

- [5] ZHANG H H, WANG S, ZHANG D S, et al. Determination of five components in Siji Sanhuang tablets by RP- HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2012, 34(10): 1915-1918.
- [6] 卢智玲. 四季三黄片的质量标准研究[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(2): 163-164.
- [7] FENG Y, ZHANG D Q, ZHOU N, et al. Five anthraquinone derivatives in Siji Sanghuang tablets determined by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(7): 96-99.
- [8] ZHU J J, WANG Z M, ZHANG Q W, et al. A quantitative method for simultaneous assay of four flavones with one marker in Radix Scutellariae [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(24): 3229-3234.
- [9] PENG W, LIU Z X. Simultaneous determination of content of baicalin and berberine hydrochloride in Sijisanhuang Tablets [J]. China Pharm(中国药业), 2011, 20(17): 35-36.
- [10] YIN M, MENG Y L, WEN L L. Quantitative analysis of multi-components with single marker for determination of alkaloids in Phellodendri Amurensis Cortex [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2011, 42(6): 1093-1096.
- [11] CHAI J, WANG J P, LV L F. Simultaneous determination of ferulic acid, rutin, rhein, emodin and chrysophanol in Huangshiganmao tablets by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(8): 986-990.
- [12] SHU J F. Determination of scopoletin, baicalin, baicalein and farrerol in Qinbaohong Zhike capsule by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1114-1117.

收稿日期: 2015-07-14

## 细辛脑注射剂细菌内毒素检查法研究

罗洁, 张德波, 邓莎, 郑娇娇, 郑萍(成都市食品药品检验研究院, 成都 610045)

**摘要:** 目的 建立细辛脑注射剂的细菌内毒素检查法。方法 按中国药典 2010 年版二部附录 XIE 细菌内毒素检查法进行实验和结果判断。对不同厂家生产的供试品进行干扰试验和细菌内毒素检查。结果 浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  细辛脑注射剂溶液对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应有干扰作用, 经稀释后可排除干扰。结论 本品最大不干扰浓度为  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 可采用细菌内毒素检查法进行质量控制。

**关键词:** 细辛脑注射剂; 细菌内毒素; 鲎试剂; 干扰试验

中图分类号: R927.12

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)02-0203-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.018

### Study on Bacterial Endotoxin Test for Asarone Injection

LUO Jie, ZHANG Debo, DENG Sha, ZHENG Jiaojiao, ZHENG Ping(Chengdu Institutes for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a bacterial endotoxin test(BET) for asarone injection. **METHODS** According to Ch.P 2010 Vol II Appendix XIE, the interference test and bacterial endotoxin test of different manufacture factory of samples were carried out. **RESULTS** There was interference in the agglutinate reaction between the sample and relative TAL with the concentration of  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  asarone injection solution, and the interference was eliminated after diluted. **CONCLUSION** The nointerference concentration of asarone injection is  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ . The bacterial endotoxin test can be used for the quality control of asarone injection.

**KEY WORDS:** asarone injection; bacterial endotoxin; TAL; interference test

目前, 国内上市的细辛脑注射剂包括细辛脑注射液和注射用细辛脑, 临床上主要用于肺炎、支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病伴咳嗽、咯痰、喘息等。细辛脑主要存在于天南星科植物石菖蒲(*Acorus tatarinowii* Schott)等植物的挥发油中, 有很强的药理活性, 化学名称为 2,4,5-三甲氨基-1-丙烯基苯。国内有多家企业生产细辛脑注射剂,

生产工艺不尽相同, 添加的辅料均较多。细辛脑注射剂质量标准繁多, 在可能引起人体发热反应的安全性检查方面, 有的标准收载了兔法热原检查, 有的收载了鲎法细菌内毒素检查, 有的两者均未收载, 显得较为混乱<sup>[1-2]</sup>。本研究全面考虑细辛脑注射剂的特点及临床用药的安全性, 为建立统一严格的细菌内毒素检查标准提供参考。

作者简介: 罗洁, 女, 副主任药师

Tel: (028)85366371

E-mail: 527315769@qq.com

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

TAL-40D 型试管恒温仪(湛江安度斯生物有限公司); WH-3 微型旋蜗混合仪(上海沪西分析仪器厂)。

### 1.2 试剂

鲎试剂(TAL, 湛江安度斯生物有限公司, 批号: 1307231, 1308041, 灵敏度:  $0.25 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 批号: 1405141, 灵敏度:  $0.125 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 福州新北生化工业有限公司, 批号: 13051312, 1404612, 灵敏度:  $0.25 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 批号: 13080312, 灵敏度:  $0.125 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); 细菌内毒素工作标准品(WSD, 中国食品药品检定研究院, 批号: 150601-201377, 规格: 每支 70 EU); 细菌内毒素检查用水(BET 水, 湛江安度斯生物有限公司, 批号: 1308300, 规格: 每瓶 100 L)。

### 1.3 药品

15 批细辛脑注射液, 供试品信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 供试品细菌内毒素限值确定

细辛脑注射液成人临床每次最大用量为  $0.4 \text{ g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{h})^{-1}$ ; 儿童临床每次最大用量为  $0.5 \text{ g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{h})^{-1}$ , 故本品临床一次最大用量为儿童用量。根据中国药典 2010 年版二部附录 XI E “细菌内毒素检查法” 规定, 计算本品内毒素限值  $L^{[3]\text{附录 99-102}}: L=K/M=5 \text{ EU}\cdot(\text{kg}\cdot\text{h})^{-1}/0.5 \text{ mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{h})^{-1}=10.0 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。考虑本品在临床应用时需要使用葡

表 2 鲎试剂灵敏度复核结果

Tab. 2 Results of the tachypleus amebocyte lysate sensibility review

鲎试剂批号	细菌内毒素浓度/ $\text{EU}\cdot\text{mL}^{-1}$					阴性对照	$\lambda/\text{EU}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\lambda c/\text{EU}\cdot\text{mL}^{-1}$
	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03			
1307231	++++	++++	----	----		--	0.25	0.25
1308041	++++	++++	----	----		--	0.25	0.25
1405141		++++	++++	----	----	--	0.125	0.125
13051312	++++	++++	----	----		--	0.25	0.25
1404612	++++	++++	----	----		--	0.25	0.25
13080312		++++	++++	----	----	--	0.125	0.125

### 2.3 干扰预试验

将不同企业生产的 15 个批次细辛脑注射液, 用细菌内毒素检查用水稀释成 0.40, 0.20, 0.10, 0.05, 0.025, 0.012 5, 0.006 25  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的系列浓度作为供试品溶液, 同时每一浓度均制备含有  $2\lambda$  细菌内毒素的系列供试品阳性对照, 将上述稀释溶液分别用湛江安度斯生物有限公司和福州

表 1 细辛脑注射液信息表

Tab. 1 Asarone injection information

名称	生产厂家	批号	规格
注射用 细辛脑	A	1403063	16 mg
	B	1308271	16 mg
	C	20140304	16 mg
	D	1312231	8 mg
	E	131108A1	8 mg
	F	12140306	8 mg
细辛脑 注射液	A	1402053	2 mL: 8 mg
	B	1312175	2 mL: 8 mg
	G	140507	2 mL: 8 mg
	H	131015	2 mL: 8 mg
	I	130902	2 mL: 8 mg
	J	1311090	2 mL: 8 mg
	K	131002	2 mL: 8 mg
	L	140319	2 mL: 8 mg
	M	140401	2 mL: 8 mg

萄糖注射液稀释后滴注, 葡萄糖注射液及注射或滴注时所使用的一次性注射器和一次性输液器中均含有一定的内毒素, 同时参考中国药典 2010 年版二部附录 XI X M “化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则” 细菌内毒素检查项下对限值设定的建议<sup>[3]\text{附录 212-215}</sup>, 为了确保临床用药安全, 将本品限值定为  $L=5.0 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。

### 2.2 鲎试剂灵敏度复核

按照中国药典 2010 年版二部附录细菌内毒素检查法的要求复核所用鲎试剂灵敏度<sup>[4]</sup>, 结果均符合规定, 见表 2。

新北生化工业有限公司的鲎试剂(灵敏度分别为  $0.25 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  和  $0.125 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ )依法进行干扰预试验, 同时设阳性对照和阴性对照。结果阳性对照管呈阳性, 阴性对照管呈阴性, 试验成立, 细辛脑注射剂的各浓度供试品溶液均呈阴性。各浓度供试品阳性对照管结果见表 3。

表 3 不同浓度的细辛脑注射剂干扰预试验结果

Tab. 3 Asarone injection pre interference test results of different concentration

名称	生产厂家	批号	鲎试剂 (0.25 EU·mL <sup>-1</sup> )	供试品各浓度阳性对照管结果							
				0.40 mg·mL <sup>-1</sup>	0.20 mg·mL <sup>-1</sup>	0.10 mg·mL <sup>-1</sup>	0.05 mg·mL <sup>-1</sup>	0.025 mg·mL <sup>-1</sup>	0.012 5 mg·mL <sup>-1</sup>	0.006 25 mg·mL <sup>-1</sup>	
注射用细辛脑	A	1403063	1307231	++	++	++	++	++	++	++	++
			13051312	--	++	++	++	++	++	++	++
	B	1308271	1307231	++	++	++	++	++	++	++	++
			13051312	++	++	++	++	++	++	++	++
	C	20140304	1307231	++	++	++	++	++	++	++	++
			13051312	--	--	++	++	++	++	++	++
	D	1312231	1307231	++	++	++	++	++	++	++	++
			13051312	++	++	++	++	++	++	++	++
	E	131108A1	1307231	--	--	--	++	++	++	++	++
			13051312	++	++	++	++	++	++	++	++
细辛脑注射液	A	1402053	1307231	--	--	++	++	++	++	++	++
			13051312	--	--	++	++	++	++	++	++
	B	1312175	1307231	++	++	++	++	++	++	++	++
			13051312	++	++	++	++	++	++	++	++

  

名称	生产厂家	批号	鲎试剂 (0.125 EU·mL <sup>-1</sup> )	供试品各浓度阳性对照管结果							
				0.40 mg·mL <sup>-1</sup>	0.20 mg·mL <sup>-1</sup>	0.10 mg·mL <sup>-1</sup>	0.05 mg·mL <sup>-1</sup>	0.025 mg·mL <sup>-1</sup>	0.012 5 mg·mL <sup>-1</sup>	0.006 25 mg·mL <sup>-1</sup>	
注射用细辛脑	F	12140306	1405141	++	++	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	--	++	++	++	++	++	++
细辛脑注射液	G	140507	1405141	--	++	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	--	++	++	++	++	++	++
	H	131015	1405141	--	--	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	--	++	++	++	++	++	++
	I	130902	1405141	--	++	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	--	++	++	++	++	++	++
	J	1311090	1405141	++	++	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	--	++	++	++	++	++	++
	K	131002	1405141	++	++	++	++	++	++	++	++
			13080312	--	++	++	++	++	++	++	++
L	140319	1405141	--	--	++	++	++	++	++	++	
		13080312	--	--	++	++	++	++	++	++	
M	140401	1405141	--	--	++	++	++	++	++	++	
		13080312	--	--	++	++	++	++	++	++	

由表 3 预试验结果可初步判定, 细辛脑注射剂浓度稀释至 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 时, 除 E 企业的产品对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应存在干扰作用, 其他厂家生产的产品可能均无干扰作用。

2.4 干扰试验

根据预试验结果, 将 15 批次的细辛脑注射剂

用细菌内毒素检查用水稀释成 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 和 0.05 mg·mL<sup>-1</sup> 的供试品溶液, 用细菌内毒素检查用水和供试液分别将细菌内毒素标准品稀释成 2λ, 1λ, 0.5λ, 0.25λ 的系列浓度, 同时分别以细菌内毒素检查用水和供试液作为阴性对照进行试验, 结果见表 4~5。

表 4 干扰试验结果[供试液浓度为 0.1 mg·mL<sup>-1</sup>]

Tab. 4 Results of the interference test[Sample concentration is 0.1 mg·mL<sup>-1</sup>]

名称	生产厂家	批号	鲎试剂 (0.25 EU·mL <sup>-1</sup> )	细菌内毒素工作标准品浓度/EU·mL <sup>-1</sup>				计算结果/ EU·mL <sup>-1</sup>
				0.50	0.25	0.125	0.0625	
细菌内毒素检查用水	湛江安度斯生物有限公司	1308300	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
注射用细辛脑	A	1403063	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	B	1308271	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	C	20140304	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	D	1312231	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	E	131108A1	1308041	++++	+-	-----	-----	0.35
			14040612	+-	-----	-----	-----	>0.5
F	12140306	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5	
		14040612	++++	-----	-----	-----	0.5	

表 4(续)

名称	生产厂家	批号	鲎试剂 (0.25 EU·mL <sup>-1</sup> )	细菌内毒素工作标准品浓度/EU·mL <sup>-1</sup>				计算结果/ EU·mL <sup>-1</sup>
				0.50	0.25	0.125	0.0625	
细辛脑 注射液	A	1402053	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	B	1312175	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	G	140507	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	-----	-----	-----	-----	>0.5
	H	131015	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	I	130902	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	J	1311090	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	-----	-----	-----	-----	>0.5
	K	131002	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5
			14040612	++++	-----	-----	-----	0.5
	L	140319	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
14040612			++++	-----	-----	-----	0.5	
M	140401	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5	
		14040612	++++	-----	-----	-----	0.5	

表 4 结果表明,当供试液的浓度为 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 时, E 企业生产的注射用细辛脑、G 企业和 J 企业

生产的细辛脑注射液对鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应均有抑制作用。

表 5 干扰试验结果(供试液浓度为 0.05 mg·mL<sup>-1</sup>)Tab. 5 Results of the interference test(Sample concentration is 0.05 mg·mL<sup>-1</sup>)

名称	生产厂家	批号	鲎试剂 (0.25 EU·mL <sup>-1</sup> )	细菌内毒素工作标准品浓度/EU·mL <sup>-1</sup>				计算结果/ EU·mL <sup>-1</sup>
				0.50	0.25	0.125	0.0625	
细菌内毒素 检查用水	湛江安度斯生物 有限公司	1308300	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
注射用 细辛脑	A	1403063	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	B	1308271	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	C	20140304	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.30
	D	1312231	1308041	++++	++++	-----	-----	0.5
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.5
	E	131108A1	1308041	++++	+++ -	-----	-----	0.35
			14040612	++++	+++ +	-----	-----	0.42
	F	12140306	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	A	1402053	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
			14040612	++++	++++	-----	-----	0.25
	B	1312175	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25
14040612			++++	++++	-----	-----	0.25	
G	140507	1308041	++++	+- - -	-----	-----	0.42	
		14040612	++++	-----	-----	-----	0.5	
H	131015	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25	
		14040612	++++	+++ -	-----	-----	0.35	
I	130902	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25	
		14040612	++++	++++	-----	-----	0.25	
J	1311090	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25	
		14040612	++++	+ - - -	-----	-----	0.42	
K	131002	1308041	++++	-----	-----	-----	0.5	
		14040612	++++	+ - - +	-----	-----	0.30	
L	140319	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25	
		14040612	++++	++++	-----	-----	0.25	
M	140401	1308041	++++	++++	-----	-----	0.25	
		14040612	++++	++++	-----	-----	0.25	

表 5 结果表明,当 15 批次供试品经稀释至 0.05 mg·mL<sup>-1</sup> 时即可排除干扰作用,鲎试剂标示灵敏度的对照系列溶液反应终点浓度的几何平均值(Es)在 0.5λ~2λ 之间,且干扰试验系列溶液反应终

点浓度的几何平均值(Et)在 0.5~2Es 内。

根据以上干扰试验考查,可以确定各企业生产的细辛脑注射剂,对鲎试剂与内毒素反应的最大无干扰浓度为 0.05 mg·mL<sup>-1</sup>,可以建立统一的

细菌内毒素检查法。

### 2.5 细菌内毒素检查标准草案

取本品,用细菌内毒素检查用水制成每 1 mL 中含细辛脑 $\leq 0.05$  mg 的溶液,依法检查(中国药典 2010 年版二部附录 XI E),每 1 mg 细辛脑中内含内毒素的量应 $< 5.0$  EU。

### 2.6 样品细菌内毒素常规检查

将不同生产厂家 15 个批次的细辛脑注射剂按照标准草案,用细菌内毒素检查用水稀释成  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的浓度,取标示灵敏度为  $0.25 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  的鲎试剂依法进行常规检验,结果均符合规定,

结果见表 6。

## 3 讨论

细辛脑注射剂现行的质量标准涉及不同的批准文号,标准不统一。就热原质检查而言,有采用热原检查法,也有采用细菌内毒素检查法。相同检查法,限值规定差别也较大,有些标准太宽松未达到控制该项质量的目的;有些标准又太严格造成由于主药或赋形剂浓度太高从而影响实验,可能形成假阴性或假阳性结果。细辛脑注射剂热原或细菌内毒素检查标准执行情况见表 7。

表 6 细菌内毒素检查结果

Tab. 6 Results of the bacterial endotoxins test

名称	生产厂家	批号	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	供试品阴性对照	供试品阳性对照	阴性对照	阳性对照
注射用细辛脑	A	1403063	0.05	--	++	--	++
	B	1308271	0.05	--	++	--	++
	C	20140304	0.05	--	++	--	+
	D	1312231	0.05	--	++	--	++
	E	131108A1	0.05	--	++	--	++
	F	12140306	0.05	--	++	--	++
细辛脑注射液	A	1402053	0.05	--	++	--	++
	B	1312175	0.05	--	++	--	++
	G	140507	0.05	--	++	--	++
	H	131015	0.05	--	++	--	++
	I	130902	0.05	--	++	--	++
	J	1311090	0.05	--	++	--	++
	K	131002	0.05	--	++	--	++
	L	140319	0.05	--	++	--	++
	M	140401	0.05	--	++	--	++

表 7 细辛脑注射剂热原检查标准执行情况

Tab. 7 The implementation of asarone injection pyrogen test standard

名称	生产厂家	标准中方法	标准中限值设定	备注
注射用细辛脑	F	热原	$6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	配制浓度为 $3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 家兔注射 $2 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。安全系数 12 倍。太严格
	C	热原	$4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	配制浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 家兔注射 $4 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。安全系数 8 倍。较严格
	E	热原	$2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	配制浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 家兔注射 $2 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。安全系数 4 倍。略高于要求
细辛脑注射液	I	热原	$1.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	配制浓度为 $0.15 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 家兔注射 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。安全系数 3 倍。刚达到要求
注射用细辛脑	A	细菌内毒素	$L=5.0 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$	比较合适
	B	细菌内毒素	$L=6.0 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$	略偏宽松
细辛脑注射液	B	细菌内毒素	$L=6.0 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$	略偏宽松
	L	细菌内毒素	$L=5.0 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$	相当于 $L=1.25 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。太严格
	J	细菌内毒素	$L=0.5 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$	相当于 $L=0.125 \text{ EU}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。过于严格

根据中国药典 2010 年版二部附录 XI X “M<sup>4</sup> 化学药品注射剂安全性检查法应用指导原则”的要求,静脉用注射剂,均应设细菌内毒素(或热原)检查项。本品为静脉用注射剂,但仍有部分生产厂家的药品质量标准中,根本未设该项检查来进行质量控制。

研究表明,细辛脑注射剂毒性较强且有一定的降压作用。给家兔注射后,可能会因为毒性反

应或降压作用而使动物体温降低,不能准确测定其热原质引起的体温变化。细菌内毒素检查法作为替代热原检查法的一种检测方法,具有试验条件要求低,检测周期短,重现性好,结果准确等优点,因此本品建立细菌内毒素检查法比较可行。

本研究通过对不同生产厂家的供试品进行了细菌内毒素检查干扰试验,可以确定细辛脑注射剂对鲎试剂无干扰的最大浓度为  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,

使用标示灵敏度为  $0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  或灵敏度最高的  
鲎试剂可对细辛脑注射剂进行细菌内毒素检查，  
为建立统一且严格安全的细菌内毒素检查标准提  
供了参考。

## REFERENCES

[1] SUN C Y, ZHAO Y P, GUO J H. Quality evaluation and study

on current standards of safinamide injection [J]. Drug Standard  
China(中国药品标准), 2012, 13(3): 181-184.

[2] 曹霞斐, 鲎试剂法检测细辛脑注射液的细菌内毒素[J]. 中  
国医药指南, 2010, 24(8): 48-50.

[3] 中国药典. 二部[S]. 2010: 附录 99-102, 附录 212-215.

[4] 中国药品生物制品检定所. 中国药品检验标准操作规范  
(2010 年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:  
310-325.

收稿日期: 2015-06-17

## 不同 HPLC 检查瑞格列奈片有关物质的对比研究

黄朝辉<sup>1</sup>, 蔡丹丹<sup>2</sup>, 周征<sup>1</sup>(1.宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315048; 2.宁波戒毒研究中心, 浙江 宁波 315010)

**摘要:** 目的 寻找合适的 HPLC 检查中国药典 2010 年版(Ch.P 2010)二部收载的瑞格列奈片的有关物质。方法 分别试验了 Ch.P 2010、美国药典 37 版(USP 37)和欧洲药典 2014 版(EP 2014)所载瑞格列奈原料药及片剂有关物质检查的 4 种 HPLC, 考察了这 4 种方法的流动相稳定性、色谱柱耐用性和有关物质检出灵敏度。结果 Ch.P 2010 所载方法的流动相 B 析出大量结晶。EP 2014 方法的色谱柱耐用性较差, 在试验的 3 种色谱柱中, 只有 1 种色谱柱能达到分离度要求。USP 37 所载的瑞格列奈片剂方法分析耗时较长, 使主要杂质峰型变宽, 检出灵敏度降低。只有 USP 37 所载的瑞格列奈原料药有关物质检查方法同时具备流动相稳定、对主要杂质有很好的检出灵敏度和优秀的色谱柱耐用性等优点。结论 Ch.P 2010 所载瑞格列奈有关物质检查方法应作修改。USP 37 所载瑞格列奈原料药有关物质检查方法可以大幅提高检测效率, 是最适合 Ch.P 2010 收载的瑞格列奈片有关物质检查的方法。

**关键词:** 瑞格列奈; 有关物质; 系统适用性; 高效液相色谱

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)02-0208-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.019

## Investigation on Different HPLC to Determine the Related Substances of Repaglinide Tablets

HUANG Zhaohui<sup>1</sup>, CAI Dandan<sup>2</sup>, ZHOU Zheng<sup>1</sup>(1.Ningbo Institute for Drug Control, Ningbo 315048, China; 2.Ningbo Drug Research Center, Ningbo 315010, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To find a suitable HPLC method to determine the related substances of repaglinide tablets recorded in Ch.P 2010. **METHODS** The performances of 4 kinds of HPLC which recorded in Ch.P 2010, USP 37 and EP 2014 were tested. The stability of mobile phase, ruggedness of the chromatographic column and detection sensitivity were comprehensively surveyed. **RESULTS** A large amount of crystals were precipitated in the mobile phase B of Ch.P 2010. Only one out of three chromatographic columns met the resolution requirement using EP 2014 method, which indicating the ruggedness of chromatographic column was poor in this method. In the method of USP 37 for repaglinide tablets, the retention time of the main impurity was too long and its peak became wider so that the detection sensitivity was reduced. The method of USP 37 for repaglinide had the advantages of mobile phase stability, excellent detection sensitivity and ruggedness of chromatographic column. **CONCLUSION** The method of Ch.P 2010 should be modified. The method of USP 37 for repaglinide is best fit the determination of the related substances is no more essential.

**KEY WORDS:** repaglinide; related substance; system suitability; HPLC

瑞格列奈由丹麦诺和诺德公司研制开发, 于 1997 年通过美国 FDA 批准, 1998 年正式上市, 属非磺酰脲类结构的口服促胰岛素分泌剂, 是治疗 II 型糖尿病的新型口服降糖药, 通过刺激胰岛  $\beta$  细胞分

泌胰岛素, 起效快, 作用时间短, 不良反应相对较小<sup>[1-4]</sup>。瑞格列奈片收载于中国药典 2010 年版(Ch.P 2010)二部<sup>[5]</sup>, 实验中发现其有关物质检查的高效液相色谱条件存在严重缺陷。为寻找更合适的方法对

作者简介: 黄朝辉, 男, 博士, 副主任药师 Tel: (0574)87834153

E-mail: huang-zhao@163.com