

# 离体豚鼠回肠法应用于骨肽类注射剂中组胺类物质检测

吴畅<sup>1,2</sup>, 李晓洁<sup>2</sup>, 吴殷因<sup>1,2</sup>, 王瑶<sup>2</sup>, 汪玉馨<sup>2</sup>, 宗卫峰<sup>2</sup>, 孟长虹<sup>2</sup>, 陆益红<sup>1,2</sup>

(1. 徐州医科大学药物分析教研室, 徐州 221004; 2. 江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210019)

**[摘要]** **目的** 评价离体豚鼠回肠法检测骨肽类注射剂中组胺类物质的效果, 以及代替猫降压物质检查法的可行性。**方法** 按照《中国药典》2020版中组胺类物质检查法(即离体豚鼠回肠法), 对5家企业共7批骨肽类注射剂进行组胺类物质检查, 同时利用猫降压物质检查法对其结果进行确证和比较。**结果** 用离体豚鼠回肠法进行组胺类物质检查发现有3批制剂结果呈阴性, 与猫降压物质检查法的检查结果一致; 另外4批制剂结果可疑, 对照猫降压物质检查结果是3批制剂可疑, 1批制剂呈阳性。离体豚鼠回肠法检查结果与猫降压物质检查法对于可疑结果的检出较为一致, 总体结果一致率为85.7% (6/7)。**结论** 离体豚鼠回肠法与猫降压物质检查法的结果基本一致, 可用于骨肽类制剂中组胺类物质筛查及研究; 同时, 骨肽类制剂标准中建议增订降压物质或组胺类物质检查项。

**[关键词]** 离体豚鼠回肠法; 骨肽类注射剂; 组胺类物质检查; 猫降压物质检查

**[中图分类号]** Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)02-0159-07

## Application of Isolated Guinea Pig Ileum Method for Detection of Histamine Substances in Osteopeptide Injections

WU Chang<sup>1,2</sup>, LI Xiaojie<sup>2</sup>, WU Yinnan<sup>1,2</sup>, WANG Yao<sup>2</sup>, WANG Yuxin<sup>2</sup>, ZONG Weifeng<sup>2</sup>, MENG Changhong<sup>2</sup>, LU Yihong<sup>1,2</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; 2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019, China)

Correspondence to: MENG Changhong, E-mail: hyjy@sina.com; LU Yihong, E-mail: yihonglu@163.com

**[ABSTRACT]** **Objective** To evaluate the detection of the histamine substances in osteopeptide injections by the isolated guinea pig ileum method, and to explore the feasibility of replacing cat depressor substances method. **Methods** According to the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, the histamine substances in 7 batches of osteopeptide injections were detected from 5 enterprises by isolated guinea pig ileum method. The results were compared with the test method of cat depressor substances. **Results** By the isolated guinea pig ileum method, the histamine substances in 3 batches of preparations were negative, which was consistent with the results of the test method of cat depressor substances. The results of the other 4 batches of preparations were suspicious; while the examination results of depressor substances in cat were 3 batches suspicious and 1 batch positive. The overall consistency rate of the two methods was 85.7% (6/7). **Conclusion** The results of isolated guinea pig ileum method is almost the same as the test of cat depressor substances, which can be used for the screening and study of histamines in osteopeptide injections. It is suggested to add the inspection items of the test of depressor substances or histamines in the standard of osteopeptide injections.

**[Key words]** Isolated guinea pig ileum method; Osteopeptide injections; Histamine substances test; Test of cat depressor substances

**[基金项目]** 江苏省实验动物协会2021年实验动物研究课题: 药品中组胺类物质测定用动物模型比较研究(DWXH202108)

**[作者简介]** 吴畅(1997—), 女, 硕士研究生, 主要从事药物质量控制研究。E-mail: wuchang0703@163.com

**[通信作者]** 孟长虹(1966—), 女, 硕士, 主任药师, 主要从事药理毒理研究。E-mail: hyjy@sina.com

陆益红(1977—), 女, 博士, 主任药师, 主要从事药品质量分析及安全性评价。E-mail: yihonglu@163.com

组胺是一种活性胺化合物,在体内与组胺H1受体结合后,可致血管舒张、血压下降、支气管与胃肠道平滑肌收缩等生理反应<sup>[1]</sup>。药品中的降压物质主要是指组胺等能引起血压下降的生物胺类物质,其含量超过规定的限度时,临床上可引起生命体出现血压下降、冷汗甚至休克等症状。猫降压物质检查法是指向实验猫静脉中注射限值剂量的供试品及组胺对照品,比较供试品与对照品引起的降压程度,以此判定供试品中所含降压物质的限值是否符合规定。而组胺类物质检查法是将一定浓度的供试品和组胺对照品依次注入离体豚鼠回肠浴槽内,比较供试品与对照品所致的回肠收缩幅度,以判定供试品中组胺类物质含量是否符合规定。

《中国药典》1985年版首次收录了降压物质检查法,当时使用的实验动物为猫或犬,一直沿用至2000年版;2005年版则把所使用的实验动物明确为猫,删除了犬;发展至2010年版,在保留原有的降压物质检查法的基础上,《中国药典》第二部附录《化学药物注射剂安全性检查法应用指导原则》增加了组胺类物质检查项;《中国药典》2015年版首次收录了组胺类物质检查法(即豚鼠离体回肠收缩法),并明确猫降压物质检查法可以作为该方法的补充和相互替代方法。然而目前相关研究和报告较少,豚鼠离体回肠收缩法的选择尚缺少相关标准依据。

骨肽类制剂是一类由动物骨骼提炼而成且具有生物活性的多组分生化药物,部分制剂品种在制备工艺中还添加了全蝎、甜瓜子等动植物提取成分<sup>[2]</sup>,因其具有消炎镇痛等作用,临床主要用于骨质疏松症、骨质增生、骨折及类风湿性关节炎等疾病的治疗<sup>[2]</sup>。近年来,不良反应监测系统显示,骨肽注射液会引起皮肤及其附件、呼吸系统等方面的不良反应,症状包括皮疹、发热、胸闷、呼吸困难、血压下降等<sup>[3]</sup>,并因其不良反应发生率较高而被录入国家重点监控药品目录。

多组分生化药物大多来自动物脏器的提取物,来源复杂,存在组分不明、结构不清的问题,有可能因脏器离体后组织出现自溶现象混入组胺、类组胺样具有降压作用、致敏反应的活性物质,从而影响药物的治疗效果并产生不良反应<sup>[4]</sup>。为保障用药安全,针对上述存在安全风险的制剂及原料应建立降压物质检查项<sup>[5-6]</sup>,但由于我国实验用猫一直难以标准化供给,实验结果很容易受到较多因素干扰。本实验拟探讨采用组胺类物质检查法(即离体豚鼠回肠法)替代猫降

压物质检查法<sup>[7]</sup>的一致性和可行性,以期能够为骨肽类注射剂的药品质量控制和安全性评价,以及相关标准的制定提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验仪器

离体器官仪 ALC-MPA2000 购自上海奥尔科特生物科技有限公司。

### 1.2 受试品

复方骨肽注射液来自江苏企业A和B,各1批;骨肽注射液来自湖北企业C、黑龙江企业D和E,各1批;注射用骨肽来自黑龙江企业D,1批;注射用骨瓜提取物来自黑龙江企业E,1批。

### 1.3 试剂

磷酸组织胺对照品(批号150510-201313)购自中国食品药品检定研究院;氯化钠(批号20200602)、氯化钾(批号20150618)、氯化钙(批号20120413)、氯化镁(批号F20111220)、磷酸氢二钠(批号20170306)、硫酸阿托品(批号1806161)、碳酸氢钠(批号N15C009)和葡萄糖(批号20170928)均购自国药集团化学试剂有限公司;戊巴比妥钠(批号20140221)购自美国Sigma-Aldrich公司;肝素钠注射液(批号1200402)购自南京新百药业有限公司;生理盐水(即0.9%氯化钠)注射液(批号8K82B1)购自中国大冢制药有限公司;注射用水(批号1810414)购自上海信谊金朱药业有限公司。

### 1.4 实验动物

实验用普通级虎皮猫体质量约3 kg,雄性,1只;普通级豚鼠体质量约280~340 g,雌雄各半,共42只。实验动物均购自无锡恒泰实验动物养殖有限公司[SCXK(苏)2020-0003],其中实验用豚鼠的实验动物质量合格证编号为HT00277。动物饲养于江苏省食品药品监督检验研究院普通环境[SYXK(苏)2017-0062]。本研究中动物实验方案经江苏省食品药品监督检验研究院实验动物福利伦理委员会审核批准(审查编号为JSIFDC2020-05)。

### 1.5 组胺类物质检查方法

参照《中国药典》2020年版中第四部通则第1146条组胺类物质检查法(即离体豚鼠回肠法)进行实验<sup>[8-9]</sup>。取体质量在280~320 g、禁食24 h的健康合格成年豚鼠,随机分为7组,每组6只。用静脉注射空气法迅速处死豚鼠,立即剖腹取出远端回肠,固定于离

体器官仪 ALC-MPA2000 中。在离体器官仪的恒温水浴槽中事先放入一定量的临用时新配制的回肠肌营养液（取氯化钠 160.0 g、氯化钾 4.0 g、氯化钙 2.0 g、氯化镁 1.0 g 与磷酸氢二钠 0.10 g，加纯化水 700 mL 使溶解，再加入适量注射用水，使成 1 000 mL。从上述配制溶液中取 50.0 mL，与硫酸阿托品 0.5 mg、碳酸氢钠 1.0 g、葡萄糖 0.5 g 混匀，再加注射用水，使成 1 000 mL，调节 pH 值至 7.3，即制得<sup>[8]</sup>。随后连续通入混合气体（该气体由 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 组成），维持 35 °C 的恒定温度。精密称取磷酸组胺对照品适量，按组胺计算，加水溶解成每 1 mL 中含 1.0 mg 的溶液，配制成一定量的组胺对照品溶液。精密量取上述组胺对照品溶液适量，用氯化钠注射液按高、低剂量组（d<sub>s2</sub>、d<sub>s1</sub>）配成两种浓度的稀释液，高剂量 d<sub>s2</sub> 应不致使回肠收缩达到极限，低剂量 d<sub>s1</sub> 所致反应值约为高剂量的一半，调节剂量使反应可以重复出现。注入体积为 0.2~0.5 mL，高低剂量的比值（r）为 1:0.5。调节剂量，使低剂量能引起回肠收缩，高剂量不致使回肠收缩达极限，且高低剂量所致回肠的收缩应有明显差别。

由于实验中供试品溶液 d<sub>T</sub>（各批次骨肽注射液样品按实验要求稀释后得到的溶液）的浓度与低剂量组胺对照溶液的浓度直接相关，具体计算公式如下：一般以人每千克体质量可接受的组胺限量（0.1 μg/kg）和人每千克体质量每小时临床最大用量的供试品剂量

的比值计算注射剂含组胺类物质的检查限值。检查限值（L）的计算公式如下： $L=K/M$ 。其中 K 为人每千克体质量可接受的组胺限量（0.1 μg/kg），M 为人每千克体质量每小时的最大供试品剂量。以 60 kg 作为人均体质量计算。结合检查限值（L）和低剂量组胺溶液的浓度（CSL）计算出供试品的最小有效稀释浓度（MVC），计算公式如下： $MVC=CSL/L$ 。式中：CSL 为低剂量组胺溶液的质量浓度（μg/mL）；L 为供试品组胺限值（μg/mg）。骨肽注射液的原溶液浓度较低，其对应的低剂量组胺溶液浓度引起豚鼠回肠收缩不明显，因此低、高剂量对照品采用计算值的 2 倍浓度进样。结合制剂的临床剂量及检查要求，具体实验的供试品溶液 d<sub>T</sub> 的给药浓度见表 1。

在每段豚鼠回肠中按照 d<sub>s2</sub>、d<sub>s1</sub>、d<sub>T</sub>、d<sub>T</sub>、d<sub>s1</sub>、d<sub>s2</sub> 的顺序分别注入对照品稀释液和供试品溶液，这两种溶液的注入体积应相等。如果供试品溶液引起了一定程度上的回肠收缩，则将第 2 个注入剂量 d<sub>s1</sub> 与第 4 个注入剂量 d<sub>T</sub>，第 5 个注入剂量 d<sub>s1</sub> 与第 3 个注入剂量 d<sub>T</sub> 所致的反应值各自进行比较。若两次注入的 d<sub>T</sub> 所致反应值均不大于 d<sub>s1</sub> 所致反应值的一半，即认为供试品组胺类物质检查呈阴性结果；若 d<sub>T</sub> 所致反应值大于 d<sub>s1</sub> 所致反应值的一半且小于 d<sub>s1</sub> 所致反应值，认为供试品组胺类物质检查结果可疑；若 d<sub>T</sub> 所致反应值大于 d<sub>s1</sub> 所致反应值，则判定供试品组胺类物质检查呈阳性结果。

表 1 离体豚鼠回肠法组胺类物质检查实验中给药剂量

Table 1 Experimental dose of histamine-like substances test by the isolated guinea pig ileum method

制剂名	临床剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	限值/ (μg·mg <sup>-1</sup> )	低剂量组胺溶液 高剂量组胺溶液		给药质量浓度/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	给药体积/ mL
			质量浓度/ (μg·mL <sup>-1</sup> )	质量浓度/ (μg·mL <sup>-1</sup> )		
骨肽注射液	1.67	0.06	0.6	1.2	5.0	0.40
复方骨肽注射液	2.50	0.04	0.6	1.2	15.0	0.40
注射用骨肽	1.67	0.06	1.0	2.0	16.7	0.25
注射用骨瓜提取物	3.33	0.03	1.0	2.0	33.0	0.25

## 1.6 降压物质检查方法

参照《中国药典》2020 年版中第四部通则第 1145 条降压物质检查法进行实验<sup>[8-9]</sup>。用戊巴比妥钠将实验用猫麻醉后，固定于保温手术台上，分离气管，在一侧颈动脉插入连接测压计的动脉插管，管内充满适宜的抗凝剂溶液，以记录血压。在一侧股静脉内插入静脉插管，供注射药液用。全部手术完毕后根据药典要求检查猫的灵敏度，当实验用猫经检查后对降压物质的灵敏度符合药典要求，则可进行下一步实验，即

取对照品溶液（d<sub>s</sub>）剂量按 0.10 μg/kg 体质量计算，供试品溶液（d<sub>T</sub>）以临床单次用药剂量的 0.2~5 倍作为降压剂量限值<sup>[9]</sup>。具体给药剂量和静脉注射体积见表 2。按照 d<sub>s</sub>、d<sub>T</sub>、d<sub>T</sub>、d<sub>s</sub> 这样的次序注射 4 个剂量为一组，然后将第一与第三个剂量，第二与第四个剂量所致的反应值分别进行比较。如果剂量 d<sub>T</sub> 所致的反应值均不大于剂量 d<sub>s</sub> 所致反应值的一半，判定供试品的降压物质检查结果呈阴性。否则应按上述次序继续注射一组 4 个剂量，并按相同方法将两组内各对 d<sub>s</sub>、d<sub>T</sub> 剂量

所致的反应值分别进行比较。如果  $d_T$  所致反应值大于  $d_S$  所致反应值的一半且小于  $d_S$  所致反应值，认为供试品降压物质检查结果可疑。如果  $d_T$  剂量所致的反应值

大于  $d_S$  剂量所致的反应值，则认为供试品的降压物质检查呈阳性结果。因此，结合制剂的临床剂量及检查要求，具体实验的给药剂量见表2。

表2 猫降压物质检查实验给药剂量

Table 2 Experimental dose of cat depressor substance test

制剂名	给药剂量/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	临床剂量/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	临床剂量倍数	给药体积/( $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
骨肽注射液	2.5	1.67	1.5	0.5
复方骨肽注射液	1.5	2.50	0.6	1.0
注射用骨肽	2.5	1.67	1.5	0.5
注射用骨瓜提取物	1.0	3.33	0.3	1.0

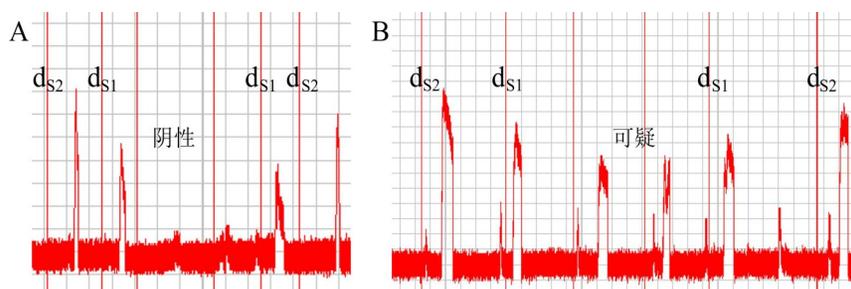
## 2 结果

### 2.1 组胺类物质检查结果

将5家企业共7批骨肽类注射剂分别根据表1中给药剂量进行实验，得出的结果显示有3批制剂的组胺类物质检查结果呈阴性，4批制剂结果可疑。截取其中较为典型的回肠收缩反应值变化进行比较可见，相较于

于回肠收缩反应不明显的阴性批次，可疑批次会出现较为明显的回肠收缩反应，见图1。

其中企业A的复方骨肽注射液、企业C和E的骨肽注射液、企业E的注射用骨瓜提取物致回肠收缩的反应值均大于组胺对照品所致反应值的一半，且小于组胺对照品所致反应值，提示结果可疑。具体结果见表3。



注：A，注射用骨肽（批次D-2）致豚鼠回肠收缩反应值变化；B，复方骨肽注射液（批次A-1）致豚鼠回肠收缩反应值变化。 $d_{S2}$ 为高剂量对照品稀释液， $d_{S1}$ 为低剂量对照品稀释液，通过高低剂量比较检测实验模型的灵敏度。

图1 两种典型骨肽类注射剂中组胺类物质的检查结果比较

Figure 1 Comparison of histamine-like substance test between the two typical osteopeptide injections

表3 7批骨肽类注射剂用组胺类物质检查法检测结果

Table 3 Results of histamine-like substance test in 7 batches of osteopeptide injections

企业	制剂名	批次	豚鼠回肠收缩反应值/mm				$d_T$ 与 $d_S/2$ 、 $d_S$ 比较
			$d_S$	$d_T$	$d_T$	$d_S$	
A	复方骨肽注射液	A-1	57.07	47.39	46.29	57.31	$1/2d_S < d_T < d_S$
B	复方骨肽注射液	B-1	42.24	19.95	20.82	46.85	$d_T < 1/2d_S$
C	骨肽注射液	C-1	33.06	24.25	20.94	30.86	$1/2d_S < d_T < d_S$
D	骨肽注射液	D-1	49.45	3.47	9.54	43.38	$d_T < 1/2d_S$
	注射用骨肽	D-2	24.29	6.07	0.87	58.12	$d_T < 1/2d_S$
E	骨肽注射液	E-1	40.22	18.39	19.54	34.47	$1/2d_S < d_T < d_S$
	注射用骨瓜提取物	E-2	70.53	50.70	44.08	87.07	$1/2d_S < d_T < d_S$

注： $d_S$ 为对照品稀释液， $d_T$ 为供试品溶液。按照 $d_S$ 、 $d_T$ 、 $d_T$ 、 $d_S$ 这样的次序注射4个剂量为一组。

## 2.2 降压物质检查结果

降压物质检查法实验中给药剂量参照表2。检测结果表明,同上述组胺类物质检查法检测结果可疑的4批骨肽类制剂,企业A的复方骨肽注射液在其等效剂量的0.6倍、企业C的骨肽注射液在其等效剂量的1.5倍时降压实验结果可疑,企业E的骨肽注射液在其等效剂量的1.5倍、注射用骨瓜提取物在其等效剂量的

0.3倍时致麻醉猫血压下降的程度大于对照品所致反应量,结果呈阳性。其余3批制剂的结果呈阴性,具体见表4。

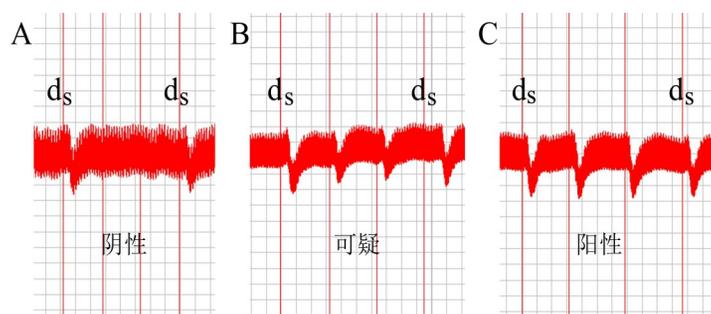
截取其中有代表性的猫血压变化图进行比较,可见结果为阴性的批次致猫血压变化不太明显,而结果为可疑或阳性的批次都会导致猫血压出现较为明显的下降,见图2。

表4 7批骨肽类注射剂用降压物质检查法检测结果

Table 4 Results of depressor substance test in 7 batches of osteopeptide injections

企业	制剂名	批次	猫血压下降数值/mmHg				$d_T$ 与 $d_S/2$ 、 $d_S$ 比较
			$d_S$	$d_T$	$d_T$	$d_S$	
A	复方骨肽注射液	A-1	34.26	19.49	19.97	31.18	$1/2d_S < d_T < d_S$
B	复方骨肽注射液	B-1	29.72	5.36	4.06	38.48	$d_T < 1/2d_S$
C	骨肽注射液	C-1	40.27	24.68	24.03	37.35	$1/2d_S < d_T < d_S$
D	骨肽注射液	D-1	30.37	10.39	11.04	23.71	$d_T < 1/2d_S$
	注射用骨肽	D-2	23.06	5.52	7.47	19.49	$d_T < 1/2d_S$
E	骨肽注射液	E-1	39.78	43.84	43.52	36.37	$d_T > d_S$
	注射用骨瓜提取物	E-2	32.15	19.81	17.54	24.84	$1/2d_S < d_T < d_S$

注: $d_S$ 为对照品稀释液, $d_T$ 为供试品溶液。按照 $d_S$ 、 $d_T$ 、 $d_T$ 、 $d_S$ 这样的次序注射4个剂量为一组。



注:A,骨肽注射液(批次D-1)致猫血压变化;B,骨肽注射液(批次C-1)致猫血压变化;C,骨肽注射液(批次E-1)致猫血压变化。图中 $d_S$ 为按顺序注入的对照品溶液。

图2 三种不同的典型骨肽类注射剂降压物质检查结果比较

Figure 2 Comparison of depressor substance test among the three typical osteopeptide injections

## 2.3 组胺类物质检查与降压物质检查结果比较

将组胺类物质检查法(即离体豚鼠回肠法)与猫降压物质检查法的实验结果比较,发现组胺类物质检查结果为阴性的骨肽类注射剂,其降压物质检查实验的结果也为阴性。企业A的复方骨肽注射液、企业C的骨肽注射液和企业E的注射用骨瓜提取物在组胺类物质检查中结果为可疑,降压物质检查结果也为可疑;企业E的骨肽注射液在组胺类物质检查中结果为可疑,在降压物质检查中结果为阳性。7批骨肽类注射剂采用两种方法检测的具体结果比较见表5。

## 3 讨论

本研究参照《中国药典》2020年版中第四部通则第1146条组胺类物质检查法和第1145条降压物质检查法分别进行实验。组胺类物质检查结果表明5家企业共7批骨肽类注射剂有4批制剂结果可疑,分别为企业A的复方骨肽注射液、企业C的骨肽注射液、企业E的骨肽注射液及注射用骨瓜提取物。对照猫降压物质检查结果,上述4批制剂中企业A的复方骨肽注射液、企业C的骨肽注射液和企业E的注射用骨瓜提取物的检

表5 7批骨肽类注射剂经组胺类物质检查与降压物质检查的结果比较

Table 5 Comparison between histamine-like substance test and depressor substances test on 7 batches of osteopeptide injections

企业	制剂名	批次	检查项	$d_T$ 与 $d_S/2$ 、 $d_S$ 比较	结果判定
A	复方骨肽注射液	A-1	组胺类物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
			降压物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
B	复方骨肽注射液	B-1	组胺类物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
			降压物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
C	骨肽注射液	C-1	组胺类物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
			降压物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
D	骨肽注射液	D-1	组胺类物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
			降压物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
E	注射用骨肽	D-2	组胺类物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
			降压物质检查	$d_T < 1/2d_S$	阴性
E	骨肽注射液	E-1	组胺类物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
			降压物质检查	$d_T > d_S$	阳性
E	注射用骨瓜提取物	E-2	组胺类物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑
			降压物质检查	$1/2d_S < d_T < d_S$	可疑

注： $d_S$ 为对照品稀释液， $d_T$ 为供试品溶液。

查结果同样为可疑，企业E的骨肽注射液检查结果呈阳性。其余3批制剂经组胺类物质检查与猫降压物质检查的结果均呈阴性。综上，骨肽类注射剂7个批次的猫降压物质检查结果与组胺类物质检查结果相比较，其中有6个相同批次的结果一致，只有1批企业E的骨肽注射液组胺类物质检查结果为可疑，而降压物质检查结果为阳性。考虑到动物的个体差异及灵敏度，以及不同种属在剂量换算及判定标准中存在一定偏差，鉴于两种测定方法在阴性结果及可疑结果检出较为一致，总体实验结果一致率为85.7% (6/7)，可以认为基于离体豚鼠回肠法的组胺类物质检查法在骨肽注射剂的质量控制中，可作为猫降压物质检查法的替代和补充。但是，骨肽注射液中引起豚鼠回肠收缩的物质基础研究源于产品自身还是产品中成分刺激机体或组织释放产生，还需进一步研究。

国内外药典记载的降压物质检查方法略有不同，而各国药典大多仅记载猫降压实验，部分药典同时记载猫降压实验和豚鼠回肠实验<sup>[8-13]</sup>。因猫具有比较耐受麻醉、血压恒定、对组胺类物质反应灵敏、血管壁坚韧、便于手术操作和可反复应用等优点，相较于兔

与比格犬等实验动物更适用于降压物质检查实验<sup>[14-17]</sup>。但目前实验用猫的培育标准尚未统一，具有生产资格的单位较少<sup>[14, 18]</sup>，价格较高，无法满足药品常规降压物质检查的需求，多数实验室采用的为市售家猫。家猫来源复杂，个体间差异大，健康水平参差不齐，无法对微生物寄生虫等进行控制，可能给实验操作者带来较大安全隐患；此外，实验过程中存在动物有效保温、实验环境控制等较多不可控因素<sup>[19-20]</sup>。组胺类物质检查法采用豚鼠离体回肠为实验对象，动物来源、质量稳定可控，符合动物实验的3R原则<sup>[21]</sup>，且技术操作易于掌握，还能有效避免内源性血压调节类物质对实验结果的影响，故可作为猫降压物质检查法的替代和补充。

药品制剂的安全性检查对控制药品质量、保障用药安全具有重要意义。骨肽类注射剂为多组分生化注射剂，提取工艺简单，但质量可控性不够<sup>[22]</sup>，制备过程中可能混入组胺或类组胺样降压活性物质，影响药物的疗效或引起不良反应。因此，对骨肽类注射剂中的组胺类物质应予以重视<sup>[23-24]</sup>。对于成分复杂的多组分药物，应根据其主要成分及临床应用选择适宜的检查方法。部分提取自植物的注射剂中存在有机酸等化学成分，直接静脉注射即会引起急性降压，导致猫降压物质检查法结果为假阳性，对组胺类物质的判断产生干扰。因此，该类注射剂宜采用离体豚鼠回肠法进行组胺类物质检查或验证。某些中药注射剂中存在平滑肌兴奋或抑制剂类成分，影响离体豚鼠回肠法的结果判断，故该类注射剂仍然推荐采用猫降压物质检查法。

#### 【作者贡献】

吴畅：实验设计，完成实验，数据收集和整理，论文撰写和修改；

李晓洁、吴殷因、王瑶、汪玉馨、宗卫峰：实验动物饲养管理，参与实验设计，实验辅助和技术指导，数据分析指导，辅助论文修改；

孟长虹、陆益红：共同确定实验方案，提供研究资金和实验场所，实验指导，论文指导和审核。

【利益声明】所有作者均声明本文不存在利益冲突。

#### 【参考文献】

- 李凤林, 李文汉. 组胺受体研究的进展[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1983(2):85-89.
- 马洁, 宋燕青. 骨肽注射液的临床应用及其药理作用[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(2):16-18.
- 李治武. 骨肽和复方骨肽注射剂的不良反应分析[J]. 人人健康,

2018(4):222.

[4] 国家药典委员会. 国家药品标准工作手册[M]. 4版. 北京: 中国医药科技出版社, 2013.

[5] 付金凤, 齐洋. 猫血压法测定骨瓜提取物注射液降压物质方法的研究[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(4): 552-553. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2882.2011.04.016.

[6] 牛慧玲, 李庆忠. 骨肽注射液降压物质检查法研究[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(6):538-540. DOI:10.3969/j.issn.1004-2407. 2012. 06.013.

[7] 吴贤生, 黄甘泉, 杨嘉俊, 等. 注射用促肝细胞生长素中组胺类物质检查和降压物质检查的比较研究[J]. 实验动物科学, 2019, 36(2):63-68. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2019.02.012.

[8] 国家药典委员会. 中国药典2020版. 四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:182-183.

[9] 国家药典委员会. 中国药典2020版. 四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:516-520.

[10] 吕晓君, 周大庆, 何开勇, 等. 不同药典降压物质检查方法的比较及试验要点浅析[J]. 中国药师, 2016, 19(8):1571-1573, 1580. DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2016.08.048.

[11] European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia (9.0)[S]. EDQM, 2017:195.

[12] British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia (BP9. 0)[S]. London: The Stationery Office, 2018.

[13] 陈天焱, 邵文, 卢海霞. 降压物质检查法与组胺类物质检查法用于小牛血去蛋白提取物注射液质量控制的研究[J]. 中国药师, 2017, 20(12):2264-2266.

[14] 贺争鸣, 李根平, 朱德生. 实验动物管理与使用指南[M]. 北京: 科学出版社, 2016.

[15] 刘明慧, 袁宝, 陈健, 等. 猫实验动物标准化的研究进展及探讨[J]. 吉林畜牧兽医, 2015, 36(2):29-30, 32.

[16] 黎家敏, 马佳丽, 杨春, 等. 实验兔和猫在降压物质检查中的比较研究[J]. 实验动物科学, 2020, 37(5):1-8. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2020.05.001.

[17] 嵇扬, 张葵荣, 姜春来. 比格狗与猫对组胺降压作用敏感性的比较研究[J]. 中国药品标准, 2004, 5(2): 38-39. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3656.2004.02.015.

[18] 滑志民, 张似青, 陈菊红, 等. 实验用猫的历史、发展现状及发展前景[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2019(1):27-29.

[19] 周立, 吕茂利, 吕文涛. 饲养犬、猫导致人兽共患寄生虫病的防治[J]. 中国伤残医学, 2012, 20(7):144-144, 147. DOI:10.3969/j.issn.1673-6567.2012.07.108.

[20] 邱鸿宇. 东北地区犬、猫人兽共患寄生虫的流行情况调查及风险因素分析[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学, 2020.

[21] 胡楚元, 蔡拓, 吴军. 浅谈实验动物福利伦理工作现状及改进[J]. 中国畜禽种业, 2018, 14(9):7-9.

[22] 杨泽岸, 张媛, 吴彦霖, 等. 基于生物活性测定的骨肽类制剂质量评价方法[J]. 中国药事, 2019, 33(4):380-384.

[23] 邓利娟, 梁成罡, 范慧红. 几种多组分生化药注射剂降压物质的探讨[J]. 中国药事, 2010, 24(6):546-549.

[24] 黄甘泉, 吴贤生, 王凤姬, 等. 降压物质检查试验中家猫对组胺灵敏度分析[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6):83-87. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 06. 011.

(收稿日期: 2021-04-12 修回日期: 2021-08-09 )  
( 本文编辑: 张俊彦, 周晓铨 )

\*\*\*\*\*

### 书讯：《眼科学动物实验基础与技术》



动物实验是医学科学发展的关键环节之一，眼科学研究中动物实验也必不可少。随着我国经济和科技的高速发展，眼科学研究迫切需要的仪器设备和试剂可以通过购买解决，但开展动物实验的场所、人员、操作及管理规范相对滞后，尤其是针对眼球开展的的分析研究常常难以借鉴其他医学科学，而且操作人员储备不足，一线的年轻眼科研究人员及研究生常常感觉困难重重，既缺乏有经验人员的指导，又欠缺唾手可得的学习资料。同时，我国大型眼科教学机构在教学过程中，也没有系统性的眼科动物实验相关的教材。因此，中山大学中山眼科中心整合眼科学国家重点实验室和眼科学实验动物中心的优质资源，组织相关专家及具有丰富实际操作经验的专业人员，倾力撰写了《眼科学动物实验基础与技术》一书。主编为吴开力教授和黄冰研究员。

本书详实全面，系统地介绍了眼科动物实验相关理论与技术，图文并茂，科学实用，内容包括开展眼科动物实验所需的场所、动物、设备、人员等管理规范和细则，还包括动物实验实施中的操作技术详解及九大类40余种眼科学实验动物模型的制作方法和特点，并且从实验动物眼的结构基础、动物饲养方法及常见病防控，到动物实验管理的各项制度制定及相关文件范例、动物实验操作和各类模型的制作，都提供了实用、细致的指导。因此，本书可作为学生自学和教师教学用书，也可用作眼科学研究生的动物实验教学用书或专业培训教材。所有对眼科学动物实验有兴趣和希望利用实验动物开展眼科研究的人员和各类机构都可以将此书作为参考和指导。



本书已于2022年3月由人民卫生出版社出版，16开精装铜版纸彩色印刷，共74.2万字，474页。如需购买请扫描右侧二维码。