

醋酸奥曲肽原料及其制剂的杂质分析

李茜, 梅芊, 刘英*

(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

摘要 目的: 探讨醋酸奥曲肽原料及其制剂的杂质情况。**方法:** 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 A 为四甲基氢氧化铵溶液 (取 10% 四甲基氢氧化铵溶液 20 mL, 加水 880 mL, 用 10% 磷酸溶液调节 pH 至 5.4)–乙腈 (900:100), 流动相 B 为四甲基氢氧化铵溶液 (取 10% 四甲基氢氧化铵溶液 20 mL, 加水 380 mL, 用 10% 磷酸溶液调节 pH 至 5.4)–乙腈 (400:600), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 紫外检测波长为 210 nm, 分析醋酸奥曲肽原料及制剂的杂质谱, 并比较了原料间、制剂间的杂质情况。再结合影响因素试验、加速试验、配伍稳定性试验, 分析影响杂质产生的因素及杂质的变化情况, 并确证未知杂质的结构。**结果:** 醋酸奥曲肽杂质谱显示其主要杂质共 21 个, 不同企业间的原料、制剂杂质谱均有差异, 同一企业不同剂型的制剂杂质谱也有差异; 影响因素试验及加速试验表明温度、湿度、光及贮藏均可增加醋酸奥曲肽的杂质; 确定了 5 个未知杂质的结构, 分别为杂质 6 (D-Thr⁶-OCTR)、杂质 7 ([des-Thr-ol⁸]-OCTR)、杂质 9 (Des-Thr⁶-OCTR)、杂质 12 (D-Cys⁷-OCTR)、杂质 13 (Des-Lys⁵-OCTR) 及杂质 15 ([AC-D-phe¹]-OCTR)。**结论:** 醋酸奥曲肽的杂质主要来源于制剂的生产及贮藏过程, 应进一步提高制剂的生产工艺及严格控制贮藏条件, 以提高产品的质量。

关键词: 生长抑素类似物; 多肽类药物; 醋酸奥曲肽; 善得定; 杂质谱分析; 杂质控制; 杂质结构鉴定; 稳定性试验

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2017) 03-0492-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.03.18

Analysis of impurities in octreotide acetate and its injection

LI Qian, MEI Qian, LIU Ying*

(Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

Abstract Objective: To study the impurity profiles of octreotide acetate and its injection. **Methods:** The HPLC method was used to analyze the impurity profiles of octreotide acetate and its injection. A Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was adopted, the mobile phase A was tetramethylammonium hydroxide solution (20 mL of 10% tetramethylammonium hydroxide solution and 880 mL water were added, pH was adjusted to 5.4 with 10% phosphoric acid)–acetonitrile (900:100), the mobile phase B was tetramethylammonium hydroxide solution (20 mL of 10% tetramethylammonium hydroxide solution and water 380 mL were added, pH was adjusted to 5.4 with 10% phosphoric acid)–acetonitrile (400:600), and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, the UV detective wavelength

* 通信作者 Tel: (0371) 65566041; E-mail: ying_leaf@263.net

第一作者 Tel: 18625569138; E-mail: 1056376144@qq.com

was 210 nm. The impurity profiles of octreotide acetate and its injection were analyzed, the impurities in raw materials and preparations from different manufacturers were compared respectively. In addition, the source and influence factor of impurities of octreotide acetate and its injection were analyzed by stress testing, accelerating testing and compatibility testing, and the structures of impurities were determined. **Results:** The impurity profiles showed that there were 21 major impurities in octreotide acetate. The impurity profiles of raw materials from different manufacturers were different, so was the preparations from different manufacturers. The impurity profile of different formulations of the preparations from the same manufacturer were different. The temperature, humidity, light and storage could increase the impurities of octreotide acetate. The structures of five unknown impurities were identified, namely impurity 6 (D-Thr⁶-OCTR), impurity 7 ([des-Thr-ol⁸]-OCTR), impurity 9 (Des-Thr⁶-OCTR), impurity 12 (D-Cys⁷-OCTR), impurity 13 (Des-Lys⁵-OCTR) and impurity 15 ([AC-D-phe¹]-OCTR). **Conclusion:** The impurities of octreotide acetate mainly come from producing process and storage of the preparation. In order to improve the quality of the products, it is important to improve the manufacturing procedures and control the storage conditions,

Keywords: somatostatin analogs; peptide drugs; octreotide acetate; sandostatin; impurity profile analysis; impurity control; impurity structure identification; stability test

奥曲肽为生长抑素类似物^[1]。醋酸奥曲肽为 8 个氨基酸组成的环状多肽化合物(见图 1),是生长抑素类似物,主要与肿瘤细胞或其他组织细胞膜表面上所表达的生长抑素受体高亲和性、特异性的结合,抑制垂体生长激素以及胃肠胰腺系统分泌多肽类激素^[2-4]。醋酸奥曲肽不良反应主要有胃肠道反应、皮肤损害、头晕头痛及呼吸系统损害等^[5-7]。中国药典 2010 年版二部^[8]及中国药典 2015 年版二部^[9]收载原料、醋酸奥曲肽注射液及注射用醋酸奥曲肽(冻干),其余各国药典均未收载。注射用醋酸奥曲肽生产工艺为冷冻干燥。



图 1 醋酸奥曲肽结构式

Fig. 1 Structure of octreotide acetate

药品中的杂质可分为有机杂质、无机杂质及残留溶剂 3 类,通常将有机杂质的种类与含量称为杂质谱。理想的杂质谱控制应是对药品中每一个杂质,依据其生理活性制定其质控限度^[10]。但因条件的限制,许多药品中的杂质未能定性,尤其是多肽类的药物,其是由不同的氨基酸按照一定的顺序组成,合成步骤多且产生的杂质也较复杂,主要有工艺杂质如缺失肽、断列肽及插入肽等,降解杂质如氧化还原、水解及二硫键错配等产生的杂质,聚合物杂质,光学杂质等^[11-12],因此对多肽类药物的杂质谱分析及杂质控

制,是此类药物质量控制的重点。目前未见醋酸奥曲肽杂质谱方面的相关的报道,故本文采用中国药典 2010 年版第二增补本醋酸奥曲肽的有关物质测定方法,对醋酸奥曲肽原料及制剂的有关物质进行测定及杂质谱分析,并结合稳定性试验判断杂质的来源,再合成一系列单体杂质进行定位分析,推测了部分杂质的结构,为今后醋酸奥曲肽的质量控制提供参考。

1 仪器与试药

Agilent 1260 液相色谱仪,紫外检测器(Agilent 公司,用于醋酸奥曲肽有关物质测定); Thermo ODS-Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; Thermo 公司); BP211D 电子天平(Sartorius 公司); Orion Star pH 计(Thermo 公司); Millipore 去离子水发生装置(Merck Millipore 公司); MJ-I.180 霉菌培养箱(上海跃进医疗器械有限公司,用于影响因素及加速试验样品放置); AB SCIEX 5800 MALDI-TOF/TOFTM 质谱仪(AB SCIEX 公司,用于醋酸奥曲肽杂质结构分析)。

醋酸奥曲肽对照品(批号为 140730-201303)及脱苏氨醇⁸奥曲肽对照品(批号为 140795-201001)购自中国食品药品检定研究院; 3 批醋酸奥曲肽原料(上海苏豪逸明制药有限公司,批号为 1501001、1501002、1504005); 3 批醋酸奥曲肽原料(成都天台山制药有限公司,批号为 140503、141201、150101); 4 批影响因素试验用的醋酸奥曲肽注射液(北京四

环制药有限公司,批号为 20121111;北京双鹭药业股份有限公司,批号为 20150301;国药一心制药有限公司,批号为 150608;海南中和药业有限公司,批号为 20150301);2 批影响因素试验用的注射用醋酸奥曲肽(广东星昊药业有限公司,批号为 501001035;长春金赛药业有限责任公司,批号为 201506014);3 批加速试验用的醋酸奥曲肽注射液(成都天台山制药有限公司,批号为 150201;广东星昊药业有限公司,批号为 40700202;武汉人福药业有限责任公司,批号为 11015008);1 批加速试验用的注射用醋酸奥曲肽(武汉人福药业有限责任公司,批号为 21815003-2);3 批配伍稳定性试验的醋酸奥曲肽注射液(国药一心制药有限公司,批号为 150608;上海第一生化药业有限公司,批号为 1503901;海南中和药业有限公司,批号为 150301);2 批配伍稳定性试验用的注射用醋酸奥曲肽(上海第一生化药业有限公司,批号为 1411902;武汉人福药业有限责任公司,批号为 21815003-2);对照用醋酸奥曲肽注射液(诺华制药,批号为 S0369);收集到 2015 年国家评价性抽验 11 家企业的醋酸奥曲肽注射液共 70 批,6 家企业的注射用醋酸奥曲肽共 21 批。10% 四甲基氢氧化铵、磷酸均为分析纯,乙腈为色谱纯,水为纯净水。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相 A 为四甲基氢氧化铵溶液(取 10% 四甲基氢氧化铵溶液 20 mL,加水 880 mL,用 10% 磷酸溶液调节 pH 至 5.4)-乙腈(900:100),流动相 B 为四甲基氢氧化铵溶液(取 10% 四甲基氢氧化铵溶液 20 mL,加水 380 mL,用 10% 磷酸溶液调节 pH 至 5.4)-乙腈(400:600),梯度洗脱程序见表 1,流速 1.0 mL · min⁻¹,UV 检测,检测波长 210 nm,柱温 30 ℃。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 HPLC gradient program

时间 (time)/min	流动相 A (mobile phase A)/%	流动相 B (mobile phase B)/%
0	76	24
30	63	37
40	40	60
41	76	24
55	76	24

2.2 质谱条件

采用 AB SCIEX 5800 MALDI-TOF/TOFTM 质谱仪,固体激光光源,波长为 355 nm,正离子模式,反射方式检测(飞行管长 2.25 m,加速电压为 20 kV,反射电压为 23 kV),基质为 α-氰-4-羟基肉桂(CHCA)。

2.3 溶液配制

系统适用性溶液:分别精密称取醋酸奥曲肽及脱苏氨酸⁸奥曲肽的对照品适量,加水溶解并稀释成每 1 mL 中各约含醋酸奥曲肽 0.1 mg 和脱苏氨酸⁸奥曲肽 10 μg 的混合溶液,即得。

醋酸奥曲肽原料供试品溶液:精密称取原料适量,加水溶解并稀释成含奥曲肽浓度为 0.1 mg · mL⁻¹ 的溶液,即得。

醋酸奥曲肽注射液供试品溶液:取本品作为供试品溶液,或精密量取本品适量,加水稀释成含奥曲肽 0.1 mg · mL⁻¹ 的溶液,即得。

注射用醋酸奥曲肽供试品溶液:取本品 5 瓶,加水溶解并稀释成含奥曲肽 0.1 mg · mL⁻¹ 的溶液,即得。

对照溶液:分别精密量取上述供试品溶液适量,加水分别稀释成含奥曲肽浓度为 2 μg · mL⁻¹ 的溶液,即得。

2.4 影响因素试验

按照醋酸奥曲肽制剂有效期及处方组成的不同,将 4 批影响因素试验用的醋酸奥曲肽注射液,2 批影响因素试验用的注射用醋酸奥曲肽及 1 批对照用的醋酸奥曲肽注射液分别在高温 60 ℃、高湿 90% ± 5% 及强光(4 500 ± 500)lx 下放置 10 d,于第 5 天和第 10 天取样,考察制剂有关物质的变化情况。

2.5 加速试验

将 3 批加速试验用的醋酸奥曲肽注射液、1 批加速试验用的注射用醋酸奥曲肽及 1 批对照的醋酸奥曲肽注射液在温度(25 ± 2)℃、相对湿度 60% ± 10% 下放置 6 个月,分别于第 1 个月、2 个月、3 个月及 6 个月末取样,考察制剂有关物质的变化情况。

2.6 配伍稳定性试验

依据处方组成的不同,将 3 批配伍稳定性试验用的醋酸奥曲肽注射液、2 批配伍稳定性试验用的注射用醋酸奥曲肽及 1 批对照的醋酸奥曲肽注射液,按照说明书上静脉滴注的要求,分别与 10% 的葡萄糖溶液及 0.9% 的氯化钠溶液配伍,以有关物质为指标,

考察配伍后的溶液的变化情况。

3 结果

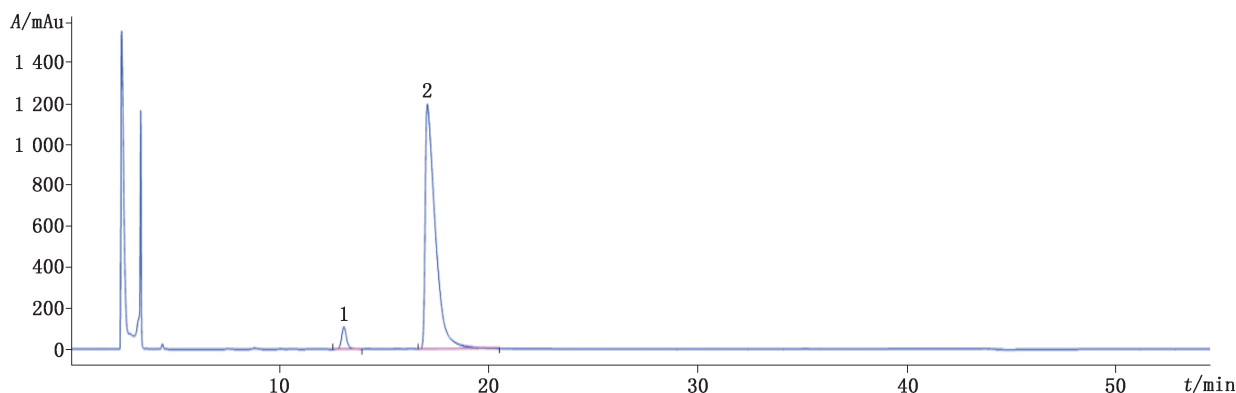
3.1 系统适用性

系统适用性溶液色谱图中各出峰顺序依次为脱苏氨醇⁸奥曲肽及奥曲肽(见图2),二者的分离度不小于1.5。

3.2 原料杂质谱

对2家企业的原料进行检测,结果显示,上海苏豪逸明制药有限公司的原料脱苏氨醇⁸奥曲肽、其余

单个最大杂质及杂质总量均小于成都天台山制药有限公司。此外,上海苏豪逸明制药有限公司的3批原料杂质总量较接近,而成都天台山制药有限公司的3批原料杂质总量差异较大。分析原因为原料的合成工艺不同导致企业间杂质不同,此外上海苏豪逸明制药有限公司3批原料生产日期接近,而成都天台山制药有限公司3批原料的生产日期差异较大,贮存时间不同也导致有关物质差异较大,说明醋酸奥曲肽原料随贮存时间的增加杂质增加,见表2。



1. 脱苏氨醇⁸奥曲肽 [(des-Thr-ol⁸) octreotide] 2. 奥曲肽 (octreotide)

图2 醋酸奥曲肽系统适用性色谱图

Fig. 2 Chromatogram of octreotide acetate system suitability

表2 醋酸奥曲肽原料的有关物质结果(%)

Tab. 2 Results of related substances for octreotide acetate raw materials

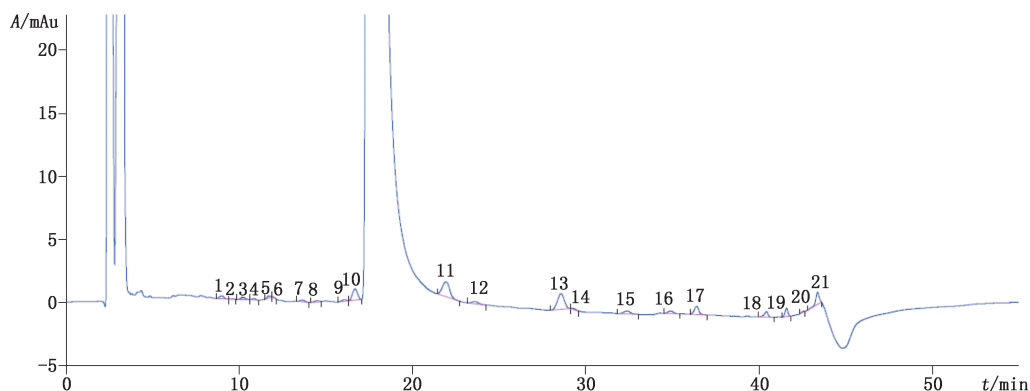
企业(company)	批号 (lot No.)	脱苏氨醇 ⁸ 奥曲肽 [(des-Thr-ol ⁸) octreotide]	其余单个最大杂质 (other largest impurity)	总杂质 (total impurity)
上海苏豪逸明(Shanghai Soho-Yiming Company)	1501001	未检出(not detected)	0.1	0.3
	1501002	0.01	0.1	0.3
	1504005	未检出(not detected)	0.1	0.3
成都天台山(Chengdu Tiantaishang Company)	140503	0.13	0.3	0.9
	141201	未检出(not detected)	0.1	0.4
	150101	未检出(not detected)	0.1	0.3

3.3 制剂杂质谱

3.3.1 制剂总杂质谱 醋酸奥曲肽制剂包括醋酸奥曲肽注射液及注射用醋酸奥曲肽,对此次国家药品抽检的91批醋酸奥曲肽制剂有关物质测定结果进行统计分析,结果见图3及图4。醋酸奥曲肽制剂主要杂质为21个(对应图3中21个杂质峰),杂质1、杂质10及杂质17(对应图3中的杂质峰序号)含量均较高,其中杂质7为脱苏氨醇⁸奥曲肽。脱苏氨醇⁸奥

曲肽含量为0.01%~0.4%,其余单杂为0.1%~0.6%,杂质总量为0.2%~1.9%。

3.3.2 注射液及注射用杂质谱 分别对70批醋酸奥曲肽注射液及21批注射用醋酸奥曲肽有关物质测定结果进行统计分析。醋酸奥曲肽注射液主要杂质为杂质1~10、杂质15及杂质17,其中杂质1、杂质10及杂质17含量较高。注射用醋酸奥曲肽杂质的个数为21个,其中杂质10含量较大。代表性色谱图见图5及图6。



1~21. 杂质编号 (number of impurities)

图 3 制剂的有关物质 HPLC 色谱图 (武汉人福药业有限责任公司, 批号 21815003-2)

Fig. 3 HPLC chromatogram of octreotide acetate (Wuhan Humanwell Pharmaceutical Company, lot: 21815003-2)

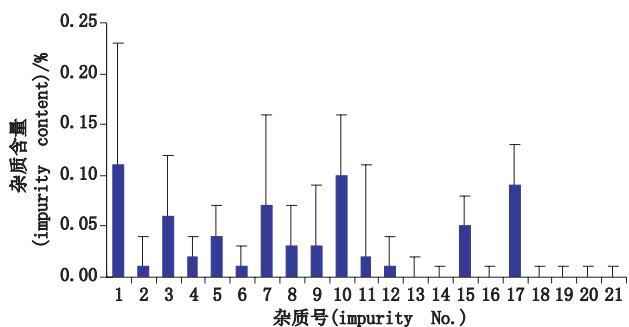
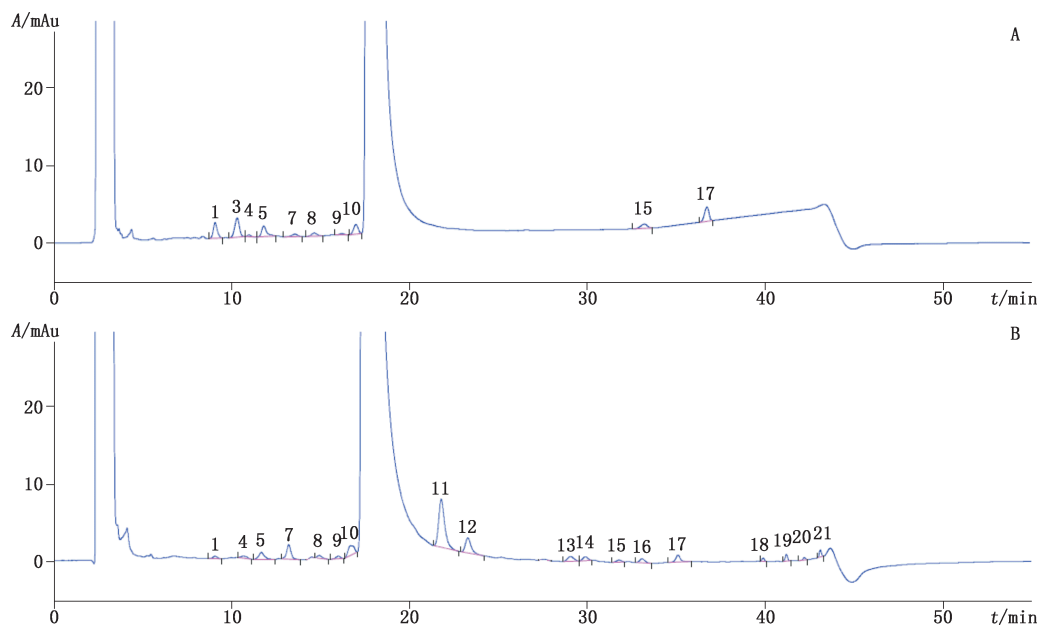


图 4 制剂的有关物质的量分布图

Fig. 4 Impurities' quantity of octreotide acetate

3.3.3 各企业制剂杂质谱 对 11 个企业的醋酸奥曲肽注射液及 6 个企业的注射用醋酸奥曲肽有关物质测定结果分别进行分析。结果,同一企业内同一剂型的制剂杂质个数及杂质的含量基本一致,表明同一企业的生产工艺稳定。

但同一企业生产的注射用醋酸奥曲肽杂质个数及杂质含量较醋酸奥曲肽注射液多,表明注射用样品的冷冻干燥生产工艺可产生更多的杂质。冷冻干燥生产工艺为预冻至 -40°C 后抽真空冻干,再升华至 $20\sim 45^{\circ}\text{C}$, 整个过程持续近 37 h, 长时间的冻干过程



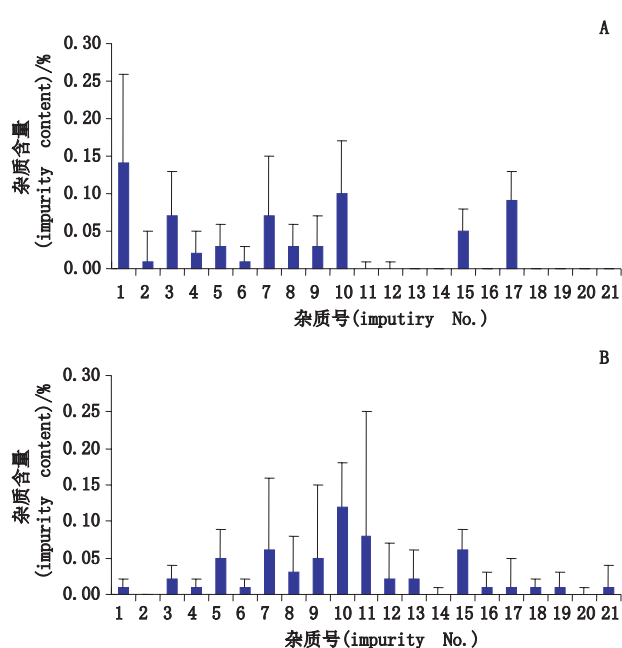
1~21. 杂质编号 (number of impurities)

A. 醋酸奥曲肽注射液 (浙江震元制药有限公司, 批号: 150501) [Octreotide acetate injection (Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Company, lot: 150501)]

B. 注射用醋酸奥曲肽 (广东星昊药业有限公司, 批号: 501001022) [Octreotide acetate for injection (Guangdong Sunho Pharmaceutical Company, lot: 501001022)]

图 5 醋酸奥曲肽注射液及注射用醋酸奥曲肽有关物质 HPLC 图谱

Fig. 5 HPLC chromatograms of octreotide acetate injection and octreotide acetate for injection



A. 醋酸奥曲肽注射液 (octreotide acetate injection) B. 注射用醋酸奥曲肽 (octreotide acetate for injection)

图6 醋酸奥曲肽注射液及注射用醋酸奥曲肽有关物质的量分布图
Fig. 6 Impurities' quantity of octreotide acetate injection and octreotide acetate for injection

表3 醋酸奥曲肽原料与对应批号制剂有关物质结果对比 (%)

Tab. 3 Comparison of impurities in octreotide acetate raw materials and the corresponding preparations

原料 (raw material)					对应批号制剂 (corresponding preparation)				
企业 (company)	批号 (lot No.)	脱苏氨醇 ⁸ 奥曲肽 [(des-Thr-ol ⁸) octreotide]	其余单个 最大杂质 (other largest impurity)	总杂 (total impurities)	企业 (company)	批号 (lot No.)	脱苏氨醇 ⁸ 奥曲肽 [(des-Thr-ol ⁸) octreotide]	其余单个 最大杂质 (other largest impurity)	总杂 (total impurities)
上海苏豪逸 明 (Shanghai Soho-yiming company)	1501001	未检出 (not detected)	0.06	0.3	国药一心	150317	0.03	0.1	0.3
					(Sinopharm	150401	0.02	0.1	0.3
					A-THINK	150402	0.02	0.1	0.4
					Company)	150403	0.02	0.1	0.3
						150404	0.02	0.1	0.4
						150407	0.02	0.2	0.4
						150409	0.02	0.1	0.4
						150601	0.01	0.1	0.4
						150602	0.01	0.1	0.3
成都天台 山 (Chengdu Tiantaishang Company)	1501002	0.01	0.05	0.3		150609	0.04	0.2	0.6
						150608	0.05	0.1	0.5
						150701	0.01	0.1	0.4
						150703	0.02	0.1	0.4
	1504005	未检出 (not detected)	0.03	0.3	成都天台	150604	0.10	0.4	1.3
					山 (Chengdu	150603	0.10	0.5	1.2
					Tiantaishang	150104	0.20	0.3	1.2
					Company)				

及升华后的高温可能会影响样品的稳定性,进而导致制剂有关物质的增加。此外,该工艺可使醋酸挥发,醋酸盐为肽类物质最稳定的一种成盐方式,醋酸挥发使成盐形式发生改变进而影响其稳定性,进一步导致注射用剂型有关物质增加。

3.4 制剂生产工艺对杂质的影响

分析2家企业的原料和对应批号制剂的有关物质,结果制剂的杂质个数及杂质含量均高于原料,表明醋酸奥曲肽制剂的生产工艺可导致杂质增加。但不同企业制剂杂质增加量不同,表明不同企业的生产工艺不同产生的杂质质量不同,见表3。分析原因为,醋酸奥曲肽对温度比较敏感,标准规定在冷处保存,而制剂的生产过程为常温,温度的升高可导致有关物质增加。

3.5 贮藏过程对杂质的影响

对调研获得的同一企业2010年生产及2015年生产的醋酸奥曲肽注射液进行有关物质分析。结果2010年生产的制剂其脱苏氨醇⁸奥曲肽、其余单个最大杂质及杂质总量结果均高于2015年生产的制剂,表明贮藏过程可导致醋酸奥曲肽注射液的杂质增加,见表4。

表 4 2010 年生产与 2015 年生产的醋酸奥曲肽注射液有关物质结果比较

Tab. 4 The comparison of impurities in 2010 and 2015 production of octreotide acetate injection

生产时间 (producing time)	批号 (lot No.)	规格 (specification)/ (mg · mL ⁻¹)	有关物质 (related substance) /%		
			脱苏氨醇 ⁸ 奥曲肽 [(des-Thr-ol ⁸) octreotide]	其余单个最大杂质 (other largest impurity)	总杂 (total impurities)
2010 年 (year 2010)	100901	0.1	0.4	0.2	1.0
	100902	0.1	0.4	0.1	0.9
	100905	0.1	0.4	0.1	0.8
	100906	0.1	0.4	0.1	0.8
	100903	0.3	0.4	0.1	0.7
	100904	0.3	0.4	0.1	0.7
2015 年 (year 2015)	150901	0.1	0.02	0.04	0.2
	150901	0.3	0.02	0.04	0.1

此外,对 91 批醋酸奥曲肽制剂的杂质总量与剩余效期进行 Pearson 统计学分析,结果醋酸奥曲肽注射剂的杂质总量与剩余效期呈负相关($P < 0.05$),剩余效期越短其杂质总量越高。进一步表明贮藏过程可导致醋酸奥曲肽注射液的杂质增加。

3.6 影响因素试验

3.6.1 高温试验 有关物质方面,各企业制剂的杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽均增加明显,杂质总量均增加,见图 7。对其杂质谱分析发现,4 批醋酸奥曲肽注射液及对照的醋酸奥曲肽注射液杂质总量的增加主要源于杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽的增加,而 2 批注射用醋酸奥曲肽除脱苏氨醇⁸ 奥曲肽杂质增加外,杂质 8、杂质 9、杂质 11、杂质 16 均增加,其中广东星昊药业有限公司的注射用醋酸奥曲肽产生了许多新杂质。

含量方面,各企业制剂的含量均降低,但 4 批醋酸奥曲肽注射液及对照的醋酸奥曲肽注射液含量变化均在 90.0%~110% 的含量限度范围内,而 2 批注射用醋酸奥曲肽含量降低显著且第 10 天含量均低于 90.0%,其中广东星昊药业有限公司的注射用醋酸奥曲肽含量由 103.4% 降到 48.6%。

3.6.2 高湿试验 2 批注射用醋酸奥曲肽的杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽杂质及杂质总量均增加,见图 7。对其杂质谱分析发现,长春金赛药业有限责任公司的注射用醋酸奥曲肽杂质 12 增加明显,其他杂质在实验误差范围内基本无变化;而广东星昊药业有限公司的注射用醋酸奥曲肽杂质 7、杂质 11 及杂质 12 均增加明显。各企业制剂的含量均降低,且变化均在

90.0%~110% 限度范围内。

3.6.3 强光照射试验 4 批醋酸奥曲肽注射液、2 批注射用醋酸奥曲肽及对照的醋酸奥曲肽注射液的杂质总量均增加,但杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽均基本无变化。对强光照射试验样品的杂质谱分析发现,各企业制剂的杂质 1、杂质 3、杂质 4、杂质 8 及杂质 9 均有明显增加,其中杂质 1 增加最显著,见图 7。各企业制剂的含量均降低,除北京四环制药有限公司的醋酸奥曲肽注射液第 10 天含量为 87.4% 外,其余企业的制剂含量变化均在 90.0%~110% 限度范围内。

综上所述,醋酸奥曲肽制剂及对照的醋酸奥曲肽注射液均对高温及强光不稳定。杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽、杂质 11 均为高温及高湿降解产物;杂质 8 及杂质 9 均为高温及光降解产物;杂质 16 为高温降解产物,杂质 12 为高湿降解产物,杂质 1、杂质 3 及杂质 4 均为光降解产物。醋酸奥曲肽注射液与对照的醋酸奥曲肽注射液影响因素试验杂质谱变化行为基本一致。

3.7 加速试验

有关物质方面,各企业制剂随放置时间的增加杂质 7 脱苏氨醇⁸ 奥曲肽及杂质总量均增加;对其杂质谱分析发现,3 批醋酸奥曲肽注射液及对照醋酸奥曲肽注射液杂质 7 增加均较明显,而注射用醋酸奥曲肽除杂质 7 增加外,杂质 12 及杂质 16 增加也较多。含量方面,各企业制剂随放置时间增加含量均降低,其中注射用醋酸奥曲肽含量变化较大,在第 6 个月时含量为 82.2%,降幅约为 9%。

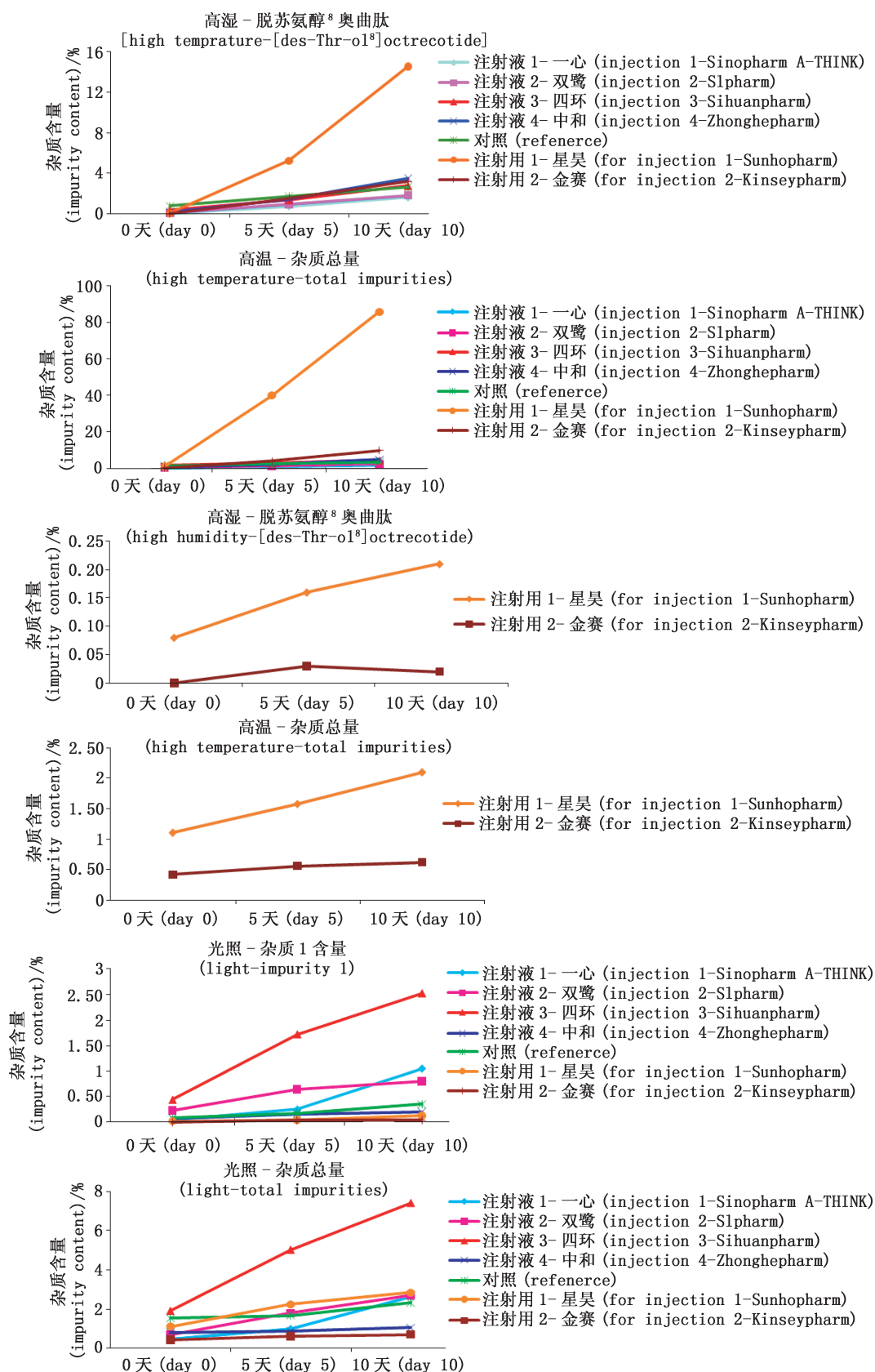


图7 影响因素试验有关物质变化趋势

Fig. 7 The results of related substances in stress testing

3.8 配伍稳定性试验

与 10% 的葡萄糖溶液及 0.9% 的氯化钠溶液配伍的制剂,在 12 h 内脱苏氨酸⁸奥曲肽杂质、其余单个最大杂质、杂质总量及含量均基本无变化。但与 10% 葡萄糖溶液配伍的制剂的杂质总量较与 0.9% 的氯化钠溶液配伍的高,含量较与 0.9% 的氯化钠溶液配伍的低。分析原因为与葡萄糖配伍的制剂杂质 1、杂质 2 及杂质 11 较高,而与氯化钠配伍的制剂杂质 11 较低甚至未检出。杂质 1、杂质 2 及杂质 11 均为降解杂质,在氧化破坏试验中可产生,而葡萄糖具有氧化性,与葡萄糖配伍可增加这些杂质的产生。

3.9 杂质的结构确证

通过对醋酸奥曲肽的合成路线^[13-15]、降解途径及杂质谱分析,合成了 13 个醋酸奥曲肽杂质,并对这些杂质进行 MALDI-TOF-TOF 氨基酸序列测定及结构解析,得到杂质的结构。采用醋酸奥曲肽有关物质测定方法,结合醋酸奥曲肽杂质谱的杂质出峰顺序,并将这些杂质加入到样品中,对这些杂质进行定位,结果确证了 6 个杂质,其中杂质 7 是脱苏氨酸⁸奥曲肽,为主要的降解杂质,见表 5。结合原料及制剂杂质谱、影响因素试验及加速试验结果,推测杂质的产生因素,结果杂质 15 为原料带入,其余均为降解产生。

表 5 醋酸奥曲肽杂质的结构式

Tab. 5 Structure of octreotide acetate impurities

名称 (name)	氨基酸序列 (amino acid sequence)	杂质来源 (impurity source)
杂质 6 (impurity 6) (D-Thr ⁶ -OCTR)	D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Thr-Cys-Thr-ol 	光照降解产生 (degradation by light)
杂质 7 (impurity 7) ([des-Thr-ol ⁸]-OCTR)	D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys 	高温高湿降解产生 (degradation by high temperature and humidity) 主要降解杂质 (main impurity)
杂质 9 (impurity 9) (Des-Thr ⁶ -OCTR)	D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Cys-Thr-ol 	高温及光照降解产生 (degradation by high temperature and light)
杂质 12 (impurity 12) (D-Cys ⁷ -OCTR)	D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-D-Cys-Thr-ol 	高湿降解产生 (degradation by high humidity)
杂质 13 (impurity 13) (Des-Lys ⁵ -OCTR)	D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Thr-Cys-Thr-ol 	降解产生 (degradation)
杂质 15 (impurity 15) ([AC-D-phe ¹]-OCTR)	AC-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol 	原料带入 (raw material into)

降解杂质的来源可推测为:奥曲肽经强光照射,结构中的苏氨酸(Thr)构象发生改变,变为 D-Thr,形成了杂质 6(D-Thr⁶-OCTR);奥曲肽在高温高湿条件下发生水解反应,脱掉苏氨酸形成了杂质 7([des-Thr-ol⁸]-OCTR);奥曲肽在高温及光照下发生肽键断裂,脱掉 Thr,然后赖氨酸(Lys)的羧基与半胱氨酸(Cys)的氨基脱水缩合形成酰胺键结合,成为了杂质 9(Des-Thr⁶-OCTR);奥曲肽中的 Cys 构象发生改变,变为 D-Cys,形成杂质 12(D-Cys⁷-OCTR);奥曲肽发生肽键断裂,脱掉 Lys,然后色氨酸(Trp)的羧基与 Thr 的氨基脱水缩合形成酰胺键结合,且苏氨酸变为 D-Thr,形成了杂质 13(Des-Lys⁵-OCTR)。

4 讨论

醋酸奥曲肽原料的合成工艺较稳定,制剂的杂质主要来源于制剂的生产及贮藏过程。

同一企业相同剂型不同批次的制剂杂质谱基本一致,相同剂型不同企业间的制剂杂质谱有差异,差异主要来源于企业间制剂生产工艺的差异。同一企业生产的注射用醋酸奥曲肽有关物质较醋酸奥曲肽注射液高,原因为注射用剂型的冷冻干燥生产工艺导致。冷冻干燥生产工艺是个非常复杂的物理变化过程,在冷冻干燥过程中,电解质浓度的改变、溶液 pH 的变化及温度的变化都会对多肽类药物的结构产生影响^[16],影响其稳定性,进而影响其有关物质。

醋酸奥曲肽制剂及对照的醋酸奥曲肽注射液均对高温、高湿及强光不稳定,在加速试验下也均不稳定。醋酸奥曲肽制剂与10%的葡萄糖溶液及0.9%的氯化钠溶液配伍稳定性均良好。

因此进一步提高制剂的生产工艺及严格控制贮藏条件,有利于减少其有关物质的产生,提高产品质量。通过对醋酸奥曲肽及其制剂杂质谱的研究,分析了影响其杂质产生的因素,可以有目的控制一些杂质,为今后的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] BAUER W, BRINER U, DOEPFNER W, *et al.* SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolongaet ion [J]. *Life Sci*, 1982, 31(11): 1133
- [2] 杨宁, 许红波, 李兆申, 等. 生长抑素类似物奥曲肽的临床应用[J]. *新药与临床*, 1994, 13(1): 31
- YANG N, XU HB, LI ZS, *et al.* Clinical application of somatostatin analogues octreotide [J]. *New Drug Clin Rem*, 1994, 13(1): 31
- [3] 刘志峰, 李萍, 刘珂. 奥曲肽的研究和应用进展[J]. *青岛大学医学院学报*, 2001, 37(2): 165
- LIU ZF, LI P, LIU K. Study and application progress of octreotide [J]. *J Qingdao Med Univ*, 2001, 37(2): 165
- [4] 朱校勇, 裴的善. 奥曲肽的临床应用[J]. *天津药学*, 2007, 19(3): 59
- ZHU XY, PEI DS. Clinical application of octreotide [J]. *Tianjin Pharm*, 2007, 19(3): 59
- [5] 王勇, 彭承宏. 奥曲肽经动脉给药安全性初步临床研究[J]. *药物不良反应杂志*, 2002(1): 9
- WANG Y, PENG CH. Clinical investigation of safety of octreotide infused through artery [J]. *Adv Drug React J*, 2002(1): 9
- [6] 陈丽芳, 黄淑萍. 53例奥曲肽不良反应文献分析[J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(18): 1626
- CHEN LF, HUANG SP. The analysis of 53 adverse reactions of octreotide [J]. *Chin Hosp Pharm J*, 2008, 28(18): 1626
- [7] 付蕾, 李光学. 奥曲肽所致不良反应的一般规律及特点回顾性分析[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(35): 273
- FU Q, LI GX. The general rules and features review of octreotide adverse reactions [J]. *Guide Chin Med*, 2012, 10(35): 273
- [8] 中国药典 2010 年版. 二部[S]. 2010: 378
- ChP 2010. Vol II [S]. 2010: 378
- [9] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 1545
- ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 1545
- [10] 胡昌勤. 化学药品杂质谱控制的现状与展望[J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(15): 1727
- HU CQ. Current situation and the trend in impurity profiling of chemical drugs [J]. *Chin J New Drugs*, 2015, 24(15): 1727
- [11] 方宏清. 多肽类药物制剂研究现状[J]. *药学进展*, 1998, 22(1): 16
- FANG HQ. The research status of peptide drugs preparation [J]. *Prog Pharm Sci*, 2015, 24(15): 1727
- [12] 田文静, 任雪, 廖海明, 等. 多肽类药物质量控制研究进展[J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(7): 1115
- TIAN WJ, REN X, LIAO HM, *et al.* Research progress of the quality control of peptide drugs [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(7): 1115
- [13] 刘作家, 贾志丹, 梁涌涛, 等. 醋酸奥曲肽的固相合成[J]. *中国药物化学杂志*, 2004, 14(1): 33
- LIU ZJ, JIA ZD, LIANG YT, *et al.* Solid-phase synthesis of octreotide acetate [J]. *Chin J Med Chem*, 2004, 14(1): 33
- [14] 徐仲, 李宁, 刘卓. 奥曲肽固相合成及环化的研究[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, 40(2): 292
- XU Z, LI N, LIU Z. Solid-phase peptide synthesis and disulphides formation of octreotide [J]. *J Harbin Inst Tech*, 2008, 40(2): 292
- [15] 王卫国, 杨明, 李佩华, 等. 大规模制备奥曲肽[J]. *精细化工*, 2007, 24(10): 1033
- WANG WG, YANG M, LI PH, *et al.* Large scale synthesis of octreotide [J]. *Fine Chem*, 2007, 24(10): 1033
- [16] 左均, 张玉方. 多肽类药物冷冻干燥制剂的稳定性研究概况[J]. *中国药房*, 2009, 20(16): 1629
- ZUO J, ZHANG YF. The stability overview of peptide drugs of freeze dried preparation [J]. *China Pharm*, 2009, 20(16): 1629

(本文于2016年3月19日收到)