

·国家药监局重点实验室·麻精药品质量研究专题·

中图分类号: R917; R971.3 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)03-0019-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.03.005



国产艾司唑仑原料药及其片剂关键质量属性研究进展*

沈丹丹¹, 胡振晶², 曾令高¹, 唐 华^{1△}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院·国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121;
2. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

专家简介: 沈丹丹, 女, 硕士研究生, 高级工程师, 国家药品生产检查员, 进口药品注册标准审核专家, 研究方向为化学药品质量研究与质量评价技术。主持完成了8个国家药品抽检品种评价及探索性研究, 8项省部级科研项目和国家药品标准制修订。参与发表学术论文30余篇, 其中SCI 3篇, CSCD 13篇。



摘要: 目的 为艾司唑仑片一致性评价质量研究提供参考。方法 检索国产艾司唑仑原料药及其片剂关键质量属性的最新研究进展, 结合生产工艺特点, 基于风险评估确定关键质量属性指标, 比较艾司唑仑原料药及其片剂国内外质量标准中关键质量属性指标控制差异, 总结现行质量标准中可能存在的风险。结果 艾司唑仑原料药现行标准2020年版《中国药典(二部)》(ChP2020)有关物质项下缺失特定杂质控制, 同时原料药生产企业缺失基因毒性杂质研究与控制策略。艾司唑仑片现行标准ChP2020溶出条件区分力弱, 溶出量、含量均匀度及含量测定紫外光谱法准确性差, 有关物质控制策略不合理, 不能反映国产艾司唑仑片的真实质量差异; 一致性评价后, 注册质量标准明显提升, 主要是有关物质色谱条件及已知杂质限度差异较大。结论 建议未通过一致性评价的生产企业开展艾司唑仑质量研究时, 重点关注有关物质、杂质谱、基因毒性杂质、溶出度、含量均匀度、含量测定等关键质量属性指标, 优化产品处方及工艺设计, 以提高产品质量。建议修订ChP2020艾司唑仑原料药及其片剂的质量标准, 以满足已上市药品质量监管的需求, 保障用药的安全性和有效性。

关键词: 艾司唑仑; 关键质量属性; 质量标准; 风险评估

*基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项资助项目[CSTB2022TIAD-GPX0071]。

第一作者: 沈丹丹, 女, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向为化学药品质量研究与质量评价技术, (电子信箱)shendandan@cqifdc.org.cn。

△通信作者: 唐华, 女, 大学本科, 工程师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)tanghua@cqifdc.org.cn。

质^[15]的要求, 规定本品含杂质I、杂质II和杂质XI不得过标示量的0.5%, 最大未知杂质不得过0.2%, 总未知杂质不得过0.75%。

3.3 方法评价

本研究中建立的方法操作简便, 专属性强, 灵敏度、耐用性好, 准确度、精密度较高, 可用于枸橼酸芬太尼注射液中有关注物质的含量测定。

参考文献

[1] 陈菲, 唐华, 彭金林, 等. 芬太尼类药物制剂与临床应用研究进展[J]. 中国药业, 2023, 32(19): 6-12.
[2] 潘晓平. 羟考酮与芬太尼治疗晚期癌症疼痛的效果比较[J]. 华夏医学, 2020, 33(1): 96-98.
[3] 陈志林, 吴念花, 张娇娇, 等. 舒芬太尼注射剂与芬太尼注射剂用于经口气管插管患者镇痛镇静的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(2): 109-111.
[4] 李婷, 李开鹏. 地佐辛与芬太尼对下肢骨折内固定取出术神经阻滞效果比较[J]. 中国药业, 2018, 27(1): 44-46.
[5] 吴金捧, 张波涛, 孙超帅, 等. 不同剂量右美托咪定联合芬太尼对ICU机械通气患者术后转归的影响[J]. 中国药业, 2020, 29(22): 51-53.
[6] 潘敏, 蒋轶岭, 夏瑜泰, 等. 芬太尼和舒芬太尼对肝癌患者射频消融术后肝功能的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2023,

39(1): 54-58.

[7] 陈园园, 李香豫, 许鹏飞, 等. 芬太尼类药物研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(6): 724-730.
[8] 谢春梅, 王鹏飞. 机械通气中氯吗啡酮与芬太尼应用效果比较[J]. 中国药业, 2022, 31(15): 87-90.
[9] 王焯, 陈玉文. 注射剂型仿制药研发的质量风险及应对策略[J]. 中国医药科学, 2021, 11(18): 143-146.
[10] 陆仕华, 李杉, 蒋明艳, 等. 注射剂类药品生产风险控制检查的分析与改进对策[J]. 中国医药工业杂志, 2022, 53(10): 1516-1521.
[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 883.
[12] The United States Pharmacopieial Convention. USP 43-NF38[M]. Rockville: The United States Pharmacopieial Convention, 2021: 1849.
[13] British Pharmacopoeia Commission. BP2023: Volume III[M]. London: The Stationery Office, 2023: 553.
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 483-486.
[15] ICH. Impurities in New Drug Products Q3B(R2)[EB/OL]. (2006-06-02)[2023-12-01]. <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>.

(收稿日期: 2023-12-05; 修回日期: 2023-12-29)

Research Progress on Critical Quality Attribute of Estazolam Active Pharmaceutical Ingredients and Estazolam Tablets

SHEN Dandan¹, HU Zhenjing², ZENG Linggao¹, TANG Hua¹

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing, China 401121; 2. Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing, China 400044)

Abstract: Objective To provide a reference for the quality research of consistency evaluation of Eszolam Tablets. **Methods** The latest research progress on the critical quality attribute (CQA) of domestic estazolam active pharmaceutical ingredients (API) and Estazolam Tablets was searched. Based on the characteristics of the production process and risk assessment, the CQA indicators were determined, the control differences of CQA indicators in the domestic and foreign quality standards of estazolam API and Estazolam Tablets were compared, and the possible risks in the current quality standards were summarized. **Results** The current standard of eszolam API in the related substance items in the *Chinese Pharmacopoeia* (Edition 2020) lacked specific impurity control, and the production enterprises of eszolam API lacked research and control strategies for genotoxic impurities. The current standard of Estazolam Tablets in the *Chinese Pharmacopoeia* (Edition 2020) had weak distinguishability in dissolution conditions, and poor accuracy of UV method for dissolution amount, content uniformity, and content determination. The control strategy for impurities related to substances was unreasonable and could not reflect the actual quality differences of domestic Estazolam Tablets. After consistency evaluation, the registration quality standards significantly improved, mainly including chromatographic conditions of the related substances and significant differences in known impurity limits. **Conclusion** It is recommended that production enterprises that have not passed the consistency evaluation should focus on CQA indicators such as substances, impurity spectra, genotoxic impurities, dissolution rate, content uniformity, and content determination when conducting quality research on estazolam, and continuously improve the quality of products by optimizing product formulation and process design. Meanwhile, it is recommended to revise the quality standards for estazolam API and Estazolam Tablets in the *Chinese Pharmacopoeia* (Edition 2020) to meet the quality supervision requirements of marketed drugs and ensure the safety and effectiveness of medication.

Key words: estazolam; critical quality attribute; quality standard; risk assessment

艾司唑仑为苯并二氮䓬类药物^[1],按第二类精神药品管控,主要作用为促进 γ -氨基丁酸(GABA)系统的功能^[2],临床主要用于抗焦虑、失眠,也用于紧张、恐惧、抗癫痫和抗惊厥^[3-10]。1975年4月于日本首次获批上市,国内于1978年以商品名舒乐安定上市^[11],2023年被列为国家药品抽检目录。经检索国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)原料药登记数据库,艾司唑仑原料药5家供应商均为A状态(与制剂共同审评审批结果)。根据国家药品监督管理局(NMPA)药品数据库,艾司唑仑片有42家生产企业,2个规格,53个批准文号,其中1 mg规格有39个药品批准文号,2 mg规格有14个批准文号。查询CDE化学药品目录集,艾司唑仑片通过药品一致性评价的生产企业4家,均为1 mg规格,其中山东信谊制药有限公司于2021年5月6日首家通过一致性评价。艾司唑仑原料药现行执行标准为2020年版《中国药典(二部)》(ChP2020 <二部>)^[12],《美国药典(2022版)》(USP2022)^[13]、《日本药典(18版)》(JP18)^[14]也收录了其质量标准。艾司唑仑片未通过一致性评价的生产企业的执行标准为ChP2020(二部),通过一致性评价的4家生产企业的执行标准为各自的注册标准,包括YBH08682021^[15]、YBH06222021^[16]、YBH03582022^[17]、YBH09462021^[18]; USP2023及《日本药典外药品标准(第三部)》也有收录艾司唑仑片质量标准。本研究总结

国产艾司唑仑原料药合成工艺及艾司唑仑片处方生产工艺,对影响产品安全性和有效性的质量属性指标进行风险评估,确定关键质量属性指标,总结现行标准与国外质量标准中关键质量属性指标的最新控制情况,同时评价其科学性与合理性,为未通过一致性评价的生产企业开展艾司唑仑的质量评价提供参考。现报道如下。

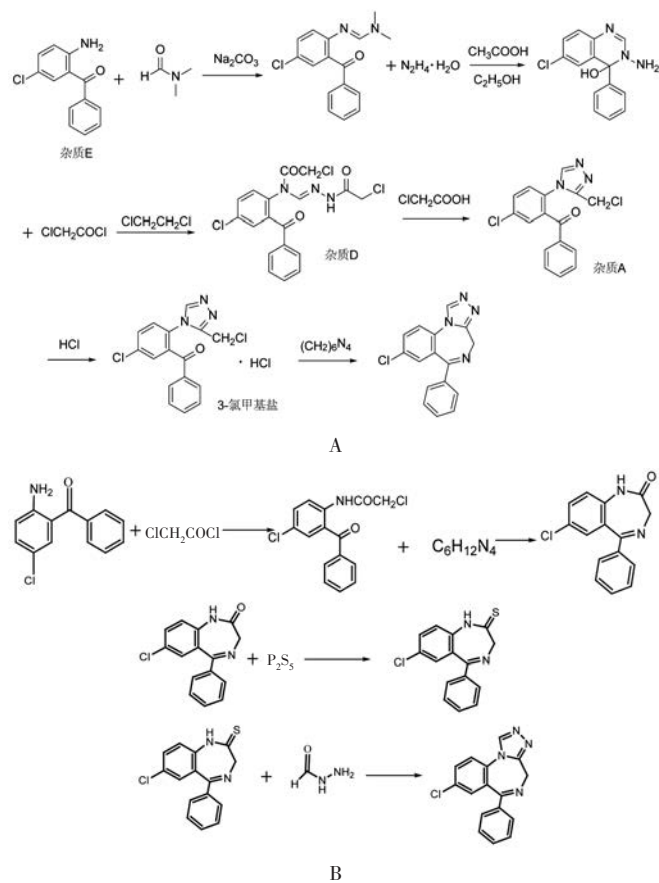
1 产品关键质量指标

1.1 国产艾司唑仑原料药合成工艺

国产艾司唑仑原料药合成工艺主要包括2条路线,均以2-氨基-5-氯-二苯甲酮为起始物料,经过一系列反应制得艾司唑仑粗品,再经精制结晶得到成品,2条合成路线主要差异为艾司唑仑母环结构中三氮唑环与苯并二氮杂䓬环的环合顺序不同。由2条合成路线可知,艾司唑仑原料药引入的起始物料、中间体及反应副产物较多,且涉及的部分反应试剂为基因毒性杂质,故杂质谱是影响本品安全性的关键质量属性指标。

艾司唑仑粗品合成工艺路线1:以2-氨基-5-氯-二苯甲酮为起始物料,经甲脒反应制得甲脒物(3-氨基物),再经胍化反应生成酰胍,酰胍通过酰化反应得艾司唑仑酰化物(氯乙酰氨基氯二苯酮),再经重排得二苯酮,成盐后与乌洛托品环合制得艾司唑仑粗品。详见图1A。有2家生产企业分别以中间体甲脒物(3-氨基物)和艾司唑仑酰化物(氯乙酰氨基氯二苯

酮)作为起始物料,再经路线1的酰化反应、环合反应制得艾司唑仑粗品。



A. 路线1 B. 路线2

图1 艾司唑仑粗品合成工艺

A. Route 1 B. Route 2

Fig. 1 Synthesis process of estazolam

艾司唑仑粗品合成工艺路线2:以2-氨基-5-氯-二苯甲酮为起始物料,经酰化反应制得艾司唑仑酰化物(氯乙酰氨基氯二苯酮),通过与乌洛托品环合反应生成艾司唑仑环合物(去甲西泮),再与五硫化二磷硫化反应生成艾司唑仑硫化物,最后通过与甲酰胺反应制得艾司唑仑粗品。详见图1B。

1.2 国产艾司唑仑片处方工艺

目前,上市销售的艾司唑仑片均为素片,均采用湿法制粒工艺制备。通过一致性评价的4家生产企业的处方组成与参比制剂基本一致,原料药均控制了粒度,但限度要求不同,辅料主要为玉米淀粉(填充剂)、羟丙纤维素(崩解剂)、硬脂酸镁(润滑剂)、乳糖水合物(填充剂),仅1家生产企业处方中黏合剂为低取代羟丙纤维素;未通过一致性评价的生产企业处方组成差异较大,部分生产企业对原料药进行了粉碎,但均无粒度控制要求,辅料中填充剂、黏合剂、崩解剂种类和用量不同,有4家生产企业使用乙醇作为润湿剂。本品生产工艺较简单,规格小,辅料占比高,工艺过程控制可能对产品

含量均匀度有显著影响。可见,含量均匀度、溶出度及含量测定是影响本品有效性及均一性的关键质量属性指标。

1.3 产品质量风险评估

根据原料药合成工艺及制剂处方工艺,结合艾司唑仑原料药及其片剂最新国内外质量标准收载情况,对质量指标进行风险分析,确定影响产品安全性、有效性及均一性的关键质量属性指标。详见表1。

2 关键质量属性指标控制方法

2.1 安全性

2.1.1 有关物质

根据国内艾司唑仑原料药合成工艺,粗品合成路线最长的为6步反应,最短的为2步反应。共涉及3个起始物料,包括2-氨基-5-氯-二苯甲酮、甲脒物(3-氨基物)和艾司唑仑酰化物(氯乙酰氨基氯二苯酮),其中甲脒物和艾司唑仑酰化物又为中间体,根据起始物料、中间体、反应副产物、降解产物等共推导出11个杂质。详见表2。

除JP18及《日本药典外药品标准(第三部)》有关物质采用薄层色谱法外,其余质量标准均采用高效液相色谱(HPLC)法。艾司唑仑原料药有关物质控制情况:1)ChP2020(二部)艾司唑仑原料药及其片剂有关物质采用不加校正因子的自身对照法计算,色谱条件一致,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相为甲醇-水(65:35, V/V),检测波长为223 nm,供试品溶液质量浓度为0.2 mg/mL,原料控制总杂质限度为0.5%,片剂控制总杂质限度为1.0%,缺失已知杂质控制。2)USP2022原料药有关物质采用加校正因子的主成分外标法计算,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),检测波长为254 nm,供试品溶液质量浓度为1 mg/mL,控制了5个已知杂质,限度均为0.1%,未知单个杂质的限度为0.10%,总杂质限度为0.5%。

艾司唑仑片有关物质控制情况:1)USP2022艾司唑仑片有关物质采用峰面积归一化法计算,以苯基硅烷键合硅胶为填充剂(150 mm × 4.6 cm, 3 μm),以质量浓度为2.8 g/L的磷酸二氢钾溶液(用1 mol/L氢氧化钠溶液调pH至6.5)-甲醇-乙腈(55:35:10, V/V/V)为流动相,检测波长为254 nm,供试品溶液质量浓度为0.02 mg/mL,单个杂质和总杂质限度分别为0.5%和1.0%。2)艾司唑仑片一致性评价后的质量标准如下, YBH03582022有关物质色谱条件与ChP2020基本一致,仅检测波长为254 nm; YBH06222021和YBH08682021与USP2022艾司唑仑片色谱条件一致; YBH09462021质量标准流动相与USP2022艾司唑仑片一致,但采用梯度洗脱,杂质控制最严格,5个已知杂质、单个杂质、

表1 艾司唑仑原料药和片剂关键质量属性指标的风险评估

Tab. 1 Risk assessment of critical quality attribute indicators of estazolam API and Estazolam Tablets

关键质量属性指标	初始风险评估		注释		产品关键质量属性	
	原料药	片剂	原料药	片剂	原料药	片剂
性状	低	低	活性成分相同,物理性质应一致	应与参比制剂一致	否	否
鉴别	中	低	活性成分相同,则显相同鉴别试验结果,风险低	活性成分相同,则显相同鉴别试验结果,风险低	否	否
氯化物	中		为信号杂质,控制与氯化物结合的阳离子及某些同时生成的副产物,影响纯度		否	
溶液的澄清度与颜色	低		原料用于口服固体制剂时,风险低		否	
有关物质	高	高	涉及起始物料、中间体较多,不同合成工艺对杂质来源与去除控制能力不同,直接影响安全性	杂质谱与原料药、辅料、处方工艺密切相关,影响安全性	是	是
干燥失重	中		主要控制水分和其他挥发性物质,主要影响产品纯度		否	
炽灼残渣	中		非挥发性无机杂质的检查和控制,主要影响产品纯度		否	
残留溶剂	高		不同合成工艺引入的反应试剂、精制溶剂不同,直接影响安全性		是	
基因毒性杂质	高		合成工艺使用甲酰胺、氯乙酰氯等含警示结构的基因毒性杂质,起始物料直接影响安全性		是	
含量测定	高	高	含量差异影响安全性和有效性	直接影响有效性	是	是
溶出度		高		反映内在质量差异,直接影响有效性		是
含量均匀度		高		处方中原料药占比仅为1%,辅料占比达99%,直接影响有效性和均一性		是

总杂质限度分别为0.2%,0.2%,1.0%。可见,各标准有关物质色谱条件、供试品溶液质量浓度的差异可能导致杂质检测能力和分离能力不同。

范钢^[19]对艾司唑仑中间体合成工艺及有关物质结构确证进行研究,对1个艾司唑仑中间体及6个有关物质的结构进行解析,但并未对这7个杂质的控制方法进行研究。且目前未见其他文献报道艾司唑仑引入的10个相关杂质的全面控制方法,通过对比各标准色谱条件,发现质量标准YBH09462021能有效分离8种杂质,而其他标准均存在杂质共同洗脱的问题。

2.1.2 基因毒性杂质

根据艾司唑仑原料药合成工艺,2-氨基-5-氯-二苯甲酮的起始物料为对氯硝基苯,环合反应使用的试剂乌洛托品的起始物料为甲醛,还使用了甲酰胺、氯乙酰氯等含有警示结构的基因毒性杂质作为反应试剂,通过全面考虑起始物料、试剂、溶剂和副产物等可能引入的基因毒性杂质,累积评估8个基因毒性杂质(表3)。对于无毒理学数据的基因毒性杂质,按允许暴露量(PDE)为1.5 μg/d,艾司唑仑每日最大服用剂量为12 mg,限度计算为125 × 10⁻⁶。本品基因毒性杂质种类多、结构差异大,且多数杂质缺乏检测响应结构,对分析仪器的灵敏度、准确度和选择性要求较高。虽然目前国内外未见相关文献报道艾司唑仑原料药中基因毒性杂质含量的研究,但有较多文献报道了药物中甲酰胺、氯乙酰氯、氯乙酸、N-亚硝胺类等基因毒性杂质的

研究^[23-31]。故以此建立了测定艾司唑仑原料药中甲醛含量的HPLC衍生法,发现1家生产企业的2批原料药中甲醛含量达60 × 10⁻⁶,远超过控制阈值的33 × 10⁻⁶(30%限度浓度),建议生产企业将甲醛纳入质量标准,并依据多批次原料积累数据,制订合理的控制策略。

2.1.3 残留溶剂

艾司唑仑原料药合成工艺中使用了12种有机溶剂,包括环己烷、乙醇、乙腈、正丁醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇、三乙胺、二氯乙烷、二甲基甲酰胺、冰醋酸、苯。其中,1类溶剂5种,2类溶剂2种,3类溶剂5种。同时,艾司唑仑片未通过一致性评价的4家生产企业制剂工艺均使用乙醇作为润湿剂。前期调研发现,4家生产企业均未考察乙醇残留量。ChP2020艾司唑仑原料药中未规定需要检测的残留溶剂种类及方法,4个原料药生产企业所用残留溶剂不同,限定残留溶剂种类的方法可能不具有通用性。USP2022与《欧洲药典11.2版》(EP11.2)对残留溶剂的控制方法相似,通则中提供的方法对残留溶剂采用分类控制的策略,将供试品中的残留溶剂按1类、2类、3类残留溶剂分别进行控制。参考ChP2020(四部)通则0861 残留溶剂项下方法,分别采用极性色谱柱HP-INNOWAX柱(30 m × 0.32 μm, 0.5 μm)和非极性色谱柱DB-1柱(30 m × 250 μm, 0.5 μm),以丁酮为参比溶剂,用程序升温方法,测定艾司唑仑原料药及其片剂中残留溶剂的保留时间。结果2家生产企业的艾司唑仑片中检出与乙醇校正相对保

表2 根据原料药合成工艺推导的艾司唑仑杂质谱

Tab. 2 Impurity spectrum of estazolam derived from the synthesis process of estazolam API

名称	化学结构	分子量	产生途径	名称	化学结构	分子量	产生途径
艾司唑仑相关物 质A		332.18	反应副产物	[5-氯-2-(4H-1,2,4-三唑-4-基)苯基]苯甲酮		283.05	降解产物
去甲西洋		270.71	中间体	6-苯基-4H-[1,2,4]三唑[4,3-a][1,4]苯并二氮杂革		260.30	降解产物
乙酰氨基氯二苯酮		259.69	反应副产物	7-氯-5-苯基-[1,2,4]三唑[4,3-a]喹啉-4-胺		294.74	降解产物
1-氯乙酰基-2-[[2-(苯甲酰基-4-氯苯基)(2-氯乙酰基)氨基]甲亚基]脒		426.69	起始物料/中间体	2-(N-氯乙酰基-N-氯乙酰基胺基-5-氯二苯酮		426.7	中间体
2-氨基-5-氯苯基)苯基-甲酮		231.68	起始物料	3-氨基物		272.5	起始物料/中间体
氯乙酰氨基氯二苯酮		308.16	中间体				

留时间(RART)一致的色谱峰,并建立乙醇定量测定方法,结果8批样品中的乙醇含量为0.4%~0.5%。

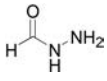
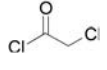
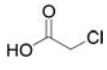
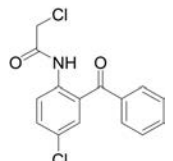
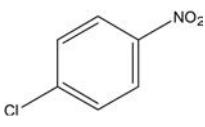
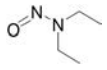
2.2 有效性

2.2.1 溶出度

艾司唑仑属于基于药物体内分布的生物药剂学分类系统(BDDCS)2类药物,即低溶解性强代谢性药物。伏圣青^[32]采用Caco-2体外细胞模型对艾司唑仑的渗透性进行了研究,认为艾司唑仑属生物药剂学分类系统(BCS)1类药物,即高溶解性高渗透性药物,推测主要是考虑到艾司唑仑的剂量规格,故BDDCS与BCS分类不同。虽然各标准溶出度限度均为标示量的80%,但ChP2020溶出度条件与其他标准差异显著。ChP2020中,艾司唑仑片溶出条件采用第三法(小杯法),转速为100 r/min,溶出介质为盐酸溶液(9→1000)100 mL

(1 mg规格)或200 mL(2 mg规格),取样时间为30 min,样品在此条件下溶出较剧烈,不能有效评价制剂的溶出情况;采用紫外光谱(UV)吸收系数法测定溶出量,存在专属性不高的问题。一致性评价后,质量标准中溶出度与USP2022及《日本药典外药品标准(第三部)》一致,均采用浆法,溶出介质为水900 mL,转速为50 r/min,时间为30 min,采用HPLC对照品外标法测定溶出量。伏圣青等^[33]采用浆法进行溶出度试验,并建立了灵敏度更高的HPLC外标法,可反映不同生产企业不同批次间艾司唑仑片溶出行为的差异,发现国内艾司唑仑片与参比制剂在溶出介质水中溶出行为差异较大。参照日本橙皮书收录的艾司唑仑片溶出曲线条件,发现通过一致性评价的4家生产企业的艾司唑仑片的溶出行为与参比制剂一致,在4种溶出介质中,15 min时累积

表3 艾司唑仑原料药基因毒性杂质
Tab.3 Genotoxic impurities of estazolam API

名称	化学结构	来源	限度($\times 10^{-6}$)	分类	毒理学数据(警示结构)
甲酰胺		反应试剂	1 000	1	醛类、胍类 ^[20]
水合肼	$H_2NNH_2 \cdot H_2O$	甲酰胺起始物料	1 000	1	胍类 ^[21]
氯乙酰氯		反应试剂	125	3	酰氯类、卤代烷烃类
氯乙酸		氯乙酰氯水解产生	125	3	卤代烷烃类
2'-苯甲酰-2,4'-二氯乙酰苯胺		中间体	125	3	苯胺类、卤代烷烃类
对氯硝基苯		工艺杂质	1 000	1	硝基化合物 ^[21]
N,N-二乙基亚硝酸胺		工艺杂质	2	1	N-亚硝基胺 ^[22]
甲醛	HCHO	乌洛托品起始物料	110	1	醛类 ^[20]

溶出量达85%,为快速溶出制剂。通过一致性评价的7家生产企业的艾司唑仑片15 min时累积溶出量未达到85%,且与参比制剂溶出曲线计算的相对校正因子(f_2)值均小于50,未满足快速溶出要求,这进一步说明现行标准ChP2020溶出条件区分力弱。

2.2.2 含量均匀度及含量测定

艾司唑仑片现行标准ChP2020含量均匀度及含量测定采用UV吸收系数法,文献[34]报道该方法受操作过程、仪器等因素影响较大,易造成测定结果的偏差。另外,杨惠霞等^[35]采用紫外分光光度法测定艾司唑仑含量,发现片剂辅料于268 nm波长下有紫外吸收,结果相对偏高,同时采用HPLC法测定艾司唑仑含量,结果更准确。一致性评价后,质量标准及USP2022均采用HPLC法进行含量测定,虽然色谱条件各不相同,但提示HPLC法能更准确地测定艾司唑仑含量。USP2022艾司唑仑片与注册标准YBH08682021和YBH06222021的色谱条件相同,均采用HPLC外标法(等度洗脱),色谱柱采用填料L11柱(150 mm \times 4.6 mm, 3 μ m),流动相为质量浓度为2.8 g/L的磷酸二氢钾溶液(用1 mol/L氢氧化钠溶液调pH至6.5)-甲醇-乙腈(55:35:10, V/V/V),检测波长为254 nm,供试品溶液质量浓度为0.02 mg/mL。质量标准YBH03582022中的色谱条件同其有关物质的色谱条件。注册标准YBH09462021中的色谱柱为C₁₈柱,流动相为乙腈-水(40:60, V/V),检测波长为223 nm,供试品与对照品溶液质量浓度均为

10 μ g/mL。参照注册标准YBH09462021的色谱条件,建立测定艾司唑仑片含量的HPLC法,发现未通过一致性评价产品UV吸收系数法含量测定结果普遍高于HPLC法,2种方法含量最大差值近10%。可见,受辅料及滤过方式的影响,会导致UV吸收系数法测定结果偏高。

3 问题与展望

目前,关于第二类精神药品艾司唑仑研究的国内外文献大多基于临床使用数据,而质量评价的报道较少。本研究中通过比较艾司唑仑原料药及其片剂国内外质量标准中关键质量属性指标控制差异,结合国产艾司唑仑原料药及其片剂生产工艺特点,发现目前国内艾司唑仑原料药及其片剂质量标准中存在可能引起安全性、有效性及均一性的风险。艾司唑仑原料药现行标准ChP2020主要存在有关物质缺失特定杂质控制、限度设置不合理的问题。国内原料药生产企业应结合自身合成工艺,开展基因毒性杂质与残留溶剂研究,基于风险评估制订合理控制策略,降低药物安全性风险。艾司唑仑制剂在溶出度、含量均匀度、含量测定等有效性方面,测定方法缺乏科学性;在有关物质控制方面,杂质控制及限度设置缺乏合理性,可能无法反映国产艾司唑仑片的质量差异。通过对比发现,国内艾司唑仑片通过一致性评价的注册标准整体提升,更有利于产品质量控制,但工艺杂质限度设置不合理。建议尚未通过一致性评价的生产企业在开展本品种质量研究时应重点关注有关物质、杂质谱、基因毒性杂质、溶出度、含量

均匀度、含量测定等关键质量属性指标,优化产品处方及工艺设计,提高产品质量。同时,建议修订ChP2020艾司唑仑原料药及其片剂的质量标准,以满足已上市药品质量监管的需求,保障用药的安全性和有效性。

参考文献

- [1] ZHANG X, SHI JC, HUANG XY, et al. Formation and occurrence of disinfection byproducts of benzodiazepine drug estazolam in drinking water of Beijing[J]. Science of The Total Environment, 2022, 804: 150028.
- [2] MCADAM LC. Propofol and benzodiazepine modulation of GABA_A R function[D]. Toronto: The University of Toronto, 1997.
- [3] 赵成洁. 艾司唑仑的药理和临床应用[J]. 中国当代医药, 2012, 19(7): 66.
- [4] 李 军. 新型镇静催眠及抗焦虑药——艾司唑仑注射液[J]. 中南药学, 2009, 7(6): 476-478.
- [5] XU JN, CHEN LF, SU J, et al. The anxiolytic-like effects of estazolam on a PTSD animal model[J]. Psychiatry Research, 2018, 269: 529-535.
- [6] 李 君, 马金玉. 艾司唑仑治疗慢性失眠症的效果研究[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2023, 29(1): 27-29.
- [7] 张彬彬, 宫 军. 针灸结合艾司唑仑片治疗慢性失眠患者的效果分析[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2022, 28(10): 1387-1391.
- [8] 李丹青. 艾司唑仑联合认知行为治疗对精神分裂症合并睡眠障碍受救助患者的疗效分析[J]. 吉林医学, 2022, 43(7): 1824-1826.
- [9] 涂福堂, 胡 松, 朱宗伟, 等. 氟哌噻吨美利曲辛片联用艾司唑仑片治疗帕金森病伴焦虑抑郁的临床疗效研究[J]. 临床医药实践, 2020, 29(6): 425-427.
- [10] 刘 岳, 刘晓慧, 齐文渊, 等. 艾司唑仑片在中国健康受试者中的药代动力学及生物等效性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(14): 1776-1779.
- [11] 舒乐安定(三唑氯安定)[J]. 中国医药工业杂志, 1981, 12(2): 48.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 142.
- [13] The United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopoeia 2022th Edition [EB/OL]. [2023-11-02]. https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-C81AC373-0E16-4CBB-97E4-692231887C4F_4_en-US?source=Search%20Results&highlight=Estazolam.
- [14] 一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団. 第十八改正日本薬局方[EB/OL]. [2023-11-02]. <https://www.drugfuture.com/standard/>.
- [15] YBH08682021, 上海上药信宜药厂有限公司: 艾司唑仑片标准[S].
- [16] YBH06222021, 山东信谊制药有限公司: 艾司唑仑片标准[S].
- [17] YBH03582022, 常州四药制药有限公司: 艾司唑仑片标准[S].
- [18] YBH09462021, 华中药业股份有限公司: 艾司唑仑片标准[S].
- [19] 范 钢. 艾司唑仑中间体合成工艺及有关物质结构确证的研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2020.
- [20] 万君玥, 陈 华, 尹 婕. 化学药品中杂质的基因毒性评估策略以及相关分析方法研究进展[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(4): 557-571.
- [21] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH M7(R2): Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk [EB/OL]. [2023-04-03] [2023-11-02]. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf.
- [22] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《化学药品中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》的通告(2020年第1号)[A/OL]. (2020-05-08) [2023-11-02]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/776b663787ec5a60ac744071c3714d5a>.
- [23] 汤加园, 陈向明. 高效液相色谱荧光检测法测定药物中的氯乙酰氯[J]. 化学分析计量, 2021, 30(1): 59-62.
- [24] 周 玉, 倪卫星, 刘 勇, 等. 阿嗪米特原料药中潜在基因毒性杂质氯乙酰氯和氯乙酸的含量测定[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(3): 300-305.
- [25] 陈 爽, 刘 柱, 石云峰, 等. UHPLC-MS/MS法测定瑞戈非尼中两种痕量基因毒性杂质[J]. 药学研究, 2023, 42(7): 485-488.
- [26] CHEN YQ, HUANG LZ, YUAN X, et al. Development and Validation of a UPLC-MS/MS Method for Ultra-Trace Level Determination of Acyl Chloride Potential Genotoxic Impurity in Mezlocillin[J]. Journal of Chromatographic Science, 2022, 60(8): 732-740.
- [27] 穆丽娜. 磷酸西格列汀中基因毒性杂质分析研究[D]. 连云港: 江苏海洋大学, 2022.
- [28] 刘晶晶, 梁智渊, 梁爱仙, 等. GC-MS/MS测定替米沙坦片中10种亚硝胺类基因毒性杂质[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1224-1229.
- [29] 徐艳梅, 韩 彬, 郝丽娟, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定3种N-亚硝胺类基因毒性杂质[J]. 医药导报, 2022, 41(11): 1672-1676.
- [30] JAMES M, EDGE T. Low-level determination of mutagenic nitrosamine impurities in drug substances by LC-MS/MS[J]. LCGC Europe, 2021, 34(7): 267-276.
- [31] 袁 松, 黄海伟, 于颖洁, 等. UPLC-MS/MS法测定替米沙坦中16种N-亚硝胺类基因毒性杂质[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(5): 477-482.
- [32] 伏圣青. 艾司唑仑BCS分类及关键质控技术研究[D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2013.
- [33] 伏圣青, 陈 华, 南 楠, 等. 艾司唑仑片溶出度检测方法的建立以及溶出曲线评价[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(5): 885-888.
- [34] 熊建华, 李金龙, 毛伟芹. 不同过滤方法对艾司唑仑片含量及其均匀度测定的影响[J]. 海峡药学, 2005, 17(3): 76-77.
- [35] 杨惠霞, 何文斌. 高效液相色谱法测定艾司唑仑片中艾司唑仑含量[J]. 中国药业, 2011, 20(21): 26-27.

(收稿日期: 2023-11-03; 修回日期: 2023-12-01)