

附件：硫酸鱼精蛋白药用辅料标准草案公示稿

硫酸鱼精蛋白

Liusuan Yujingdanbai

Protamine Sulfate

本品系由鲑科 (*Salmonidae*) 鱼类新鲜成熟精子中提取的一组碱性多肽的硫酸盐。按干燥品计算, 应为90.0%~110.0%。

【制法要求】 本品应从检疫合格的新鲜可食用鱼类精子中提取, 生产所用鱼的种属应明确, 生产过程应符合现行版药品生产质量管理规范要求, 且应避免致病微生物等有害物质的污染。

【性状】 本品为白色或类白色的粉末。

比旋度 取本品, 精密称定, 加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 10mg 的溶液, 依法测定 (通则 0621), 比旋度为 -65° 至 -85° 。

【鉴别】 (1) 取本品约5mg, 加水1ml, 微温溶解后, 加10%氢氧化钠溶液1滴与硫酸铜试液2滴, 上清液显紫红色。

(2) 取本品约 1mg, 加水 2ml 溶解后, 加 0.1% α -萘酚的 70% 乙醇溶液与次氯酸钠试液各 5 滴, 再加氢氧化钠试液使溶液成碱性, 即显粉红色。

(3) 在含量测定项下记录的色谱图中, 供试品溶液各主峰的保留时间应与对照品溶液各主峰的保留时间一致。

【检查】 溶液的澄清度与颜色 取本品 0.10g, 加水 20ml 溶解后, 溶液应澄清无色; 如显浑浊, 与 2 号浊度标准液 (通则 0902) 比较, 不得更浓; 如显色, 与黄色 1 号标准比色液 (通则 0901 第一法) 比较, 不得更深。

吸光度 取本品, 精密称定, 加水溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 10mg 的溶液, 照紫外-可见分光光度法 (通则 0401) 测定, 在 260~280nm 的波长范围内吸光度不得过 0.1。

硫酸盐 取本品 0.15g, 精密称定, 置烧杯中, 加水 15ml 和稀盐酸 5ml, 加热至沸, 缓缓加入 10% 氯化钡溶液 10ml, 加盖, 置水浴上加热 1 小时, 滤过, 沉淀用热水洗涤数次, 在 600 $^{\circ}$ C 灼灼至恒重, 精密称定; 所得残渣重量与 0.4117 相乘, 即为硫酸盐的重量。按干燥品计算, 含硫酸盐应为 16%~24%。

有关物质 取含量测定项下的供试品溶液作为供试品溶液, 照含量测定项下的色谱条件, 精密量取供试品溶液 100 μ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图。

按峰面积归一化法计算, 除四个主峰外, 其他色谱峰面积的总和不得过 8.0%。供试品溶液色谱图中小于 0.05% 的色谱峰忽略不计。

干燥失重 取本品, 在 105 $^{\circ}$ C 干燥 3 小时, 减失重量不得过 5.0% (通则 0831)。

铁盐 取本品 1.0g, 加水 25ml 使溶解 (必要时加热), 依法检查 (通则 0807), 与标准

铁溶液 1.0ml 制成的对照液比较, 不得更深 (0.001%)。

异常毒性 取本品, 加氯化钠注射液溶解并稀释制成每 1ml 中含 1mg 的溶液, 依法检查(通则 1141), 按静脉注射法给药, 应符合规定。

细菌内毒素 取本品, 依法检查(通则 1143), 每 1mg 硫酸鱼精蛋白中含内毒素的量应小于标示量。

【含量测定】 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 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以 0.1mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 1.8)为流动相 A, 以 0.1mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 1.8)-乙腈(93.5:6.5)为流动相 B, 按下表进行梯度洗脱; 柱温为 55℃; 检测波长为 214nm; 流速为每分钟 1ml。对照品溶液色谱图中, 4 个组分中出峰最晚的保留时间不得过 15 分钟, 按出峰顺序; 肽 1 和肽 2 峰的分度度应不小于 2.0(参考图谱见附图); 对照品溶液连续 6 针进样, 4 个组分峰面积和的 RSD 不得过 2.0%。

时间(分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	85	15
15	55	45
25	55	45
30	85	15

测定法 取本品适量, 精密称定, 加 0.01mol/L 盐酸溶液溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 0.5mg 的溶液, 作为供试品溶液, 精密量取 100 μ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取鲑科来源硫酸鱼精蛋白对照品适量, 精密称定, 加 0.01mol/L 盐酸溶液溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.5mg 的溶液, 同法测定。按外标法以四个主峰峰面积之和计算, 即得。

【类别】 络合剂。

【贮藏】 密封, 在凉暗处保存。

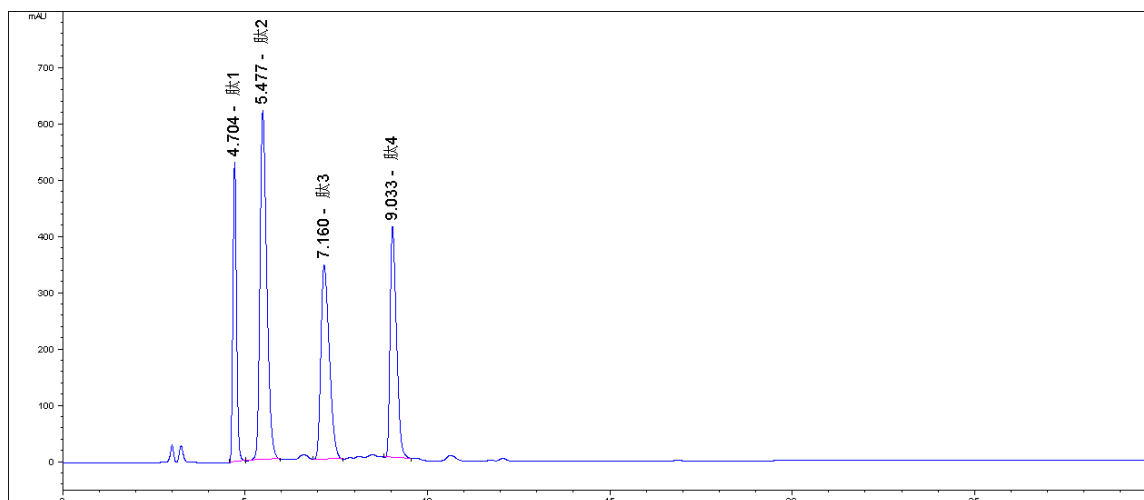
【标示】 ①应标明每 1mg 硫酸鱼精蛋白中含内毒素的量应小于的标示值; ②应标明提取工艺中使用的溶剂种类和残留量(残留溶剂如为乙醇与丙酮, 可按下述方法测定)。

取本品约 0.1g, 精密称定, 置顶空瓶中, 精密加水 5ml 使溶解, 密封, 作为供试品溶液。

另取乙醇与丙酮各适量, 精密称定, 用水定量稀释制成每 1ml 中均约含 0.1mg 的溶液, 精密量取 5ml, 置顶空瓶中, 密封, 作为对照品溶液。

照气相色谱法(通则 0521)试验, 以 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为色谱柱, 起始温度为 40℃, 维持 5 分钟, 以每分钟 30℃ 的速率升温至 180℃, 维持 3 分钟; 进样口温度为 200℃; 检测器温度为 250℃; 顶空瓶平衡温度为 90℃, 平衡时间为 40 分钟。取供试品溶液与对照品溶液分别顶空进样, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算乙醇与丙酮的含量。

附图：鲑科来源的硫酸鱼精蛋白参考色谱图



肽 1: $C_{166}H_{317}N_{95}O_{37}$, 4235.89, PRRRRSSSRPIRRRRRPPRASRRRRRGGRRRR;

肽 2: $C_{170}H_{326}N_{98}O_{36}$, 4319.03, PRRRRSSRRPVRRRRRPRVSRRRRRRGGRRRR;

肽 3: $C_{167}H_{319}N_{95}O_{37}$, 4249.92, PRRRRSSSRPVRRRRRPRVSRRRRRRGGRRRR;

肽 4: $C_{160}H_{309}N_{93}O_{33}$, 4063.76, PRRRRASRRIRRRRRRPRVSRRRRRGGRRRR

注：本品在水中略溶，在乙醇或乙醚中不溶。

起草单位：上海市食品药品检验研究院

联系电话：021-50798175

复核单位：北京市药品检验研究院

积极参与单位：北京斯利安药业有限公司、诺和诺德（中国）制药有限公司、甘李药业股份有限公司、通化东宝药业股份有限公司、珠海联邦生物医药有限公司、礼来苏州制药有限公司、江苏万邦生化医药集团有限责任公司

硫酸鱼精蛋白药用辅料标准草案起草说明

硫酸鱼精蛋白收载于欧洲药典 11.0 版 (EP11.0)、英国药典 2023 版 (BP2023)、美国药典现行版 (2017 年 5 月 1 日起生效) (USP)、日本药局方 X VIII 版 (JP) 和中国药典 2020 年版二部 (ChP)。本标准根据药用辅料的特点制定。

一、定义和制法要求

目前本品作为药用辅料应用均为鲑科来源，故将鱼种限定为鲑科来源。在制法要求中增加“工艺过程中应避免致病菌等有害物的污染”。

二、检查

1. 有关物质

参照 USP 中含量测定方法增订，峰面积归一化法计算有关物质，USP 中色谱纯度项下限度为不得少于 92%，EP 中有关物质项下限度为不得过 8.0%，限度参照 EP 制订。

2. 铁盐

参照 EP 限度增订，按中国药典通则 0807 铁盐测定法操作。

三、含量测定

参照 USP 制订 HPLC 法。

四、标示

根据《药用辅料细菌内毒素及热原检查法设定思路》和 ICH Q3C 指导原则，制订标示①和②，并附上残留溶剂的测定方法。

五、附图

增加附图供液相测定参考。