

注射用兰索拉唑的杂质分析及稳定性研究

李明杰*,高菲菲,宋良伟,李晓峰,朱玉青(山东罗欣药业股份有限公司,山东临沂 276017)

中图分类号 R927.2;R975*.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0824-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.20

摘要 目的:对国产注射用兰索拉唑进行杂质分析及稳定性研究。方法:分别采用高效液相色谱(HPLC)法及液相色谱-质谱(LC-MS)法对国产注射用兰索拉唑进行杂质分析及稳定性研究(室内光照、紫外光照和高温条件),并与其原研产品进行比较。HPLC法色谱柱为岛津ODS-3 C₁₈,流动相为甲醇-水-三乙胺-磷酸(700:300:5:1.5, V/V/V/V, pH 7.0),紫外检测波长为284 nm。LC-MS法色谱柱为Waters ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈,流动相为5 mmol/L醋酸铵溶液-乙腈(92:8, V/V),采用辅助雾化电喷雾离子源、正负离子同时检测方式及全离子扫描方式。结果:兰索拉唑检测质量浓度线性范围为0.6~5.4 μg/ml($r=0.999\ 9$),RSD为0.21%($n=9$),检测限为0.18 ng;推测了3个已知杂质的裂解规律,对杂质结构进行了验证;稳定性研究中2个厂家样品中杂质含量随室内光照时间延长变化趋势差别较大,但在另2种条件下无显著性差异。结论:建立的杂质分析方法简便、准确、专属性好,适用于兰索拉唑有关物质检查,且国产注射用兰索拉唑杂质含量及产品稳定性与原研产品相当。

关键词 注射用兰索拉唑;杂质;稳定性;高效液相色谱法;液相色谱-质谱法

Impurities Analysis and Stability Study of Lansoprazole for Injection

LI Ming-jie, GAO Fei-fei, SONG Liang-wei, LI Xiao-feng, ZHU Yu-qing (Shandong Luoxin Pharmacy Co., Ltd., Shandong Linyi 276017, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze impurities and study the stability of domestic Lansoprazole for injection. METHODS: HPLC and LC-MS were developed for the impurities analysis and stability study of Lansoprazole for injection (indoor illumination, UV illumination and high temperature), which were compared with those of original products. HPLC system: Shimadzu ODS-3 C₁₈ column was used with mobile phase consisted of methanol-water-triethylamine-phosphoric acid (700:300:5:1.5, V/V/V/V, pH adjusted to 7.0) at UV detection wavelength of 284 nm. LC-MS system: Waters ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈ column were adopted with mobile phase consisted of 5 mmol/L ammonium acetate aqueous solution-acetonitrile (92:8, V/V). Electrospray ionization source was adopted. Positive and negative ions detection were adopted simultaneously and full scan mode was used. RESULTS: The linear range of lansoprazole was 0.6-5.4 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with detection limit of 0.18 ng, RSD=0.21% ($n=9$); according to the structure of 3 known impurities, the fragmentation regularity was respectively speculated; and the accuracy of the impurities structures in samples from 2 manufacturers was verified in stability test under indoor illumination. There was no significant difference under other 2 conditions. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and suitable for the determination of impurities in lansoprazole. For the impurities content and product stability, there is no obvious difference between domestic Lansoprazole for injection and original products.

KEY WORDS Lansoprazole for injection; Impurity; Stability; HPLC; LC-MS

兰索拉唑(Lansoprazole)系继奥美拉唑(Omeprazole)之后由日本武田公司开发的第2个质子泵抑制剂类抗溃疡药。1992年初,本品由武田制药厂和赫特公司(属Roussel Uclaf公司)在法国正式投放市场。注射用兰索拉唑由美国的武田和雅培的合资企业TAP公司开发,于2004年5月27日获得美国FDA批准上市^[1]。兰索拉唑于1994年6月3日在中国获得药品行政保护,于2001年12月3日期限届满终止药品行政保护。此后,国内各药品生产企业相继仿制了该品种。目前,国内兰索拉唑的剂型有片剂、胶囊剂、注射用冻干粉末,规格有15、30 mg等。

为保证本品临床用药的安全性,本试验采用高效液相色谱(HPLC)法及液相色谱(LC)-质谱(MS)法对注射用兰索拉唑中的杂质分别进行了定量和定性研究。根据3个已知杂质的结构,推测了其裂解规律,验证了稳定性研究中样品杂质峰

的归属准确性。

1 材料

20 A 色谱系统(LC-20AT 输液泵、SPD-M20A 二极管阵列检测器)、LC Solution 工作站(日本岛津公司); ACQUITY Ultra Performance LC™超 HPLC 仪、Quattro micro API 三重四极杆液质联用仪、MassLynx™ 4.1 MS 工作站(美国 Waters 公司)。

兰索拉唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100709-200501,纯度:100%);杂质A对照品(兰索拉唑氮氧化物, CAS 号: 213476-12-1,纯度:98.5%)、杂质B对照品(兰索拉唑磺化物, CAS 号: 131926-99-3,纯度:99.3%)、杂质C对照品(兰索拉唑硫化物, CAS 号: 103577-40-8,纯度:99.6%)均购于德国 LGC GmBH 公司;注射用兰索拉唑(A 厂为原研厂,武田药品工业株式会社,批号:H072,规格:每支 30 mg; B 厂为国内企业,批号:111201、111202、111203,规格:每支 30 mg); 甲醇、乙腈、醋酸铵均为色谱纯,三乙胺、磷酸均为分析纯,水

* 工程师。研究方向:药学。电话:0539-8259660。E-mail:lxxyxmb@126.com

为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 HPLC法。色谱柱:岛津ODS-3 C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:30 ℃;流动相:甲醇-水-三乙胺-磷酸(700:300:5:1.5, V/V/V/V),用磷酸溶液(1→10)调节pH值至7.0,流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;紫外检测器,检测波长:284 nm^[2]。

2.1.2 LC-MS法。色谱柱:Waters ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:5 mmol/L 醋酸铵溶液-乙腈(92:8, V/V),流速:0.2 ml/min;进样量:20 μl。离子源:辅助雾化电喷雾离子源(ESI);检测方式:正负离子同时检测;扫描方式:全离子扫描(SCAN);毛细管电压:3.0 kV(正离子),2.9 kV(负离子);锥孔电压:20 V;源温度:110 ℃;去溶剂气:N₂;去溶剂气温度:300 ℃;去溶剂气流速:400 L/h;锥孔气流速:30 L/h。

2.2 溶液的制备

2.2.1 杂质对照品溶液。分别精密称取兰索拉唑杂质A、B、C对照品10.02、8.11、5.46 mg,置于同一个10 ml量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度;精密量取1 ml,置于100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液。分别取A厂与B厂产品适量(约相当于兰索拉唑15 mg),精密称定,置于50 ml量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 对照溶液。分别精密量取供试品溶液各1 ml,置于100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 稳定性试验样品溶液。(1)室内光照稳定性试验:分别取A、B厂样品各1瓶,加0.9%氯化钠注射液约10 ml使溶解,转移至100 ml量瓶中,加0.9%氯化钠注射液稀释至刻度,摇匀,室温放置,于0、2、4、6、8、10、18、20、24 h取样。(2)紫外光照稳定性试验:分别取A、B厂样品细粉适量(约相当于兰索拉唑15 mg),在紫外灯(254 nm波长)下照射36 h,精密称定,置于50 ml量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。(3)高温稳定性试验:分别取A、B厂样品各1瓶,加0.9%氯化钠注射液约10 ml使溶解,转移至100 ml量瓶中,加0.9%氯化钠注射液稀释至刻度,摇匀,于80 ℃放置0、2、4、8 h,冷却后取样。

2.3 方法学验证(HPLC法)

2.3.1 线性关系考察。精密称取兰索拉唑对照品15 mg,置于50 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度;精密量取2 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为贮备液;精密量取贮备液1、3、5、7、9 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为①、②、③、④、⑤号溶液。

精密量取上述①、②、③、④、⑤号溶液各20 μl,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积(y)对浓度(c)作曲线,计算回归方程及相关系数,得回归方程 $y=46\ 629c+2\ 871.2$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,兰索拉唑检测质量浓度线性范围为0.6~5.4 μg/ml。

2.3.2 精密密度试验。取“2.3.1”项下③号溶液作为试验溶液,精密量取20 μl,注入液相色谱仪,重复测定6次,结果峰面积的RSD为0.21%,表明仪器精密密度良好。

2.3.3 检测限试验。精密量取“2.3.1”项下③号溶液1 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为溶液a;精密量取溶液a 1、3、5 ml,分别置于10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为溶液b、c、d;各精密量取20 μl,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。经试验,信噪比为3:1时检测限为0.18 ng。

2.4 HPLC法有关物质测定结果

精密量取“2.2.1~2.2.3”项下的溶液各20 μl,分别注入液相色谱仪,按“2.1.1”项下色谱条件测定有关物质,记录色谱图至主成分峰保留时间的3倍,按主成分自身对照法计算。色谱见图1,计算结果见表1。

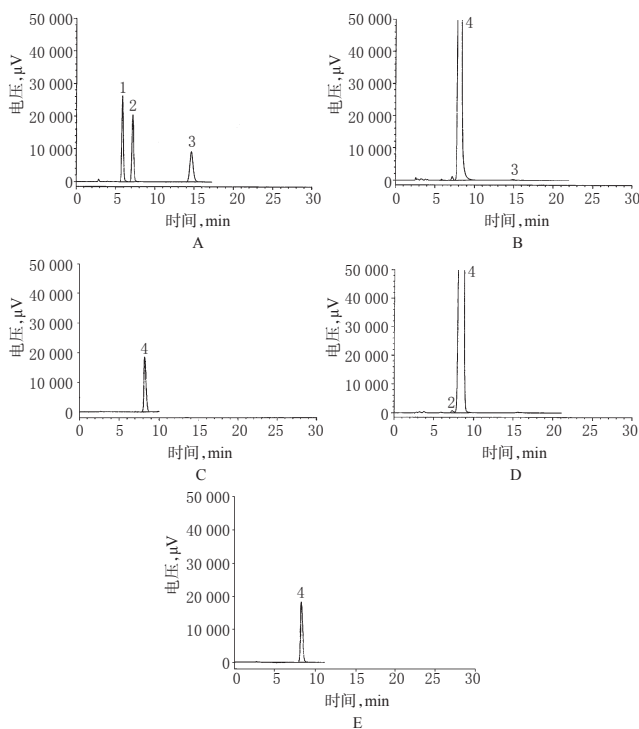


图1 有关物质测定高效液相色谱图

A.杂质对照品溶液;B.A厂供试品溶液;C.A厂对照溶液;D.B厂供试品溶液;E.B厂对照溶液;1.杂质A;2.杂质B;3.杂质C;4.兰索拉唑

Fig 1 HPLC chromatograms of related substances

A. impurity control solution; B. test sample solution from manufacturer A; C. solution control from manufacturer A; D. test sample solution from manufacturer B; E. solution control from manufacturer B; 1. impurity A; 2. impurity B; 3. impurity C; 4. lansoprazole

表1 2个厂家样品中有关物质测定结果

Tab 1 Determination of related substances in samples from 2 manufacturers

| 生产企业 | 批号 | 杂质A,% | 杂质B,% | 杂质C,% | 单个最大杂质质量 | 总杂质质量,% |
|------|--------|-------|-------|-------|----------|---------|
| A厂 | H072 | 0.05 | 0.13 | 0.02 | 未检出 | 0.20 |
| B厂 | 111201 | 未检出 | 0.11 | 未检出 | 未检出 | 0.11 |
| | 111202 | 未检出 | 0.16 | 未检出 | 未检出 | 0.16 |
| | 111203 | 未检出 | 0.12 | 未检出 | 未检出 | 0.12 |

由图1可知,兰索拉唑及其杂质A、B、C之间的分离度较好。由表1可知,A厂的样品中3个已知杂质均有检出;而B厂的3批样品中仅检出杂质B,其他单个最大杂质以及总杂质质量均与A厂样品基本一致。

2.5 LC-MS法分析及杂质归属确证结果

精密量取“2.2.2”项下的溶液各20 μl,分别注入LC-MS系统,按“2.1.2”项下条件测定,记录色谱图,见图2。

因HPLC系统与LC-MS系统所用流动相的缓冲液种类、pH值略有差异,所以兰索拉唑和各杂质峰的洗脱顺序不一样。在HPLC条件下,洗脱顺序依次为杂质A、杂质B、兰索拉唑、杂质C;而在LC-MS条件下,洗脱顺序依次为杂质A、兰索拉唑、杂质B、杂质C。

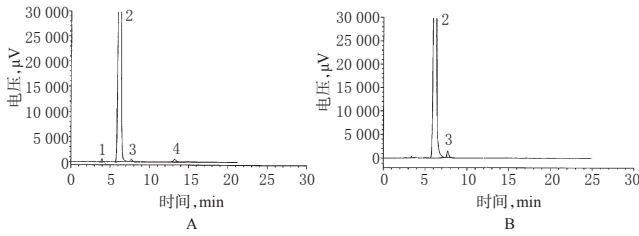


图2 2个厂家供试品溶液LC-MS图

A. A厂家; B. B厂家; 1. 杂质A; 2. 兰索拉唑; 3. 杂质B; 4. 杂质C

Fig 2 LC-MS chromatograms of test solutions from 2 manufacturers

A. manufacturer A; B. manufacturer B; 1. impurity A; 2. lansoprazole; 3. impurity B; 4. impurity C

根据已知杂质的结构式,推测了各杂质相应的裂解规律,验证了稳定性样品中各杂质峰归属的准确性,详见图3~图10。

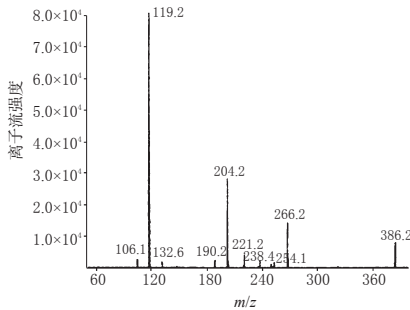


图3 杂质A(氮氧化物)的质谱图

Fig 3 MS spectrum of impurity A (nitrogen oxides)

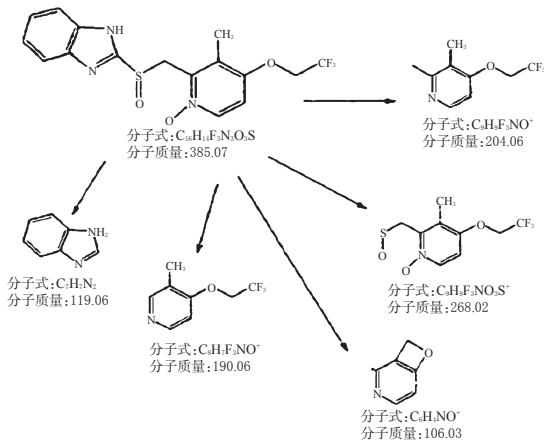


图4 杂质A(氮氧化物)的裂解规律

Fig 4 Fragmentation regularity of impurity A (nitrogen oxides)

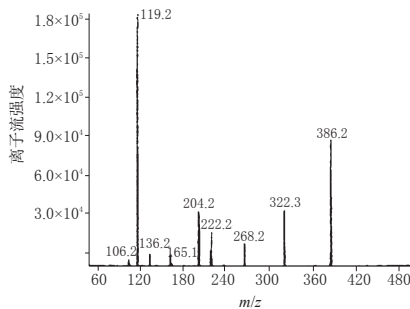


图5 杂质B(磺化物)的质谱图

Fig 5 MS spectrum of impurity B (sulphonate)

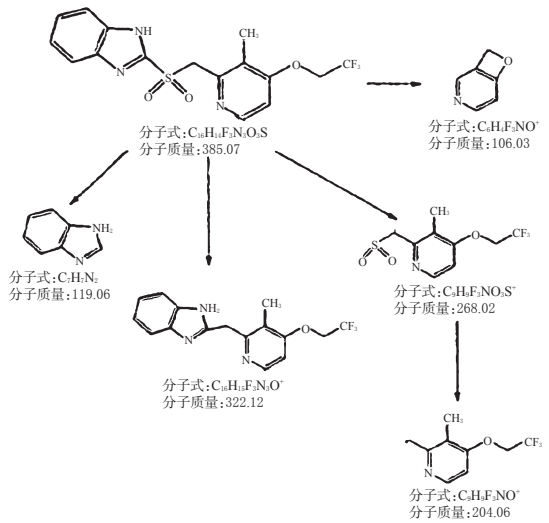


图6 杂质B(磺化物)的裂解规律

Fig 6 Fragmentation regularity of impurity B (sulphonate)

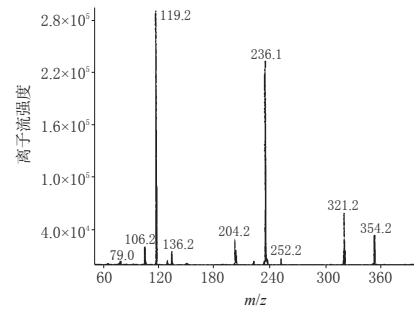


图7 杂质C(硫化物)的质谱图

Fig 7 MS spectrum of impurity B (sulfide)

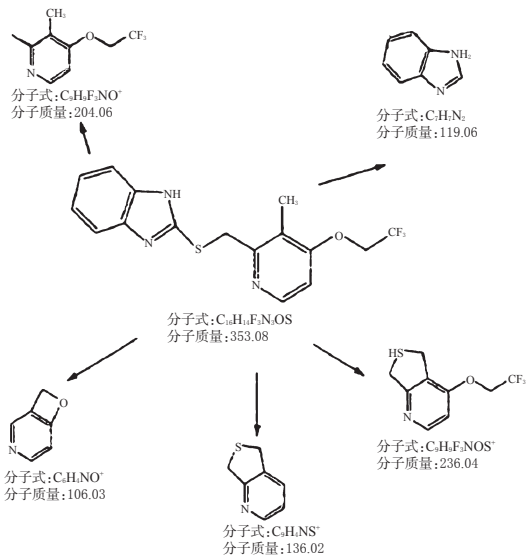


图8 杂质C(硫化物)的裂解规律

Fig 8 Fragmentation regularity of impurity C (sulfide)

2.6 稳定性对比研究

精密量取“2.2.4”项下的溶液各20 μl,分别注入色谱系统,按“2.1.1”项下条件测定,记录色谱图,比较2个厂家样品在模拟临床使用时不同条件下可能出现的降解情况。因A、B厂家样品在紫外光照、高温条件下稳定性未见显著性差异,故此

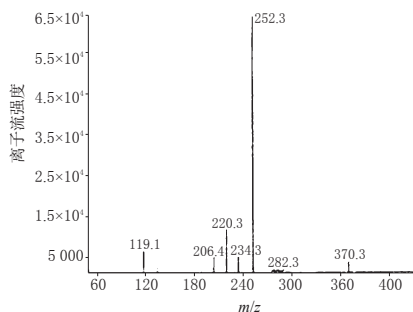


图9 兰索拉唑的质谱图

Fig 9 MS spectrum of lansoprazole

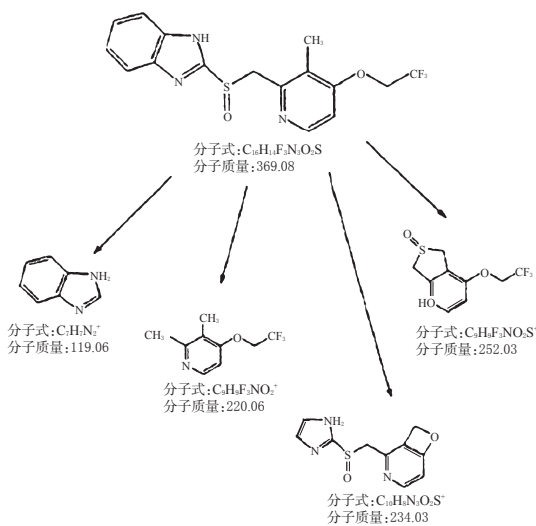


图10 兰索拉唑的裂解规律

Fig 10 Fragmentation regularity of lansoprazole

只列出室内光照条件下的含量变化, 详见图11。

从图11可以看出, A、B厂样品中杂质含量随时间的推移变化趋势差别较大。

3 讨论

据文献^[3]报道本品在光照条件下不稳定, 而本品在储存或临床使用过程中由于南北方温差或季节不同, 温度对产品质量可能造成影响, 故将国内产品与原研产品在室内光照、紫外光照及高温条件下的稳定性情况作了系统的比较。结果表明, 本文建立的方法简便、准确、专属性好, 为兰索拉唑杂质研

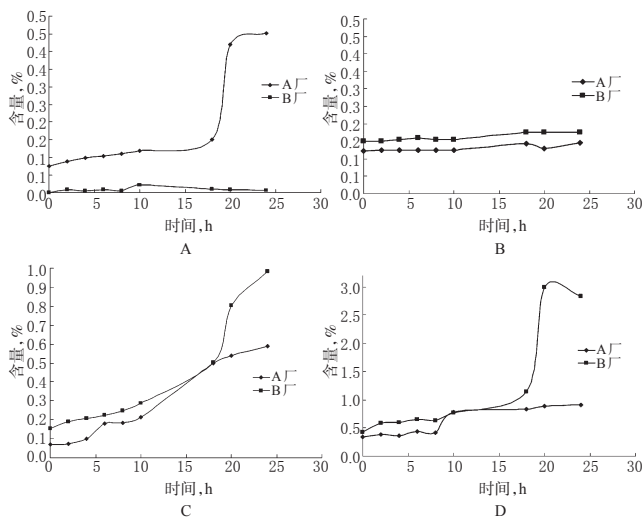


图11 2厂家样品中杂质变化情况比较

A. 杂质A; B. 杂质B; C. 单个最大杂质; D. 总杂质

Fig 11 Comparison of the impurities in samples from 2 manufacturers

A. impurity A; B. impurity B; C. single maximal impurity; D. total impurities

究提供了依据。

综上所述, 用HPLC法测定注射用兰索拉唑中的杂质, B厂3批样品中含杂质B、其他单个杂质以及总杂质的量均与原研样品基本一致。本试验还比较了2个厂家样品在室内光照、紫外光照、高温条件下的降解情况, 并结合LC-MS对各杂质结构进行了验证。证明国产注射用兰索拉唑杂质含量与原研产品基本一致, 产品稳定性与原研产品相当。

参考文献

- [1] 浦锡娟, 何峰. HPLC法测定注射用兰索拉唑中主药及有关物质的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(13): 1 013.
- [2] 高洁, 朱永琴. HPLC法测定兰索拉唑及其制剂的含量和有关物质[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2008, 36(4): 171.
- [3] 杨应霓, 余海宣, 李庆南, 等. 兰索拉唑及其片剂的稳定性研究[J]. 中国现代应用药学, 2003, 20(3): 203.

(收稿日期: 2012-07-06 修回日期: 2013-01-07)

国家食品药品监督管理局关注云南白药安全性问题

本刊讯 2013年2月5日, 香港卫生署发出新闻公报, 因云南白药散剂等5个品种含有未标示的乌头类生物碱, 要求予以回收。

在此之前, 国家食品药品监督管理局已注意到近期媒体对云南白药含乌头碱的关注, 及时约谈了企业有关负责人。要求企业在遵守国家法律的同时, 及时修改说明书, 增加药品安全风险的提示内容; 同时, 加强上市产品的不良反应监测, 确保用药安全。

云南白药是我国中医药传统品种。自1956年以来, 其配方、工艺被国家相关单位确定为国家秘密, 严格保密。根据国家保密法律法规的有关规定, 凡列入国家秘密的品种, 其说明书、标签可不列成分项目。

国家食品药品监督管理局批准的云南白药配方中含有乌头碱类物质的药材。其药材经过炮制, 可使毒性大大降低。如果企业严格按照国家食品药品监督管理局批准的配方工艺以及《药品生产质量管理规范》(GMP)的要求组织生产, 其产品总体是安全的。

国家食品药品监督管理局对云南白药的不良反应进行了监测, 未发现严重的不良反应报告。为进一步保障公众用药安全, 国家食品药品监督管理局提醒公众, 要在医生的指导下, 严格按说明书使用云南白药, 不要超剂量使用, 不要长时间使用; 如出现严重不良反应, 应及时就医, 并报告当地食品药品监管部门。