

多种技术不同维度分析兰索拉唑肠溶片溶出度异常原因

刘文欣^{1#}, 李岩^{1#}, 袁耀佐¹, 贾欢欢^{1,2}, 陈民辉¹, 张锦琳^{1*}

(¹ 江苏省食品药品监督检验研究院, 国家药品监督管理局化学药品杂质谱研究重点实验室, 南京 210019;

² 中国药科大学药学院, 南京 211198)

摘要 利用激光红外成像技术和轨道阱高分辨质谱技术分析兰索拉唑肠溶制剂抽检中样品溶出度异常的原因并提出改进建议。按照法定标准对抽检制剂进行检验,一批样品的溶出度低于限度,其他项目均符合规定。考虑到本品对酸、碱不稳定,结合对生产企业飞行检查的结论,从不同维度设计实验考察该批次样品溶出度异常的原因,包括高温高湿的贮存环境对样品关键质量属性的影响、2 h 抗酸实验对溶出度的影响、片芯成像及包衣层厚度测定、有关物质色谱条件优化、杂质谱分析等。研究发现,流通环节贮存不当和样品包衣工艺差是引起该批次样品溶出度低的原因。流通环节可能出现的高温高湿贮存环境引起样品中崩解剂功效下降,主药难以完全释放;包衣液不能均匀包裹于片芯,引起隔离层薄且厚度不一,继而影响其保护主药防止酸降解的效果。两者共同造成该批次样品溶出度偏低。兰索拉唑肠溶制剂总体质量较好,但部分企业处方和工艺需要优化;流通环节需要严格按照规定控制温湿度。

关键词 兰索拉唑; 肠溶制剂; 药品抽检; 溶出度; 药用辅料; 制剂工艺; 杂质谱

中图分类号 R917 文献标志码 A

文章编号 1000-5048(2024)02-0224-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023052401

引用本文 刘文欣, 李岩, 袁耀佐, 等. 多种技术不同维度分析兰索拉唑肠溶片溶出度异常原因 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(2): 224–229.

Cite this article as: LIU Wenxin, LI Yan, YUAN Yaozuo, et al. Analysis of the causes for abnormal dissolution of lansoprazole enteric-coated tablets by multiple techniques and different dimensions[J]. J China Pharm Univ, 2024, 55(2): 224–229.

Analysis of the causes for abnormal dissolution of lansoprazole enteric-coated tablets by multiple techniques and different dimensions

LIU Wenxin^{1#}, LI Yan^{1#}, YUAN Yaozuo¹, JIA Huanhuan^{1,2}, CHEN Minhui¹, ZHANG Jinlin^{1*}

¹Jiangsu Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Impurity Profile of Chemical Drugs, Nanjing 210019;

²School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract This study aims to find out the causes for the dissolution of unqualified samples found during evaluation sampling of lansoprazole enteric-coated preparations by the laser infrared imaging system and orbitrap high resolution mass spectrometry, with suggestions for improvement. Lansoprazole enteric-coated preparations were tested by current standard, the dissolution of a batch of samples was below the limit and other items were in line with the standard. Considering that this product is unstable to acid and alkali, the following exploratory experiments were designed from different dimensions, based on the conclusion of the unannounced inspection of the company, to explore the reasons for the unqualified batch, including the influence of high-temperature and high-humidity storage environment on the key quality properties of the sample, the influence of 2-hour acid resistance test on dissolution result, the imaging of the core and the measure of coating layer thickness, the optimization of chromatographic conditions of related substances, and the analysis of the source of impurities. It was found that improper storage in circulation and poor coating process caused the low dissolution of this batch: the high-temperature and high-humidity storage environment possible in the circulation process led to the decreasing efficacy of disintegrating agent in the samples and thus the difficulty to release the active

pharmaceutical ingredient fully; the coating solution could not be uniformly sprayed on the core, resulting in thin isolation layer and different thickness, which then affected the protection of the main drug against acid degradation. The above two reasons together resulted in unqualified dissolution of this batch. The overall quality of lansoprazole enteric-soluble preparation is good, but the formulation and process in some companies need to be optimized; and the temperature and humidity in the circulation process need to be controlled in strict accordance with the regulations.

Key words lansoprazole; enteric-coated preparations; drug spotcheck; dissolution; pharmaceutical excipients; preparation technology; impurity spectrum

*LIU Wenxin and LI Yan contributed equally to this work

兰索拉唑是日本武田制药株式会社研制的质子泵抑制药, 其抑制胃酸分泌作用及抗幽门螺旋杆菌作用较强, 在治疗消化性溃疡疾病方面具有显著疗效^[1-3]。从国家药品不良反应监测系统数据库中查询到兰索拉唑肠溶片和肠溶胶囊存在皮疹、瘙痒、肝功能异常、过敏性休克、血小板减少等不良反应。目前兰索拉唑肠溶片收载于《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)和《英国药典》, 兰索拉唑肠溶胶囊收载于《中国药典》、《美国药典》、《日本药典》和《英国药典》。天津武田和日本武田的兰索拉唑肠溶胶囊均为国家药品监督管理局公布的参比制剂, 本研究以天津武田生产的肠溶胶囊为原制剂进行相关研究工作。

按照法定标准对在全国范围内抽取的兰索拉唑肠溶片和肠溶胶囊进行检验, 发现 H 企业一批次样品(190301)在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶出度低于限度, 其他项目均符合规定。结合 H 局对 H 企业飞行检查的结论, 本研究设计以下实验考察该批次样品溶出度低的原因: 考察高温高湿的贮存环境对溶出度、含量和有关物质的影响; 通过 2 h 抗酸实验探索产品包衣工艺对溶出度的影响; 采用激光红外成像技术考察 H 企业不同批次样品片芯及包衣喷涂的均匀性; 对现行《中国药典》中有关物质的色谱条件进行优化并结合高效液相色谱-高分辨轨道阱质谱联用(LC-Orbitrap/HRMS)及多中心切割 2D-LC-HRMS 技术, 对杂质来源进行系统归属。本研究旨在通过多种技术不同维度分析导致兰索拉唑肠溶片溶出度异常的原因, 从而更好地推进兰索拉唑肠溶制剂仿制药一致性评价的进程。

1 材 料

1.1 药品与试剂

兰索拉唑(批号 100709-201705, 含量 99.6%)、

兰索拉唑杂质 I(批号 510046-201401)、兰索拉唑杂质 II(批号 510047-201401)、兰索拉唑杂质 III(批号 510048-201401)、兰索拉唑杂质 IV(批号 510049-201401)均来源于中国食品药品检定研究院; 兰索拉唑杂质 C(批号 S17041902, 含量 99.94%)、兰索拉唑杂质 F(批号 S17110601, 含量 99.3%)均来源于江苏奥赛康药业有限公司; 兰索拉唑肠溶片和兰索拉唑肠溶胶囊均为抽检样品。乙腈、三乙胺(德国默克公司); 甲酸、甲醇(美国赛默飞世尔公司); 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪 器

LC-20AB 高效液相色谱仪、UV-2600 紫外分光光度计(日本岛津公司); 1260 Infinity II 高效液相色谱仪、708-DS 溶出仪、850-DS 溶出自动取样器、8700 LDIR 激光红外成像系统(美国安捷伦公司); Ultimate 3000-Q Exactive Orbitrap 液质联用(美国赛默飞世尔公司)。

2 方 法

2.1 法定检验方法

本次抽检的兰索拉唑肠溶片法定标准主要为《中国药典》2015 年版二部^[4]; 兰索拉唑肠溶胶囊法定标准主要为《中国药典》2015 年版第一增补本, 少数样品执行国家药品监督管理局标准。

2.2 探索性研究方法

本研究采用多种技术从不同维度对兰索拉唑肠溶片溶出度异常产品的原因进行了探究。

2.2.1 考察高温高湿的贮存环境对样品关键质量属性的影响 本研究模拟了高温高湿的贮存环境, 将原制剂和 H 企业的一批次样品在高温高湿即温度 40 ℃、相对湿度 75% 的贮存条件下放置 5 d 后, 按照《中国药典》标准测定溶出度、含量和有关物质, 并与在规定的阴凉(不超过 20 ℃)干燥贮存

条件下放置的同批次样品检验结果进行比较。

2.2.2 考察包衣层工艺对样品溶出度的影响 按照《中国药典》溶出度项下测定法, 将溶出度异常批次样品先以 0.1 mol/L 盐酸溶液 1 000 mL 为溶出介质, 经 2 h 后, 观察包衣层有无破损并测定盐酸溶液中的溶出量, 再将盐酸溶液弃去, 立即加入预热至 37 °C 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 1 000 mL, 继续依法操作, 测定溶出量。将同批次样品不经 2 h 的酸介质, 直接置 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中, 依法测定溶出量。

采用激光红外成像系统对溶出度异常批次样品切片后的片芯进行成像, 并与辅料单组分成像结果进行比较, 确定该批次样品的处方与生产企业提供的处方是否一致。再利用隔离层和肠溶层特征峰的不同, 对本次抽检的 H 企业不同批次样品包衣进行成像, 利用软件标尺测量隔离层包衣与肠溶层包衣的厚度。

2.2.3 利用多中心切割 2D-LC-HRMS 和 LC-Orbitrap/HRMS 技术对溶出度不合格批次降解情况的探索 采用 Thermo Ultimate 液相与 Thermo Q-ExactiveOrbitrap 质谱联用技术, 一维色谱条件采用《中国药典》有关物质项下方法, 二维色谱条件采用 0.1% 甲酸水-乙腈为流动相, 梯度洗脱, 对《中国药典》方法检出的各杂质进行归属^[5]。

通过正交设计对《中国药典》有关物质方法进行优化, 优化后的方法为色谱柱: Agilent Extend C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 A: 水; 流动相 B: 乙腈-水-三乙胺(160:40:1)[用磷酸调 pH 至 7.0]; 梯度洗脱: 0~40 min, 10% B→80% B; 40~50 min, 80% B; 50~51 min, 80% B→10% B; 51~60 min, 10% B。稀释剂: 甲醇-0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(1:3); 流速: 0.8 mL/min 柱温: 25 °C; 进样体积: 40 μL; 检测波长: 285 nm。供试品溶液的制备: 取本品, 除去

肠溶衣, 研细, 精密称取适量(约相当于兰索拉唑 25 mg), 至 100 mL 量瓶中, 加稀释剂适量, 振摇使兰索拉唑溶解, 加稀释剂至刻度, 摆匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。对照溶液的制备: 精密度取供试品溶液 1 mL, 至 100 mL 量瓶中, 加稀释剂至刻度, 摆匀, 作为对照溶液。采用优化后的方法对溶出度异常样品进行测定。

基于优化后的有关物质方法, 采用 LC-Orbitrap/HRMS 技术, 建立了兼容质谱检测器的检测方法, 进行杂质谱分析^[5]。

3 结果与讨论

3.1 法定检验结果与讨论

在法定检验中发现 H 企业一批次样品溶出度低于限度要求, 本研究主要围绕该批次开展。通过调研发现, H 企业生产的 190301 批次兰索拉唑肠溶片于 2019 年 4 月 26 日生产入库, 后分别于 2019 年 5 月 14 日和 5 月 26 日分两次发往 J 企业, 2019 年 6 月 28 日由 J 企业发往 Y 公司, 再由 Y 公司分销 1 件(300 盒)产品至 S 公司, 即本次抽检溶出度异常产品的抽样场所。

该批次产品法检报告发出之后, H 企业迅速展开该批次产品的召回工作, 并将从全国各地召回的产品送至 H 省院进行检验, 溶出度结果见表 1, 结果显示该批次从其他省市召回的产品溶出度均合格, 从 S 公司召回的产品溶出度结果仍低于限度(限度为 80%), 溶出量比本次抽检结果更低。H 局对 H 企业进行了飞行检查, 调查其批生产记录等资料, 未发现重大问题, 初步认为市场流通环节贮存不当是导致样品不合格的主要原因, 市场贮存中未达到规定的遮光, 密封, 置阴凉(不超过 20 °C)干燥处保存的要求, 造成了该批次样品溶出度结果低于限度。

Table 1 Dissolution test data of recalled lansoprazole enteric-coated tablets

Batch No.	Recall place	Dissolution quantity/%						Average/%
		86.6	87.0	83.2	86.2	85.5	87.5	
190301	Inner Mongolia							86
190301	Guangdong	79.5	84.7	83.5	85.8	84.3	86.6	84
190301	Heilongjiang	82.7	84.1	84.7	82.6	83.3	84.2	84
190301	Henan	83.8	86.7	84.2	84.0	84.4	84.6	85
190301	Szechuan	84.4	85.9	85.7	85.6	86.1	87.0	86
190301	Other places in H province	84.3	83.9	85.1	84.7	84.7	84.2	84
190301	S enterprise	69.1	72.0	71.3	72.3	74.6	73.9	72

3.2 探索性研究结果与讨论

3.2.1 高温高湿的贮存环境条件对样品关键质量属性的影响 原研制剂分别置于规定的阴凉干燥贮存环境和高温高湿贮存环境下放置 5 d 后, 溶出度结果分别为 88% 和 79%; 含量测定结果分别为 104.6% 和 103.1%; 杂质总量分别为 2.02% 和 2.00%。H 企业生产的一批次样品分别置于规定的阴凉干燥贮存环境和高温高湿贮存环境下放置 5 d 后, 溶出度结果分别为 83% 和 73%; 含量测定结果分别为 100.7% 和 99.7%; 杂质总量分别为 0.36% 和 0.37%。

在高温高湿环境放置 5 d 后, 兰索拉唑肠溶片溶出度结果下降了近 10%, 含量和有关物质的结果变化不大。推测在高温高湿环境中, 水分会引起片芯中的崩解剂膨胀, 导致在溶出度试验中, 崩解剂功效下降, 造成溶出度结果偏低。这进一步证明市场流通环节贮存不当可能是导致该产品溶出度异常的原因之一。

3.2.2 产品包衣层工艺对溶出度结果的影响 溶出度异常批次样品在盐酸溶液中经 2 h 未溶出, 性状无明显变化, 包衣层完好无破损。将该批次样品不经盐酸溶液, 直接置 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中进行溶出度试验。结果显示, 6 片溶出量均大于 80%, 符合标准规定。表明该批次样品虽然在酸介质中未溶出, 但法定检验方法中抗酸 2 h 的步骤对最终的溶出度结果具有影响, 平均溶出量较未经抗酸 2 h 步骤的测定结果低 5%, 提示该批次样品的包衣层可能存在缺陷。

激光红外成像结果显示: 片芯中含有兰索拉唑、甘露醇、低取代羟丙甲纤维素、碳酸氢钠和羧甲淀粉钠, 与厂家提供的处方一致。将激光红外成像结果计算得到的各组分平均面积占比与厂家提供的处方含量进行对比, 两者基本接近, 存在轻微差异可能是由于切片并非中间面导致的, 说明企业在生产过程中确实按处方投料。

本次抽检的 H 企业 19 批次样品, 每批次平行测定 3 次, 包衣厚度测定结果见表 2。结果显示: 溶出度异常批次(190301)的隔离层是所有样品中最薄的, 平均厚度仅为 24.92 μm, 其他批次样品隔离层平均厚度在 30.80~41.84 μm 之间。各批次样品的肠溶层平均厚度在 82.84~110.00 μm 之间。

此外, 在成像图中发现溶出度异常批次样品的

Table 2 Comparison of coating thickness of 19 batches of samples from H enterprise ($n=3$)

Batch No.	Mean value of isolation layer/μm	Mean value of enteric layer/μm
191001	31.20	91.84
190802	30.80	83.08
191003	38.96	90.12
190502	40.40	94.12
190105	30.88	82.84
190803	31.60	84.48
191003	36.16	103.56
190801	34.80	104.08
191201	37.28	90.84
191201	41.84	103.16
191202	36.72	105.56
190801	37.80	110.00
190801	33.12	108.44
190301	24.92	88.96
200203	38.84	106.44
191202	34.80	95.36
200201	37.56	86.64
191003	34.44	101.00
190801	37.04	109.52

隔离层厚度不均一, 且个别地方存在隔离层断层的现象, 其隔离层的均一性和完整性均较差。推测隔离层的厚度不均一易引起主药遇酸降解, 导致溶出量下降。另一方面, 由于隔离层薄, 溶出度试验中的盐酸溶液易渗透入片芯, 造成片芯中的崩解剂迅速膨胀, 再转移至 pH 6.8 磷酸盐缓冲液后, 崩解剂的崩解效果减弱, 导致主药释放不完全, 引起溶出度下降。综上所述, 隔离层薄引起酸降解和崩解剂效果减弱可能是导致该批次样品溶出度不合格的另一因素。

3.2.3 利用多中心切割 2D-LC-HRMS 和 LC-Orbitrap/HRMS 技术对溶出度不合格批次降解情况的探索 按照上述研究中的推测, 该批次样品中主药应该发生了降解, 且为酸降解, 非高温高湿降解。但在法定检验中, 该批次样品的含量和有关物质均符合标准规定。最大单杂含量为 0.4%(限度为 0.5%), 总杂含量为 0.8%(限度为 2.0%), 为了进一步探究该批次样品的降解情况, 进行了探索性研究。

采用 Thermo Ultimate 液相与 Thermo Q-Exactive Orbitrap 质谱联用技术, 对《中国药典》方法检出的各杂质进行归属, 共检出 9 个杂质, 编号为 1~9, 其

中峰 1 在该色谱条件下的紫外谱图中未能完全分离,但质谱提取离子流图可以实现有效分离,故标记为杂质 1 和 2(图 1)。通过与已知杂质的保留时间和质谱数据比较,归属了 5 个色谱峰为已有对照品的已知杂质,分别为欧洲药典杂质 D、E、A、B、C,在图中色谱峰编号依次为 1、2、6、7、9,剩下的未知杂质为 3、4、5、8^[5]。

根据上述研究结果可知,《中国药典》方法无法分离杂质 D 和 E,且规定相对保留时间 0.25 之前的色谱峰忽略不计。对本次抽检的 H 企业所有样品的色谱图进行对比,发现相对保留时间 0.25 之前的色谱峰并不完全一致,其中溶出度异常批次的色谱峰明显大于其他批次,推测有部分降解产物随辅料峰一并在相对保留时间 0.25 之前流出。在对方法进行优化后,杂质 D 和杂质 E 基本能达到基线分离,且检出杂质个数和杂质总量均明显大于优化前的方法。溶出度异常批次的总杂,从 0.84% 增大至 4.84%,最大单杂从 0.35% 增大至 2.14%,色谱图见图 2,结果证实有降解杂质未被发现。

基于优化后的有关物质方法建立了兼容质谱

检测器的质谱方法,共检出 14 个杂质,其中 5 个为欧洲药典杂质 D、E、A、B、C;9 个为未知杂质,未知杂质中 4 个与利用 2D-LC-HRMS 技术检出的结果一致,5 个为该条件下新检出杂质(命名为杂质 10-14)^[5]。根据兰索拉唑原料强制降解实验结果,原料药合成工艺以及文献^[6],对杂质来源进行分析。发现 H 企业溶出度异常样品中新出现的最大单杂(杂质 11)为酸降解杂质^[7],结果见图 2 和图 3。该结果进一步证实了隔离层薄引起酸降解的推测。

4 小 结

本研究采用激光红外成像技术、多中心切割 2D-LC-HRMS 等技术,结合异常批次样品的自身特性以及调研结果,从不同维度设计试验,解析溶出度偏低的原因,包括外部环境因素以及产品自身问题。由于兰索拉唑肠溶片目前未有通过仿制药质量和疗效一致性评价的产品,可见该品种在研发中对辅料和工艺的筛选是具有挑战和技术难度的。

因目前的检验方法未能很好地分离和检出部

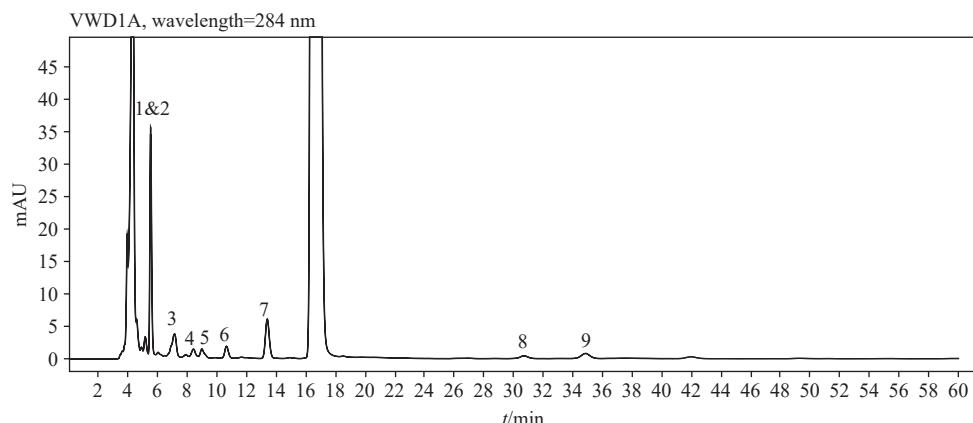


Figure 1 Chromatogram of test solution of 190301 batch by *Chinese Pharmacopeia 2015*

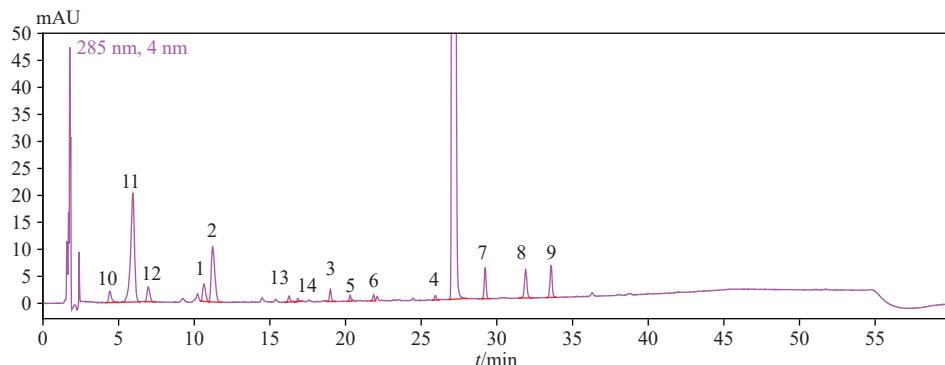


Figure 2 Chromatogram of test solution of 190301 batch by new method

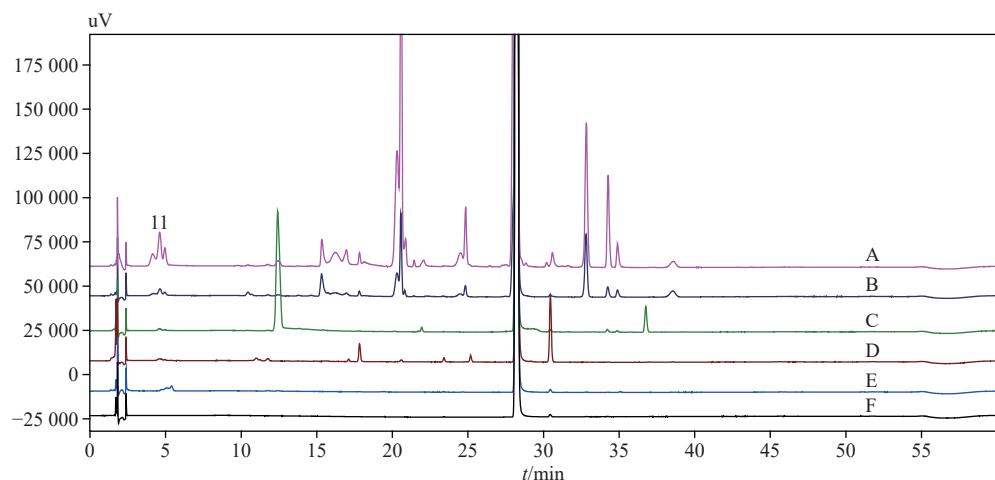


Figure 3 Chromatogram of forced degradation of lansoprazole

A: Acid degraded; B: Alkai degraded; C: Heat degraded; D: Oxidative degraded; E: UV degraded; F: Not degraded

分杂质, 后通过正交设计优化的有关物质方法证实了溶出异常批次样品主药存在酸降解的现象, 互补验证了该批次样品隔离层薄, 引起了主药降解的推测。虽然本研究发现的问题无致命安全隐患, 但也存在一定风险, 因此建议提高该品种质量标准; 同时建议经营企业在药品流通过程中严格遵守规定的储存条件; 建议生产企业对影响质量的关键因素如投料量、包衣工艺、包衣材料选择等进一步深入研究, 严把原料、生产工艺关, 特别是改进不合理的工艺参数。

产品质量是仿制药一致性评价的核心, 仿制药的质量应与原研药在成分、药效、安全性、稳定性等方面保持一致, 以确保患者使用仿制药能够获得与原研药相同的疗效和安全性。为了保证药品质量和稳定性, 仿制药的生产工艺应与原研药相似, 否则可能因为工艺差异影响药物疗效和安全。本研究采用了多种技术开展研究工作, 可以较好地推进本品仿制药质量和疗效一致性评价的进程。多中心切割 2D-LC-HRMS 技术在药物杂质谱研究中已经得到了广泛应用, 在评价仿制药质量中正发挥着重要作用。另一项关键技术——激光红外成像技术可以协助进行处方分析, 对不同来源的辅料也具有一定区分能力, 其在仿制药一致性评价中的应用将大为可观。采用多种技术从不同维度对仿制

药的产品质量、处方工艺等进行深入研究, 可以全面分析对比仿制药和原研药的质量属性, 找到影响产品质量的主要参数, 改进仿制药生产工艺。

References

- [1] Zong SY, Wang JK, Xiao Y, et al. Solubility and dissolution thermodynamic properties of lansoprazole in pure solvents[J]. *J Mol Liq*, 2017, **241**: 399-406.
- [2] Li MH, Feng Q, Li XY, et al. Research progress of clinical applications and adverse reactions of lansoprazole[J]. *Chin J Pharmacov* (中国药物警戒), 2014, **11**(12): 729-731.
- [3] Satoh H. Discovery of lansoprazole and its unique pharmacological properties independent from anti-secretory activity[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, **19**(1): 67-75.
- [4] Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia: part 2 (中华人民共和国药典: 二部) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 234-235.
- [5] Li Y, Jia HH, Huang Q, et al. Impurity spectra of lansoprazole enteric-coated preparations by high performance liquid chromatography-high resolution orbital trap mass spectrometry[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2023, **54**(5): 577-585.
- [6] DellaGreca M, Iesce MR, Previtera L, et al. Degradation of lansoprazole and omeprazole in the aquatic environment[J]. *Chemosphere*, 2006, **63**(7): 1087-1093.
- [7] Battu S, Pottabathini V. Hydrolytic degradation study of lansoprazole, identification, isolation and characterisation of base degradation product[J]. *Am J Anal Chem*, 2015(6): 145-155.