

原子吸收分光光度法测定注射用重组人凝血因子Ⅷ中钙含量及不确定度评价

张婷, 丁锐, 王静, 周长明*

(北京市药品检验研究院(北京市疫苗检验中心)国家药品监督管理局仿制药研究与评价重点实验室
中药成分分析与生物评价北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要 目的: 建立注射用重组人凝血因子Ⅷ中钙含量的原子吸收分光光度检测方法, 并评定其不确定度。**方法:** 原子吸收分光光度法采用钙元素空心阴极灯光源; 空气-乙炔火焰原子化器; 检测波长 422.7 nm; 氧化铜溶液作为电离抑制剂。开展专属性、准确度、精密度、定量限、线性和范围、稳定性等考察; 同时分析测定方法的不确定度。**结果:** 钙元素质量浓度在 0.0~5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内与吸收度线性关系良好, $r=0.999\ 8$; 检测限为 0.071 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 定量限为 0.216 9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。加标试样的回收率为 100.8%~103.2%。重复性 RSD 为 0.64%, 溶液在 8 h 内稳定。6 批样品含量测定结果均符合规定。不确定度评定结果为 $(117.12\pm 4.82)\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $k=2$ 。**结论:** 建立原子吸收分光光度法测定注射用重组人凝血因子Ⅷ中钙含量的方法, 具有灵敏度高, 分析速度快, 重复性好, 准确度高, 节约分析成本等优点。同时对该方法进行了不确定度评定, 可为该品种的质量控制提供量化评价指标。

关键词: 注射用重组人凝血因子Ⅷ; 原子吸收分光光度法; 钙元素; 不确定度; 含量测定

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2025)01-110-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0426

Determination of calcium content and uncertainty evaluation in recombinant human coagulation factor Ⅷ for injection by atomic absorption spectroscopy

ZHANG Ting, DING Rui, WANG Jing, ZHOU Chang-ming*

(Beijing Institute for Drug Control (Beijing Center for Vaine Control), NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drug Beijing Key Laboratory of Analysis and Evaluation on Chinese Medicine, Beijing 102206, China)

Abstract Objective: To establish a atomic absorption spectroscopy (AAS) method for detecting calcium content in recombinant human coagulation factor Ⅷ for injection, and evaluate its uncertainty. **Methods:** A calcium hollow cathode lamp light source was used. Air acetylene flame atomizer. Detection wavelength 422.7 nm. 8.9% lanthanum oxide solution was used as an ionization inhibitor. Conduct inspections on specificity, accuracy, precision, quantification limit, linearity and range, stability, etc. in accordance with the validation guidelines for drug quality

* 通信作者 Tel:(010)52779652; E-mail: zcm.602@163.com

第一作者 Tel:(010)52779655; E-mail: ting72@163.com

standard analysis methods in Part 9101 of the 2020 edition of the Chinese Pharmacopoeia. The established method was applied to detect the content of 6 batches of samples. **Results:** There was a good linear relationship between calcium element and absorbance in the concentration range of 0.0–5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, with $r=0.999$. The detection line was 0.0716 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; The quantification limit was 0.2169 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The recovery rate of the spiked sample was 100.8% to 103.2%. The repeatability RSD was 0.64%, and the solution was stable within 8 hours. The content determination results of 6 batches of samples all complied with the regulations. The uncertainty assessment result was $(117.12 \pm 4.82) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $k=2$. **Conclusion:** AAS method is established for the detection of calcium content in recombinant human coagulation factor VIII for injection. This method has the advantages of high sensitivity, fast analysis speed, good repeatability, high accuracy, and cost savings. At the same time, the uncertainty of this method is evaluated, which can provide quantitative evaluation indicators for the quality control of this variety.

Keywords: recombinant human coagulation factor VIII; atomic absorption spectroscopy; calcium element; uncertainty; content determination

A型血友病是一种遗传性疾病,因患者血液中人凝血因子VIII不足,导致自发或者受伤后出血不止,需要终生用药。根据世界血友病联合会(WFH)公布数据,血友病发病率为0.005%~0.01%,其中血友病A占血友病总患病人数的80%~85%。中国血友病患者人数达到14万人^[1-3]。凝血因子VIII是血友病A的主要治疗药物,按来源分为血源性人凝血因子VIII(plasma-derived human coagulation factor VIII, pdF VIII)和重组人凝血因子VIII(recombinant plasma-derived human coagulation factor VIII, rF VIII),基于pdF VIII制备困难,产量较低,输入性感染等方面的考虑,rF VIII为众多权威指南推荐的首选治疗药物^[4-8],在我国已被纳入医保用药。但rF VIII质量标准还未纳入《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》),其中辅料中添加了氯化钙防止成分降解,但进口注册标准中钙含量质量控制方法为试剂盒法,具有局限性。

研究表明,钙离子可以协助F VIII一起激活X因子,将纤维蛋白原转变为纤维蛋白单体,达到凝血作用,然而,过量摄入钙可能导致血液凝固异常,增加出血的风险^[9-10]。为保障该品种的安全性,有必要对产品中的钙含量进行严格控制。本文依据2020年版《中国药典》四部通则0406“原子吸收分光光度法”第一法(标准曲线法)^[11],建立原子吸收分光光度法测定rF VIII中的钙含量,并按照通则9101“分析方法验证指导原则”进行验证,同时对6批样品中钙的含量进行考察。根据《化学分析中不确定度的评估指南》对钙含量测定进行不确定度分析,明确其不确定

度的影响因素,为该品种的质量控制提供量化评价指标。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICE3000型原子吸收分光光度计,Thermo Fisher Scientific公司;XA205DU型十分分之一电子天平,梅特勒-托利多国际贸易<上海>有限公司。

1.2 试剂

钙标准溶液(1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号23012,中国计量科学研究院);氧化镧(化学纯,批号20200305,国药集团化学试剂有限公司);盐酸(优级纯,批号20230519,国药集团化学试剂有限公司);蔗糖(99%,批号V90016, Sigma公司);聚山梨酯80(1.006 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号BCCF5441, Sigma公司);组氨酸(99.9%,批号140855-202001,中国食品药品检定研究院);甘氨酸(100.0%,批号140689-202207,中国食品药品检定研究院);氯化钠(化学纯,批号10019394,国药集团化学试剂有限公司),超纯水(自制)。

注射用rF VIII,来源于企业A,批号为27158JJ、271578R、2715G7W、2715C83、2715CVV、2715C85。

2 溶液的制备

2.1 混合溶液

取盐酸10 mL和8.9%氧化镧溶液10 mL,加超纯水至100 mL,摇匀备用。

2.2 钙工作标准液

精密量取钙标准溶液1 mL,置100 mL量瓶中,用超

纯水稀释至刻度,摇匀,即得钙质量浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液。分别精密量取上述溶液 2、4、6、8、10 mL 于 20 mL 量瓶中,用混合溶液稀释至刻度,摇匀,即得钙质量浓度分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 供试品溶液

取样品 1 支,用注射用水 2.5 mL 复溶,精密量取 1.0 mL,置于 50 mL 量瓶中,用混合溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 样品基质溶液

取甘氨酸 21.2 mg,组氨酸 4.0 mg,蔗糖 14.0 mg, $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 聚山梨酯 80 0.5 mL,氯化钠 2.0 mg,置于 50 mL 量瓶中,用超纯水 5 mL 溶解,再用混合溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

3 试验条件^[12-15]

波长: 422.7 nm;燃气流量: $1.4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$;灯电流: 100%;狭缝宽度: 0.5 nm;燃烧器高度: 11.0 mm。

4 方法学考察^[11,16]

4.1 专属性试验

分别取混合溶液、样品基质溶液适量,按“3”项下条件测定,吸收度分别为 0.000 2、0.000 5。均不干扰注射用 rF VIII 中钙的测定,说明方法专属性良好。

4.2 线性和范围

取不同浓度的钙工作标准液适量,分别按“3”项下条件测定,记录吸收度。以钙质量浓度 (X ,

$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标,以吸收度 (Y) 为纵坐标,绘制标准曲线。结果表明,钙质量浓度在 $0.0 \sim 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内与吸收度线性关系良好,回归方程为 $Y=0.012 4X+0.000 5$ $r=0.999 8$ 。

4.3 检测限及定量限

按“基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法”测定,即通过测定空白值的标准偏差 (δ),按照公式 $\text{LOD}=3.3 \delta/S$,计算检测限,其中 S 为标准曲线的斜率 ($S=0.012 4$)。

取混合溶液适量,按“3”项下仪器条件连续测定 11 次,吸收度标准偏差 $\delta=0.0002 69$ 。则 LOD 为 $0.071 6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,定量限 ($10 \delta/S$) 为 $0.216 9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。方法灵敏度良好。

4.4 准确度

取样品 (批号 27158JJ) 1 支,用注射用水 2.5 mL 复溶,精密量取 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用混合溶液稀释至刻度,摇匀,精密量取 0.5 mL 置 5 mL 量瓶中,精密加入钙工作标准液 ($5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.6、1.0 和 1.4 mL 各 3 份,用混合溶液稀释至刻度,制成高浓度 (H)、中浓度 (M)、低浓度 (L) 溶液各 3 份,按“3”项下条件测定回收率。

结果见表 1,加标试样的回收率为 100.8%~103.2%,回收率良好,符合验证要求,证明本法测定钙含量准确。

表 1 加样回收率试验结果

Tab. 1 Experimental results of sample recovery rate

浓度 (concentration)	编号 (No.)	含量 (content)/ μg	加入量 (added)/ μg	吸收度 (absorption rate)	测得量 (measured quantity)/ μg	回收率 (rate of recovery)/%	平均回收率 (average recovery rate)/%
L	1	5.86	3.00	0.022 5	8.87	100.4	100.8
	2	5.86	3.00	0.022 6	8.91	101.7	
	3	5.86	3.00	0.022 5	8.87	100.4	
M	1	5.86	5.00	0.027 8	11.01	103.0	103.2
	2	5.86	5.00	0.027 9	11.05	103.8	
	3	5.86	5.00	0.027 8	11.01	103.0	
H	1	5.86	7.00	0.032 4	12.86	100.0	101.0
	2	5.86	7.00	0.032 9	13.06	102.9	
	3	5.86	7.00	0.032 4	12.86	100.0	

4.5 精密度

4.5.1 进样精密度

取钙工作标准液 ($2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),按“3”项下条件重复测定 6 次,记录吸收度,评估仪器的精密度。吸收度结果分别为 0.028 5、0.028 6、0.028 3、0.028 4、

0.028 2、0.028 5,均值为 0.028 4, RSD 为 0.44%,提示仪器精密度良好。

4.5.2 重复性

取样品 (批号 27158JJ) 3 支,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,同一实验人员平行制备 6 份溶液,

按“3”项下条件依次测定,记录吸收度,考察本法的重复性。6次测定的钙含量分别为 117.34、115.32、116.53、116.53、115.73、115.73 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,均值为 116.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD 为 0.64%,提示方法的重复性良好。

4.5.3 中间精密度

2名实验人员取同一批样品(批号 2715C85),按“2.2”和“2.3”项下方法分别制备系列钙工作标准液和 6份供试品溶液。按“3”项下条件依次测定,记录吸收度,考察方法的中间精密度。比较 2名实验人员的测定结果:人员 1测得钙含量分别为 104.80、103.46、104.05、103.25、104.05、103.11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,均值为 103.79 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;人员 2测得钙含量分别为 101.74、99.98、103.38、101.71、101.73、103.89 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,均值为 102.52 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,钙含量测定值的 RSD ($n=12$) 为 1.3%,提示方法精密度良好。

4.6 耐用性

4.6.1 稳定性

取样品(批号 271578R)1支,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、1、4、8 h 进样测定,测得钙含量分别为 106.31、107.21、107.21、108.11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,均值为 107.21 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,RSD 为 0.62%。提示供试品溶液于室温放置 8 h 稳定。

4.6.2 仪器参数考察

取样品(批号 2715C85)1支,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,改变原子吸收光谱仪灯电流为 100%、90%、80%,吸收度分别为 0.029 1、0.029 3、0.029 9,RSD 为 1.4%,表明灯流量对测定结果影响较小,说明方法耐用性较好。

5 样品测定

分别取 6批样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“3”项下条件进行测定,结果见表 2。6批样品均符合规定(应为 88~136 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

表 2 样品测定结果

Tab. 2 Sample determination results			
样品序号 (sample number)	批号 (batch number)	吸收度 (absorption)	含量 (content) / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	27158JJ	0.028 7	117.12
2	271578R	0.026 6	107.66
3	2715C7W	0.026 4	106.76
4	2715C83	0.024 2	96.85
5	2715C7V	0.024 4	97.75
6	2715C85	0.025 5	102.70

6 不确定度评估^[17]

6.1 不确定度数学模型

为详细讨论所建立方法的不确定度,根据实验公式建立模型。本次试验使用以下公式,由此讨论该试验各分量的不确定度

$$X=C \times V \times 10^{-3}$$

其中, X 为样品中钙元素的浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), C 为由标准曲线查得待测元素的浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), V 为样品溶液稀释体积。

6.2 测量不确定度的评定

6.2.1 标准物质引起的不确定度

本试验所用钙元素溶液标准物质购自中国计量科学研究院(1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,编号 GBW(E)080118,批号 23012)。标准物质证书中查得其扩展不确定度 $u=0.5\%$,扩展因子 $k=2$ 。因此,由标准物质本身引入的相对标准不确定度为

$$u_{s,rel} = \frac{0.5\%}{2} = 0.0025$$

6.2.2 钙工作标准液引入的不确定度

钙工作标准液引起的不确定度 u_p 由 3 个部分组成:配制钙工作标准液引入的不确定度、标准曲线拟合引入的不确定度和结果的重复测定产生的不确定度。

6.2.2.1 配制钙工作标准液引入的不确定度 钙工作标准液制备过程中使用 100 mL 量瓶 1 次, 20 mL 量瓶 5 次, 1 mL 移液管 1 次, 2 mL 移液管 1 次, 5 mL 刻度吸管 1 次, 10 mL 刻度吸管 3 次。配制钙工作标准液引起的不确定度

$$u_{p,rel} = \sqrt{1 \times u_{100}^2 + 5 \times u_{20}^2 + 1 \times u_1^2 + 1 \times u_2^2 + 1 \times u_5^2 + 3 \times u_{10}^2} = 0.0162$$

6.2.2.2 标准曲线拟合引入的不确定度 由标准曲线拟合引入的标准偏差可由下式表示:

$$u_c = \frac{S_R}{B} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{p} + \frac{(C_0 - C)^2}{\sum_{j=1}^n (C_{0j} - C_0)^2}}$$

$$u_{rel,c} = \frac{uC}{C}$$

$$(S_R = \sqrt{\frac{\sum (A_{ij} - A_j)^2}{n-2}}, C_0 = \frac{\sum_{j=1}^n C_{0j}}{n}, A_j = a + bC_{0j})$$

式中, B 为斜率; S_R 为标准曲线的剩余标准差(残差的标准差); n 为标准曲线的点数, $n=5$; p 为待测样品的重复测定次数, $p=6$; C 为待测样品重复测定不确定度的平均值; C_0 为回归曲线各点浓度的平

均值; C_{0j} 为钙工作标准液各点的浓度; A_{aj} 为钙工作标准液各点的响应值; A_j 为根据回归曲线计算的理论值。结果见表 3。

表 3 标准曲线拟合引入的不确定度

Tab. 3 Uncertainty of standard curve fitting

浓度 (concentration) / (mg · mL ⁻¹)	A_{aj}	A_j
1.0	0.013 1	0.013 3
2.0	0.025 2	0.025 6
3.0	0.038 5	0.037 9
4.0	0.049 8	0.050 2
5.0	0.062 1	0.062 5
S_R	0.000 5	
C_0	3	
B	0.012 3	
C	2.323 9	
u_c	0.026 1	
$U_{C,rel}$	0.011 3	

6.2.2.3 结果重复测定产生的不确定度 对样品进行了 6 次平行测定 ($n=6$), 计算其平均值 C_0 及标准偏差 S 。按照 A 类不确定度评定, 钙元素由重复性引入的相对标准不确定度 $u_{s,rel} = \frac{S}{C_0 \times \sqrt{n}}$, 结果见表 4。

表 4 产生的相对不确定度

Tab. 4 Uncertainty of repeatability

编号 (No.)	吸收度 (absorption rate)	C
1	0.029 6	2.346 8
2	0.029 1	2.306 5
3	0.029 4	2.330 6
4	0.029 4	2.330 6
5	0.029 2	2.314 5
6	0.029 2	2.314 5
C_0	2.323 9	
S	0.014 8	
$u_{s,rel}$	0.002 6	

6.2.3 供试品溶液中的钙元素浓度合成不确定度 供试品溶液中的钙元素浓度合成标准不确定度为

$$u_{x,rel} = \sqrt{u_{p,rel}^2 + u_{C,rel}^2 + u_{s,rel}^2}$$

$$= \sqrt{0.016 2^2 + 0.011 3^2 + 0.002 6^2}$$

$$= 0.019 9$$

6.2.4 样品溶液定容引起的不确定度 $u_{t,rel}$

样品溶液稀释过程引入的不确定度主要为量瓶和移液管引入的不确定度, 主要为校准引入的不确定度的不确定度。

配制供试品溶液引起的不确定度 制备过程中使用 50 mL 量瓶 1 次, 1 mL 移液管 1 次, 5 mL 刻度吸管 1 次。供试品溶液制备过程中稀释体积引入的相对标准不确定度为

$$u_{V_s,rel} = \sqrt{1 \times u_{50}^2 + 1 \times u_1^2 + 1 \times u_5^2} = 0.0049$$

6.3 供试品中钙元素含量的合成标准不确定度

以上各不确定度分量各不相关, 详见表 5。钙元素含量的合成不确定度为

$$u_{rel} = \sqrt{u_{s,rel}^2 + u_{x,rel}^2 + u_{t,rel}^2} = 0.020 6$$

表 5 相对不确定度分量汇总

Tab. 5 Summary of relative standard uncertainty of each component

不确定度来源 (source of uncertainty)	不确定度分量 (uncertainty component)	数值 (numerical value)
标准物质引起的不确定度 (uncertainty caused by standard substances)	$u_{s,rel}$	0.002 5
配制标准溶液引入的不确定度 (uncertainty introduced by preparing standard solutions)	$u_{x,rel}$	0.019 9
样品溶液定容引起的不确定度 (uncertainty caused by constant volume of sample solution)	$u_{t,rel}$	0.004 9

标准不确定度为 $u_c = u_{rel} \times C$; 其中 C 为供试品钙元素含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

$$u_c = 0.020 6 \times 117.12 = 2.41$$

取包含因子 $k=2$, 此时对应的置信概率为 95%, 扩展不确定度

$$U = k \times u_c = 4.82$$

6.4 结果

采用原子吸收分光光度法测定注射用 rF VIII 中钙元素含量, 钙元素 (批号 27158JJ) 含量测定结果为 $(117.12 \pm 4.82) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 置信概率为 95%, $k=2$ 。

7 结果与讨论

rF VIII 是 A 型血友病首选药物, 用于治疗导致自发或者受伤后出血不止。而钙离子过量摄入可能导致血液凝固异常, 增加出血的风险, 因此必须对产品中的钙含量进行严格控制。本文建立了原子吸收分光光度法测定注射用 rF VIII 中钙含量的方法, 较试剂盒法, 本方法具有专属性强, 灵敏度高, 操作简单, 节约检测成本等特点。除此还具备 3 个方面特有的优势: ①可以用于多批次样本的快速筛查。通过与钙

工作标准液系列曲线中理论值比较,可快速判定样品中钙含量大概情况。②测定结果的计算过程简单,较试剂盒法,不易受人为因素影响,以标准曲线法计算钙含量,便于方法的掌握和推广。③该方法以原子在基态时对特定波长光的选择性吸收为基础,通过测定吸收度来反映待测元素的含量,较试剂盒法受基体干扰少,可以准确检测微量钙。且原子吸收分光光度法的操作条件相对固定,运行、试剂成本低,可以提供良好的可重复性。而传统的试剂盒法显色液易结晶,制备中产生泡沫均对检测结果影响较大,且检测缓冲液和显色液对人体有害。另 rF VIII 钙含量测定浓度较低,为保证数据的准确性,故对该方法的不确定度进行分析。发现不确定度主要来源于标准物质溶液的制备,标准物质溶液和供试品溶液的制备对不确定度的影响较小。在日常工作中要尽量减少因定容带来的误差影响,应定期对玻璃仪器进行校准,并严格控制实验室环境条件,有助于提高检验的准确性。

参考文献

- [1] 黄晓军. 血友病 A 诊疗指南(2022 年版)[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(7): 579
HUANG XJ. Diagnosis and treatment guidelines for hemophilia A (2022 Edition)[J]. *Clin Educ Gen Pract*, 2022, 20(7): 579
- [2] 薛峰,戴菁,陈丽霞,等. 中国血友病诊治报告 2023[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(2): 89
XUE F, DAI J, CHEN LX, *et al.* Report on diagnosis and treatment of hemophilia in China 2023[J]. *J Diagn Concept Pract*, 2023, 22(2): 89
- [3] 杨仁池. 中国血友病防治体系建设现状与展望[J]. 罕见病研究, 2022, 1(4): 365
YANG RC. Establishment of care system for hemophilia in China: current status and future prospect[J]. *J Rare Dis*, 2022, 1(4): 365
- [4] 孙竞,郑萍,陈娟. 广东省重组人凝血因子 VIII 药物评价与遴选专家共识[J]. 中国医院用药评价与分析, 2024, 24(4): 385
SUN J, ZHENG P, CHEN J. Expert consensus on evaluation and selection of recombinant human coagulation factor VIII drugs in Guangdong[J]. *Eval Anal Drug Use Hosp China*, 2024, 24(4): 385
- [5] 潘锋. 我国初步建立现代血友病防治体系[J]. 中国当代医药, 2022, 29(11): 1
PAN F. Preliminary establishment of modern hemophilia prevention and control system in China[J]. *China Mod Med*, 2022, 29(11): 1
- [6] XUE F, ZHAO X, SUN J, *et al.* Pharmacokinetic, efficacy and safety evaluation of B-domain-deleted recombinant F VIII (SCT800) for prophylactic treatment in adolescent and adult patients with severe haemophilia A[J]. *Haemophilia*, 2021, 27(5): 814
- [7] SRIVASTAVA A, SANTAGOSTINO E, DOUGALL A, *et al.* WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition[J]. *Haemophilia*, 2021, 27(5): 1
- [8] 伍立恒,李德款,连通,等. 血浆相关因子对重组 F VIII 稳定循环及降解途径的影响[J]. 药物生物技术, 2023, 30(3): 234
WU LH, LI DK, LIAN T, *et al.* Effects of plasma related factors on stable circulation and degradation pathways of recombinant F VIII[J]. *Pharm Biotechnol*, 2023, 30(3): 234
- [9] 王一茗,温剑平. 机械信号转导在血小板粘附等过程中的研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2024, 28(5): 622
WANG YM, WEN JP. Research progress on mechanical signal transduction in platelet adhesion and other processes[J]. *Chin J Lab Diagn*, 2024, 28(5): 622
- [10] 李思萌,李碧娟,张志敏. 大量输血后血钙的变化及输血后低钙血症的影响因素[J]. 临床输血与检验, 2018, 20(4): 358
LI SM, LI BJ, ZHANG ZM. The changes of serum calcium concentration and the influencing factors of hypocalcemia after massive transfusion[J]. *J Clin Transfus Lab Med*, 2018, 20(4): 358
- [11] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020
ChP 2020. Vol IV[S]. 2020
- [12] 王英南,卢智华,李艳红,等. 火焰原子吸收光谱法检测牛奶中钙方法的研究[J]. 中国乳业, 2024(4): 61
WANG YN, LU ZH, LI YH, *et al.* Research on the method of detecting milk calcium by flame atomic absorption spectrometry[J]. *China Dairy*, 2024(4): 61
- [13] 陈欢,黄钰馨,臧妮妮,等. 胶体果胶铋胶囊含量测定方法的建立与比较[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(4): 589
CHEN H, HUANG YX, ZANG YN, *et al.* Establishment and comparison of content determination methods for colloidal bismuth pectin capsules[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(4): 589
- [14] 刘方,滕晓晓,冯琳,等. 原子吸收光谱法测定全氟醚橡胶中钾、钠、钙、镁含量[J]. 特种橡胶制品, 2023, 44(4): 64
LIU F, TENG XX, FENG L, *et al.* Determination of potassium, sodium, calcium, and magnesium content in perfluoroether rubber by atomic absorption spectroscopy[J]. *Spec Purp Rubb Prod*, 2023, 44(4): 64
- [15] 牛江露,元雪芳. 离子色谱法测定煤层水中钠、钾、镁、钙离子的方法研究[J]. 能源与节能, 2022(10): 33
NIU JL, YUAN XF. Methods for determination of sodium, potassium, magnesium and calcium ions in coal seam water by ion chromatography[J]. *Energy Energy Conservat*, 2022(10): 33
- [16] 李佳蕊,韩彬,王强,等. 原子吸收光谱法测定注射用哌拉西林钠中钠含量[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(4): 399
LI JR, HAN B, WANG Q, *et al.* Determination of sodium content in piperacillin sodium for injection by atomic absorption spectroscopy[J]. *Chin J Antibiot*, 2024, 49(4): 399
- [17] 李潇,周长明,丁锐,等. 复方营养混悬剂中铁元素的测定及其不确定度评定[J]. 中国药业, 2022, 31(4): 75
LI X, ZHOU CM, DING R, *et al.* Determination of iron element in compound nutrition suspension and the uncertainty evaluation for the method[J]. *China Pharm*, 2022, 31(4): 75

(本文于 2024 年 6 月 27 日收到)