

缩宫素注射液的有关物质研究

黄青^{1,2}, 陆益红^{2*}, 史清水², 金卫红², 汪玉馨², 张玫²

(1. 中国药科大学, 南京 210009; 2. 江苏省食品药品检验所, 南京 210008)

摘要 目的: 针对缩宫素注射液现行标准中未对注射液中有关物质进行控制的情况, 建立了缩宫素注射液有关物质的 HPLC 测定法, 并对 2010 年国家评价性抽检中 178 批缩宫素注射液样品进行了测定。方法: 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以 0.1 mol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液作为流动相 A, 以水-乙腈 (1:1) 作为流动相 B, 梯度洗脱, 柱温 40 °C, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 220 nm。结果: 在本文色谱条件下, 主峰和杂质峰能得到良好的分离; 缩宫素在浓度 0.36 ~ 23.04 IU · mL⁻¹ 范围内峰面积与浓度呈良好线性关系, $r = 0.9999$; 平均回收率 99.1% ($n = 9$)。178 批缩宫素注射液总杂质为 25.9% ~ 36.0%, 单个最大杂质为 6.1% ~ 13.0%。结论: 该法专属性强, 灵敏、准确, 可作为缩宫素注射液的质量控制方法。现行标准不能有效控制药品质量, 体现在有关物质偏高。研究表明制剂中的有关物质部分是由原料引入, 因此, 必须修订并提高原料和制剂的质量标准, 增加有关物质检查。建议原料生产企业采用固相合成工艺的缩宫素提高原料质量, 加强生产过程中各个环节的质量意识。

关键词: 缩宫素注射液; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)10-1856-06

HPLC determination of oxytocin injection and its related substances

HUANG Qing^{1,2}, LU Yi-hong^{2*}, SHI Qing-shui²,
JIN Wei-hong², WANG Yu-xing², ZHANG Mei²

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China)

Abstract Objective: A selective gradient liquid chromatographic method for the determination of oxytocin and its related substances has been developed and applied to analyze 178 batches of commercial oxytocin injection samples. **Methods:** An Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used for the gradient elution. The mobile phases consisted of 0.1 mol · L⁻¹ dihydrogen phosphate solution (adjust to pH 6.0) - acetonitrile (50:50). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. UV detection was performed at 220 nm and the column temperature was set to 40 °C. **Results:** Oxytocin and its related substances were successfully detected by the established method. The method showed good resolution and linearity between peak area and oxytocin concentration at the range of 0.36 - 23.04 IU · mL⁻¹ with $r = 0.9999$. The average recoveries ($n = 9$) was 99.1%. In 178 batches of commercial oxytocin injection samples, the total content of impurity range from 25.9% to 36.0%, the largest content of single impurity range from 6.1% to 13.0%. **Conclusion:** The method is proved to be specific, sensitive and accurately and could be used to control the quality of oxytocin injection. Furthermore, the method proved to be successful when applied to analyze 178 batches of commercial oxytocin injection samples. The research suggests that the existing standards is in deficiencies and need to be improved immediately by using more proprietary methods such as HPLC to control and check the quality of drugs. Most of the impurities in the oxytocin injections are related to the raw materials and the raw materials produced by solid-phase peptide synthesis method should be used by guiding the enterprises.

Key words: oxytocin injection; related substances; HPLC

* 通讯作者 Tel: (025) 86633622; E-mail: yihonglu@163.com

缩宫素 (oxytocin) 是垂体后叶激素的主要成分,由6个氨基酸组成的环状结构与3个氨基酸组成的侧链结构构成,与它同为垂体后叶激素的成分加压素结构极为相似,仅相差第3与8位2个氨基酸。缩宫素最初是由猪、牛脑神经垂体中提取制得,自20世纪50年代, Du Vigneaud 采用液相法完成了缩宫素的全合成。作为妇产科用药,缩宫素具有间接刺激子宫平滑肌收缩的作用,临床用于引产、催产、产后及流产后因宫缩无力或缩复不良而引起的子宫出血。

国内的缩宫素注射液目前均以合成缩宫素为原料制得,其质量标准收载于 ChP 2005^[1] 年版和 ChP 2010^[2] 年版,未设置有关物质检查项,且起始原料缩宫素溶液(质量标准收载于《国家药品标准》化学药品地标升国标第九册)也未进行有关物质的控制。因此,我们参考 USP32^[3]、EP6.0^[4],建立了缩宫素注射液有关物质的 HPLC 测定方法,并进行了方法学验证,为其质量标准的建立提供了准确可靠的方法;并用该方法评价了现行质量标准未设置有关物质检查项的情况下,市场注射液有关物质的总体状况。

1 仪器与试剂

岛津 LC20 HPLC 色谱仪(PDA 检测器); EP 缩宫素对照品(0.96 mg·瓶⁻¹, 600 IU·mg⁻¹, 批号: 4.0); 去氨加压素对照品(5.7 mg·瓶⁻¹, 纯度 98.87%, GL Biochem, 批号: P100518 - ZG061714); 缩宫素注射液,为2010年国家评价性抽样样品,来自8个厂家共178批样品(规格均为10 IU·mL⁻¹); 乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱: C₁₈ 柱 (Agilent ZORBAX SB - C₁₈) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 以 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠溶液 877 mL 与 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠溶液 123 mL 混匀, pH 6.0) 作为流动相 A, 以水 - 乙腈(1:1) 作为流动相 B, 梯度洗脱(表 1) 柱温 40 °C, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 220 nm, 进样量 100 μL。取缩宫素对照品、去氨加压素对照品各适量, 加流动相 A 制成每 1 mL 中分别含 5 IU 和 5 μg 的溶液, 作为系统适用性试验溶液。缩宫素峰与去氨加压素峰的分度应大于 5.0 (图 1)。

表 1 液相梯度洗脱条件(%)

Tab 1 Gradient elution conditions

时间 (time) /min	流动相(mobile phase)	
	A	B
0	75	25
5	75	25
35	35	65
35.1	75	25
45	75	25

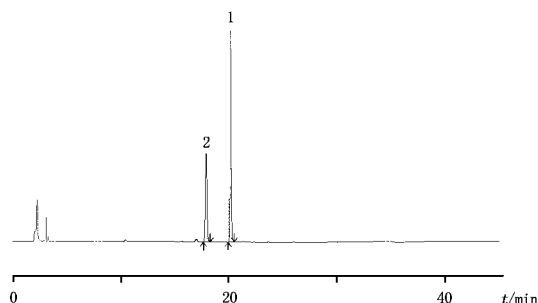


图 1 缩宫素及去氨加压素的色谱图

Fig 1 Chromatograms of oxytocin and desmopressin

1. 缩宫素(oxytocin) 2. 去氨加压素(desmopressin)

2.2 专属性考察 本品为缩宫素原料的水溶液, 部分厂家在制备过程中加入防腐剂三氯叔丁醇。故加入缩宫素对照品与三氯叔丁醇对照品, 按“2.1”项下方法进行分析, 记录色谱图(图 2), 结果在此色谱条件下溶剂峰与三氯叔丁醇峰不干扰缩宫素测定。取缩宫素注射液, 分别经强酸(1 mol·L⁻¹ 盐酸), 1 h; 强碱(1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液); 高温(沸水浴, 2 h); 高压(121 °C, 30 min) 破坏处理, 中和后, 取 100 μL 按“2.1”中方法进行分析(图 3)。结果表明: 在上述色谱条件下各种破坏后的降解产物与主峰完全分离, 不干扰样品的测定。

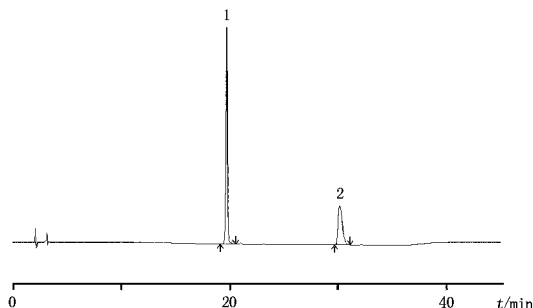


图 2 缩宫素及防腐剂三氯叔丁醇的色谱图

Fig 2 Chromatograms of oxytocin and chlorobutanol

1. 缩宫素(oxytocin) 2. 三氯叔丁醇(chlorobutanol)

2.3 线性关系考察 取缩宫素对照品适量, 精密称定, 用流动相 A 溶解并稀释制成每 1 mL 中含缩宫

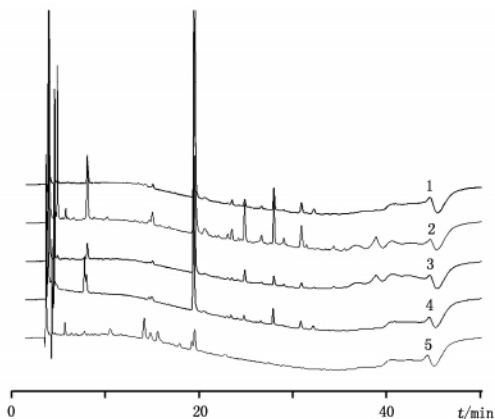


图3 方法专属性考察图谱

Fig 3 Chromatograms of specificity validation

1. 样品(sample) 2. 高温(destroyed by heat) 3. 高压(destroyed by high pressure) 4. 酸破坏(destroyed by acid) 5. 碱破坏(destroyed by alkaline)

素浓度分别为 23.04 ,11.52 ,5.76 ,2.88 ,1.44 ,0.72 IU 的供试品溶液 ,分别精密量取 100 μL ,注入液相色谱仪 ,记录色谱图 ,以缩宫素的峰面积 *A* 对其浓度 *C* 进行线性回归 ,回归方程为:

$$Y = (6.8471 \times 10^{-6}) X + 0.4326 \quad r^2 = 0.9999$$

结果表明在 0.36 ~ 23.04 IU · mL⁻¹ 范围内 ,缩宫素色谱峰面积与其浓度成良好线性关系。

2.4 定量限、检测限 取缩宫素对照品适量 ,加流动相 A 稀释制成含一定浓度缩宫素的溶液 ,照“2.1”项下色谱条件进样 ,记录色谱图 ,检测限为 0.15 IU (3 倍信噪比) ,定量限为 0.5 IU (10 倍信噪比)。

2.5 重复性试验 分别取同一批号的缩宫素注射液(批号:100125) 6 份 ,精密量取 100 μL ,注入液相色谱仪 ,记录色谱图。结果表明:缩宫素峰面积 RSD 为 0.05% ;总杂质峰面积的 RSD 为 0.31% ,重复性良好 ,RSD% < 1.0%。

2.6 回收率试验 取已知含量的缩宫素注射液样品(批号:100125) 1 mL ,分别精密加入合成缩宫素标准品溶液(30 ,10 ,2 IU · mL⁻¹) 1 mL ,使成高、中、低 3 个浓度 ,每个浓度测定 6 份样品。结果高中低 3 个浓度水平的回收率分别为 99.5% (RSD = 0.71% ,*n* = 3) ,99.1% (RSD = 0.52% ,*n* = 3) ,98.8% (RSD = 0.76% ,*n* = 3) ;平均回收率为 99.1% (*n* = 9)。

2.7 稳定性考察 取缩宫素供试品溶液(批号:100125) ,置进样盘中(4 ℃) ,分别于 0 ,12 ,18 ,24 ,36 h 进样测定 ,以峰面积考察溶液稳定性 ,主峰面

积未见显著下降 ,峰面积的 RSD 为 0.63% ,总杂质峰面积的 RSD 为 0.76% ,样品在该流动相中在测定时间内稳定。

2.8 样品测定

取缩宫素注射液作为供试品溶液 ,100 μL 注入液相色谱仪 ,照“2.1”项下色谱条件进样 ,记录色谱图。供试品溶液色谱图中如有杂质峰 ,除溶剂峰、防腐剂三氯叔丁醇峰外 ,按面积归一化法计算(小于 0.1% 的杂质忽略不计)。

用建立的方法 ,对 178 批缩宫素注射液中的有关物质进行测定 ,结果见表 2。

表 2 缩宫素注射液有关物质检查结果(总杂质)

Tab 2 The results of related substances determination (total impurities)

生产企业 (production enterprises)	批数 (numbers)	均值 (average) /%	标准差 (SD)	最小值 (minimum) /%	最大值 (maximum) /%
A	35	27.2	2.7	23.6	36.0
B	40	36.0	3.9	29.6	45.1
C	45	32.6	2.5	26.8	37.9
D	33	32.3	4.5	24.7	40.0
E	8	25.9	0.8	24.7	27.3
F	6	32.2	1.1	30.7	33.2
G	8	33.0	2.5	30.0	36.2
H	3	29.1	1.1	27.9	30.1
总计(total)	178	31.9	4.5	23.6	45.1

表 3 缩宫素注射液有关物质检查结果(单个最大杂质)

Tab 3 The results of related substances determination (the largest impurity)

生产企业 (production enterprises)	批数 (numbers)	均值 (average) /%	标准差 (SD)	最小值 (minimum) /%	最大值 (maximum) /%
A	35	8.0	1.2	5.5	9.6
B	40	13.0	4.7	5.5	25.2
C	45	8.5	1.2	6.2	11.7
D	33	9.2	3.1	3.9	15.8
E	8	6.1	0.9	5.0	7.0
F	6	8.1	0.9	7.0	9.3
G	8	8.8	0.7	7.8	9.7
H	3	7.2	0.2	7.0	7.3
总数(total)	178	9.4	3.4	3.9	25.2

2.9 缩宫素注射液中杂质谱分析 由于缩宫素注射液杂质较多 ,为探究杂质的来源和种类 ,我们对 8 个企业 ,178 批缩宫素注射液的有关物质测定结果进行了分析 ,其杂质谱信息、各企业样品典型图谱见图 4。

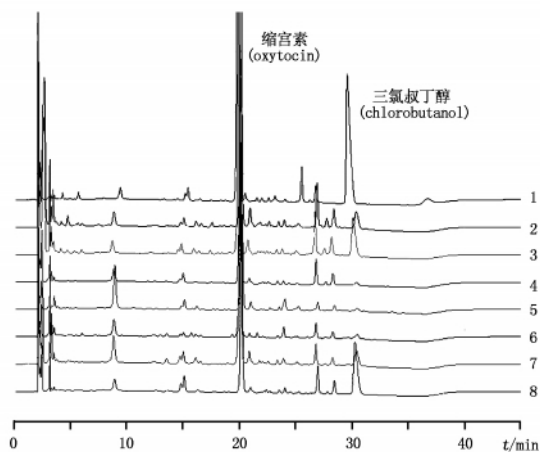


图4 不同生产企业缩宫素注射液有关物质杂质谱图
Fig 4 Chromatograms of related substances in different oxytocin injections
1~8. 厂家 A~H(enterprise A-H)

在对 178 批缩宫素注射液杂质谱的研究中,我们找到了 29 个均值大于 0.1% 杂质,由于数量较多,无法在图上一一标出,依出峰先后排序列表如下(表 4、图 5)。

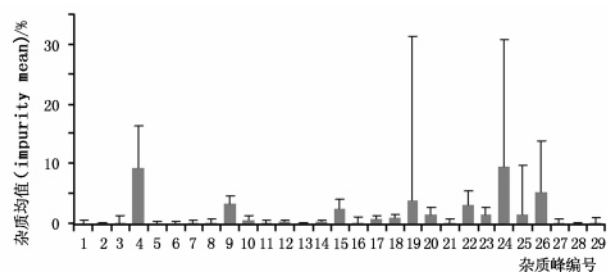


图5 178 批缩宫素注射液杂质谱信息直方图
Fig 5 Impurity profile histogram of 178 batches of oxytocin injections

2.10 缩宫素原料中有关物质分析 以 4 家不同企业、两种工艺生产的合成缩宫素原料为样品,依标示量用水逐级稀释至约 $10 \text{ IU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作为供试品溶液,100 μL 注入液相色谱仪,照“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图。供试品溶液色谱图中如有杂质

表 4 178 批缩宫素注射液杂质谱信息汇总表 (%)
Tab 4 Impurity profiles of 178 batches of oxytocin injections

杂质峰编号 (number)	相对保留时间(relative retention time)	杂质均值 (average)	标准差 (SD)
1	0.31	0.14	0.42
2	0.43	0.12	0.11
3	0.48	0.14	1.21
4	0.64	9.48	6.96
5	0.67	0.06	0.43
6	0.68	0.13	0.40
7	0.72	0.11	0.45
8	0.78	0.25	0.47
9	0.82	3.36	1.30
10	0.84	0.52	0.91
11	0.89	0.20	0.39
12	0.94	0.33	0.31
13	1.05	0.13	0.09
14	1.06	0.33	0.20
15	1.08	2.45	1.62
16	1.10	0.23	1.00
17	1.13	0.73	0.72
18	1.14	1.04	0.54
19	1.16	4.01	27.55
20	1.17	1.52	1.24
21	1.19	0.18	0.64
22	1.21	3.22	2.33
23	1.26	1.49	1.16
24	1.29	9.53	21.37
25	1.33	1.65	8.10
26	1.35	5.37	8.42
27	1.39	0.11	0.58
28	1.44	0.11	0.16
29	1.59	0.13	0.84

峰,除溶剂峰、防腐剂三氯叔丁醇峰外,按面积归一化法计算(小于 0.1% 的杂质忽略不计)。测定结果见表 5。

表 5 不同厂家缩宫素原料中有关物质汇总表
Tab 5 The results of related substances determination of oxytocin raw materials

合成工艺 (synthesis technology)	生产厂家 (production enterprises)	批号 (Lot No.)	总杂质 (total impurities) /%	单个最大杂质 (the largest impurity) /%	超过 1% 杂质个数 (numbers of impurities >1%)
液相合成(liquid phase synthesis)	a	090920	25.8	8.1	4
液相合成(liquid phase synthesis)	a	100510	31.6	8.7	6
液相合成(liquid phase synthesis)	b	100411	31.3	8.6	7
固相合成(solid phase synthesis)	c	Ot-20100707-85%	12.0	4.6	4
固相合成(solid phase synthesis)	c	Ot-20100707-90%	9.0	3.5	3
固相合成(solid phase synthesis)		cOt-20100707-95%	3.7	1.4	1
固相合成(solid phase synthesis)	c	20100301	0.5	0.3	0
固相合成(solid phase synthesis)	d	100606	0.3	0.3	0

目前用于缩宫素注射液的原料均为液相合成工艺生产,其原料的有关物质约为 30%,缩宫素注射液中的大部分杂质是由原料带入的(见图 6)。固相合成的缩宫素原料质量优于液相合成缩宫素原料,其原料可依纯化工艺的不同达到不同的纯度(见图 7)。部分厂家已经开始使用固相合成的原料生产制剂(见表 6、图 8),而固相合成原料生产的缩宫素注射液质量完全可以符合 EP 标准。因此,缩宫素原料的质量标准必须做相应的提高。

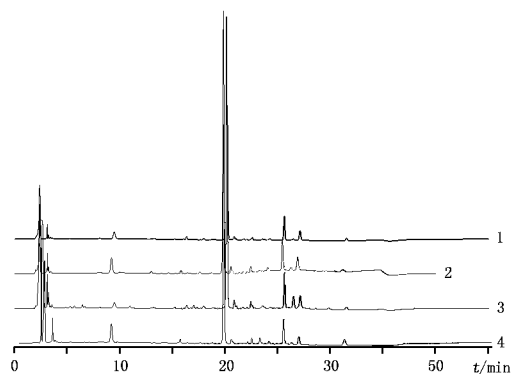


图 6 液相合成法制备的缩宫素原料有关物质典型图谱
Fig 6 Chromatograms of related substances the raw materials and oxytocin injections prepared by liquid phase synthesis

1. 缩宫素原料(厂家 a,批号 090920) [oxytocin raw materials(enterprise a, Lot No.: 090920)]
2. 缩宫素原料(厂家 a,批号 100510) [oxytocin raw materials(enterprise a, Lot No.: 100510)]
3. 缩宫素原料(厂家 b,批号 100411) [oxytocin raw materials(enterprise b, Lot No.: 100411)]
4. 缩宫素注射液(批号 090702,原料来自厂家 a) [oxytocin injection(Lot No.: 100411, raw materials from enterprise a)]

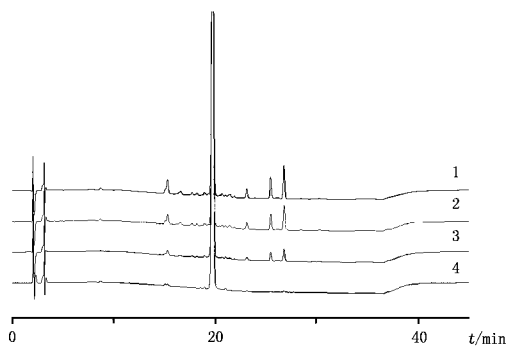


图 7 厂家 c 固相合成缩宫素原料有关物质典型图谱
Fig 7 Chromatograms of related substances of the raw materials prepared by solid phase synthesis(enterprise c)

1. Ot-20100707
2. Ot-20100707
3. Ot-20100707
4. 20100301

3 讨论

3.1 针对部分现行法定标准未设置缩宫素注射液有关物质检查项的现状,我们参考 USP,EP 方法,建立了一种灵敏的有关物质测定方法。在 USP,EP 所

表 6 厂家 d 固相合成缩宫素原料及相应制剂有关物质分析(%)

Tab 6 The results of related substances determination of the raw materials and oxytocin injections prepared by solid phase synthesis

样品 (samples)	总杂质 (total impurities)	单个最大杂质 (the largest impurity)
缩宫素原料(批号 100606) [oxytocin raw materials (Lot No. 100606)]	0.27	0.27
缩宫素注射液(原料批号 100606,制剂灭菌前) [oxytocin injection(raw materials from Lot No. 100606, before sterilization)]	0.17	0.17
缩宫素注射液(原料批号 100606,制剂灭菌后) [oxytocin injection(raw materials from Lot No. 100606, after sterilization)]	0.16	0.16

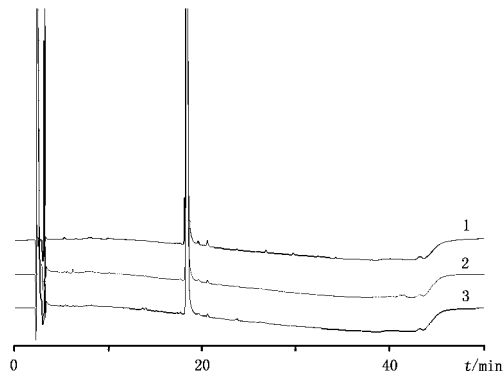


图 8 厂家 d 固相合成缩宫素原料及相应制剂有关物质图谱
Fig 8 Chromatograms of related substances of the raw materials and injection prepared by solid phase synthesis(enterprise d)

1. 100606 原料(Lot No.: 100606, raw materials)
2. 100606 制剂灭菌前 [injection before sterilization (raw materials from Lot No.: 100606)]
3. 100606 制剂灭菌后 [injection after sterilization (raw materials from Lot No.: 100606)]

述方法条件下,缩宫素主峰约 8 min 出峰,主峰与杂质峰无法分离,这可能是由于国外缩宫素注射液原料多为固相工艺合成,杂质含量低(<5%),在国内制剂有关物质 30% 左右的情况下,该方法并不适用。因此我们选用了 250 mm 的色谱柱(国外药典采用 120 mm 柱),考察了 pH、柱温、流动相盐浓度、并调整了流动相梯度等色谱条件。建立的方法能将缩宫素的主要杂质与主成分峰有效分离,具有较高的灵敏度和准确性,可用于缩宫素注射液的有关物质检查,为其质量标准的建立提供了准确可靠的方法。

3.2 为了考察现行质量标准未设置有关物质检查项的情况下,市场注射液有关物质的总体状况,我们

用建立的方法对 178 批市售缩宫素注射液进行了测定。从 178 批缩宫素剂单个最大杂质及总杂质的情况及其分布的图表可见: (1) 缩宫素注射液各企业总杂质为 24% ~ 45%, 单个最大杂质为 4% ~ 25%, 均超出国外药典规定的数倍(参照 EP6.0 限度设置为: 总杂质应不得过 5.0%, 单个最大杂质应不得过 1.5%); (2) 缩宫素注射液各企业样品间的总杂质和单个最大杂质差异均有显著性意义, 总杂质均值最低的为江苏某厂家 E 的 25.9%, 而最高的厂家安徽某厂家 B 达到 36.0%, 两者间相差近 10%。单个最大杂质均值最低的为江苏某厂家 E 的 6.1%, 而最高的厂家安徽某厂家 B 达到 13.0%, 两者间相差近 7%; (3) 缩宫素注射液企业内总杂质和单个最大杂质的分布也很宽。其中, 总杂质分布最窄的为江苏某厂家 E、上海某厂家 G 和上海某厂家 H 的 3%, 分布最宽的为安徽某厂家 B、安徽某厂家 D 的 15% 左右。单个最大杂质分布最窄的为江苏某厂家 E、上海某厂家 G 和上海某厂家 H 的 1% ~ 2%, 分布最宽的为安徽某厂家 B、安徽某厂家 D 的 10% ~ 20% 左右。(4) 缩宫素注射液杂质谱分析可知, 以 178 批样品均值计, 29 个杂质峰的面积为主峰的 0.11% 到 9.53% 不等; 对同一个杂质, 不同厂家、相同厂家不同批次间均变异很大; 聚类分析模型中也体现出安徽某厂家 B、安徽某厂家 D、河南某厂家 C 三家企业整个杂质谱非常离散, 这些都体现出在当前工艺条件下, 厂家对杂质的控制很不稳定。

由此可见, 该品种注射剂有关物质的量均较大, 如以国外药典的标准, 本次抽样的 178 批样品均不符合规定。考虑到从后续对原料中有关物质考察的情况看, 缩宫素注射液中的大部分杂质是由原料带入的, 国产缩宫素原料的质量, 可能是导致了缩宫素注射剂的有关物质超标的重要原因。从厂家内有关物质的分布来看, 部分厂家产品的总杂质及单个最大杂质分布范围极宽, 这可能是由于这些厂家工艺上的不稳定, 或是原料来源的不稳定所致。

3.3 为了考察现行质量标准未设置有关物质检查项的情况下, 缩宫素原料有关物质的总体状况, 对原料生产企业做了调研, 了解生产工艺、工艺关键点的控制, 用建立的方法, 对不同工艺、不同来源的缩宫

素原料进行了考察, 以期对国内原料生产企业、不同生产工艺下的缩宫素原料的总体状况有一个全面的认识。

对合成缩宫素而言: 有两种制备工艺液相合成和固相合成, 本次抽样的 8 家企业生产缩宫素注射液的原料均为液相合成工艺。除上海某厂家 F 是从单个氨基酸经二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽合成缩宫素九肽中间体再经钠/氢还原最后得到缩宫素溶液, 其余均直接购买九肽中间体在液相色谱环合得到缩宫素。由于九肽中间体的纯度只检查熔点和干燥失重, 且熔距较大, 中间体纯度难以保证, 九肽经还原后均不再进行纯化, 进而造成原料杂质含量高。我们采用 HPLC 法测定原料中的有关物质高达 20% - 30%, 缩宫素注射液中的大部分杂质是由原料带入。因此, 必须控制原料中有关物质方可保证制剂的质量。

有 2 家企业(厂家 c 和厂家 d) 提供了固相合成的缩宫素原料, 其质量明显好于液相合成工艺的缩宫素原料, 制备工艺中增加了半制备纯化过程, 纯度可达 99% 以上, 厂家 d 已开始使用固相合成的原料生产制剂, 目前正在进行稳定性考察。结果表明, 其原料和制剂均能符合 EP 标准, 加热前后(模拟流通蒸汽灭菌) 制剂仍能符合规定。从考察情况看, 我国合成缩宫素原料完全可以达到 EP 标准, 但原料的质量标准必须做相应的提高。

3.4 综上所述, 目前市售缩宫素注射液质量存在不足, 有关物质偏高。制剂中的有关物质部分是由原料引入, 因此, 必须修订并提高原料和制剂的质量标准, 增加有关物质检查项目。同时建议生产企业采用固相合成工艺, 提高原料质量, 加强生产过程中各个环节的质量意识, 继续做好上市后药品质量再评价工作, 考察质量与疗效及安全性的关系。

参考文献

- 1 ChP (中国药典). 2005. Vol II (二部): 833
- 2 ChP (中国药典). 2010. Vol II (二部): 1106
- 3 USP32. 3286
- 4 EP. 6. 0. 1595

(本文于 2011 年 3 月 16 日收到)