注射用丹参酮 II_A 磺酸钠安全性检查法的研究

王欣, 周继春, 张军霞, 李展, 张广伟, 林红军(河南省食品药品检验所, 郑州 450008)

摘要: 目的 建立注射用丹参酮 II_A 磺酸钠的安全性检查法。方法 设置了异常毒性和降压物质 2 个安全性检查项目, 确定了检查限值, 并按照中国药典 2015 年版方法进行验证。结果 注射用丹参酮 II_A 磺酸钠异常毒性检查限值为 40.91 mg·kg⁻¹, 降压物质检查限值为 1 mg·kg⁻¹。结论 本研究为完善和提高注射用丹参酮 II_A 磺酸钠的质量标准提供了实验依据。

关键词: 注射用丹参酮 II_A 磺酸钠; 异常毒性; 降压物质

中图分类号: R921.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2017)05-0723-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.020

引用本文: 王欣, 周继春, 张军霞, 等. 注射用丹参酮 II_A 磺酸钠安全性检查法的研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 723-725.

Study on the Safety Test of Sodium Tanshinone II_A Sulfonate for Injection

WANG Xin, ZHOU Jichun, ZHANG Junxia, LI Zhan, ZHANG Guangwei, LIN Hongjun(Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the safety test for sodium tanshinone II_A sulfonate for injection. **METHODS** Testing items of abnormal toxicity and depressor substances and their limiting values were set separately. The correlative experiments were carried out based on the methods from Chinese Pharmacopoeia(2015 edition) general chapters. **RESULTS** The limiting values of abnormal toxicity test was 40.91 mg·kg⁻¹ and depressor substances test was 1 mg·kg⁻¹. **CONCLUSION** This study provides experimental basis for the improved quality standard of sodium tanshinone II_A sulfonate for injection.

KEY WORDS: sodium tanshinone II_A sulfonate for injection; abnormal toxicity; depressor substances

丹参酮 II_A 磺酸钠^[1](sodium tanshinone II_A sulfonate, STS)是从丹参中分离的二萜醌类化合物丹参酮 II_A 经磺化而得的一种水溶性物质, 具有丹参酮 II_A 无法比拟的优越性, 不仅可用于冠心病、心绞痛、心肌梗死和室性早搏的治疗, 而且在抗肿瘤、抗菌、减轻脑缺血组织炎症反应等方面也有新的药理作用; 但随其临床用药增加, 与其相关的不良反应报道也随之增加, 严重的不良反应主要累及循环系统、中枢神经系统等^[2]。目前丹参酮 II_A 磺酸钠注射剂的质量标准中无异常毒性、降压物质安全性检查项, 为了保证其临床应用的安全可控, 并且受企业委托, 对本品质量标准增加安全性检查项进行方法起草及验证。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂

注射用丹参酮 II_A 磺酸钠(批号: 20141001、20141002、20141003, 规格: 40 mg, 河南某药业股份有限公司); 丹参酮 II_A 磺酸钠(批号: 111605-201202, 规格: 约 20 mg, 中国食品药品检定研究

院); 磷酸组胺(批号: 150510-201313, 规格: 约 20 mg, 中国食品药品检定研究院);

1.2 动物

KM 小鼠, SPF 级, 体质量 18~20 g, ♀♂各半, 购自河南省实验动物中心, 生产许可证号: SCXK(豫)2010-0002; 河南省食品药品检验所动物实验许可证号: SYXK(豫)2010-0008。动物饲料为实验动物全价营养饲料, 购自河南省实验动物中心, 生产许可证号: SCXK(豫)2010-0002。动物♀♂分笼饲养, 每笼 5 只, 自由饮水。环境温度(23±2)℃, 湿度 50%~65%, 12 h 光照明暗交替, 良好通风。猫, 购自市场, ♀, 无孕, 本所动物实验室饲养 2 周。

1.3 仪器

PB4002-S 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 仪器有限公司); CP225D 型电子天平(德国 Sartorius); PowerLab8 多导生理记录仪(澳大利亚埃德); RTZ-10A-RT 型婴儿秤(无锡市衡器厂)。

作者简介: 王欣, 女, 硕士生, 主管药师 Tel: (0371)65566114

E-mail: salina2623@126.com

2 方法与结果

2.1 异常毒性检查法

2.1.1 急性毒性试验^[3-4] 根据预试验结果, 本品有一定的毒性; 故取 18~22 g 的健康小鼠 60 只, ♀♂各半, 分为 6 组, 每组 10 只, 剂量为 265, 238, 215, 193, 174, 156 mg·kg⁻¹, 剂距为 1:0.9, 测定 LD₅₀; 用 5%葡萄糖注射液配制供试品溶液(批号: 20141001)至 10.6, 9.5, 8.6, 7.7, 7.0, 6.2 mg·mL⁻¹, 尾静脉注射, 速度为 0.1 mL·s⁻¹, 注射体积为 0.25 mL·(10 g)⁻¹。给药后立即观察并记录中毒症状出现和消失的时间、动物死亡时间, 从高剂量到低剂量组分别死亡 10, 10, 4, 1, 0, 0 只, 即死亡率分别为 100%, 100%, 40%, 10%, 0%, 0%, 根据 72 h 内动物死亡数, 用 Bliss 法计算 LD₅₀ 及 95%可信限分别为 214.0 mg·kg⁻¹ 和 204.54~223.61 mg·kg⁻¹。

2.1.2 异常毒性检查限值确定及质量标准起草^[5] 《注射剂安全性检查法应用指导原则》中对异常毒性检查设定限值, 如难以计数最低致死量, 可采用 LD₅₀ 可信限下限的 1/4(建议采用 1/4~1/8); 本品临床体质量剂量为 1.33 mg·kg⁻¹, LD₅₀ 与其之比为 161(214/1.33)>20, LD₅₀ 可信限下限为 204.54 mg·kg⁻¹, 故按 1/5 作为检查剂量, 即 40.91 mg·kg⁻¹, 小鼠体质量按 18~20 g 计, 注射体积 0.5 mL, 则每只小鼠注射的浓度范围为 1.48~1.64 mg·mL⁻¹, 因此质量标准拟定如下: 取本品, 用 5%葡萄糖注射液稀释制成每 1 mL 中含 1.5 mg(按丹参酮 II_A 磺酸钠计)的溶液, 依法检查(中国药典 2015 年版四部通则 1141), 按静脉注射给药, 应符合规定。

2.1.3 供试品异常毒性检查法验证 根据拟定标准, 取 18~20 g 的健康小鼠, 注射 3 批供试品溶液, 每批 10 只, ♀♂各半; 供试品浓度为 1.5 mg·mL⁻¹,

注射速度为 0.1 mL·s⁻¹, 注射体积为 0.4 mL·(10 g)⁻¹。观察 72 h 并记录小鼠有无中毒症状出现。结果 3 批供试品均未见毒性反应和死亡。

2.2 降压物质检查法^[5-6]

2.2.1 动物灵敏度检查 取 2 只健康合格的猫, 体质量为 3.8 kg(动物 1)和 3.3 kg(动物 2)。腹腔注射苯巴比妥钠(100 mg·kg⁻¹)和戊巴比妥钠(15 mg·kg⁻¹)麻醉后, 自股静脉注射磷酸组胺对照品稀释液, 剂量为 0.05, 0.10, 0.15 μg·kg⁻¹, 重复 3 次, 试验结果表明 0.1 μg·kg⁻¹ 剂量所致的血压下降值均≥2.67 kPa(20.025 mmHg), 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, 结果见表 1。

表 1 灵敏度检查结果

Tab. 1 Results of sensitivity test

对照品剂量/ μg·kg ⁻¹	反应值/mmHg					
	动物 1			动物 2		
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 1 次	第 2 次	第 3 次
0.05	13	11	10	26	25	27
0.10	26	24	24	36	37	41
0.15	32	30	27	40	42	49

2.2.2 降压物质检查限值确定及质量标准起草 取注射用丹参酮 II_A 磺酸钠(批号: 20141001), 用 5%葡萄糖注射液制成不同稀释倍数的溶液, 剂量(*d_T*)为临床单次最大给药剂量(1.33 mg·kg⁻¹)的 0.5, 1, 1.5, 2, 4 倍, 并与磷酸组胺对照品(*d_S*, 剂量 0.1 μg·kg⁻¹)相比较, 注射体积和速度相同, 观察供试品剂量与猫血压反应的剂量关系; 另取丹参酮 II_A 磺酸钠对照品与供试品同法比较。结果表明, 本品有一定的降压作用, 并与剂量呈正相关, 注射用丹参酮 II_A 磺酸钠对照品与供试品同剂量降压反应无明显差别。因此, 确定临床单次最大给药剂量(1.33 mg·kg⁻¹)的 1.5 倍即 2 mg·kg⁻¹(溶液浓度 10 mg·mL⁻¹)为最大无降压反应剂量。结果见表 2。

表 2 不同剂量注射用丹参酮 II_A 磺酸钠降压值测定结果

Tab. 2 Determination results of test for depressor substances of sodium tanshinone II_A sulfonate for in different dosages

剂量/ mg·kg ⁻¹	临床单次剂量 倍数	反应值/mmHg							
		动物 1				动物 2			
		<i>d_S</i>	<i>d_T</i>	<i>d_T</i>	<i>d_S</i>	<i>d_S</i>	<i>d_T</i>	<i>d_T</i>	<i>d_S</i>
0.66	0.5	27	0	1	28	48	0	0	41
1.33	1	28	0	0	26	36	0	0	40
2.00	1.5	25	0	1	24	37	0	0	40
2.00	1.5(对照品)	26	0	0	25	36	0	0	33
2.67	2	27	10	12	26	41	8	7	33
5.32	4	28	17	16	26	34	25	18	37

根据《注射剂安全性检查法应用指导原则》中对降压物质检查限值设定的要求,一般以临床单次用药剂量的 1/5~5 倍作为降压反应物质检查剂量限值,急重病症用药尽可能采用高限;特殊情况下,如供试品有一定的降压作用,则可按最大无降压反应剂量的 1/2~1/4 作为限值剂量。本品最大无降压反应剂量为 $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,按其 1/2 即 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作为限值。质量标准拟定为:取本品,用 5%葡萄糖注射液稀释制成每 1 mL 中含 5 mg(按丹参酮 II_A 磺酸钠计)的溶液,依法检查(中国药典 2015 年版四部通则 1145),按猫体质量每千克注射 1 mg,应符合规定。

2.2.3 供试品降压物质检查方法验证 根据拟定质量标准,取注射用丹参酮 II_A 磺酸钠 3 批,分别用 5%葡萄糖注射液稀释制成 $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,剂量 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,依法检查,结果显示,3 批供试品降压物质检查均符合起草的质量标准要求,结果见表 3。

表 3 注射用丹参酮 II_A 磺酸钠降压物质检查测定结果
Tab. 3 Results of depressor substances test for sodium tanshinone II_A sulfonate for injection

批号	动物	反应值/mmHg			
		d_s	d_T	d_T	d_s
20141001	1	24	0	1	23
	2	34	0	0	31
20141002	1	23	0	1	24
	2	32	0	0	34
20141003	1	23	3	6	23
	2	38	7	9	36

3 讨论

丹参酮 II_A 磺酸钠注射剂引发的不良反应主要是变态反应,患者皮肤及其附件是不良反应发生比例最高的。而严重的不良反应主要为循环系统、神经系统、胃肠系统和全身性损害,表现为过敏和过敏性休克、发热、寒战、心悸、血压下降、头晕等症状;主要为老年患者及女性患者不良反应发生率高,需重点监测^[2]。

急性毒性试验表明本品有一定的急性毒性,且相邻剂量间差距小,故剂距设为 1:0.9,加大测定 LD₅₀ 的难度;实验中小鼠的严重毒性主要表现为抽搐、跳跃、躯体强直、遗尿等急性毒性,死亡时间在 10 min 以内;轻、中度毒性主要表现为

为异常步态、呼吸急促、竖毛等,多在 30 min 内逐渐恢复正常状态。异常毒性与药物本身所具有的毒性特征不同,它是药物生产过程中引入或其他原因所导致的毒性反应,供试品如不合格,表明药品中含有超过正常产品毒性的毒性杂质,临床用药将可能增加急性不良反应。虽本品 LD₅₀ 与临床体质量剂量之比为 161(>20),安全范围较宽,但毒性反应不容忽视,故设置异常毒性检查项确有必要,以控制毒性杂质不超过限度。降压物质实验中本品有一定降压作用,且与剂量呈正相关,故选取最大无降压反应剂量的 1/2 作为限值剂量。降压物质检查法的剂量设置仍有一定的局限性,是以最大无降压反应剂量 1/2~1/4 为参考,这需要考虑生产厂家提供的产品中可能含有的杂质是否有降压作用,故实验中使用了对照品,以达到排除可能含有杂质对实验的干扰。

通过本研究结果及丹参酮 II_A 磺酸钠临床出现的不良反应,根据《注射剂安全性检查法应用指导原则》的要求,在原质量标准基础上增设异常毒性和降压物质 2 个安全性检查项,可以控制由于质量问题在临床使用中引起的毒性反应和降压反应等严重不良反应的发生,为临床用药的安全性提供保障。药品安全性检查法日益受到重视,虽能在一定程度上控制药品质量,但尚需与临床使用相结合,并在应用中对其设置合理性进行论证。另外丹参酮 II_A 磺酸钠注射剂临床使用会引起过敏反应,故仍需对其过敏反应试验进一步研究和探讨。

REFERENCES

- [1] 蔡丽萍, 习志刚, 杨红. 丹参酮的药理作用和临床研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2008, 24(3): 321-324.
- [2] WANG H R, LI D, WENG H C, et al. Study on pharmacoepidemiological characteristics of adverse reactions induced by sodium tanshinone II_A sulfonate injection [J]. China Pharm(中国药业), 2014(14): 43-45.
- [3] 化学药物急性毒性试验技术指导原则(编号: [H] GPT1-1)[S]. 北京: 国家食品药品监督管理局, 2005.
- [4] 张均田, 杜冠华. 现代药理实验方法[M]. 第 2 版. 北京: 中国协和医科大学联合出版社, 2012.
- [5] 中国药典. 四部[S]. 2015: 401-402, 155, 158.
- [6] 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: 2016-09-22
(本文责编: 蔡珊珊)