

YY/T 0606.9—2007

目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 分类	2
5 要求	2
6 试验方法	3
7 检验规则	5
8 标志	5
9 包装、运输和贮存	6
附录 A(规范性附录) 透明质酸钠葡萄糖醛酸含量测定	7
附录 B(规范性附录) 透明质酸钠蛋白质含量测定	9
附录 C(规范性附录) 透明质酸钠中乙醇残留量测定(顶空气相色谱法)	11
附录 D(资料性附录) 背景资料	13
参考文献	15

前 言

YY/T 0606《组织工程医疗产品》分为：

- 第 1 部分：通用要求；
- 第 2 部分：术语学；
- 第 3 部分：通用分类；
- 第 4 部分：皮肤替代品(物)的术语和分类；
- 第 5 部分：基质及支架的性能和测试；
- 第 6 部分：I 型胶原蛋白；
- 第 7 部分：壳聚糖；
- 第 8 部分：海藻酸钠；
- 第 9 部分：透明质酸钠；
- 第 10 部分：修复或再生关节软骨的植入物体内评价；
- 第 12 部分：细胞、组织、器官的加工处理指南；
- 第 13 部分：产品保存；
- 第 16 部分：活细胞或组织的海藻酸盐凝胶固定或微囊化指南。

本部分为 YY/T 0606 的第 9 部分。

本部分的附录 A、附录 B 和附录 C 是规范性附录，附录 D 是资料性附录。

本部分由国家食品药品监督管理局提出。

本部分由中国药品生物制品检定所归口。

本部分起草单位：上海其胜生物材料技术研究所、中国药品生物制品检定所医疗器械检验中心。

本部分主要起草人：顾其胜、黄治本、奚廷斐。

组织工程医疗产品

第9部分：透明质酸钠

1 范围

YY/T 0606 本部分规定了用于外科植入物和组织工程医疗产品透明质酸钠的要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存等要求。

本部分适用于透明质酸钠，透明质酸钠可以用于制备外科植入物和组织工程医疗产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 YY/T 0606 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

- GB 191—2000 包装储运图示标志 (idt ISO 780:1997)
- GB/T 14513—1993 胶粘剂剪切强度测定 (neq NF EN 10619:1992)
- GB/T 16886.1—2001 医疗器械生物学评价 第1部分：评价与试验 (idt ISO 10993-1:1997)
- GB/T 16886.2—1997 医疗器械生物学评价 第2部分：急性全身毒性试验 (idt ISO 10993-2:1996)
- GB/T 16886.3—1997 医疗器械生物学评价 第3部分：亚慢性毒性试验 (idt ISO 10993-3:1996)
- GB/T 16886.4—2003 医疗器械生物学评价 第4部分：血液相互作用试验选择 (ISO 10993-4:2002, IDT)
- GB/T 16886.5—2003 医疗器械生物学评价 第5部分：体外细胞毒性试验 (ISO 10993-5:1999, IDT)
- GB/T 16886.6—1997 医疗器械生物学评价 第6部分：植入后局部反应试验 (idt ISO 10993-6:1994)
- GB/T 16886.10—2005 医疗器械生物学评价 第10部分：刺激与迟发型超敏反应试验 (ISO 10993-10:2002, IDT)
- GB/T 16886.11—1997 医疗器械生物学评价 第11部分：全身毒性试验 (idt ISO 10993-11:1993)
- GB/T 16886.12—2005 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照样品 (ISO 10993-12:2002, IDT)
- YY/T 0313—1998 医用高分子制品包装、标志、运输和贮存
- YY 0466—2003 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 (ISO 15233:2000, IDT)
- 中华人民共和国药典 (2005年版，二部)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 YY/T 0606 的本部分。

3.1

透明质酸 hyaluronic acid

透明质酸是一种由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰基-D-葡萄糖胺通过 β -(1-3)糖苷键连接而成的双糖重复结构单元组成的线性多糖。每个双糖单元通过 β -(1-4)糖苷键与另一个连接起来。

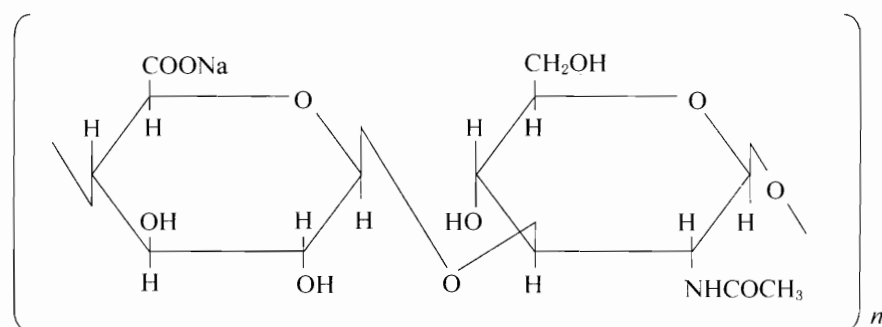
YY/T 0606.9—2007

3.2

透明质酸钠 sodium hyaluronate

透明质酸钠是透明质酸的钠盐形式,其结构单元分子量为 401,分子结构式如下图所示。

注:其他关于透明质酸的介绍请参见附录 D。



透明质酸钠的分子式(结构单元)

4 分类

透明质酸钠按照原料来源和制备方法不同,可以分为组织提取型和细菌发酵型。

5 要求

5.1 外观

白色或淡黄色粉末状或丝状固体,无任何肉眼可见异物。

5.2 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)

透明质酸钠典型的 FT-IR 频率(cm^{-1})有 3 275~3 390(b)、1 615(s)、1 405(m)、1 377(m)、1 150、1 077、1 045(s)、946(m)、893(w)。

注:s:强的;m:中等的;w:弱的;b:宽的。

5.3 葡萄糖醛酸含量

$\geq 40\%$ (质量分数)。

5.4 pH 值

0.5%浓度溶液的 pH 值为 6.0~7.5。

5.5 特性粘数(分子量)

不同产品的特性粘数(分子量)应不低于其自身规定的标示值。

5.6 动力粘度

不同产品的动力粘度应不低于其自身规定的标示值。

5.7 蛋白质含量

$\leq 0.1\%$ (质量分数)。

5.8 重金属含量

$\leq 10 \mu\text{g/g}$ (质量分数)。

5.9 乙醇残余量

$\leq 400 \mu\text{g/mg}$ (质量分数)。

注:如在加工过程中使用了除乙醇之外的其他有机溶剂,应建立相应的检验指标和检验方法。

5.10 干物质含量

$\geq 90\%$ (质量分数)。

5.11 灰分

$\leq 10\%$ (质量分数)。

注:透明质酸钠分子上的钠盐占整个分子总量的 5.7%。

5.12 紫外吸收

280 nm 处 OD 值 \leq 1.0;260 nm 处 OD 值 \leq 1.0。

5.13 无菌试验

应无菌。

注：如果透明质酸钠以非无菌的方式提供，则最终用户需进行灭菌处理以达到无菌要求。

5.14 细菌内毒素限量

\leq 0.5 EU/mg。

注：如果透明质酸钠以非无菌的方式提供，则最终用户需进行去除细菌内毒素的处理以达到细菌内毒素限量要求。

5.15 原材料安全性

5.15.1 生物发酵法制备的透明质酸钠应进行溶血性链球菌溶血素试验，结果应无溶血环。

5.15.2 组织提取法制备的透明质酸钠应进行相关的检验检疫，结果应合格。

5.16 生物学性能

5.16.1 总则

透明质酸钠应按照 GB/T 16886.1 的要求进行生物学评价，应不释放出对人体有不良作用的物质。

5.16.2 细胞毒性试验

细胞毒性反应不大于 1 级。

5.16.3 皮内反应试验

原发性刺激指数(P II)不大于 0.4。

5.16.4 急性全身毒性

无急性全身毒性。

5.16.5 溶血试验

无溶血反应。

5.16.6 致敏试验

应无皮肤致敏反应。

5.16.7 皮下植入试验

植入 14 d 后组织反应与阴性对照无显著差异。

5.16.8 遗传毒性试验

无遗传毒性。

6 试验方法

6.1 外观

使用肉眼直接观测，应符合 5.1 规定。

6.2 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)

样品制备采用溴化钾压片法，按照《中华人民共和国药典》(2005 年版，二部)附录 IV C 规定的方法测定，应符合 5.2 规定。

6.3 葡萄糖醛酸含量测定

按照附录 A 规定的方法测定，应符合 5.3 规定。

6.4 pH 值测定

透明质酸钠用蒸馏水配制成 5 mg/mL 浓度溶液，按照 GB/T 14518 规定的方法测定，应符合 5.4 规定。

6.5 特性粘数测定

透明质酸钠的溶液浓度以流出时间为准，应控制在 120 s~180 s 范围内，一般用生理盐水溶解至 1 mg/mL，按照《中华人民共和国药典》(2005 年版，二部)附录 VI G 第三法测定，应符合 5.5 规定。

YY/T 0606.9—2007

特性粘数用以表征透明质酸钠的分子量,两者的关系见下式。

$$\eta = 0.036M^{0.78}$$

式中:

η ——特性黏数,单位为立方厘米每克(cm^3/g);

M ——分子量。

6.6 动力粘度测定

透明质酸钠用蒸馏水配制成 10 mg/mL,采用旋转式粘度计,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 VI G 第二法测定,应符合 5.6 规定。

6.7 蛋白质含量测定

按照附录 B 规定的方法(可任选一种方法)测定,应符合 5.7 规定。

注:库马斯亮蓝法为仲裁方法。

6.8 重金属含量测定

透明质酸钠用蒸馏水配制成 1 mg/mL 作样品管,标准铅溶液 1.0 mL 于标准对照管中,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 VIII 第三法测定,应符合 5.8 规定。

6.9 乙醇残余量测定

按照附录 C 规定的方法测定,应符合 5.9 规定。

6.10 干物质含量

按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 VIII E 干燥失重法测定,所得的干物质含量应符合 5.10 规定。

6.11 灰分测定

精密称取透明质酸钠 1.0 g,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 VIII N 规定的方法测定,800℃灼烧 6 h,应符合 5.11 规定。

6.12 紫外吸收测定

透明质酸钠用生理盐水配制成 1 mg/mL 的溶液,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 IV A 规定的方法测定,应符合 5.12 规定。

6.13 无菌试验

按无菌操作要求按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 XI H 规定的方法测定,应符合 5.13 规定。

6.14 细菌内毒素限量试验

透明质酸钠用细菌内毒素检测用水配制成 1 mg/mL,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 XI E 规定的方法测定,应符合 5.14 规定。

6.15 原材料安全性试验

6.15.1 溶血性链球菌溶血素试验

透明质酸钠用生理盐水配制成 1 mg/mL 后取 1 mL 直接接种于血液琼脂平板培养基上,在 37℃ 培养 24 h,应符合 5.15.1 规定。

6.15.2 检验检疫

针对不同的原材料,应进行不同的项目的检验检疫试验或获得相关的检验检疫证明。

6.16 生物学性能

6.16.1 生物学性能

按照 GB/T 16886.12 规定的方法制备实验样品,供下述实验使用。

6.16.2 细胞毒性试验

按照 GB/T 16886.5 规定的方法测定,应符合 5.16.2 规定。

6.16.3 皮内反应试验

按照 GB/T 16886.10 规定的方法测定,应符合 5.16.3 规定。

6.16.4 急性全身毒性

按照 GB/T 16886.11 规定的腹腔注射方法测定,应符合 5.16.4 规定。

6.16.5 溶血试验

按照 GB/T 16886.4 规定的溶血试验方法测定,应符合 5.16.5 规定。

6.16.6 致敏试验

按照 GB/T 16886.10 规定的最大剂量方法测定,应符合 5.16.6 规定。

6.16.7 皮下植入试验

按使用说明制备透明质酸溶液。采用新西兰兔 3 只,兔脊柱两侧各选 2 个植入点,每点皮下注入透明质酸 0.5 mL,14 d 后取样观察,其他试验步骤按照 GB/T 16886.6 规定的方法测定,应符合 5.16.7 规定。

6.16.8 遗传毒性试验

按照 GB/T 16886.2 规定的 Ames 试验、微核试验、染色体畸变试验(或小鼠精子试验)方法进行测定,应符合 5.16.8 规定。

7 检验规则

7.1 总则

透明质酸钠以固体投料,同一生产厂生产的同一规格同一批号的产品,应根据自己的生产工艺,制定相应的出厂检验项目。

7.2 型式检验

7.2.1 型式检验为全性能检验。

7.2.2 型式检验时,若所有检验项目均合格,则判定为合格;若有一项不合格,则判定为不合格。

8 标志

8.1 大包装应有下列标志:

- a) 生产厂名和地址;
- b) 产品名称;
- c) 产品注册号和执行标准编号;
- d) 规格和数量;
- e) 生产批号或日期;
- f) 失效日期;
- g) 贮存条件。

8.2 小包装应有下列标志:

- a) 产品名称;
- b) 生产厂名和地址;
- c) 规格和数量;
- d) 生产批号或日期;
- e) 原料来源;
- f) 失效日期;
- g) 贮存条件。

YY/T 0606.9—2007

8.3 储运标志应符合 GB/T 191 中的规定。

9 包装、运输和贮存

9.1 包装应采用适宜的包装,确保透明质酸钠产品的安全性和有效性。

9.2 产品的包装、贮存、运输应符合 YY/T 0313 的规定。

附录 A

(规范性附录)

透明质酸钠葡萄糖醛酸含量测定

A.1 原理

透明质酸钠水解后,葡萄糖醛酸与吡唑试剂作用产生红紫色,生成的颜色深浅与葡萄糖醛酸含量成正比。

A.2 设备

A.2.1 分析天平。

A.2.2 紫外分光光度计或相当设备。

A.2.3 漩涡式混合器或相当设备。

A.3 溶液制备

注:试验所用试剂均为分析纯。

A.3.1 0.1%的吡唑乙醇液

取 0.1 g 吡唑,加无水乙醇 100 mL 溶解。移至深棕色瓶中,4℃ 下贮存,有效期为 12 个月。

A.3.2 葡萄糖醛酸(GA)标准溶液

精确称取 10 mg 葡萄糖醛酸于 100 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,在 4℃ 下贮存。

A.3.3 0.025 mol/L 的四硼酸钠硫酸溶液

称取 9.54 g 的四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),加入 1 L 浓硫酸中,加盖。不定时的振摇,直至四硼酸钠完全溶解。室温下贮存,有效期为 12 个月。

A.4 样品准备

取透明质酸钠约 0.06 g 置于 50 mL 容量瓶中,精确称重,加蒸馏水稀释至刻度。充分振荡混匀,使其完全溶解,从中吸出 1 mL 置试管中。按式(A.1)计算样品管中透明质酸含量 ρ_1 ($\mu\text{g/g}$)。

$$\rho_1 = m_1/m_2 \quad \dots\dots\dots (\text{A.1})$$

式中:

m_1 ——透明质酸钠质量,单位为微克(μg);

m_2 ——透明质酸钠和蒸馏水质量,单位为克(g)。

A.5 测定步骤

A.5.1 按表 A.1 制备葡萄糖醛酸标准液系列。

表 A.1 葡萄糖醛酸(GA)标准液系列浓度

试管号	0	1	2	3	4	5
GA 标准溶液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
GA 含量/($\mu\text{g/mL}$)	0	20	40	60	80	100

A.5.2 标准液系列各试管和样品试管一起置于冰水浴中,用酸式滴定管缓慢地向每管中加入 0.025 mol/L 四硼酸钠硫酸(使用之前在 4℃ 冰箱内贮存至少 2 h)5 mL,边加边摇匀。加毕后混匀并置

YY/T 0606.9—2007

沸水浴中煮沸 20 min 后取出,冷却至室温。各试管内均加入吡啶乙醇溶液 0.2 mL,充分摇匀后,置于室温($20^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$)2 h。用 0 号管作对照,用分光光度计测定 550 nm 处各标准管和样品管的吸光度。

A.5.3 用标准管绘制吸光度-浓度曲线,根据样品管的吸光度值从标准曲线上查样品管相应葡萄糖醛酸含量。

A.6 结果表示

按式(A.2)计算透明质酸钠葡萄糖醛酸含量 $\rho_3(\%)$ 。

$$\rho_3 = \rho_2 / \rho_1 \times 100\% \quad \dots\dots\dots (\text{A.2})$$

式中:

ρ_1 ——样品管中透明质酸钠含量,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)。

ρ_2 ——样品管中葡萄糖醛酸含量,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)。



附录 B

(规范性附录)

透明质酸钠蛋白质含量测定

B.1 福林酚法

B.1.1 原理

福林酚试液能够与溶液中的蛋白质发生有色反应,且其颜色深浅与蛋白质的浓度成正比。

B.1.2 设备

分析天平、紫外分光光度计或相当设备、旋涡式混合器或相当设备。

B.1.3 溶液制备

- 试剂 A:称取 1.000 g 五水硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),加水溶解并稀释至 100 mL。
- 试剂 B:称取 2.0 g 水合酒石酸钾钠($\text{NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$),加水溶解并稀释至 100 mL。
- 试剂 C:称取 25.0 g 碳酸钠,加水溶解并稀释至 250 mL。
- 试剂 D:临用前,将等量的试剂 A 和试剂 B 混合。
- 试剂 E:临用前,将 1 份试剂 D 与 9 份试剂 C 混合。
- 试剂 F:临用前,取福林酚试液(10% 福林酚试液)进行稀释。

注:实验所用试剂均为分析纯。

B.1.4 标准溶液制备

B.1.4.1 精密称取五氧化二磷干燥的牛血清蛋白对照品 10.0 mg,加水溶解并稀释至 250 mL (约 200 $\mu\text{g/mL}$)。

B.1.4.2 精密移取上述标准溶液 2.0 mL、1.0 mL、0.5 mL、0.2 mL、0.1 mL,分别加入 5.0 mL、10.0 mL、20.0 mL、40.0 mL、80.0 mL 试剂 E 中,稀释至 100 mL (浓度约为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、4 $\mu\text{g/mL}$ 、8 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$)。

B.1.5 测定步骤

B.1.5.1 精密移取上述各标准溶液 1.0 mL,样品管精密称取透明质酸钠 0.01 g。

B.1.5.2 于上述各管中加入试剂 F 1.0 mL,经涡旋振荡器混合,室温放置 10 min。加入 3.0 mL 试剂 F,经旋涡振荡器混合后,在 55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴放置 10 min,于 750 nm 处测定吸光度。

B.1.6 结果表示

用直线回归法计算结果,按式(B.1)计算透明质酸钠蛋白质含量 ρ_3 (质量分数):

$$\rho_3 = \frac{\rho_2}{\rho_1} \times 100\% \quad \text{..... (B.1)}$$

式中:

ρ_1 ——样品管中透明质酸钠含量,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$);

ρ_2 ——样品管中蛋白质含量,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)。

B.2 库马斯亮蓝法

B.2.1 原理

库马斯亮蓝 G-250 具有两种色调,在游离状态下呈红色,与蛋白质结合后转为青色,且其色深浅与蛋白质的浓度成正比。

B.2.2 设备

B.2.2.1 分析天平。

YY/T 0606.9—2007

B.2.2.2 紫外分光光度计或相当设备。

B.2.2.3 旋涡式混合器或相当设备。

B.2.3 溶液制备

注：实验所用试剂均为分析纯。

B.2.3.1 库马斯亮蓝 G-250 试液：称取库马斯亮蓝 G-250 100 mL 溶解于 50 mL 的 95% 乙醇中，再加入 85% 的磷酸 100 mL，并用蒸馏水稀释至 1 000 mL，置于棕色瓶内，室温贮存。

B.2.3.2 蛋白质标准液：精确吸取 5% 人血清白蛋白标准液 0.2 mL 于 1 000 mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，4℃ 下贮存。

B.2.4 样品准备取透明质酸钠约 0.1 g，精确称重，加蒸馏水 10 mL 使其完全溶解。充分振荡混匀，使其完全溶解，从中吸出 1 mL 置试管中。按式(B.2)计算样品管中透明质酸含量 ρ_1 ($\mu\text{g/g}$)。

$$\rho_1 = m_1 / m_2 \times c \quad \dots\dots\dots (\text{B.2})$$

式中：

 m_1 ——透明质酸钠质量，单位为微克(μg)； m_2 ——透明质酸钠和蒸馏水的质量，单位为克(g)； c ——透明质酸测定浓度值，%；**B.2.5 测定步骤**

B.2.5.1 按表 B.1 制备蛋白质标准液系列。

表 B.1 蛋白质标准管溶液系列浓度

试管号	0	1	2	3	4	5
蛋白质标准溶液/mL	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0
蒸馏水/mL	1.0	0.9	0.8	0.6	0.2	0
蛋白质浓度/($\mu\text{g/mL}$)	0	1	2	4	8	10

B.2.5.2 在标准液系列的各试管及样品试管中分别加入 5 mL 的库马斯亮蓝 G-250 溶液。用旋涡式混合器使试管中溶液充分混合，并在室温 $20^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$ 下放置 15 min。用 0 号管作对照，用分光光度计测定 595 nm 处各标准管和样品管的吸光度。

B.2.5.3 用标准管绘制吸光度-浓度曲线，根据样品的吸光度从标准曲线上查得样品管的蛋白质含量。

B.2.6 结果表示按式(B.3)计算透明质酸钠蛋白质含量 ρ_4 (%)：

$$\rho_4 = \rho_2 / \rho_1 \times 100\% \quad \dots\dots\dots (\text{B.3})$$

式中：

 ρ_1 ——样品管中透明质酸钠含量，单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)； ρ_2 ——样品管中蛋白质含量，单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)。

附 录 C

(规范性附录)

透明质酸钠中乙醇残留量测定

(顶空气相色谱法)

C.1 原理

在一定温度下,用萃取剂——水萃取样品中的乙醇,然后顶空抽取试样通过色谱柱,使要测定的乙醇与其他组分分开,用氢火焰离子化检测器检测,并将得到的乙醇色谱峰与外标物得到的色谱峰相比较。

C.2 设备

C.2.1 配有氢火焰离子化检测器与毛细管柱系统的气相色谱仪,要求仪器对所测定的乙醇,在最低检测浓度下产生的信号大于仪器噪音的2倍。

C.2.2 色谱数据处理机。

C.2.3 石英毛细柱:SE-30 50 m \times 0.53 mm \times 3.0 μ m 或相同分离效果的其他色谱柱。

C.2.4 1 000 μ L 微量注射器、100 μ L 微量注射器。

C.2.5 10 mL 顶空瓶。

C.2.6 恒温干燥箱。

C.2.7 无水乙醇:色谱纯。

C.3 乙醇标准贮备液的配制

取外部干燥的100 mL容量瓶,加入约60 mL蒸馏水,加瓶塞,称重,精确到0.1 mg。用100 μ L微量注射器注入约60 μ L色谱纯无水乙醇,不加瓶塞,轻轻摇匀,盖好瓶盖,称重,前后两次称重之差,即为溶液中所含无水乙醇重量,加水至刻度配制成500 μ g/mL作为贮备液。在4 $^{\circ}$ C下贮存,有效期1个月。

C.4 样品制备

精密称取透明质酸钠0.1 g加0.85%生理盐水配制成1.0%的水凝胶,再从中精密称取1 g水凝胶置于10 mL顶空瓶中,加蒸馏水1 mL封盖。置于80 $^{\circ}$ C恒温干燥箱中放置20 min。

C.5 操作条件

C.5.1 柱温:50 $^{\circ}$ C,保持2 min,以10 $^{\circ}$ C/min的速率升至160 $^{\circ}$ C。保持5 min。

C.5.2 汽化检测温度:180 $^{\circ}$ C。

C.5.3 载气:氮气,0.03 MPa,25 cm/s。

C.6 测定方法

C.6.1 用贮备液配制100 μ g/mL~500 μ g/mL五个系列浓度的标准溶液。各取1 mL,至10 mL顶空瓶中,加入蒸馏水1.0 mL,混匀。置于80 $^{\circ}$ C恒温干燥箱中放置20 min。

C.6.2 依次从平衡后的标准样和试样中迅速抽取顶空气体100 μ L,在规定的色谱分析条件下,注入气相色谱仪,记录峰高或面积。

注1:在一个分析中尽量一人操作,并使用同一注射器。

注2:注射器预先恒温到样品相同温度。

YY/T 0606.9—2007

注 3：每一样品(包括标样)在尽可能短的时间内进行多次重复分析。在 0.01 mg/mL 浓度范围,相对标准偏差不大于 10%。

C.7 结果计算

C.7.1 用标准样所测数据,通过线性回归求出标准曲线(X :乙醇浓度, $\mu\text{g/mL}$; Y :峰高或面积)。

C.7.2 从标准曲线上求出样品相应浓度。如果所测样品结果不在标准曲线范围内,应改变标准溶液的浓度重新作标准曲线。

附录 D

(资料性附录)

背景资料

D.1 基本原理

D.1.1 天然存在的聚合物在生物医学、制药和组织工程化的医药产品(TEMPs)中的应用与日俱增。这一标准指南计划给用于这些用途的透明质酸的表征和测试参数予以指导。关于透明质酸物理和化学性能的了解,例如分子量,将帮助最终用户选择符合他们特定用途的正确的透明质酸。这些参数的了解同样将会确保使用者能要求和从供应者处获得与记录相类似的材料。最后,透明质酸的特性决定了透明质酸适合某种应用或最终产品的功能性。另一些已被确认的试验也可替代本指南用于完成同一目的的检测。而这些测试都不适合最终产品的表征和功能确认。

D.2 背景

D.2.1 透明质酸是一种由葡萄糖胺和乙酰葡萄糖胺二糖单元重复交替所构成的无支链多糖。聚合物链的长度在天然状态时非常长,但是在制备过程中会缩减。透明质酸是最简单的粘多糖并且不具有硫酸盐基团。它是角膜液和组织的构成要素,在角膜玻璃体液和关节滑液中以高浓度存在。透明质酸溶液非常粘稠而水分滑。透明质酸的分子量可能在 100 000 g/mol 至 3 000 000 g/mol 之间变化,相当于一万 2 000 左右的聚合度。



D.2.2 透明质酸生产的原材料。透明质酸既可以从哺乳动物的组织中提取,也可以用微生物培养的方法来进行商品化的生产。

D.2.2.1 哺乳动物来源。这一类包括了鸟类来源(公鸡和母鸡的鸡冠)、牛玻璃体液和牛滑液。这些来源的透明质酸可能混有蛋白多糖。透明质酸也可以从大体的脐带中提取,但是这一来源并不适用于大规模的商品化生产,而只用于小规模的研究。

D.2.2.2 细菌发酵。Lancefield A 组和 C 组链球菌。天然产生一种透明质酸的粘液荚膜。另一种用于透明质酸细菌发酵的微生物是枯草杆菌。

D.2.3 新陈代谢

D.2.3.1 透明质酸在血液中的半衰期非常短,仅有几分钟。

D.2.3.2 透明质酸由各种细胞合成和分解代谢,如软骨中的软骨细胞。透明质酸在软骨中的半衰期大约是 2 周~3 周。表皮中的角质化细胞也能合成和分泌透明质酸。在皮肤中,透明质酸半衰期大约为 1 天。

YY/T 0606.9—2007

D.2.3.3 关节组织,如衬于膝关节囊内的细胞,合成透明质酸并释放到关节滑液中。滑液通过淋巴系统再进入血液。

D.2.3.4 衬于淋巴系统内的网状内皮细胞积极的去除了几乎 90% 的透明质酸,剩余物再入血管系统。

D.2.3.5 测试结果表明大约占体内总含量 1/3 的透明质酸每 24 h 通过新陈代谢被替换并去除。

D.2.4 透明质酸的功能特性和应用

D.2.4.1 对于大多数生物医药应用而言,透明质酸最重要的功能特性与透明质酸的分子量有关。透明质酸的粘性特性直接与分子量有关联。溶解性、溶胀性和粘弹性是其他一些在生物医药和制药应用中被加以利用的特性。

D.2.4.2 透明质酸的羧基基团在 pH 7 时可以完全离子化。

D.2.4.3 溶液中的透明质酸使水分子和其分子上邻近的羧基以及 N-乙酰基之间形成氢键,氢键的形成导致该聚合物增进水结合能力。

D.2.4.4 眼科学。透明质酸被用于眼科粘弹性外科手术,在手术过程中提供保护和维持眼睛的形状。

D.2.4.5 骨关节炎。透明质酸能被用于替代骨关节炎关节中的滑液从而缓解疼痛。

D.2.4.6 防粘连。透明质酸被用来减少术后粘连的发生率和严重程度。

D.2.4.7 组织工程。透明质酸被作为一种基质材料用于骨修复和骨移植物。交联的透明质酸被用来构成支架。但是,交联是一种通过引入外来分子(交联剂)来修饰透明质酸的化学反应。所形成交联的透明质酸需要通过本标准之外所列出方法来加以测试。

D.2.4.8 化妆品和皮肤应用。透明质酸基皮肤移植物能用于提供唇部增进或修补轮廓缺陷(如皱纹或疤痕)。透明质酸与水结合的能力也被用于许多的润肤剂配方中。

YY/T 0606.9—2007

参 考 文 献

- [1] YY 0308—2004 医用透明质酸钠凝胶.
 - [2] ASTM F2347-03 Standard Guide for Characterization and Testing of Hyaluronan as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue Engineered Medical Product Applications.
 - [3] MEDDEV 2.5-8 rev2 关于含有涉及病毒和传染性病原体的动物源性材料的医疗器械的评价的指导方针.
-

中华人民共和国医药
行 业 标 准
组织工程医疗产品
第 9 部分:透明质酸钠
YY/T 0606.9—2007

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 26 千字
2007 年 10 月第一版 2007 年 10 月第一次印刷

*

书号:155066·2-18153 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



YY/T 0606.9—2007