HPLC 法测定卡左双多巴缓释片中的有关物质

时晓燕[1,2]，庞余江[1]，朱志祥[1]，潘增玉[2]，张丽萍[2]，冯　中[1,2]*
（1. 中国海洋大学医药学院，山东青岛 266003；
2. 鲁南制药集团股份有限公司，山东省药物国际化工程实验室，山东临沂 273400）

摘要：建立了 HPLC 法测定卡左双多巴（左旋多巴 - 卡比多巴）缓释片中的有关物质。采用 Waters X-Bridge C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm），以 pH 1.8 的磷酸盐缓冲液为流动相 A、pH 1.8 的磷酸盐缓冲液和甲醇（体积比 250 ∶ 750）为流动相 B，梯度洗脱。流速为 1.0 mL/min，检测波长为 280 nm，柱温为 25 ℃，进样量为 20 μL。结果显示，主峰及各杂质峰均能良好分离，卡比多巴、左旋多巴和 7 个有关物质的线性关系良好，7 个有关物质的平均回收率（n=9）分别为 98.97%、100.79%、102.69%、98.13%、102.34%、95.97%、100.80%。强制性降解试验结果显示，该方法可指示各条件下的降解产物。相较于美国药典收录的有关物质检测方法，该方法专属性高、简便耐用，可用于卡左双多巴缓释片的生产控制及稳定性样品测定。

关键词：卡左双多巴缓释片；卡比多巴；左旋多巴；高效液相色谱；有关物质；强制性降解
中图分类号：R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2024)02-0275-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.02.015

Determination of the Related Substances in Carbidopa and Levodopa Sustained-release Tablets by HPLC

SHI Xiaoyan[1,2], PANG Yujiang[1], ZHU Zhixiang[1], PAN Zengyu[2], ZHANG Liping[1], FENG Zhong[1,2]*
(*1. School of Medicine, Ocean University of China, Qingdao 266003;*
2. Pharmaceutical Internationalization Engineering Lab. of Shandong Province, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 273400)

ABSTRACT: An HPLC method was established for the determination of the related substances in carbidopa and levodopa sustained-release tablets. The Waters X-Bridge C_{18} column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, and the analysis was carried out in the gradient elution mode with pH 1.8 phosphate buffer solution as mobile phase A, and pH 1.8 phosphate buffer solution-methanol (250 ∶ 750) as mobile phase B. The flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 20 μL. The results showed that the main peaks and related substance peaks could be well separated, and it was linear for carbidopa, levodopa, and the seven related substances. The average recoveries (n=9) of seven related substances were 98.97%, 100.79%, 102.69%, 98.13%, 102.34%, 95.97%, and 100.80%, respectively. The results of the forced degradation tests showed that this method could indicate the degradation products under various conditions. This method has higher specificity, simplicity, and durability than the methods included in the USP 43. It can be used for the production control and stability sample determination of carbidopa and levodopa sustained release tablet.

Key Words: carbidopa and levodopa sustained-release tablet; carbidopa; levodopa; HPLC; related substance; forced degradation

帕金森病（PD）是一种常见于中老年人群的神经系统疾病，在我国 PD 也称为“震颤麻痹”[1]。临床有多种治疗 PD 的药物，如多巴胺受体（DR）激动药左旋多巴（levodopa，**1**）和芳香胺基酸脱羧

酶（AADC）抑制剂卡比多巴（carbidopa，**2**）。目前治疗 PD 的有效手段是 **1** 和 **2** 联合使用（卡左双多巴）[2—8]。

药品在研发及生产过程中，质量安全的关键指标是有关物质，但目前卡左双多巴缓释片有关物质的研究报道较少，因此有必要对其进行研究以保证药品质量安全。

本研究建立了 HPLC 法测定自制卡左双多巴缓释片中的 **1** 相关杂质 A（**3**）、**2** 相关杂质 B（甲基多巴，**4**）、**1** 相关杂质 B（**5**）、**2** 相关杂质 C（3,4- 二羟基苯甲醛，**6**）、2 相关杂质 D（3,4- 二羟基苯丙酮，**7**）、**2** 相关杂质 A（3-*O*- 甲基卡比多巴，**8**）、**2** 相关杂质 E（**9**），**1** ～ **9** 的化学结构如图 1 所示，以期为卡左双多巴缓释片的质量控制研究提供参考。

1　仪器与试药

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪（美国 Thermo 公司）；XPE105 型电子分析天平（瑞士梅特勒 - 托利多有限公司）。

卡左双多巴缓释片（规格 50 mg/200 mg，批号 221001、221002、221003）和空白辅料均为自制；**1** 对照品（含量 92.2%，批号 R097J0）、**2** 对照品（含量 99.3%，批号 R035T0）、**3** 对照品（含量 100.0%，批号 R09510）、**5** 对照品（含量 87.0%，批号 J1J299）和 **8** 对照品（含量 100.0%，批号 R065X0）均为美国药典对照品；**4** 对照品（中国食品药品检定研究所，含量 100.0%，批号 100189-201102）；**6** 对照品（含量 98.0%，批号 52-GHZ-122-1）和 **7** 对照品（含量 98.0%，批号 1-WBZ-87-1）均购于加拿大 TRC 公司；**9** 对照品（加拿大 TLC 公司，含量 100.0%，批号 4935-015A8）；**1** 原料药（批号 1910306）和 **2** 原料药（批号 1904006）均购于山东新华制药股份有限公司；甲醇、无水磷酸二氢钠为色谱纯，磷酸为分析纯，水为超纯水。

收稿日期：2023-09-11

基金项目：基于抗肿瘤/心血管药物结晶与晶型控制的共性关键技术创新与产业化，山东省重大科技创新工程（2020CXGC010506）

作者简介：时晓燕（1987—），女，硕士，从事新药的研究与开发。

通信作者：冯　中（1982—），男，正高级工程师，硕士生导师，主要从事新药研究与开发。

E-mail：fengzhong22@163.com

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱　以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 Waters X-Bridge C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为 pH 1.8 的磷酸盐缓冲液（6 g/L 的无水磷酸二氢钠溶液，用磷酸调至 pH 1.8），B 为 pH 1.8 的磷酸盐缓冲液和甲醇（体积比 250 ∶ 750），梯度洗脱（0—10 min，A 98%；10—30 min，A 98%—90%；30—45 min，A 90%—40%；45—46 min，A 40%—98%；46—55 min，A 98%）；流速 1.0 mL/min；检测波长 280 nm；柱温 25 ℃；进样量 20 μL。

2.2　溶液配制

稀释液：pH 1.8 的磷酸盐缓冲液 - 甲醇（体积比 95 ∶ 5）。

空白辅料溶液：称取卡左双多巴缓释片的空白辅料适量，用稀释液超声辅助分散，作为空白辅料溶液。

1 ～ 9 对照品贮备液：分别精密称取 **1** ～ **9** 对照品适量，各加入适量稀释液溶解，制成每 1 mL 含 **1** ～ **9** 分别为 500、125、500、625、250、250、500、625、250 μg 的 **1** ～ **9** 对照品贮备液。

1 ～ 9 对照品溶液：精密量取 **1** ～ **9** 对照品贮备液适量，分别以稀释液稀释成每 1 mL 含 **1** ～ **9** 分别为 5、1.25、0.50、0.63、1、0.25、1.25、0.63、0.25 μg 的 **1** ～ **9** 对照品溶液。

混合对照品贮备液：精密量取 **3** ～ **9** 对照品贮备液适量，以稀释液稀释成每 1 mL 含 **3** ～ **9** 分别为 25、31.25、50、12.5、62.5、31.25、12.5 μg 的混合对照品贮备液。

混合对照品溶液：精密量取混合对照品溶液贮备液及 **1**、**2** 对照品贮备液适量，以稀释液稀释成每 1 mL 含 **1** ～ **9** 分别为 5、1.25、0.5、0.63、1、0.25、1.25、0.63、0.25 μg 的混合对照品溶液。

系统适用性溶液：称取 **2** 对照品 12.5 mg，置 100 mL 量瓶中，加适量稀释液溶解，并精密加入 **5** 对照品贮备液 1.0 mL，用稀释液定容，摇匀即得。

供试品溶液：取卡左双多巴缓释片 20 片，精

密称定，研磨，称取研磨后的粉末 153 mg（相当于含 **2** 25 mg、**1** 100 mg），置 200 mL 量瓶中，加稀释液溶解并定容，摇匀即得。

加标供试品溶液：取卡左双多巴缓释片 20 片，精密称定，研磨，称取研磨后的粉末 153 mg，置 200 mL 量瓶中，加适量稀释液溶解，并精密加入混合对照品贮备液 4.0 mL，用稀释液定容，摇匀即得。

2.3 系统适用性试验和专属性试验

取“**2.2**”项下的空白辅料溶液、系统适用性溶液、对照品溶液及混合对照品溶液，按“**2.1**”项下的色谱条件分别进样测定，同时记录色谱图（图 2）。结果显示，空白辅料溶液对测定无干扰，**5** 峰与 **2** 峰之间的分离度大于 1.5，各杂质峰之间分离度均符合要求。

2.4 强制性降解试验

称取卡左双多巴缓释片细粉约 153 mg、**1** 原料药 100 mg 及 **2** 原料药 25 mg，分别置 200 mL 量瓶中，经酸（加入 1 mol/L 盐酸 10 mL，60 ℃水浴加热 1 h）、碱（加入 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL，于室温放置 1.5 h）、氧化（加入 30%过氧化氢溶液 10 mL，于室温放置 24 h）、热（固体热：于 105 ℃放置 3 d；溶液热：加入稀释液 10 mL，于 60 ℃水浴加热 1 h）、光照（总照度 1.2×10^6 lx/h，紫外光照度 200 $W\cdot h\cdot m^{-2}$）强制性降解，其中酸、碱破坏性试验样品需中和后测定。

取上述破坏性试验样品，按“**2.1**”项下的色谱条件进样测定，并记录色谱图，按外标法计算各杂质降解量。结果如图 3 ～ 6 所示，与 **1** 原料药、**2** 原料药和未破坏溶液结果相比，在碱破坏条件下，**2** 主要降解生成 **6** 和 **9**，在氧化条件和加热条件下，**2** 主要降解生成 **7**。同时，测定各降解溶液中 **1** 和 **2** 的含量［色谱条件采用美国药典（USP 43）卡左双多巴缓释片含量测定方法：色谱柱 Thermo AQUASIL C^{18} 柱（4.6 mm×100 mm，5 μm）；流动相 0.24 g/L 的癸烷磺酸钠溶液、11.6 g/L 的一水合磷酸二氢钠溶液和水（体积比 0.13 ∶ 95 ∶ 4.87），等度洗脱；检测波长 280 nm；流速 2 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 20 μL］。计算降解杂质的总量与含量的和，用来评估方法的杂质检出能力，质量守恒（即总降解杂质占比 + 药物占比）范围在 95.0%～ 105.0%，各降解杂质均可在该方法下准确检测。

2.5 线性试验和校正因子的测定

精密量取“**2.2**”项下的混合对照品贮备液，用稀释液定量稀释，制成各有关物质定量限（LOQ）、50%、100%、150%、200%的溶液。分别按“**2.1**”项下的色谱条件进样测定，并记录峰面积。以峰面积（*A*）为纵坐标、相应的质量浓度（*c*）为横坐标，进行线性回归。**1** ～ **9** 的回归方程、检测限（LOD）、

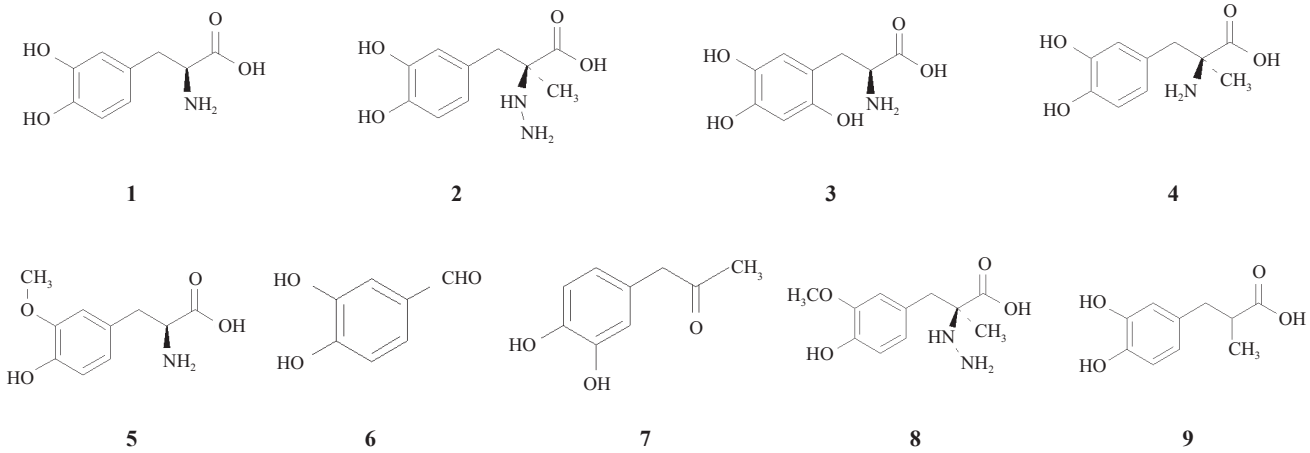


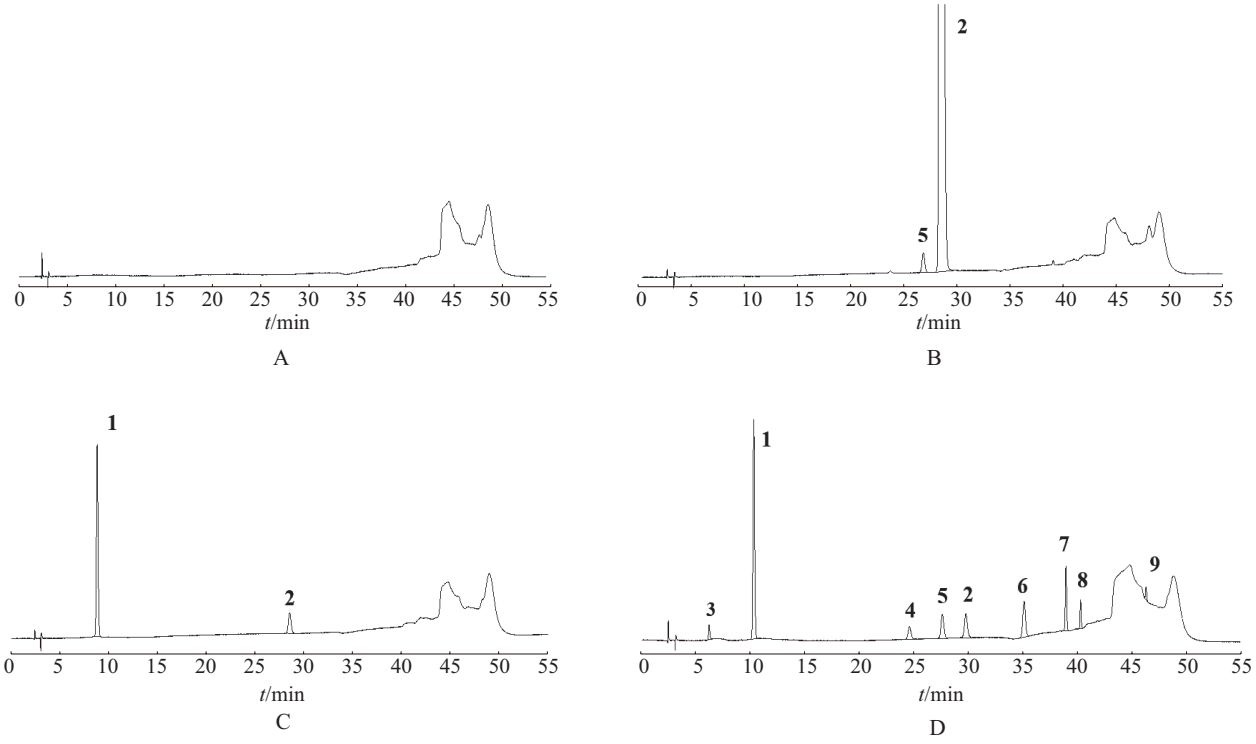
图 1　1 ～ 9 的化学结构式

Fig.1　Chemical Structures of **1** – **9**

LOQ，**3**、**5** 相对于 **1** 的相对响应因子（*F*）以及 **4**、**6**、**7**、**8**、**9** 相对于 **2** 的 *F* 结果如表 1 所示。

2.6 准确度试验

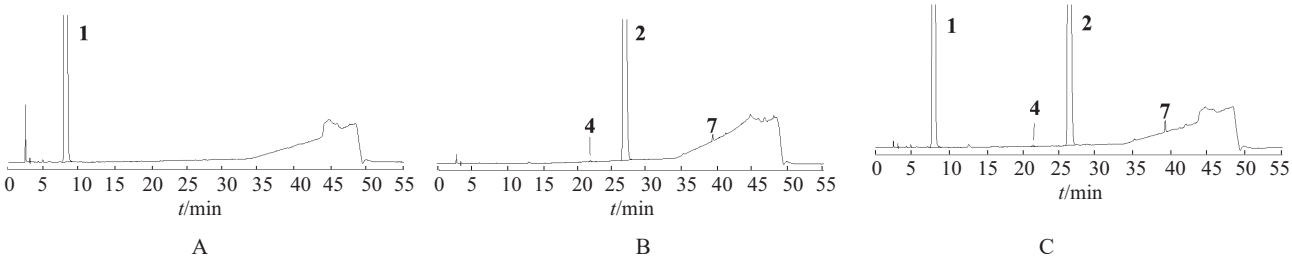
取卡左双多巴缓释片样品（批号 221001）20 片，研细，精密称取细粉 153 mg，置 200 mL 量瓶中，加适量稀释液溶解，并精密量取“**2.2**”项下的对照品贮备液适量，用稀释液稀释并定容，制成各有关物质定量限（LOQ）、100%、200%的溶液，分别作为低、中、高浓度准确度溶液，按“**2.1**”项下的色谱条件进样测定。按外标法计算得 **3** ～ **9** 的平均回收率（*n*=9）分别为 98.97%、100.79%、102.69%、98.13%、102.34%、95.97%、100.80%，RSD 分别



A—空白辅料溶液；B—系统适用性溶液；C—对照品溶液；D—混合对照品溶液。

图 2　典型色谱图

Fig.2　Typical Chromatograms



A—**1** 原料药未降解溶液；B—**2** 原料药未降解溶液；C—卡左双多巴缓释片未降解溶液。

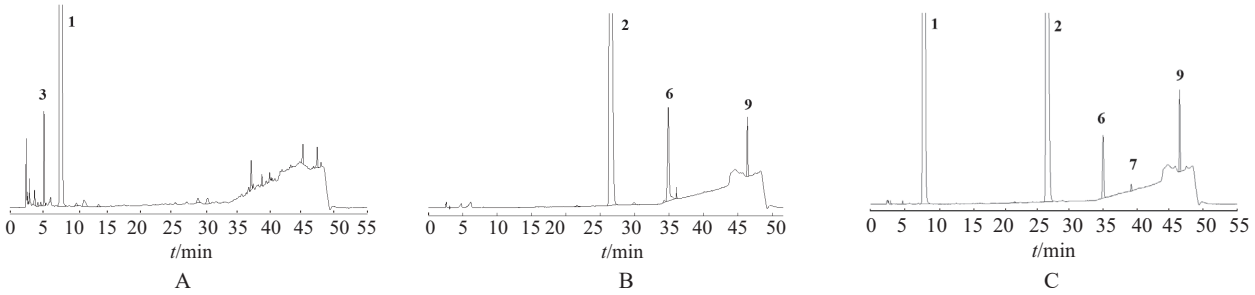
图 3　未降解供试品溶液的色谱图

Fig.3　Chromatograms of Undegraded Sample Solution

为 4.85%、5.71%、5.75%、3.92%、5.10%、5.49%、4.98%。

2.7 重复性和中间精密度试验

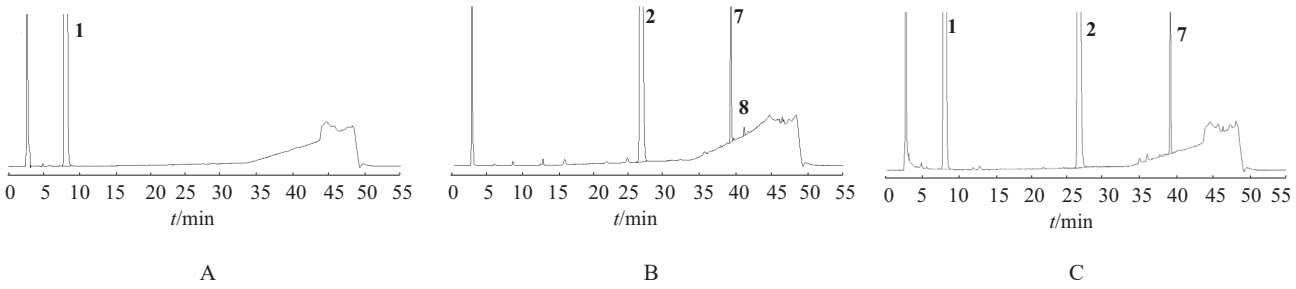
根据“**2.6**”项下准确度试验样品配制各有关物质 100%的溶液，共 6 份，分别按“**2.1**”项下的色谱条件进样测定。按外标法计算得 **3** ～ **9** 的平均回收率（*n*=6）分别为 100.05%、101.88%、106.69%、99.34%、100.63%、99.58%和 105.56%，RSD 分



A—**1** 原料药碱降解溶液；B—**2** 原料药碱降解溶液；C—卡左双多巴缓释片碱降解溶液。

图 4 碱降解试验色谱图

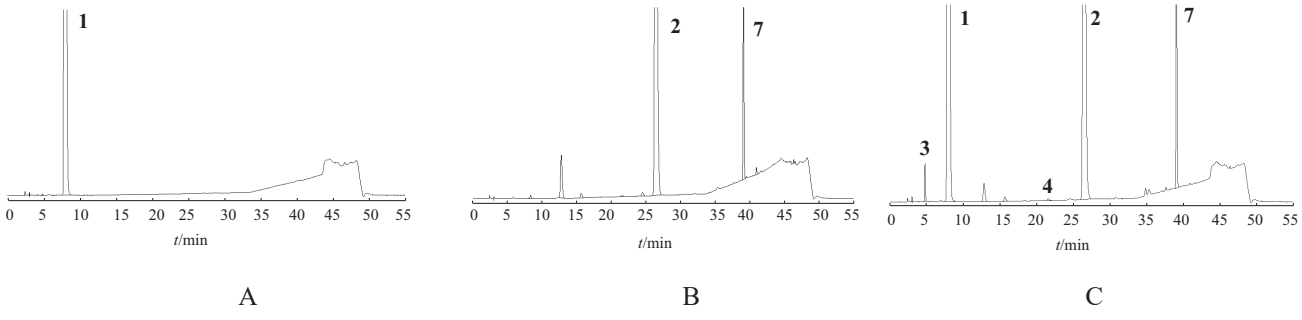
Fig.4 Chromatograms of Alkaline Degradation Test



A—**1** 原料药氧化降解溶液；B—**2** 原料药氧化降解溶液；C—卡左双多巴缓释片氧化降解溶液。

图 5 氧化降解试验色谱图

Fig.5 Chromatograms of Oxidative Degradation Test



A—**1** 原料药热降解溶液；B—**2** 原料药热降解溶液；C—卡左双多巴缓释片热降解溶液。

图 6 热破坏试验色谱图

Fig.6 Chromatograms of Thermal Degradation Test

别为4.42%、1.72%、0.80%、1.14%、3.84%、1.72%和1.84%。

由不同于重复性试验的实验员并更换仪器操作，按照与重复性试验相同的方法配制样品及对照品溶液，共6份。按外标法计算得**3**～**9**的平均回收率（n=6）分别为94.87%、98.70%、101.28%、96.88%、99.54%、100.42%、110.52%，RSD分别为3.19%、1.99%、2.94%、1.53%、3.01%、2.18%和3.37%。

2.8 耐用性试验

为考察该方法对不同仪器、不同柱温、不同pH值的耐用性，取“**2.2**”项下的空白辅料溶液、系统适用性溶液、对照品溶液和加标供试品溶液，按“**2.1**”项下的色谱条件进样测定。按外标法计算加标供试品溶液中各特定杂质的含量和RSD。结果如表2所示，**2**与**5**分离度均大于1.5，RSD（n=6）<10%，说明该方法对不同仪器、不同柱温、不同pH值的耐用性良好。

2.9 溶液稳定性考察试验

取“**2.2**”项下的混合对照品溶液、供试品溶液和加标供试品溶液，于6 ℃条件下放置，分别于0、3、6、9、12、15、18、21、24 h时取样，按“**2.1**”项下色谱条件分别进样测定，进行溶液稳定性考察。结果显示，与0 h时样品比较，混合对照品溶液和加标供试品溶液中，除**3**外，**1**、**2**、**4**～**9**峰面积的变化率均≤20.0%；供试品溶液中，**3**和**7**在2 h内峰面积变化率≥20.0%，说明本品溶液于6 ℃样品盘放置不稳定，需临用现配。

2.10 样品测定

分别取3批卡左双多巴缓释片样品，按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件分别进样测定，并记录色谱图。其中，**3**、**5**以**1**计，**4**、**6**、**7**、**8**、**9**均以**2**计，未知降解杂质分别以其来源计。结果如表3所示，**5**、**6**、**8**、**9**均未检出，**3**、**4**、**7**及未知降解杂质检出量均符合USP 43的限度要求，故3批卡左双多巴缓释片有关物质检测结果均符合要求。

3 讨论

采用USP 43方法检测有关物质时，**1**峰与相邻杂质峰的分离度较差，无法达到基线分离，且多

表1　1、2和各有关物质的线性方程、LOD和LOQ

Tab.1　Regression Equations, LODs and LOQs of **1**, **2** and Related Substances

化合物	线性方程	F	LOD/(μg·mL^{-1})	LOQ/(μg·mL^{-1})
1	A=16.140 4c–0.198 5	—	0.06	0.20
2	A=13.192 4c–0.407 8	—	0.04	0.13
3	A=12.242 7c–0.258 7	0.8	0.03	0.10
4	A=15.346 5c–0.517 0	1.2	0.03	0.11
5	A=14.711 4c+0.040 4	0.9	0.09	0.03
6	A=83.529 6c–0.336 1	6.3	0.01	0.02
7	A=18.731 9c–0.126 5	1.4	0.02	0.06
8	A=12.779 7c+0.209 6	1.0	0.02	0.06
9	A=8.195 0c–0.041 6	0.6	0.01	0.05

表2　耐用性试验结果

Tab.2　Results of Durability Test

条件	含量/%							
	3	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	总杂质
标准条件	0.12	0.68	0.26	0.23	1.35	0.6	0.27	3.51
柱温23 ℃	0.12	0.61	0.23	0.23	1.24	0.62	0.22	3.27
柱温27 ℃	0.13	0.60	0.26	0.23	1.35	0.62	0.27	3.46
pH 1.9	0.13	0.63	0.26	0.24	1.28	0.70	0.26	3.50
pH 1.7	0.12	0.67	0.26	0.24	1.34	0.61	0.23	3.47
不同仪器	0.12	0.67	0.26	0.22	1.34	0.59	0.25	3.45

表 3 样品检测结果 /%（*n*=3）

Tab.3 Results of Sample Detection/%（*n*=3）

批号	3	4	5	6	7	8	9	1降解未知杂质	2降解未知杂质	总杂质
221001	<0.02	0.08	未检出	未检出	0.13	未检出	未检出	0.06	<0.03	0.27
221002	<0.02	0.10	未检出	未检出	0.15	未检出	未检出	0.05	<0.03	0.30
221003	<0.02	0.09	未检出	未检出	0.15	未检出	未检出	0.07	<0.03	0.31

数杂质出峰时间集中在 5 min 内，保留较弱，无法准确定量，如图 7 所示。

本研究主要进行了卡左双多巴缓释片有关物质测定的方法开发。首先，在 USP 43 方法的基础上调整不同流速和柱温，结果 **1** 峰与相邻杂质峰之间的分离度未得到改善，如表 4 所示。其次，在 USP 43 方法的同一色谱条件下，筛选不同厂家、不同填料、不同规格色谱柱，结果如表 5 所示，未达到预期分离目的。最后，调整缓冲盐与有机相不同比例进行梯度洗脱，并结合分离度、拖尾因子、理论塔板数等参数，选取本研究方法，结果如图 8 所示。

本研究建立了卡左双多巴缓释片中有关物质的分析方法；方法学研究结果显示，本法的专属性、准确度、重复性等方面均符合要求，为卡左双多巴缓释片质量控制中有关物质的检测提供了参考。

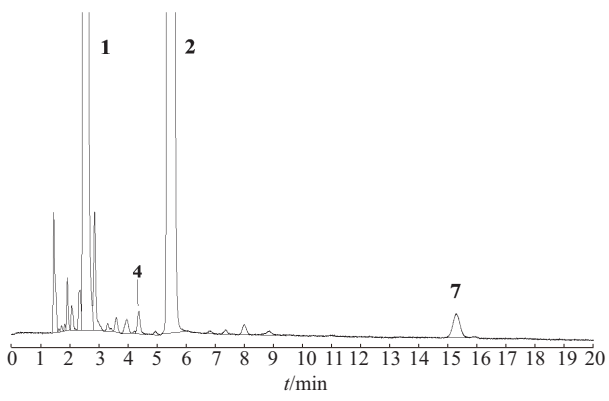


图 7 美国药典方法色谱图

Fig.7 Chromatogram of USP Method

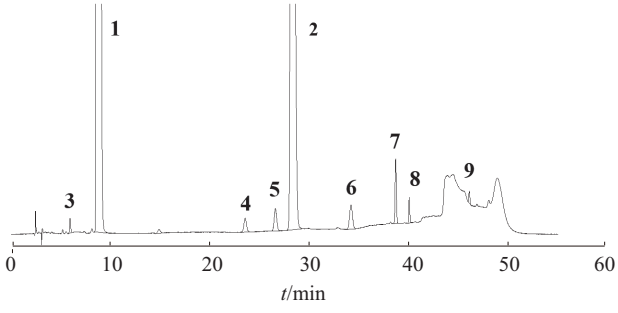


图 8 本方法的典型色谱图

Fig.8 Chromatogram of This Method

表 4 不同流速和不同柱温的筛选结果

Tab.4 Results of Different Flow Rates and Column Temperatures

柱温/℃	流速/(mL·min^{-1})	1峰与相邻杂质峰的分离度	1峰的拖尾因子
25	0.9	1.54	1.50
	1.0	1.46	1.44
	1.1	1.49	1.43
30	0.9	1.32	1.46
	1.0	1.28	1.42
	1.1	1.24	1.40
35	0.9	0.34	1.44
	1.0	0.35	1.50
	1.1	0.30	1.49

表 5 色谱柱的筛选结果

Tab.5 Results of Different Columns

色谱柱厂家	色谱柱填料	色谱柱规格	碳载量/%	孔径/nm	是否封端	1峰与相邻杂质峰的分离度	1峰的拖尾因子
YMC	YMC-Pack ODS-A	(4.6 mm×150 mm，5 μm)	17	12	是	1.28	1.42
	C_{18}	(4.6 mm×150 mm，3 μm)	17	12	是	1.09	1.40
Thermo	Hypersil BDS C_{18}	(4.6 mm×150 mm，5 μm)	11	13	是	1峰分叉	—
ACE	ACE 5 C_{18}	(4.6 mm×150 mm，5 μm)	17	10	是	1.02	1.45
Agilent	Zorbax SB C_{18}	(4.6 mm×250 mm，5 μm)	10	8	否	1.57	1.39
Waters	X-Bridge C_{18}	(4.6 mm×250 mm，5 μm)	18	13	是	3.25	1.10

参考文献：

[1] 张 权. 正确认识帕金森[J]. 开卷有益: 求医问药, 2022, (4): 32-33.

[2] 朱艳霞, 王雪笠, 吕冬芳, 等. 生物反馈法治疗帕金森病患者睡眠障碍的效果观察[J]. 山东医药, 2018, **58**(37): 69-71.

[3] 许玉珉, 黑赏艳, 章时杰, 等. 中西医结合治疗帕金森病睡眠障碍随机对照试验的Meta分析[J]. 广州中医药大学学报, 2018, **35**(3): 540-548.

[4] LIU C F, WANG T, ZHAN S Q, *et al*. Management recommendations on sleep disturbance of patients with Parkinson's disease [J]. *Chin Med J*, 2018, **131**(24): 2976-2985.

[5] 陈 彪. 左旋多巴在帕金森病治疗中的地位及进展[J]. 中国临床神经科学, 2017, **25**(5): 546-550.

[6] 梁金花. 卡比多巴-左旋多巴控释片治疗帕金森病合并睡眠障碍患者的疗效观察[J]. 中国实用医药, 2016, **11**(7): 204-205.

[7] 高 方. 卡比多巴-左旋多巴控释片治疗帕金森病合并睡眠障碍的临床效果观察[J]. 首都食品与医药, 2019, **26**(5): 60.

[8] VÉRONNEAU V, ROBAEY P, URSINO M, *et al*. An integrative model of Parkinson's disease treatment including levodopa pharmacokinetics, dopamine kinetics, basal ganglia neurotransmission and motor action throughout disease progression [J]. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*, 2021, **48**(1): 133-148.

（上接第 274 页）

[6] WANG D Y, MEI H C V D, REN Y, *et al*. Lipid-based antimicrobial delivery-systems for the treatment of bacterial infections [J]. *Front Chem*, 2020, **7**(872): 1-12.

[7] TREEDE I, BRAUN A, SPARLA R, *et al*. Anti-inflammatory effects of phosphatidylcholine [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(37): 27155-27164.

[8] CHE H, FU X, ZHANG L, *et al*. Neuroprotective effects of n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched phosphatidylserine against oxidative damage in PC12 cells [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, **741**(38): 657-668.

[9] NOWACKI D, MARTYNOWICZ H, SKOCZYŃSKA A, *et al*. Lecithin derived from ω-3 PUFA fortified eggs decreases blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 12373-12375.

[10] 吴 昊. 7XAW大孔吸附树脂纯化蛋黄卵磷脂的工艺研究[J]. 中国油脂, 2018, **43**(12): 79-83.

[11] 何仙玉, 黄 祎, 教小磐. 超声辅助提取蛋黄卵磷脂工艺优化及其理化特性研究[J]. 食品工业科技, 2019, **40**(3): 185-190.

[12] 贺 茜, 吕 卓, 史朝烨, 等. 高效液相色谱法测定大豆磷脂类保健食品中的磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, **11**(19): 6793-6796.

[13] 李和平, 魏建春, 付 丽, 等. 水相体系磷脂酶A1改性蛋黄卵磷脂的研究[J]. 食品科技, 2018, **43**(10): 66-71.

[14] 徐明明, 吕 晶, 方欣欣, 等. 蛋黄卵磷脂和蛋黄磷脂酰胆碱的组成与结构分析[J]. 中国药师, 2014, **17**(10): 1669-1671.

[15] 孔凡华, 王 轩, 于连洋, 等. 高效液相色谱-蒸发光检测器法测定鸡蛋中卵磷脂的含量[J]. 食品工业科技, 2021, **42**(13): 299-303.