂量(d_T) $1\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 各次注射速度基本相同。观察供试品剂量与猫血压反应的剂量关系, 并与磷酸组胺标准品(d_S)组胺剂量 $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 相比较, 结果见表 3。试验结果表明本品有一定降压作用, 并与剂量正相关。 $500\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量所引起血压下降值最大; $300\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 及以上的剂量能引起血压下降值接近或超过标准品所引起的血压下降值; $150\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量引起猫的血压降低明显低于标准品。根据“化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”, 一般以临床最大单次用药剂量的 1/5~5 倍作为降压反应物质检查剂量限值, 考虑到本品临床最大单次用药剂量为 8 支, 经注射用溶液稀释后静脉滴注。临床最大单次用药剂量的 1/5 即为: $1/5 \times (8 \times 5 \times 1000/60)\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1} = 133.3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。因此笔者选用 $150\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量作为检查限值, 为临床最大单次用药剂量的 22%。拟定门冬氨酸鸟氨酸注射液降压物质检查方法如下: 取本品, 用氯化钠注射液制成每 1 mL 中含 150 mg 的溶液, 依法检查(中国药典 2010 年版二部附录 XIG), 剂量按猫体质量每 1 kg 注射 1 mL, 应符合规定。

表 3 不同剂量的门冬氨酸鸟氨酸注射液降压物质测定结果

Tab 3 Determination results of test for depressor substances of Ornithine Aspartate injection in different dosages

剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	d_S / mmHg	d_T / mmHg	d_T / mmHg	d_S / mmHg
500	31.5	46.7	48.3	32.6
450	32.1	43.7	42.5	33.0
400	33.4	36.2	36.3	30.8
350	34.2	33.3	34.4	30.9
300	30.4	30.8	31.2	31.6
250	33.5	27.7	28.6	36.2
200	31.8	23.6	22.8	30.9
150	35.0	20.6	22.1	36.8

2.3.3 样品降压物质检查验证 分别将 3 批门冬氨酸鸟氨酸注射液样品用氯化钠注射液稀释成浓度为 $150\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液, 注射剂量(d_T) $1\ \text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 磷酸组胺标准品注射剂量(d_S)为 $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 以 d_S , d_T , d_T , d_S 4 个剂量为一组依次注射, 记录反应值。然后以第一与第三、第二与第四剂量所致反应分别比较, 结果见表 4。试验结果表明 3 批门冬氨酸鸟氨酸注射液样品的降压物质检查均符合起草的质量标准要求。

表 4 门冬氨酸鸟氨酸注射液降压物质检查结果

Tab 4 Results of depressor substances test for Ornithine Aspartate injection

批号	d_S /mmHg	d_T /mmHg	d_T /mmHg	d_S /mmHg
110901	28.9	18.8	18.9	29.8
110901	40.2	26.8	26.5	38.7
110902	40.8	25.7	22.3	38.8
110902	35.0	20.6	22.1	36.8
110903	34.9	22.2	28.3	33.0
110903	37.2	21.6	24.2	40.1

3 讨论

门冬氨酸鸟氨酸注射液为生化药品静脉用注射剂, 因而根据“化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”的要求, 结合其原料来源、生产工艺和临床实际应用情况, 应考虑在原国家标准热原检查的基础上增设异常毒性、过敏反应、降压物质 3 个安全性检查项, 这有利于对药品质量的控制, 保障临床用药的安全性。

本品含有一定的降压物质, 临床用药有引起急性降压不良反应的使用风险。但由于降压物质检查法采用静脉推注使组胺类物质产生急性降压反应, 而本品临床给药为静脉滴注, 因此采用临床最大单次用药剂量的 22% 作为本品降压物质检查限值是可以保证临床用药安全的。之前笔者也曾对德国麦氏大药厂生产的 3 批门冬氨酸鸟氨酸注射液的降压物质进行过考察, 试验结果显示这 2 个不同生产厂家不同批次的门冬氨酸鸟氨酸注射液降压作用强度基本一致。这些试验结果提示临床使用本品存在一定的降压隐患, 生产厂家需进一步改进生产工艺和加强产品质量控制。

本研究建立的异常毒性、过敏反应、降压物质安全性检查法与原国家标准中的热原检查法组成了比较系统全面的安全性检查体系, 可以减少或避免门冬氨酸鸟氨酸注射液由于质量问题在临

床引起的热原反应、急性毒性反应、过敏反应和急性降压反应等严重不良反应的发生。本试验为门冬氨酸鸟氨酸注射液质量标准的完善和提高及临床用药的安全可控提供了参考。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版.二部) [S]. 2010: Appendix 212-215.

- [2] XU X Y, ZHOU J C, WANG H B, et al. Improvement research of the quality standard of Quchongbanjiuju injection [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2011, 12(4): 255-257.
- [3] XIAO G N, SUN Q P, ZENG Q M. Study on allergic reaction induced by Chuankezhi injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(8): 673-675.
- [4] LIU H. Study on the depressor substance test of Clindamycin Phosphate injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(3): 306-308.

收稿日期: 2013-03-25

重铬酸钾滴定液浓度的不确定度分析

程颖¹, 李涛², 王洪韵³, 赵娴³, 王玉^{1*} (1.江苏省食品药品检验所, 南京 210008; 2.安阳食品药品检验所, 河南 安阳 455000; 3.中国药科大学, 南京 210009)

摘要: 目的 以重铬酸钾滴定液浓度不确定度的评价为例, 建立滴定液浓度不确定度的分析方法。方法 对滴定液配制中各种影响因素和各个不确定度分量进行分析。结果 计算各因素的不确定度分量, 由此得到合成不确定度, 最终给出滴定液浓度和扩展不确定度。结论 建立的不确定度分析方法适用于直接配制滴定液浓度的不确定度分析。

关键词: 重铬酸钾滴定液; 浓度; 不确定度

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)01-0090-03

Uncertainty Evaluation on the Concentration of Potassium Dichromate Volumetric Solution

CHENG Ying¹, LI Tao², WANG Hongyun³, ZHAO Xian³, WANG Yu^{1*} (1.Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China; 2.Anyang Institute for Food and Drug Control, Anyang 455000, China; 3.China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To established a method for uncertainty evaluation on the concentration of volumetric solution. **METHODS** The calculation formula of uncertainty was deduced in the procedure of preparation of the solution. **RESULTS** Each components of uncertainty was calculated by analyzing the various variable parameters in the procedures. The combined uncertainty was then finally obtained by synthesizing the uncertainties of various component variables. **CONCLUSION** The mathematic model of uncertainty measurement established in this paper is reasonable and reliable.

KEY WORDS: potassium dichromate volumetric solution; concentration; uncertainty

按照中国药典2010年版^[1]和中国药品检验标准操作规范(SOP)规定^[2], 药品检验中使用的滴定液配制方法有间接配制法和直接配制法两种。用间接法配制的滴定液, 其准确度需要通过标定求得; 标定方法有两种, 一种是利用基准物质进行标定; 另一种是用一已知准确浓度的溶液比较标定。采用直接配制法时, 其溶质应采用“基准试剂”, 在规定条件下, 经干燥恒重后称取, 取用量应精密称定, 用一定溶剂稀释制成一定准确浓度的溶液。采用直接配制法配制的滴定液在中国药典2010年版中有重铬酸钾滴定液(0.016 67 mol·L⁻¹)

和碘酸钾滴定液(0.05 mol·L⁻¹或0.016 67 mol·L⁻¹)。

分析滴定液浓度不确定度的文献虽已有很多^[3-6], 但尚未见对直接配制的滴定液浓度的不确定度分析的报道。本文以重铬酸钾滴定液(0.016 67 mol·L⁻¹)为例, 分析直接配制的滴定液浓度的不确定度, 指出为确保检测结果的准确性, 在该类滴定液配制和使用时应注意控制的关键点。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

CPA225D 万分之一电子分析天平(德国赛多利斯, 精度: 0.000 1 g); DHG-9041A 型电热恒温

作者简介: 程颖, 男, 副主任药师 Tel: 13851872866
Tel: 13851847568 E-mail: yuwanga@hotmail.com

E-mail: lli92@sina.com *通信作者: 王玉, 男, 博士, 主任药师