

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.23.015

地塞米松磷酸钠注射液仿制制剂与原研制剂有关物质比较*

路愫楠,王 柳,孙 婷,张轶华[△]

(河北省药品医疗器械检验研究院·国家药品监督管理局仿制药质量控制与评价重点实验室,河北 石家庄 050200)

摘要:目的 建立检测地塞米松磷酸钠注射液中有关注物质的高效液相色谱法,比较仿制制剂和原研制剂的质量差异。方法 色谱柱为Kromasil C₈柱,流动相A为0.1 mol/L乙酸铵溶液(用乙酸调pH至3.8)-甲醇(65:35,V/V),流动相B为0.1 mol/L乙酸铵溶液(用乙酸调pH至4.0)-甲醇(30:70,V/V),梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm。结果 地塞米松磷酸钠与7个已知杂质A-G分离良好,质量浓度在0.596~11.916 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9994$)。变更处方后,不再添加抗氧剂亚硫酸钠,不再检出杂质I。仿制制剂中已知杂质、未知杂质的数量和含量均与原研制剂相当。结论 该方法操作简单、重复性好、专属性强,可用于地塞米松磷酸钠注射液的杂质检查,保障仿制制剂质量不劣于原研制剂。

关键词:地塞米松磷酸钠注射液;处方变更;仿制制剂;原研制剂;有关物质

中图分类号:R917;R977.1*1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)23-0068-03

Comparison of Related Substances Between the Generic and Original - Patented Dexamethasone Sodium Phosphate Injection

LU Qienan, WANG Liu, SUN Ting, ZHANG Yihua

(Hebei Institute for Drug and Medical Device Control · NMPA Key Laboratory for Quality Control and Evaluation of Generic Drug, Shijiazhuang, Hebei, China 050200)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of related substances in Dexamethasone Sodium Phosphate Injection, and to compare the quality differences between the generic and original-patented preparations. **Methods** The chromatographic column was Kromasil C₈ column, the mobile phase A was 0.1 mol/L ammonium acetate solution (adjusted to pH 3.8 with acetic acid)-methanol (65:35, V/V), the mobile phase B was 0.1 mol/L ammonium acetate solution (adjusted to pH 4.0 with acetic acid)-methanol (30:70, V/V), the elution method was gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, and the detection wavelength was 254 nm. **Results** Dexamethasone sodium phosphate was well separated from seven known substances (impurity A-impurity G), and its linear range was 0.596-11.916 μg/mL ($r=0.9994$). After the prescription was changed with no adding antioxidant sodium sulfite, the impurity I in the preparation was not detected. The quantities and contents of known and unknown impurities in the generic preparation were similar to those in the original-patented preparation. **Conclusion** The method is simple, repeatable and specific, which can be used for the impurity detection of Dexamethasone Sodium Phosphate Injection to ensure that the quality of generic preparation is not inferior to that of the original-patented preparation.

Key words: Dexamethasone Sodium Phosphate Injection; prescription change; generic preparation; original-patented preparation; related substance

地塞米松磷酸钠注射液为人工合成的长效糖皮质激素,是泼尼松龙的氟化衍生物,具有抗炎、抗病毒、抗休克、免疫抑制作用,是抢救危重症患者不可缺少的急救药品。由主药地塞米松磷酸钠与辅料烟酰胺、无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、依地酸二钠制成,其中无水亚硫酸钠为抗氧剂。目前,已有对醋酸地塞米松原料药^[1-2]和地塞米松磷酸钠注射液^[3-7]中杂质I开展的研究。为此,本研究中以原研Aspen公司在英国上市的地塞米松磷酸钠注射液为参比制剂,根据仿制药一致性评价的相关规定,采用反向分析技术,对标原研制剂质量。本品变更处方,不再添加抗氧剂亚硫酸钠,故不存在杂质I。采用反相高效液相色谱法有效分离主成分与7个已知杂

质A-G,对仿制制剂和原研制剂的有关物质进行了研究。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司),配有Waters e2695泵、2489型紫外可见光检测器、Empower色谱工作站;XPR26/A型电子天平(瑞士梅特勒公司,精度为0.01 g);KS-7200XDS型超声仪(昆山洁力美超声仪器有限公司,功率为400 W,频率为40 kHz)。

1.2 试剂

乙酸铵和乙酸均为分析纯,购自天津科密欧化学试剂有限公司;甲醇(色谱纯,Merck公司);试验用水为

*基金项目:中央引导地方科技发展资金项目[216Z2605G]。

第一作者:路愫楠,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为药品检验与分析,(电子信箱)49567976@qq.com。

[△]通信作者:张轶华,女,硕士研究生,主任药师,研究方向为药品质量标准和药物分析,(电子信箱)zhangyihua0915@163.com。

超纯水;地塞米松磷酸酯对照品(批号为101116-201803,含量为99.1%),倍他米松磷酸钠(杂质B)对照品(批号为100180-201804,含量为92.2%),均购自中国食品药品检定研究院;地塞米松磷酸钠《欧洲药典》(EP)系统适用性对照品[批号为Y000147(2.0)],包含地塞米松(杂质A)及杂质C,D,E,F,G;原研制剂(AspenPharma-TradingLimted,批号为16083TB23,规格为3.8 mg:1 mL);仿制制剂(批号分别为2102203,2102204,2102205,规格为1 mL:5 mg)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Kromasil C₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:以0.1 mol/L乙酸铵溶液(用乙酸调pH至3.8)-甲醇(65:35,V/V)为流动相A,以0.1 mol/L乙酸铵溶液(用乙酸调pH至4.0)-甲醇(30:70,V/V)为流动相B,梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:254 nm;进样量:20 μL。系统适用性试验溶液在此色谱条件下的色谱图见图1,地塞米松磷酸钠与各杂质分离度良好。理论板数按地塞米松磷酸钠峰计应不低于3 000,杂质B与地塞米松磷酸钠的分离度应不低于1.5。

表1 流动相梯度洗脱程序(%)

Tab.1 Program of gradient elution of mobile phase (%)

时间	流动相A	流动相B	时间	流动相A	流动相B
0→3.5 min	90	10	50 min	5	95
23.5 min	60	40	51→60 min	90	10
34.5 min	5	95			

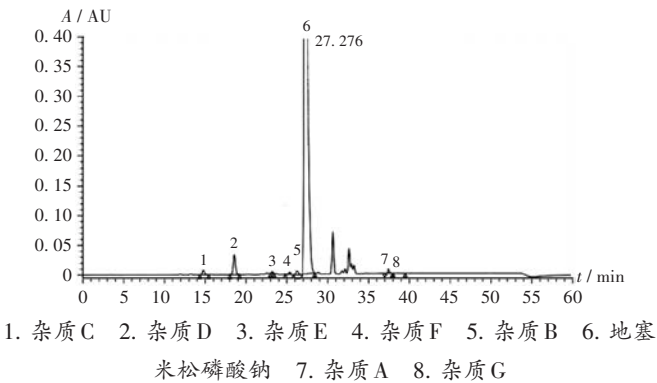


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Impurity C 2. Impurity D 3. Impurity E 4. Impurity F 5. Impurity B
6. Dexamethasone sodium phosphate 7. Impurity A 8. Impurity G

Fig.1 HPLC chromatograms of the system suitability test

表2 线性关系考察结果、相对保留时间和相对校正因子

Tab.2 Results of the linear relation test,relative retention time and relative correction factors

待测成分	回归方程	r	线性范围(μg/mL)	相对保留时间(RRT)	相对校正因子(RCF)
地塞米松磷酸钠	$Y = 21\,822.3708X - 2\,863.0713$	0.999 4	0.596~11.916	1.00	1.00
杂质B	$Y = 19\,184.4375X - 3\,939.5954$	0.999 3	0.461~9.220	0.94	1.14

2.2 溶液制备

取杂质B对照品2 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,用流动相A定容,摇匀,即得杂质B对照品溶液。取地塞米松磷酸钠EP系统适用性对照品(包含杂质A,C,D,E,F,G)2 mg,精密称定,置2 mL容量瓶中,加上述溶液1 mL,再用流动相A定容,摇匀,即得系统适用性试验溶液。取样品适量,加流动相A制成每1 mL含地塞米松磷酸钠1 mg的供试品溶液。精密量取供试品溶液1 mL,置200 mL容量瓶中,用流动相A定容,摇匀,即得对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:取杂质B对照品2.50 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加流动相A超声2 min使溶解并定容,摇匀,作为杂质B对照品贮备液;取地塞米松磷酸酯对照品2.75 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加流动相A超声2 min使溶解并定容,摇匀,作为地塞米松磷酸酯对照品贮备液。分别精密量取上述对照品贮备液,用流动相分别稀释制成线性关系考察溶液。分别精密量取20 μL,按拟订色谱条件进样测定。结果见表2。

检测限和定量限确定:取对照品贮备液适量,用流动相A逐步稀释成不同的质量浓度,按2.1项下色谱条件分别进样20 μL。以信噪比(S/N)为3和10时的含量为检测限和定量限。结果主成分地塞米松磷酸钠、杂质B的检测限分别为4 ng和10 ng,定量限分别为12 ng和30 ng。

精密度试验:取2.2项下供试品溶液,按拟订色谱条件连续进样6次,记录色谱图。结果地塞米松磷酸钠、杂质B峰面积的RSD分别为0.21%和0.48%(n=6)。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液,分别于室温下放置2,4,8,12 h时按2.1项下色谱条件重复进样2次,记录色谱图。结果地塞米松磷酸钠含量的RSD分别为0.33%,0.78%,1.02%,1.13%(n=2);杂质B含量的RSD分别为0.53%,0.92%,1.51%,1.63%(n=2),表明供试品溶液室温下放置12 h内稳定性良好。

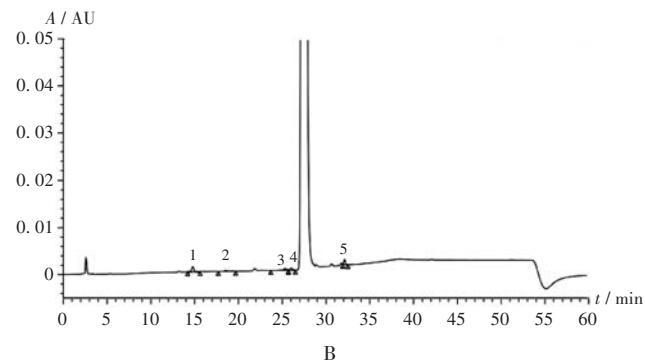
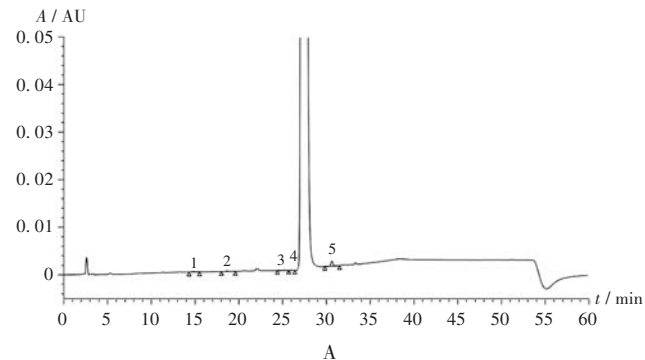
加样回收试验:取地塞米松磷酸酯对照品及片剂空白辅料,按处方比例制备空白溶液,分别加入高、中、低浓度地塞米松磷酸酯、杂质B对照品,按拟订色谱条件进样测定,以外标法分别计算回收率,结果见表3。

2.4 仿制制剂和原研制剂有关物质测定

按2.1项下色谱条件进样测定,以加校正因子的自身对照法计算杂质A和B的含量,以自身对照法计算杂质C,D,E,F,G和其他单个杂质。供试品溶液色谱图中

表3 加样回收试验结果($n=3$)
Tab. 3 Results of the recovery test ($n=3$)

待测成分	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
地塞米松磷酸钠	40.22	40.13	99.78	99.63	0.19
	50.24	50.09	99.70		
	60.33	59.98	99.42		
杂质B	25.19	25.03	99.36	99.90	0.78
	50.37	50.77	100.79		
	75.64	75.29	99.54		



1. 杂质C 2. 杂质D 3. 杂质F 4. 杂质B 5. 未知杂质
A. 仿制制剂(批号为2102203) B. 原研制剂

图2 高效液相色谱图

1. Impurity C 2. Impurity D 3. Impurity F 4. Impurity B
5. Unknown impurity

A. Generic preparation (batch number:2102203) B. Original - patented preparation

Fig. 2 HPLC chromatograms

表4 有关物质含量测定结果(%)

Tab. 4 Results of content determination of related substances (%)

杂质	原研制剂	仿制制剂		
		1	2	3
杂质A	未检出	未检出	未检出	未检出
杂质B	0.04	0.02	0.02	0.01
杂质C	0.12	0.10	0.09	0.08
杂质D	0.03	0.03	0.01	0.03
杂质E	未检出	未检出	未检出	未检出
杂质F	0.02	0.02	0.01	0.01
杂质G	未检出	未检出	未检出	未检出
未知杂质	0.01	0.03	0.03	0.03
总杂质	0.22	0.20	0.16	0.16

如有杂质峰,以对照溶液中地塞米松磷酸酯峰面积计,杂质A,B(相对校正因子1.14),C,D,E,F,G的含量均不得大于0.5%,其他单个杂质的含量不得过0.2%,各杂质总和不得过2.0%。仿制制剂和参比制剂高效液相色谱图见图2,含量测定结果见表4。

3 讨论

本品主成分为地塞米松磷酸钠,以地塞米松磷酸酯对照品进行方法学考察,包括线性关系考察、检出限、定量限等,故均以地塞米松磷酸酯折算为地塞米松磷酸钠。2020年版《中国药典(二部)》收载的地塞米松磷酸钠注射液标准中,将杂质I作为已知杂质控制其含量。也有多篇文献对杂质I的控制方法进行研究,且有文献指出,杂质I是抗氧剂亚硫酸氢钠与主成分在高温下的加成产物^[8-9]。经与原研制剂比较分析,变更仿制制剂的处方组成后不再添加抗氧剂(亚硫酸钠),经试验分析,未检出杂质I,仿制制剂中杂质的种类和含量均与原研制剂一致。所建立方法可有效控制仿制制剂中的已知杂质和未知杂质。

注射剂中除溶剂外,可根据药物的理化性质加入适宜辅料,如pH调节剂、助溶剂、抗氧剂、抑菌剂等。但地塞米松磷酸钠注射液中加入抗氧剂后,导致杂质I的生成,致使主药药量减少,严重影响药物的有效性,且新增杂质毒性未知。为保证仿制制剂与原研制剂同等的疗效,有必要优化处方工艺,并重视药物与辅料的相容性考察,避免因处方中辅料与主药配伍不当而对产品质量产生不良影响,甚至对身体健康造成危害。

参考文献

[1] 田晓彤,赵 旻,徐艳梅,等. HPLC法测定醋酸地塞米松原料中的有关物质[J]. 沈阳药科大学学报,2020,37(3):252-256.
[2] 韦林洪,陈丽萍,郭 静,等. 高效液相色谱法测定地塞米松及有关物质[J]. 分析试验室,2019,38(12):1454-1458.
[3] 庄 航,葛雪松,卓 静,等. HPLC法测定地塞米松磷酸钠注射液的含量[J]. 中国药师,2010,13(3):433-434.
[4] 郑 琰,刘淑华,李荣华. 对《中国药典》2005年版二部地塞米松磷酸钠注射液含量测定方法的商榷[J]. 中国药品标准,2008,9(5):325.
[5] 方玲芬. 地塞米松磷酸钠注射液的稳定性[J]. 中国医院药学杂志,2000,20(5):311-312.
[6] 方海燕. 地塞米松磷酸钠注射液的质量分析[J]. 临床合理用药,2012,5(3C):45.
[7] 李 洁. 地塞米松磷酸钠注射液有关物质检查方法的探讨[J]. 中国药事,2013,27(4):416-419.
[8] 曾庆真,刘艳平. 地塞米松磷酸钠注射液有关物质的检验分析及研究[J]. 临床医药文献杂志,2018,5(10):166-168.
[9] 曹筱琛,贾 飞,陶巧凤. 地塞米松磷酸钠注射液中杂质I的研究[J]. 药物分析杂志,2013,33(6):1016-1020.

(收稿日期:2022-03-30;修回日期:2022-07-09)