

## 托拉塞米原料药前处理及细菌内毒素检查方法研究

莫玉焕, 黄宪

(广西壮族自治区药品检验研究院, 南宁 530021)

**摘要** 目的: 建立托拉塞米原料药的细菌内毒素检查方法。方法: 用二甲基亚砜(DMSO)溶解托拉塞米, 再用细菌内毒素检查用水(BET水)稀释, 按中国药典四部通则 1143 相关规定, 分别采用凝胶法、动态浊度法、动态显色法检测样品中的内毒素, 考察托拉塞米溶液的干扰及内毒素回收比。结果: 样品用 DMSO 溶解后, 再用 BET 水稀释, 没有析出, 凝胶法、动态显色法、动态浊度法干扰试验符合规定, 可排除干扰。结论: 托拉塞米原料药经 DMSO 溶解后, 采用凝胶法、动态浊度法、动态显色法进行细菌内毒素检查均可行。

**关键词:** 托拉塞米; 细菌内毒素; 二甲基亚砜; 凝胶法; 动态显色法; 动态浊度法

中图分类号: R 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2024)06-0600-07

doi:10.19778/j.chp.2024.06.012

## Pretreatment of torasemide and bacterial endotoxin test methods research

MO Yuhuan, HUANG Xian

(Guangxi Institute for Drug Control, Nanning 530021, China)

**Abstract Objective:** To establish a bacterial endotoxin test method for torasemide. **Methods:** Torasemide was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO), and then diluted with bacterial endotoxin test water (BET water). According to the bacterial endotoxin test method of general rule 1143 in the fourth part of the 2020 edition of the "Pharmacopoeia of the People's Republic of China," the endotoxin in the sample was detected by gel method, dynamic turbidity method and dynamic chromogenic method, respectively. The interference of torasemide solution and the recovery ratio of endotoxin were investigated. **Results:** After the sample was dissolved in DMSO and diluted with BET water, there was no precipitation. The interference test of gel method, dynamic chromogenic method and dynamic turbidity method met the requirements and could be excluded. **Conclusion:** After dissolution of torasemide by DMSO, it is feasible to use gel method, dynamic turbidimetric method and dynamic chromogenic method for bacterial endotoxin test.

**Key words:** torasemide; bacterial endotoxin; DMSO; gel method; dynamic chromogenic method; dynamic turbidity method

托拉塞米属于吡啶磺酰脲类药物, 是新一代高效髓祥利尿剂, 作用于肾小管髓祥升支粗段, 通过阻断  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  协同转运蛋白促进水分排泄, 其副作用较小<sup>[1]</sup>。临床上用于治疗肝硬化腹

水、充血性心力衰竭、肾脏疾病引起的急慢性心力衰竭、中重度水肿, 防治急慢性肾功能衰竭, 治疗脑水肿及急性毒物和(或)药物中毒, 以及抢救原发性高血压危重症和多器官功能衰竭等急重

第一作者简介: 莫玉焕, 工程师, 硕士; 研究方向: 药理毒理研究。E-mail: 1449173541@qq.com

\* 通讯作者简介: 黄宪, 工程师, 硕士; 研究方向: 药理毒理研究。E-mail: 123329512@qq.com

症<sup>[2]</sup>。托拉塞米起效快、疗效稳定、效果持久、安全性和耐受性好,可避免传统利尿剂引起的水肿反应<sup>[3]</sup>。细菌内毒素主要成分为脂多糖,是一种外源性致热原,它能激活中性粒细胞,释放内源性热原质,作用于体温调节中枢引起发热,严重时会导致休克或死亡<sup>[4-5]</sup>。托拉塞米原料药为白色粉末,难溶于水,2020年版中国药典二部注射用托拉塞米细菌内毒素检查方法为取样品,用BET水稀释后检测细菌内毒素。该方法可能会有细菌内毒素包裹在未溶解的药物中而导致假阴性结果,因此本文探讨选择合适溶剂溶解托拉塞米后,再进行凝胶法、动态浊度法、动态显色法内毒素检查法研究。加入溶剂溶解样品后,溶剂的干扰作用能否被排除是本文的要点。本研究拟建立三种托拉塞米原料药的细菌内毒素检查方法。

## 1 实验材料

### 1.1 仪器

VORTEX 旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);DHK-8A 电热恒温槽(上海精宏实验设备有限公司);AL-204-IC 型电子天平(梅特勒-托利多公司);酶标仪 Multiskan ET(定量内毒素专用)(赛默飞世尔科技有限公司);精密天平(万分之一)ME204(梅特勒托利多公司);周围振荡器 VORTEX(德国艾卡公司)。

### 1.2 药品与试剂

托拉塞米原料药(Medilux Laboratories Pvt. Lt, 批号为TOR/001/21-22、TOR/002/21-22、TOR/004/21-22),后续用样品A、B、C表示;凝胶法鲎试剂(TAL-1:湛江安度斯生物有限公司,灵敏度 $0.125 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,批号2205170,装量 $0.65 \text{ mL/支}$ ;TAL-2:厦门鲎试剂生物科技股份有限公司,灵敏度 $0.125 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,批号23031008,装量 $0.1 \text{ mL/支}$ );动态浊度法鲎试剂(KTA)(灵敏度: $10 \sim 0.01 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,批号:2202150,装量: $1.25 \text{ mL/支}$ ,湛江安度斯生物有限公司生产);动态显色法鲎试剂(KCA)(灵敏度: $50 \sim 0.005 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,批号:2302070,装量: $1.25 \text{ mL/支}$ ,湛江安度斯生物有限公司);细菌内毒素国家标准品(规格: $9\ 000 \text{ EU/支}$ ,批号:150800-201601,中国食品药品检定研究院);细菌内毒素工作标准品(规格 $90 \text{ EU/支}$ ,批号150601-202191,中国食品药品检定研究院);细菌内毒素检查用水(BET水,规格 $50 \text{ mL/瓶}$ ,批号2208050,湛江博康海洋生物有限公司);二甲基亚砜(DMSO,北

京索莱宝科技有限公司,分析纯AR,批号710N0313)。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品细菌内毒素检查限值确定

依据中国药典四部通则1143,L按下式算: $L = K/M$ ,在注射剂中,K为 $5 \text{ EU}(\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$ ,M为人用每千克体质量每小时的最大供试品剂量,人均体质量按 $60 \text{ kg}$ 计算<sup>[6]</sup>。托拉塞米用于注射剂时,临床用药方法为静脉注射,每日注射一次,每日最大用量 $100 \text{ mg}$ ,托拉塞米原料药细菌内毒素检查理论限值(L)为 $3 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。中国药典中托拉塞米细菌内毒素检查项,设定的限值为:每 $1 \text{ mg}$ 托拉塞米中含内毒素的量应小于 $1 \text{ EU}$ 。为严格控制托拉塞米原料药安全性,将细菌内毒素限值定为:每 $1 \text{ mg}$ 托拉塞米中含内毒素的量应小于 $0.5 \text{ EU}$ 。

### 2.2 凝胶法试验

**2.2.1 灵敏度复核** 依据中国药典通则1143,本研究对所用凝胶法鲎试剂进行灵敏度复核。结果TAL-1与TAL-2的灵敏度 $\lambda_c$ 分别为 $\lambda$ 和 $0.72 \lambda$ ,均符合规定。

**2.2.2 干扰预实验** 目前市售的凝胶法鲎试剂灵敏度(范围多在 $0.03 \sim 0.5 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间,依据公式 $C = \lambda/L$ ,托拉塞米的限值为 $0.5 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ ,计算出托拉塞米对应的最小有效稀释浓度分别为 $0.06$ 、 $0.12$ 、 $0.25$ 、 $0.5$ 、 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。取A、B、C样品 $30.05$ 、 $30.08$ 、 $30.02 \text{ mg}$ ,先加 $2 \text{ mL}$  DMSO溶解,分别配制成 $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液,再加BET用水分别制成 $0.06$ 、 $0.12$ 、 $0.25$ 、 $0.5$ 、 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列NPC溶液。同时取上述A、B、C样品的 $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的DMSO溶液,加BET用水分别制成 $0.12$ 、 $0.25$ 、 $0.5$ 、 $1$ 、 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,分别 $1:1$ 加入 $0.5 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 细菌内毒素标准溶液,配制成含细菌内毒素 $0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列PPC溶液。再分别 $1:1$ 加入鲎试剂水溶液,混匀,观察TAL-1、TAL-2的NPC系列溶液和PPC系列溶液的凝结反应。每个浓度作2管,同时按常规设PC管和NC管。结果见表1。结果表明,样品在 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及以下质量浓度对鲎试剂和细菌内毒素的凝集反应无干扰作用。

**2.2.3 预先添加标准内毒素的细菌内毒素干扰试验** 取 $30 \mu\text{L}$ 浓度为 $1\ 000 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的细菌内毒素标准溶液,加入 $30.06 \text{ mg}$ 样品A中,加 $1.97 \text{ mL}$  DMSO溶解样品,加BET水稀释至含内毒素 $2 \lambda$ 的样品溶液,同法制成含内毒素 $\lambda$ 、 $0.5 \lambda$ 、 $0.25 \lambda$ ,

表 1 细菌内毒素干扰预试验

Tab. 1 Bacterial endotoxin interferes with the pre-test

TAL	Sample		Sample concentration/(mg · mL <sup>-1</sup> )					PC	NC
			1	0.5	0.25	0.12	0.06		
TAL-1	A	NPC	--	--	--	--	--	++	--
		PPC	--	--	++	++	++		
	B	NPC	--	--	--	--	--		
		PPC	--	--	++	++	++		
	C	NPC	--	--	--	--	--		
		PPC	--	--	++	++	++		
TAL-2	A	NPC	--	--	--	--	--	++	--
		PPC	--	--	++	++	++		
	B	NPC	--	--	--	--	--		
		PPC	--	--	++	++	++		
	C	NPC	--	--	--	--	--		
		PPC	--	--	++	++	++		

的样品溶液,依据通则 1143 的凝胶法相关规定,进行细菌内毒素检查干扰试验。结果表明,

DMSO溶解样品后,DMSO 没有使预先添加的细菌内毒素失去活性,见表 2。

表 2 预先添加细菌内毒素标准溶液的干扰预试验

Tab. 2 Pre-test of bacterial endotoxin interference with pre-added bacterial endotoxin standard solution

TAL	Sample	Concentration of endotoxin/(EU · mL <sup>-1</sup> )					Es/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Et/ (EU · mL <sup>-1</sup> )
		0.25	0.125	0.06	0.03	NC/NPC		
TAL-1	A	++++	-----	-----	-----	--		0.25
	BET	++	++	--	--	--	0.125	
TAL-2	A	++++	-----	-----	-----	--		0.25
	BET	++	++	--	--	--	0.125	

注:Es 为 BET 水制成的内毒素溶液的反应终点浓度的几何平均值;Et 为样品溶液制成的内毒素溶液的反应终点浓度几何平均值。后续表格 Es、Et 注释相同。

Note:Es is the geometric mean of the reaction end point concentration of the endotoxin solution made of BET water; Et is the geometric mean of the reaction end point concentration of the endotoxin solution made of the sample solution. The subsequent tables Es and Et have the same annotation.

**2.2.4 正式试验** 取 A、B、C 样品 30.05、30.08、30.02 mg,先加 2 mL DMSO 溶解,分别配制成 15 mg · mL<sup>-1</sup> 溶液,再用 BET 水稀释成 0.25 mg · mL<sup>-1</sup> 的样品溶液,采用 2 个不同厂家生产的灵敏度为 0.125 EU · mL<sup>-1</sup> 的鲎试剂,用凝胶法进行干扰试验。结果表明,Es 及 Et 均在 0.5 λ ~ 2.0 λ 范围内。表明样品经 DMSO 溶解后,用 BET 水稀释制成 0.25 mg · mL<sup>-1</sup> 溶液后,对细菌内毒素检查无干扰作用,结果见表 3。

**2.2.5 样品细菌内毒素检查** 取 A、B、C 样品,用 DMSO 溶解,制成 15 mg · mL<sup>-1</sup> 的溶液,再用 BET 水稀释制成 0.25 mg · mL<sup>-1</sup> 样品溶液,用 2 批不同厂家的鲎试剂按上述方法进行细菌内毒素检查试验。结果表明,3 批样品中的细菌内毒素限值

均符合规定。

**2.3 动态浊度法试验**

**2.3.1 标准曲线可靠性试验** 用 BET 水溶解细菌内毒素标准品,制备浓度为 10、1、0.1、0.01 EU · mL<sup>-1</sup> 的内毒素标准品溶液,将 4 个浓度的标准品溶液分别加入装有 0.1 mL 鲎试剂的反应试管中,每支每个浓度平行 3 管,同时做阴性对照 2 管,仪器工作波长 405 nm,预设吸光度 0.02,反应时间 7 200 s。将数据进行线性回归分析,拟合方程为 LgT = 2.937 6 - 0.223 6LgC,相关系数 r 为 -0.998 3 (绝对值应 > 0.98),平行管之间的变异系数 (0.66% ~ 2.42%) 均小于 10%,鲎试剂标准曲线可靠性试验结果符合规定,可用于细菌内毒素检查。

表3 细菌内毒素干扰试验

Tab. 3 Bacterial endotoxin interference test

TAL	Sample	Concentration of endotoxin/(EU · mL <sup>-1</sup> )				NC /NPC	Es/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Et/ (EU · mL <sup>-1</sup> )
		0.25	0.125	0.06	0.03			
TAL-1	BET	++++	++++	-----	-----	--	0.125	
	A	++++	++++	-----	-----	--		0.125
	B	++++	++++	-----	-----	--		0.125
	C	++++	++++	-----	-----	--		0.125
TAL-2	BET	++++	++++	-----	-----	--	0.125	
	A	++++	++++	-----	-----	--		0.125
	B	++++	++++	-----	-----	--		0.125
	C	++++	++++	-----	-----	--		0.125

2.3.2 干扰预试验 样品用 DMSO 溶解后,供试液初始浓度 15 mg · mL<sup>-1</sup>,最大有效稀释倍数 MVD = CL/λ = 750倍。选样品 A,先用 DMSO 溶解制成 15 mg · mL<sup>-1</sup>溶液,再用 BET 水将样品稀释成 0.15、0.075、0.037 5 mg · mL<sup>-1</sup>,制成供试品溶液,同时用 2 倍浓度的各梯度供试品溶液与 0.2 EU · mL<sup>-1</sup>的细菌内毒素标准品溶液等体积混合,制备成 0.15、0.075、0.037 5 mg · mL<sup>-1</sup> (含内毒

素均为 0.1 EU · mL<sup>-1</sup>, λm) 的供试品阳性对照液。结果显示:实测值 0.000 11、0.000 08、0.000 09 EU · mL<sup>-1</sup>等数据不在标准曲线范围内,因此原液浓度以小于标准曲线最低值来计算。供试品溶液稀释 200 倍以上回收率符合规定(范围在 50% ~ 200% 之间),供试品溶液稀释 400 倍时的回收率更接近 100%,因此选择稀释 400 倍进行动态浊度法细菌内毒素检查。结果见表 4。

表4 动态浊度法干扰预试验

Tab. 4 Dynamic turbidity interference pre-test

Sample	Sample concentration/(mg · mL <sup>-1</sup> )	Dilution ratio	Concentration of endotoxin/(EU · mL <sup>-1</sup> )	Time to limit/s	Coefficient of variation/%	Recovery rate/%	Measured value/(EU · mL <sup>-1</sup> )	Bacterial endotoxin content of sample/(EU · mg <sup>-1</sup> )
A	0.037 5	400		6 802	3.82		0.000 09	<0.267
				7 180				
	0.037 5	400	0.1	1 414	1.92	104.96	0.105 05	
				1 453				
	0.075	200		>7 200	0.00		<0.000 08	<0.133
				>7 200				
	0.075	200	0.1	1 513	0.14	82.81	0.082 89	
				1 510				
	0.15	100		7 075	7.58		0.000 11	<0.067
				6 355				
	0.15	100	0.1	1 861	0.53	32.04	0.032 15	
				1 875				

2.3.3 干扰试验及样品内毒素检查 为了最终确认是否存在干扰因素的影响,取 3 批托拉塞米原料药,标准曲线范围为 0.01 ~ 10 EU · mL<sup>-1</sup>,对溶解后样品(15 mg · mL<sup>-1</sup>)稀释 400 倍,结果 3 批样品细菌内毒素均小于 0.5 EU · mg<sup>-1</sup>,符合标准规定,结果见表 5。

2.4 动态显色法试验

2.4.1 标准曲线可靠性试验 用 BET 水溶解细菌内毒素标准品,制备浓度为 5、0.5、0.05、0.005 EU · mL<sup>-1</sup>的内毒素标准品溶液,将 4 个浓度的标准品溶液分别加入装有 0.1 mL 鲎试剂的反应

表5 动态浊度法干扰试验及样品细菌内毒素检查

Tab. 5 Dynamic turbidity interference test and bacterial endotoxin test of sample

Sample	Sample concentration/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	Dilution ratio	Concentration of endotoxin/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Time to limit/s	Coefficient of variation/%	Recovery rate/%	Measured value/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Bacterial endotoxin content of sample/ (EU · mg <sup>-1</sup> )
A	0.037 5	400		>7 200	6.36		<0.000 10	<0.267
	0.037 5	400		6 580				
	0.037 5	400	0.1	1 470	2.64	120.18	0.120 27	
	0.037 5	400	0.1	1 526				
B	0.037 5	400		>7 200	0.00		<0.000 08	<0.267
	0.037 5	400		>7 200				
	0.037 5	400	0.1	1 603	5.21	103.83	0.103 91	
	0.037 5	400	0.1	1 489				
C	0.037 5	400		>7 200	0.00		<0.000 08	<0.267
	0.037 5	400		>7 200				
	0.037 5	400	0.1	1 507	6.58	93.72	0.093 80	
	0.037 5	400	0.1	1 654				

试管中,每支每个浓度平行3管,同时做阴性对照2管,仪器工作波长405 nm,预设吸光度值0.02,反应时间7 200 s。将数据进行线性回归分析,拟合方程为  $LgT = 2.723 1 - 0.274 2LgC$ , 相关系数  $r$  为  $-0.999 7$  (绝对值应  $>0.98$ ), 平行管之间的变异系数 (1.89% ~ 3.78%) 均小于 10%, 鲎试剂标准曲线可靠性试验结果符合规定,可用于细菌内毒素检查。

**2.4.2 干扰预试验** 样品用 DMSO 溶解后,供试液初始浓度  $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 最大有效稀释倍数  $MVD = CL/\lambda = 1 500$  倍。选样品 A,先用 DMSO 溶解制成  $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  溶液,再用 BET 水将样品稀释成  $0.15, 0.075, 0.037 5, 0.018 75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 制成供试品溶液,同时用 2 倍浓度的各梯度供试品溶液与  $1 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  的细菌内毒素标准品溶液等体积混合,制备成  $0.15, 0.075, 0.037 5, 0.018 75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  (含内毒素均为  $0.5 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\lambda m$ ) 的供试品阳性对照液。结果显示:实测值  $0.003 16, 0.004 54, 0.003 06 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  等数据不在标准曲线范围内,因此原液浓度以小于标准曲线最低值来计算。供试品稀释 200 倍以上回收率符合规定 (范围在 50% ~ 200% 之间), 供试品溶液稀释 200 倍回收率更接近 100%, 因此选择稀释 200 倍进行动态显色法细菌内毒素检查。结果见表 6。

**2.4.3 干扰试验及样品内毒素检查** 为了最终确认是否存在干扰因素的影响,取 3 批托拉塞米原料药,标准曲线设置 4 个点,  $0.005, 0.05, 0.5, 5 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 供试品溶液稀释成  $0.075 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 结果显示:3 批次供试

品细菌内毒素含量均小于  $0.067 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ , 符合规定 (均小于  $0.5 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ ), 结果见表 7。

### 3 讨论

难溶性样品进行细菌内毒素检测需找到合适的溶剂以及排除干扰,溶解方法包括有机溶剂 (乙醇、DMSO、三氯甲烷、二氯甲烷、甲醇、*N,N*-二甲基甲酰胺、甘露醇、四氢呋喃等)、非有机溶剂 (二价金属离子溶剂、酸/碱溶剂、表面活性剂助溶等)、物理方法 (加热、超声、离心、研磨、水萃取等), 排除干扰的方法包括补充二价阳离子、调节 pH、使用分散剂、抗增液等<sup>[4,6-11]</sup>。本实验在使用 DMSO 溶解样品时,经过反复摸索,选择合适的初始浓度,再后续用 BET 水稀释过程中,防止 DMSO 的比例降低而导致样品析出。

本研究中发现用三种方法检测托拉塞米细菌内毒素的限值均符合规定。除第一种凝胶法为定性检测方法外,其他两种均为定量检测法,本研究中动态浊度法和动态显色法测得的细菌内毒素含量的结果显示,其定量结果均小于鲎试剂的灵敏度最低值,表明该药的内毒素含量较低,生产工艺合理。

综上所述,本研究采用 DMSO 为溶剂,可以将难溶于水的托拉塞米原料药中细菌内毒素溶解出来,再通过用 BET 水稀释来排除供试品和 DMSO 的干扰作用。经过本实验验证,可使用所建立的方法进行托拉塞米原料药细菌内毒素定性检测及定量检测。

表6 动态显色法干扰预试验

Tab. 6 Dynamic chromogenic interference pre-test

Sample	Sample concentration/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	Sample concentration	Concentration of endotoxin/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Time to limit/s	Coefficient of variation/%	Recovery rate/%	Measured value/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Bacterial endotoxin content of sample/ (EU · mg <sup>-1</sup> )
A	0.018 75	800		1 425	1.86		0.003 16	<0.267
	0.018 75	800		1 463				
	0.018 75	800	0.5	581	0.00	178.09	0.893 59	
	0.018 75	800	0.5	581				
	0.037 5	400		1 361	0.16		0.004 54	<0.133
	0.037 5	400		1 364				
	0.037 5	400	0.5	605	0.23	139.58	0.702 46	
	0.037 5	400	0.5	603				
	0.075	200		1 438	1.36		0.003 06	<0.067
	0.075	200		1 466				
	0.075	200	0.5	634	0.67	106.52	0.535 66	
	0.075	200	0.5	628				
	0.15	100		1 462	1.02		0.003 06	<0.033
	0.15	100		1 441				
	0.15	100	0.5	765	0.74	32.93	0.167 72	
	0.15	100	0.5	757				

表7 动态显色法干扰试验及样品细菌内毒素检查

Tab. 7 Dynamic chromogenic interference test and bacterial endotoxin test of sample

Sample	Sample concentration/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	Dilution ratio	Concentration of endotoxin/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Time to limit/s	Coefficient of variation/%	Recovery rate/%	Measured value/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	Bacterial endotoxin content of sample/ (EU · mg <sup>-1</sup> )
A	0.075	200		3 810	0.62		0.000 76	<0.067
	0.075	200		3 777				
	0.075	200	0.5	637	2.63	96.07	0.481 09	
	0.075	200	0.5	658				
B	0.075	200		3 553	8.17		0.001 18	<0.067
	0.075	200		3 165				
	0.075	200	0.5	623	2.67	102.23	0.512 19	
	0.075	200	0.5	647				
C	0.075	200		3 605	5.71		0.001 05	<0.067
	0.075	200		3 325				
	0.075	200	0.5	651	1.93	88.81	0.444 91	
	0.075	200	0.5	669				

参考文献

[ 1 ] 刘初铭, 胡列计, 等. 硝酸甘油联合托拉塞米在高血压危象并发急性肺水肿患者的应用[J]. 现代诊断与治疗, 2016, 27(23):4447.  
LIU CM, HU LJ. Nitroglycerin combined with torasemide in patients with hypertensive crisis in patients with acute pulmonary edema[J]. Mod Diagn Treat, 2016, 27(23):4447.

[ 2 ] 奚亚楠. 托拉塞米注射液治疗水肿性疾病安全性和利尿效

果研究[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(19):4423.  
XI YN. Study on the safety and diuretic effect of torasemide injection in the treatment of edematous diseases[J]. Mod Diagn Treat, 2014, 25(19):4423.

[ 3 ] 麦兰芳, 曾连有, 廖小明, 等. 强肾保心汤联合托拉塞米治疗慢性心力衰竭临床研究[J]. 河北中医, 2020, 42(3):415.  
MAI LF, ZENG LY, LIAO XM, et al. Clinical study on Qiang-

- shen Baoxin decoction combined with torasemide in treatment of chronic heart failure[J]. Hebei J Tradit Chin Med, 2020, 42(3):415.
- [ 4 ] 张晨雪, 裴宇盛, 蔡彤. 难溶性原料药、辅料、制剂细菌内毒素检查方法的研究进展[J]. 中国药物警戒, 2023, 21(3):273.
- ZHANG CX, PEI YS, CAI T. Research progress in bacterial endotoxin test methods for insoluble raw materials, excipients and preparations[J]. Chin J Pharmacov, 2023, 21(3):273.
- [ 5 ] 田祥学. 细菌内毒素检查法及其在药品检验中的应用[J]. 中国医药指南, 2015, 13(23):278.
- TIAN XX. Bacterial endotoxin test and its application in drug testing[J]. Guide China Med, 2015, 13(23):278.
- [ 6 ] 晏成倩, 黄梅梅, 王红平, 等. 一种难溶性原料药细菌内毒素检查方法的建立[J]. 中国药师, 2018, 21(2):365.
- YAN CQ, HUANG MM, WANG HP, *et al.* Establishment of bacterial endotoxin test for an insoluble drug substance[J]. China Pharmacist, 2018, 21(2):365.
- [ 7 ] 陈晨, 赵小燕, 裴宇盛. 胆固醇的细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国现代应用药理学, 2023, 40(1):82.
- CHEN C, ZHAO XY, PEI YS. Study on bacterial endotoxin test of cholesterol[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(1):82.
- [ 8 ] 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.
- ZHANG HM, FANG F, LI XS, *et al.* Bacterial endotoxin test methodology of insulin glargine active pharmaceutical ingredients[J]. China Pharm, 2022, 31(20):72.
- [ 9 ] 黄逯, 谢鹏. 盐酸赖氨酸(注射用)细菌内毒素检查法的研究[J]. 中国药业, 2024, 33(5):73.
- HUANG L, XIE P. Bacterial endotoxin test of lysine hydrochloride(for injection)[J]. China Pharm, 2024, 33(5):73.
- [ 10 ] 洪颖, 翁鹭娜, 林丽花, 等. 氟维司群注射液前处理及细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国药业, 2024, 33(6):69.
- HONG Y, WENG LN, LIN LH, *et al.* Study on pre-treatment and bacterial endotoxin test of fulvestrant injection[J]. China Pharm, 2024, 33(6):69.
- [ 11 ] 王蓉蓉, 曹迎亚, 汪云霞, 等. 动态显色法在注射用甲磺酸萘莫司他细菌内毒素检查的运用分析[J]. 中国药品标准, 2024, 25(2):195.
- WANG RR, CAO YY, WANG YX, *et al.* Investigation on bacterial endotoxin in nafamostat mesilate for injection by kinetic chromogenic assay[J]. Drug Stand China, 2024, 25(2):195.

(收稿日期:2024-09-20)