

国家食品药品监督管理局

国家药品标准修订件

批件号：XGB2013 -049

药品名称	药品通用名称：脾氨肽口服溶液 汉语拼音名：Pi'antai koufurongye 英文名：Spleen Aminopectide Oral Solution
剂型	口服溶液剂
实施规定	根据《药品管理法》及其有关规定，修订转移因子口服溶液（WS ₁ -(X-451)-2003Z）国家药品标准。 本标准自实施之日起执行，同品种原标准同时停止使用，实施日期前生产的药品可按原标准检验。其他有关事宜参照国家食品药品监督管理局“关于实施《中国药典》2010年版有关事宜的公告（2010年第43号）”执行。
标准编号	WS ₁ -(X-451)-2003Z-2013
实施日期	2014年06月19日
附件	脾氨肽口服溶液药品标准
主送单位	各省、自治区、直辖市食品药品监督管理局（药品监督管理局），总后卫生部药品监督管理局。
抄送单位	各省、自治区、直辖市（食品）药品检验所（院），总后卫生部药品仪器检验所，中国食品药品检定研究院，国家药典委员会，国家食品药品监督管理局药品审评中心，国家食品药品监督管理局药品认证管理中心，国家食品药品监督管理局药品评价中心，国家食品药品监督管理局信息中心，国家食品药品监督管理局药化监管司、国家食品药品监督管理局稽查局。
备注	曾用名：转移因子口服溶液（WS ₁ -(X-451)-2003Z）



国家食品药品监督管理总局

国家药品标准

WS₁-(X-451)-2003Z-2013

脾氨肽口服溶液

Pi'antai koufurongye

Spleen Aminopeptide Oral Solution

本品为健康牛脾提取制得的脾氨肽水溶液。含多肽以牛血清白蛋白计，应为标示量的90.0%~110.0%。含核苷酸以D-核糖(C₅H₁₀O₅)计，不得低于标示量的80%。

【性状】 本品为无色至微黄色澄清液体，有特臭。

【鉴别】 (1) 取本品1ml，加茚三酮试液数滴，加热，溶液应显蓝紫色。

(2) 取本品，加水制成每1ml中约含多肽40μg的溶液，照紫外-可见分光光度法(中国药典2010年版二部附录IV A)测定，在264nm的波长处有最大吸收。

【检查】 pH值 应为6.0~7.5(中国药典2010年版二部附录VI H)。

蛋白质 取本品2ml，加20%磺基水杨酸溶液2ml，混匀，不得发生沉淀或浑浊。

游离氨基酸 精密量取本品5.0ml，置10ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，用0.45μm滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液；分别精密称取17种氨基酸(门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、苏氨酸、精氨酸、丙氨酸、酪氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和脯氨酸)对照品适量，置同一量瓶中，用0.1mol/L盐酸溶液溶解并稀释制成每1ml中约含每种对照品100μg的溶液，摇匀，作为混合对照品溶液。用适宜的仪器和方法或照下列高效液相色谱法(中国药典2010年版二部附录V D)测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(4.6mm×150mm; 3μm)，以磷酸氢二钠与硼酸钠缓冲液(将10mmol/L磷酸氢二钠溶液与10mmol/L硼酸钠溶液混合，制成pH 8.2的溶液)为流动相A，以乙腈-甲醇-水(45:45:10)为流动相B，按下表进行梯度洗脱，流速约为每分钟1.5ml，柱温40℃，检测器为二极管阵列检测器，0~16分钟，检测波长338nm，16~20分钟为262nm。

时间(分钟)	流动相A(%)	流动相B(%)
0.0	98	2
0.5	98	2
20.0	43	57
20.1	0	100
23.5	0	100
23.6	98	2
25.0	98	2

测定法 分别精密量取混合对照品溶液与供试品溶液，采用在线自动衍生(衍生程序见下表)后进样，记录色谱图，按外标法以峰面积分别计算各氨基酸含量。本品每1ml中含游离氨基酸总量不得少于1.3mg。

No.	衍生化操作步骤
1	吸取 0.4mol/L 硼酸盐缓冲液（取 4.96g 硼酸和 2.28g 氢氧化钠，加水溶解并稀释至 200ml，用 2mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 10.2）2.5 μ l；
2	吸取测定溶液 1.0 μ l；
3	在空气中以最大速度混合 5 次，混合体积 3.5 μ l；
4	等待 0.2 分钟；
5	吸取邻苯二甲醛衍生剂（取邻苯二甲醛 100mg，加上述硼酸盐缓冲液溶解，加入 3-巯基丙酸 100 μ l，用硼酸缓冲液稀释至 10ml，摇匀）0.5 μ l；
6	在空气中以最大速度混合 10 次，混合体积 4.0 μ l；
7	吸取 9-苄甲基氯甲酸酯衍生剂（取 9-苄甲基氯甲酸酯 25mg，用乙腈溶解并稀释至 10ml，摇匀）0.4 μ l；
8	在空气中以最大速度混合 10 次，混合体积 4.4 μ l；
9	吸取进样溶剂（100ml 流动相 A 加入 0.25ml 磷酸，混匀）32 μ l；
10	在空气中以最大速度混合 8 次，混合体积 20 μ l；
11	进样。

活力测定 取本品适量，照 T 细胞活性测定法-脱 E 受体法（见附件 1）测定，供试品管的 E 玫瑰花结百分率与对照管的 E 玫瑰花结百分率之差不得低于 12.0%。

微生物限度 取本品，依法检查（中国药典 2010 年版二部附录 XI J），细菌计数、霉菌和酵母菌计数均采用常规平皿法，大肠埃希菌检查、沙门菌检查均采用常规法。本品每 1ml 中细菌数不得过 100cfu，霉菌和酵母菌总数不得过 100cfu，大肠埃希菌不得检出；本品每 10ml 中沙门菌不得检出。

其他 应符合口服溶液剂（中国药典 2010 年版二部附录 I O）项下有关的各项规定。

【含量测定】多肽 精密量取本品适量，用水定量稀释制成每 1ml 中含多肽 0.1mg 的溶液，依法测定（中国药典 2010 年版二部附录 VII M 第二法）。根据回归方程计算本品中以牛血清白蛋白计的多肽含量。

核苷酸 标准曲线的制备 精密称取 D-核糖对照品适量，加 5% 三氯醋酸溶液溶解并制成每 1ml 中含 20 μ g 的溶液，摇匀，作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 0ml、0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml 和 1.0ml 分别置具塞试管中，各加入 5% 的三氯醋酸溶液适量至 2.0ml，分别精密加入 1% 3,5-二羟基甲苯溶液[取 3,5-二羟基甲苯 1g，溶于 0.1% 三氯化铁的盐酸溶液（取三氯化铁 0.5g，加盐酸溶解使成 500ml）100ml 中，临用新配]2.0ml，摇匀，置水浴中准确加热 30 分钟，迅速冷却至室温，以 0 号管为空白，照紫外-可见分光光度法（中国药典 2010 年版二部附录 IV A），在 650nm 的波长处测定吸光度，以对照品溶液浓度与相应的吸光度进行线性回归，其相关系数应大于 0.995。

测定法 精密量取本品适量，用 5% 三氯醋酸溶液定量稀释制成每 1ml 中含核糖 5 μ g 的溶液，作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 2.0ml，照标准曲线的制备项下，自“分别精密加入 1% 3,5-二羟基甲苯溶液 2.0ml”起，依法操作，测定吸光度。根据回归方程计算本品中以 D-核糖计的核苷酸含量。

【类别】 免疫调节药。

【规格】 10ml:10mg（多肽，以牛血清白蛋白计）:0.1mg（核苷酸，以 D-核糖计）

【贮藏】 密闭，在凉暗处保存。

曾用名：转移因子口服溶液

附件 1

T 细胞活性测定法—脱 E 受体法

本法系根据脾氨肽可使脱 E 受体后的胸腺 T 细胞恢复其 E 受体功能，从而反映其生物活性。

一、试剂

(1)Hank's 液 将 0.3%磷酸二氢钾溶液、0.76%磷酸氢二钠溶液、2%氯化钾溶液及 20%氯化钠溶液依次按 20:20:20:40 比例混合，加葡萄糖 1g，溶解并混匀，用水稀释至 1000ml，并用 4%碳酸氢钠溶液调节 pH 值至 7.2~7.3(临用配制)。

(2)阿氏液 取氯化钠 0.420g，枸橼酸 0.055g，枸橼酸钠 0.766g，葡萄糖 2.05g，加水溶解并稀释至 100ml，湿热灭菌(121℃，30 分钟)。

(3)分离液 为淋巴细胞分离液。

(4)羊血 取绵羊静脉血 5ml，加入 5ml 阿氏液中，冰箱保存。

(5)固定液 取 25%戊二醛溶液、3.5%碳酸氢钠溶液及 Hank's 液依次按 1:1:38 比例混合。

(6)姬姆萨染色液原液 取姬姆萨染料 0.5g，加甘油 33ml，55~60℃加热至姬姆萨染料溶解，冷至室温，加入 33ml 甲醇，室温放置 24 小时后，用滤纸过滤，滤液即为原液。密封室温保存。

(7)染色液 取姬姆萨染色液原液 2ml，加 Hank's 液 6ml，摇匀，以每分钟 1500 转离心 10 分钟，取上清液待用。

二、操作法

(1)脱 E 受体胸腺 T 细胞悬液的制备

取新鲜猪胸腺，去脂肪并剪碎，加适量 Hank's 液使成细胞悬液，经 100 目筛过滤，以每分钟 1500 转的速率离心 3~5 分钟，弃去上清液，加入少量 Hank's 液打匀，将此溶液加入已具有 1/3 滤液量的分离液的离心管中，以每分钟 2000 转离心 20 分钟，小心吸出中间层的胸腺细胞，放入另一离心管中，加适量 Hank's 液洗涤，摇匀，以每分钟 1500 转离心 3~5 分钟，弃去上清液，洗涤一次后，在沉淀物中加入适量 Hank's 液，混匀，45℃恒温水浴保温 30 分钟(每隔 5 分钟振摇一次)。以每分钟 1500 转离心 3~5 分钟，弃去上清液，再加入适量 Hank's 液，混匀后，置 45℃恒温水浴保温 30 分钟，取出后以每分钟 1500 转离心 3~5 分钟，弃去上清液。用 Hank's 液洗涤三次(操作同前)，最后用 Hank's 液适当稀释并计数，使最终浓度为每 1ml 中(3×10^6)~(5×10^6)个细胞。

(2)绵羊红血球悬液的制备 取适量羊血，用适量 Hank's 液洗三次(同前)。弃去上清液，加适量 Hank's 液稀释并计数，使最终浓度为脱 E 受体胸腺 T 细胞悬液浓度的 8~10 倍。

(3)供试品溶液的制备 取供试品，用 Hank's 液配制成每 1ml 中含 1mg 的溶液。

(4)测定 取小试管 6 支，其中 3 支各加 Hank's 液 0.1ml 作对照管，另 3 支各加供试品溶液 0.1ml 作测定管，每管中各加脱 E 受体胸腺 T 细胞悬液 0.2ml，37℃保温 1 小时后，加入绵羊红血球悬液 0.2ml，摇匀，以每分钟 500 转离心 3 分钟，放入 4℃冰箱过夜，次日取出，弃去上清液，每管中各加入固定液一滴，轻轻摇匀，静置 10 分钟，加入染色液 2 滴并摇匀，静置 15 分钟后开始计数，显微镜视野中淡蓝色的较大的细胞为淋巴细胞，共数计数板 16 个大方格上所有淋巴细胞的个数(不少于 200 个)，统计其中的 E 玫瑰花结形成的细胞数(结合 3 个以上绵羊红细胞的淋巴细胞)，求得结花百分率，取平均值。即为供试品管或对照管的平均值。

样品活力 = 供试品测定管 E 玫瑰花结百分率 - 对照管 E 玫瑰花结百分率

脾氨肽溶液

本品系用健康牛脾脏为原料，经去脂肪、细胞破碎、超滤制成的多肽、氨基酸和多核苷酸混合物的溶液。每 1ml 中含多肽以牛血清白蛋白计不得少于 1.2mg，含核苷酸以 D-核糖计不得少于 0.012mg。

【性状】 本品为无色至微黄色澄清液体。有特臭。

【鉴别】 取本品，加水制成每 1ml 中含多肽 40 μ g 的溶液，照分光光度法(中国药典 2010 年版二部附录 IV A)测定，264nm 的波长处有最大吸收。

【检查】 pH 值 应为 6.0~7.5(中国药典 2010 年版二部附录 VI H)。

蛋白质 取本品 2ml，加 20% 碘基水杨酸溶液 2ml，混匀，不得发生浑浊或沉淀。

游离氨基酸 精密量取本品 5.0ml，置 10ml 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液；分别精密称取 17 种氨基酸（门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、苏氨酸、精氨酸、丙氨酸、酪氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和脯氨酸）对照品适量，置同一量瓶中，用 0.1mol/L 盐酸溶液溶解并稀释制成每 1ml 中约含每种对照品 100 μ g 的溶液，摇匀，作为混合对照品溶液。用适宜的仪器和方法或照下列高效液相色谱法（中国药典 2010 年版二部附录 V D）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（4.6mm \times 150mm；3 μ m），以磷酸氢二钠与硼酸钠缓冲液（将 10mmol/L 磷酸氢二钠溶液与 10mmol/L 硼酸钠溶液混合，制成 pH 8.2 的溶液）为流动相 A，以乙腈-甲醇-水（45:45:10）为流动相 B，按下表进行梯度洗脱，流速约为每分钟 1.5ml，柱温 40 $^{\circ}$ C，检测器为二极管阵列检测器，0~16 分钟，检测波长 338nm，16~20 分钟为 262nm。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0.0	98	2
0.5	98	2
20.0	43	57
20.1	0	100
23.5	0	100
23.6	98	2
25.0	98	2

测定法 分别精密量取混合对照品溶液与供试品溶液，采用在线自动衍生（衍生程序见下表）后进样，记录色谱图，按外标法以峰面积分别计算各氨基酸含量。本品每 1ml 中含游离氨基酸总量不得少于 1.3mg。

No.	衍生化操作步骤
1	吸取 0.4mol/L 硼酸盐缓冲液（取 4.96g 硼酸和 2.28g 氢氧化钠，加水溶解并稀释至 200ml，用 2mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 10.2）2.5 μ l；
2	吸取测定溶液 1.0 μ l；
3	在空气中以最大速度混合 5 次，混合体积 3.5 μ l；
4	等待 0.2 分钟；

- 5 吸取邻苯二甲醛衍生剂(取邻苯二甲醛 100mg, 加上述硼酸盐缓冲液溶解, 加入 3-巯基丙酸 100 μ l, 用硼酸缓冲液稀释至 10ml, 摇匀) 0.5 μ l;
- 6 在空气中以最大速度混合 10 次, 混合体积 4.0 μ l;
- 7 吸取 9-苄甲基氯甲酸酯衍生剂(取 9-苄甲基氯甲酸酯 25mg, 用乙腈溶解并稀释至 10ml, 摇匀) 0.4 μ l;
- 8 在空气中以最大速度混合 10 次, 混合体积 4.4 μ l;
- 9 吸取进样溶剂(100ml 流动相 A 加入 0.25ml 磷酸, 混匀) 32 μ l;
- 10 在空气中以最大速度混合 8 次, 混合体积 20 μ l;
- 11 进样。

活力测定 取本品适量, 照 T 细胞活性测定法-脱 E 受体法(附件 1)测定, 供试品管的 E 玫瑰花结百分率与对照管的 E 玫瑰花结百分率之差应不低于 12.0%。

微生物限度 取本品, 照微生物限度检查法(2010 年版二部附录 XI J)检查, 细菌计数、霉菌和酵母菌计数均采用常规平皿法, 大肠埃希菌检查、沙门菌检查均采用常规法。本品每 1ml 中细菌数不得过 500cfu, 霉菌和酵母菌计数不得过 100 cfu, 大肠埃希菌每 1ml 不得检出; 每 10ml 中沙门菌不得检出。

【含量测定】 多肽 精密量取本品适量, 用水定量稀释制成每 1ml 中含多肽 0.15mg 的溶液, 依法测定(中国药典 2010 年版二部附录 VII M 第二法)。根据回归方程计算本品中以牛血清白蛋白计的多肽含量。

核苷酸 标准曲线的制备 精密称取 D-核糖对照品适量, 加 5% 的三氯醋酸溶液溶解并制成每 1ml 中含 20 μ g 的溶液, 摇匀, 作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 0.0ml、0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml 和 1.0ml 分别置具塞试管中, 各加入 5% 的三氯醋酸溶液适量至 2.0ml, 分别精密加入 1% 的 3,5-二羟基甲苯溶液[取 3,5-二羟基甲苯 1g, 溶于 0.1% 三氯化铁的盐酸溶液(取三氯化铁 0.5g, 加盐酸溶解使成 500ml) 100ml 中, 临用新配]2.0ml, 摇匀, 置沸水浴中准确加热 30 分钟, 迅速冷却至室温, 以 0 号管为空白, 照紫外-可见分光光度法(中国药典 2010 年版二部附录 IV A), 在 650nm 的波长处测定吸光度, 以对照品溶液浓度与相应的吸光度进行线性回归, 其相关系数应大于 0.995。

测定法 精密量取本品适量, 用 5% 三氯醋酸溶液定量稀释制成每 1ml 中含核糖 5 μ g 的溶液, 作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 2.0ml, 照标准曲线的制备项下, 自“分别精密加入 1% 的 3,5-二羟基甲苯溶液 2.0ml”起, 依法操作, 测定吸光度, 根据回归方程计算本品中以 D-核糖计的核苷酸含量。

【类别】 免疫调节药。

【贮藏】 密闭, -20 $^{\circ}$ C 以下保存。

【制剂】 脾氨肽口服溶液

牛脾

本品为检疫合格未经免疫的，国家定点屠宰机构屠宰的健康牛的脾脏。

【性状】 肉眼观察脾脏表面为光滑、平整、粉红色、无肿瘤及寄生虫病的病理现象。

【贮藏】 置于-20℃以下的冷藏柜或低温冰箱中储藏，冷藏时间不超过 6 个月。牛脾在储藏、运送过程中，应需保持冰冻状态。