

中图分类号: R927.2; R973⁺.2
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.13.019

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)13-0086-05



高效分子排阻色谱法测定涉药品不良反应注射用曲克芦丁中多糖和蛋白类大分子物质

张 琪, 于德志, 高 倩, 李会轻, 杨 钊

(山东省青岛市食品药品检验研究院·国家药品监督管理局海洋中药质量研究与评价重点实验室, 山东 青岛 266071)

摘要:目的 采用高效分子排阻色谱(HPSEC)法测定涉药品不良反应(ADR)注射用曲克芦丁中多糖和蛋白类大分子物质的含量。方法 检测器为示差折光检测器, 色谱柱为 TSKgel G4000PWXL 凝胶柱(300 mm×7.8 mm, 10 μm), 流动相为纯化水, 流速为 0.5 mL/min, 柱温为 35℃, 以不同相对分子质量右旋糖酐标准品为对照, 对注射用曲克芦丁中多糖类大分子物质进行筛查; 检测器为紫外检测器, 色谱柱为 TSKgel G2000SWXL 凝胶柱(300 mm×7.8 mm, 10 μm), 流动相为乙腈-水-三氟乙酸(45:55:0.05, V/V/V), 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 214 nm, 以生长抑素、胸腺肽 α₁、人胰岛素、核糖核酸酶 A 为对照, 对注射用曲克芦丁中蛋白类大分子物质进行筛查。结果 涉 ADR 批次及正常批次注射用曲克芦丁中多糖类大分子物质的数据无明显差异; 涉 ADR 批次中蛋白类大分子物质的含量高达正常批次的 3 倍, 且制剂对应厂家的曲克芦丁原料药中蛋白类大分子物质的含量远高于同测第三方厂家曲克芦丁原料药的 20 倍。结论 该研究中注射用曲克芦丁发生 ADR 的原因为产品中蛋白类大分子物质的含量偏高。

关键词: 高效分子排阻色谱法; 注射用曲克芦丁; 药品不良反应; 大分子物质

Determination of Polysaccharide and Protein Macromolecular Substances in Troxerutin for Injection Related to Adverse Drug Reactions by HPSEC

ZHANG Qi, YU Dezhi, GAO Qian, LI Huiqing, YANG Zhao

(Qingdao Institute of Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Traditional Marine Chinese Medicine, Qingdao, Shandong, China 266071)

Abstract: Objective To determine the content of polysaccharides and protein macromolecules in the batches of Troxerutin for Injection related to adverse drug reactions (ADR) by the high-performance size exclusion chromatography (HPSEC) method.

Methods Differential refractive index detector (RID) was adopted, the chromatographic column was TSKgel G4000PWXL gel column (300 mm×7.8 mm, 10 μm), the mobile phase was purified water, the flow rate was 0.5 mL/min, the column temperature was 35℃,

第一作者: 张琪, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药品质量评价与标准, (电子信箱) zqllovelife@126.com。

3.4 方法评价

所建立的方法操作简便、结果准确、重复性及专属性均良好, 能更全面地控制追风透骨丸的质量。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1359-1360.
- [2] 王也丹, 张 润, 陈千良. 干燥方法对秦艽药材抗氧化活性和抑菌能力的影响[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 865-867.
- [3] 彭红英, 江 涛, 陈雪华, 等. 追风透骨胶囊提取工艺优选及药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(4): 885-887.
- [4] 肖 微, 周 俊, 章文春. 追风透骨丸治疗痹证的临床疗效和安全性系统评价[J]. 江西中医药大学学报, 2016, 28(1): 42-46.
- [5] 梁国成, 段文贵, 陈舒茵, 等. 秦艽治疗类风湿关节炎的机制及临床应用研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2020, 9(7): 71-73.
- [6] 罗书萍, 张玉琴. 秦艽对脑缺血的保护作用及机制研究进展[J]. 药学研究, 2022, 41(3): 180-182.
- [7] 高慧琴, 吴国泰, 孙少伯, 等. 秦艽不同配伍对风湿痹证模型大鼠血清炎症因子水平的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(9): 785-788.

- [8] 李会方, 何泽庆, 王永权. 秦艽软膏消炎止痛作用研究[J]. 吉林农业, 2019(5): 60-61.
- [9] 刘 欢. 秦艽活性成分经皮给药制剂的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2021.
- [10] 杨飞霞, 王 玉, 夏鹏飞, 等. 秦艽化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2718-2731.
- [11] 张丽娟, 蓝献泉, 郑锦坤, 等. 反相高效液相色谱法同时测定鼻咽清颗粒中龙胆苦苷、迷迭香酸和蒙花苷含量[J]. 中国药业, 2021, 30(21): 62-65.
- [12] 李生浩, 李俊义, 武昆利, 等. 龙胆苦苷的药理作用及分子机制研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(1): 158-162.
- [13] 李国白, 崔 蒙, 杨 阳, 等. 方剂剂量与君臣佐使关系初探[J]. 中草药, 2015, 46(13): 2011-2014.
- [14] 李俊霞, 刘 松, 游秋霞. 高效液相色谱-一测多评法同时测定金佛止痛丸中8种成分含量[J]. 中国药业, 2022, 31(15): 71-75.
- [15] 杨 毅, 田 侃, 倪新兴, 等. 中药材品质影响因素实证研究[J]. 中药材, 2016, 39(6): 1251-1256.

(收稿日期: 2022-09-26; 修回日期: 2022-12-05)

and the polysaccharide macromolecules in Troxerutin for Injection were screened with the series of dextran standards with different molecular weight as the control. Ultraviolet (UV) detector was adopted, the chromatographic column was TSKgel G2000SWXL gel column (300 mm × 7.8 mm, 10 μm), the mobile phase was acetonitrile – water – trifluoroacetic acid (45:55:0.05, V/V/V), the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelength was 214 nm, and the protein macromolecules in Troxerutin for Injection were screened with the somatostatin, thymosin α₁, human insulin and ribonuclease A as the control. **Results** There was no significant difference in the data of polysaccharide macromolecular substances between ADR – related batches and normal batches of Troxerutin for Injection. However, the content of protein macromolecular substances in ADR – related batches reached about three times that in the normal batches, and the content of protein macromolecular substances of the troxerutin raw material from the corresponding manufacturer of the preparation was more than 20 times that from the third – party manufacturer. **Conclusion** The cause of ADR of Troxerutin for Injection is the uncontrolled high content of protein macromolecular substances in the product.

Key words: HPSEC; Troxerutin for Injection; adverse drug reactions; macromolecular substances

曲克芦丁是在槐米等植物部位提取的芦丁经羟乙基化制成的半合成黄酮类化合物,常用于抑制红细胞和血小板凝聚,防止血栓形成,改善微循环,增加血氧含量,促进新血管形成及侧支循环建立,保护血管内皮细胞,降低毛细血管通透性^[1-2]等,也常用于治疗缺血性脑血管静脉炎及血管通透性增高所致水肿、骨关节炎等症^[3-4]。临床应用时监测到3批注射用曲克芦丁的药品不良反应(ADR)聚集性信号,患者均有寒战、发热(体温最高39.3℃)等临床表现,并偶见血压降低等过敏性休克。监管部门怀疑该品种存在热原反应风险,但按其现行质量标准^[5]检验,细菌内毒素低于标准规定限度,且其他质量标准项目均符合规定。故对3批涉ADR和3批正常注射用曲克芦丁制剂进行了一系列质量安全性再评价。先进行了内毒素动态浊度法研究,3批涉ADR样品中有2批的内毒素含量高于同测的3批正常样品的10倍,且接近限值,质量风险差异明显^[6]。在此基础上,基于ADR报告提及的过敏性休克及呼吸困难症状,进行了2020年版《中国药典(四部)》豚鼠主动过敏反应研究^[7],结果均为阴性。考虑到该方法灵敏度较差,又采用了较高灵敏度的直接多肽反应试验(DPRA)^[8]对本次涉ADR制剂进行了致敏性预测研究,结果均为阴性。DPRA多用于预测小分子致敏,存在一定局限性,且有研究报道中药注射剂在输液过程中有微粒增加嫌疑,而微粒异物也是热原样反应和过敏反应等发生的原因^[9-11]。曲克芦丁的制备具有天然产物来源特性,使其易残留大分子物质,故本研究中建立了高效分子排阻色谱(HPSEC)法对涉ADR注射用曲克芦丁中多糖和蛋白类大分子物质进行筛查,以分析ADR发生原因。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 series 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有示差折光检测器和紫外检测器;BT125D 型电子天平(赛多利斯科学仪器 < 北京 > 有限公司);

CF16RX II 型多用途离心机(日本 Hitachi 公司)。

1.2 试剂

注射用曲克芦丁(规格为每支0.1g,涉ADR批号分别为ADR-007,ADR-206,ADR-407,正常批号分别为NORM-106,NORM-107,NORM-207),曲克芦丁原料药(批号为YL-417),四羟乙基芦丁(单独制备,批号为4Q-016),均由国内A公司提供;曲克芦丁原料药(国内B公司,批号为XD-081);右旋糖酐对照品[批号为140637-646-201203,D6(Mp 64 650),D7(Mp 135 350),D8(Mp 300 600)],核糖核酸酶A(批号为140653-201806,Mp 13 700),人胰岛素(批号为140654-201806,Mp 5 808),胸腺肽α₁(批号为140655-201806,Mp 3 108),生长抑素(批号为140656-201806,Mp 1 638),均购自中国食品药品检定研究院;牛血清白蛋白(BSA,Solar Life Science,批号为929F052,相对分子质量为66 000);乙腈、三氟乙酸(美国 Thermo Fisher 公司);甘露醇(国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 多糖检测

2.1.1 色谱条件

色谱柱:TSKgel G4000PWXL 凝胶柱(300 mm × 7.8 mm, 10 μm);检测器:示差折光检测器;流动相:纯化水;流速:0.5 mL/min;柱温:35℃;进样量:10 μL(对照品溶液),50 μL(供试品溶液)。

2.1.2 溶液制备

对照品溶液:取右旋糖酐对照品(D6,D7,D8)适量,精密称定,分别加水制成质量浓度为1 mg/mL 的溶液,备用。

供试品溶液:取样品1支,加水3 mL使溶解,取1 mL,置3 000 Da超滤离心管中,离心(转速为7 450 r/min,温度为19℃)40 min,取出离心管,去除下层液体,上层液体用3~5 mL水冲洗(用移液枪吹打混匀),再离心35~40 min,重复2~3次,直至下层液体 Molish 反应呈阴性,将上层超滤管中的残留液体用水定容至5 mL,待测。

2.1.3 方法学考察

线性关系考察:吸取2.1.2项下对照品溶液适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,结果右旋糖酐对照品(D6, D7, D8)保留时间(t_R)分别为17.690, 16.481, 15.473 min。以对照品相对分子质量的对数(Y)为纵坐标、 t_R (X)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = -3.3163X + 33.594$, $R^2 = 0.9945$ 。结果表明,右旋糖酐的相对分子质量在64 650~300 600范围内与 t_R 线性关系良好。

检测限确定:取右旋糖酐对照品(D6)适量,精密称定,加水制成质量浓度为0.102 mg/mL的溶液,逐级稀释,按2.1.1项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为3:1时的进样量确定检测限。结果检测限为0.102 μ g。

精密度试验:取2.1.2项下右旋糖酐对照品(D6)溶液适量,按2.1.1项下色谱条件重复进样测定6次,记录 t_R 。结果的 RSD 为1.49%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.1.2项下右旋糖酐对照品(D6)溶液适量,分别于0, 2, 4, 6, 8, 12 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录 t_R 。结果的 RSD 为1.76%($n=6$),表明待测溶液在12 h内稳定性良好。

2.1.4 样品中多糖测定

分别取涉ADR(批号分别为ADR-007, ADR-206, ADR-407)和正常(批号分别为NORM-106, NORM-107, NORM-207)样品,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录 t_R 和峰面积。结果6批制剂均在15.5 min出现1个吸收峰,经比较发现该样品峰与右旋糖酐对照品(D8)吸收峰($t_R=15.473$ min, 峰面积为223 345.0)的位置基本一致,表明样品中所含多糖类大分子物质的相对分子质量约为300 000。从样品的 t_R 和峰面积看(表1),涉ADR样品与正常样品的数据无明显差异,表明涉ADR样品发生质量安全风险的原因与多糖类大分子物质无关。同法测定甘露醇,发现于15.5 min出现1个吸收峰,与样品峰基本重合,可见该峰很有可能由辅料甘露醇引入。涉ADR样品(批号为ADR-206)、正常样品(批号为NORM-106)、甘露醇、右旋糖酐对照品(D8)的HPLC图见图1。

表1 涉ADR样品、正常样品的保留时间和峰面积

Tab.1 Retention time and peak area of ADR-related and normal samples		
批号	t_R (min)	峰面积
NORM-106	15.438	15 761.7
NORM-107	15.904	13 593.6
NORM-207	15.758	16 972.4
ADR-007	15.422	15 827.5
ADR-206	15.595	15 348.1
ADR-407	15.768	15 262.9

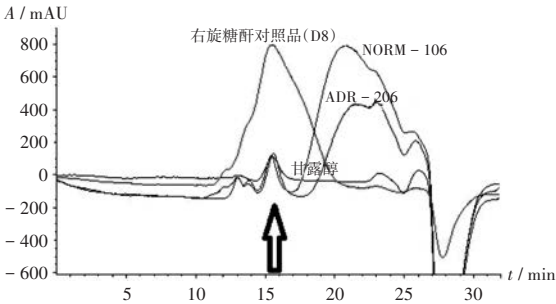


图1 涉ADR样品(批号为ADR-206)、正常样品(批号为NORM-106)、甘露醇及右旋糖酐对照品(D8)高效液相色谱图
Fig.1 HPLC chromatogram of ADR-related samples (batch number: ADR-206), normal samples (batch number: NORM-106), dantitol and dextran (D8) reference substance

2.2 蛋白检测

2.2.1 色谱条件

色谱柱:TSKgel G2000SWXL凝胶柱(300 mm $\times$ 7.8 mm, 10 μ m);流动相:乙腈-水-三氟乙酸(45:55:0.05, $V/V/V$);流速:0.8 mL/min;检测器:紫外检测器;检测波长:214 nm;进样量:10 μ L(对照品溶液), 50 μ L(供试品溶液)。

2.2.2 溶液制备

对照品溶液:分别取生长抑素、胸腺肽 α_1 、人胰岛素、核糖核酸酶A各1 mg,精密称定,分别置5 mL容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得。取BSA 1 mg,精密称定,加水制成质量浓度为0.1 mg/mL的溶液。

供试品溶液:取样品1支,加水3 mL使溶解,取1 mL,置3 000 Da超滤离心管中,离心(转速为7 450 r/min,温度为19 $^{\circ}$ C)40 min,上层液体约剩余400 μ L,加水3~5 mL冲洗(用移液枪吹打混匀),弃去下层液体,再离心35~40 min,重复2~3次,直至下层液体Molish反应阴性,将上层超滤管中的残留液体定容至5 mL,即得。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察:吸取2.2.2项下对照品溶液各适量,加水稀释成一定浓度的系列对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果BSA、核糖核酸酶A、人胰岛素、胸腺肽 α_1 、生长抑素的 t_R 分别为6.927, 8.141, 9.003, 9.811, 10.252 min。以对照品相对分子质量的对数(Y)为纵坐标、 t_R 为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = -2.1293X + 17.1001$, $R^2 = 0.9917$ 。结果表明,蛋白类大分子物质的相对分子质量在1 638~66 000范围内与 t_R 线性关系良好。

检测限确定:取生长抑素对照品,精密称定,加水制成质量浓度为0.177 mg/mL的溶液,混匀,逐级稀释,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,以信噪比(S/N)为3:1时的进样量确定检测限。结果检测限为0.003 6 μ g。

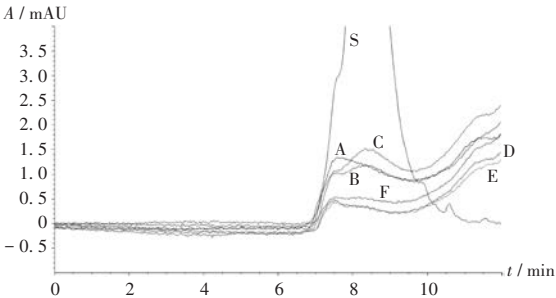
精密度试验:精密量取质量浓度为1 mg/mL的核糖核酸酶A对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件重复进样测定6次,记录 t_R 。结果的RSD为0.34%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取质量浓度为1 mg/mL的人胰岛素对照品溶液,分别于0,2,4,6,8,12 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录 t_R 。结果的RSD为0.42%($n=6$),表明待测溶液在12 h内稳定性良好。

2.2.4 样品中蛋白测定

分别取涉ADR(批号分别为ADR-007,ADR-206,ADR-407)和正常(批号分别为NORM-106,NORM-107,NORM-207)样品,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图2),涉ADR的3批样品的吸收峰面积均显著高于3批正常样品,核糖核酸酶A对照品的 t_R 为8.141 min,峰面积为3 139.041 3。由表2可知,涉ADR样品中蛋白类大分子物质的含量为正常样品的3倍,样品中所含蛋白类大分子物质的吸收峰与核糖核酸酶A对照品峰 t_R 相近,推测涉ADR样品中蛋白类大分子物质的相对分子质量约为13 700。

为进一步考察注射用曲克芦丁制剂原辅料中蛋白



S. 核糖核酸酶A对照品溶液 A-F. 供试品溶液(批号分别为ADR-007,ADR-206,ADR-407,NORM-106,NORM-107,NORM-207)

图2 高效液相色谱图

S. Ribonuclease A reference solution A-F. Test solution (batch numbers: ADR-007, ADR-206, ADR-407, NORM-106, NORM-107, and NORM-207, respectively)

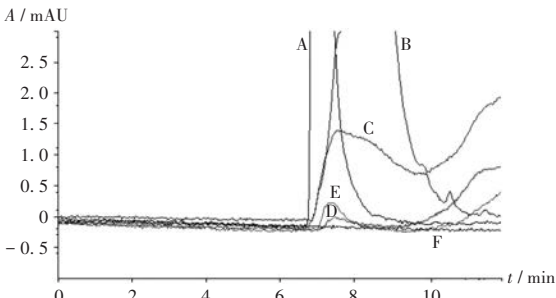
Fig. 2 HPLC chromatograms

表2 涉ADR样品、正常样品的保留时间和峰面积

Tab. 2 Retention time (t_R) and peak area of ADR-related and normal samples

批号	t_R (min)	峰面积
NORM-106	7.504	36.109 9
NORM-107	7.592	36.216 6
NORM-207	8.182	30.429 0
ADR-007	7.583	105.135 0
ADR-206	8.464	89.040 8
ADR-407	8.341	108.411 0

类大分子物质的含量,取2批(批号分别为YL-417,XD-081)原料药、1批四羟乙基芦丁(批号为4Q-016),加入甘露醇和BSA对照品,依法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图3)、 t_R 及峰面积(表3)。可见,制剂对应原料厂家的曲克芦丁原料药中蛋白类大分子物质的含量远高于同测第三方厂家的20倍;四羟乙基芦丁中蛋白类大分子物质的含量远低于曲克芦丁原料药,可能与单独小批量生产质量控制严格有关;甘露醇同条件下蛋白类大分子物质的含量也极低,此处无参考价值。从吸收峰 t_R 来看,2批曲克芦丁原料药及四羟乙基芦丁中吸收峰位置的蛋白类大分子物质的相对分子质量均小于BSA的66 000,大于核糖核酸酶A的13 700。



A. BSA B. 核糖核酸酶A对照品 C,D. 曲克芦丁原料药(批号分别为YL-417,XD-081) E. 甘露醇 F. 四羟乙基芦丁(批号为4Q-016)

图3 原辅料与对照品溶液高效液相色谱图

A. BSA B. Ribonuclease A reference substance C,D. Raw material of troxerutin (batch number: YL-417, XD-081) E. Mannitol F. Tetrahydroxyethyl rutin (batch number: 4Q-016)

Fig. 3 HPLC chromatograms of raw materials and reference solution

表3 原辅料与对照品的保留时间和峰面积

Tab. 3 Retention time (t_R) and peak area of materials and reference materials

原辅料	t_R (min)	峰面积
BSA	6.927	1 072.930 0
核糖核酸酶A对照品	8.141	3 139.041 3
曲克芦丁(批号为YL-417)	7.562	133.535 0
曲克芦丁(批号为XD-081)	7.462	6.547 0
四羟乙基芦丁(批号为4Q-016)	7.488	7.217 0
甘露醇	7.400	17.537 0

3 讨论

注射用曲克芦丁为中药注射剂,其主成分曲克芦丁有天然产物来源特性,制备过程中易引入大分子物质。大分子物质通过静脉直接进入体内后有足够时间与免疫细胞直接接触而激活免疫反应,形成抗原,且分子量越大,抗原性越强。注射用曲克芦丁制剂有效成分曲克芦丁相对分子质量为742.69,辅料甘露醇相对分子质量为182.172,均小于1 000,而该品种现行法定质

量标准中无大分子物质质控指标,不排除涉ADR批次注射用曲克芦丁过敏性休克等为致敏作用引发的可能性,故本研究中对该制剂及其原辅料中大分子物质进行了测定与分析。

首先,采用HPSEC法测得注射用曲克芦丁涉ADR样品中所含蛋白类大分子物质明显高于正常样品,其相对分子质量大于13 700,远大于主成分和辅料的相对分子质量,按峰面积算约为正常样品含量的3倍。进一步对原辅料大分子物质进行分析发现,涉ADR样品对应原料厂家提供的曲克芦丁原料药蛋白类大分子物质含量远高于第三方厂家提供原料药的20倍,且其相对分子质量在13 700~66 000范围内。综合考虑,可基本确认注射用曲克芦丁制剂发生ADR的原因为产品中蛋白类大分子物质含量偏高所致,且含量偏高可能由其原料药导致,同时生产中活性炭及微孔滤芯等关键环节大分子物质去除工艺也存在缺陷。绝大多数蛋白质是很好的抗原^[12],但大分子蛋白可升高组胺等活性介质水平而诱发过敏^[13-14]。结合前期研究涉ADR样品中细菌内毒素含量偏高,不排除样品中测得大分子蛋白质结构可能类似内毒素,引发热原或类热原效应。

药品生产各环节的质量控制和验证都是极关键的步骤。大分子物质的控制必须保证入厂原辅料质量把关、生产工艺品控关键点应有效。注射剂大分子物质临床应用时直接进入血液,极可能导致速发型过敏反应^[15],但高分子杂质具有高度不均一性和不确定性,且其本身不稳定,去除和定量均存在难度。针对产生该状况的原因,原辅料入厂质量把关及生产工艺中各环节关键点的质量控制至关重要。原辅料入厂时应建立适宜大分子物质的测试方法,严把质量关;实际生产过程中,活性炭吸附^[16]或两级微孔超滤系统^[17]是去除大分子物质的主要环节,故应关注生产环节活性炭吸附率是否达标或去除干净^[18],超滤是否及时更换或有无漏点,验证工作是否满足质控要求。着力改进、优化生产工艺流程对去除大分子物质、减少注射剂过敏反应有积极意义^[19],生产中宜对中间产品和终端产品就大分子物质建立适宜的测试方法进行质量把控或风险评估。

参考文献

- [1] 曹婉鑫,唐瑶,陈洋. 曲克芦丁药理作用的研究进展[J]. 中国食物与营养,2015,21(9):73-75.
- [2] 付清远. 曲克芦丁的药理性质及临床应用概况[J]. 中国医药指南,2012,10(7):59-60.
- [3] TOBIAS LTT, GOMES SCG, BORGES LL, et al. Troxerutin as a potential thrombin inhibiting drug[J]. Hematol Transfus Cell Ther, 2020, 42(S2): 100-101.
- [4] XUE XH, CHEN YL, WANG Y, et al. Troxerutin suppresses the inflammatory response in advanced glycation end-product-administered chondrocytes and attenuates mouse osteoarthritis development[J]. Food Funct, 2019, 10(8): 5059-5069.
- [5] WS₁-XG-028-2014, 国家食品药品监督管理总局·国家药品标准注射用曲克芦丁[S].
- [6] 于德志,方选,张琪,等. 注射用曲克芦丁发生临床ADR后动态浊度法测定细菌内毒素含量[J]. 中国药品标准, 2021, 22(2): 187-191.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 183.
- [8] Organisation for Economic Cooperation and Development. Test Guideline No. 442C In Chemico Skin Sensitisation: Assays Addressing the Adverse Outcome Pathway Key Event on Covalent Binding to Proteins[A/OL]. (2022-06-30)[2022-09-15]. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442c-in-chemico-skin-sensitisation_9789264229709-en#page11/2022-10-11.
- [9] 王永林,夏春丽,余凡,等. 9种常用重要注射剂与输液配伍的不溶性微粒测定[J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(22): 24-26.
- [10] 李英,关玮伟,张英,等. 不同基础输液与儿科常用药加药前后不溶性微粒考察[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(14): 1526-1529.
- [11] 张丽艳,王朝营,王彦军. 清开灵及黄芪注射液在两种输液中的微粒观察[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(5): 59.
- [12] GOPPERS V, PAULUS HJ. Toxic effects of allergenic macromolecular compounds on guinea pigs and mice[J]. American Industrial Hygiene Association Journal, 1970, 31(2): 210-212.
- [13] XU YB, LIU CY, DOU DQ, et al. Evaluation of anaphylactoid constituents *in vitro* and *in vivo* [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 43: 79-84.
- [14] XU YB, DOU DQ, RAN XK, et al. Integrative analysis of proteomics and metabolomics of anaphylactoid reaction induced by Xuesaitong injection[J]. J Chromatogr A, 2015, 1416: 103-111.
- [15] 冯文宇,刘明华,消顺汉,等. 金银花精提取物与粗提取物注射液的主动全身过敏试验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12): 2847-2848.
- [16] 谢志强,梁卓,李燕敏. 中药注射剂中热原的污染途径及处理方法的探讨[J]. 中国药事, 2019, 33(12): 1434-1437.
- [17] 于风平,代秀梅. 超滤技术对中药注射剂安全性和有效成分影响的研究进展[J]. 中国药房, 2013, 24(31): 2972-2974.
- [18] 罗俊永,杨文智,张晓攀,等. 活性炭在注射剂生产中的潜在风险分析[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(4): 404-407.
- [19] 陈伟,李存玉,彭国平,等. 超滤工艺对双黄连注射剂致敏性的影响[J]. 医药导报, 2012, 31(3): 292-294.

(收稿日期:2022-10-12;修回日期:2023-03-13)