

关于胞磷胆碱钠及其制剂检验方法的研讨

邓兆勇, 佟爱东 (广州市药品检验所生化室, 广东 广州 510160)

摘要 介绍目前我国使用的胞磷胆碱钠原料及其制剂的质量标准及质控情况。采用不同的质量标准对市场药品进行检验, 并对执行过程中所碰到的检验问题加以分析讨论。不同的质量标准需进一步修订, 予以统一和保证药品质量。

关键词 胞磷胆碱钠; 紫外分光光度法; 高效液相色谱法 质量分析

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0111(2005)02-0096-04

1 概述

以胞磷胆碱及钠盐(CDP)的原料制成的制剂疗效确切, 在临床上已经使用多年了, 从1954年发现胞磷胆碱, 至1957年又发现其与磷脂代谢有密切关系后, 作为卵磷脂生物合成的重要辅酶, 1963年由日本首次开发为制剂^[1], 该药品现已完全证实对脑损伤后意识障碍、脑梗塞急性期意识障碍、脑卒中后偏瘫、帕金森氏病等脑疾病均有很好的临床疗效。

20世纪70~80年代我国就已经生产胞磷胆碱原料药, 80年代中期开始进口日本、意大利原料, 目前市场上主要使用我国、日本协和发酵株式会社、日本 Yamasa Corporation 和意大利 Pro. Sint. Bio 的胞磷胆碱钠原料。1985年我国各地方药品标准^[2]就收载原料质量标准与制剂的质量标准, 现行质量标准

收载于国家卫生部药品标准(1998年)二部第六册(简称部标)^[3]; 国外主要以《日本药局方外医药品规格(1997)》^[4]收载了原料及制剂, 其使用的标准品的质量标准收载于《The Japanese Standards of Pharmaceutical Ingredients 1991 and Supplement JSPI 1991》。日本协和发酵株式会社^[5]、日本 Yamasa Corporation^[6]与意大利 Pro. Sint. Bio^[7]的进口原料收载于进口药品注册标准检验。唯一进口的制剂为日本武田工业株式会社生产的尼可林注射液(胞二磷胆碱注射液(规格250mg/2mL)^[8], 按进口药品注册标准检验, 国产制剂(规格为250mg/2mL与200mg/2mL)按部标检验; 另外我所曾检验西班牙进口的胞磷胆碱口服液(Somazina Oral)。关于CDP分析的专论已经有论述^[9-11]。

1.1 原料药质量标准(见表1)

表1 胞磷胆碱钠原料药不同质量标准检验项目的比较

检验项目	原地方标准 ¹	卫生部标准 ²	日本 JX19990298 ³	日本 JX20000126 ⁴	意大利 JX20000008 ⁵
性状	白色结晶或结晶性粉末	白色结晶或结晶性粉末	白色结晶或结晶性粉末	白色结晶或结晶性粉末	白色结晶或结晶性粉末
鉴别	紫外光谱	紫外光谱	紫外光谱 红外光谱	紫外光谱	紫外光谱
	磷酸盐反应 核糖反应	磷酸盐反应 核糖反应	磷酸盐反应 核糖反应 胆碱反应	磷酸盐反应 核糖反应 胆碱反应	
检查	钠盐焰色反应	钠盐焰色反应	钠盐焰色反应	钠盐焰色反应	HPLC 钠盐焰色反应
溶液的澄清度与颜色	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	溶液的透光度
酸碱度	5.5~7.5	6.0~7.5	6.5~7.5	6.0~7.0	T% 不低于98.00% 6.5~7.5

作者简介: 邓兆勇(1949-), 男, 副主任药师, 从事生化药品检验及质量标准研究。Tel: (020)86503409

检验项目	原地方标准 ¹	卫生部标准 ²	日本 JX19990298 ³	日本 JX20000126 ⁴	意大利 JX20000008 ⁵
氯化物	0.05%	0.05%	0.015%		0.05%
硫酸盐					
铵盐	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	
砷盐	0.0001%	0.0001%	0.0001%	0.0001%	0.0001%
重金属	百万分之十	百万分之十	百万分之十	百万分之十	百万分之十
铁盐	0.01%				0.001%
有关物质	不得显杂质斑点	不得显杂质斑点	1.0%		0.5%
5-胞苷酸			1.0%	1.0%	
纯度(HPLC)					不得少于 99.5%
游离磷酸盐	0.25%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
蛋白质	符合规定				
干燥失重	5.0%	6.0%	5.0%	5.0%	2.0%
甲醇与乙醇			0.1%		
甲醇与丙酮					符合规定
细菌内毒素			符合规定		
无菌			符合规定		
热原	0.05g/2mL/Kg	0.2g/1mL/Kg		0.2g/mL/Kg	0.25g/1mL/Kg
含量测定	$\epsilon = 12700$ 不得少于 98.0%	波长 280nm $E_{1cm}^{1\%}$ 255 98.0 ~ 102.0%	HPLC 对照品法 98.0% ~ 102.0%	波长 280nm $\epsilon = 13000$ 不少于 98.0%	波长 280nm $E_{1cm}^{1\%}$ 255 不少于 98.0%

注：¹原地方标准为我国各省市药品标准；²卫生部标准为国家卫生部药品标准(1998年)第二册；³日本 JX19990298 为日本 Yamasa Corporation 生产厂进口药品注册标准；⁴日本 JX20000126 为日本协和发酵株式会社进口药注册标准；⁵JX20000008 为意大利 Pro. Sint. Bio 的进口药品注册标准。

1.2 注射液质量标准(见表 2)

表 2 胞磷胆碱钠注射剂不同质量标准的比较

检验项目	胞磷胆碱钠注射液		注射用胞磷胆碱钠检验项目
	进口注册标准 JX	卫生部标准	卫生部标准
鉴别	化学反应 紫外光谱	化学反应 化学反应 钠盐焰色反应	化学反应 化学反应 钠盐焰色反应
检查			
pH 值	6.5 ~ 8.0	6.0 ~ 7.5	6.0 ~ 7.5
溶液的澄清度与颜色	符合规定	符合规定	符合规定
干燥失重			
无菌	符合规定	符合规定	符合规定
热原	0.2g/mL/Kg	0.2g/mL/Kg	0.2g/mL/Kg
其他	符合规定	符合规定	符合规定
含量测定	标准品法 95.0% ~ 110.0%	波长 280nm $E_{1cm}^{1\%}$ 255 90.0% ~ 110.0%	波长 280nm $E_{1cm}^{1\%}$ 255 90.0% ~ 110.0%
规格	2ml : 250mg	2ml : 250mg; 2ml : 200mg	250mg
商品名:	尼可林		

注：¹JX20000212 为日本武田工业株式会社进口药品注册标准；²为卫生部药品标准(1998年)二部第六册。

2 材料与方 法

岛津 UV2401 紫外分光光度计, HP1100 高效液相色谱仪; 对照品由日本武田工业株式会社提供, YB-Z 恒温真空干燥箱, 天津药典标准仪器厂生产; 样品与试剂均为市售。检验方法按照《卫生部药品

标准》(1998年)二部第六册、日本与意大利的进口药品注册标准(见表 1)。

3 结果

3.1 原料药检验结果(见表 3)

3.2 注射液测定结果(见表 4)

表 3 胞磷胆碱钠原料药质量检验结果

生产厂家和批号	干燥失重(%)	含量(%)	生产厂家和批号	干燥失重(%)	纯度(%)	含量(%)
日本协和发酵株式会社			意大利 Pro. Bio. Sint2. 4			
I520549	2.4	100.0	0223M2	1.5	99.5	98.7
I520549	2.6	99.7	0223M3	1.3	99.5	98.6
I720564	3.0	100.4	020856	1.5	99.8	98.6
I720565	4.3	100.8	020857	1.1	97.3	98.2
I620557	3.6	100.3	020868	1.4	99.5	99.5
IP20588	2.8	100.2	0243D	1.4	99.9	100.8
IX20589	2.2	98.8	0245B	1.2	99.7	100.0
IX20589	2.3	99.6	0246A	1.4	99.6	99.9
IY20593	0.9	99.6	0247B	1.7	99.9	99.9
I230605	1.6	99.7	037001	1.2	100.0	100.0
I230606	1.6	99.4	0240A	0.9	99.8	98.2
I130600	1.8	99.6	0241A	1.6	99.8	100.0
I630627	1.8	99.6	0242D	1.2	99.8	99.1
I630628	2.5	99.6	0243B	1.3	99.9	99.4
			0243C	1.2	99.8	100.0

注:检验日期:日本协和分别为2002年7月~2003年8月;意大利为2002年8月~2003年3月。有效期分别为:日本为2006年5月~2007年7月;意大利为2005年~2005年11月。

表 4 胞磷胆碱钠注射液质量检验结果

生产厂家	批号	含量(%)	生产厂家	批号	含量(%)
广州市天心制药股份有限公司	020901	103.3	尼克美制药(中山)有限公司	021202	99.0
广东邦民制药厂有限公司	020709	100.2	中山市三才医药集团有限公司	02018	101.6
齐鲁制药厂	02050061	94.9	日本武田药品工业株式会社	236	100.5
广州市天心制药股份有限公司	030701	99.1		237	101.2
广州市天心制药股份有限公司	030501	98.6		238	100.0

4 讨论

4.1 干燥失重 从表1、3可见,该原料新开包时含水量约3%,标准控制在5.0%,具有较强的吸水特性,抽样时应注意抽样间的温湿度,做到抽样速度要快,必要时在抽取样品后尽快进行含量测定,以免吸入水份增大,直接影响测定结果,并要注意原料的保存。各国原料药的质量标准中,该项目的检查限度有所不同,部标为“减失重量不得少于6.0%”,高于进口药品标准5.0%与2.0%。

4.2 有关物质检查 从表1、3可见,有关物质与5-CMP(5-胞苷酸)检查是一个概念,部标采用纸电泳法,灵敏度为100 μ g,结果判断为“不得显杂质斑点”;日本采用薄层层析法,结果判断为“在与5-CMP迁移位置相同处供试品斑点的颜色不得深于标准斑点(1.0%)”;上述灵敏度一致,不作纯度检查。意大利则采用高效液相色谱法作有关物质检查,增加了纯度检查项,纯度测定结果判断标准为“按峰面积归一法计算,CDP的峰面积不得少于99.5%”;有关物质检查规定为“各杂质峰面积的总和不得大于总峰面积的0.5%;5-CMP的峰面积不得大于对照品的主峰面积(0.5%)”。从检验结果

分析,进口的原料药基本上符合各自的标准要求。由于现行的质量标准检查5-CMP,在方法学上有一定的差异,本文认为采用HPLC法比较合理,方法简单实用,具有检测灵敏度高,能同时检测其他各种杂质,并可同时进行限量检查。我国质量标准应修订该项目。

4.3 含量测定方法

4.3.1 原料药 从表3结果分析,结果虽符合标准规定,也有偏低的现象,在生产中要加大投料量。另外,方法学上要注意搞清楚不同标准中的计算方法,是摩尔吸收系数法还是吸收系数法。部标与意大利采用百分吸收系数($E_{1cm}^{1\%}$ 255),日本采用克分子吸收系数法($\epsilon = 13000$),我国各地方药品标准使用($\epsilon = 12700$),其区别是前者为胞磷胆碱钠,后者为胞磷胆碱。

CDP-Na的分子式为 $C_{14}H_{25}N_4C_{11}P_2Na$,分子量为510.32, $E_{1cm}^{1\%}$ 为255,按《The Japanese Standards Of Pharmaceutical Ingredients 1991 and Supplement JSPI 1991》报道为255~270; ϵ 为13000。

CDP的分子式为 $C_{14}H_{25}N_4C_{11}P_2$;分子量为488.54。 $E_{1cm}^{1\%}$ 为260, ϵ 为12700。

目前由于该原料吸水性强,标准品的制备有一

定难度,新版药典已准备采用 HPLC 法。

4.3.2 注射液 从表 4 可见,除日本武田制药生产的尼可林注射液采用标准品法,供试品的前处理采用强碱性阴离子交换树脂(CI 型,100~200 目)交换转型为胞磷胆碱后采用标准品法测定含量;部标采用 0.01mol/L 盐酸溶液制成每 1ml 中含 20 μ g 的溶液按原料的方法测定,测定结果表明,会出现结果偏低,应引起注意。

参考文献:

- [1] 李良铸,李明.最新生化药物制备技术[M].北京:中国医药科技出版社,2002;251~253.
[2] 河北省药品标准[S].1985 年版,1985;343~343.

- [3] 卫生部药品标准二部第六册(生化药品第一分册)[S].1998;101~104.
[4] 日本药局方外医药品规格[S].1997 年版,1997.227.
[5] 进口药品注册标准 JX20000126[S].(日本)
[6] 进口药品注册标准 JX19990298[S].(日本)
[7] 进口药品注册标准 JX19990319[S].(意大利)
[8] 进口药品注册标准 JX19990212[S].(日本)
[9] 佟爱东,邓兆勇.高效液相色谱法测定胞磷胆碱钠及有关物质的含量[J].中国生化药物杂志 2001,22(1):31.
[10] 王晓慧,张咏梅,王晓洁.胞磷胆碱钠注射液检验方法的考察[J].黑龙江医药,1999,12(3):162.
[11] 张伟,张培培,杨化新. HP-HPLC 法测定胞磷胆碱的含量[J].药物分析杂志 2000,20(6):394.

收稿日期:2004-05-18

HPLC 法测定知母药材中芒果苷和新芒果苷的含量

周永刚¹,黄晟²,谷莉²,王彬³,张国庆³,姜子洋²(1. 中国人民解放军 81 医院,江苏南京 210002;2. 第二军医大学药学院,上海 200433;3. 东方肝胆外科医院,上海 200433)

摘要 目的:测定知母药材中芒果苷和新芒果苷的含量。方法:采用 HPLC 法,色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱(5 μ m,4.6 \times 250mm,Agilent),流动相为乙腈和 25mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液,梯度洗脱;流速:1.0mL/min,运行时间 60min,检测波长 257nm。结果:芒果苷在 14.2~568.5 μ g/mL 范围内线性关系良好($r=0.9999$),高中低浓度日内精密度 RSD 在 2.4%~3.3%之间,日间精密度 RSD 在 2.5%~4.5%之间;新芒果苷在 14.8~590.5 μ g/mL 范围内线性关系良好($r=0.9999$),高中低浓度日内精密度 RSD 在 1.9%~3.4%之间,日间精密度 RSD 在 1.5%~3.9%之间。结论:本方法准确可靠,重现性好,可用作知母药材中芒果苷和新芒果苷的含量测定,为知母药材质量标准提供参考。

关键词 知母;芒果苷;新芒果苷;含量测定;高效液相色谱法

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2005)02-0099-04

Determination of mangiferin and neo-mangiferin in *Rhizoma Anemarrhenae* by HPLC

ZHOU Yong-gang¹,HUANG Sheng²,GU Li²,WANG Bin³,ZHANG Guo-qing,LOU Zi-yang²(1. The 81th Hospital of Nanjing Military Region, Nanjing 210002,China;2. The Second Military Medical University, Shanghai 200433,China;3. The Eastern Institute of Hepatobiliary Surgery, Shanghai 200433,China)

ABSTRACT Objective: To establish the method for determination of mangiferin and neo-mangiferin in *Rhizoma Anemarrhenae*. **Method:** The content was determined by HPLC. A Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ column(4.6mm \times 250mm,5 μ m) with a gradient mobile phase composed of 25 mmol/L dihydrophosphate potassium and acetonitrile were used. The detection wavelength was 257nm and the flow rate was 1.0mL/min. **Results:** The calibration curves of mangiferin were linear between 14.2~568.5 μ g/mL($r=0.9999$), the neo-mangiferin were 14.8~590.5 μ g/mL. The within-day precision RSD was both less than 4.5% and the inter-day precision RSD was less than 3.9%. **Conclusion:** The method is simple,rapid,accurate and is suitable for the determination of mangiferin and neo-mangiferin.

KEY WORDS *Rhizoma Anemarrhenae*; mangiferin; neo-mangiferin; HPLC

作者简介:周永刚(1965-)男,副主任药师。E-mail:mrzou@sina.com

基金项目:上海市科技发展基金项目,编号:01DJ19012。