

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.02.009

三磷酸腺苷二钠片质量标准提高研究*

董 勇, 谢浙裕, 朱琳娇, 陈运动

(绍兴市食品药品检验研究院, 浙江 绍兴 312071)

摘要:目的 分析市售三磷酸腺苷二钠片的质量,并探讨其质量标准。方法 抽取浙江省内流通销售的三磷酸腺苷二钠片 47 批次,采用紫外分光光度法、高效液相色谱法对其进行含量测定,考察释放度检验、紫外鉴别及含量的影响因素。结果 47 批次样品中,含量及释放度各有 1 批次不合格;其他 46 批次含量测定结果介于 96.7%~117.6%,总核苷酸量介于 102%~127%;紫外鉴别均符合标准规定。三磷酸腺苷(T_3)的比值与含量、总核苷酸密切相关;平均释放度与总核苷酸含量呈正相关; T_3 值的变化会导致一磷酸腺苷(T_1)、其他峰(溶剂峰除外)(T_x)变化。对放置 5 个月的样品进行再检验,发现总核苷酸、 T_3 和含量均下降, T_1 、二磷酸腺苷(T_2)、 T_x 含量均增加;对不同时间、地点抽取的同一批次样品含量检测结果完全不同。结论 对于三磷酸腺苷二钠片现有的标准,释放度限度可以适当提高,含量测定建议增加 T_3 、 T_1 比值的限度范围或总核苷酸量的限度。

关键词:三磷酸腺苷二钠片;高效液相色谱法;质量标准;释放度

中图分类号:R917;R927.2

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)02-0035-03

Improvement of Quality Standard for Adenosine Disodium Triphosphate Tablets

Dong Yong, Xie Zheyu, Zhu Linjiao, Chen Yundong

(Shaoxing Institute for Food and Drug Control, Shaoxing, Zhejiang, China 312071)

Abstract: Objective To analyze the quality of marketed Adenosine Disodium Triphosphate Tablets and investigate its quality standard.

Methods Totally 47 batches of Adenosine Disodium Triphosphate Tablets in circulation and sales in Zhejiang Province were selected and the contents were determined by ultraviolet(UV) spectrophotometer and HPLC. **Results** In 47 batches of samples, the content and release degree were unqualified in 1 batch, respectively, the results of the content determination of the other 46 batches were between 96.7% and 117.6%, the total nucleotide acid ranged from 102% to 127%, the UV identification was in accordance with the standard. The ratio of adenosine triphosphate(T_3) was closely related to the content and total nucleotides, and the average release degree was positively correlated with the total nucleotide content, the change in T_3 value would lead to the changes in adenosine monophosphate(T_1) and the other peaks(excepted solvent peaks, T_x). 5 months after the sample was placed, the retest results of the samples showed that the total nucleotides, T_3 and content decreased, and the content of T_1 , adenosine diphosphate(T_2), and T_x increased. The test results of the same batch sample were completely different for different time and place. **Conclusion** For the existing standard of Adenosine Disodium Triphosphate Tablets, the release limit can be improved properly, it is suggested that the limits range of T_3 , T_1 ratio or the limit of total nucleotide acid should be increased in the content determination.

Key words: Adenosine Disodium Triphosphate Tablets; HPLC; quality standard; release degree

三磷酸腺苷二钠(adenosine disodium triphosphate, ADT)为核苷酸衍生物,分子式为 $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{13}P_3 \cdot 3H_2O \pm H_2O$,为辅酶类药^[1-2],参与体内脂肪、蛋白质、糖、核酸及核苷酸的代谢^[3]。当体内吸收、分泌、肌肉收缩及进行生化合成反应等需要能量时,三磷酸腺苷即分解为二磷酸腺苷及磷酸基,同时释放能量^[4-5]。三磷酸腺苷二钠片的质量标准收载于国家药品西药标准(化学药品地标升国标第九册),在国家食品药品监督管理局网站查询可知,有三磷酸腺苷二钠片批准文号的生产企业有 65 家。近年来,三磷酸腺苷二钠片的抽检率较高,笔者评价性抽检浙江省内流通销售的 5 家企业共 47 批次样品,并对其含量及性能进行测定,分析影响含量的相关因素,现就此次抽检情况报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(包括 Chemstation 工作站、在线脱气机、柱温箱、四元泵、VWD 紫外检测器,安捷伦科技有限公司);万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);UV-2550 型紫外分光光度计(岛津仪器(苏州)有限公司);708-DS 型溶出仪(安捷伦科技有限公司)。

1.2 试剂

磷酸钠、盐酸、无水磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氢氧化钠、四丁基溴化铵(广州晟辉化工科技有限公司);甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司)。

*基金项目:浙江省绍兴市科技计划项目[2015B70039]。

第一作者:董勇(1980-),男,大学本科,主管药师,主要从事药品检验工作,(电子信箱)dydyx1@126.com。

2 方法与结果

2.1 含量测定

总核苷酸:取本品 20 片,精密称定,除去包衣后,研细,精密称取适量,加 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液至刻度,取续滤液适量,用上述磷酸盐缓冲液制成每 1 mL 中含 20 mg 的溶液,照分光光度法(2010 年版《中国药典》附录 IV A)测定,以上述缓冲液为空白溶液,于 259 nm 波长处测定吸收度,按 $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{13}P_3$ 的吸收系数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 为 279 计算。

三磷酸腺苷二钠的重量比:照高效液相色谱法(2010 年版《中国药典》附录 V D)^[6]测定。流动相:0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液-甲醇(95:5);柱温:35℃;检测波长:259 nm。理论板数按三磷酸腺苷二钠峰计算应大于 1 500。出峰次序依次为一磷酸腺苷(T_1)、二磷酸腺苷(T_2)与三磷酸腺苷(T_3)。计算公式如下:

三磷酸腺苷二钠重量比(%) = $T_3 / (0.671 T_1 + 0.855 T_2 + T_3 + T_x)$

其中, T_x 为其他峰(溶剂峰除外)峰面积之和,三磷酸腺苷二钠含量(%) = 总核苷酸 × 三磷酸腺苷二钠的重量比。

2.2 紫外鉴别^[6]

取含量测定项下总核苷酸项下溶液,照分光光度法(2010 年版《中国药典》附录 IV A)测定,在 259 nm 波长处有最大吸收,在 226 nm 波长处有最小吸收;250 nm 与 260 nm 波长处吸收度的比值应介于 0.76 ~ 0.82, 280 nm 与 260 nm 波长处吸收度的比值应介于 0.13 ~ 0.17。

2.3 释放度检查^[6]

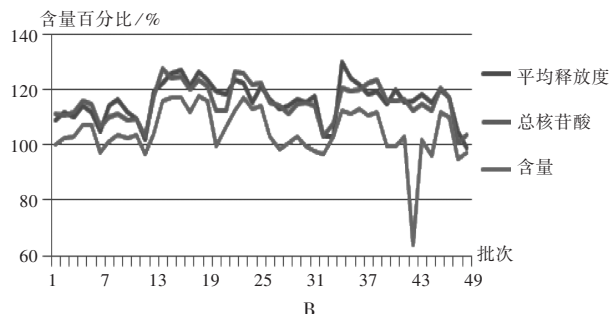
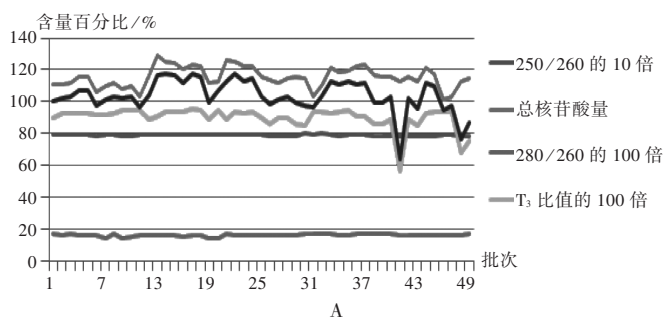
取本品,照释放度测定法[2010 年版《中国药典》(二部)附录 XD 第二法(一)],按 $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{13}P_3$ 的吸收系数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 为 279 计算出每片的释放量。

2.4 贮存时间和环境对含量的影响

通过高效液相色谱法,对放置 5 个月的样品进行再检验,比较不同时间的总核苷酸、 T_3 和含量。并检测不同时间、不同地点抽取的同一批次样品,对其含量进行比较分析。

2.5 含量测定、紫外鉴别及释放度检查结果

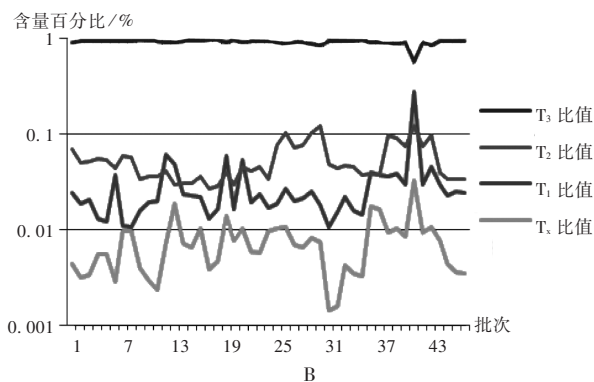
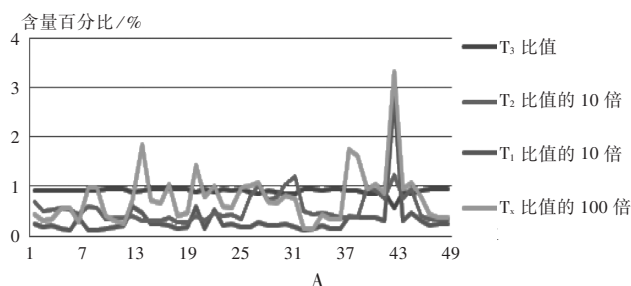
47 批次样品含量测定中,不合格 1 批次,其他 46 批次含量测定结果介于 96.7% ~ 117.6%,总核苷酸量介于 102% ~ 127%;紫外鉴别 47 批次样品均符合标准规定。250 nm 与 260 nm 波长处吸收度的比值介于 0.78 ~ 0.80, 280 nm 与 260 nm 波长处吸收度的比值介于 0.14 ~ 0.17。释放度检查有 1 批不符合规定,其他 46 批次数据介于 95% ~ 130%,其中 2 批次 ≤ 90%, 2 批次 > 130%。



A. 紫外鉴别、总核苷酸、 T_3 与含量的关系

B. 平均释放度、总核苷酸与含量的关系

图 1 紫外鉴别、总核苷酸、 T_3 、平均释放度、总核苷酸与含量的关系



A. 放大图 B. 常规图

图 2 T_1 、 T_2 、 T_3 和其他杂质 T_x 关系

2.6 紫外鉴别、平均释放度、总核苷酸、 T_3 比值与含量的关系

结果显示,紫外鉴别与三磷酸腺苷二钠降解情况无关系;总核苷酸和含量有一定相关性;而 T_3 的比值与含量、总核苷酸也有一定关系,详见图 1 A。平均释放度和总核苷酸量波动幅度介于 100% ~ 130%,两者存在一定相关性,即平均释放度大的相应总核苷酸含量也高。

表1 不同时间的含量测定结果

数值	总核苷酸(%)	T ₁	T ₂	T ₃ 比值	T _x	含量(%)
5个月前比值	121.76	0.025 53	0.034 18	0.936 7	0.003 56	114.05
5个月后比值	118.48	0.067 28	0.037 41	0.875 8	0.019 55	103.76
数值变化率	-2.70	163.50	9.40	-6.50	449.20	-9.00

表2 不同时间、不同地点抽取的同一批次样品的含量测定结果

抽样时间	生产厂家	批号	被抽样单位	含量(%)
2014年5月9日	成都天台山制药有限公司	131101	金华市太和堂医药物流有限公司	98.2
2014年9月11日			绍兴滨海新城延年大药房	76.4
2014年6月4日	成都天台山制药有限公司	140202	宁波英特药业有限公司	99.7
2014年8月29日			上虞市沥海老百姓大药房	87.2

但平均释放度、总核苷酸与含量无相关性,详见图1B。

2.7 T₁, T₂, T₃ 和其他杂质 T_x 的关系

由图2可见, T₃ 值的变化会导致 T₁、T_x 显著变化, T₃ 值的变化和其他三者都有一定关联, 且和 T₁、T_x 关系较密切, 且呈负相关。

2.8 贮存时间和环境对含量的影响

对放置5个月的样品进行再检验, 发现总核苷酸、T₃ 和含量均下降, T₁、T₂、T_x 含量均增加, 详见表1。而对不同时间、不同地点抽取的同一批次样品进行检测, 结果发现含量完全不同, 详见表2。

3 讨论

三磷酸腺苷二钠在贮存过程中, 可以水解成二磷酸腺苷(ADP)和一磷酸腺苷(AMP)^[7-8], 在质量标准中制订了鉴别和含量测定两项来控制三磷酸腺苷二钠的含量, 以保证该药品的生物活性。从近年来的药品抽样情况来看, 不合格项目主要集中在性状和含量。

本研究结果发现, 总核苷酸量介于102%~127%, 释放度介于95%~130%, 明显高于标准, 分析原因可能是厂家为保证ATP含量而高限投料, T₃ 与含量呈正相关, T₃ 和 T_x 呈负相关。本研究认为, 通过 T₃ 和 T_x 比值更能反映药品的降解程度、药包材的质量问题, 以及贮存条件的符合程度。故相对于标准中的释放度, 笔者认为限度制订太低, 因为释放度反映的是药片在体内的溶出程度, 如果药片本身是高限投料, 而限度很低, 会导致药片未溶解而结果合格, 不能真实反映药品的质量。同时, 由于是高限投料, 总核苷酸的含量均在110%以上, 而真正反映药片质量的是三磷酸腺苷二钠的比值。本研究结果表明, 含量变化和三磷酸腺苷二钠比值变化基本一致, 但它们之间的关系有待进一步研究。

有文献报道, 贮存的温度、湿度对三磷酸腺苷二钠片的含量有重要影响^[9-10]。从贮存时间和环境对含量的影响结果来看, 个体药店的贮藏条件很难达到凉暗的条件。就生产厂家而言, 说明这些不合格厂家的生产工艺有待改进, 或者由于包装材料密封性能不好, 导致贮藏

过程中, 吸潮水解。

由于本研究在流通领域开展, 企业数量较少, 代表性较差。但从本研究结果来看, 三磷酸腺苷二钠片的生产厂家应严格控制生产过程中的水分和温度, 使用单位应严格按贮存条件进行保管。对于现有标准, 释放度限度可适当提高。在含量测定中, 建议增加 T₃、T_x 比值的限度范围或总核苷酸量的限度。

参考文献:

- [1] 宋新康. HPLC法测定三磷酸腺苷二钠片有关物质[J]. 解放军药学报, 2015, 31(5): 428-431.
- [2] 韩莹, 曾文珊, 赖衍清, 等. 采用最近邻法建立三磷酸腺苷二钠片通用型近红外定性模型[J]. 中国药事, 2015, 6(3): 309-312.
- [3] 山广志, 宗艳平, 王 晓, 等. 离子色谱法测定三磷酸腺苷二钠制剂中主成分及有关物质的含量[J]. 色谱, 2014, 32(11): 1275-1279.
- [4] 王文佳, 肖 羽, 方海顺, 等. 建立近红外一致性模型快速鉴别三磷酸腺苷二钠片的真伪[J]. 中国当代医药, 2014, 21(8): 19-21.
- [5] Ren W, Tu WZ, Jiang SH, et al. Electroacupuncture improves neuropathic pain: Adenosine, adenosine 5'-triphosphate disodium and their receptors perhaps change simultaneously[J]. Neural Regen Res, 2012, 7(33): 2618-2623.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 23, 29-30, 87, 附录IV A, 附录VD, 附录XD.
- [7] 莫姿丽. 三磷酸腺苷二钠片含量测定方法的探讨[J]. 海峡药学, 2011, 13(9): 75-76.
- [8] 韦 娟. 三磷酸腺苷二钠片的质量分析[J]. 医药前沿, 2011, 6(13): 98-101.
- [9] Qi WJ, Liu ZY, Zhang W, et al. Visual and Plasmon Resonance Absorption Sensor for Adenosine Triphosphate Based on the High Affinity between Phosphate and Zr(IV)[J]. Sensors (Basel), 2016, 16(10): 1674-1678.
- [10] 余穗萍. 三磷酸腺苷二钠片质量标准的探讨[J]. 中华医药杂志, 2005, 4(12): 123-127.

(收稿日期: 2017-10-09)