

注射用更昔洛韦及其原料的杂质谱分析

尧爱珉, 王 丽, 申兰慧

无锡市药品安全检验检测中心 (江苏无锡 214028)

【摘要】目的 探讨注射用更昔洛韦及更昔洛韦原料的杂质谱, 并比较各企业样品间的杂质情况。**方法** 采用 HPLC 法, 色谱柱为 CAPCELL PAK SCX UG80 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.05% 三氟乙酸水溶液 - 乙腈 (50 : 50), 流速为 1.5 mL · min⁻¹, 检测波长为 254 nm, 柱温为 40℃, 进样体积为 20 μL。进一步结合强制降解试验、影响因素试验和加速试验探讨杂质来源, 对含量超过 0.1% 的杂质进行质谱解析, 采用毒性预测软件进行杂质毒性评估。**结果** 更昔洛韦原料及制剂杂质谱显示共检出 19 个杂质峰, 5 个为已知杂质, 14 个为未知杂质, 对样品中检出含量超过 0.1% 的 5 个杂质和强制降解试验的主要杂质产物进行质谱解析; 强制降解试验表明氧化、酸性条件下样品更易降解产生杂质; 不同企业间原料、制剂的杂质谱均有差异, 同一企业不同批次原料杂质谱也有差异, 制剂的杂质主要来源于原料的合成过程, 制剂企业的生产工艺相对稳定; 与参比制剂 (赛美维) 相比, 国内产品杂质谱更复杂。**结论** 更昔洛韦原料企业应加强对生产工艺稳定性、产品杂质的含量及个数的控制, 以优化产品质量。

【关键词】 更昔洛韦; 注射用更昔洛韦; 抗病毒药; 杂质谱; 有关物质; 杂质来源; 质谱解析; 高效液相色谱法

Impurity spectrum analysis of ganciclovir for injection and its raw materials

Ai-Min YAO, Li WANG, Lan-Hui SHEN

Wuxi Institute for Drug Control, Wuxi 214028, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Ai-Min YAO, Email: yaoaimin0510@163.com

【Abstract】Objective To investigate the impurities of ganciclovir for injection and its raw materials, and compare the impurities among different batches of raw materials and preparations. **Methods** The HPLC method was performed on an CAPCELL PAK SCX UG80 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.05% trifluoroacetic acid solution-acetonitrile (50 : 50) at a flow rate of 1.5 mL · min⁻¹, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 40℃, and the injection volume was 20 μL. The source of impurities was discussed by means of degradation test, stress test, and accelerated test. The structure of impurities exceeding 0.1% was analyzed by mass spectrometry, and their toxicity was evaluated by toxicity prediction software. **Results** The impurity spectrum of ganciclovir showed that a total of 19 impurity peaks were detected, 5 were known impurities and 14 were unknown

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202308010

基金项目: 国家药品监督管理局化学药品杂质谱研究重点实验室开放课题项目 (NMPA-KLIPCD-2020-02)

通信作者: 尧爱珉, 硕士, 主管药师, Email: yaoaimin0510@163.com

<https://ywlxhb.whuzhmedj.com/>

impurities. The structures of 5 impurities with content greater than 0.1% were analyzed. Degradation test showed that ganciclovir was easier to degrade under oxidative or acidic conditions. The impurity spectrums of raw materials and preparations are different between different enterprises, and the impurity spectrums of different batches of raw materials in the same enterprise are also different. The related substances in preparations were mainly derived from raw materials and the production process of preparation enterprises is relatively stable. Compared with the reference preparation Cymevene, the impurity profiles of the domestic products were more complex. **Conclusion** Ganciclovir raw material enterprises should strengthen the control of the stability of the production process, strengthen the control of the content and number of impurities in the product, and optimize product quality.

【Keywords】 Ganciclovir; Ganciclovir for injection; Antiviral drug; Impurity spectrum; Related substances; Source of impurities; Structure analysis by MS; HPLC

更昔洛韦，化学名为 9-(1,3-二羟基-2-丙氧甲基)鸟嘌呤，结构式如图 1 所示，是核苷类病毒抑制药，具有广谱、高效抑制疱疹病毒的作用，由美国 Syntex 公司（现属于瑞士 Roche Bioscience）于 1980 年开发研制，并于 1988 年 6 月首次于英国上市^[1]。其制剂注射用更昔洛韦是一种在全球范围内广泛上市销售的抗病毒药物，临床上主要用于预防及治疗免疫功能缺陷患者的巨细胞病毒感染^[1-3]，并于 2018 年被列为国家基本药物目录品种^[4]。

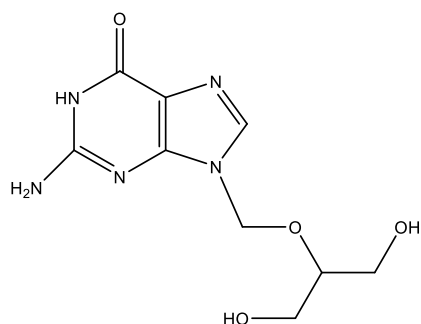


图1 更昔洛韦化学结构

Figure 1. Chemical structure of ganciclovir

中国药典 2020 年版二部^[5]已收载更昔洛韦原料和注射用更昔洛韦，美国药典 2021 年版^[6-7]对两者也均有收载，欧洲药典 10.0 版^[8]仅收载更昔洛韦原料。国内外药典均对有关物质进行控制，但存在明显差异。中国药典采用 C₁₈ 柱，流动相为甲醇-水体系，仅对杂质总量进行控制，未对更昔洛韦的工艺杂质或降解杂质进行针对性的控制。国外药典均采用强阳离子交换柱，流动相中均含有三氟乙酸，对多个特定杂质进行控制。国

内外文献报道多涉及临床应用^[9-11]、联合用药^[12-15]等方面，部分文献报道了更昔洛韦的特定杂质或有关物质检测方法^[16-20]，但多侧重于分析方法的建立和方法学验证方面，国内注射用更昔洛韦杂质谱及各企业产品杂质差异尚未见报道。

本研究共收集到注射用更昔洛韦 199 批，涉及批准文号 32 个，涉及生产企业 25 家；另获得更昔洛韦原料 19 批，涉及原料生产企业 5 家。为有效控制产品质量，降低用药风险，参考欧洲药典 10.0 版收载的有关物质方法，建立灵敏度高、分离效能好的强阳离子交换色谱方法，用于检测更昔洛韦原料及注射用更昔洛韦的有关物质；考察国内各企业产品的有关物质情况，与原研制剂的杂质谱进行比较，探讨杂质来源及化学结构，对药品中含量超过 0.1% 的杂质进行结构解析，并采用毒性预测软件对有关杂质进行毒性评估。从而有助于全面评价该品种药品质量，为其工艺优化及完善质量控制提供一定的参考依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司），包括四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站；Infinity 1290 超高效液相色谱仪 /6530A Q-TOF 联用质谱仪（美国 Agilent 公司），包括四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、四级杆飞行时间质谱仪、MassHunter 工作站；Thermo UltiMate 3000 型制备液相色谱仪（美国 Thermo 公司），包括双三元泵、进样器、柱温箱、可变波

长检测器、AFC3000 馏分收集器、Chromeleon 色谱工作站; Mettler Toledo XS-205 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Climacell 404 恒温恒湿箱(德国 MMM 公司); Derek Nexus 和 Sarah Nexus 毒性预测软件。

1.2 试剂

19 批更昔洛韦原料为 5 家原料企业生产, 199 批注射用更昔洛韦为 25 家制剂企业生产, 来源于 2021 年国家监督抽查, 其中进口参比制剂注射用更昔洛韦(赛美维, Cymevene) 1 批, 其上市许可持有人为 Cheplapharm Arzneimittel GmbH, 规格: 0.5 g, 批号: B8077B02; 更昔洛韦对照品(批号: 100380-201904, 含量 99.7%)、鸟嘌呤对照品(批号: 140631-201807, 含量 98.5%) 购自中国食品药品检定研究院; 更昔洛韦杂质混合物对照品(含杂质 A、B、C、D、E 和 F, 批号: 2) 购自 EDQM; 更昔洛韦杂质 A 对照品(批号: 20-G20151-04, 含量 99.1%)、更昔洛韦杂质 B 对照品(批号: 20-G20152-03, 含量 97.6%)、更昔洛韦杂质 C 对照品(批号: 20-G20153-03, 含量 97.1%)、更昔洛韦杂质 E 对照品(批号: 20-G20155-03, 含量 99.1%)、更昔洛韦杂质 H 对照品(批号: 19-G20157-04, 含量 98.6%)、更昔洛韦杂质 I 对照品(批号: 19-G20159-03, 含量 99.8%)、更昔洛韦杂质 J 对照品(批号: 19-G201510-08, 含量 98.3%) 均购自 RXA 公司; 乙腈、三氟乙酸和甲酸均为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 条件

色谱柱: OSAKA SODA CAPCELL PAK SCX UG80 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05% 三氟乙酸水溶液-乙腈(50:50); 流速: 1.5 mL · min⁻¹; 柱温: 40℃; 检测波长: 254 nm; PDA 扫描范围: 210~400 nm; 进样体积: 20 μL。

2.2 HPLC-MS 条件

2.2.1 色谱条件

色谱柱: OSAKA SODA CAPCELL PAK SCX UG80 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.5% 甲酸水溶液-乙腈(50:50); 流速: 1.5 mL · min⁻¹; 柱温: 30℃; 检测波长: 254 nm。

2.2.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI): 正离子模式; 毛细管电压: 4 000 V; 干燥气温度: 350℃; 雾化气压力: 50 psi; 干燥气流速: 10 L · min⁻¹。一级质谱扫描范围: m/z 50~1 000; 二级质谱扫描范围: m/z 50~600; 二级质谱碰撞能量: 20 eV。

2.3 溶液的配制

2.3.1 供试品溶液

分别精密称取各企业的原料及制剂粉末适量置量瓶中, 用“2.1”项下流动相溶解并稀释成每 1 mL 中含更昔洛韦约为 0.6 mg 的溶液, 即得。

2.3.2 对照溶液

精密量取供试品溶液适量, 用“2.1”项下流动相稀释成每 1 mL 中含更昔洛韦约为 0.6 μg 的溶液, 即得。

2.3.3 杂质 H、I、J 对照品定位溶液

取杂质 H、I、J 对照品适量, 分别用“2.1”项下流动相溶解, 并稀释制成每 1 mL 中含各杂质约为 0.6 μg 的溶液。

2.3.4 系统适用性溶液

取更昔洛韦对照品适量, 用“2.1”项下流动相溶解并制成每 1 mL 中约含更昔洛韦 0.6 mg 的溶液, 作为更昔洛韦对照品溶液; 取更昔洛韦杂质混合物 1 瓶(含杂质 A、B、C、D、E 和 F), 精密加入更昔洛韦对照品溶液 1 mL 使溶解, 作为系统适用性溶液。

2.4 系统适用性试验

取系统适用性溶液和杂质 H、I、J 对照品定位溶液, 按“2.1”项下 HPLC 条件进样分析, 更昔洛韦和各杂质的 HPLC 典型色谱图如图 2 所示。各杂质峰间、杂质峰和主成分峰间的分离度良好, 分离度均不小于 1.5, 其中杂质 J、I、A、B、C、D、E 于主成分前出峰, 杂质 H、F 于主成分后出峰。

2.5 杂质校正因子的测定

制备更昔洛韦及各杂质的线性系列溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 以各成分峰面积对浓度进行线性回归, 用更昔洛韦的斜率分别除以各杂质的斜率计算得各杂质的相对校正因子。在本研究的试验条件下测得, 更昔洛韦杂质 A、B、C、E、F、H、I、J 相对于更昔洛韦的校正因子分别为 1.1, 1.3, 1.2, 1.1, 0.7, 2.0, 1.5, 1.4。为更加准确地反映杂质含量, 计算均采用加校正因子的主成分自身对照法进行。

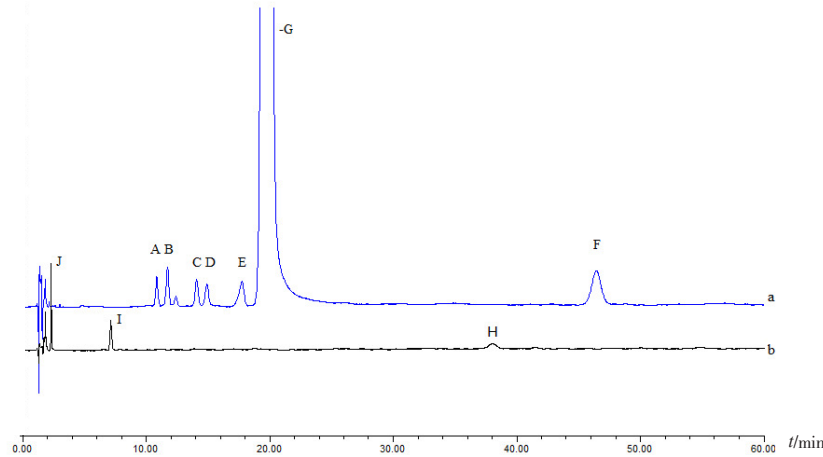


图2 系统适用性溶液和杂质对照品定位溶液典型色谱图

Figure 2. Chromatogram of system suitability test and impurity reference solution

注: a.系统适用性溶液; b.杂质H、I、J对照品定位溶液; A.杂质A; B.杂质B; C.杂质C; D.杂质D; E.杂质E; F.杂质F; G.更昔洛韦; H.杂质H; I.杂质I; J.杂质J

2.6 各企业原料、制剂有关物质测定情况

本次研究共获得 19 批更昔洛韦原料和 199 批注射用更昔洛韦,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下 HPLC 条件进样分析,按照加校正因子的主成分自身对照法计算杂质含量,测定结果见表 1。其中企业 1~5 为原料企业,企业 6~30 为制剂企业,企业 30 为参比制剂企业。

结果显示,大多企业样品中检出杂质 C、E、F,各企业样品均未检出杂质 A、B、I、J;同一企业生产同一批号不同地区提供的样品有关物质测定结果一致;同一原料企业生产的不同批次更昔洛韦原料,检出的有关物质杂质品种、个数和含量均存在一定差异;同一制剂企业生产的注射用更昔洛韦,部分批次产品的测定结果一致,部分批次产品间的杂质品种、个数和含量也存在一定差

异;参比制剂杂质谱最简单,仅检出 C、D、E、F 4 个已知杂质,未检出其他未知杂质。

2.7 影响因素和加速试验

选取 25 家制剂企业的代表性样品各 1 批,分别在强光(4 500 lx)、高温(60℃)试验条件下分别放置 5 d 和 10 d,高湿(相对湿度 92.5%,温度 25℃)试验条件下放置 5, 10, 30 d,加速(相对湿度 75%,温度 40℃)试验条件下放置 1 个月;另选取 5 家原料企业的原料各 1 批,分别在强光(4 500 lx)、高温(60℃)环境下放置 5 d 和 10 d,取出后按照“2.3”项下方法配制影响因素和加速试验溶液,进样测定,考察制剂杂质的变化情况。结果显示,更昔洛韦制剂及原料在上述影响因素或加速试验的条件下,有关物质各已知杂质、未知杂质及杂质总量均未发生明显变化。

表1 各企业样品有关物质测定结果

Table 1. Results of related substances in samples from different manufacturers

企业 编号	批次	杂质C		杂质D		杂质E		杂质H		杂质F		最大未知单杂 (%)	杂质总量 (%)
		检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)		
1	11	11	0.005~0.16	6	0.002~0.01	11	0.02~0.12	-	-	11	0.05~0.19	0.01~0.02	0.15~0.43
2	3	2	0.005~0.24	1	0.01	3	0.05~0.20	-	-	3	0.21~0.29	0.01~0.05	0.30~0.93
3	1	1	0.13	-	-	1	0.04	-	-	1	0.04	0.03	0.25
4	2	2	0.02	-	-	2	0.05	-	-	2	0.02~0.03	0.01~0.02	0.10~0.13
5	2	2	0.04	2	0.01	2	0.04	-	-	2	0.07~0.08	0.04	0.24
6	3	3	0.06~0.07	3	0.002~0.01	3	0.04~0.07	-	-	3	0.07~0.08	0.01~0.02	0.20~0.26
7	15	1	0.22	1	0.01	15	0.03~0.21	-	-	15	0.15~0.29	0.01~0.05	0.20~0.87
8	3	3	0.05~0.06	3	0.01	3	0.03	-	-	3	0.07~0.08	0.01~0.02	0.20~0.21

续表1

企业 编号	批次	杂质C		杂质D		杂质E		杂质H		杂质F		最大未知单杂 (%)	杂质总量 (%)
		检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)	检出 批次	含量 (%)		
9	10	10	0.08~0.15	2	0.004	10	0.02~0.11	-	-	10	0.07~0.16	0.02	0.30~0.37
10	13	13	0.06~0.13	-	-	13	0.05~0.13	-	-	13	0.08~0.10	0.01~0.02	0.24~0.36
11	4	4	0.02~0.06	1	0.003	4	0.04~0.06	-	-	4	0.02~0.16	0.01~0.02	0.10~0.32
12	6	2	0.005~0.01	3	0.003~0.005	6	0.04~0.06	-	-	6	0.14~0.25	0.01~0.02	0.21~0.34
13	1	1	0.003	1	0.003	1	0.02	-	-	1	0.08	0.01	0.13
14	11	11	0.04~0.05	11	0.01	11	0.02~0.04	-	-	11	0.08~0.10	0.01~0.03	0.21~0.25
15	39	39	0.02~0.05	39	0.004~0.03	39	0.02~0.04	-	-	39	0.06~0.11	0.01~0.03	0.14~0.28
16	18	17	0.004~0.01	3	0.003~0.004	18	0.04~0.05	7	0.08~0.22	18	0.04~0.16	0.01~0.14	0.22~0.54
17	3	3	0.07~0.17	1	0.001	3	0.02~0.13	-	-	3	0.09~0.11	0.02~0.03	0.34~0.36
18	2	2	0.07	2	0.01	2	0.03~0.04	-	-	2	0.07	0.01	0.21~0.23
19	5	5	0.04	5	0.005~0.01	5	0.02~0.03	-	-	5	0.06~0.08	0.02~0.03	0.18~0.20
20	2	2	0.01	2	0.004	2	0.02	-	-	2	0.08~0.09	0.01	0.14
21	11	11	0.02~0.06	-	-	11	0.05~0.14	-	-	11	0.01~0.04	0.01~0.03	0.12~0.30
22	6	6	0.07~0.15	-	-	6	0.02~0.11	-	-	6	0.07~0.11	0.02	0.31~0.34
23	4	4	0.06~0.16	1	0.003	4	0.01~0.06	-	-	4	0.09~0.12	0.01~0.02	0.22~0.35
24	2	2	0.11	-	-	2	0.09	-	-	2	0.09	0.02	0.35
25	8	8	0.004~0.02	3	0.001~0.002	8	0.01~0.03	-	-	8	0.01~0.16	0.002~0.03	0.05~0.23
26	4	4	0.02	-	-	4	0.01	-	-	4	0.01	0.002~0.004	0.04
27	15	15	0.03~0.16	-	-	15	0.01	-	-	15	0.07~0.11	0.01~0.03	0.20~0.36
28	11	11	0.05~0.06	11	0.003~0.01	11	0.03~0.04	-	-	11	0.08~0.09	0.01~0.03	0.20~0.23
29	2	-	-	-	-	2	0.04	-	-	2	0.14~0.16	0.01	0.21~0.22
30	1	1	0.05	1	0.01	1	0.02	-	-	1	0.14	-	0.22

注：“-”表示未检出

2.8 强制降解试验

取更昔洛韦适量，用 0.12 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液溶解并稀释制成每 1 mL 中含更昔洛韦约为 30 mg 的溶液，分别进行光照破坏（4 500 lx 光照 10 d）、高温破坏（水浴加热约 20 h）、碱破坏（加入等体积 1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液，置水浴中加热约 10 h，用 1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液调节 pH 至中性）、酸破坏（加入等体积 1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液，置水浴中加热约 2 min，用 1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液调节 pH 至中性）、氧化破坏（加入等体积 3% H₂O₂ 溶液，置水浴中加热约 5 min），并按“2.3”项下供试品溶液的方法配制强制降解试验溶液，按“2.1”项下 HPLC 条件进样分析，典型色谱图如图 3 所示。试验结果表明，各杂质峰间、杂质峰和主成分峰间的分离度均不小于 1.5，达到完全分离。

2.9 杂质结构分析

强制降解试验中，酸破坏的主要降解产物在更昔洛韦主峰相对保留时间 2.3 处，经酸较短时间破坏后即显著增多。经液相制备收集、质谱扫描并与杂质对照品质谱信息比对，发现该杂质 [M+H]⁺ 为 m/z 152.056 3，主要特征碎片离子为 m/z 135.030 0, 110.034 8，色谱质谱信息均与杂质 F 一致，推测该杂质为杂质 F，即鸟嘌呤，其二级质谱图和可能的裂解规律如图 4 所示。

氧化破坏的主要降解产物在更昔洛韦主峰相对保留时间 0.76 处，为新增杂质，经液相制备收集与质谱扫描，该杂质分子离子峰 [M+H]⁺ 为 m/z 272.099 1，其主要二级碎片离子为 m/z 168.050 9, 151.048 1 和 135.029 7，推测其结构为更昔洛韦嘧啶环上的氨基被氧化成羟胺基，其二级质谱图和可能的裂解规律如图 5 所示。

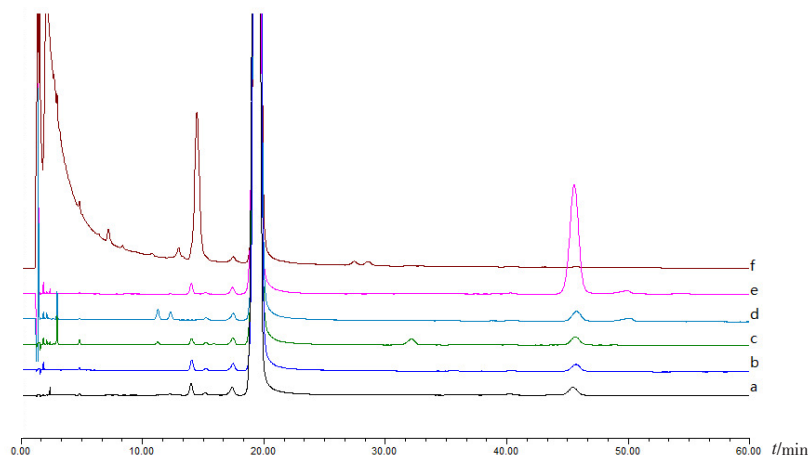


图3 强制降解试验典型色谱图

Figure 3. Typical chromatogram of degradation test

注: a.未破坏; b.光照破坏; c.高温破坏; d.碱破坏; e.酸破坏; f.氧化破坏

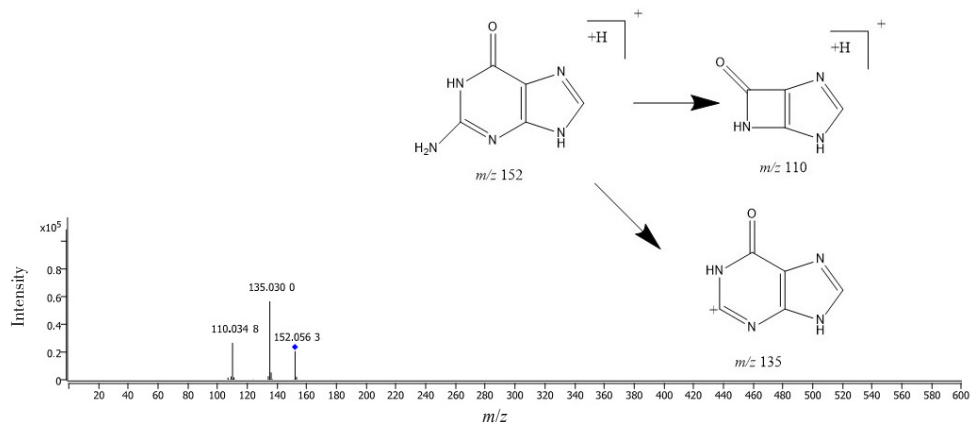


图4 酸破坏主要降解产物的二级质谱图及可能裂解途径

Figure 4. MS/MS spectrum and proposed fragmentation pathway of the major product in acid degradation

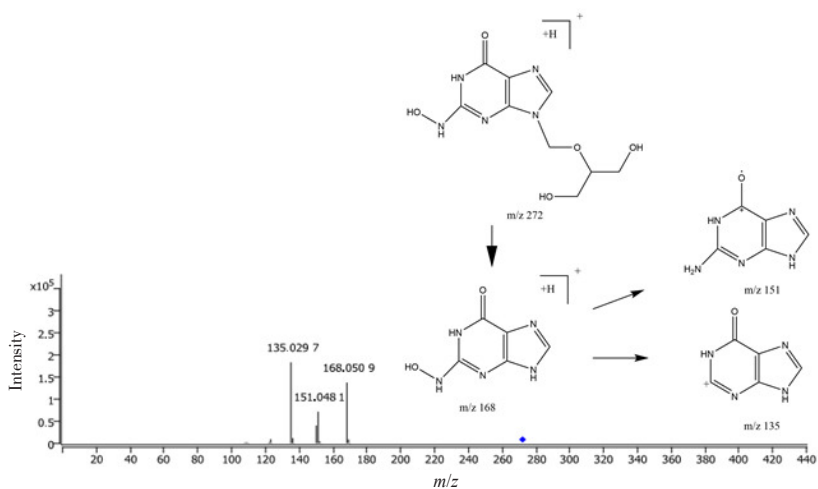


图5 氧化破坏主要降解产物的二级质谱图及可能裂解途径

Figure 5. MS/MS spectrum and proposed fragmentation pathway of the major product in oxidative degradation

此外，在 19 批更昔洛韦原料和 199 批注射用更昔洛韦制剂中，检出含量超过 0.1% 的杂质峰共有 5 个，经杂质对照品定位、液相制备收集及质谱信息比对，其中 4 个杂质峰分别推断为杂质 C、E、F、H；另一杂质峰为未知杂质 X。其余检出杂质峰含量均不超过 0.05%。经制备液相收集和质谱解析，未知杂质 X 分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 166.071 4，通过软件得到其可能的分子式为 $C_6H_7N_5O$ ；其主要二级碎片为 m/z 149.045 0，

124.050 3，推测其结构为 1- 甲基鸟嘌呤，其二级质谱图和可能的裂解规律如图 6 所示。

2.10 杂质峰检出情况及来源分析

19 批更昔洛韦原料和 199 批注射用更昔洛韦制剂中，共检出 19 个杂质峰，分离度较好，对各杂质峰的检出率和检出量汇总，并结合原料和制剂的测定结果比较、强制降解试验、影响因素和加速试验结果，对各检出峰及各已知杂质的来源进行分析，结果见表 2。

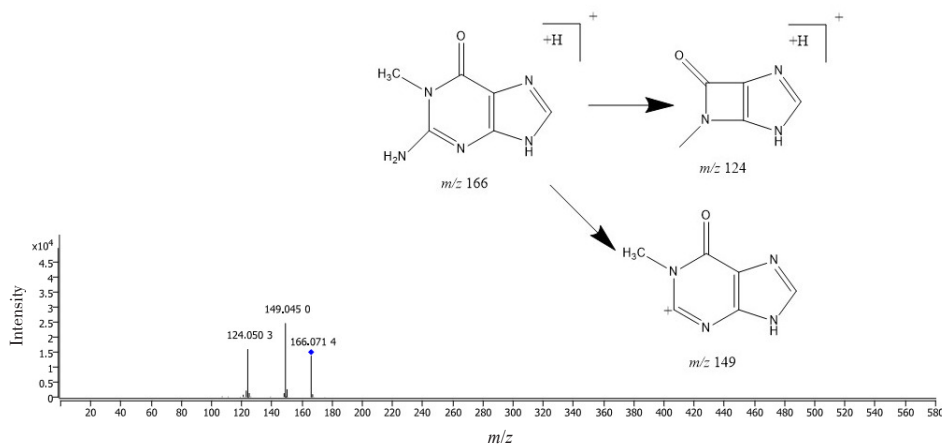


图6 未知杂质X的二级质谱图及可能裂解途径

Figure 6. MS/MS spectrum and proposed fragmentation pathway of impurity X

表2 供试品各杂质峰检出情况及来源分析

Table 2. Summary of the impurities and analysis of the source

名称	检出率 (%)	检出量 (%)	可能的来源
峰1	93.6	0.001~0.01	加热、碱降解；原料合成过程的副产物
杂质J	-	-	中间体未水解完全
峰2	47.2	0.001~0.04	加热、氧化降解；原料合成过程的副产物
峰3	5.5	0.001	酸降解
峰4	36.7	0.001~0.005	加热、氧化降解；原料合成过程的副产物
峰5	9.6	0.001	碱、高温、氧化降解
峰6	87.6	0.001~0.02	碱、高温、氧化降解；原料合成过程的副产物
峰7	0.9	0.001	未知
杂质I	-	-	中间体未水解完全
杂质A	-	-	起始物料引入产生副产物
峰8	50.9	0.001~0.03	碱、高温、氧化降解；原料合成过程的副产物
杂质B	-	-	中间体未水解完全
峰9	8.7	0.003~0.02	碱加热、酸、氧化降解，但在碱溶液室温放置中消失
峰10/杂质C	88.1	0.005~0.24	起始物料引入产生副产物
峰11/杂质D	46.8	0.001~0.03	起始物料引入产生副产物
峰12	80.3	0.002~0.05	高温降解；原料合成过程的副产物

续表2

名称	检出率 (%)	检出量 (%)	可能的来源
峰13/杂质E	100.0	0.008~0.21	起始物料引入产生副产物
峰14	46.8	0.002~0.02	氧化降解; 原料合成过程的副产物
峰15	18.3	0.004~0.02	原料合成过程的副产物
峰16	73.9	0.002~0.04	原料合成过程的副产物
峰17/杂质H	3.2	0.08~0.22	缩合反应过程引入的位置异构体
峰18/未知杂质X	75.2	0.003~0.14	原料合成过程的副产物
峰19/杂质F	100.0	0.007~0.29	酸、碱、高温降解; 原料合成过程的副产物

注: “—”表示未检出

2.11 杂质毒性预测

对各杂质采用 Derek Nexus (基于知识规则) 和 Sarah Nexus (基于统计学) 软件进行遗传毒性预测, 并根据人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) M7 指导原则^[21] 对其毒性分类: 1 类为已知致突变致癌物, 2 类为致癌性未知的已知致突变物 (细菌致突变阳性, 但无啮齿动物致癌性数据), 3 类为有与原料药结构无关的警示结构, 无致突变性数据, 4 类为有警示结构, 且与经测

试无致突变性的原料药及其相关化合物 (例如工艺中间体) 具有相同的警示结构, 5 类为无警示结构, 或虽有警示结构但有充分的数据证明无致突变性或无致癌性。结果显示, 杂质 I 和 X 未获得预测结果, 杂质 A 等 7 个杂质属遗传毒性 5 类, 没有警示结构; 而杂质 C 由于具有潜在危险的警示结构被预测为 3 类毒性杂质, 提示有待于对其进行进一步实验研究以评价其毒性风险。具体见表 3。

表3 杂质毒性预测结果

Table 3. Toxicity prediction results of the impurities

名称	Derek预测	Sarah预测	ICH M7分类	警示结构
杂质A			5	无
杂质B			5	无
杂质C			3	伯烷基卤化物
杂质D			5	无
杂质E			5	无
杂质F/鸟嘌呤			5	无
杂质H			5	无
杂质I			—	无
杂质J			5	无
杂质X/1-甲基鸟嘌呤			—	无

注: 表示阳性, 表示阴性, 表示不确定, “—”表示未知

3 讨论

3.1 强制降解试验结果

强制降解试验结果显示, 更昔洛韦在光照、加热及碱性条件下相对稳定, 在酸性和氧化条件下易发生较明显的降解, 提示样品在生产、存储和运输过程中应注意控制保存环境, 避免其在氧化和酸性条件下快速产生有关物质。

3.2 杂质J的可能误判

在供试品中检出的杂质峰 2 保留时间 2.43 min, 杂质 J 对照品保留时间 2.3 min, 两者保留时间十分接近。如采用欧洲药典 10.0 版更昔洛韦有关物质项下方法中规定的 10 μm 粒径色谱柱, 则有可能将该未知杂质峰 2 误判为已知杂质 J, 故本研究使用 5 μm 粒径色谱柱进行分析, 可改进分离。同时, 两者紫外吸收光谱完全不同,

杂质峰 2 的最大吸收波长为 259 nm, 杂质 J 则在 246 nm 和 293 nm 波长处有最大吸收, 也可通过杂质峰的 DAD 光谱图对两者加以区分。

3.3 样品测定结果分析

本研究未发现因供样地点不同导致的杂质水平差异, 表明在规定的储藏条件下保存, 杂质受抽样地影响较小。从杂质谱角度表现出部分原料企业的产品质量均一性不足; 而由数家制剂企业提供的信息显示, 同一制剂企业由相同批次更昔洛韦原料生产的不同批次制剂的杂质谱基本一致, 杂质质量一致, 表明制剂企业的生产工艺控制是相对稳定的。此外, 推测国内外更昔洛韦原料的合成路线和纯化工艺存在差异, 进口参比制剂对杂质的控制更好。

通过结合部分批次更昔洛韦原料和制剂的杂质情况对比发现, 制剂中的有关物质主要由更昔洛韦原料引入。同一制剂企业部分不同批次产品之间的杂质谱差异, 推测可能来源于不同批次原料的杂质谱差异。更昔洛韦原料的杂质谱和杂质含量可能直接影响注射用更昔洛韦的杂质情况, 因而更昔洛韦原料生产企业应加强对原料相关生产工艺稳定性的控制, 提升产品质量水平。

参考文献

- 1 傅绍军, 朱利民, 洪枫. 抗巨细胞病毒药物 - 更昔洛韦 [J]. 国外医药 (抗生素分册), 2004, 25(6): 282-286. [Fu SJ, Zhu LM, Hong F. Anti cytomegalovirus drug-ganciclovir[J]. World Notes on Antibiotics, 2004, 25(6): 282-286.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-8751.2004.06.010.
- 2 李春元. 更昔洛韦的临床应用进展 [J]. 国外医药 (合成药 . 生化药 . 制剂分册), 1998, 19(3): 172-175. [Li CY. Clinical practice progress of ganciclovir[J]. World Clinical Drugs, 1998, 19(3): 172-175.] DOI: CNKI:SUN:GWHH.0.1998-03-018.
- 3 柴铁, 楼方定, 韩晓萍. 注射用更昔洛韦治疗巨细胞病毒感染临床观察 [J]. 中国实用内科杂志, 1996, (9): 561-562. [Chai T, Lou FD, Han XP. Clinical observation of ganciclovir injection in the treatment of cytomegalovirus infection[J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 1996, (9): 561-562.] DOI: CNKI:SUN:SYNK.0.1996-09-035.
- 4 国家卫生健康委员会, 国家中医药管理局. 关于印发国家基本药物目录 (2018 年版) 的通知 [EB/

- OL]. (2018-10-30) [2021-04-29]. http://www.gov.cn/fuwu/2018-10/30/content_5335721.htm.
- 5 中国药典 2020 年版 . 二部 [S]. 2020: 561, 563.
- 6 The United States Pharmacopeial Convention. Ganciclovir[EB/OL]. (2020-05-01) [2021-04-29]. https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-B7A7C225-61CC-43CC-8E74-5AB74BE23C48_4_en-US.
- 7 The United States Pharmacopeial Convention. Ganciclovir for Injection[EB/OL]. (2018-05-01) [2021-04-29]. https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-BB4B3B79-CCA8-4456-BACE-042FA8995A99_3_en-US.
- 8 EP10.0th ed[S]. 2019: 2735-2737.
- 9 赵杰, 张冠东, 薛智民, 等. 更昔洛韦儿童用药安全失效模式筛选及分析 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 770-773. [Zhao J, Zhang GD, Xue ZM, et al. Screening and analysis of safety failure modes of ganciclovir in pediatric drug therapy[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2018, 35(5): 770-773.] DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.032.
- 10 张文朋, 朱雪菲, 肖艳辉. 更昔洛韦注射剂治疗造血干细胞移植术后巨细胞病毒性视网膜炎 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(21): 4574-4577. [Zhang WP, Zhu XF, Xiao YH. Ganciclovir injection for the treatment of cytomegalovirus retinitis after hematopoietic stem cell transplantation[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2020, 40(21): 4574-4577.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.21.030.
- 11 马艳玲, 李士清, 李燕飞, 等. 玻璃体腔注射更昔洛韦治疗 AIDS 合并巨细胞病毒性视网膜炎患者视力改善的效果 [J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(7): 1056-1060. [Ma YL, Li SQ, Li YF, et al. Effect of intravitreal injection of ganciclovir on treatment of AIDS patients complicated with cytomegalovirus retinitis and improvement of vision[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2021, 31(7): 1056-1060.] DOI: 10.11816/cn.ni.2021-202106.
- 12 王建欣, 黄志云, 郭俊利, 等. 注射用盐酸头孢甲肟与更昔洛韦的配伍稳定性考察 [J]. 中国药房, 2015, 26(29): 4066-4068. [Wang JX, Huang ZY, Guo JL, et al. Compatible stability of cefmenoxime for injection with ganciclovir for injection[J]. China Pharmacy, 2015, 26(29): 4066-4068.] DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.29.12.
- 13 张琬雯, 李玲, 卜凤娇, 等. 更昔洛韦联合中药治疗单纯疱疹病毒性角膜炎的系统评价 [J]. 国际眼科杂志,

- 2018, 18(7): 1206–1210. [Zhang XW, Li L, Bu FJ, et al. Systematic reviews of ganciclovir combined with traditional Chinese medicine for herpes simplex keratitis[J]. International Eye Science, 2018, 18(7): 1206–1210.] DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.7.09.
- 14 刘阳, 朱彩花, 张靖, 等. 蒲地蓝口服液联合更昔洛韦对痰热炽盛型传染性单核细胞增多症患者心肌损伤及免疫功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6): 1514–1517. [Liu Y, Zhu CH, Zhang J, et al. Effect of combination of pudilan oral liquid and ganciclovir on myocardial injury and immune function in children with infectious mononucleosis with phlegm heat syndrome[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(6): 1514–1517.] DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2019.06.060.
- 15 陈保疆, 李衬, 常贵珍, 等. 健脾祛湿解毒汤联合更昔洛韦对带状疱疹病毒感染患者 BDNF、MITOL 的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(3): 341–345. [Chen BJ, Li C, Chang GZ, et al. Effect of Jianpi Qu Diedu Decoction combined with ganciclovir on BDNF, MITOL in patients with herpes zoster virus infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2022, 32(3): 341–345.] DOI: 10.11816/cn.ni.2022-211144.
- 16 梁翠荣, 徐志洲, 董蓬. HPLC 测定更昔洛韦中有关物质的含量[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(2): 135–137. [Liang CR, Xu ZZ, Dong P. Determination of ganciclovir and its related substances by HPLC[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2004, 35(2): 135–137.] DOI: 10.3321/j.issn:1000-5048.2004.02.009.
- 17 汪秋兰, 丁冠军, 王文清, 等. 改进 HPLC 法测定更昔洛韦氯化钠注射液中的有关物质[J]. 中国药师, 2019, 22(3): 572–575. [Wang QL, Ding GJ, Wang WQ, et al. Determination of the related substances in ganciclovir sodium chloride injection by improved HPLC[J]. China Pharmacist, 2019, 22(3): 572–575.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2019.03.050.
- 18 翟宇, 王宁, 杨静, 等. 高效液相色谱法测定注射用更昔洛韦中鸟嘌呤杂质的方法学研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2019, 41(9): 961–965. [Zhai Y, Wang N, Yang J, et al. Determination and methodology research of related substances in ganciclovir for injection by HPLC[J]. Journal of Ningxia Medical University, 2019, 41(9): 961–965.] DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2019.09.023.
- 19 汪海宣, 桑晓斌, 许倩. 高效液相色谱法测定更昔洛韦中 6 种嘌呤类杂质[J]. 化学分析计量, 2020, 29(4): 40–45. [Wang HX, Sang XB, Xu Q. Determination of six kinds purines impurities in ganciclovir by high performance liquid chromatography[J]. Chemical Analysis and Meterage, 2020, 29(4): 40–45.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-6145.2020.04.009.
- 20 王芳, 孟维旭, 郭兴杰. HPLC 法检查更昔洛韦眼用凝胶中的有关物质[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(3): 255–261. [Wang F, Meng WX, Guo XJ. Determination of related substances in ganciclovir ophthalmic gel by HPLC[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2022, 39(3): 255–261.] DOI: 10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2020.1412.
- 21 ICH. M7 Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk[EB/OL]. (2017-03-31) [2021-09-23]. https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf.

收稿日期: 2022 年 05 月 26 日 修回日期: 2023 年 04 月 05 日

本文编辑: 钟巧妮 周璐敏