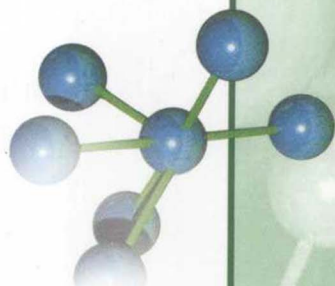




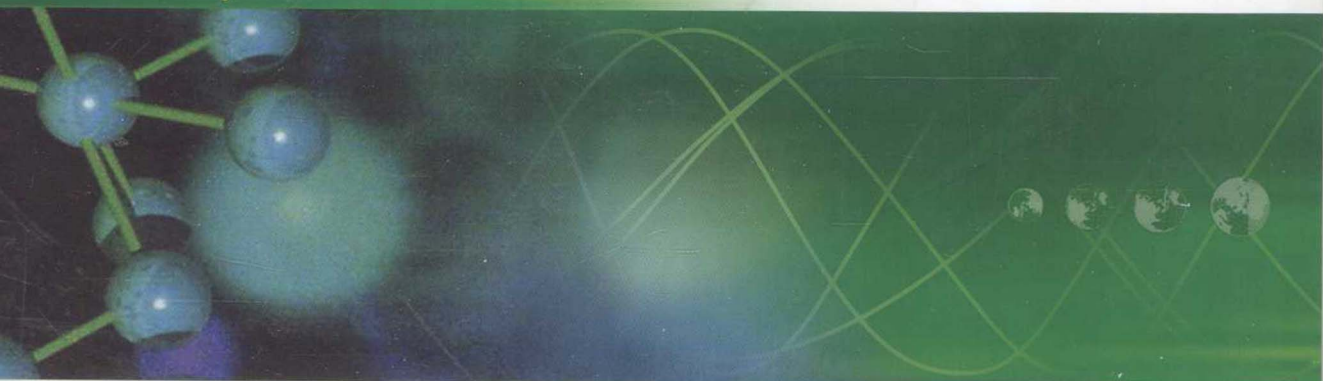
高职高专工学结合医药类规划教材
浙江省“十一五”重点教材建设项目



药品生物检定技术

Drug bioassay

■ 主 编 叶丹玲



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

高职高专工学结合医药类规划教材

药品生物检定技术

主 编 叶丹玲

副主编 叶剑尔 史海波

编 委 黄贝贝 俞松林 曲均革

楼天灵



ISBN 978-7-308-15211-2	书号
2014年3月第1版	版次
308千字	字
15.52	印
787mm×1092mm	开
浙江万里学院实业总公司	印
杭州科技文献出版社	发
30.00元	价



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

药品生物检定技术 / 叶丹玲主编. —杭州: 浙江大学出版社, 2014. 2
ISBN 978-7-308-12691-5

I. ①药… II. ①叶… III. ①药品检定—生物检验
IV. ①R927

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 303379 号

药品生物检定技术

主 编 叶丹玲

丛书策划 阮海潮 (ruanhc@zju.edu.cn)
责任编辑 阮海潮
封面设计 春天书装
出版发行 浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)
(网址: <http://www.zjupress.com>)
排 版 杭州好友排版工作室
印 刷 浙江万盛达实业有限公司
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 12.25
字 数 306 千
版 印 次 2014 年 2 月第 1 版 2014 年 2 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-308-12691-5
定 价 30.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部联系方式: (0571) 88925591, <http://zjdxcb.s.tmall.com>

总 序

近几年,医药高职高专教育发展势头迅猛,彰显出了强大的生命力和良好的发展趋势。《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)》指出,要大力发展职业教育,培养创新型、实用型、复合型人才,培养学生适应社会和就业创业能力。高职教育培养生产、服务、管理等一线岗位的高端技能型人才,目标科学明确,满足适应了医药行业企业发展的迫切需要。而培养面向一线工作的高端技能型人才不仅要有扎实的理论基础,更要掌握熟练的实践操作技能,同时还应具备良好的职业素养和心理素质。

医药行业是涉及国民健康、社会稳定和经济发展的一个多学科先进技术和手段高度融合的高科技产业群体。医药类高职院校学生更应树立医药产品质量第一的安全意识、责任意识,更要着重强调培养学生钻研业务的研究能力、质量控制方面的职业知识及一专多能的职业能力。

为创新医药高职高专教育人才培养模式,探索职业岗位要求与专业教学有机结合的途径,浙江医药高等专科学校根据高端技能型人才培养的实际需要,以服务为宗旨,以就业为导向,依托宁波市服务型重点建设专业“医药产销人才培养专业群”的建设,推进教育教学改革,组织教学和实践经验丰富的相关教师及行业企业专家编写了一套体现医药高职高专教育教学理念的优质教材,贴近岗位、贴近学生、贴近教学。

本套教材具有以下几个特点:一是内容上强调需求。在内容的取舍上,根据医药学生就业岗位所需的基本知识技能和职业素养来选择和组织教材内容。二是方法上注重应用。教材力求表达简洁、概念明确、方法具体,基本技能可操作性强,让学生易于理解、掌握和实践。三是体例上实现创新。教材内容编排实现项目化,按照工学结合的教学模式,突出“案例导入”、“任务驱动”、“知识拓展”、“能力训练”等模块。

浙江医药高等专科学校作为教育部药品类专业教指委的核心院校,在医药高职高专教育中不断探索,不断前行,取得了一系列标志性的成果,教育质量不断提高,校企合作不断深入。本套教材是学校教师多年教学和实践经验的体现,教材体现了新的高职高专教育理念,满足了专业人才培养的需要。

姚文兵

《高职高专工学结合医药类规划教材》

编委会名单

主任 崔山风

委员 (以姓氏笔画为序)

丁 丽 王国康 王麦成

叶丹玲 叶剑尔 纪其雄

吴 锦 何军邀 张佳佳

张晓敏 夏晓静 秦永华

虞 峰

秘书 陈汉强

前 言

《药品生物检定技术》以“药品质量检验—生物测定工作任务”为导向,以《中国药典》(2010年版)为依据,根据相关工作岗位技能需求设置相应的实践项目,整合药品质量检验—生物测定检验员必需的知识与技能、过程与方法,按项目化组织教材体系,以任务驱动教学,各任务有机整合在项目中,突破传统教材以理论知识为主的局限,突出职业技能特点,充分体现工学结合的特色,与行业对接,融入职业标准,融入素质教育理念,为将来从事药品质量控制、检验和监管等工作和药品检验工职业技能考证打下坚实的基础。

本教材包括5个教学项目、29个教学任务,包括药品生物检定基础技能(4个任务)、药品有效性检查(7个任务)、药品安全性检查(6个任务)、药品卫生学检查(9个任务),以及综合检查(3个任务),每个任务都有期望学习者达到的“知识目标”与“能力目标”,以及与任务相关的“必备知识”、“检验前准备”、“检验操作”、“结果判断”,以及“注意事项及解释”等几个板块。教材强调以创新精神和实践能力的培养为重点,理论知识以必需、够用为度编写在每个任务的必备知识中,由浅入深展开任务,每个任务最后还有知识拓展及思考,有利于学生应用知识能力的提高,以更好地达到培养技能型、实用型专门人才的目标。

由于编者水平有限,教材难免存在一些缺点和不足,我们热忱希望使用本教材的教师、同学及其他读者批评指正。

叶丹玲

2014年2月


目 录

项目一 药品生物检定基础	1
任务 1-1 药品生物检定技术概述	1
任务 1-2 供试品溶液的制备	7
任务 1-3 消毒灭菌技术	10
任务 1-4 菌种保藏技术	20
项目二 药品的有效性检查	24
任务 2-1 生物检定统计法与微机运算	24
任务 2-2 抗生素效价的微生物检定——管碟法	64
任务 2-3 抗生素效价的微生物检定——浊度法	79
任务 2-4 胰岛素生物检定——小鼠血糖法	85
任务 2-5 肝素生物检定——兔全血法	90
任务 2-6 绒毛膜促性腺激素生物检定——小鼠子宫增重法	93
任务 2-7 缩宫素生物检定——大鼠离体子宫法	97
任务 2-8 洋地黄生物检定法	101
项目三 药品安全性检查	104
任务 3-1 药品中热原检查	104
任务 3-2 细菌内毒素检查	109
任务 3-3 异常毒性检查	124
任务 3-4 降压物质检查	127
任务 3-5 过敏反应检查	129
任务 3-6 溶血与凝聚检查	130

项目四 药品卫生学检查	132
任务 4-1 无菌检查	132
任务 4-2 细菌、霉菌及酵母菌计数	141
任务 4-3 大肠埃希菌检查	149
任务 4-4 大肠菌群检查	152
任务 4-5 金黄色葡萄球菌检查	154
任务 4-6 沙门菌检查	157
任务 4-7 铜绿假单胞菌检查	160
任务 4-8 梭菌检查	164
任务 4-9 白色念珠菌检查	166
项目五 药品生物检定技术综合应用	168
任务 5-1 微生态制剂检定——乳酸菌制剂检查	168
任务 5-2 疫苗的生物检定——卡介苗生物检定	173
任务 5-3 重组(酵母,CHO 细胞)乙型肝炎疫苗的效价测定	176
附录	180
附录一 抗生素效价测定中常用的培养基及其制备方法	180
附录二 药品卫生学检查中常用培养基及其制备方法	182
附录三 常用指示剂的变色范围和 pH 范围	186
附录四 《中国药典》(2010 年版)(二部)药品微生物限度标准	186
参考文献	188

项目一 药品生物检定基础

任务 1-1 药品生物检定技术概述

 **学习目标****知识目标**

- 掌握药品生物检定的概念；
- 熟悉生物检定的作用；
- 了解生物检定应用范围；
- 了解《中国药典》的基本结构与主要内容。

技能目标

- 能够选择工具书，查阅生物检定项目及内容；
- 学会查阅《中国药典》。

**【第一部分 必备知识】**

一、药品生物检定的概念

生物检定(bioassay)即利用生物体对药品的特殊反应来测定药品的有效性、安全性和研究药物量效关系。其中“生物体”可以是整体动物、离体组织、微生物和细胞等；“特殊反应”包括药理作用、毒理作用、致死效应、营养效应等；“有效性”指药品的生物活性或效价；“安全性”包括毒性或某些有害物质限度检查、无菌和控制菌检查。例如，用小鼠的惊厥反应测定胰岛素效价，用对微生物的致死效应测定抗生素效价等。生物检定主要用于无适当理化方法进行检定或虽用理化方法测定，但不能真实反映临床实际应用价值的药物。由于生物检定是选用生物体对药品的直接反应来测定药品的有效性和安全性的，所以生物检定时比其他测定方法更为灵敏和专一。

生物检定是以生物统计为工具，利用药物效价(浓度)在一定范围内的药理作用随浓度的增加而增强，且在一定的条件下存在直线关系，通过设计特定的实验，选择适当的反应指标(如抑菌圈直径、惊厥反应指标等)，把供试品(T)和标准品(S)在同等条件下进行比较，计算出供试品的效价，这种方法就称为对比检定。

生物检定是药理学的一个分支，归属于定量药理学的范畴，它以药物的药理作用为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计，在一定条件下比较供试品和相当的标准品或

对照品所产生的特定反应,通过等反应剂量间比例的运算,从而确定供试品的效价或毒性。

生物检定可看作为一种测量的工具。人们测量距离通常以 cm、m、km 表示,测量质量通常以 mg、g、kg 表示,这似乎是公认的概念。但测定一种生物药品,其组成的分子结构是未知的或者是多组分的不均一的混合物,就不能以某成分的绝对量来表示它的量值,只能以其表现出来的总的生物活性来表示,可是生物活性的表现,在不同的动物、不同的试验方法下是有差异的,因此活性的表示只能在规定的试验方法系统中,以假设的标准物质作对比,从标准物质所表示的活性单位推算所测定药品的效价。由此可知,生物检定不像距离和质量测定那样精确,而存在许多可变因素,结果带有不确定性,也就是说,生物检定的测量是建立在若干假设基础上的。

假设一:建立的标准物质与被测样品是同质的,至少应认为被测样品是标准物质稀释或浓缩的倍数。

由于对某些生物药品的活性成分缺乏了解,如人促甲状腺素(h-TSH)是从人腺垂体中分离出的多成分、结构不一致的多糖激素,它很不稳定,它的活性就是以小鼠为实验对象,与国际标准品进行比较后,以相当于标准品活性单位表示的。这里的问题是建立的国际标准物质是否是所设想的正确的分子结构?是否存在与供试品相似的不均一物质如变性物质、代谢物质?是否污染了在规定试验方法系统中影响生物活性的物质?如果存在这些物质,那么它们在供试品是否亦有同样的比例存在?

假设二:在规定的生物试验方法系统中的生物指标是测量相当于标准物质中的目标物或相似物。

如果标准物质中的目标物不是设想的,那么所反映的指标就不可能有专一性;另外,由于被测样品的多样性,各种样本中所含相当于标准物质中目标物的量和比例都存在差异,致使结果的不确定性。

假设三:标准物质与供试品所用的剂量符合实验设计的要求。

这就是说,在设计生物反应的浓度时,标准品与供试品的剂量与生物反应控制在一定斜率的范围内,供试品与标准品的任何剂量过小或过大都会导致无效的实验设计,导致结果的不正确性。

因此,生物检定所采用的标准物质、方法系统、单位含义和实验设计都是建立在各种前提、假设基础上的,它存在许多不确定性,随着科学技术的发展而不断完善,需要借助生物统计的工具及概率的解释,使其具有相对科学性。

二、生物检定的特点及作用

(一)生物药品的效价测定

生物药品的效价测定是生物检定的基本用途。《中国药典》(2010年版)规定了胰岛素、肝素、绒毛膜促性腺激素等药品的生物检定法,规定了各种抗生素的微生物效价测定法,还载收了菌苗、疫苗、抗毒素、类毒素等效力测定法。

除了《中国药典》收录的生物检定品种外,有些新药经系统的理化特性和药理学、毒理学研究后,被推荐到临床试用,但一时尚未找到合适的理化检验方法来控制质量,可根据生物检定的原理,从系统的药理作用中选择一种能代表临床疗效或毒性反应的指标,建立能控制质量的生物检定方法;一些天然药物、血清、疫苗和血液制品等,由于结构复杂或其中包含着

不定比例的多种成分,难以应用理化检验测定其单一成分,只能应用生物检定,如天然的催产素和加压素是已知结构的八肽,而合成的催产素和加压素则混杂有极微量的戊肽,要控制其内在质量就不是理化检验所能胜任的,必须采用生物检定;即便一些理化性质清楚、结构已知的药物,由于构型不同对生物呈现不同的活性,也可采用生物检定来控制质量。

(二) 检验方法的核对

有些药品虽然理化性质已经阐明,也已建立了较为灵敏的理化检验方法,但这些方法是否可靠却往往要用生物检定来核对。这是因为生物检定反映了药品的生物活性,在很大程度上是与临床的疗效相一致的,而某些理化检验方法却只反映出药品的某一方面的理化性质,它并不一定与临床的疗效相平行。如肝素的测定可利用肝素使天青 A 变色的反应进行比色法测定,方法灵敏,快速而稳定,但不能反映其抗凝血的活性,一些已失去抗凝血作用的肝素也保留了使天青 A 变色的性质,因此天青 A 比色法只能用作参考,正规的检定方法仍要采用生物检定。又如激肽释放酶(血管舒缓素)的效力测定可采用以苯甲酸-L 精氨酸乙酯(BAEE)为底物的分光光度法,灵敏度及稳定性都很好,但在考核该指标与药理性质是否一致时,仍需用动物血压下降为指标的生物检定来核对。

(三) 新药研究

当前寻找新药的一个重要途径是利用动植物为原料,在获得天然活性物质的基础上,用人工方法合成一系列类似物,比较各类似物的生物活性,以决定各种类似物的取舍及合成方向,然后进一步研究以阐明其构效关系。这些工作不但需要比较其主要药理作用的强弱,还要比较其毒副作用的大小。如在合成抗胆碱药时,以其周围作用为治疗目的,不需要它的中枢作用,就可用生物检定方法对比一系列类似物的周围作用和中枢作用。又如蛋白同化激素是从雄激素的结构中分化出来的,临床上要求分化得越专一越好,这就要求运用生物检定的方法,从一系列的合成衍生物中测定哪些是蛋白同化作用最强而雄激素作用最弱的化合物。多肽激素是一类具有很强生理活性的重要药物,目前除了从天然物中提取分离外,已能利用生化方法合成多种多肽激素,但这些多肽中氨基酸的组成及其排列顺序对生理活性影响很大。例如精氨酸加压素(AVP)的抗利尿作用和升压作用比较接近,如将其 1 位氨基酸去氨基、8 位精氨酸的 L 构型改为 D 型,使成 1-deamino-8-D-vasopressin(d-DAVP),则抗利尿作用增加约三倍,而升压作用大为减弱,使抗利尿作用与升压作用之比为 2000 : 1;又如将其 1 位氨基酸去氨基、4 位谷氨酸改为缬氨酸、8 位精氨酸的 L 构型改为 D 型,使成 1-deamino-4-valine,8-D-arginine-vasopressin(d-VDAVP),则抗利尿作用增加约四倍,而升压作用几乎难于测出,使抗利尿作用与升压作用之比约为 125000 : 1。AVP 在临床上主要用作抗利尿药,升压作用是它的副作用,由于结构改变,大大增加了临床的疗效,减少了副作用。

(四) 神经介质、激素及其他微量的生理活性物质的测定

在活体组织中测定某些神经介质、激素或其他微量生理活性物质的浓度是生理药理研究中常用的手段。对于这些微量活性物质的测定,近年来虽然也发展了很多理化检验方法,但由于这些物质具有微量、生理活性强的特点,生物检定方法具有更高的灵敏度和专一性,有的方法甚至还超过理化检验方法。此外,生物检定一般对样品的纯化要求不高,在样品的处理上较理化方法的要求低,甚至组织液亦可直接测定而不受干扰,有的还可以用专一的拮抗剂阻断其他类似物的作用,使测定更具有专一性,因此在一些作用机制研究中往往采用生

物检定方法。Vane 用在位大鼠胃制备,可测出神经组织释放的 5-HT,灵敏度达 0.05mg,还可用麦角酸类似物作为拮抗剂来检验测定方法的专一性。乙酰胆碱是胆碱能神经冲动时释放的介质,具有十分重要的生理意义,用水蛙背肌可定量地测出神经冲动时所释放的微量乙酰胆碱,并可用箭毒予以拮抗,以验证乙酰胆碱测定的专一性。测定尿中胃泌素和尿胃素的含量是研究胃功能的重要方法,前者促进胃液分泌,后者抑制胃液分泌,Smith 和 Lawrence 利用大鼠在体胃回流循环装置,以胃液的 pH 改变为指标,可测出人尿 50~100ml 内 10~20ng 的胃泌素和尿胃素。另外,用大鼠离体子宫测定缓激肽,灵敏度可达 0.2mg/ml;测定前列腺素 $F_2\alpha$,灵敏度可达 5mg/ml;用豚鼠离体回肠测定慢反应物质可测出 1ng;测定脑啡肽、组胺等灵敏度亦很高。

有些生物药品含有多种分子形式不均一的复合物,如代谢产物、蛋白结合物、酶异构体、血清多克隆抗体,这时其生物效应是这些复合物的反应集合,难以用单一分子结构正确表示,合理地表示这类样品的生物活性方法是研究建立相似的标准物质,以标准物质产生的生物活性作为指标,以标示样品的效价或毒性。各国药典对这类生物药品都采用生物检定法控制其质量。《中国药典》(2010 年版)亦收录了激素、菌苗、疫苗、抗毒素、类毒素及部分生物技术产品、部分抗生素的生物检定方法作为法定方法。

(五) 中药的现代化研究

中医药是我国医药学的伟大宝库,是我国数千年与疾病作斗争的经验总结。中药的主体是植物药。植物药的质量受到产地、采收季节、加工炮制等影响,因此植物药的标准化是中药和天然药的重要结合点,是中药走向科学化、现代化、规范化的重要步骤,是中药用于防病治病质量保证的前提。植物药标准化既要从本国实际出发,又要适应各国药品管理政策的要求;既要适应现代科学技术,更要着眼疾病的本质和临床疗效。因此植物药标准化研究中,对于活性指标的确定、疗效与毒性的评价,生物检定是有力的工具之一。再则,中药的成分复杂,其有效成分很多尚未阐明,难以用理化的方法检验,但可选择一些与其疗效相平行的药理指标作为基础,研究建立生物检定的方法,控制其质量。这方面工作虽然难度较大,但已引起国内外研究中药的学者的普遍重视。我国学者楼之岑早在 1950 年就利用小鼠服植物性泻剂后排出湿粪这一原理,建立了植物性泻剂的生物检定方法。其原理是利用小鼠服药后所排出的湿粪数与其对数剂量呈直线关系,用 2.2 法(对照品与供试品各二个剂量)或 3.3 法(对照品与供试品各三个剂量)来比较大黄、番泻叶等植物性泻药泻下作用强度。

我国的中药现代化研究有一定基础,20 世纪末国家科委就组织力量对全国 300 余种常用中药进行了化学、药理等方面的系统研究,分离出单体 600 余种,并对 100 个传统方剂进行药效机理或组方配伍的探讨。逐步探索出中药作用的现代概念,认为中药是活性物质群构成的制剂,这些活性物质群按一定比例进行配伍,它通过多靶点、多途径对机体发挥整合作用,以调整机体的病理机能状态。

我国的中医药理论特别强调疾病发生和发展的整体观念和辨证施治,它与人类基因研究方法学有许多相似之处。现代研究认为一种疾病的发生可能是由于基因的突变、缺失等变化所致,而同一个基因的不同表达状态,又可能造成多种疾病。因此现代发病学已由单个基因的研究转向相关易感性基因的多基因调控紊乱的研究。基因芯片技术的应用,为这种复杂的现象提供了可能,它可从结构研究向功能研究方式转变,对基因之间的相互联系、相互作用提供物质依据。

中药可能是在调控、修饰疾病的相关基因表达及表达产物上发挥着重要作用,因此研究现代中药可以从临床行之有效的方剂着手,以基因表达为指标,以基因调控改变各功能修饰为主要研究方向,进行中药复方多组分、多环节、多起点调整作用的研究,从理论上,物质基础上阐明中医药的科学精髓,将中药的药性、功能及主治与其特定疾病相关基因表达调控的影响关联起来,在分子水平上用现代基因组学,特别是功能或疾病基因组学的理论来解释中药理论及作用机理。为此,需要多学科交叉融合,相互配合。生物检定的应用无疑对中药现代化起着重要作用。

(六)在农药残留量测定中的应用

由于农药的应用日益广泛,对食品、农产品及药材中农药残留量的问题,已引起各界的注意。如何合理地控制农药残留量的限度,是贯彻预防为主,保证人民身体健康的重要措施。当前虽已研究出测定农药残留量的各种理化方法,但对样品处理和食品精度的要求都较高。Sturbant 等利用农药对昆虫的特异毒性,以蟑螂心脏跳动的频率变化为指标测定试样中的农药残留量,灵敏度很高。因此生物检定在这方面的应用还有很大潜力。

三、《中国药典》概述

(一)《中国药典》沿革

《中华人民共和国药典》为我国药典的全称,简称《中国药典》。1949年10月1日中华人民共和国成立后,我国相继出版1953年版、1963年版、1973年版、1985年版、1990年版、1995年版、2000年版、2005年版、2010年版共九版。

《中国药典》1963年版起至2000年版分为两部出版,一部收载中药材、成方及单味制剂;二部收载化学药品、抗生素、生化药品、生物制品、放射性药品及各类制剂。2000年以后,《中国药典》分三部出版,一部收载中药材及饮片、植物油脂和提取物、成方及单味制剂等;二部收载化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品及各类制剂,还有药用辅料等;三部收载生物药品。按照国家《标准化法》的规定,国家药品标准每五年应修订一次。

(二)现行药典

2010年版《中国药典》是新中国成立以来第九版药典,本版药典收载品种总计4567个,其中新增品种1386个;药典一部收载中药材及饮片、植物油脂和提取物、成方和单味制剂共2165个,其中新增1019个,修订634个;药典二部收载化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品及药用辅料共2271个,其中新增330个,修订1500个;药典三部收载生物制品131个品种,其中新增37个,修订94个;药典附录新增47个,修订154个。

(三)《中国药典》主要内容

1. 凡例

凡例是解释和正确使用《中国药典》进行质量检定的基本原则。“凡例”把与正文品种、附录及质量检定有关的共性问题加以规定,避免在全书中重复说明。“凡例”中的有关规定具有法定的约束力。凡例是药典的重要组成部分,药典从2000年版开始对凡例的编排做了较大调整,按内容归类整理编排,并冠以标题,便于查阅和使用。2010年版药典仍基本沿用这种形式,二部药典凡例的标题有“名称与编排”、“项目与要求”、“检验方法和限度”、“标准品、对照品”、“计量”、“精确度”、“试药、试液、指示液”、“试验动物”、“说明书、包装、标签”九项。为正确理解与使用药典,应逐条阅读并弄懂其内涵。

2. 品名目次

品名目次位于凡例之后,按中文名称笔画顺序排列,同笔画数的字按起笔笔形一丨丿、一顺序排列。在药典二部中,品名目次分正文品种第一部分和正文品种第二部分。正文品种第一部分主要为化学药等,第二部分主要为辅料等。单味制剂排在原料药后面,如维生素C片排在维生素C后面。目次只排列药品品名,不排列附录项目,附录目次列在附录之首。

3. 正文

正文是药典的主要内容,收录了药品或制剂的质量标准。《中国药典》2010年版(二部)的正文分为两部分,正文的第一部分为化学药、抗生素等或其制剂的质量标准,正文的第二部分为药用辅料的质量标准。每一品种项下根据品种和剂型的不同,按顺序分别列有:(1)品名(包括中文、汉语拼音名与英文名);(2)有机物的结构式;(3)分子式与分子量;(4)来源或有机药物的化学名称;(5)含量或效价规定;(6)处方;(7)制法;(8)性状;(9)鉴别;(10)检查;(11)含量测定或效价测定;(12)类别;(13)规格;(14)贮藏;(15)制剂。

4. 附录

附录主要包括制剂通则、通用检验方法和指导原则,按分类编码,共归纳为19类。

通用检测方法包括一般鉴别试验、分光光度法、色谱法、物理常数测定法、特殊药物或基团的测定法、一般杂质检查法、制剂的常规或特殊检查法、生物检定法、生物检定统计法、放射性药品检定法等。

附录中共收录了10个指导原则。药典凡例中说明“附录中收录的指导原则,是为执行药典、考察药品质量所制定的指导性规定,不作为法定标准”。

此外,药典还收录了试药、试纸、试液、缓冲液、指示剂与指示液、测定液、标准品与对照品表以及制药用水、灭菌法、原子量表等内容。

5. 索引

《中国药典》2010年版(二部)除在正文前收载品名目次外,还分列中文索引和英文索引,以便快速查阅有关内容。中文索引按汉语拼音顺序排序;英文索引按英文名称第一个英文字母顺序排列,以英文名和中文名对照的形式排列。中文索引可检索到正文和附录的内容;英文索引只能检索到正文的内容。



【第二部分 实践操作】

查阅资料,并写出查阅资料名、主要内容及所在页码。

1. 维生素C片微生物限度标准。
2. 养血安神糖浆细菌计数结果报告。
3. 热原检查法结果判断。
4. 无菌检查法中阳性对照菌种类。
5. 胰岛素生物检定实验动物要求。
6. 红霉素软膏效价测定(管碟法)实验条件。
7. 异常毒性检查法规定实验动物给药量。
8. 葡萄糖注射液细菌内毒素检查中最大有效稀释倍数(MVD)的计算。



【知识拓展与思考】

1. 《中国药典》2010 版记载的生物检定部分的内容与以往版本有何不同？
2. 试述《中国药典》的主要内容及其收载情况。

任务 1-2 供试品溶液的制备

学习目标

知识目标

- 掌握药品生物检定中标准品的概念、类型及作用；
- 熟悉供试品溶液制备的要求及稀释步骤；
- 了解供试品溶液制备前的准备。

技能目标

- 学会供试品溶液制备的实验设计及计算；
- 能够对几种常见剂型的供试品按要求进行稀释；
- 对稀释过程及结果进行记录并分析。



【第一部分 必备知识】

一、标准品

在药品检验工作中我们常会用到一种用来检查药品质量的特殊参照物——药品标准物质(标准品或对照品),以它作为确定药品真伪优劣的对照标准。如在抗生素微生物测定中,管碟法就是通过比较标准品与供试品两者对接种的试验菌产生抑菌圈的大小,来测定供试品效价。

(一)药品标准物质

有些药品的定性、定量及其在生产、供应、贮存、使用过程中所发生的变化,往往难以单纯用某些参数加以确认和控制。当没有合适的参数评定药品的质量,或者单凭一些参数不能保证药品的有效性和安全性时,就需要实物对照,这个实物就是药品标准物质。

药品标准物质,是药品检验中使用的实物对照物质,具有确定的特性量值,用于校准设备、评价测量方法或者给供试药品赋值,包括标准品、对照品、对照药材、参考品等。在药品检验中,它是确定药品真伪优劣的对照,是控制药品质量必不可少的工具。

根据测定方法和使用对象不同,药品标准物质可分为生物标准物质和化学标准物质两大类。由于使用要求不同,上述两类又分为国际、国家、工作用三级标准物质。

(二)生物标准物质

生物标准物质是用于那些不能用化学或物理量表示强度,而只能用生物方法测定效价的品种。它是在用生物方法进行检验时,使其表示的效价或活性在不同地点、不同条件、不同操作者得出相对一致性结果的一种工具。只有当被测物质纯度高,结构清楚,用理化方法

控制质量分析的条件成熟后,该品种的化学测定用标准物质相应建立,生物标准物质才因完成其使命而被停用。

(三)标准品的分类

由于使用和要求不同,标准品可分为国际标准品、国家标准品及工作标准品三级标准。

1. 国际标准品

国际标准品(IS)是由世界卫生组织(WHO)邀请有条件的国家检定机构或药厂协作标定后,由生物检定专家委员会最后通过决定的标准品。这些由生物检定专家委员会通过决定、表示药物效价强度的单位称国际单位,以IU/mg、IU/ml、IU/安瓿方式表示。国际标准品供各国检定国家标准品时做对照用,不用于常规检查。

2. 国家标准品

国家标准品是各国指定的机构选定一批性质完全相同的药物与国际标准品进行比较,定出它的效价,统一向全国的检定、科研、生产单位分发,供检定产品效价时使用。我国是由中国药品生物制品检定所统一组织制备、研究、标定、确定效价后,向全国各使用单位分发。没有国际标准品的我国特有品种,由我国按照一定的原则自定效价单位。标准品必须按规定条件贮存。

3. 工作标准品

工作标准品是由产品的研制、生产单位自己制备,仅供地区内部使用。

二、供试品

供试品是供检定用的样品,可以是制剂,也可以是原料药或半成品,它的活性组分应与标准品基本相同。按存在状态不同,供试品可分为固体供试品、半固体供试品和液体供试品等,检定时都需配制或稀释成一定浓度的供试液。各供试品所含活性成分的性质及制剂类别不同,供试液的制备方法亦各异,一般都需制备成与标准品溶液浓度相当的供试液。



【第二部分 供试品溶液的制备】

一、配制前准备

1. 准备好足够数量的实验器皿消毒备用。
2. 提前 2h 更换天平玻璃橱内干燥剂。
3. 打开无菌室的紫外灯,至少 30min。
4. 将已灭菌的用品按无菌操作要求移入无菌室。
5. 操作人员按要求穿戴无菌服,进入无菌室。
6. 操作前,先用酒精棉球消毒手,再用酒精棉球消毒供试品瓶口。
7. 核查一瓶缓冲液是否够用,如不够用,将几瓶缓冲液混合并摇匀。
8. 从冰箱中取出装供试品的干燥器,回温。

二、称量的操作要点及注意事项

1. 称量操作要点
 - (1)准备好不锈钢药匙、称量的容器。

(2)在容器上贴上标签,标明药品名称。

(3)从干燥器中取出装供试品的药瓶,用酒精棉球消毒瓶口。

(4)在分析天平上精确称取。称量应为一次称取,不得反复取样称取。若供试品为纯品、原料药,称量一般约 50mg,不得少于 10mg,否则误差较大。若供试品为含有辅料的片剂、散剂、粉剂,一般称取 10g(片剂要研细,混合均匀后称量)。有些药物易吸潮,如青霉素钠、克拉维酸、肝素等,应在称量前 1~2h 更换天平玻璃橱内干燥剂如硅胶等,宜用减量法一次称取,称量时动作要快,称完要立刻盖上盖子,放入干燥器内。

(5)在容器所贴的标签上标上所称量的数值,精确到小数点后两位,放入干燥器内备用。

2. 称量操作注意事项

(1)称量用容器的最大质量不得超过 10g。

(2)药匙及称量用容器都应经过灭菌或消毒。

(3)称量前供试品应放在干燥器内至少 30min,从冰箱中取出的供试品,称量前要先回温至室温。

(4)称量供试品与标准品应用同一天平及砝码。

(5)天平应放在无菌室内。

三、稀释的操作要点及注意事项

1. 稀释的操作要点

(1)取装有已称好供试品的容器,加入灭菌稀释液(稀释液种类视特定的药品、特定的试验而定,可以是灭菌蒸馏水、灭菌生理盐水或灭菌缓冲液等),使供试品完全溶解。

(2)将已溶解的供试品小心地转入 100ml 容量瓶内,并用稀释液冲洗装供试品的容器 3 遍,冲洗液也分别小心地转入容量瓶内,再加稀释液至刻度,摇匀。贴上标签,标明药品名称。

(3)根据具体称量的数值及供试品的标示量效价(或估计效价)计算出容量瓶内供试品的单位效价。如供试品的称量值为 60.00mg,估计效价为 900U/mg,则容量瓶中供试品总效价为 $60.00\text{mg} \times 900\text{U/mg} = 54000\text{U}$,单位效价为 $54000\text{U} \div 100\text{ml} = 540\text{U/ml}$ 。

(4)将计算得出的单位效价,如 540U/ml,标在所贴的标签上,并标上阿拉伯数字 1。

(5)接着逐步稀释至规定浓度,并不超过 3~4 步。具体为:选适当的移液管(1ml、2ml、5ml 或 10ml,视所吸取的溶液量而定),吸取适量的供试品液转入另一个容量瓶(容量瓶大小可根据具体情况而定)中,容量瓶标号为 2。如标定的浓度为 4U/ml,选用 100ml 的容量瓶,标号为 2,也就是要从容量瓶 1 中吸取 400U 的供试品液到容量瓶 2 中,终浓度才是 4U/ml。设要吸取的量为 x ,则 $540\text{U/ml} \times x = 400\text{U}$, $x = 0.74\text{ml}$ 。因此,选用 1ml 的移液管从容量瓶 1 中吸取 0.74ml 的供试品液转移入 100ml 的容量瓶 2 中,再加稀释液至刻度,即得浓度为 4U/ml 的供试液。

2. 稀释操作注意事项

(1)用于稀释的刻度吸管和容量瓶均应经过标定,且要经过灭菌。

(2)在量取溶液之前,吸管要先用被量取的溶液流洗 2~3 次。

(3)刻度吸管应从 0 刻度开始释放溶液。

(4)供试品的稀释应与标准品的稀释操作步骤相同,所用稀释液应是同一批和同一瓶内