

国家评价性抽验复方氨基酸注射液 (18AA) 的质量分析

刘 言, 韩晓捷, 黄哲甦

天津市药品检验所, 天津 300070

摘要: **目的** 评价国产复方氨基酸注射液 (18AA) 的质量现状与存在的问题。**方法** 采用卫生部药品标准二部第六册 (生化药品第一分册) 法定检验方法结合探索性研究, 如抗氧化剂亚硫酸氢钠的紫外分光光度法测定、渗透压摩尔浓度、相对密度、铝盐的原子吸收分光光度法测定、细菌内毒素、体外细胞毒性试验进行样品检验, 统计分析检验结果, 对复方氨基酸注射液 (18AA) 的质量现状进行评价。**结果** 法定检验显示 161 批样品中 152 批合格 (94.4%), 9 批不合格 (5.6%), 不合格项目主要有性状、可见异物、透光率、氨基酸含量; 探索性研究显示若增加亚硫酸氢钠、渗透压浓度、相对密度、铝盐检查项, 样品的不合格率将显著增加到 34.4%。**结论** 目前绝大部分国产复方氨基酸注射液 (18AA) 的产品质量能符合现行标准要求, 少部分企业产品仍存在性状、可见异物不合格, 透光率与氨基酸含量偏低等问题。现行的法定检验标准虽然基本可行, 但仍存在一定缺陷。

关键词: 复方氨基酸注射液 (18AA); 评价抽验; 质量分析

中图分类号: R927.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)11-1238-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.11.011

Quality analysis of Compound Amino Acid Injection (18AA) from national evaluative sampling

LIU Yan, HAN Xiao-jie, HUANG Zhe-su

Tianjin Institute of Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To evaluate the quality situation and existing problems of Compound Amino Acid Injection (18AA) made in China. **Methods** Statutory methods from *Drug Standard of Ministry of Public Health Volume II part 6 (Section 1 Biochemicals)* were carried out, and the exploratory researches, such as UV spectrophotometric determination of anti-oxidant sodium bisulfite, molar concentration of osmotic pressure, relative density, atomic absorption spectrophotometric determination of alum-inum salt, bacterial endotoxin, and cytotoxicity test *in vitro* also were used. Further quality analysis of Compound Amino Acid Injection (18AA) made in China was evaluated through the samples and the testing results were statistically analyzed. **Results** Statutory test showed 152 batches in 161 batches of samples were qualified (94.4%), and 9 batches were unqualified (5.6%) which referred to the testing items of characteristics, visible foreign matters, transmittance, and amino acid content. Exploratory studies indicated that the unqualified rate would be significantly increased up to 34.4% if adding the testing items, such as sodium bisulfite, osmolarity, relative density, and aluminum salt. **Conclusion** The quality of most Compound Amino Acid Injection (18AA) made in China complies with the current standard, but some products from a few enterprises still have existing problems in terms of characteristics, visible foreign matters, transmittance, and lower content of amino acid. It is indicated that the current statutory method can be basically operative, but has its limits.

Key words: Compound Amino Acid Injection (18AA); evaluative sampling; quality analysis

复方氨基酸注射液 (18AA) 为国家基本药物, 也是国家药品质量评价抽验品种。该品种最早由广州侨光制药厂于 20 世纪 90 年代初研制, 采用日本进口氨基酸原料, 以异亮氨酸等 18 种氨基酸与山梨

醇配制而成的灭菌水溶液, 在临床上用于低蛋白血症、改善手术后患者的营养状况等。目前该品种在我国均采用国内生产的氨基酸原料生产该制剂。笔者共完成 161 批复方氨基酸注射液 (18AA) 的检验,

收稿日期: 2014-06-22

作者简介: 刘 言 (1972—), 男, 天津市人, 副主任药师, 硕士, 从事药品和包装材料质量控制和研发。

Tel: (022)23340117 E-mail: adamluayan@126.com

将检验结果进行统计分析,并结合探索性研究结果对现行质量标准及国产复方氨基酸注射液(18AA)的质量现状作出评价,为今后对复方氨基酸注射液(18AA)的监督管理提供参考,同时也希望通过对评价结果的信息反馈,使各生产企业加强对产品质量的控制。

1 仪器与试剂

岛津 LC—AHT 高效液相色谱仪, LC-Solution 色谱工作站; 岛津 UV—2450 紫外-可见分光光度计; YB—2 澄明度测定仪; GWJ—8 微粒检测仪; Satorius PB—10 型 pH 计; Wellreader SK601 酶标仪(日本生化学工业株式会社)。

氨基酸对照品由中国食品药品检定研究院提供,复方氨基酸注射液(18AA) 161 批样品均为天津市药品检验所收到的国家评价抽验样品。亚硫酸氢钠为分析纯,乙二胺四乙酸二钠、碱性品红、甲醛均为化学纯。

L-929 细胞购自中国科学院上海细胞学研究所; RPMI1640 培养基,批号 1333032, Gibcorl 公司; 胎牛血清,批号 20090911, 兰州民海生物工程有限公司; 0.25%胰酶液, TBD 生物技术发展中心; MTT, 批号 M2128, Sigma 公司; DMSO, 分析纯, 天津康德科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 抽样统计

目前国内共有 101 家生产企业生产复方氨基酸注射液(18AA), 共有 201 个批准文号。本次抽验样品自药品生产、销售、流通领域(医院药房、社区卫生中心及乡镇卫生院)抽取样品的比例分别为 32.3%、53.4%、14.3%; 有 250 mL : 12.5 g、250 mL : 30 g、500 mL : 25 g 共 3 种规格 161 批样品; 涉及 27 个省市 37 家生产企业 50 个批准文号, 分别占全国总生产厂家和批准文号数的 36.6%、24.9%。

2.2 法定检验

按照卫生部药品标准二部第六册(生化药品第一分册)进行检验^[1]。氨基酸测定采用异硫氰酸苯酯(PITC)-HPLC 法测定。结果 161 批样品中有 152 批样品符合规定, 合格率为 94.4%。

2.3 不合格项分析

法定检验中, 检出 9 批产品质量不符合标准规定。性状不合格涉及 2 个厂家 2 批样品, 占不合格总数的 22.2%, 结果均为略显黄色的澄明液体, 可能样品在运输、贮存过程中未严格按照贮存条件,

使个别氨基酸被氧化引起溶液变黄。透光度不合格的涉及 3 个厂家 4 批样品, 占不合格总数的 44.4%, 结果为透光率均低于 97.0%, 可能样品在运输、贮存过程中未严格按照贮存条件, 使个别氨基酸被氧化。可见异物不合格的涉及 3 个厂家 4 批样品, 占不合格总数的 44.4%, 主要为在样品中检出玻璃屑及毛屑, 考虑可能与企业在注射剂生产中各环节控制不严有关。氨基酸含量不合格的涉及 2 个厂家 2 批样品, 占不合格总数的 22.2%, 其中某企业生产的 1 批样品的氨基酸中异亮氨酸的量为 0, 而缬氨酸的量高达标示量的 170%, 推测该企业生产管理未严格执行 GMP 管理生产注射剂, 致使投料错误。

2.4 探索性研究

2.4.1 抗氧剂亚硫酸氢钠的测定 亚硫酸氢钠为制剂中的抗氧剂, 从注射剂安全性考虑, 需控制其含量。亚硫酸根在 EDTA 存在的酸性条件下, 与甲醛和碱性品红作用, 生成具有醌型结构的紫红色络合物, 在 556 nm 波长处有最大吸收。该方法使用分析纯亚硫酸氢钠作为对照品, 采用标准曲线法, 测定样品中亚硫酸氢钠的含量^[2-3]。本制剂处方量含亚硫酸氢钠为 0.5 mg/mL (按二氧化硫计算, 相当于 0.3 mg/mL), 经测定, 统计结果见图 1。可见 90.7% 的抽验样品中亚硫酸氢钠的量低于处方量, 是由于样品在贮存过程中亚硫酸氢钠发挥抗氧化作用所致其含量降低。有 15 批样品中亚硫酸氢钠含量超出处方量 0.3 mg/mL (按二氧化硫计算)。经统计, 超出处方标示量 110% 以上的共有 6 家企业, 其中 1 家企业的样品检出亚硫酸氢钠含量高于处方 1 倍。

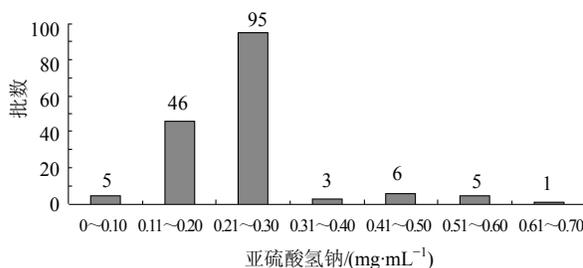


图 1 亚硫酸氢钠测定结果

Fig. 1 Determination of sodium bisulfite

2.4.2 渗透压摩尔浓度的测定 溶液的渗透压依赖于溶液中溶质粒子的数量, 是溶液的依数性之一, 反映溶液中各种溶质对溶液渗透压贡献的总和。复方氨基酸注射液(18AA)为静脉输液, 因含 18 种

氨基酸原料,属于高渗溶液。实验采用直接测定法考察所有评价抽验样品的渗透压摩尔浓度范围。结果在 161 批样品中共有 13 批为含 12%总氨基酸的样品,其渗透压摩尔浓度的结果在 1 422~1 627 mOsmol/kg;其余 148 批样品为含 5%总氨基酸的样品,渗透压摩尔浓度在 683~870 mOsmol/kg。

2.4.3 相对密度的测定 按照《中国药典》2010 年版二部附录 VIA 中第一法(比重瓶法)^[4]对该评价抽验样品进行了相对密度测定。在 161 批样品中共有 13 批为含 12%的总氨基酸样品,相对密度结果在 1.052~1.0580;其余 148 批样品为含 5%的总氨基酸样品,相对密度结果在 1.030~1.031。

2.4.4 铝含量的测定 经文献查阅^[5-6],肠外营养液中微量元素铝的污染与中毒是目前关注的焦点,研究表明铝存在于多种肠外营养液中,铝的来源主要是铝盐和玻璃容器。铝在人体内的积蓄将对人体产生危害^[7]。从 2004 年 7 月起,美国 FDA 要求生产厂家对大多数肠外营养液中铝进行定量测定^[8],大容积的注射用溶液,如葡萄糖、氨基酸、脂肪乳要求其铝含量低于 25 $\mu\text{g/L}$ 。为了更好地控制氨基酸输液品种的安全性,本实验采用原子吸收分光光度法分别对 37 家企业 39 批样品进行了铝含量的测定。

量取复方氨基酸注射液(18AA) 50 mL,置水浴蒸发至约 20 mL,转移置 25 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。另制备测定标准工作曲线用 0、20、40、120 $\mu\text{g/L}$ 对照品溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液,使用原子吸收光谱仪于 396 nm 测定^[9]。结果有 27 批(占 69.2%)的样品中铝含量大于 25 $\mu\text{g/L}$,超出了 FDA 的要求。除了样品自身的铝盐外,也考虑有可能与玻璃瓶装质量有关。从另一方面也提示在药品和玻璃瓶相容性试验中要进行铝盐的考察^[10]。

2.4.5 细菌内毒素的测定 复方氨基酸注射液(18AA)现行质量标准热原项检查,本实验建立细菌内毒素方法考察样品的安全性。参照《中国药典》2010 年版二部附录相应的方法检测^[11]。按照常规的大输液品种细菌内毒素限值“应小于 0.5 EU/mL”进行试验,结果显示该品种适用于细菌内毒素检查。

2.4.6 体外细胞毒性试验 按照相关判定标准,若细胞毒性反应在 0~1 级时,判定该产品在临床使用上具有一定的安全性。样品检测浓度的大小对细胞毒性的反应有密切影响。出现 0~1 级细胞毒性反应

的样品浓度越高说明产品的细胞毒性反应越小。

采用 L-929 细胞对复方氨基酸注射液(18AA)进行了体外细胞毒性试验^[12]。取复方氨基酸注射液(18AA)与 10% RPMI1640 培养液按 1:1 逐级稀释制成最终浓度为 50、25、12.5、6.2、3.12、1.56 mg/mL 试验样品液。将 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 细胞悬液接种于 96 孔板,每孔 0.1 mL,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养 24 h 后,弃去原培养液,加入试验样品液。每孔加入 0.1 mL;对照组为 10% FBS-RPMI1640,每组 3~5 个平行孔。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下继续培养 72 h。培养结束前每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL ,继续培养 4 h 后,弃去培养板孔内液体,每孔加入 150 μL DMSO,置振荡器上振荡 5 min,在酶标仪 545、630 nm 波长下测定吸光度(A)值。按相对增值率 = $A_{\text{实验}}/A_{\text{空白}} \times 100\%$ 计算,并按表 1 标准进行反应分级确定。

表 1 细胞相对增值率与细胞毒性分级的关系

Table 1 Relative cell proliferation rate and cytotoxicity grade

级 别	相对增值率/%
0	≥ 100
1	80~99
2	50~79
3	30~49
4	0~29

结果发现,在对 39 个生产企业共计 158 批样品进行的细胞毒性试验中,所有产品达到细胞毒性反应 1 级的浓度均在 10 mg/mL(以总氨基酸浓度计)以下。但有些厂家生产的同一规格不同批次的产品出现细胞毒性反应的浓度略有差异,初步考虑在排除试验本身的系统误差外,可能为产品中某些成分的差异带来的影响。

3 讨论

按照现行标准检验,复方氨基酸注射液(18AA)评价性抽验合格率为 94.4%,增加抗氧剂亚硫酸氢钠(不得过 0.33 mg/mL)、相对密度(规格 5%为 1.031~1.036、规格 12%为 1.052~1.058)、铝测定(小于 25 $\mu\text{g/L}$)、渗透压(规格 5%为 700~800 mOsmol/kg、规格 12%为 1 400~1 600 mOsmol/kg)项目检测后其不合格率增加至 34.8%。说明现有部分市售产品存在“仅仅符合法定质量标准规定”的现象,需要有针对性的增加检验项目,以提高产品质量。

建议增加抗氧剂亚硫酸氢钠的检测, 严格控制抗氧剂的含量, 监督企业按照处方量投料。制订的限度指标不高于处方量的 110%。

建议质量标准中, 按《中国药典》2010 年版要求增订渗透压摩尔浓度检查、相对密度检查, 以便进一步控制样品纯度, 并将热原项改为细菌内毒素检查。

建议质量标准中参照 FDA 的要求, 增加铝含量的检测限度, 要求控制在 25 $\mu\text{g/L}$ 以下。此次评价中共对 37 家企业的代表性样品进行铝含量的抽查, 抽查结果显示多家企业的含量超过 25 $\mu\text{g/L}$ 。建议今后的质量标准中应增订铝盐的限度检查, 同时关注玻璃瓶装材料的质量, 并对样品溶液带来的铝污染。

建议修订氨基酸含量限度, 统一氨基酸的测定方法。

检验标准中对样品的贮藏条件为密闭, 置凉暗处保存, 也就是要求样品在运输、放置过程中要避免光、20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存, 否则氨基酸氧化、变色。本次评价的样品中共发现 4 批样品, 涉及 3 家生产企业透光率低于 97.0%。建议生产企业、经营企业和使用单位要严格按照标准的贮藏条件放置药品, 确保产品在流通使用环节安全有效。

参考文献

[1] 卫生部药品标准二部第六册 [S]. 生化药品第一分册.

1998: 88-89.

- [2] 方海顺, 徐志利. 比色法测定复方氨基酸注射液中亚硫酸氢钠含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(4): 40-42.
- [3] 隋玉荣, 王 培, 黄哲甦. 复方氨基酸注射液中抗氧剂的含量测定 [J]. 天津药学, 2009, 21(1): 6-7.
- [4] 中国药典 [S]. 二部. 附录 39: 附录 VI A 相对密度测定法 (比重瓶法). 2010.
- [5] 日本药局方 [S]. 第十五改正版. 2006.
- [6] 樊新星, 徐 斑, 金朝晖, 等. 肠外营养液中的铝污染 [J]. 华西医学, 2008, 23(1): 203-204.
- [7] Hewitt C D, Savory J, Wills M R. Aspects of aluminum toxicity [J]. *Clin LabMed*, 1990, 10(2): 403-422.
- [8] Food and Drug Administration. Aluminum in large and small volume parenterals used in total parenteral nutrition-FDA. Proposed rule [J]. *Fed Regist*, 1998, 63(2): 176-185.
- [9] 韩峰超, 王晓黎, 高广慧, 等. 石墨炉原子吸收标准加入法考察复方氨基酸注射液 (18) 中铝元素含量 [J]. 实用药物与临床, 2010, 13(5): 346-347.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 国家食品药品监督管理局办公室关于加强药用玻璃包装注射剂药品监督管理的通知 [EB/OL]. (2012-11-08). [2014-06-20]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0844/76088.html>.
- [11] 中国药典 [S]. 二部. 附录 99: 附录 XI E 细菌内毒素检查法. 2010.
- [12] 吴海燕, 陈 颖. 羧甲基魔芋葡甘露聚糖对 L929 细胞体外毒性的研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(7): 416-419.