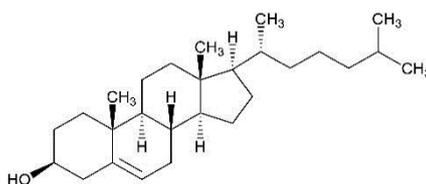


## 附件：胆固醇药用辅料标准草案公示稿（第二次）

## 胆固醇

Danguchun

Cholesterol

C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O 386.7

[57-88-5]

本品为胆甾-5 烯-3β-醇。按干燥品计算，含胆固醇（C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O）应为 95.0%~102.0%；若为供注射用，按干燥品计算，含胆固醇（C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O）应为 97.0%~102.0%。

【性状】本品为白色或类白色结晶性粉末或块状结晶。

本品在三氯甲烷中易溶，在乙醚中溶解，在丙酮、乙酸乙酯或石油醚中略溶，在乙醇中微溶，在水中不溶。

熔点 本品的熔点（通则 0612）为 147~150℃。

比旋度 取本品，精密称定，加二氧六环溶解并定量稀释制成每 1ml 中含 20mg 的溶液，依法测定（通则 0621），比旋度应为-34°至-38°。

过氧化值（供注射用）本品的过氧化值（通则 0713）不得过 10。

【鉴别】（1）取本品约 10mg，加三氯甲烷 1ml 溶解后，加硫酸 1ml，三氯甲烷层显血红色，硫酸层对光侧视应显绿色荧光。

（2）取本品约 5mg，加三氯甲烷 2ml 使溶解，加醋酐 1ml，硫酸 1 滴，即显粉红色，迅速变为蓝色，最后呈亮绿色。

（3）取本品与胆固醇对照品适量，分别加丙酮制成每 1ml 约含 2mg 的溶液，作为供试品和对照品溶液。照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述两种溶液各 20μl，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲苯（1:2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 30% 三氯化锑的三氯甲烷溶液，于 105℃干燥 5 分钟，立即检视。供试品溶液所显主斑点的位置和颜色应与对照品溶液的主斑点相同。

（4）（1）本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致（通则 0402）。

（2）在含量测定项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

**【检查】酸度** 取本品 1.0g，置具塞锥形瓶中，加乙醚 10ml 溶解后，精密加入 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 10ml，振摇约 1 分钟，缓缓加热除去乙醚，煮沸 5 分钟，放冷，加水 10ml，在磁力搅拌下加酚酞指示液 2 滴，用硫酸滴定液（0.05mol/L）滴定至粉红色消失，同时做空白试验。空白试验消耗的硫酸滴定液毫升数与供试品消耗的硫酸滴定液毫升数之差不得过 0.3ml。

**乙醇中不溶物** 取本品 0.5g，加乙醇 50ml，温热使溶解后，静置 2 小时，不得产生沉淀或浑浊。

**有关物质（植物来源且供注射用）** 取本品适量，精密称定，加衍生化溶液（含 1% 三甲基氯硅烷的 N,O-双（三甲基硅基）三氟乙酰胺溶液-无水吡啶（40：60））超声溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 25mg 的溶液，摇匀，室温放置 30 分钟，作为供试品溶液。

精密量取供试品溶液适量，用衍生化溶液定量稀释制成每 1ml 中约含 125 $\mu$ g 的溶液，作为对照溶液。

照气相色谱法（通则 0521）测定，以 50% 苯基-50% 甲基聚硅氧烷（或极性相近）为固定液的毛细管柱为色谱柱；起始温度为 250 $^{\circ}$ C，以每分钟 6 $^{\circ}$ C 的速率升温至 280 $^{\circ}$ C，维持 30 分钟；进样口温度为 280 $^{\circ}$ C；检测器温度为 280 $^{\circ}$ C。

精密量取供试品溶液和对照溶液各 1 $\mu$ l，分别注入气相色谱仪，记录色谱图，对照溶液色谱图中主峰理论板数应不小于 5000。供试品溶液色谱图中如有杂质峰，单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积（0.5%），各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的 2 倍（1.0%）。

**其他甾醇（供注射用）** 照含量测定项下的方法测定，供试品溶液的色谱图中除溶剂峰与内标溶液引入峰外，如有其他杂质峰，相对保留时间小于或等于胆固醇保留时间 1.5 倍的其他甾醇总量不得过主峰峰面积的 2.0%（非猪脑来源）或 3.0%（猪脑来源）。供试品溶液色谱图中小于或等于 0.05% 的峰忽略不计。

**苯甲酰脲（羊毛脂来源且供注射用）** 取本品 1.0g，精密称定，置碘量瓶中，加正庚烷 200ml，磁力搅拌使溶解，全部转移至带有聚四氟乙烯活塞的分液漏斗中，加乙腈 10ml 振摇，静置使分层，收集下层乙腈提取液，在分液漏斗中再加乙腈 10ml 振摇，静置使分层，收集并合并 2 次乙腈提取液，用旋转蒸发器蒸干后，精密加入乙腈-水（1：1）1.0ml 溶解残渣，超声 5 分钟使溶解，以每分钟 4000 转的速率离心 5 分钟，取上清液过滤，作为供试品溶液。

另取二氟脲与杀铃脲各适量，精密称定，加乙腈溶解并定量稀释制成每 1ml 中各约含 0.1 $\mu$ g 的溶液，作为对照品贮备液；精密量取 5ml，置 10ml 碘量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，作为对照品溶液（1）；另取本品 1.0g，精密称定，置碘量瓶中，加正庚烷 200ml，磁力搅拌使溶解，全部转移至带有聚四氟乙烯活塞的分液漏斗中，加对照品贮备液 0.5ml 与乙腈 9.5ml 振摇，静

置使分层，收集下层乙腈提取液，在分液漏斗中再加乙腈 10ml 振摇，静置使分层，收集并合并 2 次乙腈提取液，用旋转蒸发仪蒸干后，精密加入乙腈-水（1：1）1.0ml 溶解残渣，超声 5 分钟使溶解，以每分钟 4000 转的速率离心 5 分钟，取上清液过滤，作为对照品溶液（2）。

取对照品溶液（1）3ml，用乙腈-水（1：1）稀释至 10ml，摇匀，作为灵敏度溶液。

照高效液相色谱法（通则 0512）测定，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-水（1：1）为流动相 A，以乙腈为流动相 B，按下表进行梯度洗脱；检测波长为 254nm。

取灵敏度溶液 100 $\mu$ l 注入液相色谱仪，杀铃脲峰峰高的信噪比应大于 5。

精密量取供试品溶液、对照品溶液（1）与对照品溶液（2）各 100 $\mu$ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。供试品溶液的色谱图中如有与对照品溶液（1）中二氟脲峰和杀铃脲峰保留时间一致的色谱峰，其峰面积均不得大于对照品溶液（2）中的相应峰面积的 0.5 倍（0.00005%）。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0.0	100	0
20.0	100	0
20.5	0	100
30.0	0	100
30.5	100	0
40.0	100	0

~~干燥失重~~ 取本品，在 105 $\square$ 干燥至恒重，~~减失重量不得过 0.3%；若为供注射用，减失重量不得过 0.1%（通则 0831）。~~

~~炽灼残渣~~ 取本品 1g，依法检查（通则 0841），~~遗留残渣不得过 0.1%。~~

~~重金属~~ 取炽灼残渣项下遗留的残渣，依法检查（通则 0821 第二法），~~含重金属不得过百万分之十。~~

~~砷盐~~ 取本品 1.0g，加氢氧化钙 1.0g，混合，加水少量搅拌均匀，干燥后，先用小火烧灼使炭化，再在 500~600 $\square$ 炽灼使完全灰化，放冷，加盐酸 5ml 与水 23ml 使溶解，依法检查（通则 0822 第一法），~~应符合规定（0.0002%）。~~

细菌内毒素（供注射用） 取本品，采用适当溶剂溶解，依法检查（通则 1143），每 1mg 胆固醇（供注射用）中含内毒素的量应小于标示值。（若供试品溶液制备过程中出现浑浊，可加入适宜浓度增溶剂使溶液澄清，如聚氧乙烯（35）蓖麻油、聚山梨酯 80 等。）

微生物限度（供注射用） 取本品，依法检查（通则 1105 与通则 1106），每 1g 供试品中需氧菌总数不得过 10<sup>2</sup>cfu。

**【含量测定】**照气相色谱法（通则 0521）测定。

**色谱条件与系统适用性试验** 以5%苯基-95%甲基聚硅氧烷（或极性相近）为固定液的毛细管柱，柱温为275℃；进样口温度为285℃；检测器温度为300℃；载气为氮气，载气流速为1.2ml/min。胆固醇峰与内标峰的分离度应不小于10.0。

**内标溶液的制备** 取孕烯醇酮异丁酸酯适量，加正庚烷溶解并定量稀释制成每1ml中约含1mg的溶液，即得。

**测定法** 避光操作。取本品约25mg，精密称定，置25ml碘量瓶中，加内标溶液溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液，精密量取1μl注入气相色谱仪，记录色谱图；另取胆固醇对照品，同法测定。按内标法以峰面积计算，即得。

**【类别】**药用辅料，乳化剂和软膏基质等。

**【贮藏】**遮光，密封保存。

**【标示】**①应标明本品的来源，动物或植物来源；若为动物来源，还应标明使用的物种和组织，如猪脑、鸡蛋黄、羊毛脂、牛脊髓等。②若为牛源性的胆固醇，应提供TSE/BSE潜在风险声明。③应标明每1g胆固醇（供注射用）中含内毒素的量应小于标示值或每1g胆固醇（供注射用）中含内毒素的量。

**注：**①本品在乙醚中溶解，在丙酮、乙酸乙酯中略溶，在乙醇中微溶，在水中不溶。②为满足制剂安全性和有效性要求，必要时，可对生产工艺中使用镍作为催化剂的供注射用的胆固醇中元素杂质镍进行控制。

起草单位：中国食品药品检定研究院

联系电话：010-67095126

湖南省药品检验检测研究院

联系电话：0731-82275835

复核单位：江苏省食品药品监督检验研究院、广东省药品检验所、

四川省药品检验研究院（四川省医疗器械检测中心）

积极参与单位：广州白云山汉方现代药业有限公司、南京绿叶制药有限公司、

艾伟拓（上海）医药科技有限公司、湖南复瑞生物医药技术有限责任公司、  
湖南科瑞生物制药股份有限公司

提供样品单位：默克化工技术（上海）有限公司、厦门赛诺邦格生物科技股份有限公司、  
江苏佳尔科药业集团股份有限公司、赢创特种化学（上海）有限公司

## 胆固醇药用辅料标准草案起草说明

**1、鉴别：**标准草案中增订胆固醇气相鉴别，保留专属性强的红外鉴别，删除专属性不强的鉴别（1）（2）化学反应和（3）薄层色谱鉴别。

**2、过氧化值（供注射用）：**标准草案中参考现行版 EP 胆固醇（供注射用）标准增订该项目。

**3、有关物质（植物来源且供注射用）：**标准草案中参考现行版 EP 胆固醇（合成途径且供注射用）标准，采用气相衍生法测定有关物质。

**4、其他甾醇（供注射用）：**标准草案中参考现行版 EP 和 USP，并根据胆固醇来源差异，分别规定相对保留时间小于或等于胆固醇保留时间 1.5 倍的其他甾醇总量不得过主峰峰面积的 2.0%或 3.0%（猪脑来源）。

**5、苯甲酰脲（羊毛脂来源且供注射用）：**标准草案中参考现行版 EP 胆固醇（羊毛脂来源且供注射用）标准，采用高效液相色谱法测定苯甲酰脲。其中二氟脲与杀铃脲可采用市售高纯度试剂。

**6、重金属：**根据 ICH Q3D 指导原则，对本品的元素杂质进行评估后删除现行标准中的重金属检查项。

**7、砷盐：**根据 ICH Q3D 指导原则，对本品的元素杂质进行评估后删除现行标准中的砷盐检查项。

**8、细菌内毒素（供注射用）：**标准草案中参考现行版 EP 胆固醇（供注射用）标准，同时结合企业实际操作反馈，删除了对具体实验细节的描述，请采用适合各企业自身产品的方法进行检测并验证。

**9、微生物限度（供注射用）：**为规范本品检验，列出了具体的操作步骤，请相关企业进行实验验证。

**10、含量测定：**标准草案中参考现行版 EP 和 USP 标准，采用气相内标法对本品的含量进行测定，删除 HPLC-ESLD 含量测定法。