复方赖氨酸颗粒质量标准研究及改进*

李昭[1,2], 李昌亮[1,2], 石笑弋[1,2], 刘轶[1,2], 刘雁鸣[1,2], 李晓燕[3**]
(1. 湖南省药品检验检测研究院, 长沙 410001; 2. 国家药品监督管理局药用辅料工程技术研究重点实验室, 长沙 410001; 3. 湖南省药品审核查验中心, 长沙 410001)

摘要 **目的**: 提升现行《国家药品标准》地升国第 16 册收载的复方赖氨酸颗粒的质量标准。**方法**: 对现行质量标准中全部检验项目进行考察,并结合试验结果提出改进方案。**结果**: 增订了葡萄糖酸化学鉴别、盐酸赖氨酸液相鉴别;增订了葡萄糖酸钙含量均匀度测定;统一了葡萄糖酸钙含量均匀度和含量测定方法,并参照 2020 年版药典二部,采用新体例进行文字规范;修订了盐酸赖氨酸含量测定方法,由原质量标准的一阶导数紫外法修订为 HPLC 法测定,解决了原检测方法操作繁琐、费时、效率较低,且重复性差的问题。**结论**: 本方案从安全性和规范性上提高并完善了复方赖氨酸颗粒质量标准,为加强本品的质量控制和质量标准修订提供理论参考。

关键词:复方赖氨酸颗粒; 质量标准; 含量均匀度; 含量测定; 修订建议
中图分类号:R 921.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-3656(2024)06-0555-05
doi:10.19778/j.chp.2024.06.004

Research and improvement of quality standards for compound lysine granules*

LI Zhao[1,2], LI Changliang[1,2], SHI Xiaoyi[1,2], LIU Yi[1,2], LIU Yanming[1,2], LI Xiaoyan[3**]
(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001, China; 2. NMPA Key Laboratory for Pharmaceutical Excipients Engineering Technology Research, Changsha 410001, China; 3. Hunan Drug Inspection Center, Changsha 410001, China)

Abstract **Objective**: To Improve the quality standards of compound lysine granules included in local standards rise to national standards Volume 16 of the current National Drug Standards. **Methods**: All the inspection items in the current quality standards are inspected, and the improvement plan is proposed in combination with the test results. **Results**: Chemical identification of gluconic acid and liquid phase identification of lysine hydrochloride were added. Added the determination of the uniformity of calcium gluconate content; The uniformity and determination method of calcium gluconate content were unified, and the text specification was standardized with reference to the second part of the 2020 edition of the *Chinese pharmacopoeia*. The method for the determination of lysine hydrochloride content was revised from the first derivative ultraviolet method of the original quality standard to the determination by HPLC, which solved the problems of cumbersome, time-consuming, low efficiency and poor repeatability of the original detection method. **Conclusion**: This scheme improves and improves the quality standards of compound lysine granules from the perspective of safety and standardization, and provides a theoretical reference for

* **基金项目**:国家药品标准提高(食药监办药化管[2017]139 号文,编号:92)
第一作者简介:李昭,主管药师;研究方向:药物分析与质量控制。E-mail:374926526@qq.com
** **通讯作者简介**:李晓燕,副主任药师;研究方向:药物分析与质量控制。E-mail:289062393@qq.com

strengthening the quality control and quality standard revision of this product.

Key words: compound lysine granules; quality specification; content uniformity; content determination; revision suggestion

复方赖氨酸颗粒为氨基酸类复方制剂,可用于赖氨酸缺乏引起的小儿食欲缺乏[1]、脑发育和记忆减退以及改善脑损伤所致的神经症状,也可用于补充赖氨酸、维生素与钙元素,一般不良反应有腹部不适、嗳气、便秘等,过量使用或导致食欲缺乏、疲倦、头痛、烦躁。

复方赖氨酸颗粒每包 3 g 含盐酸赖氨酸 2.7 g,葡萄糖酸钙 0.15 g,维生素 B_1 0.010 5 g,维生素 B_6 0.006 g。辅料为可溶性淀粉、羧甲基纤维素钠、香精。该品种收载于《国家药品标准》(化学药品地方标准上升国家标准,第 16 册)[2],国内外药典均未收载该品种,《中国药典》2020 年版二部仅收载了盐酸赖氨酸[3]和葡萄糖酸钙[4]原料药。

复方赖氨酸颗粒现行质量标准使用一阶导数紫外法测定盐酸赖氨酸含量,该方法操作繁琐且重现性不佳,这可能会导致结果不可信,生产及质量控制的难度较大。为解决现有标准存在的问题,提高质控标准,加强对本品的质量控制,本研究参考相关文献[5-8]并结合生产企业对现行质量标准的反馈意见,对收集到的样品进行质量研究,考察现行质量标准的合理性和可行性,针对化学反应鉴别、HPLC 鉴别、葡萄糖酸钙含量均匀度检查、盐酸赖氨酸和葡萄糖酸钙含量测定等提出改进方案,进一步完善和提高现行质量标准,为复方赖氨酸颗粒质量标准的修订提供理论参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

安捷伦 1260 Ⅲ高效液相色谱仪、赛默飞 U3000 高效液相色谱仪(均配备 UV 检测器);岛津 AA7000 原子吸收分光光度计;XP205 型电子天平(梅特勒,精密度:1/100000);V20 水分仪(梅特勒);FED240 干燥箱(德国 Binder)。

1.2 样品及试剂

复方赖氨酸颗粒样品 7 批,分别为 A 企业 1 批(批号 180702)、B 企业 3 批(批号分别为 180604、190101 和 190102)、C 企业 3 批(批号分别为 190201、190202 和 190203)。

对照品均购自中检院,其中盐酸赖氨酸(批号:140673-201207;含量:99.8%)、碳酸钙对照品(批号:100824-201402;含量:100.0%;用途:供原子吸收分光光度法含量测定用);乙腈(honeywell,色谱纯);水为超纯水;试验中所用其他试剂茚三酮、氯化铁、盐酸、甲基红、氨试液、草酸铵、醋酸、磷酸二氢钾、辛烷磺酸钠、三乙胺、冰醋酸、硝酸均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 性状的考察及改进

本品性状外观描述“本品为白色或类白色颗粒,气芳香”,通过试验观察,3 家企业 7 批样品均为白色或类白色颗粒,符合规定,故未作修订。

2.2 鉴别的考察及改进

现行质量标准鉴别项目有氨基酸茚三酮显色反应,维生素 B_1、维生素 B_6 液相鉴别和钙盐鉴别,经检验,方法可行,故未作修订。

由于处方中有葡萄糖酸钙,而现行质量标准仅规定了钙盐的鉴别,建议标准中增加葡萄糖酸的鉴别反应。具体如下:取本品 5 g,研细,加水 10 mL 搅拌使溶解,滤过,取滤液,加氯化铁溶液,溶液显黄色。经检验,3 家企业 7 批样品均呈正反应。

因建议采用液相色谱法测定盐酸赖氨酸含量(具体详见含量测定考察及改进),故同步增订盐酸赖氨酸的液相鉴别。

2.3 检查的考察及改进

2.3.1 干燥失重 现行质量标准为“取本品,在 105 ℃干燥至恒重,减失重量不得过 4.0%”。按现行质量标准规定的方法进行测定,同时采用费休氏法的容量滴定法[9]测定水分,两个测定结果相比较,结果相差不大,且样品为颗粒剂,不易溶于甲醇,采用费休氏法测定时间相对较长。现行质量标准的烘干法简便,易于操作,且相对环保。故未作修订。干燥失重与水分测定结果比较表详见表 1。

2.3.2 含量均匀度 葡萄糖酸钙 现行质量标准未规定含量均匀度的检查,《中国药典》四部通则含量均匀度检查法规定颗粒剂主药含量小于每一个单剂重量 25% 者,均应检查含量均匀度[10]。复方赖氨酸颗粒中葡萄糖酸钙含量小于单剂重量 25%,建议增订葡萄糖酸钙的含量均匀度检查。含量均匀度测定条件与含量测定相同,从节省人力物力、提高检验效率考虑,建议采用含量均匀度均值替代含量测

表1 干燥失重与水分测定结果比较表

Tab. 1 Comparison of loss on drying and water content results

Enterprises	Lot	Loss on drying/%	Water content/%
A	180702	0.57	0.46
B	180604	1.41	1.39
	190101	1.22	1.31
	190102	1.13	1.18
C	190201	0.62	0.60
	190202	0.60	0.55
	190203	0.50	0.50

结果。具体如下:以含量测定葡萄糖酸钙项下测得的每袋含量计算,应符合规定。

2.3.3 未修订项 照《中国药典》2020 年版 0104 颗粒剂项下粒度、溶化性、装量差异项,经考察方法可行,3 家企业 7 批样品测定结果均符合规定,故上述项目未作修订。

2.4 含量测定的考察

2.4.1 盐酸赖氨酸 现行质量标准采用一阶导数紫外法测定盐酸赖氨酸的含量,该检测方法操作繁琐、费时、效率较低,且重复性差导致结果不可信,经查阅相关文献[11-14],建议采用高效液相色谱法测定盐酸赖氨酸的含量,具体如下:

盐酸赖氨酸 照高效液相色谱法(《中国药典》2020 年版四部通则 0512)测定。

溶剂 0.05 mol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液。

供试品溶液 取装量差异项下的内容物,研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸赖氨酸 0.27 g),置 50 mL 量瓶中,加溶剂适量,超声使溶解,用溶剂稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液。

对照品溶液 取盐酸赖氨酸对照品适量,精密称定,加溶剂溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含盐酸赖氨酸 5.4 mg 的溶液。

色谱条件 用氨基键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.05 mol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液(60∶40)为流动相,流速 1.0 mL·min^{-1},检测波长为 200 nm,进样体积 10 μL。

系统适用性要求 理论板数按赖氨酸峰计算不低于 2 000,赖氨酸峰与相邻峰之间的分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液,分别注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算。

经方法学验证:该方法阴性样品溶液主峰位置无干扰,专属性良好。详见图 1。盐酸赖氨酸在 1.346 0~7.403 1 mg·mL^{-1}范围内与峰面积呈良好的线性关系,r=0.999 9;平均回收率为 99.32%,RSD 为 0.27%(n=9);重复性试验平行配制 6 份供试品溶液平均含量为 99.32%,RSD 为 0.36%(n=6);精密度试验 6 次重复进样峰面积 RSD 为 0.03%(n=6);稳定性试验于配制供试品溶液 0、2、4、8、12、24 h 后进样峰面积 RSD 为 0.23%(n=6);更换仪器、色谱柱品牌,调整柱温(±5 ℃)、流速(±0.1 mL·min^{-1})、流动相比例(±5%)等条件,专属性、分离度均符合要求,耐用性良好。该方法简便、准确且重复性好,可用于复方赖氨酸颗粒中盐酸赖氨酸的含量测定,建议将盐酸赖氨酸含量测定方法修订为 HPLC 法。

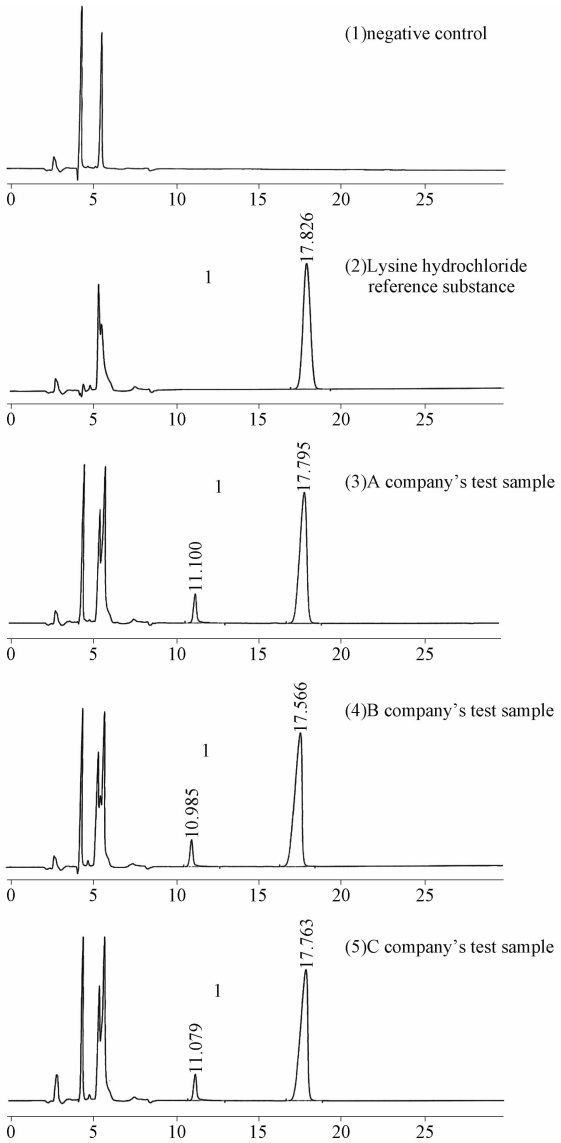

图1 盐酸赖氨酸 1 含量测定 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of lysine hydrochloride 1 content determination

取样品(A 企业,批号:180702)6 份,分别采用新建的 HPLC 法与原标准一阶导数紫外分光光度法测定,结果见表 2。结果表明:原标准方法重复性不佳,新建的 HPLC 法操作简便、准确且重复性好,综上考虑,建议将盐酸赖氨酸含量测定方法修订为 HPLC 法。

表 2　HPLC 法与一阶导数紫外分光光度法测定盐酸赖氨酸含量结果比较表

Tab. 2　Comparison results of HPLC and first derivative ultraviolet spectrophotometry for the determination of lysine hydrochloride

Methods	HPLC	First derivative UV spectrophotometry
Result/%	99.46	102.92
	99.93	98.13
	98.89	101.97
	99.16	96.14
	99.15	98.27
	99.33	103.95
Average/%	99.32	100.23
RSD/%	0.36	3.13

规范后的盐酸赖氨酸含量测定方法,经考察,方法可行,3 家企业 7 批样品测定结果均符合规定,建议修订。

2.4.2　葡萄糖酸钙　现行质量标准采用原子吸收光谱法测定钙含量表征葡萄糖酸钙的含量,钙与葡萄糖酸钙之间需要换算,建议将换算系数订入质量标准。另外因增订了葡萄糖酸钙含量均匀度项目,而"采用含量均匀度均值替代含量测定结果"这一理念与思路在理论上和技术上均是完全可行的,且顺应了国际上大力提倡的"绿色检验"之潮流,节省了人力物力、提高了工作效率,故建议采用含量均匀度均值替代含量测定结果[15]。根据以上思路完善质量标准,并参照 2020 年版药典二部采用新体例进行文字规范,具体如下:

含量测定　葡萄糖酸钙照原子吸收分光光度法(《中国药典》2020 年版四部通则 0406 第一法)测定。

供试品溶液　取本品 10 袋,分别置锥形瓶中,加水 60 mL 与硝酸 12 mL,加热使全部溶解,放冷,用水转移至 250 mL 量瓶中并稀释至刻度,摇匀。精密量取 2 mL,置 25 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。

对照品溶液　取光谱纯碳酸钙约 0.125 g,精密称定,置 250 mL 烧杯中,加水约 70 mL,缓慢加入盐酸溶液(1→3)使完全溶解后,再加盐酸溶液(1→3)5 mL,煮沸挥去二氧化碳,放冷,用水转移至 500 mL 量瓶中并稀释至刻度,摇匀(每 1 mL 中约含 Ca 0.1 mg)。

测定法　精密量取对照品溶液 2、3、4、5 与 6 mL,分别置 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,取上述各溶液和供试品溶液,在 422.7 nm 的波长处测定,计算钙(Ca)含量,并将结果乘以 11.19,即得每袋葡萄糖酸钙($C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$)的含量。[葡萄糖酸钙($C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$)相对分子质量/钙(Ca)相对分子质量 = 448.40/40.078 = 11.19]。求出 10 袋的平均含量。

规范后的葡萄糖酸钙含量均匀度及含量测定方法,经考察,方法可行,3 家企业 7 批样品测定结果均符合规定,建议修订。

2.4.3　维生素 B_1 及维生素 B_6 含量测定　现行质量标准采用 HPLC 高效液相法测定维生素 B_1 及维生素 B_6 含量,经考察,方法可行,3 家企业 7 批样品测定结果均符合规定,故未作修订。

3　讨论

药品质量与人们的生活密切相关,关系着人们的健康与生命,药品质量标准与药品的质量有着密切的关系,是药品进行检验与技术监督的依据,药品质量标准需要不断地进行改进与完善,从而使得药品质量不断地完善。本研究在现行复方赖氨酸颗粒质量标准的基础上,考察了各检验项目设置的合理性和可行性,对部分项目进行了增修订,对葡萄糖酸化学反应鉴别、盐酸赖氨酸液相鉴别、葡萄糖酸钙含量均匀度、盐酸赖氨酸及葡萄糖酸钙的含量测定等提出增修订建议。改进后的质量标准专属性和可操作性更强,安全性和规范性有所提升,为复方赖氨酸颗粒质量标准的提高提供了重要理论依据。

参考文献

[1]　刘梦华. 小儿复方赖氨酸颗粒辅治小儿厌食症的临床效果[J]. 临床合理用药杂志, 2021,14(35): 131.
LIU MH. Clinical effect of compound lysine granule in treating anorexia in children[J]. Chin J Clinl Rat Drug Use, 2021,14(35): 131.

[2]　国家食品药品监督管理局. 国家药品标准: WS1-XG-047-2000[S]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
State Food and Drug Administration. National drug standard. WS1-XG-047-2000[S]. Beijing: Chemical Industry Press,

2003.

[3] 中华人民共和国药典 2020 年版. 二部[S]. 2020:1320.
ChP 2020. Vol Ⅳ[S]. 2020: 1320.

[4] 中华人民共和国药典 2020 年版. 二部[S]. 2020:1519
ChP 2020. Vol Ⅳ[S]. 2020: 1519.

[5] 王琳, 吴斌, 吴兆伟, 等. 药用辅料氨丁三醇质量标准研究及改进[J]. 中国药品标准, 2022, 23 (05): 494.
WANG L, WU B, WU ZW, *et al*. Investigation and improvement of quality standard of trometamol pharmaceutical excipients [J]. Drug Stand China, 2022, 23 (05): 494.

[6] 李春焕,巩丽萍,石峰,等. 赖氨酸磷酸氢钙颗粒现行质量标准存在的问题及改进建议[J]. 食品与药品, 2022,24(4): 289.
LI CH, GONG LP, SHI F, *et al*. Problems existing in current quality standard of lysine hydrochloride and calcium hydrogen phosphate granules and suggestions for its improvement[J]. Food Drug, 2022,24 (4): 289.

[7] 谭菊英, 颜其双, 王娟, 等. 高效液相色谱法同时测定复方赖氨酸颗粒中 4 种成分的含量[J]. 中南药学, 2019, 17 (7): 1100.
TAN JY, YAN QS, WANG J, *et al*. HPLC simultaneous determination of 4 effective components in compound lysine granule [J]. Cent South Pharm, 2019, 17(7): 1100.

[8] 何晓艳,李荣玮,潘震宇. 不同方法测定赖氨葡锌颗粒中盐酸赖氨酸含量的比较[J]. 海峡药学,2021,33 (4): 62.
HE XY, LI RW, PAN ZY. Comparison of three methods for the determination of lysine hydrochloride in lysine glucozinc granules [J]. Strait Pharm J, 2021, 33 (4): 62.

[9] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020:114.
ChP 2020. Vol Ⅳ[S]. 2020: 114.

[10] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020:137.
ChP 2020. Vol Ⅳ[S]. 2020: 137.

[11] 李昭,郑金凤,石笑弋,等. HPLC 法测定复方赖氨酸颗粒中盐酸赖氨酸和葡萄糖酸钙的含量[J]. 工业微生物, 2023,53 (5): 113.
LI Z, ZHENG JF, SHI XY, *et al*. determination of lysine hydrochloride and calcium gluconate in compound lysine granules by HPLC[J]. Ind Microbiol, 2023,53(5): 113.

[12] 阚微娜, 王全一, 隗笑. HPLC 法测定复方制剂赖氨葡锌颗粒中有效成分含量[J]. 中国药师, 2012, 15(4): 505.
KAN WN, WANG QY, KUI X. Simultaneous determination of effective components in lysine hydrochloride and zinc gluconate granules[J]. China Pharmacist, 2012, 15(4): 505.

[13] 童颖, 李苗, 宋敏. 高效液相色谱法测定复方赖氨酸颗粒中盐酸赖氨酸含量[J]. 医药导报, 2018, 37(7): 862.
TONG Y, LI M, SONG M. Determination of lysine hydrochloride in compound lysine granules by HPLC[J]. Herald Med, 2018, 37(7): 862.

[14] 李荣玮, 黄晓燕, 潘震宇. HPLC 法测定小儿复方赖氨酸颗粒中盐酸赖氨酸的含量[J]. 海峡药学, 2018, 30(4): 75-76.
LI RW, HUANG XY, PAN ZY. Determination of lysine hydrochloride in pediatric compound lysine granules by HPLC [J]. Strait Pharm J, 2018, 30(4): 75-76.

[15] 张启明,谢沐风. 关于"采用含量均匀度均值作为含量测定结果"的思考与建议[J]. 中国药品标准, 2009,10(3): 168.
ZHANG QM, XIE MF. Suggestions on adoption of content uniformity mean as the results of content determination[J]. Drug Stand China, 2009, 10(3): 168.

(收稿日期:2024-08-03)