

硫酸氨基葡萄糖固体口服制剂质量、企业执行标准评价及质控方法探索性研究

王悦^{1,2}, 李俏吟^{1,2}, 宋玉娟^{1,2}, 程舒倩^{1,2}, 韩苗苗^{1,2}, 范慧红^{1,2*}

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629

2. 国家药品监督管理局 化学药品质量研究与评价重点实验室, 北京 102629

摘要: 目的 评价国内目前市售的硫酸氨基葡萄糖固体口服制剂的质量, 考察现行标准中存在的问题, 为生产和质量控制提供参考。方法 对硫酸氨基葡萄糖固体口服制剂进行国家药品抽检 (共73批, 涉及8家生产企业), 采用现行各企业执行的注册标准 (共9个标准) 对抽检样品进行法定检验。同时对产品进行探索性研究, 表观溶解度参照《美国药典》(USP) 1236通则; 含量测定方法参照 USP43 硫酸氨基葡萄糖氯化钠项下相关方法; 有关物质方法参照原研企业标准; 囊壳铬含量测定方法按照《中国药典》2020年版明胶空心胶囊项下相关方法; 建立近红外光谱一致性检验模型。结果 73批次硫酸氨基葡萄糖制剂合格率97.3%, 2批样品有关物质检查项目不合格。各家质量标准存在一定差异, 个别企业质量标准不完善, 有待提高, 质量标准中部分重要项目检测方法待改进。此外, 个别企业应考虑制剂配方工艺的合理性、包装材料的密封性和防潮措施等。探索性研究结果显示, 目前各企业执行标准中均没有原料药溶解性检验, 建议企业关注晶型等可能影响溶解度的因素; 法定检验采用C₁₈色谱柱的结果较探索性结果整体偏高, 采用氯离子作为主成分峰进行含量控制方法不专属, 紫外可见分光光度法操作复杂、结果偏差较大, 建议改为更为简便和专属的HPLC法; 原料药为非复盐的受试批次制剂的杂质检出种类、已知杂质果糖胺和脱氧果糖胺含量、其他已知杂质类别和总杂含量高于其他受试企业样品, 推断因为其易吸湿; 泡腾片中果糖胺含量较高, 未知杂质数量多于其他剂型, 推测原因为辅料较多; 与胶囊剂相比, 片剂含有的杂质更多, 提示片剂生产过程中制粒、整粒等温度较高的步骤会对产品质量产生一定影响; 可按生产厂家建立近红外光谱一致性模型或相关系数模型, 补充本品的快速筛查方法。结论 各企业质量标准尚存在一定差异, 个别企业质量标准不完善, 有待提高, 质量标准中部分重要项目的检测方法有待改进。应建立统一的国家标准, 建立专属性强、准确度高的检测方法。

关键词: 硫酸氨基葡萄糖; 国家药品抽检; 探索性研究; 有关物质; 现行标准

中图分类号: R926 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 11-2346-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.008

Quality, enterprise implementation standards and quality control methods evaluation of glucosamine sulfate solid oral preparation

WANG Yue^{1,2}, LI Qiaoyin^{1,2}, SONG Yujuan^{1,2}, CHENG Shuqian^{1,2}, HAN Miaomiao^{1,2}, FAN Huihong^{1,2}

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

2. NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Chemical Drugs, Beijing 102629, China

Abstract: Objective To evaluate the quality of glucosamine sulfate solid oral preparations in China, and investigate the existing problems in the current standards, so as to provide reference for its production and quality control. **Method** The medicine post market quality surveillance of glucosamine sulfate solid oral preparations was conducted (73 batches in total, involving eight production enterprises). Use the current registration standards implemented by various enterprises (a total of nine standards) to conduct statutory inspections on sampled samples. At the same time, exploratory research was conducted on the product, with the apparent solubility referring to general rule 1236 of the United States Pharmacopoeia (USP). The content determination method shall

收稿日期: 2023-05-23

基金项目: 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋药物与生物制品功能实验室开放性课题(LMDBKF201806); 中国食品药品检定研究院学科带头人培养基金(2021X6); 化学药品质量研究与评价重点实验室学科建设课题(2023HYZX04)

共同第一作者: 王悦, 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为糖类、酶类等生化药品质量控制。Tel: (010) 53851530

E-mail: wangyue07@nifdc.org.cn

李俏吟, 女, 硕士研究生, 研究方向为糖类药物质量控制。E-mail: qiaoyinli1227@163.com

*通信作者: 范慧红, 女, 博士, 研究员, 研究方向为生化药品质量控制。Tel: (010) 53851585 E-mail: shenghuayaoshi@126.com

refer to the relevant methods under USP43 glucosamine sulfate sodium chloride. Related substance methods referred to the standards of the original research enterprise for relevant material methods. The determination method for chromium content in the capsule shell shall be in accordance with the relevant methods under the gelatin hollow capsules section of the 2020 edition of the Chinese Pharmacopoeia. Establish a consistency testing model for near-infrared spectroscopy. **Result** The qualification rate of 73 batches of sulfated glucosamine preparations was 97.3%, and the relevant substance inspection items of two batches of samples are unqualified. There are certain differences in quality standards among different companies, and some companies have incomplete quality standards that need to be improved. The testing methods for some important items in the quality standards need to be improved. In addition, individual enterprises should consider the rationality of the formulation process, the sealing of packaging materials, and moisture-proof measures. The exploratory research results show that there was currently no testing for the solubility of raw materials in the execution standards of various enterprises. It is recommended that enterprises pay attention to factors such as crystal form that may affect solubility. The results of using C₈ chromatographic column for statutory testing were generally higher than exploratory results. The method of using chloride ions as the main component peak for content control was not exclusive, and the operation of UV visible spectrophotometry was complex with significant deviation in results. It is recommended to change to a more convenient and exclusive HPLC method. The impurity detection types, levels of known impurity fructose and deoxyfructose, other known impurity categories, and total impurity content of the test batch preparation with non double salt raw materials are higher than those of other test enterprise samples. It is inferred that the reason is that it is easy to absorb moisture. The content of fructosezine in effervescent tablets is relatively high, and the number of unknown impurities is higher than that of other dosage forms. It is speculated that the reason is due to a large number of excipients. Compared to capsule formulations, tablets contain more impurities, indicating that higher temperature steps such as granulation and granulation during the tablet production process can have a certain impact on product quality. A near-infrared spectral consistency model or correlation coefficient model can be established according to the manufacturer to supplement the rapid screening method for this product. **Conclusion** There were still some differences in the quality standards of various enterprises. The quality standards of individual enterprises and the detection methods of some important items in the quality standards need to be improved. A unified national standard, including specific and accurate detection methods, should be established.

Key words: glucosamine sulfate; medicine post market quality surveillance; exploratory research; related substance; current standards

氨基葡萄糖是由长链糖胺聚糖如甲壳素等水解并精制获得的天然氨基单糖,适用于原发性及继发性骨关节炎,在美国和欧洲分别被列为食品补充剂和处方药,在我国则同时作为药品和保健食品使用。氨基葡萄糖不稳定,为增加其稳定性,常与硫酸、盐酸等结合形成硫酸氨基葡萄糖(GS)或盐酸氨基葡萄糖(GC)。由于硫酸氨基葡萄糖具有强吸湿性,稳定性较差,故一般使其与氯化钠或氯化钾共沉淀制成更为稳定的氯化钠或氯化钾复盐^[1]。

硫酸氨基葡萄糖氯化钠的原研企业为爱尔兰罗达药厂(ROTTA PHARM S.P.A),其胶囊剂商品名为维固力。罗达药厂于1964年获得了含有氨基葡萄糖盐类用于治疗风湿病、关节炎和非炎性关节病的新药专利(专利号FR2573);于1987年获得了关于硫酸氨基葡萄糖的制备专利(专利号4642340),其研制的硫酸氨基葡萄糖制剂产品于1996年7月31日在西班牙首次获批上市。维固力引进我国市场后,国内多家企业对其进行了研究和仿制。经检索国家药品监督管理局数据库,目前硫

酸氨基葡萄糖进口药均为氯化钠复盐,制剂包括胶囊、散剂2个剂型,共有3家生产企业;国内原料药共有3个药品批准文号,硫酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖钾、硫酸氨基葡萄糖氯化钠复盐各1个批准文号;国内制剂共8个批准文号,片剂3个、胶囊剂4个、颗粒剂1个。

中国食品药品检定研究院对73批硫酸氨基葡萄糖片剂和胶囊剂采用各企业标准进行检验,并针对有关物质、含量测定等进行探索性研究,与原研药(维固力)进行对比。

1 材料

1.1 主要仪器

美国 Waters e2695 高效液相色谱仪,包括:2489 紫外检测器、2414 示差折光检测器、Empower3 色谱工作站;Matrix-F 近红外光谱仪,德国 Bruker 公司;UltiMate 3000 高效液相色谱仪、Q Exactive 型质谱仪,美国 Thermo 公司;UV-2700 紫外分光光度计,日本岛津公司。

1.2 对照品

盐酸氨基葡萄糖国家对照品(批号 140649-

202007,质量分数99.9%)、硫酸氨基葡萄糖国家对照品(批号140846-201901,质量分数99.9%)、2-甲基吡嗪国家对照品(批号140849-201901,质量分数99.5%)、果糖嗪国家对照品(批号140853-202101,质量分数92.6%)、2,5-脱氧果糖嗪国家对照品(批号140859-202101,质量分数96.9%)、5-羟甲基糠醛国家对照品(批号11626-202013,质量分数99.5%),均来自中国食品药品检定研究院;吡嗪(批号SHBL4420,质量分数99%)、糠醛(批号MKCK2756,质量分数99%)、吡咯-2-甲醛(批号WXBC8204V,质量分数约98%)、5-甲基糠醛(批号BCCC1215,分析纯),均来自美国Sigma-Aldrich;糠醇(批号20180629,分析纯),来自上海沪试分析仪器有限公司。

1.3 主要试剂

乙腈(批号212519,色谱级,美国Thermo公司);甲醇(批号20210504,质谱级)、对二甲氨基苯甲醛(批号20210125,分析纯),沃凯试剂;3-巯基丙酸(批号G2030109,质量分数98%)、乙酰丙酮(批号C1823001,质量分数≥99.5%),阿拉丁试剂(上海)有限公司;邻苯二甲醛(化学纯,批号20201028)、三水合乙酸钠(批号20160106,分析纯)、磷酸二氢钾(批号20160929,分析纯),上海沪试实验室器材股份有限公司;庚烷磺酸钠(批号LC40V111,质量分数99.5%),北京百灵威科技有限公司;水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.4 检验样品

本次共完成检验73批次,编号为1~73,其中硫酸氨基葡萄糖胶囊(氯化钠复盐和非复盐)涉及批准文号8个,生产厂家5家,文号覆盖率80%,企业覆盖率100%;硫酸氨基葡萄糖钾/氯化钾胶囊涉及批准文号1个,生产厂家1家,企业和文号覆盖率均为50%;硫酸氨基葡萄糖普通片剂(钠型)涉及批准文号1个,生产厂家1家,企业和文号覆盖率均为100%;普通片剂(钾型)涉及批准文号1个,生产厂家1家,企业和文号覆盖率均为100%;泡腾片涉及批准文号1个,生产厂家1家,企业和文号覆盖率均为100%。生产厂家共8家,编号为1~8,涉及到的企业名称见后文致谢项下。胶囊及片剂的规格均为0.25 g(以硫酸氨基葡萄糖计)。

2 方法

2.1 法定检验方法

按各企业执行的注册标准检验,共9个标准。

2.2 探索性研究方法

表观溶解度参照《美国药典》(USP)1236通则;

含量测定方法参照USP43硫酸氨基葡萄糖氯化钠项下相关方法;有关物质方法参照原研企业标准;囊壳铬含量测定方法按照《中国药典》2020年版明胶空心胶囊项下相关方法。

3 结果

3.1 法定检验结果及分析

依据法定标准检验,73批次硫酸氨基葡萄糖制剂合格率97.3%,2批样品有关物质检查项目不合格。各企业质量标准存在一定差异,个别企业质量标准不完善,有待提高,质量标准中部分重要项目检测方法待改进。此外,个别企业应考虑制剂配工艺的合理性、包装材料的密封性和防潮措施等。

3.1.1 性状 各企业片剂样品为白色、类白色片,胶囊剂内容物为白色粉末,符合规定。非复盐工艺的硫酸氨基葡萄糖胶囊极易吸潮,撕开塑料包装袋而铝塑泡罩完好的情况下,室温放置2周,胶囊内容物已吸湿结块,颜色由白色变为深黄色或黑褐色,建议企业开展使用期研究。

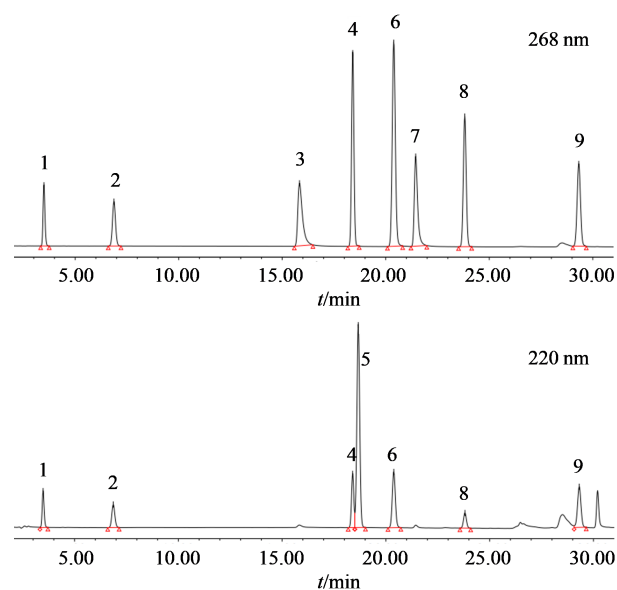
3.1.2 鉴别 法定检验结果73批样品的鉴别试验结果均合格。硫酸氨基葡萄糖法定检验的鉴别项目主要包括以下几种:菲林还原糖鉴别反应、氯离子鉴别、硫酸盐鉴别和钠盐(钾盐)鉴别等,个别企业还设置了高效液相色谱法(HPLC)鉴别和针对氨基糖的Elson-Morgan反应最大吸收波长鉴别等。

在检验过程中发现,Elson-Morgan反应的最大吸收波长的标准规定上存在一定问题,硫酸氨基葡萄糖片、硫酸氨基葡萄糖钾片均设置了该项,且最大吸收波长规定为530 nm,但同为氨基糖的硫酸软骨素国家标准中,该项目的最大吸收波长规定为525 nm,二者偏差5 nm,超过了药典规定±2 nm的范围。在实际操作过程中发现,最大吸收波长与水浴温度、时间、环境温湿度、实验人员操作均有关系,在查阅文献后发现^[2],有研究表明,Elson-Morgan反应生成了不止一个生色团,因此最大吸收波长与生成的各个产物成分比例有关。

3.1.3 硫酸根和氯离子 本次抽验涉及的8家厂家中仅有3家规定了硫酸根含量,2家规定了氯离子含量,所测样品均符合规定。

3.1.4 有关物质 目前硫酸氨基葡萄糖国内外质量标准中,有关物质的标准规定差异较大,其中USP未规定有关物质检查,《欧洲药典》(EP)采用HPLC法进行检查,本次抽到样品的8家生产厂家中,2个厂家标准中未控制有关物质项,其余6家企业的测定方法和限度也有较大区别,个别企业方法

专属性和合理性存在问题。其中原研企业的测定方法控制的已知杂质最多(图1);2家与EP方法相同,控制了果糖嗪、脱氧果糖嗪、5-羟甲基糠醛3种已知杂质;1家采用自身对照法,但将氯离子峰作为主峰进行计算,氯离子峰与有关物质的响应因子差异较大,实际上放宽了有关物质限度;硫酸氨基葡萄糖钾制剂均采用薄层色谱法测定有关物质,薄层色谱法专属性差,无法对杂质进行定性鉴别,方法灵敏度低。



1-果糖嗪;2-脱氧果糖嗪;3-吡嗪;4-5-羟甲基糠醛;5-糠醇;6-2-甲基吡嗪;7-糠醛;8-吡咯-2-甲醛;9-5-甲基糠醛
1-fructozine;2-deoxyfructozine;3-pyrazine;4-5-hydroxymethylfurfural;5-Furfuryl alcohol;6-2-methylpyrazine;7-furfural;8-pyrrolio-2-formaldehyde;9-5-methylfurfural

图1 原研企业杂质对照品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of related substance reference of innovator enterprise

设置有关物质项的6家企业的65批受试样品中,2批硫酸氨基葡萄糖胶囊不合格,均为同一家生产,不合格原因为其他单个未知杂质超标,结果分别为0.9%和1.0%(限度为 $\leq 0.5\%$)。对该未知杂质进行分析,结果显示,在示差折光检测器中,该杂质与氯离子对照品有相同出峰位置,为氯离子残留。从企业生产工艺来看,氯离子为工艺杂质,然而由于企业标准不完善,未对氯离子杂质进行单独规定或说明,导致法定检验不合格。

3.1.5 溶出度 硫酸氨基葡萄糖为高溶解性、高渗透性物质,在生物药剂学分类系统(BCS)里应归类为BCS I类药物。对比各生产企业溶出度检查项,国内2家生产企业未在质量标准中设置溶出度检查

项,设置该项目的6家企业采用水或盐酸为溶出介质,采用比色法或HPLC法进行检测。其中2家企业溶出度检查采用柱前衍生化处理方法进行测定,HPLC分析时间可控制在8 min以内,检测效率较高。但2个企业对于2个异构体的命名不同,USP43“氨基糖和硫酸软骨素钠片”项下与其中1家企业命名方式一致,均认为先出峰的组分为 β 构型氨基葡萄糖衍生物,后出峰的组分为 α 构型衍生物^[3],而另一家企业相反。

3.1.6 崩解时间、片质量、装量差异、微生物限度 受试的73批次样品,片质量、装量差异、不溶性微粒均符合标准规定;硫酸氨基葡萄糖钾片、硫酸氨基葡萄糖钾胶囊、硫酸氨基葡萄糖泡腾片崩解时间均符合规定,但建议未设置溶出度检查项的企业补充该项目。

3.1.7 质量分数测定 受试73批样品法定检验含量测定结果均符合标准规定。对比国内外标准中硫酸氨基葡萄糖及制剂的含量测定方法,EP10.0采用电位滴定法测定原料药含量;部分标准采用紫外可见分光光度法进行含量测定;USP43、部分标准采用HPLC法进行测定。其中紫外可见分光光度法专属性较差^[4](图2)。HPLC法中,部分方法(以氯离子峰作为主峰的HPLC法)存在分离度、专属性的问题^[5](图3)。

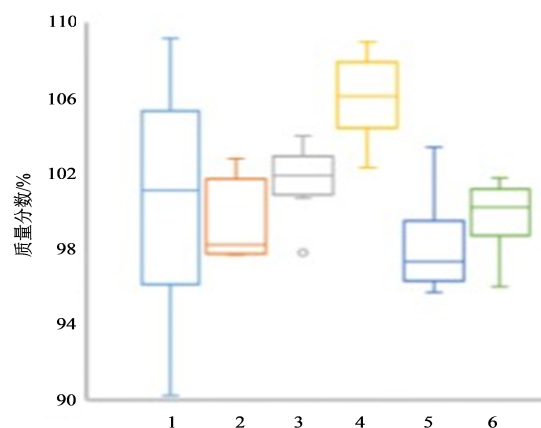
3.2 探索性研究结果及分析

3.2.1 原料药溶解性考察 目前各企业执行标准中均没有原料药溶解性检验。硫酸氨基葡萄糖剂型为固体口服制剂,原料药的溶解性直接关系到制剂的溶出行为和生物利用度,原料药的结晶度、晶型都会直接影响到原料药的溶解性和稳定性,因此本研究对征集到的7家企业原料药的溶解度进行了考察。

参考USP1236^[6],选用水作为溶剂,将饱和溶液的上清液稀释至合适浓度,配制成供试品溶液,按照“3.1.7”项含量测定方法测定上清液含量。各企业原料药溶解度均在 $0.3 \sim 0.4 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (表1),但是不同厂家样品溶解度有一定区别,建议企业关注晶型等可能影响溶解度的因素。

3.2.2 含量测定 采用USP硫酸氨基葡萄糖氯化钠项下含量测定方法(HPLC,氨基柱,195 nm)对不同厂家代表性样品进行了含量测定。

从表2可见,法定检验采用 C_8 色谱柱的结果较探索性结果整体偏高,推测是由于原标准采用氯离子作为主成分峰进行含量控制,方法不专属;紫外



1-企业1、4,紫外分光光度法;2-企业2、7,邻苯二甲醛衍生化-HPLC法;3-企业5,HPLC法,使用 C_{18} 柱;4-企业6,HPLC法,使用 C_8 柱;5-企业3,HPLC法,使用氨基柱,流动相缓冲盐:乙腈=25:75;6-企业8,HPLC法,使用氨基柱,流动相缓冲盐:乙腈=50:50

1-Enterprise 1 and 4, UV; 2-Enterprise 2 and 7, with *O*-phenyldiformaldehyde pre-column derivatization; 3-Enterprise 5, HPLC with C_{18} column; 4-Enterprise 6, HPLC with C_8 column; 5-Enterprise 3, HPLC with NH_2 column and buffer: ACN = 25:75 as mobile phase; 6-Enterprise 8, HPLC with NH_2 column and buffer: ACN = 50:50 as mobile phase

图2 各企业硫酸氨基葡萄糖含量测定结果分布箱线图
Fig. 2 Box plot of content of glucosamine sulfate from each manufacturers

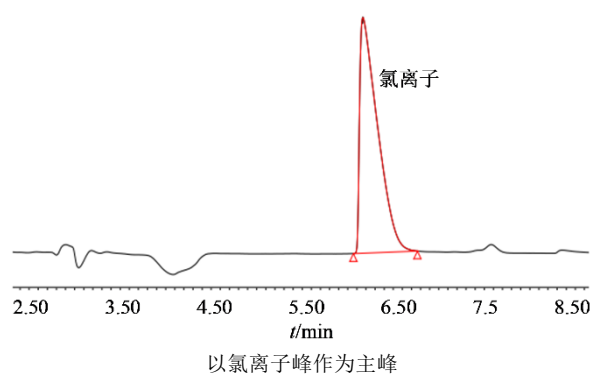


图3 HPLC法(C_8 柱)硫酸氨基葡萄糖含量测定色谱图
Fig. 3 Chromatogram of content determination of glucosamine sulfate detected by HPLC (C_8 column) in which chloride ion peak was used as main peak

表1 硫酸氨基葡萄糖原料药表观溶解度

企业	溶解度/(g·mL ⁻¹)
1	0.307
2	0.361
3	0.308
4	0.327
5	0.302
6	0.362
7	0.342

可见分光光度法操作复杂,结果偏差较大,建议改为更为简便和专属的HPLC法。

3.2.3 有关物质方法研究 采用原研生产企业方法,对12个文号(8家生产企业)的代表性产品进行了有关物质考察,并通过加速试验,考察产品的稳定性。

受试各批次样品有关物质均符合标准规定。其中原料药为非复盐的受试批次制剂的杂质检出种类、已知杂质果糖胺和脱氧果糖胺含量、其他已知杂质类别和总杂含量高于其他受试企业样品,推断为非复盐硫酸氨基葡萄糖易吸湿,影响其稳定性,经测定,吸湿后产品总杂增加0.055%;泡腾片中果糖胺含量较高,未知杂质数量多于其他剂型,推测原因为泡腾片辅料较多、在生产过程和放置过程中引起了杂质含量增加;与胶囊剂相比,片剂含有的杂质更多,提示片剂生产过程中制粒、整粒等温度较高的步骤会对产品质量产生一定影响。

为进一步对杂质成因进行分析,对该产品开展了加速试验。称取硫酸氨基葡萄糖钠盐原料药约625 mg,加水10 mL溶解,分别加入1.5 mol·L⁻¹硫酸、3 mol·L⁻¹氢氧化钠和30%过氧化氢各3 mL,静置2 h,中和溶液中的酸和碱,并定容至25 mL;另取原料药约625 mg,定容至25 mL,于80 °C水浴中加热2 h。采用HPLC法分析降解溶液,色谱柱为Avantor Alltima C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为庚烷磺酸钠缓冲液(取0.5 g庚烷磺酸钠加水适量使溶解后,加4 mL的56 g·L⁻¹氢氧化钾溶液和0.5 mL磷酸,再加水稀释至1 000 mL)-乙腈(1 000:50),体积流量为1 mL·min⁻¹,检测器为紫外检测器,波长为268 nm和220 nm。采用LC-MS法对未知杂质定性分析,色谱柱为Avantor Alltima C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温为30 °C,流动相A为水,B为乙腈,梯度洗脱(0~3 min, 95%A; 3~12 min, 95%~10%A; 12~12.5 min, 10%A; 12.5~14.5 min, 10%~0%A; 14.5~15 min, 0%~95%A; 15~20 min, 95%A),体积流量为0.4 mL·min⁻¹,紫外检测波长为268、220 nm,进样量为10 μL;质谱条件:正离子扫描模式,电喷雾离子源(ESI)参数如下:鞘气体积流量为35 L·min⁻¹,辅助气体体积流量为15 L·min⁻¹,喷雾电压为3.8 kV,毛细管温度为320 °C。扫描类型为Full MS,扫描时间为3~15 min,Full MS参数:分辨率140 000,扫描范围 m/z 50~750。

结果显示,受试样品溶液在强酸条件下较稳

表2 硫酸氨基葡萄糖制剂含量测定探索性研究结果和法定检验结果对比

Table 2 Comparative table of exploratory research results and legal testing results for content of glucosamine sulfate preparation

受试批次	法定检验方法	法定检验结果/%	探索性研究结果/%	探索性研究与法定方法含量差值/%
1	ELSON-MORGAN法(衍	97.6	100.4	2.80
2	生化-紫外可见分光光度	101.5	99.0	-2.50
3	法)	90.9	99.1	8.20
4		90.2	99.2	9.00
5		99.3	98.6	-0.70
6		104.5	102.6	-1.90
1	柱前衍生-HPLC法	97.7	101.5	3.80
2		97.9	97.1	-0.80
3		98.5	101.4	2.90
1	HPLC法(C ₁₈ 柱)	101.9	105.0	3.10
2		102.9	104.8	1.90
1	HPLC法(氨基柱,流动相	98.8	102.5	3.70
2	为50% ACN)	101.8	99.6	-2.20
1	HPLC法(C ₈ 柱)	102.3	103.0	0.70
2		106.1	97.1	-9.00
3		104.4	101.4	-3.00
4		105.3	100.4	-4.90
5		106.9	99.0	-7.90
6		107.9	99.1	-8.80
7		109.0	99.2	-9.80

定,在氧化、加热和碱性条件下不稳定,其中对热稳定性最差。氧化加速试验中样品溶液生成大量果糖嗪杂质;热降解加速条件下主要生成果糖嗪、脱氧果糖嗪、5-羟甲基糠醛以及3个未知杂质[I₁ t_R=2.944 min(220 nm); I₂ t_R=4.508 min(268、220 nm); I₃ t_R=5.802 min(268 nm)](图4);在碱性条件加速试验下生成脱氧果糖嗪和少量I₁、I₂和I₃。上述结果说明,硫酸氨基葡萄糖在氧化、强碱、高温高湿环境中易变质,进一步提示生产企业应注意产品包装的密闭性以及贮藏温度。

通过上述加速试验可见,在加热和碱性条件下,除9个已知杂质外,受试样品溶液还会生成3个未知杂质I₁、I₂和I₃。其中在热降解过程中,I₁在40~50 min达到最大浓度后下降;果糖嗪、脱氧果糖嗪、5-羟甲基糠醛、I₂和I₃的浓度随加热时间持续增加。采用制备液相将分离得到杂质I₃,使用质谱进行定性, m/z=286。结合相对分子质量结果和文献报道^[7-9],推断I₃为脱氧果糖嗪在加热条件下脱水生成的异构体,形成过程及结构如图5,I₁、I₂的结构确证还在进行中。

3.2.4 近红外光谱一致性检验模型的建立 建立

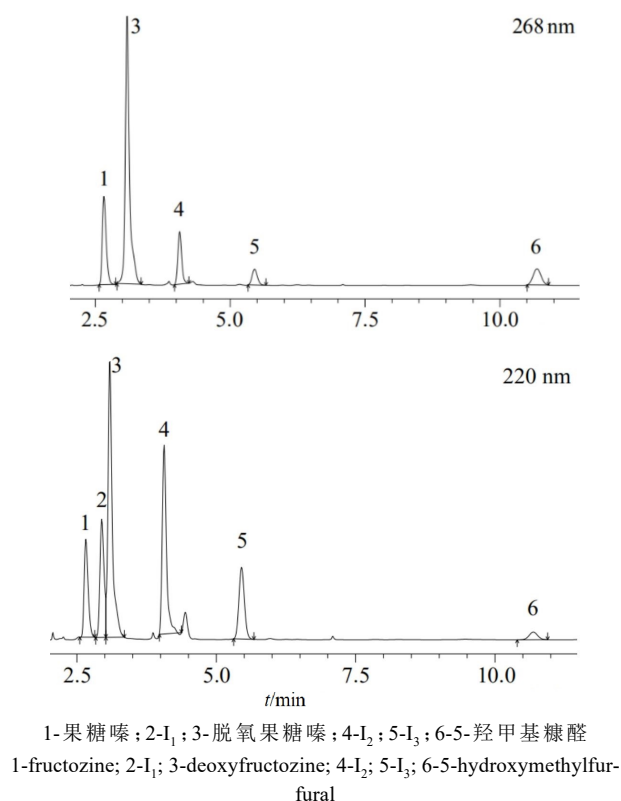
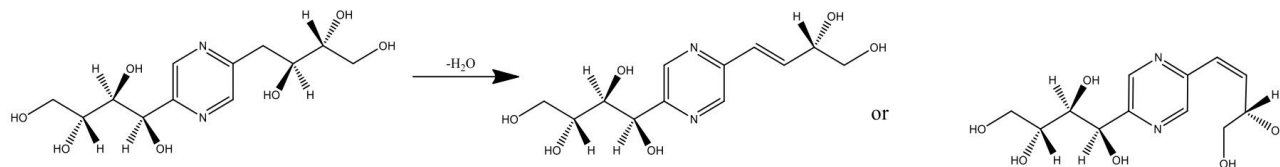


图4 硫酸氨基葡萄糖原料药热降解色谱图

Fig. 4 Chromatogram of heat degradation of glucosamine sulfate

图5 I_3 结构和形成途径Fig. 5 Structure and formation mechanism of I_3

样品量符合要求的厂家的硫酸氨基葡萄糖原料和固体口服制剂的一致性检验模型,补充本品的快速筛查方法^[10]。

对不同厂家原料药光谱进行测定,光谱预处理方法为二阶导数化+矢量归一化,平滑点数13个,一致性指数(CI)限度为7,在9 000~7 500 cm^{-1} 、6 900~5 600 cm^{-1} 、5 000~4 250 cm^{-1} 存在明显差异,因此选择上述谱段建立一致性检验模型。图6显示了2种复盐的NIR光谱图,光谱基本一致。

不同厂家的固体口服制剂产品由于辅料和生产工艺的差别,光谱图存在明显差异,可按生产厂家建立一致性模型或相关系数模型。使用同厂家

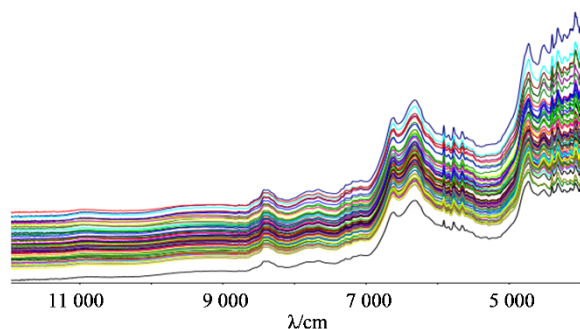
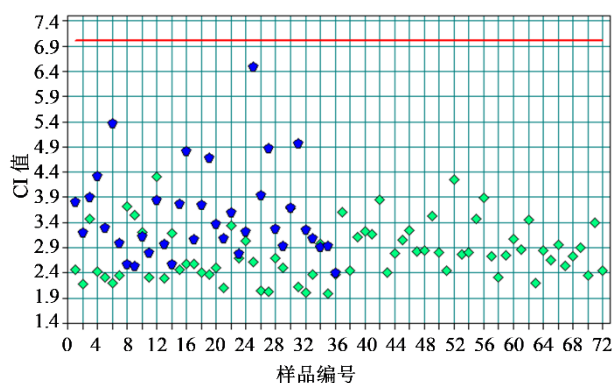


图6 硫酸氨基葡萄糖复盐原料药近红外光谱图(企业1~7)

Fig. 6 Near infrared spectrogram of glucosamine sulfate double salt APIs (enterprise 1 - 7)

其他参考样品光谱验证模型,其CI值均低于CI限度(图7),表明验证使用的光谱与建模使用的光谱具有一致性,一致性检验模型通过验证,能够识别本厂家的所有样品。部分代表性验证结果见图8、9。

3.2.5 胶囊剂囊壳铬含量 根据国家药品抽验工作要求,为考察胶囊剂样品囊壳铬含量,对全部抽到的63批胶囊剂囊壳,按照《中国药典》明胶空心胶囊相关规定进行检验,结果全部符合规定。

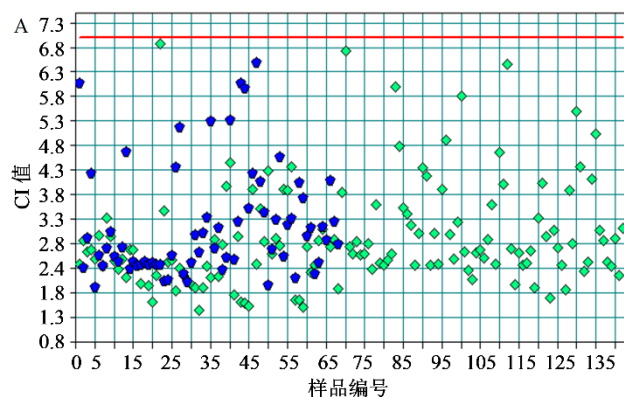


蓝色-验证光谱CI值;绿色-建模光谱CI值

Blue-CI of validation spectrum; Green-CI value of modeling spectrum

图7 企业4硫酸氨基葡萄糖片一致性检验模型

Fig. 7 Consistency test model of glucosamine sulfate tablets from enterprise 4

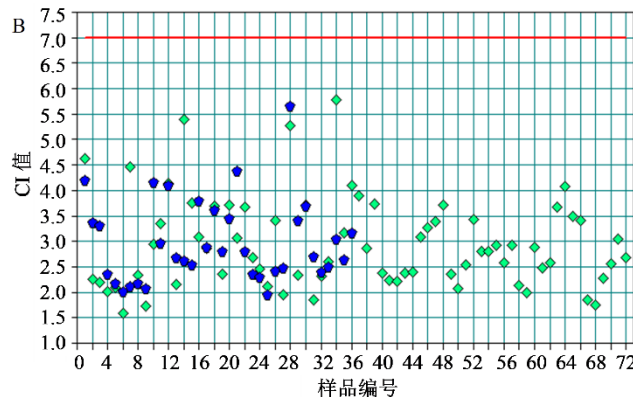


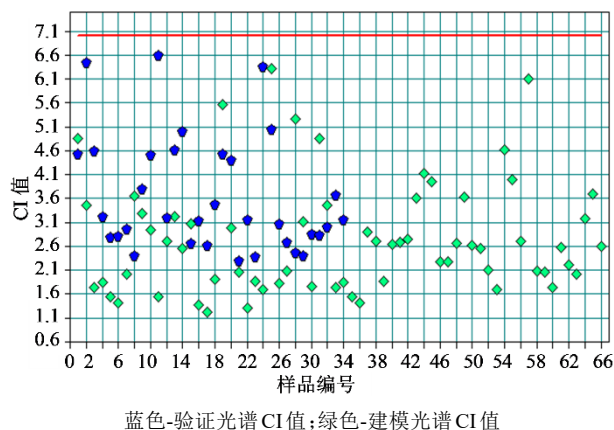
A-企业8;B-企业5;蓝色:验证光谱CI值;绿色:建模光谱CI值

A-enterprise 8; B-enterprise 5; Blue-CI of validation spectrum; Green-CI value of modeling spectrum

图8 不同厂家硫酸氨基葡萄糖胶囊一致性检验模型

Fig. 8 Consistency test model of glucosamine sulfate capsules from different enterprises





蓝色-验证光谱CI值;绿色-建模光谱CI值
Blue-CI of validation spectrum; Green-CI value of modeling spectrum

图9 企业1硫酸氨基葡萄糖钾胶囊一致性检验模型

Fig. 9 Consistency test model of glucosamine sulfate potassium chloride capsules from enterprise 1

4 讨论

通过实验发现,各生产企业标准差异较大,部分生产企业标准中有关物质、溶出度等关键质控项目缺失,部分企业标准有关物质、溶出度、检验方法不专属,检测方法和限度区别较大,会导致产品质量可控性出现问题。有关物质项中,2021年中国食品药品检定研究院研制发放了果糖嗉、脱氧果糖嗉首批对照品^[11],填补了其法定对照品的空缺,但目前各国药典、各企业标准均未对易降解生成的 I_2 和 I_3 进行控制,建议对 I_2 和 I_3 进行定性研究。从本次探索性研究结果来看,各原料企业的产品结构、稳定性存在较大差异,产品的安全有效性应进一步评价。建议尽快进行标准提高,解决标准不统一、不完善的问题,保证临床用药的安全性和有效性。

本品同时存在非复盐和复盐2种形式的产品,非复盐硫酸氨基葡萄糖为无定型粉末,硫酸氨基葡萄糖氯化钠复盐、硫酸氨基葡萄糖氯化钾复盐为晶体,其中非复盐样品易吸湿,对产品稳定性造成较大影响。从本次探索性研究结果可以看出,不同厂家复盐原料药在晶型纯度方面有一定区别,各仿制企业原料药和原研产品也有一定区别。根据《化学仿制药晶型研究技术指导原则(征求意见稿)》,对于结晶性复盐原料药,生产企业应关注原料药稳定性、纯度、产品溶解性与原研企业的差别等问题。

目前市面上的非复盐结构和氯化钠复盐结构的产品名称相同(都称为:硫酸氨基葡萄糖胶囊/片/泡腾片/散/颗粒)等。复盐结构原料药的批准文号名称也较为混乱:如硫酸氨基葡萄糖钾和硫酸氨基葡萄糖氯化钾为相同的结构,但名称不同;氯化钠复盐的名称为硫酸氨基葡萄糖氯化钠复盐,而氯化

钾复盐的名称后面没有添加“复盐”字样等。建议加强该品种药物命名的管理,制定能区别药品结构的统一名称。

在研究中发现我国现有标准中存在的方法不合理、不统一等问题,为今后的统一标准提供参考。

致谢:爱尔兰罗达药厂(Rottapharm Ltd.)、浙江海正药业股份有限公司、山西同达药业有限公司、台湾信东生技股份有限公司、台湾永信药品工业股份有限公司、新兴同仁药业有限公司、山西康宝生物制品股份有限公司、南京海辰药业股份有限公司。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 许晨,许建中,沈国.氨基葡萄糖硫酸盐的制备方法研究进展[J].化学工程与装备,2010(4):106-109.
Xu C, Xu J Z, Shen G. Progress in studies of the method of preparing glucosamine sulfate [J]. Chem Eng Equip, 2010(4): 106-109.
- [2] Morgan W T J, Elson L A, 陈祥娥.比色法测定N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰半乳糖胺[J].食品与药品,2010,12(9):374-378.
Morgan W T J, Elson L, Chen X E. Determination of N-acetylglucosamine and N-acetylgalactosamine by colorimetry [J]. Food Drug, 2010, 12(9): 374-378.
- [3] Bertuzzi D L, Becher T B, Capreti N M R, et al. General protocol to obtain D-glucosamine from biomass residues: Shrimp shells, Cicada sloughs and cockroaches [J]. Glob Chall, 2018, 2(11): 1800046.
- [4] 陈亚.分光光度法测定D-氨基葡萄糖盐酸盐条件的考查[J].安徽化工,2010,36(6):66-67.
Chen Y. Study on spectrophotometric D-glucosamine hydrochloride condition [J]. Anhui Chem Ind, 2010, 36(6): 66-67.
- [5] 徐明明,郑璐侠,汪泓,等.2D-LC-QTOF MS识别氨基葡萄糖液相含量测定方法中可疑色谱峰[J].药物分析杂志,2018,38(2):336-341.
Xu M M, Zheng L X, Wang H, et al. Detection of suspicious peaks in HPLC of the content of glucosamine with 2D-LC-QTOF MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38(2): 336-341.
- [6] The United States Pharmacopeial Convention 43 [S]. 2020.
- [7] Zhang M, Zhu P X, Chen Y, et al. Characterization of an unknown impurity in glucosamine sulfate sodium chloride by HPLC-Q-TOF MS and NMR [J]. Cur Pharm Anal, 2019,

(下转第2359页)