

· 论著 · 一次研究 ·

国产盐酸曲美他嗪片工艺改进后的一致性评价研究



鲍 实, 孙春艳

1. 湖北省药品监督检验研究院 (武汉 430060)
2. 湖北省药品质量检测与控制工程技术研究中心 (武汉 430060)

【摘要】目的 采用 HPLC 法测定工艺改进后的国产盐酸曲美他嗪片 and 原研制剂的溶出曲线和有关物质, 评价工艺改进后的国产制剂一致性。**方法** 溶出度测定采用 Phenomenex Gemini (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为 [0.287% 无水庚烷磺酸钠 - 甲醇 (643 : 357)] - 甲醇 (70 : 30), 检测波长为 231 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 40℃, 进样量为 20 μL; 以 pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8 缓冲盐溶液和水为溶出介质, 采用桨法, 转速为 50 r/min, 溶出体积为 900 mL, 考察工艺改进后的国产盐酸曲美他嗪片 and 原研制剂在上述 4 种溶出介质中的溶出曲线。有关物质测定采用梯度洗脱, 检测波长为 240 nm, 其余色谱条件同溶出度测定。**结果** 在建立的溶出度测定方法中, 盐酸曲美他嗪在 4.58~45.80 μg/mL 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.7% ($RSD=0.71\%$, $n=9$)。建立的有关物质检测方法能较好地分离盐酸曲美他嗪与 9 种已知杂质, 各杂质和曲美他嗪分别在一定浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r > 0.999\ 0$), 校正因子分别为 0.99~1.07, 平均回收率为 98.0%~100.9% ($RSD=0.33\%\sim0.96\%$, $n=9$)。工艺改进后的国产盐酸曲美他嗪片与原研制剂的溶出曲线保持一致, 但检出的杂质个数、杂质含量与原研制剂存在明显差异。**结论** 工艺改进后的某国产企业生产的盐酸曲美他嗪片与原研制剂可能达到生物等效, 但质量不等效, 需进一步改进工艺, 实现溶出曲线与有关物质均能与原研制剂一致的目标。

【关键词】 盐酸曲美他嗪片; 制剂工艺改进; 一致性评价; 溶出曲线; 有关物质

【中图分类号】 R943

【文献标识码】 A

Consistency evaluation of domestically produced trimetazidine hydrochloride tablets after process improvement

BAO Shi, SUN Chunyan

1. Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430060, China

2. Hubei Engineering Research Center for Drug Quality Control, Wuhan 430060, China

Corresponding author: SUN Chunyan, Email: suncy25@126.com

【Abstract】Objective To determine the dissolution curves and related substances of domestically produced trimetazidine hydrochloride tablets after process improvement and the original formulation by HPLC method, and evaluate the consistency of domestically produced formulations after process improvement. **Methods** In the dissolution determination, a Phenomenex Gemini (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) chromatographic column was used, the

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202310061

基金项目: 重大新药创制科技重大专项 (2017ZX09101001)

通信作者: 孙春艳, 硕士, 高级工程师, Email: suncy25@126.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

mobile phase was [0.287% anhydrous sodium heptanesulfonate methanol (643 : 357)]-methanol (70 : 30), the detection wavelength was 231 nm, the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 40°C, and the injection volume was 20 μ L. The dissolution media were pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8 buffer salt solution, and water. The paddle method was used with a rotation speed of 50 r/min and a dissolution volume of 900 mL. The dissolution curves of domestically produced trimetazidine hydrochloride tablets after process improvement and the original formulation in the four dissolution media were investigated. In the determination of relevant substances, gradient elution was used with a detection wavelength of 240 nm, and the other chromatographic conditions were the same as those used for dissolution determination. **Results** In the established dissolution determination method, there was a good linear relationship between the peak area and the concentration range of 4.58-45.80 μ g/mL of trimetazidine hydrochloride ($r=0.999\ 9$), with an average recovery rate of 99.7% ($RSD=0.71\%$, $n=9$). The established substance detection method could effectively separate trimetazidine hydrochloride from 9 known impurities, each impurity and trimetazidine showed a good linear relationship with peak area within a certain concentration range ($r>0.999\ 0$), the correction factors were 0.99-1.07, and the average recovery rate was 98.0%-100.9% ($RSD=0.33\%-0.96\%$, $n=9$). The dissolution curve of domestically produced trimetazidine hydrochloride tablets after process improvement was consistent with that of the original formulation, but there were significant differences in the number and content of impurities detected compared to the original formulation. **Conclusion** The domestically produced trimetazidine hydrochloride tablets after process improvement may achieve bioequivalence with the original formulation, but the quality is not equivalent. Further process improvement is needed to achieve the goal of the dissolution curve and related substances being consistent with the original formulation.

【Keywords】 Trimetazidine hydrochloride tablets; Formulation process improvement; Consistency evaluation; Dissolution curve; Related substance

盐酸曲美他嗪，化学名为 1-(2,3,4 三甲氧基苄基)哌嗪二盐酸盐^[1]，是由法国施维雅研发、日本京都药品工业公司开发的一种冠状动脉血管扩张剂^[2]。生物药剂学分类系统 (biopharmaceutics classification system, BSC) 显示盐酸曲美他嗪在水、0.1 mol/L 盐酸、不同 pH 的缓冲溶液中均极易溶解^[3-4]，属于高溶解性药物，但其渗透性仍不明确，分类为 BSC I 类或 BSC III 类^[5]。盐酸曲美他嗪在国内上市的剂型包括片剂、胶囊剂和缓释片 3 种，其中片剂的生产企业和批准文号最多，国外原研剂型也为片剂，故对本品的一致性评价应重点关注盐酸曲美他嗪片剂与原研制剂是否一致。衡量仿制药与原研药的质量是否一致，关键在于“杂质（有关物质）”和“体外释放（释放）度曲线”^[6]，其中体外释放主要通过体外模拟口服固体制剂在胃肠道的溶出以评价其内在质量，而多种溶出介质中测定的溶出曲线可有效反映药物在体内的释放过程^[7-8]。

盐酸曲美他嗪原料和片剂均收载于《中国药典

（2020 年版）》二部^[3]，其中溶出度测定采用紫外-可见分光光度法，且有关物质检查仅对单个未知杂质和总杂质质量进行控制，而《英国药典（2024 年版）》^[9]和《欧洲药典（11.0 版）》^[10]的盐酸曲美他嗪标准中已经收载了 9 种已知杂质，并对其其中 8 种杂质进行限度控制。本研究基于 2016 年国家药品抽检与重大新药创制科技重大专项“药物一致性评价关键技术与标准研究”课题（编号：2017ZX09101001），建立 HPLC 法测定溶出曲线，同时还建立有关物质的测定方法，可分离盐酸曲美他嗪及其 8 种已知杂质（结构式见图 1），并测定了国内企业 X 提供的工艺改进前盐酸曲美他嗪片 1 批、申报仿制药一致性评价工艺改进后的盐酸曲美他嗪片 3 批以及法国施维雅公司生产的盐酸曲美他嗪原研片剂 1 批；采用日本橙皮书^[4]收载的 4 种溶出介质条件，通过比较上述国产制剂和原研制剂的溶出曲线和有关物质差异评价工艺改进前后的国产盐酸曲美他嗪片与原研制剂的差异。本文工作可为仿制药一致性评价中的制剂工艺改进、体内外相关的溶出度试验及有关物质研究提供参考。

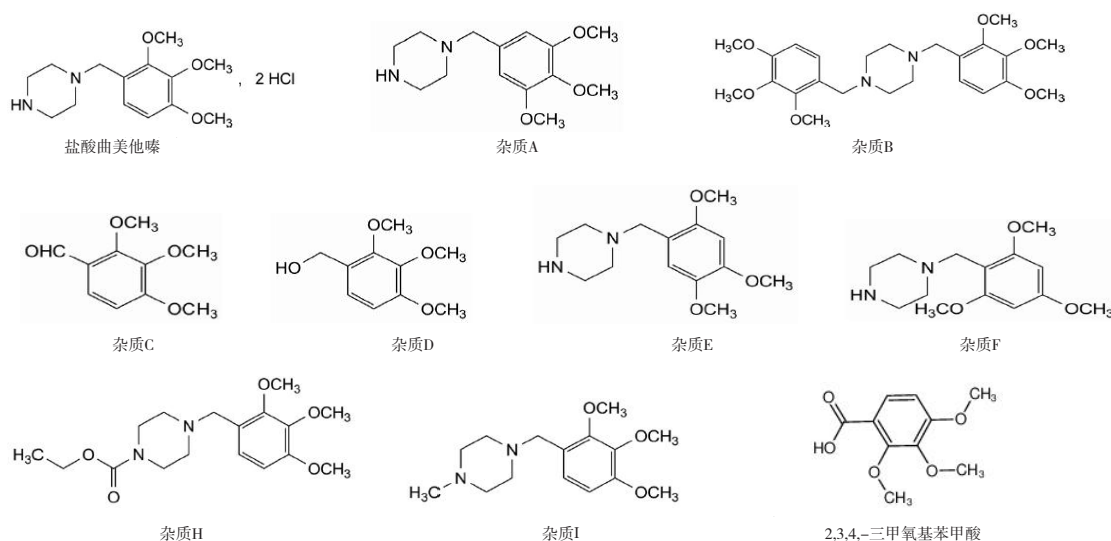


图1 盐酸曲美他嗪与各杂质结构式

Figure 1. The structural formulas of trimetazidine hydrochloride and various impurities

1 材料

1.1 主要仪器

1260 高效液相色谱仪, 包括 G1329B 柱温箱和 G1316A DAD 检测器 (美国安捷伦公司); Ultimate 3000 高效液相色谱仪, 包括 Variable Wavelength Detector 检测器和 RS Column Compartment 柱温箱 (美国戴安公司); AT-7 溶出度仪 (瑞士 Sotax 公司); Milli-Q 纯化水仪 (美国密理博公司); XP204 分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司, 精确度: 十万分之一)。

1.2 主要药品与试剂

盐酸曲美他嗪片原研制剂 (法国施维雅, 批号: 988603, 规格: 20 mg); 盐酸曲美他嗪片 4 批 (企业 X, 工艺改进前 1 批, 批号: 2380; 工艺改进后 3 批, 批号: 1612、1613、1614; 规格均为 20 mg); 对照品: 杂质 A (批号: 1360-080A2)、杂质 B (批号: 1353-081A4)、杂质 E (批号: 1365-071A3)、杂质 F (批号: 1358-074A4)、杂质 H (批号: 2078-074A4)、杂质 I (批号: 1375-038A3) 均购自企业 X, 纯度均为 100.0%; 对照品: 杂质 C (批号: 100892-200901, 纯度 93.8%)、杂质 D (批号: 100890-200901, 纯度 98.1%)、2,3,4-三甲氧基苯甲酸 (批号: 100891-200901, 纯度 99.6%)、盐酸曲美他嗪 (批号: 100889-201302, 纯度 99.9%) 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为去离子纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶出度的测定

2.1.1 色谱条件

采用 HPLC 法, 色谱柱为 Phenomenex Gemini (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 [0.287% 无水庚烷磺酸钠-甲醇 (643 : 357)]-甲醇 (70 : 30), 检测波长为 231 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 40℃, 进样量为 20 μL。各介质溶出液在该色谱条件下分离度良好。

2.1.2 溶出度测定方法

参考日本橙皮书方法^[4]采用 4 种溶出介质: 水; pH 1.2 缓冲液: 取氯化钠 2.0 g, 加水适量使溶解, 加盐酸 7 mL, 再加水稀释至 1 000 mL; pH 4.0 缓冲液: 0.05 mol/L 醋酸-0.05 mol/L 醋酸钠 (16.4 : 3.6); pH 6.8 缓冲液: 取磷酸二氢钾 3.4 g 和无水磷酸氢二钠 3.55 g, 加水适量使溶解后, 定容至 1 000 mL, 再稀释 1 倍。

溶出曲线绘制: 采用《中国药典 (2020 年版)》四部 0931 第二法^[11], 转速为 50 r/min, 溶出体积 900 mL, 温度为 37℃, 在 5、10、15、20、30、45、60、90 min 时分别取样 5 mL, 同时补液 5 mL。按“2.1.1”项下色谱条件测定国产制剂与原研制剂在上述 4 种溶出介质中的溶出量, 并绘制溶出曲线。

2.1.3 线性考察

取盐酸曲美他嗪原料 0.045 8 g, 置 200 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 作为线性储备液;

分别精密量取线性储备液 1、3、5、7、10 mL 置 50 mL 量瓶中, 用 pH 1.2 的缓冲液配制线性待测溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 以盐酸曲美他嗪的质量浓度为横坐标 (X , $\mu\text{g/mL}$)、峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 计算得盐酸曲美他嗪的回归方程为 $Y=0.5024X-0.1295$ ($r=0.9999$), 结果表明盐酸曲美他嗪在 4.58~45.80 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

2.1.4 精密度试验

精密称取盐酸曲美他嗪对照品 0.0212、0.0203、0.0215、0.0220 g 置于 4 个 100 mL 量瓶中, 分别用上述 4 种溶出介质溶解并稀释至刻度, 摇匀; 再取上述溶液各 2 mL 置 20 mL 量瓶中, 用相应溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 即得不同溶出介质的对照品溶液。取各对照品溶液按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 盐酸曲美他嗪在水、pH 1.2 缓冲液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液中的色谱峰面积的 RSD 分别为 0.11%、0.24%、0.36%、0.19% ($n=6$), 结果表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验

取“2.1.4”项下不同溶出介质的对照品溶液, 室温放置 0、1、2、3、4、6、8 h 后按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 盐酸曲美他嗪在水、pH 1.2 缓冲液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液中的色谱峰面积的 RSD 分别为 0.77%、0.49%、0.76%、1.26% ($n=7$), 结果表明溶液在室温条件下放置 8 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验

取盐酸曲美他嗪片 6 片, 按“2.1.2”项下方法进行溶出度试验, 分别于 5、10、15、20、30、45、60、90 min 时取样, 并按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 盐酸曲美他嗪在水、pH 1.2 缓冲液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液中的色谱峰面积的 RSD 范围分别为 0.66%~3.73%、0.43%~2.59%、0.75%~5.25%、0.42%~2.83% ($n=6$), 结果表明该方法重复性良好。

2.1.7 回收率试验

分别精密称取盐酸曲美他嗪对照品, 置 100 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇溶液配制质量浓度约为 16.0、20.0、24.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 每个水平 3 份, 同时加入企业 X 提供处方量的空白辅料,

配制成回收率试验的供试品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 按外标法计算得盐酸曲美他嗪的平均回收率为 99.7%, RSD 为 0.71% ($n=9$), 结果表明该方法准确度良好。

2.1.8 溶出度测定结果

按“2.1.2”项下方法测定原研片剂、改工艺前和 3 批改工艺后的盐酸曲美他嗪片在 4 种溶出介质中的溶出度, 并绘制溶出曲线。图 2 结果显示, 盐酸曲美他嗪在 4 种溶出介质中的溶出曲线基本一致, 改工艺前的国产片剂溶出最快, 15 min 即达到溶出平台, 溶出量在 90% 以上, 与原研片剂的溶出曲线差异较大; 经过工艺改进后的 3 批国产片剂的溶出曲线与原研片剂趋于一致, 在 40 min 内缓慢释放, 40 min 后逐渐达到溶出平台, 溶出量约为 85%。

2.2 有关物质的测定

2.2.1 色谱条件

采用 HPLC 法, 色谱柱为 Phenomenex Gemini (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.287% 无水庚烷磺酸钠-甲醇 (643:357) (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (洗脱程序见表 1), 检测波长为 240 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 20 μL 。

2.2.2 溶液的配制

①有关物质对照品溶液: 精密称取杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸 1.22、1.89、2.58、2.40、2.33、2.56、1.20、1.90、02.02 mg 置 25、50、50、50、50、50、25、50、50 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸的对照品溶液。

②盐酸曲美他嗪对照品溶液: 精密称取盐酸曲美他嗪对照品 2.25 mg 置 50 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为盐酸曲美他嗪的对照品溶液。

③有关物质系统适用性考察溶液: 精密称取盐酸曲美他嗪对照品约 10 mg 置 20 mL 量瓶中, 加入“①”项下有关物质对照品溶液各 1 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为有关物质系统适用性考察溶液。

④有关物质供试品溶液: 取盐酸曲美他嗪片

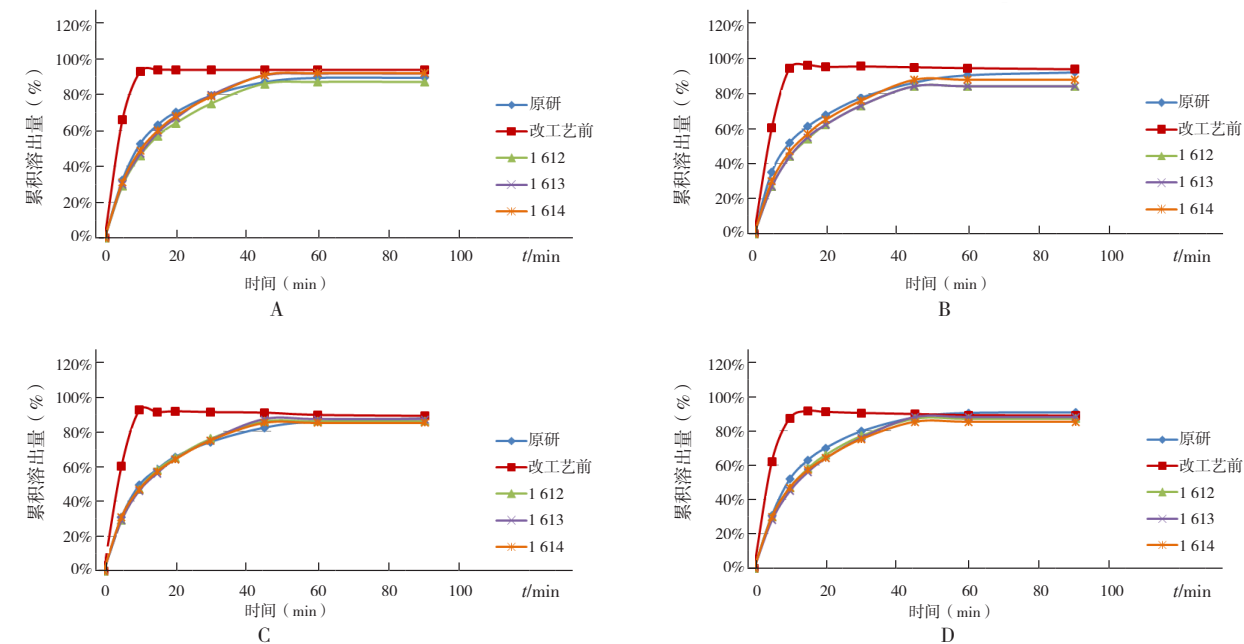


图2 盐酸曲美他嗪在4种介质中的溶出曲线

Figure 2. The dissolution curves of trimetazidine hydrochloride in four different media

注：A. 水；B. pH 1.2缓冲液；C. pH 4.0缓冲液；D. pH 6.8缓冲液。

表1 梯度洗脱程序

Table 1. The gradient elution program		
时间 (min)	流动相A	流动相B
0~15	100	0
15~50	100→65	0→35
50~51	65→100	35→0
51~75	100	0

20 片，研细，精密称取细粉适量置 100 mL 量瓶中，加水溶解并稀释制成浓度约为 4 mg/mL 的溶液，滤过即得。

2.2.3 破坏性试验

取盐酸曲美他嗪对照品 10 mg 置 25 mL 量瓶中，分别进行强酸破坏（5 mol/L 盐酸溶液 5 mL，95℃ 加热破坏 4 h）、强碱破坏（5 mol/L 氢氧化钠溶液 5 mL，95℃ 加热破坏 4 h）、光破坏（日光下照射 80 h）、高温破坏（95℃ 加热破坏 60 h）、氧化降解（30% 过氧化氢溶液 3 mL，放置 8 h）试验，酸碱中和后的各降解样品加水溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，即得破坏性试验供试品溶液。取空白溶液（水）、破坏前后的供试品溶液，按“2.2.1”项下有关物质色谱条件进样分析，结果表明盐酸曲美他嗪较为稳定，酸破坏和碱破坏主要产生相对保留时间为 0.8 的未知杂；光破坏未产生降解杂质；高温破坏会产生已知杂质三甲氧基苯甲醇；在氧化条件下不稳定，在主峰前产生 1 个较大的降解杂质峰。具体见图 3。

2.2.4 已知杂质的线性与校正因子

取“2.2.2”项下有关物质对照品溶液和盐酸曲美他嗪对照品溶液适量，用水作为稀释剂稀释制成 5 个浓度点的线性溶液，按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件进样分析，记录色谱图。以质量浓度（X，μg/mL）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标绘制标准曲线，以各杂质线性方程斜率与盐酸曲美他嗪线性方程斜率的比值计算相对校正因子，结果见表 2，盐酸曲美他嗪与 9 个杂质的线性关系良好。

2.2.5 检测限与定量限

取“2.2.2”项下有关物质对照品溶液和盐酸曲美他嗪对照品溶液适量，用水作为溶剂逐级稀释，按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件进样分析，记录色谱图。以信噪比为 3 时的质量为检测限，信噪比为 10 时的质量为定量限，结果见表 3。

2.2.6 精密度试验

取“2.2.2”项下的有关物质系统适用性考察溶液，按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸、盐酸曲美他嗪峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.5%、0.9%、0.7%、0.9%、1.6%、1.9%、0.4%、1.3%、1.9%（n=6），结果表明该仪器精密度良好。

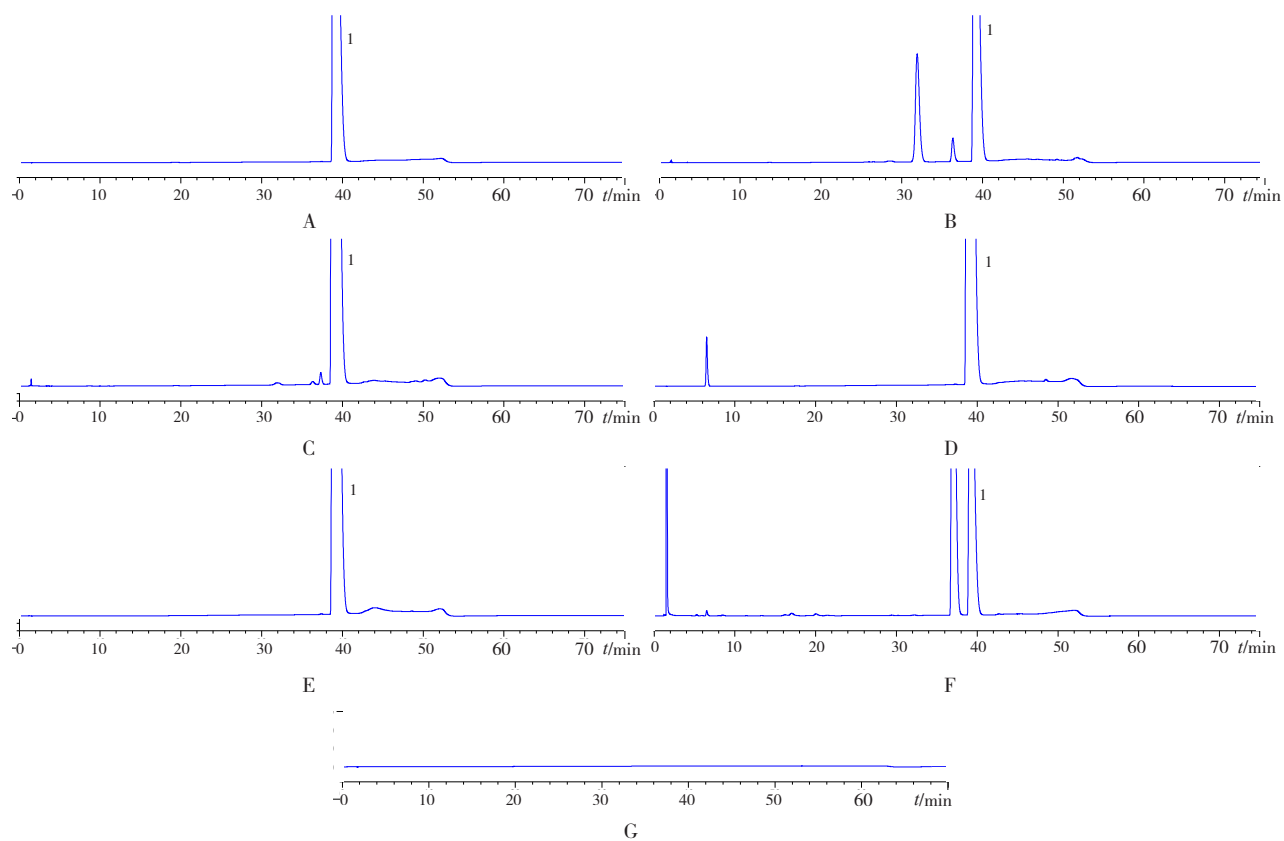


图3 破坏性试验HPLC色谱图

Figure 3. The HPLC chromatogram of destructive testing

注：A. 未破坏（工艺改进前样品）；B. 酸破坏；C. 碱破坏；D. 加热破坏；E. 光照破坏；F. 氧化破坏；G. 空白溶剂；1. 盐酸曲美他嗪。

表2 已知杂质线性回归方程和校正因子

Table 2. The linear regression equations and correction factors

化合物	线性范围（ $\mu\text{g/mL}$ ）	线性回归方程	r	校正因子
杂质A	1.95~9.76	$Y=3.008\ 2X+0.002\ 6$	0.999\ 9	1.02
杂质B	1.51~7.56	$Y=3.093\ 6X+0.041\ 7$	0.999\ 8	0.99
杂质C	1.94~9.68	$Y=2.883\ 2X+0.083\ 0$	0.999\ 8	1.07
杂质D	1.88~9.42	$Y=2.960\ 0X-0.134\ 5$	0.999\ 8	1.04
杂质E	1.86~9.32	$Y=3.040\ 4X+0.143\ 4$	0.999\ 7	1.01
杂质F	2.05~10.24	$Y=3.105\ 9X+0.166\ 3$	0.999\ 7	0.99
杂质H	1.92~9.60	$Y=2.918\ 5X+0.113\ 5$	0.999\ 9	1.05
杂质I	1.52~7.60	$Y=3.116\ 6X+0.042\ 0$	0.999\ 9	0.99
2,3,4-三甲氧基苯甲酸	1.61~8.05	$Y=2.882\ 6X+0.056\ 0$	0.999\ 9	1.07
盐酸曲美他嗪	1.80~8.99	$Y=3.075\ 3X-0.152\ 6$	0.999\ 9	—

表3 盐酸曲美他嗪和9个已知杂质的定量限与检测限

Table 3. The limit of detection limit of quantification of trimetazidine hydrochloride and nine impurities

化合物	待测溶液浓度（ mg/mL ）	定量限（ ng ）	检测限（ ng ）
杂质A	1.95×10^{-5}	0.98	0.39
杂质B	1.51×10^{-5}	0.76	0.30
杂质C	1.94×10^{-5}	0.97	0.39
杂质D	1.88×10^{-5}	0.94	0.38
杂质E	1.86×10^{-5}	0.93	0.37
杂质F	2.05×10^{-5}	1.02	0.41
杂质H	1.92×10^{-5}	0.96	0.38
杂质I	1.52×10^{-5}	0.76	0.30
2,3,4-三甲氧基苯甲酸	1.61×10^{-5}	0.80	0.32
盐酸曲美他嗪	1.80×10^{-5}	0.90	0.36

2.2.7 重复性试验

精密称取盐酸曲美他嗪对照品约 10 mg 置 20 mL 量瓶中,加入“2.2.2”项下杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸溶液各 1 mL,用水稀释至刻度,摇匀,平行制备重复性试验供试品溶液 6 份,按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件进样分析,记录色谱图。杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸、盐酸曲美他嗪峰面积的 *RSD* 分别为 0.9%、2.0%、1.8%、1.6%、0.8%、2.0%、1.3%、1.1%、1.3%、1.7% ($n=6$),结果表明该方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验

取“2.2.2”项下的有关物质系统适用性考察溶液,放置 0、2、4、6、8 h 后按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件进样分析,记录色谱图。杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸、盐酸曲美他嗪峰面积的 *RSD* 分别为 3.4%、2.2%、3.3%、1.7%、1.6%、2.0%、1.2%、1.3%、0.7%、0.6% ($n=5$),结果表明溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.2.9 回收率试验

分别精密量取“2.2.2”项下有关物质杂质对照品溶液 2、1、4 mL 各 3 份,分别置 25、10、25 mL 预先装有处方量空白辅料的量瓶中,用水稀释至刻度,配制成 80%、100%、120% 3 个浓度水平的回收率试验供试品溶液。按“2.2.1”项

下有关物质检测色谱条件进样分析,记录色谱图,按各杂质外标法计算回收率。杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、2,3,4-三甲氧基苯甲酸的回收率分别为 99.1%、98.0%、98.9%、99.1%、100.9%、100.3%、99.6%、98.7%、99.6%,*RSD* 分别为 0.63%、0.79%、0.92%、0.96%、0.33%、0.73%、0.80%、0.52%、0.66% ($n=9$)。

2.2.10 耐用性试验

取“2.2.2”项下有关物质系统适用性考察溶液,按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件,分别考察 3 种不同厂家型号的色谱柱 [Phenomenex Gemini 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)、资生堂 CAPCELL MG II 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)、岛津 GL Sciences IntertSustain 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)] 的耐用性。结果显示,各已知杂质色谱峰之间、盐酸曲美他嗪色谱峰与其相邻杂质 E 色谱峰之间的分离度均能达到 1.5 以上,该法的耐用性较好。

2.2.11 有关物质测定结果

按“2.2.1”项下有关物质检测色谱条件,测定有关物质系统适用性考察溶液、原研片剂、改工艺前和 3 批改工艺以后的盐酸曲美他嗪片,记录色谱图 (图 4)。通过与各杂质对照品色谱图比较显示,原研片剂中检出的杂质个数较多,但各杂质的量较低,检出的已知杂质为 2,3,4-三甲氧基苯甲酸、杂质 C、杂质 B;在未改工艺的国产盐酸曲美他嗪片中除检出 2,3,4-三甲氧基苯

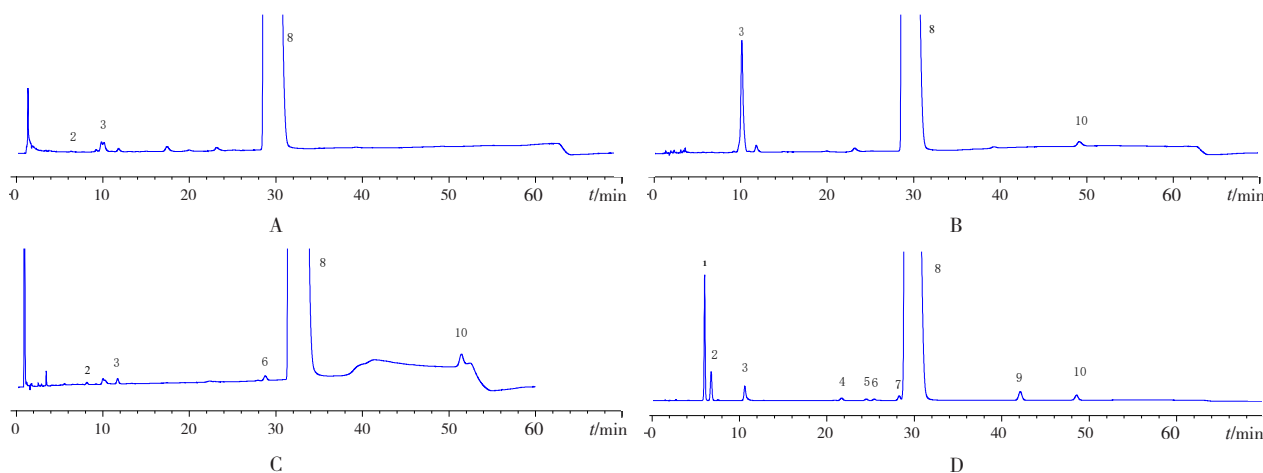


图4 盐酸曲美他嗪有关物质HPLC色谱图

Figure 4. The HPLC chromatograms of trimetazidine hydrochloride related substances

注: A. 原研曲美他嗪片; B. 改工艺后国产片; C. 工艺改进前的国产片; D. 混合杂质对照品与盐酸曲美他嗪对照品; 1. 杂质D; 2,3,4-三甲氧基苯甲酸; 3. 杂质C; 4. 杂质H; 5. 杂质A; 6. 杂质I; 7. 杂质E; 8. 盐酸曲美他嗪; 9. 杂质F; 10. 杂质B。

酸、杂质 C、杂质 B 外，还可检出杂质 I，在改进工艺后的片剂中，检出的杂质个数与种类与原研相似，但杂质 C 的量明显增加，具体结果见下表 4。

2.3 杂质毒性预测

采用 ADMET Predictor 模拟软件，对盐酸曲美他嗪及其杂质毒性吸收、代谢、毒理风险系数评分，以及整体的 ADMET 成药性打分，结果

见表 5。预测此案例具体的成药性打分规则是统计来自全球药物索引（WDI）中的 2 270 个药物分子性质参数，总结得出的评分规则。ADMET_Risk 表示总 ADMET 风险系数，数值越大表示成药性越差，一般上市药物≤6.5。预测结果显示，杂质 C、D、H 具有一定的毒性，其余化合物的毒性不明显。

表4 杂质检出结果
Table 4. Results of impurity determination

批号	杂质检出数量（个）	2,2,3,4-三甲氧基苯甲酸（%）	杂质C（%）	杂质I（%）	杂质B（%）	最大单杂（%）	杂质总量（%）
988603	9	0.003	0.01	未检出	0.004	0.04	0.16
2380	8	0.001	0.01	0.03	0.080	0.02	0.13
1612	7	未检出	0.66	未检出	0.030	0.04	0.79
1613	7	未检出	0.63	未检出	0.050	0.04	0.78
1614	7	未检出	0.68	未检出	0.070	0.03	0.83

表5 ADMET预测各杂质毒性
Table 5. Toxicity of each impurity predicted by ADMET

化合物	吸收风险	代谢风险		毒性风险		成药性风险总分
	S+Absn_Risk	CYP_Risk	CYP_Code	Tox_Risk	Tox_Code	
盐酸曲美他嗪	0	1.906	1A2、2C19、2D6	0	—	1.906
杂质A	0	2.303	1A2、2C9、2C19、2D6	0	磷脂质病	2.303
杂质E	0	1.938	1A2、2C19、2D6	0	磷脂质病	1.938
杂质F	0	0.706	2C19、2D6	0	磷脂质病	0.706
杂质B	0.607	3.000	1A2、2C19、CL	0.159	心脏毒性	3.765
杂质C	0	1.000	1A2	2.000	生殖毒性	3.000
					肝脏不良反应	
杂质D	0	1.031	1A2、2C19	1.000	生殖毒性	2.031
					肝脏不良反应	
杂质H	0	1.102	1A2、2C19	1.000	急毒	2.102
杂质I	0	1.096	1A2、2C19	0	磷脂质病	1.158

3 讨论

溶出曲线和有关物质试验的结果显示，尽管国产盐酸曲美他嗪片通过工艺改进能使其溶出曲线与原研制剂达到一致，但工艺改进后的片剂中检出的杂质个数和杂质质量不仅与原研片存在差别，与工艺改进前的片剂也有差异，最为明显的即为杂质 C（1,2,3-三甲氧基苯甲醛）显著增加。通过查阅相关文献^[12]可知，曲美他嗪的合成多以 1,2,3-三甲氧基苯、1,2,3-三甲氧基苯甲醛或 1,2,3-三甲氧基苯甲醇等为原料，经氯甲基化、缩合、还原等途径，最后与浓盐酸成盐制得盐酸曲美他嗪。而国内厂家使用的盐酸曲美他嗪原料均由 1,2,3-三甲氧基苯甲醛与哌嗪为起始原料反应得到，杂质 C 实际为盐酸曲美他嗪合成的起始原料杂质。该杂质质量的增加说明企业在改进工艺时，

有可能在片剂制备过程中盐酸曲美他嗪原料被还原成 1,2,3-三甲氧基苯甲醛，从而导致杂质 C 显著增加。杂质毒性预测的结果表明，杂质 C 的毒性风险较高，因此工艺改进后片剂中杂质 C 的量明显增加可能导致药物的安全性风险增加。因此在国产盐酸曲美他嗪片的一致性评价中，还应开展原辅料、包装材料相容性、与有关物质相关的处方工艺的研究，找出上述杂质增加的原因所在，并持续优化工艺，同时在质量标准中增加对特定杂质 C 的控制要求。

相关文献^[13]显示，国内多数企业生产的盐酸曲美他嗪片溶出速度较国外原研片剂更快。该文献同时指出，通过 Gastrol PlusTM 软件建立体外相关模型并进行参数敏感性分析发现，药物渗透率是影响盐酸曲美他嗪体内吸收的关键参数。然而，Caco-2 细胞模型测定结果表明，盐酸曲美他嗪的

渗透率随浓度增加呈下降趋势。由此可推论：国产片剂的快速溶出可能因浓度差异导致渗透率变化，进而与原研片剂无法达到生物等效。因此，对快速溶出的盐酸曲美他嗪片进行工艺改进十分必要。而工艺改进后片剂的溶出度考察可较为直观地反映出改进后片剂能否与原研片生等效，同时通过有关物质检查能够说明该工艺改进的合理性。基于上述考察分析和本文试验的结果显示，工艺改进后的某国产企业生产的盐酸曲美他嗪片与原研片剂可能达到生物等效，但质量不等效，需进一步改进工艺，实现溶出曲线与有关物质均能与原研一致的目标。

参考文献

- 1 邹建军, 朱余兵, 程俊霖, 等. 盐酸曲美他嗪片的人体药动学[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(9): 705–708. [Zou JJ, Zhu YB, Cheng JL, et al. Pharmacokinetics of trimetazidine hydrochloride tablets[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2008, 28(9): 705–708.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-5213.2008.09.007.
- 2 王文浩, 张欣, 徐萍, 等. 曲美他嗪合成方法的改进[J]. 中国药物化学杂志, 2003, 13(4): 219–221. [Wang WH, Zhang X, Xu P, et al. Improved synthesis of trimetazidine hydrochloride[J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2003, 13(4): 219–221.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-0108.2003.04.008.
- 3 中国药典 2020 年版. 二部[S]. 2020: 1129.
- 4 The Janpan orange book [EB/OL]. (2022-07-10) [2023-10-19]. <http://www.fpmaj-saihyoka.com/cgi-bin/pdfsearch/pdfsearch.cgi?sub=header&action=listframe&key=%83Z%83t%83@%83N%83%8D%83%8B>.
- 5 青岛农业大学动物生理学常数数据库. TSRLinc 网站 BCS 分类[EB/OL]. (2017-03-28) [2025-06-11]. <https://vetbcs.qau.edu.cn/content/bcsuizong/4d4352ffc32143c2b000c84832a98e80>.
- 6 缪慧. 头孢克洛缓释片质量一致性评价[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2018. <https://cdmd.cnki.com.cn/article/cdmd-10337-1019828952.htm>.
- 7 陈沫, 陈礼峰, 周震宇, 等. 阿魏酸哌嗪片的溶出曲线考察[J]. 药学与临床研究, 2020, 28(6): 443–446. [Chen M, Chen LF, Zhou ZY, et al. Study of dissolution profiles of piperazine ferulate tablets[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2020, 28(6): 443–446.] DOI: 10.13664/j.cnki.pcr.2020.06.010.
- 8 顾玉兰, 沈琦. 建立奥美拉唑肠溶胶囊质量一致性评价方法[J]. 药学与临床研究, 2018, 26(6): 401–404. [Gu YL, Shen Q. Develop a method for quality consistency evaluation of omeprazole enteric-coated capsules[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2018, 26(6): 401–404.] DOI: 10.13664/j.cnki.pcr.2018.06.001.
- 9 BP2024[S]. 2024: 3697.
- 10 EP11.0[S]. 2024: 4761.
- 11 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 132–137.
- 12 郭江, 刘涛. 盐酸曲美他嗪的合成[J]. 淮海工业学院学报(自然科学版), 2012, 21(3): 30–32. [Guo J, Liu T. Synthesis of trimetazidine hydrochloride[J]. Journal of Jiangsu Ocean University (Natural Sciences Edition), 2012, 21(3): 30–32.] DOI: 10.3969/j.issn.1672-6685.2012.03.009.
- 13 鲍实, 吕晓君, 吕振兴, 等. 采用计算机模拟技术结合 Caco-2 细胞模型与溶出度试验考察国产盐酸曲美他嗪片的生物等效性[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(5): 43–446. [Bao S, Lyu XJ, Lyu ZX, et al. Study on the bioequivalence of trimetazidine hydrochloride tablets by using computer simulation technique combined with dissolution testing and Caco-2 cell monolayer models[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2019, 39(5): 439–446.] DOI: 10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacy.2019.05.04.

收稿日期: 2023 年 10 月 19 日 修回日期: 2025 年 04 月 01 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳