

# 国产与进口鲑鱼降钙素鼻喷剂质量比较

【作者】 任晓蕾 于芝颖 李玉珍  
北京大学人民医院 (北京 100044)

【中图分类号】 R917

【文献标识码】 A

骨质疏松症 (osteoporosis) 是指单位体积内骨量减少, 骨结构改变, 导致脆性增加甚至骨折。临床表现为骨密度 (BMD) 降低, 骨皮质变薄, 髓腔增宽, 骨小梁变少, 易于折断。骨质疏松症可分为原发性和继发性两种。前者指老年性及绝经后骨质疏松症, 后者与多种因素有关, 例如内分泌紊乱、营养缺乏、药物应用、肝肾疾病、酒精中毒等。流行病学调查显示, 该病在亚洲和拉丁美洲的发病率最高。60 岁以上的白人妇女中骨质疏松症患病率为 25%~50%<sup>[1]</sup>。随着中国社会经济的发展, 老龄化也成为中国社会的主要问题。我国 60 岁以上的老年人已达 1 亿多, 初步估计约有 3000 万人患有骨质疏松症, 因此骨质疏松症已成为威胁老年人健康的一大疾病。骨质疏松的治疗包括药物治疗和非药物治疗两部分。非药物治疗措施包括: 运动、饮食 (摄入钙和维生素 D)、提高饮用水中氟含量、不嗜酒、戒烟、避免咖啡和食盐过量。治疗药物有两大类: 一类是抑制骨吸收, 如雌激素、雷洛昔芬、降钙素、二膦酸盐; 另一类是骨形成促进剂, 如氟化物、钙制剂、维生素 D 及其衍生物。

降钙素 (calcitonin, CT) 鼻喷剂或非胃肠道制剂是治疗椎骨骨折所致疼痛的一线药物<sup>[2]</sup>。长期以来临床常用的降钙素鼻喷剂主要是进口品种, 近年来市场上也有国产鼻喷剂供应。本实验从药剂学的角度, 比较国产鲑鱼降钙素鼻喷剂与进口鼻喷剂的质量和稳定性。

## 1 仪器与药品

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪 [P680A LPG 二元泵, CM-

PCS-2 (basic s/w with LC control+TB) 控制软件系统, UV-VIS spectrophotometer UVD170S 四通道紫外检测器 Dionex, 德国]、色谱柱 (Kromasil-C<sub>18</sub>, 柱长 250mm×4.6mm, 5μm)、恒温培养箱 (MB-160B, 上海福玛公司)、酸度计 (HANNA PH201, Hungary)。

### 1.2 药品

鲑鱼降钙素对照品 (lot 122k49533, purity 100%, peptide 84%, 50μg, Sigma), 鲑鱼降钙素鼻喷剂 (进口, 批号: H4021、H4045、H5003A), 鲑鱼降钙素鼻喷剂 (国产, 批号: 030903、040902、050101)。甲醇、乙腈均为色谱纯, 水为高纯水, 四甲基氢氧化铵及其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 国产和进口鼻喷剂质量比较

2.1.1 酸度 取本品 2mL, 依法测定 (中国药典 2005 年版二部附录 VI H), pH 值应为 3.5~4.5。

2.1.2 总装量 取供试品 5 瓶, 按照最低装量检查法 (中国药典 2005 年版二部附录 X F) 中重量法检查, 应符合规定。

2.1.3 每瓶总揞次及每揞喷射量 取供试品 3 瓶, 除去胶盖, 精密称重, 每喷射一次, 擦净, 再次精密称重, 用减重法测定每揞量, 每瓶总揞次不得少于标示总揞次。每揞喷射量应为标示量的 80%~120%。

2.1.4 含量测定 色谱条件<sup>[3]</sup> 按照高效液相色谱法 (中国药典 2005 年版二部附录 I L) 测定。流动相 A: 以 0.181%W/V 四甲基氢氧化铵-乙腈 (100:150), 用磷酸调节 pH 值至 2.5; 流动相 B: 以

0.181%W/V 无水四甲基氢氧化铵 - 乙腈 (450:50), 用磷酸调节 pH 值至 2.5; 按表 1 梯度程序检测; 流速为 1.0mL/min; 柱温为 40℃; 检测波长为 220nm。理论塔板数按鲑鱼降钙素峰计算应不低于 5000。

表 1 高效液相色谱法检测梯度

时间 (min)	0	21	36	41
流动相 A (%)	35	57	35	35
流动相 B (%)	65	43	65	65

线性范围: 取每 1mL 含鲑鱼降钙素 4.0、8.0、12.0、16.0、20.0μg 的标准品溶液, 分别取 200μL 注入高效液相色谱仪, 记录图谱, 测定其峰面积, 并以峰面积对进样量进行回归, 在 4.0~20.0μg/mL 范围内, 鲑鱼降钙素进样量与峰面积呈良好线性关系, 回归方程为:  $C=1.27A-1.57$ ,  $r=0.9997$ 。

精密度实验: 取 9.18μg/mL 的标准品溶液 200μL, 注入高效液相色谱仪, 重复进样 6 次, RSD 为 1.55%。实验结果表明精密度良好。

测定: 配制标准品溶液, 按标示肽含量计, 取鲑鱼降钙素标准品, 加入盐酸溶液 (pH=3.7), 稀释成每 1mL 含 10μg 的溶液, 摇匀备用。配制供试品溶液, 精密吸取鲑鱼降钙素鼻喷剂样品一定量 (国产药 0.2mL、进口药 0.1mL), 加稀释液定容至 5mL 容量瓶中, 摇匀备用。照上述色谱条件, 精密吸取本品与标准品溶液各 200μL, 注入色谱仪, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算, 即得。

2.1.5 有关物质按照含量测定项下方法 取供试品 200μL 注入色谱仪, 记录除主峰外杂峰面积。若显杂峰, 各杂峰面积之和不得超过主峰面积的 5%。

2.1.6 每揞主药含量 含量测定项下测得的样品浓度与每揞平均喷量的乘积则为每揞主药含量。每揞主药含量应为标示量的 90%~115%。

2.2 40℃加速试验

取实验和对照鲑鱼降钙素鼻喷剂各 3 个批号, 每个批号各 9 支, 于 40℃恒温箱中放置, 分别于第 0、5、10d 取样, 参照各项下条件测定 pH 值、有

关物质、含量、每瓶总揞次及每揞喷射量。

2.3 模拟运输及使用条件下鲑鱼降钙素鼻喷剂的稳定性实验

2.3.1 色谱条件<sup>[3]</sup> 流动相 A: 以 0.402%W/V 四甲基氢氧化铵-乙腈 (9:1) 用磷酸调节 pH 值至 2.5。流动相 B: 以 0.363%W/V 四甲基氢氧化铵-乙腈 (2:3) 用磷酸调节 pH 值至 2.5。

检测波长 220nm, 梯度洗脱程序见表 2:

表 2 稳定性实验梯度洗脱程序

时间 (min)	0	21	30
流动相 A (%)	65	43	65
流动相 B (%)	35	57	35

线性范围: 取含鲑鱼降钙素 5.0、10.0、15.0、20.0、25.0μg/mL 的标准品溶液, 分别取 200μL 注入高效液相色谱仪, 记录图谱, 测定其峰面积, 并以峰面积值为横坐标, 进样浓度 (μg/mL) 为纵坐标进行回归分析, 得标准曲线方程:  $C=0.6714A+0.9651$ ,  $r=0.9996$ 。以上结果表明, 在 5~25μg/mL 范围内鲑鱼降钙素峰面积值与浓度有良好的线性关系。

精密度实验: 取 10.5μg/mL 的标准品溶液 200μL 注入高效液相色谱仪, 重复进样 6 次, 测得 RSD 为 0.89%, 符合定量测定要求。

2.3.2 降钙素 C 和其他杂质 采用 2.3.1 项下色谱条件, 进样量 200μL, 降钙素 C 峰为溶剂峰与主峰间的最大峰, 与主峰相对保留时间为 0.5~0.8, 与鲑鱼降钙素峰的分离度应大于 3.0。采用面积归一化方法定量。

2.3.3 试验过程 取国产和进口鲑鱼降钙素鼻喷剂样品各 1 批, 国产鼻喷剂 12 支, 进口鼻喷剂 9 支, 放置于 25℃, 相对湿度 60%恒温箱中 3d (取样点 1), 取出后于 5℃冰箱中冷藏 2 星期, 取出样品, 进口药品再于 25℃恒温箱中放置 2 星期, 国产药品放置 4 星期 (取样点 2)。在取样点 1 和取样点 2 分别取样。参照各项下条件, 测定含量, 有关物质和 pH 值。另外于 40℃、60℃, 相对湿度 60%条件下开始重复以上实验过程。

2.4 酸度、装量、每瓶总揞次及每揞喷射量

取 3 个批号的国产药品和 2 个批号的进口药品各 3 瓶（总装量检查实验取样为 5 瓶），按照 2.1、2.2 项下内容测定样品酸度、总装量、每瓶总揞次及每揞喷射量。实验数据见表 3。国产药与进口药 pH 值、总揞次、每揞喷射量、总装量均符合规定。但是国产鼻喷剂 3 批药品每瓶有效喷量分别为（703.2±15.5）、（681.9±16.3）、（710.6±16.0）μg，比进口鼻喷剂（476.2±5.9）、（484.5±11.2）μg 含量高 40%。

2.5 40℃加速实验

国产与进口药品 40℃，10d 加速实验结果见表 4。10d 加速实验后，国产与进口鼻喷剂的 pH 和鲑鱼降钙素含量都没有显著变化（P>0.05）。不同批号药品之间有关物质含量相差较大，但是均符合质量标准规定。

2.6 在模拟运输及使用条件下鲑鱼降钙素鼻喷剂的稳定性实验

在模拟运输及使用条件下鲑鱼降钙素鼻喷剂的 pH、降钙素、降钙素 C 含量见表 5。由表 5 可见，进口药和国产药经过不同起始温度的储存后，pH 值没有发生显著变化（P>0.05）。国产与进口鲑鱼

表 3 国产与进口鲑鱼降钙素鼻喷剂酸度、总装量、每瓶总揞次及每揞喷射量比较 (n=3)\* x±s

	国产药批次			进口药批次	
	030903	040902	050101	H4021	H4045
pH	3.94±0.03	3.98±0.03	3.90±0.06	3.92±0.05	4.16±0.07
每瓶药液总装量 (g)	3.552±0.031	3.552±0.031	3.541±0.043	2.055±0.048	2.022±0.042
每瓶总揞次 (次)	33±1.7	32.3±1.5	33±1	14±0	16.3±2.3
每揞喷射量 (mg)	94.53±2.60	92.80±3.15	92.46±2.19	89.48±4.17	89.65±1.36
每揞主药含量 (μg)	21.31±0.47	21.11±0.49	21.53±0.48	34.02±0.18	34.61±0.34
每瓶主药有效喷量 (μg)	703.2±15.5	681.9±16.3	710.6±16.0	476.2±5.9	484.5±11.2
每瓶主药总装量 (μg)	805.2±7.2	806.3±7.2	819.9±10.1	785.4±18.4	786.4±16.6

\* 每瓶药液总装量：n=5，按最低装量检查法测定。  
总揞次：国产药品标示为 28 喷的剂量，进口药品标示为 14 喷剂量  
每揞主药含量 = 鲑鱼降钙素浓度测定值×每揞喷射量/鲑鱼降钙素鼻喷剂溶液密度（ρ= 1.0）  
每瓶主药有效喷量 = 每揞主药含量×每瓶总揞次  
每瓶主药总装量 = 每揞主药含量×每瓶总装量/鲑鱼降钙素鼻喷剂溶液密度（ρ=1.0）

表 4 国产和进口鼻喷剂 40℃加速试验结果 (n=3)

批号	pH (x±s)			含量 (%)		有关物质 (%) (x±s)		
	0d	5d	10d	5d	10d	0d	5d	10d
030903	3.94±0.03	3.94±0.03	3.99±0.01	101.6±1.98	101.3±1.41	1.084±0.387	0.855±0.288	1.13±1.00
040902	3.98±0.03	3.94±0.05	3.96±0.02	103.3±2.16	98.94±0.66	0.849±0.146	0.481±0.036	0.83±0.33
050101	3.90±0.06	3.95±0.02	3.97±0.02	100.5±3.06	99.13±0.73	0.472±0.147	0.383±0.090	0.75±0.48
H4021	3.92±0.05	3.87±0.06	3.97±0.01	100.6±0.37	99.27±3.32	0.424±0.093	0.699±0.021	1.84±1.56
H4045	4.16±0.07	4.26±0.01	4.12±0.02	99.46±0.28	100.7±1.18	0.404±0.282	0.302±0.053	0.273±0.202

表 5 3 个温度条件下鲑鱼降钙素鼻喷剂的 pH 值、降钙素以及降钙素 C 含量

温度		pH			降钙素含量 (%)		降钙素 C 含量 (%)	
		0d	3d	3d+储存期 *	3d	3d+储存期	3d	3d+储存期
国产药	25℃	3.98±0.04	4.07±0.02	3.99±0.01	100.7±1.31	96.90±0.52	0.575±0.363	0.536±0.271
	40℃	3.98±0.04	4.09±0.00	4.01±0.00	100.1±0.40	95.89±1.77	0.871±0.004	0.753±0.080
	60℃	3.98±0.04	4.08±0.01	3.98±0.05	99.35±0.91	94.70 ± 0.92	0.860±0.155	0.054±0.010
进口药	25℃	3.88±0.00	3.87 ± 0.03	3.88 ± 0.03	104.3±0.85	98.51±1.16	0.654±0.124	0
	40℃	3.88±0.00	3.89±0.01	3.91±0.07	101.2±0.93	97.40±1.43	0.962±0.066	0.962
	60℃	3.88±0.00	3.89±0.00	3.88±0.02	99.70±1.34	95.68±0.46	0.736±0.025	0.797±0.098

\* 国产药储存期为 4 周，进口药储存期为 2 周。

降钙素鼻喷剂经过模拟运输和使用条件后,含量明显下降,最终含量进口药大于95%,国产药接近95%。降钙素C含量也符合规定。

### 3 讨论

3.1 国产与进口鼻喷剂每瓶主药含量、每瓶总嗽次均符合规定(YBH05252003, 鲑鱼降钙素鼻喷剂标准, 国家食品药品监督管理局)。国产鼻喷剂的有效喷量比进口鼻喷剂有效喷量高40%,按照产品价格/单位有效剂量计算,国产药品比进口药品具有较高的性能价格比。

3.2 经过40℃恒温加速实验,国产与进口鼻喷剂含量变化不明显,有关物质变化不规律,两者均符合质量标准规定。经过模拟运输及使用条件,国产药和进口药两者含量均有所下降,提示产品在运输过程中应该严格按照“冷藏链”的要求,保证药物

的储存条件,避免药效降低。另外,在药物使用过程中,药师应该提醒患者,药物开始使用后,按照药品说明书中的条件储存和使用,国产药品在开始使用后4星期内用完,进口药品应该在2星期内用完。药品如果长时间打开而不使用,药效将会下降。在药品说明书规定时间内使用可以保证有效剂量。

### 【参考文献】

- [1] 甄健存. 骨质疏松症的药物治疗与评价. 中国新药杂志, 1997, 6 (1): 33
- [2] Brown JP, Josse RG, et al. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. CMAJ, 2002, (Suppl.10): S1-S34
- [3] British Pharmacopoeia commission. British pharmacopoeia [S]. 2002 Edition. London; the stationery office, 2002, 2141

(上接第53页)

- [19] Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, et al. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. J Infect Dis, 2004, 190: 641-649
- [20] Kwak EJ, Husain S, Obman A, et al. Efficacy of galactomannan antigen in the Platelia Aspergillus enzyme immunoassay for diagnosis of invasive aspergillosis in liver transplant recipients. J Clin Microbiol, 2004, 42: 435-438
- [21] Rohrich P, Sarfati J, Mariani P, et al. Prospective sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for serum galactomannan: early predictive value and clinical use in invasive aspergillosis. Pediatr Infect Dis J, 1996, 15: 232-237
- [22] Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive aspergillosis. J Clin Microbiol, 1999, 37: 3223-3228
- [23] Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, et al. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. Blood, 2001, 97: 1604-1610
- [24] Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1→3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. J Clin Microbiol, 2005, 43: 299-305
- [25] Richardson MD, Kokki MH. New perspectives in the diagnosis of systemic fungal infections. Ann Med, 1999, 31 (2): 327
- [26] Lass-Flörl C, Gunsilius E, Gastl G, et al. Clinical evaluation of Aspergillus-PCR for detection of invasive aspergillosis in immunosuppressed patients. Mycoses, 2005, 48 (Suppl.1): S12-S17
- [27] Kami M, Fukui T, Ogawa S, et al. Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. Clin Infect Dis, 2001, 33 (9): 1504-1512
- [28] Yamakami Y, Hashimoto A, Tokimatsu I, et al. PCR detection of DNA specific for aspergillus species in serum of patients with invasive aspergillosis. J Clin Microbiol, 1996, 34 (10): 2464-2468
- [29] 中华内科杂志编辑委员会. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则 (草案). 中华内科杂志, 2006, 45 (8): 697-700