

中图分类号: R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)06-0069-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.06.015



氟维司群注射液前处理及细菌内毒素检查方法研究*

洪颖, 翁鹭娜, 林丽花, 盖雅婷

(福建省厦门市食品药品质量检验研究院, 福建 厦门 361000)

摘要:目的 建立氟维司群注射液细菌内毒素的检查方法。方法 取样品 0.5 mL, 加细菌内毒素检查用水(BET用水)5 mL, 2 000 r/min 振荡 5 min 后, 3 000 r/min 离心 5 min, 取水相, 用 BET 用水稀释至所需倍数系列溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 1143 细菌内毒素检查法, 分别采用凝胶法、动态显色法、动态浊度法检测样品中的内毒素, 考察水萃取液(水相溶液)的干扰及内毒素回收比。结果 水相溶液稀释至 2 倍及以上时对鲎试剂均无干扰; 外加 20 EU/mL 内毒素时回收比均在 50%~200% 范围内。结论 氟维司群注射液经水萃取后, 采用凝胶法、动态显色法、动态浊度法进行细菌内毒素检查均可行。
关键词: 氟维司群注射液; 细菌内毒素; 水萃取法; 凝胶法; 动态显色法; 动态浊度法

Study on Pre-Treatment and Bacterial Endotoxin Test of Fulvestrant Injection

HONG Ying, WENG Luna, LIN Lihua, GAI Yating

(Xiamen Institute for Food and Drug Quality Control, Xiamen, Fujian, China 361000)

Abstract: **Objective** To establish a bacterial endotoxin test (BET) method of Fulvestrant Injection. **Methods** Precisely 0.5 mL of the sample was taken, 5 mL of water for BET was added, then they were mixed by vortex oscillation at 2 000 r/min for 5 min and centrifuged at 3 000 r/min for 5 min, the aqueous phase was taken and diluted with water for BET to the desired multiple series solution. Based on the general principle 1143 bacterial endotoxin test in the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume IV), the endotoxins in samples were tested by the gel-clot method, kinetic chromogenic assay and kinetic turbidimetric assay, and the interference of water extract (aqueous phase) and recovery ratio of endotoxins were explored. **Results** The aqueous phase diluted twice or more had no interfere on the tachypleus amebocyte lysate, and the recovery ratio was in the range of 50% to 200% when 20 EU/mL endotoxin was added. **Conclusion** It is feasible to use gel-clot method, kinetic chromogenic assay and kinetic turbidimetric assay for BET of Fulvestrant Injection after water extraction.
Key words: Fulvestrant Injection; bacterial endotoxin; water extraction method; gel-clot method; kinetic chromogenic assay; kinetic turbidimetric assay

乳腺癌为女性最常见的恶性肿瘤, 68%~78% 的患者表达雌激素受体(ER)和/或孕激素受体(PR)^[1]。氟维司群属雌激素受体拮抗剂^[2], 其通过直接与 ER 结合来抵消雌激素的作用^[3], 对 Luminal 亚型的疗效确切, 可直接用于导管内注射, 给药频率相对较低, 从而提高了患者的治疗依从性^[4]。鲎试剂与内毒素的反应多在水

中进行, 氟维司群为油注射液, 在水中不溶, 不宜直接作为样品进行细菌内毒素检查。鉴于氟维司群注射液尚未被各国药典收载, 本研究中采用加水萃取的前处理方法, 考察水相干扰试验、加水萃取过程中油溶液的内毒素回收比, 采用凝胶法、动态显色法、动态浊度法等检查细菌内毒素, 为该产品的细菌内毒素检查提供参

*基金项目: 福建省厦门市市场监督管理局科技项目[XMSJ202116]。
第一作者: 洪颖, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品质量控制, (电子信箱)hongying_2012@yeah.net。

[14] LIU R. 难溶性药物制剂技术(原著第三版)[M]. 刘荣, 译. 北京: 化学工业出版社, 2022: 433-456.
[15] LU AT, FRISELLA ME, JOHNSON KC. Dissolution modeling: factors affecting the dissolution rates of polydisperse powders[J]. *Pharmaceutical Research*, 1993, 10(9): 1308-1314.
[16] ROWE RC, SHESKEY PJ, WELLER PJ. 药用辅料手册(原著第四版)[M]. 郑俊民, 译. 北京: 化学工业出版社, 2005: 407-410.
[17] 付清爽, 李坤妮, 王英娟, 等. 硬脂酸镁过度润滑作用对盐酸二甲双胍缓释片的影响[J]. *药学研究*, 2022, 41(3): 171-174.
[18] 王 珊, 刘红梅, 陈海燕. 不同工艺生产的硬脂酸镁质量对比及其生产工艺评价[J]. *现代医药卫生*, 2017, 33(13): 28-30.
[19] SINKO PJ. 物理药剂学与药学(第6版)[M]. 刘艳, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 518-520.
[20] 刘 湾, 涂亮星, 杨世林, 等. 口服固体剂制仿制药一致性评价体内相关性研究进展[J]. *药物评价研究*, 2020, 43(12): 2565-2570.
[21] MITRA A, KESISOGLU F, DOGTEROM P. Application of Absorption Modeling to Predict Bioequivalence Outcome of Two Batches of Etoricoxib Tablets[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2015, 16(1): 76-84.

(收稿日期: 2023-04-24; 修回日期: 2023-09-26)

考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BET-48G型细菌内毒素测定仪(天津天大天发科技有限公司);Research plus型微量移液器(德国Eppendorf公司,移液范围50~1 000 μ L);M3 basic型涡旋混合器(德国IKA公司);3-15 Operating Manual型高速离心机(美国Sigma公司)。

1.2 试药

氟维司群注射液(某公司,共3批,批号分别以A,B,C指代,规格为每支5 mL:250 mg);细菌内毒素工作标准品(CSE,湛江安度斯生物有限公司,批号为2205050,规格为每支10 EU);鲎试剂1,2(TAL1,TAL2,湛江安度斯生物有限公司,批号分别为2203160,2202230,灵敏度分别为0.125 EU/mL和0.005~50 EU/mL);鲎试剂3(TAL3,福州新北生化工业有限公司,批号为21101012,灵敏度为0.125 EU/mL);鲎试剂4(TAL4,厦门鲎试剂生物科技股份有限公司,批号为22034102,灵敏度为0.005~10 EU/mL);细菌内毒素检查用水(BET用水,湛江安度斯生物有限公司、福州新北生化工业有限公司,批号分别为2105260,21070105,规格均为每支5 mL)。

2 方法与结果

2.1 细菌内毒素限值(L)的确定

计算公式为 $L = K / M$ 。其中, K 为人每千克体质量每小时最大可接受内毒素剂量, M 为人用每千克体质量每小时的最大供试品剂量。根据药品说明书,本品的每日最大剂量为500 mg,按第43版美国药典(2020年), $M = 500 \text{ mg} / 1.8 \text{ m}^2 = 277.78 \text{ mg} / \text{m}^2$, $L = K / M = 100 (\text{EU} \cdot \text{m}^2) / 277.78 (\text{mg} / \text{m}^2) = 0.36 \text{ EU} / \text{mg}$;按2020年版《中国药典(四部)》通则1143(以下简称通则1143)^[5], $K = 5 \text{ EU} / (\text{kg} \cdot \text{h})$,体质量按60 kg计算,注射时间 $< 1 \text{ h}$ (按1 h计),计算得 $M = 8.33 \text{ mg} / (\text{kg} \cdot \text{h})$, $L = 0.60 \text{ EU} / \text{mg}$ 。从严要求,将 L 定为0.36 EU/mg。

测定样品中的内毒素,需将其与水充分涡旋混匀后,测定水相中内毒素的含量。水萃取条件:取氟维司群注射液0.5 mL,加BET用水5 mL,2 000 r/min振荡5 min,3 000 r/min离心5 min,取上层水相溶液进行检测。水相溶液的内毒素限值(L_c)与氟维司群注射液的内毒素限值(L)存在以下关系: $L_{c\text{水}} \times V_{\text{水}} = L_{\text{油}} \times V_{\text{油}} \times \text{内毒素回收比}(\%)$,假设回收比为100%,则 $L_{c\text{水}} = L_{\text{油}} \times V_{\text{油}} / V_{\text{水}} = 1.8 \text{ EU} / \text{mL}$ 。

2.2 凝胶法试验

2.2.1 灵敏度复核

依据通则1143对所用鲎试剂进行复核,结果TAL1

与TAL3的灵敏度(λ_c)分别为 λ 和1.68 λ ,在0.5 $\lambda \sim 2 \lambda$ 范围内,符合规定。

2.2.2 水相干扰试验

干扰试验预试验:内毒素检查时的最大有效稀释倍数(MVD)= cL/λ , c 为供试品溶液体积分数(1.0 mL/mL), λ 为市售鲎试剂的标示灵敏度(通常为0.03~0.5 EU/mL),则水相对应的MVD为3.6,7.2,14.4,28.8,57.6倍。取3批样品,按2.1项下方法水萃取后用BET用水稀释至2,4,8,16倍系列溶液,记为供试品阴性对照(NPC)。同时制备相同稀释倍数含0.25 EU/mL内毒素系列溶液,记为供试品阳性对照(PPC)。取TAL1与TAL3,分别与上述NPC和PPC系列溶液反应,每一浓度平行2支,同时做阳性对照(PC)和阴性对照(NC)。结果显示,水相稀释至2倍及以上对鲎试剂无干扰,可以该浓度进行正式干扰试验。详见表1(+为阳性反应,-为阴性反应;表2同)。

表1 氟维司群凝胶法水相干扰预试验结果

Tab. 1 Results of interference pre-test of aqueous phase for fulvestrant by gel-clot method

TAL 编号	供试品 批号	溶液	稀释倍数				PC	NC
			2	4	8	16		
TAL1	A	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--
	B	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--
TAL3	C	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--
	A	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--
	B	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--
	C	PPC	++	++	++	++	++	--
		NPC	--	--	--	--	--	--

正式干扰试验:取3批样品0.5 mL,按2.1项下方法水萃取后,取水相,用BET用水倍比稀释至2倍,加入CSE,制备含0.25,0.125,0.06,0.03 EU/mL内毒素的供试品溶液,每一浓度平行4支,同时做内毒素标准品系列溶液和NC,每一浓度平行做2支。结果见表2。可见,水相稀释至2倍对鲎试剂无干扰,即水相可稀释至2倍进行内毒素检查。

2.2.3 油相中内毒素回收比试验

取CSE 3支,分别加入3批样品各0.5 mL,涡旋混匀,按2.1项下方法水萃取得水相,加BET用水稀释得8倍、16倍、32倍、64倍系列浓度,进行内毒素含量检测,每一浓度平行4支。加入CSE的样品溶液浓度为20 EU/mL,萃取入水相后水相中内毒素含量为2 EU/mL,

表2 氟维司群凝胶法水相干扰正式试验结果

Tab. 2 Results of interference test of aqueous phase for fulvestrant by gel - clot method

TAL 编号	供试品批号	内毒素含量(EU / mL)				NC
		0.25	0.125	0.06	0.03	
TAL1	A	++++	+++ -	-----	-----	--
	B	++++	+++ -	-----	-----	--
	C	++++	+++ -	-----	-----	--
	BET 用水	++	++	--	--	--
TAL3	A	++++	+++ -	-----	-----	--
	B	++++	+++ -	-----	-----	--
	C	++++	+++ -	-----	-----	--
	BET 用水	++	++	--	--	--

即16λ。取CSE 1支,加BET用水配制至2 EU / mL,再进行8倍(0.25 EU / mL)、16倍(0.125 EU / mL)、32倍(0.06 EU / mL)和64倍(0.03 EU / mL)系列稀释,每一浓度平行2支,另做NC。结果表明,标准品溶液系列结果符合鲎试剂灵敏度复核试验要求,各批次水相8倍稀释(理论值0.25 EU / mL)下与鲎试剂反应均为阳性,64倍稀释(理论值0.03 EU / mL)下与鲎试剂反应均为阴性,内毒素回收比范围在50%~200%,符合要求。详见表3。

表3 氟维司群凝胶法油相中内毒素回收比试验结果

Tab. 3 Results of endotoxin recovery - ratio test in oily phase for fulvestrant by gel - clot method

TAL 编号	供试品批号	稀释倍数				NC
		8	16	32	64	
TAL1	16λCSE溶液	++	++	+-	--	--
	A	++++	++++	+++ -	-----	--
	B	++++	++++	-----	-----	--
	C	++	++	+-	-----	--
TAL3	16λCSE溶液	++	++	+-	--	--
	A	++++	++++	-----	-----	--
	B	++++	++++	+++ -	-----	--
	C	++++	++++	-----	-----	--

2.2.4 凝胶限度试验

按通则1143用TAL1对3批样品进行细菌内毒素检查,按2.1项下方法水萃取后,取水相加BET用水稀释2倍后进行检查,NPC结果均为阴性,PPC结果均为阳性,结果表明3批样品细菌内毒素检验结果均符合规定。

2.3 动态显色法试验

2.3.1 标准曲线可靠性试验

按通则1143,制备浓度分别为2.0,0.5,0.125,0.031 25 EU / mL的内毒素标准品溶液,各取0.1 mL,分别加入预先添加0.1 mL鲎试剂(TAL2)的试管中,混

匀,检测,每个浓度平行3支,另做2支NC。工作波长405 nm,预设吸光度0.05,结果见表4。以反应时间(t)的对数($\lg$)值为横坐标、溶液中内毒素浓度(C)的 $\lg$ 值为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $\lg t_1 = 2.493\ 55 - 0.389\ 09 \lg C_1 (r = -1.000)$ 。 $|r| > 0.98$,NC反应时间大于标准曲线最低点的反应时间,表明标准曲线可靠性试验有效。

表4 动态显色法标准曲线可靠性试验结果($n = 3$)

Tab. 4 Results of reliability test of standard curve by kinetic chromogenic assay ($n = 3$)

C (EU / mL)	$\bar{t}$ (s)	RSD (%)	C (EU / mL)	$\bar{t}$ (s)	RSD (%)
2.0	237	1.12	0.031 25	1 195	2.71
0.5	409	0.61	NC	> 3 600	
0.125	703	2.28			

2.3.2 水相干扰试验

取3批样品,按2.1项下方法水萃取,水相用BET用水稀释至2倍、4倍、8倍、16倍系列溶液,记为a液,同时制备同样稀释倍数的含0.5 EU / mL内毒素的系列溶液,记为b液,进行回收试验,分别取上述溶液各0.1 mL,加入预先添加0.1 mL鲎试剂的试管内中,混匀,每个浓度平行2支,同时做标准内毒素溶液管和NC管。测定结束后,按标准曲线回归方程分别计算a液和b液的细菌内毒素含量,回收比按公式回收比 = $(C_{b液} - C_{a液}) / 0.5 \times 100\%$ 计算。结果见表5(其中a液各溶液结果均小于检测限,但仪器仍会有实测值,并根据实测值计算回收比)。表明各批次水相溶液的各稀释倍数回收比均在50%~200%范围内,即水相在稀释至2倍及以上时对鲎试剂无干扰。

2.3.3 油相中内毒素回收比试验

预添加CSE的样品制备同2.2.3项下方法,按前法进行水萃取。取水相,加BET用水稀释至8倍、16倍、32倍、64倍系列浓度,进行内毒素含量检测,每个浓度平行2支。水相中内毒素含量理论值为2 EU / mL,原液内毒素含量 = 实测值 $\times$ 稀释倍数,绝对回收比 = 原液内毒素含量 / (2 EU / mL) $\times 100\%$ 。结果见表6。可见,样品外加内毒素20 EU / mL经振荡萃取后,用显色法检测内毒素回收比在65.04%~98.02%范围内,均符合要求(在50%~200%范围内)。随着稀释倍数的增大,绝对回收比有下降趋势。

2.4 动态浊度法试验

2.4.1 标准曲线可靠性试验

按2.3.1项下方法制备系列浓度的内毒素标准品溶液,各取0.1 mL,分别加入预先添加0.1 mL鲎试剂(TAL4)的试管中,混匀,检测,每个浓度平行3支,另做2支NC。工作条件同2.3.1项,结果见表7。以 $\lg t$ 为横坐

表 5 动态显色法水相干扰试验结果 (n = 2)

Tab. 5 Results of interference test of aqueous phase by kinetic chromogenic assay (n = 2)				
供试品 批号	稀释 倍数	内毒素含量(EU / mL)		回收比 (%)
		理论值	实测值	
A	2	0	< 0. 031 25	149
		0. 5	0. 750 1	
	4	0	< 0. 031 25	80
		0. 5	0. 406	
	8	0	< 0. 031 25	143
		0. 5	0. 721 8	
	16	0	< 0. 031 25	130
		0. 5	0. 655 9	
B	2	0	< 0. 031 25	118
		0. 5	0. 594 6	
	4	0	< 0. 031 25	113
		0. 5	0. 569 5	
	8	0	< 0. 031 25	101
		0. 5	0. 511 7	
	16	0	< 0. 031 25	100
		0. 5	0. 507 1	
C	2	0	< 0. 031 25	94
		0. 5	0. 476	
	4	0	< 0. 031 25	92
		0. 5	0. 461 5	
	8	0	< 0. 031 25	82
		0. 5	0. 415 8	
	16	0	< 0. 031 25	77
		0. 5	0. 390 3	

表 6 动态显色法油相中内毒素回收比试验结果 (n = 2)

Tab. 6 Results of endotoxin recovery - ratio test in oily phase by kinetic chromogenic assay (n = 2)				
供试品 批号	稀释 倍数	内毒素含量(EU / mL)		绝对回收比 (%)
		实测值	原液值	
A	2	0. 907 1	1. 814 2	90. 71
	4	0. 437 6	1. 750 4	87. 52
	8	0. 198 7	1. 589 6	79. 48
	16	0. 096 3	1. 540 8	77. 04
B	2	0. 980 2	1. 960 4	98. 02
	4	0. 437 0	1. 748 0	87. 40
	8	0. 208 4	1. 667 2	83. 36
	16	0. 102 6	1. 641 6	82. 08
C	2	0. 742 2	1. 484 4	74. 22
	4	0. 475 8	1. 903 2	95. 16
	8	0. 170 4	1. 363 2	68. 16
	16	0. 081 3	1. 300 8	65. 04

表 7 动态浊度法标准曲线可靠性试验结果 (n = 3)

Tab. 7 Results of reliability test of standard curve by kinetic turbidimetric assay (n = 3)					
C(EU / mL)	$\bar{t}(s)$	RSD(%)	C(EU / mL)	$\bar{t}(s)$	RSD(%)
2. 0	257	0. 67	0. 031 25	1 190	1. 88
0. 5	383	3. 00	NC	3 564	3. 23
0. 125	684	0. 66			

标、lg C 为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $\lg t_2 = 2. 501 16 - 0. 373 4 \lg C_2(r = - 0. 997)$,表明标准曲线可靠性试验有效。

2. 4. 2 水相干扰试验

试验方法同 2. 3. 2 项下,结果见表 8。可见,各批次水相溶液的各稀释倍数回收比均在 50% ~ 200% 范围内,表明水相稀释至 2 倍及以上时对鲎试剂无干扰。

2. 4. 3 油相中内毒素回收比试验

试验方法同 2. 3. 3 项下,结果见表 9。可见,样品外加内毒素 20 EU / mL 经振荡萃取后,用动态浊度法检测

表 8 动态浊度法水相干扰试验结果 (n = 2)

Tab. 8 Results of interference test of aqueous phase by kinetic turbidimetric assay (n = 2)				
供试品 批号	稀释 倍数	内毒素含量(EU / mL)		回收比 (%)
		理论值	实测值	
A	2	0	< 0. 03	89
		0. 5	0. 449 6	
	4	0	< 0. 03	95
		0. 5	0. 478 7	
	8	0	< 0. 03	86
		0. 5	0. 433 3	
	16	0	< 0. 03	83
		0. 5	0. 471 8	
B	2	0	< 0. 03	87
		0. 5	0. 438 8	
	4	0	< 0. 03	76
		0. 5	0. 383 1	
	8	0	< 0. 03	96
		0. 5	0. 480 9	
	16	0	< 0. 03	82
		0. 5	0. 413 9	
C	2	0	< 0. 03	78
		0. 5	0. 390 9	
	4	0	< 0. 03	73
		0. 5	0. 368 1	
	8	0	< 0. 03	68
		0. 5	0. 341 9	
	16	0	< 0. 03	81
		0. 5	0. 404 2	

表9 动态浊度法油相中内毒素回收比试验结果($n=2$)
Tab. 9 Results of endotoxin recovery - ratio test in oily phase
by kinetic turbidimetric assay ($n=2$)

供试品 批号	稀释 倍数	内毒素含量(EU/mL)		绝对回收比 (%)
		实测值	原液值	
A	2	0.706 5	1.413 0	70.65
	4	0.333 1	1.332 4	66.62
	8	0.156 3	1.250 4	62.52
	16	0.084 1	1.345 6	67.28
B	2	0.847 6	1.695 2	84.76
	4	0.462 7	1.850 8	92.54
	8	0.260 4	2.083 2	104.16
	16	0.124 3	1.988 8	99.44
C	2	0.881 0	1.762 0	88.10
	4	0.442 4	1.769 6	88.48
	8	0.284 1	2.272 8	113.64
	16	0.132 9	2.126 4	106.32

内毒素绝对回收比在62.52%~113.64%范围内,均符合要求(在50%~200%范围内)。

3 讨论

细菌内毒素与鲎试剂的系列酶促反应需在水中进行^[6],如待测样品水溶性差,则需进行前处理后再进行检测^[7-9]。氟维司群注射剂为油注射剂,如直接用水稀释进行后续反应,存在稀释浓度不准确、内毒素被油包裹释放不完全等问题,很可能导致检测结果不准确。因此,找到该类制剂合适的前处理方法是进行细菌内毒素检查的必要前提。前期探索研究时曾参考原料药的处理方法^[10],采用二甲基亚砜、甲醇等有机溶剂溶解注射液后,再用BET用水稀释进行检查,但出现溶剂对鲎试剂有干扰、内毒素绝对回收比无法达到要求等问题。

对于油溶液,萃取亦是常用的前处理方法,由于内毒素溶于水,首先考虑用水作为溶剂进行萃取,在进行干扰试验时,应考虑以下两点。一是萃取后的水相可见些许浑浊,提示油相中有部分辅料和药物可能溶解于水中,应验证水相溶液对鲎试剂与内毒素的凝集反应是否有干扰作用^[11-12]。二是对于需前处理的样品,为确保所选择的处理方法能有效地排除干扰且不会使内毒素失去活性,要考察萃取后油液中内毒素的绝对回收比^[13],即要使用预先添加了标准内毒素再经过处理的供试品溶液进行干扰试验或检测,绝对回收比应在50%~200%范围内。

凝胶法为我国目前内毒素检测的“仲裁法”,检验操作简单,在日常检验中采用较多,但凝胶法仅可定性检测内毒素含量是否超过限值,无法准确定量。动态光度测定法能得到较确切的数值,在检验、生产质量控制

中应用较广泛^[14]。本研究中分别采用凝胶法、动态显色法、动态浊度法等对萃取后的水相溶液进行干扰试验,确认水相溶液稀释至2倍及以上时,在各方法下对鲎试剂反应均无干扰,且油液中内毒素绝对回收比满足要求。表明本研究采用的前处理方法操作简便、水相干扰小,适用于目前常用的3种细菌内毒素检查方法,能较准确地检测氟维司群注射液中内毒素的含量。

综上所述,氟维司群注射液采用凝胶法、动态显色法、动态浊度法进行细菌内毒素检查均可行,拟订的检查方法为取样品0.5 mL,加入BET用水5 mL,2 000 r/min振荡5 min,3 000 r/min离心5 min,取水相,按2020年版《中国药典(四部)》通则1143检查,每1 mg氟维司群中内毒素含量应小于0.36 EU。

参考文献

[1] BECK B,BLANPAIN C. Unravelling cancer stem cell potential[J]. Nat Rev Cancer,2013,13(10):727-738.

[2] 龙成根,李媛媛,凌华海,等. 卡培他滨节拍化疗联合氟维司群治疗 HR 阳性 HER-2 阴性晚期乳腺癌的短期预后研究[J]. 中国实用医药,2023,18(5):39-43.

[3] 孙华阳,刘文颖,孙刚. PR 表达对氟维司群治疗 ER 阳性晚期乳腺癌患者无进展生存的影响[J]. 实用癌症杂志,2022,37(10):1696-1700.

[4] WEISWALD LB, BELLET D, DANGLES - MARIE V. Spherical cancer models in tumor biology[J]. Neoplasia,2015,17(1):1-15.

[5] 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,2020:178-181.

[6] 赵武群,赵云蓝,付强,等. 二氯甲烷萃取法检测帕莫酸多奈哌齐中细菌内毒素[J]. 中国药业,2021,30(3):45-49.

[7] 张红梅,方芳,李祥胜,等. 甘精胰岛素原料药细菌内毒素检查方法学研究[J]. 中国药业,2022,31(20):72-74.

[8] 丁苏苏,叶婵娟,姚晶晶,等. 难溶性香菇多糖无菌原料药细菌内毒素定量检测方法建立[J]. 中国药业,2022,31(13):70-73.

[9] 陈晨,赵小燕,裴宇盛. 胆固醇的细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国现代应用药学,2023(1):82-85.

[10] 刘琦,陆益红. 氟维司群细菌内毒素检查方法学研究[J]. 药学研究,2014,33(12):696-698.

[11] 刘骅,许雷鸣. 黄体酮注射液细菌内毒素检查的方法比较研究[J]. 药物分析杂志,2014,34(6):1113-1119.

[12] 赵嘉,朱社敏,匡荣. 细菌内毒素检查法中样品复析/乳浊现象时干扰确证方法探讨[J]. 中国药品标准,2020,21(6):506-509.

[13] 裴宇盛,蔡彤,陈晨,等. 中国药典2020年版细菌内毒素检查法补充方法应用研究[J]. 中国现代应用药学,2022,39(6):822-826.

[14] 裴宇盛,蔡彤,高华. 细菌内毒素检查新方法进展[J]. 药物分析杂志,2014,34(3):392-395.

(收稿日期:2023-05-06;修回日期:2023-08-30)