

附件：1213 硫酸鱼精蛋白生物测定法修订草案公示稿（第一次）

1213 硫酸鱼精蛋白生物测定法

1 本法系用于硫酸鱼精蛋白的效价测定，测定方法分为凝结时间测定法和
2 肝素结合力滴定法。当检验结果有争议时，以凝结时间测定法试验结果为准。

3 第一法 凝结时间测定法

4 本法系测定硫酸鱼精蛋白供试品（T）中和供生物检定用肝素钠标准品
5 （S）所致延长新鲜兔血、或猪、兔血浆凝结时间的程度，以测定供试品效
6 价的方法。

7 肝素钠标准品溶液的制备 精密称取肝素钠标准品适量，按标示效价
8 加 0.9% 氯化钠溶液溶解使成几种不同浓度的溶液，相邻两种浓度每 1ml 中
9 所含肝素钠效价（单位）相差应相等，且不超过 5 个单位，一般可配成每
10 1ml 中含 85 单位、90 单位、95 单位、100 单位、105 单位、110 单位、
11 115 单位、120 单位、125 单位等的溶液。

12 供试品溶液的制备 供试品如为粉末，精密称取适量，按干燥品计算，
13 加 0.9%氯化钠溶液溶解使成每 1ml 中含 1mg 的溶液。供试品如为注射液，
14 则按标示量加 0.9%氯化钠溶液稀释至同样浓度。

15 血浆的制备 同肝素生物测定法中凝血时间测定法的血浆制备法制备
16 （通则 1208）。

17 测定法 取管径均匀（0.8cm×3.8cm）、清洁干燥的小试管 8 支，第
18 1 管和 第 8 管为空白对照管，加入 0.9%氯化钠溶液 0.2ml，第 2~7 管为
19 供试品管，每管均加入供试品溶液 0.1ml，再每管分别加入上述一种浓度的肝
20 素钠标准品稀释液 0.1ml，立即混匀。取刚抽出的兔血适量，分别加入上述
21 8 支试管内，每管 0.8ml，立即混匀，避免产生气泡，并开始计算时间，将
22 小试管置 37℃±0.5℃恒温水浴中，从采动物血时起至小试管放入恒温水浴的
23 时间不得超过 2 分钟；如用血浆，则分别于上述各管中加入 0.7ml 的血浆，
24 置 37℃±0.5℃恒温水浴中预热 5~10 分钟，每管分别加入 1%氯化钙溶液
25 0.1ml，立即混匀，避免产生气泡，并开始计算时间。观察并记录各管凝结时

26 间。

27 **结果判断** 两支对照管的凝结时间相差不得超过 1.35 倍。在供试品
28 管的凝结时间不超过两支对照管平均凝结时间 150%的各管中，以肝素钠浓度
29 最高的一管作为终点管。

30 同样重复 5 次，5 次试验测得终点管的肝素钠浓度，相差不得大于 10
31 个单位。5 次结果的平均值，即为硫酸鱼精蛋白供试品（干燥品）1mg 中和
32 肝素的效价（单位）。

33 **第二法 肝素结合力滴定法**

34 本法系采用滴定的方法，观察硫酸鱼精蛋白供试品（T）溶液中滴加供生
35 物检定用肝素钠标准品（S）后的吸光度变化，以吸光度明显增加为终点，根
36 据达到终点的时滴加肝素钠总量来测定硫酸鱼精蛋白拮抗肝素活性效价的方
37 法。

38 **肝素钠标准品溶液的配制** 精密称取肝素钠标准品适量，按标示效价
39 加灭菌注射用水溶解，一般配制成 80~120IU/ml 的溶液。

40 **供试品溶液的配制** 原料供试品，精密称取适量，按干燥品计算，加灭
41 菌注射用水溶解配制成浓度为 0.15mg/ml 的待测溶液；分别取适量
42 0.15mg/ml 的待测溶液，用灭菌注射用水稀释配制成 0.10mg/ml 和
43 0.05mg/ml 的待测溶液。平行配制 3 份样品。制剂供试品，按标示量加灭菌
44 注射用水配制成 0.15mg/ml 的待测溶液。平行配制 3 份样品。待测溶液应尽
45 快进行测定，放置时间最长不超过 4 小时。

46 **测定法** 精密量取适量待测溶液，滴加肝素钠标准品溶液后震荡均匀，
47 在 500nm 波长处测定吸光度，连续滴加肝素钠标准品直至吸光度值陡然升高，
48 准确记录滴加肝素钠标准品溶液的体积。每个待测溶液平行滴定 2 次，原料
49 3 份样品共得到 18 个滴定结果，制剂 3 份样品得到 6 个滴定结果。每个滴定
50 结果计算效价如下：

51 测得效价 (IU/mg) = $(V_T \times C_T) / (V_S \times C_S)$

52 式中 V_T ：为加入肝素钠标准品溶液的体积 (ml)；

53 C_T ：为肝素钠标准品溶液的浓度 (IU/ml)

54 V_S ：为加入硫酸鱼精蛋白待测液的体积 (ml)；

55 C_s : 为硫酸鱼精蛋白待测液浓度 (mg/ml)。

56 **结果判断** 原料供试品, 分别计算各份样品试验测定结果和各浓度测定
57 结果的平均值和标准差, 相对标准偏差 (RSD) 均应小于 5%。计算所有测定结
58 果的平均值, 即为硫酸鱼精蛋白供试品每 1mg (干燥品) 中和肝素的效价 (单
59 位)。

60 制剂供试品, 计算 3 份样品 6 个测定结果的平均值和标准差, 相对标
61 准偏差 (RSD) 均应小于 5%。计算所有测定结果的平均值, 即为每 1mg 中
62 和肝素的效价 (单位)。

起草单位: 北京市药品检验研究院

联系电话: (010-52779667)

1213 硫酸鱼精蛋白生物测定法修订说明

本次修订统一和明确硫酸鱼精蛋白生物测定法中使用的标准品信息, 并对测定法进行了文字修订。