



团 体 标 准

T/ GDPA xxxx—2021

β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐含量及有关物质检测

Determination of content and impurity of β -Nicotinamide adenine dinucleotide
phosphate sodium salt

(征求意见稿)

2021-xx-xx 发布

2021-xx-xx 实施

广东省药学会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则起草。

本标准负责起草单位：中山百灵生物技术有限公司、中山百盛生物技术有限公司、中山俊凯生物技术有限公司、安徽先和研究开发有限公司、中山安士生物制药有限公司。

本标准主要起草人：娄良、张和平、郭然、梁待亮、钟义华、秦和平。

本标准可能涉及到《一种 β -NADP二钠盐含量及有关物质的测定方法》（CN105866270B）发明内容相关专利使用。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐含量及有关物质检测

1 范围

本标准规定了β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐的含量测定及有关物质检测方法。
本标准适用于β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐的质量控制。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版本）适用于本文件。

通则0301、通则0631 《中华人民共和国药典》 2020年版四部
CN201610192347X 《一种β-NADP二钠盐含量及有关物质的测定方法》

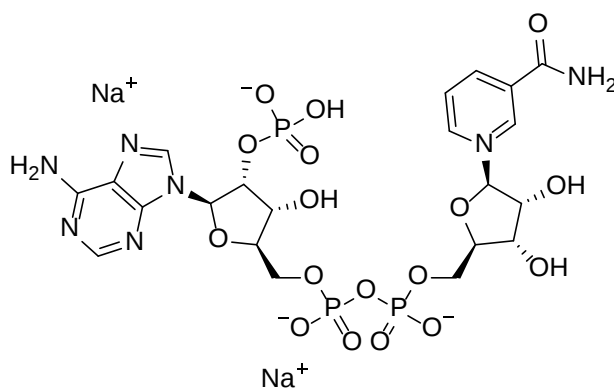
3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐 β-Triphosphopyridine nucleotide disodium salt

化学式为 $C_{21}H_{26}N_7Na_2O_{17}P_3$ ，其化学结构式如下：



3.2

供试品 test articles

系指待鉴别、待测定的供测试样品。

3.3

对照品 chemical reference standards

指采用理化方法进行鉴别、检查或含量测定时所用的标准物质，其特性量值一般按纯度（%）计。

3.4

有关物质 related substances

指药品在生产过程中带入的起始原料、中间体、聚合体、副反应产物，以及贮藏过程中的降解产物等。

4 产品要求

β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐按无水、无溶剂物计算，含 $C_{21}H_{26}N_7Na_2O_{17}P_3$ 不得少于98.0%；主要成分含量及有关物质检查应符合中国药典相关要求。

5 检测方法

5.1 仪器与试剂

5.1.1 试剂材料

β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐（ β -NADP二钠盐）样品；取 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐-sigma对照品； β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）-sigma对照品；三磷酸腺苷酸（ATP）-sigma对照品；二磷酸腺苷酸（ADP）-sigma对照品；磷酸（色谱纯）；三羟甲基氨基甲烷（色谱纯）；水（重蒸馏水）。

5.1.2 溶液配置

β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品溶液：取 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐样品适量25mg，精密称定，加流动相溶，转移至50ml容量瓶中，并定量稀释制成浓度为0.5mg/mL的溶液。

β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐对照品溶液：取 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐-sigma对照品50mg，精密称定，加流动相溶解，转移至50ml容量瓶中，定量稀释制成浓度为1mg/mL的溶液。

杂质对照品溶液：取 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）-sigma对照品；三磷酸腺苷酸（ATP）-sigma对照品；二磷酸腺苷酸（ADP）-sigma对照品各0.5mg、0.25mg、0.25mg，分别精密称定，加流动相分别溶解，并转移至100ml、100ml、100ml容量瓶中，定量稀释制成浓度为5ug/mL、2.5ug/mL、2.5ug/mL的杂质对照品溶液。

系统适用性溶液：分别取β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐、NAD、ATP、ADP化学对照品适量，用稀释剂溶解并稀释制成每1 mL中分别含0.5 mg的混合溶液。

5.1.3 仪器设备

高效液相色谱仪（waters ACQUITY Arc, S/N H18VPD440A）；电子分析天平（NewClassic MF, MS205DU, S/N B847814336）。

5.1.4 设备条件

高效液相色谱仪（ACQUITY UPLC PDA 检测器）；C₁₈色谱柱（5μm, 4.6 mm×150mm）；流动相：含0.6%三羟甲基氨基甲烷水溶液（用磷酸调节pH值至4.0）；检测波长：260 nm；柱温：30 ℃，流速：1.0 mL/min；进样量20 μL。

5.2 检查

5.2.1 性状

取β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐样品，应为白色或类白色粉末或结晶性粉末，有引湿性；在水中易溶，在乙醇中几乎不溶，不溶于醚和乙酸乙酯。

5.2.2 鉴别

5.2.2.1 在[含量测定]项下记录的β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品液相色谱图中，β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品溶液主峰保留时间应与β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐对照品溶液主峰的保留时间一致。

5.2.2.2 β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐样品的红外光吸收图谱应与β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐-sigma对照品的图谱一致。

5.2.2.3 β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐样品显钠盐鉴别反应与《中华人民共和国药典》2020版四部通则0301一致。

5.2.3 pH值

分别取β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐样品3批，加水溶解并稀释制成每1mL中约含20mg的溶液，按照《中华人民共和国药典》2020版四部通则0631测定，pH值范围应为8.0~9.0。

6 含量测定

采用高效液相色谱法，精密量取β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品溶液与β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐色谱图。按外标法以峰面积计算，含C₂₁H₂₆N₇Na₂O₁₇P₃不得少于98.0%。

7 有关物质检测

采用高效液相色谱法，精密量取 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品溶液与杂质对照品溶液各20 μ L，分别注入液相色谱仪，记录 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品色谱图及杂质对照品色谱图中NAD、ATP、ADP的峰面积。 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸二钠盐供试品溶液色谱图中如有与NAD、ATP、ADP保留时间相同的色谱峰，按外标法分别以峰面积计算，含NAD、ADP、ATP分别各不超过1.0%、0.5%、0.5%。

系统适用性溶液色谱图中，各成分峰间的分离度应符合规定，理论板数按NAD计算不低于2500。

参 考 文 献

- [1] 姜丹丹, 李伟, 周怀彬, 等. 超高效液相色谱-质谱法测定细胞中嘌呤核苷酸的方法探究[J]. 分析测试报, 2013, 32(10):1202-1206.
- [2] 洪平, 刘虎威, 靳光华, 等. 高效液相色谱法测定骨骼肌 ATP、ADP、AMP、NAD⁺、NADH 含量[J]. 中国运动医学杂志, 2002(1):57-60.
-