

1210 缩宫素生物测定法

本法系比较合成缩宫素标准品(S)与供试品(T)引起离体大鼠子宫收缩的作用,以测定供试品的效价。

标准品溶液的制备 取合成缩宫素标准品适量,用新鲜配制的0.2%三氯叔丁醇溶液(用1mol/L HCl调节pH值至3.5)配制成1IU/ml的溶液,溶液分装于适宜的容器内,2~8℃贮存。经验证保持活性符合要求的条件下,可在3个月内使用。

标准品稀释液的制备 试验当日,取合成缩宫素标准品溶液,按高、低剂量组(d_{s_2} 、 d_{s_1})加0.9%氯化钠溶液制成两种浓度的稀释液,一般高浓度稀释液可制成每1ml中含0.01~0.02单位,高低剂量的比值(r)一般不得大于1:0.7。调节剂量使低剂量能引起子宫收缩,记录仪指针一般在20~50mm;高剂量应不致使子宫收缩达到极限,记录仪指针一般为50~85mm,且高低剂量所致子宫的收缩应有明显差别。

供试品溶液与稀释液的制备 按供试品的标示量或估计效价(A_T),照标准品溶液与其稀释液的制备法制成供试品高低两种浓度的稀释液,其比值(r)应与标准品相等,供试品和标准品高低剂量所致的反应均值应相近。

子宫肌蓄养液的制备 试验当日,取氯化钠9g、氯化钾0.42g、氯化钙(按无水物计算)0.06g与葡萄糖0.5g,加水700ml使溶解,另取碳酸氢钠0.5g,加水约200ml溶解后,缓缓倾注于前一溶液中,随加随搅拌,最后加水适量使成1000ml。

供试用动物 取健康合格的成年雌性大鼠,断乳后即与雄鼠隔离,出生后不超过3个月,体重160~240g。试验当日,选择阴道涂片在动情前期的动物,也可用雌性激素处理使子宫涂片为动情前期或动情期的动物。

测定法 取选定的大鼠迅速处死,剖腹取出子宫,仔细分离附在子宫肌上的结缔组织,注意避免因牵拉使子宫肌受损。在子宫分叉处剪下左右2条,取一条将其下端固定于离体器官恒温水浴装置的浴杯底部,上端用线与记录装置相连,以描记子宫收缩;浴杯中加入一定量的子宫肌蓄养液(约30~50ml,子宫肌应充分浸没),连续通入适量空气。蓄养液应调节至32~35℃并保持恒温($\pm 0.5^\circ\text{C}$),子宫放入浴杯后,静置约15分钟,按次序准确注入等体积的标准品或供试品两种浓度的稀释液(0.3~0.8ml),待子宫肌收缩至最高点开始松弛时(约60~90秒),放去蓄养液并用蓄养液洗涤一次,再加入等量蓄养液,静置;相邻两次给药的间隔时间应相等(约3~5分钟),每次给药应在前一次反应恢复稳定以后进行。标准品稀释液和供试品稀释液各取高低两个剂量(d_{s_2} 、 d_{s_1} 、 d_{T_2} 、 d_{T_1})为一组,按随机区组设计的次序轮流注入每组4个剂量,重复4~6组。测量各剂量所致子宫收缩的高度,照生物检定统计法(通则1431)中的量反应平行线测定(2,2)法计算效价及实验误差。

本法的可信限率FL(%)不得大于10%。