

附件：蛋黄卵磷脂药用辅料标准公示稿（第二次）

蛋黄卵磷脂

Danhuang Luanlinzhi

Egg Yolk Lecithin

[93685-90-6]

本品系以鸡蛋黄或蛋黄粉为原料，经适当溶剂提取精制而得的磷脂混合物。按无水物计算，含氮(N)应为1.75%~1.95%，磷(P)应为3.5%~4.1%，蛋黄磷脂酰胆碱不得少于 ~~68%~~65%，蛋黄磷脂酰乙醇胺不得过 20%，蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷脂酰乙醇胺的总量不得少于 80%。

【性状】 本品为乳白色或淡黄色粉末状或蜡状固体，具有轻微的特臭。

本品在乙醇或乙醚、三氯甲烷或石油醚（沸程 40~60℃）中溶解，在丙酮或水中几乎不溶。

酸值 本品的酸值（通则 0713）应不大于 20.0。

碘值 本品的碘值（通则 0713）应为 60~73。

过氧化值 取本品 2.0g，精密称定，置 250ml 碘瓶中，依法测定（通则 0713），过氧化值应不大于 3.0。

皂化值 本品的皂化值（通则 0713）应为 195~212。

【鉴别】（1）取本品 0.1g，置坩埚中，加碳酸钠 碳酸钾(2:1)3g，混匀，微火加热，产生的气体能使润湿的红色石蕊试纸变蓝。

（2）取鉴别(1)项下遗留的残渣约 100mg，缓缓灼烧至炭化物全部消失，放冷，加水 30ml，微热使残渣溶解，滤过，滤液置试管中，滴加硫酸至无气泡产生，再加硫酸 4 滴，加钼酸钾少许，加热，应呈黄绿色。

（1）在磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺含量测定项下记录的色谱图中，供试品溶液中蛋黄磷脂酰胆碱主峰的保留时间应与对照品溶液中蛋黄磷脂酰胆碱主峰的保留时间一致。

（2）取本品约 125mg，精密称定，置 25ml 量瓶中，加二氯甲烷-甲醇(2:1)溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。按含量测定项下色谱系统，精密量取上述供试品溶液 20μl 注入液相色谱仪中，供试品溶液中鞘磷脂色谱峰的保留时间应与系统适用性溶液中的鞘磷脂主峰保留时间一致。

（3）若鉴别（2）中鞘磷脂未检出，进行鉴别（3）。

取本品0.1g，置50ml烧瓶中，加0.5mol/L 氢氧化钠甲醇溶液4ml，置水浴上加热回流20分钟，放冷，加14%三氟化硼甲醇溶液5ml，再置水浴上加热回流2分钟，放冷，加正庚烷4ml，继续置水浴上加热回流1分钟，放冷，加饱和氯化钠溶液10ml，摇匀，静置使分层，取上层液，经无水硫酸钠干燥，作为供试品溶液。

分别取肉豆蔻酸甲酯、亚油酸甲酯、油酸甲酯、花生四烯酸甲酯和二十二碳六烯酸甲酯对照品适量，加正庚烷溶解并制成每1ml中各含0.1mg的溶液，作为对照品溶液。

取1 μ l注入气相色谱仪，记录色谱图，理论板数按油酸甲酯峰计算不低于10000，肉豆蔻酸甲酯峰信噪比不低于10，各色谱峰的分离度应符合要求。

照气相色谱法（通则0521），以聚乙二醇（或极性相近）为固定液的石英毛细管柱为色谱柱（30m \times 0.32mm，0.25 μ m或效能相当的色谱柱），柱流速每分钟0.9ml/min，起始温度为100 $^{\circ}$ C，以每分钟6 $^{\circ}$ C的速率升温至225 $^{\circ}$ C，维持25分钟；进样口温度为250 $^{\circ}$ C；氢火焰离子化检测器温度为250 $^{\circ}$ C。取供试品溶液1 μ l注入气相色谱仪，记录色谱图，按面积归一化法计算，油酸的量应大于亚油酸的量，并应检出花生四烯酸和二十二碳六烯酸。

【检查】游离脂肪酸

甘油三酸酯、胆固醇与棕榈酸 取本品适量，加正己烷-异丙醇-水(40 : 50 : 8)混合溶液溶解并定量稀释制成每1ml中含20mg的溶液，作为供试品溶液。

另取甘油三酸酯、胆固醇与棕榈酸对照品各适量，精密称定，用上述混合溶液分别溶解并定量稀释制成每1ml中各含0.6mg、0.6mg、0.2mg的甘油三酸酯、胆固醇、棕榈酸的溶液，作为对照品溶液。

照薄层色谱法(通则0502)试验，吸取上述供试品溶液、甘油三酸酯对照品溶液与胆固醇对照品溶液各5 μ l，棕榈酸对照品溶液1 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以正己烷-乙醚-冰醋酸(70 : 30 : 1)为展开剂，置内壁贴有展开剂湿润滤纸的层析缸中，展开后，取出，晾干，喷以10%(W/V)硫酸铜稀磷酸(8%，W/V)溶液，热风吹干，在170 $^{\circ}$ C干燥10分钟，立即检视。供试品溶液如显与对照品溶液相应位置的杂质斑点，其颜色与对照品溶液所显的主斑点比较，不得更深(即甘油三酸酯不得过3%，胆固醇不得过2%，棕榈酸不得过0.2%)。

残留溶剂

水分 取本品，照水分测定法(通则0832 第一法1)测定，含水分不得过

3%~4.0%。

重金属

砷盐

微生物限度 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 10^2 cfu,霉菌和酵母菌总数不得过 10^2 cfu,不得检出大肠埃希菌;每 10g 供试品中不得检出沙门菌。

【含量测定】 氮

磷

磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺 照高效液相色谱法(通则 0512)测定。

色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂(色谱柱 Alltima Silica, 250mm×4.6mm, 5 μ m 或效能相当的色谱柱);以甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(85:15:0.45:0.05)为流动相 A,以正己烷-异丙醇-流动相 A (20:48:32)为流动相 B;流速为每分钟 1.0ml,按下表进行梯度洗脱;柱温为 40 $^{\circ}$ C;用蒸发光散射检测器(参考条件:漂移管温度为 72 $^{\circ}$ C;载气流量为每分钟 2.0L)。

时间(分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	10	90
20	30	70
35	95	5
36	10	90
41	10	90

取蛋黄磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、溶血磷脂酰乙醇胺、蛋黄磷脂酰胆碱、鞘磷脂、溶血磷脂酰胆碱对照品各适量,用三氯甲烷二氯甲烷-甲醇(2:1)溶解并稀释制成每 1ml 中含上述对照品分别为 50 μ g、~~100 μ g~~、100 μ g、200 μ g、200 μ g、200 μ g 的混合溶液,作为系统适用性溶液,取 20 μ l 注入液相色谱仪,各成分按上述顺序依次洗脱,各成分分离度应符合要求,理论板数按蛋黄磷脂酰胆碱峰与蛋黄磷脂酰乙醇胺峰计算均不低于 1500。

测定法 取蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷脂酰乙醇胺对照品各适量,精密称定,加三氯甲烷二氯甲烷-甲醇(2:1)溶解并定量稀释制成含蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷

脂酰乙醇胺 6 个不同浓度溶液作为对照品溶液。

对照品溶液中蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷脂酰乙醇胺的浓度范围应涵盖供试品溶液中蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷脂酰乙醇胺含量的 ~~60%~140%~~80%~120%。精密量取上述对照品溶液各 20 μ l 注入液相色谱仪中，以对照品溶液浓度的对数值与相应的峰面积对数值计算回归方程。

另精密称取本品约 15mg，置 50ml 量瓶中，加三氯甲烷二氯甲烷-甲醇(2:1) 溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 20 μ l 注入液相色谱仪中，记录色谱图。用回归方程计算蛋黄磷脂酰胆碱、蛋黄磷脂酰乙醇胺 的含量，即得。

【类别】 药用辅料，乳化剂，增溶剂，脂质体膜材等。

【贮藏】 密封、避光，低温(-18 $^{\circ}$ C 以下)保存。

注：①本品触摸时有轻微滑腻感。②本品在乙醇或乙醚中溶解，在丙酮或水中几乎不溶。

起草单位：江苏省食品药品监督检验研究院联系电话：025-86251150

复核单位：中国食品药品检定研究院，辽宁省药品检验检测院

积极参与单位：费森尤斯卡比华瑞制药有限公司、南京威尔药业集团股份有限公司、南京绿叶制药有限公司，艾伟拓（上海）医药科技有限公司、广州白云山汉方现代药业有限公司。

蛋黄卵磷脂药用辅料标准草案起草说明

- 1. 性状** 根据编写细则要求，删去“具有轻微的特臭”。
- 2. 溶解度** 将溶解度放在“注”中。
- 3. 鉴别（1）** 原有的化学鉴别（1）和（2）专属性不强，现将其删除。在含量测定项下的鉴别中，仅保留蛋黄磷脂酰胆碱色谱峰的鉴别。确保符合性的判定。
- 4. 鉴别（2）** 鞘磷脂（SPM）是蛋黄卵磷脂的特征性成分，故在鉴别项中增加用于对供试品中的 SPM 进行鉴别的项目。考虑到其在供试品中含量较低，有可能未检出，故拟定了鉴别（3）-脂肪酸组成，可在鞘磷脂无法检出时对蛋黄卵磷脂进行鉴别。
- 5. 鉴别（3）** 考虑到脂肪酸组成是蛋黄卵磷脂结构上的重要组成部分，并具有一定的特征性，故将脂肪酸组成订入鉴别。

6. 游离脂肪酸 2020 版标准中采用容量分析法,以棕榈酸为对照品对游离脂肪酸进行控制,限度规定为 1%。同时,该标准中的“甘油三酸酯、胆固醇与棕榈酸”项,采用薄层色谱法,以棕榈酸为对照品对棕榈酸进行控制,限度为 0.2%。两者重复,且限度要求不一致,故删除“游离脂肪酸”项。

7. 残留溶剂 针对企业提出的“样品在溶剂中溶解不好,基线不稳,生产过程中未涉及石油醚等溶剂”问题,标准拟定过程中,通过对溶剂、色谱柱、升温程序、顶空条件的考察,筛选出 6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷(或极性相近)为固定液的毛细管柱(DB-624UI, 60m×0.25mm, 1.4 μ m),建立了新的 GC 方法,弥补了原标准方法的不足。

调研发现,蛋黄卵磷脂生产中大多使用了乙醇、丙酮、乙醚和正己烷等有机挥发性化合物(但未涉及石油醚),属于 2、3 类溶剂,参照《中国药典》药用辅料与 ICH Q3C 协调方案(2206 征求意见稿)中要求,未在正文中设置残留溶剂检查项,但应符合通则 0251 中“药用辅料的残留溶剂应符合要求”。

8. 水分 参考 EP11.0“Egg Phospholipids For Injection”,并根据企业提供多批测定结果及稳定性数据,将原有的限度 3%修订为 4.0%。

9. 重金属和砷盐 根据《中国药典》药用辅料标准与 ICH Q3D 协调方案(230620 征求意见稿)的要求,进行了蛋黄卵磷脂元素风险评估,根据评估结果,删除重金属和砷盐检查项。

10. 含量测定-氮和磷 考虑到磷和氮均为蛋黄卵磷脂结构中的所含元素,测定它们的含量无法对蛋黄卵磷脂的质量进行控制。同时参考 USP-NF2023 的“Egg Phospholipids”和 EP11.0 的“Egg Phospholipids For Injection”,两者均未对磷含量和氮含量进行控制,故本次修订,将 ChP2020 蛋黄卵磷脂及蛋黄卵磷脂(供注射用)中的氮、磷项删除。

11. 含量测定-蛋黄磷脂酰胆碱和蛋黄磷脂酰乙醇胺 拟定标准优化修订了原有标准中的含量测定方法:(1)考虑环境友好,将原标准中的溶剂由三氯甲烷修订为二氯甲烷;(2)将含量测定中 PC 和 PE 的随行标曲线性浓度范围由 60%~140%缩小至 80%~120%;(3)与有关物质修订呼应,将磷脂酰肌醇相关内容删除。(4)统计分析了由企业提供药典委的数千批次蛋黄卵磷脂中蛋黄磷脂酰胆碱的含量,并参考 3 σ 原则,将蛋黄磷脂酰胆碱含量修订为“不得少于 65%”。

12. 注 将溶解度相关内容放入“注”中。