

文章编号: 1001-8689(2022)07-0691-06

曲安奈德益康唑乳膏处方及微观结构特性评价的比较研究

沈丹丹^{1,2} 吴群^{1,2} 沈川³ 姜学美^{1,2,*}

(1 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2 重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121;

3 重庆綦江区人民医院, 重庆 401420)

摘要: **目的** 为曲安奈德益康唑乳膏一致性评价参比制剂(reference listed drug, RLD)的选择及质量等同性评价提供依据。**方法** 采用逆向工程解析不同产地上市的原研产品、地产化产品派瑞松®和国产仿制药产品邦力®处方, 比较处方(Q₁)和关键功能性辅料的处方用量(Q₂)的差异; 并采用光学显微镜和冷镜露点法考察微观结构特性(Q₃)差异。**结果** 地产化产品派瑞松®与法国上市产品Pevisone®Q₁相同但Q₂不同; 国产仿制药产品邦力®与地产化产品派瑞松® Q₁、Q₂及Q₃均不一致, 两者产品Q₃的差异可能是由于Q₁和Q₂不同引起的。**结论** 地产化产品派瑞松®不适宜作为本品一致性评价的RLD, 建议国内生产企业选择Pevisone®为RLD, 实现与参比制剂的Q₁、Q₂及Q₃一致, 从而豁免生物等效性研究。

关键词: 曲安奈德益康唑乳膏; 处方(Q₁); 处方用量(Q₂); 微观结构特性(Q₃)

中图分类号: R917 **文献标志码:** A

Comparative study on the ingredients and microstructure arrangement of triamcinolone acetonide and econazole nitrate cream

Shen Dan-dan^{1,2}, Wu Qun^{1,2}, Shen Chuan³, and Jiang Xue-mei^{1,2}

(1 Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121; 2 Chongqing Research Center for Drug Process and Quality Control Engineering, Chongqing 401121; 3 Chongqing Qijiang District Hospital, Chongqing 401420)

Abstract Objective To provide the research basis for the selection of reference listed drug (RLD) and quality equivalence evaluation of triamcinolone acetonide and econazole nitrate cream. **Methods** The ingredients of the original product listed in different origins, localized product, and domestic generic drug were analyzed by reverse engineering, and the difference between qualitative (Q₁) and quantitative (Q₂) composition of inactive ingredients were compared; the difference of microstructure arrangement (Q₃) were investigated by the optical microscope and chilled-mirror dew-point method. **Results** The Q₁ of localized product 派瑞松® was the same as the French marketed product Pevisone®, but the Q₂ was different; the Q₁, Q₂, and Q₃ were not the same between the domestic generic drug and the localized product, and the difference in Q₃ between the two products might be due to Q₁ and Q₂. **Conclusion** The localized product 派瑞松® is not suitable as the RLD for the consistency evaluation of this product. Pevisone® is recommended as the RLD, and generic drugs may be suitable for a biowaiver by demonstrating similar Q₁, Q₂, and Q₃ as the RLD.

Key words Triamcinolone acetonide and econazole nitrate cream; Qualitative (Q₁); Quantitative (Q₂); Microstructure Arrangement(Q₃)

收稿日期: 2021-01-13

基金项目: 重庆市科研机构绩效引导专项(No. cstc2019jxj1130034)

作者简介: 沈丹丹, 女, 生于1986年, 硕士, 工程师, 研究方向为药物分析, E-mail: 499258077@qq.com

*通讯作者, E-mail: 11535442@qq.com

经皮给药制剂已成为除口服制剂、注射给药制剂外临床最常用制剂,包括透皮制剂和皮肤局部外用制剂,皮肤局部外用制剂旨在作用于皮肤或皮肤组织产生局部治疗作用的药物,其中常用的多为半固体制剂,如软膏、乳膏、凝胶等。2018年7月11日,药品审评中心(CDE)发布了《新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求(征求意见稿)》^[1],与FDA的多个局部外用制剂生物等效性评价指南草案^[2-3]及Shah博士^[4]提出的局部药物分类系统(topical drug classification system, TCS)的评价思路基本一致,即处方(Q_1)、处方用量(Q_2)和微观结构特性(Q_3)与参比制剂(reference listed drug, RLD)均相同时可采用体外研究替代体内研究,对尚未启动一致性评价的皮肤局部外用制剂提出了研究方向,也是该类制剂未来一致性评价的趋势。

曲安奈德益康唑乳膏(triamcinolone acetonide and econazole nitrate cream)是由Janssen公司开发的复方乳膏剂,商品名为Pevaryl®/Pevisone®,上市国家为英国和法国,规格为含硝酸益康唑10mg/g与曲安奈德1mg/g,主要用于治疗皮炎、湿疹等,原研未进口销售。本品国内有16家生产企业,已由厂家A地产化(商品名:派瑞松®,国药准字H20000454),根据说明书^[5],其处方组成与原研产品在欧洲上市(Pevaryl®/Pevisone®)^[6-7]的处方组成(Q_1)相同。目前虽然我国尚未专门发布皮肤局部外用制剂RLD的选择规定,但按照我国发布的《普通口服固体制剂参比制剂选择和确定指导原则》,RLD首选国内上市的原研药品。因此,本研究以地产化产品派瑞松®为参比制剂,逆向解析处方组成(Q_1)及关键功能性辅料苯甲酸(防腐剂)和依地酸二钠(金属离子螯合剂)的用量(Q_2),考察微观结构特性(Q_3),并与国产仿制药的代表产品邦力®比较差异,为国内生产企业开展该品种一致性评价提供研究思路,从而达到与参比制剂的 Q_1 、 Q_2 及 Q_3 等同,实现以体外研究替代以临床为终点的复杂的生物等效性研究。

1 仪器与试验材料

Waters e2695 高效液相色谱仪(Waters corporation); K51502653型电子天平(Sartorius AG); 光学显微镜(Olympus corporation); AQUALAB 4TE 高精度温控型水活度测定仪(美国Decagon); S220-K 酸度计(Mettler Toledo); 苯甲酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100419-201703,含量99.9%); 依地酸二钠(杭州利人药业有限公司,批

号20190207,含量101.0%); 曲安奈德益康唑乳膏(商品名:派瑞松®,厂家A,批号JKJOD80); 曲安奈德益康唑乳膏(商品名:邦力®,厂家B,批号:2019010); 己烷磺酸钠、磷酸、四氢呋喃、四丁基氢氧化铵均为分析纯,乙腈、异丙醇、甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 Q_1 分析

根据派瑞松®说明书^[5]、邦力®说明书^[8]、Pevisone®^[7]、Pevaryl®^[6],由表可见(表1),国内仿制药邦力®与派瑞松®、Pevisone®及Pevaryl® Q_1 均不一致,派瑞松®与Pevisone® Q_1 一致。

2.2 Q_2 分析

2.2.1 依地酸二钠的含量测定

(1) 色谱条件

十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Agilent ZORBAX SB-C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μm),以0.66%四丁基氢氧化铵溶液(pH6.5)-乙腈(8.5:1.5)为流动相A,以甲醇-水(9:1)为流动相B,先以流动相A等度洗脱,待EDTA-Cu络合物峰洗脱完毕后立即按表2梯度洗脱;检测波长254 nm;柱温30℃;流速1.0 mL/min;进样量50 μL。

(2) 溶液的配制

供试品溶液的配制:取本品约1.25 g,精密称定,置25 mL量瓶中,加甲醇5 mL,超声1 min使曲安奈德与硝酸益康唑溶解,用水稀释至刻度,摇匀,过滤,精密量取续滤液2 mL,置10 mL量瓶中,加入0.1%硫酸铜溶液1 mL,用水稀释至刻度,摇匀。

对照品溶液的配制:取依地酸二钠约25 mg,精密称定,置20 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取1 mL,置10 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度。精密量取1 mL,置10 mL量瓶中,加入0.1%硫酸铜溶液1 mL,用水稀释至刻度,摇匀。

(3) 测定结果

结果表明(图1)O, w派瑞松®中金属螯合剂依地酸二钠的含量为0.142%(W/W),即含依地酸二钠1.42 mg/g。邦力®未检出依地酸二钠。

2.2.2 苯甲酸的含量测定

(1) 色谱条件

辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Luna C₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μm),取己烷磺酸钠0.94 g,加乙腈-异丙醇-水-85%磷酸(140:140:720:1)溶解并稀释至1000 mL为流动相A,取己烷磺酸钠0.94 g,加甲醇-水-85%磷酸(900:100:1)溶解并稀释至1000 mL为流

表1 Q₁比较
Tab. 1 Comparison of Q₁

	厂家B	厂家A	Janssen-Cilag Limited	Janssen-Cilag Limited	在处方中的作用
	邦力®	派瑞松®	Pevisone®	Pevaryl®	
上市国家 活性成分	中国	中国	法国	英国	
	曲安奈德	曲安奈德	曲安奈德	曲安奈德	药用活性成分
	硝酸益康唑	硝酸益康唑	硝酸益康唑	硝酸益康唑	药用活性成分
辅料	羟苯甲酯	苯甲酸(E210)	苯甲酸(E210)	苯甲酸(E210)	防腐剂
	2,6-叔丁基对甲酚	丁羟茴醚(E320)	丁羟茴醚(E320)	丁羟茴醚(E320)	抗氧剂
	GD9122	聚乙二醇-7 硬脂酸酯*	聚乙二醇-7 硬脂酸酯*	聚乙二醇-7 硬脂酸酯*	乳化剂
	N/A	油酰聚氧乙烯甘油酯†	油酰聚氧乙烯甘油酯†	油酰聚氧乙烯甘油酯†	助乳化剂
	白凡士林	液状石蜡	液状石蜡	液状石蜡	油相
	N/A	依地酸二钠	依地酸二钠	N/A	金属螯合剂
	丙二醇、霍霍巴油、山梨醇	N/A	N/A	N/A	保湿剂
	倍他环糊精	N/A	N/A	N/A	增溶剂
	N/A	N/A	N/A	花香水4074	香精
	纯化水	纯化水	纯化水	纯化水	水相

“*”：聚乙二醇-7 硬脂酸酯，英文名：Mixture of Polyoxyl 6 Stearate Type I、Ethylene Glycol Stearates and Polyoxyl 32 Stearate Type I，法国嘉法狮(GATTEFOSSÉ)集团产品，商品名Tefose® 63。本品由硬脂酸(C₁₈)的PEG-6(MW 300)酯和棕榈酸(C₁₆)及硬脂酸(C₁₈)的乙二醇酯和PEG-32(MW 1500)的硬脂酸(C₁₈)酯的混合物组成；“†”：油酰聚氧乙烯甘油酯(曾用名：聚氧乙烯-5-油酸酯)，英文名：Oleoyl macrogolglycerides、Oleoyl macrogol-6 glycerides，法国嘉法狮(GATTEFOSSÉ)集团产品，商品名Labrafil® M 1944 CS。本品由油酸(C₁₈:1)的单，双，三甘油酯以及PEG-6(分子量300)单、双酯组成

表2 依地酸二钠测定法的洗脱梯度
Tab. 2 Gradient elution for the determination of disodium edetate

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	100	0
15	100	100
16	0	100
26	0	100
27	100	0
37	100	0

动相B，按表3梯度洗脱；检测波长227 nm；柱温40℃；流速1.0 mL/min；进样量10 μL。

(2) 溶液的配制

供试品溶液的配制：取本品1.25 g，精密称定，置25 mL量瓶中，加四氢呋喃2 mL，超声1 min使溶解，用甲醇稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液作为供试品溶液。

对照品溶液的配制：取苯甲酸对照品约10 mg，精密称定，置100 mL量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品溶液。

(3) 测定结果

结果表明(图2)，派瑞松®中防腐剂苯甲酸其处方用量为0.18%(W/W)，即含苯甲酸1.8 mg/g。邦力®未检出苯甲酸。

2.3 Q₃分析

2.3.1 药用活性成分的晶型及粒度测定

取本品适量，置于载玻片上涂成薄层，覆以盖玻片，注意防止气泡进入，立即采用光学显微镜在10×40倍下观察活性成分的晶型与粒度，见图3~4。结果表明，派瑞松®中活性成分为柱状晶体，粒度为14.28 μm(D₉₀)，而邦力®中活性成分为粗大柱状晶体和针状结晶的混合，粒度约为52.43 μm(D₉₀)，说明两种产品的活性成分均混悬于乳膏基质中，但是粒度差异较大，派瑞松®中活性成分为粒度明显小于邦力®。

2.3.2 乳滴粒度的测定

取本品适量，置于载玻片上涂成薄层，覆以盖玻片，注意防止气泡进入，立即采用光学显微镜在10×40倍下观察乳滴粒度(图5~6)。结果表明，派瑞松®中乳滴粒度为5.71 μm(D₉₀)，邦力®中乳滴粒度为2.55 μm(D₉₀)，说明派瑞松®中乳滴粒度明显大于邦力®。

2.3.3 水活度的测定

根据药品审评中心郭涤亮等^[9]的研究，皮肤局部外用制剂的微观结构特性还应考察水活度指标，以评价产品中游离水的含量。取本品各适量，置于密闭容器中，采用冷镜露点法在25℃下测定，派瑞松®与邦力®水活度值分别为1.0062和0.9698。

2.3.4 pH的测定

取本品各适量，依法操作。派瑞松®与邦力®pH

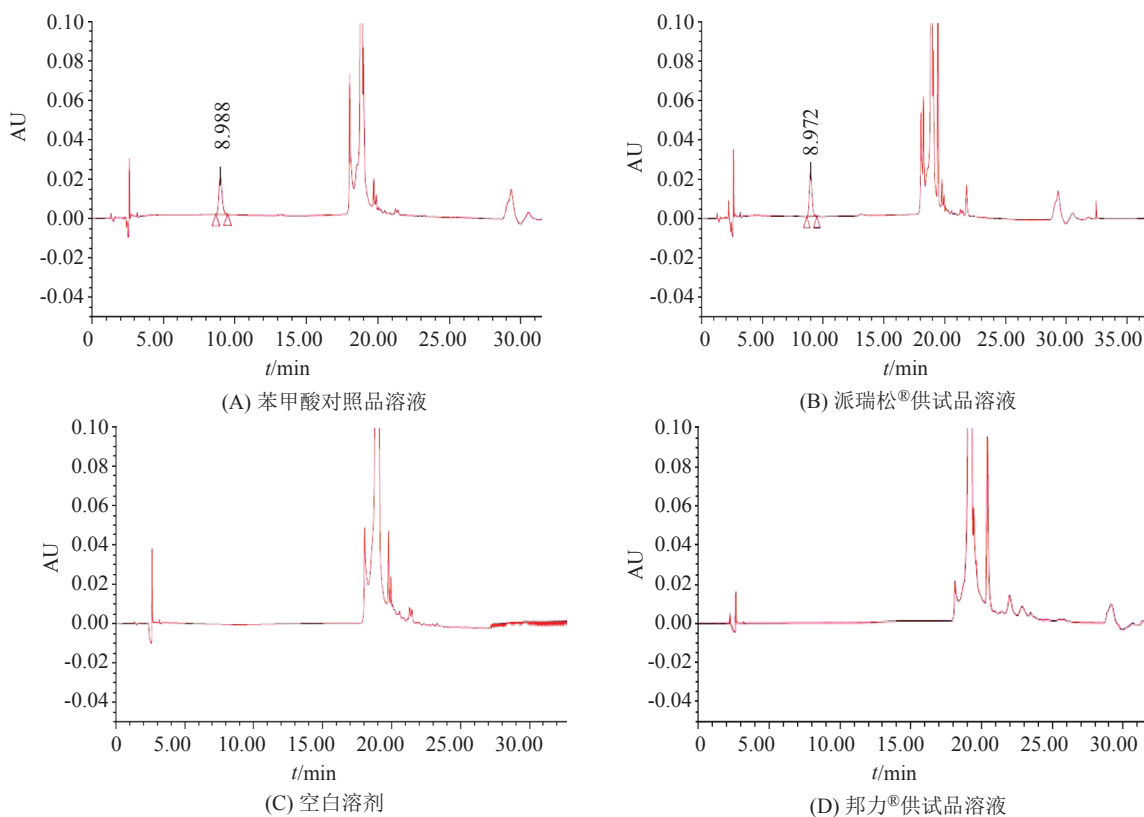


图1 依地酸二钠色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of disodium edetate

表3 苯甲酸测定法的洗脱梯度

Tab. 3 Gradient elution for the determination of benzoic acid

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	100	0
25	0	100
35	100	0
45	100	0

值分别为2.95和3.15, 派瑞松®pH值更高。

3 讨论

3.1 Q_1 与 Q_2 的差异

根据《新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求(征求意见稿)》^[1], 仿制药与参比制剂的辅料在定性(Q_1)和定量(Q_2)上应相同, 辅料的浓度差异不应超过 $\pm 5\%$ 。本研究逆向解析派瑞松®与国产仿制药邦力® Q_1 及 Q_2 差异, 结果表明两者产品 Q_1 和 Q_2 均不一致。根据Pevaryl®英国说明书^[6]公开的结果, Pevaryl®中苯甲酸的处方用量为2 g/kg(0.2%, g/g), 与Pevisone®法国说明书^[7]公开的结果一致, 本研究测得派瑞松®防腐剂苯甲酸处方用量为1.8 g/kg(0.18%, g/g), 而聂鹤云等^[10]对派瑞松®中苯甲酸的含量测定结果为1.5 g/kg(0.15%, g/g), 由此可见, 地产化产品派瑞松®与原研产品Pevaryl®及Pevisone®中苯甲酸的含量差异均超

过 $\pm 5\%$, 说明 Q_2 不同; 根据Niazi^[11]和Janssen公司申请的专利WO9619186^[12], 依地酸二钠的优选处方用量为1 g/kg(0.1%, g/g), 本研究测得派瑞松®金属螯合剂依地酸二钠的处方用量1.4 g/kg(0.14%, g/g), 说明地产化产品派瑞松®与原研产品Pevaryl®的依地酸二钠含量差异也超过 $\pm 5\%$, 说明 Q_2 存在较大差异。根据药品审评中心郭涤亮等^[13]对皮肤局部外用仿制药RLD选择的考虑, 其中指出对于皮肤局部外用制剂不同产地的原研产品在 Q_1 和 Q_2 存在差异, 则可能导致产品 Q_3 和产品安全性、有效性的差异。地产化产品派瑞松®与原研产品 Q_1 相同但 Q_2 不相同, 说明派瑞松®不适宜作为本品一致性评价的RLD。

3.2 Q_3 的差异

根据显微镜观察结果, 地产化产品派瑞松®基质内药用活性成分的晶体为柱状晶体, 而国内仿制药邦力®中为粗大柱状晶体和针状结晶的混合, 派瑞松®中活性成分为粒度明显小于邦力®, 说明二者的微观结构不同, 提示可能影响体外释放行为, 进而影响药物的生物等效性; 派瑞松®中乳滴的粒径明显大于邦力®, 说明使用的基质性质存在较大的差异; 水活度测定结果表明, 派瑞松®产品中水活度值高于邦力®, 说明派瑞松®游离水更高。综上表明, 两者产品 Q_3 的

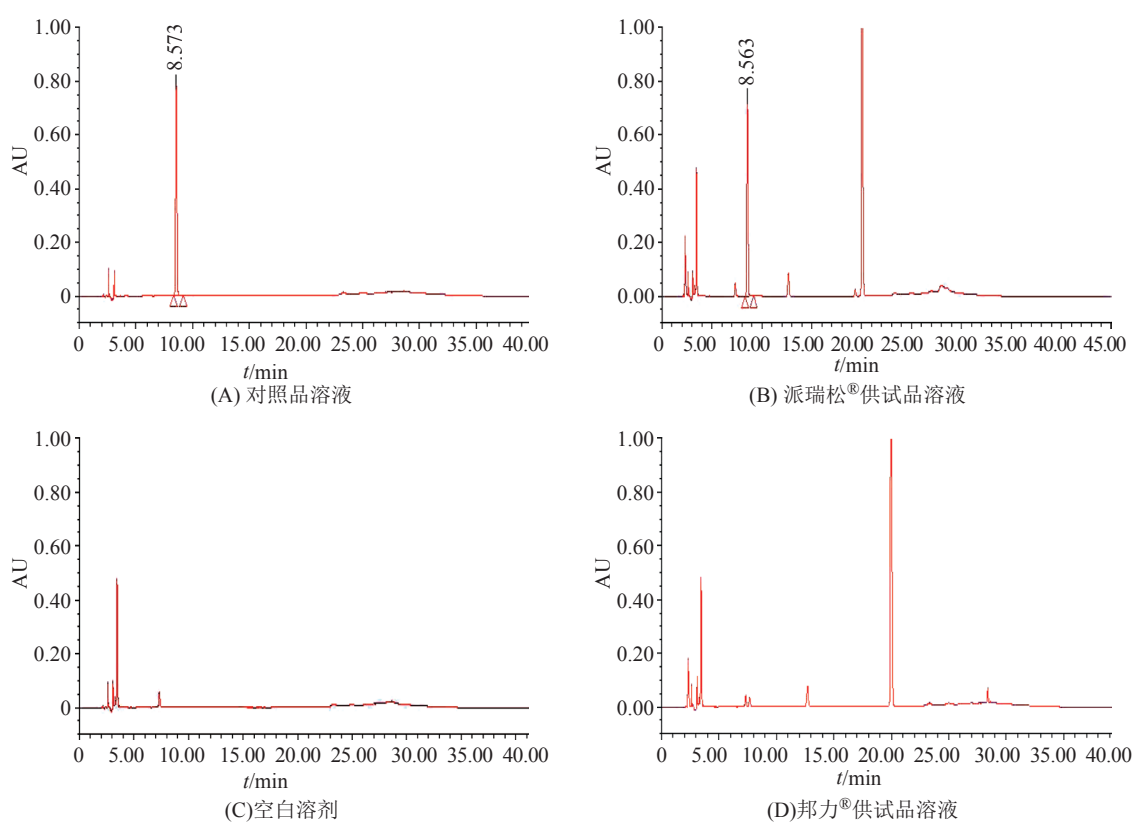


图2 苯甲酸含量测定典型色谱图
Fig. 2 HPLC chromatograms of benzoic acid

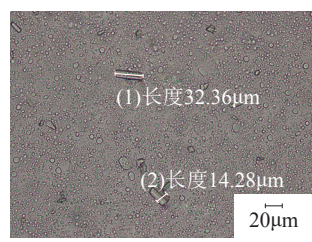


图3 派瑞松®活性成分粒度分布(10×40倍)
Fig. 3 Particle size distribution of active ingredients in 派瑞松® (10×40)

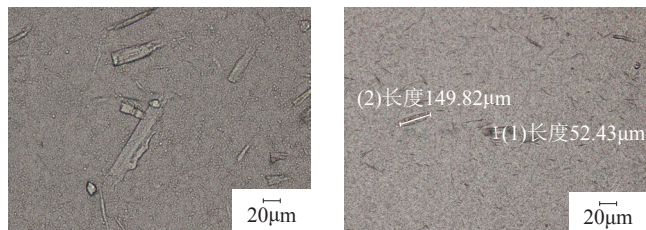


图4 邦力®活性成分粒度分布(10×40倍)
Fig. 4 Particle size distribution of active ingredients in 邦力® (10×40)

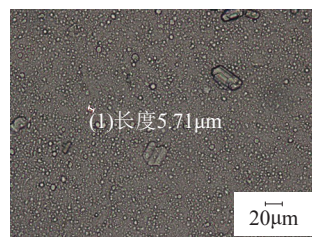


图5 派瑞松®乳滴粒度分布(10×40倍)
Fig. 5 Particle size distribution of emulsion droplet in 派瑞松® (10×40)

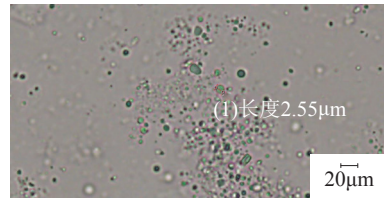


图6 邦力®乳滴粒度分布(10×40倍)
Fig. 6 Particle size distribution of emulsion droplet in 邦力® (10×40)

差异可能是由于 Q_1 和 Q_2 不同引起的。

3.3 参比制剂的选择

按照国家药监局关于发布化学仿制药参比制剂遴选与确定程序的公告(2019年第25号), RLD遴选的顺序依次为: 国内上市的原研药品、经审核确定

的国外原研企业在中国境内生产或经技术转移生产的药品、未进口原研药品。但是对于皮肤局部外用制剂, 尤其是半固体制剂的处方工艺很大程度上决定了药物在皮肤上的释药性能, 进而影响药物的安全性与有效性, 因而皮肤局部外用制剂RLD的选择

尤为重要,通过科学有效的逆向工程手段确定RLD辅料的用量范围和多个RLD之间的质量对比,保证RLD的准确性和唯一性,将有助于获得微观结构特性的等同性,实现用体外研究替代体内生物等效性研究的目的。本研究通过对地产化产品派瑞松®的 Q_1 及 Q_2 分析,说明不适宜作为曲安奈德益康唑乳膏一致性评价的RLD。原研公司Johnson&Johnson Consumer Inc.在全球范围内采用Pevaryl®(英国等)/Pevisone®(法国等)商品名上市曲安奈德益康唑乳膏, Q_1 比较发现,法国上市产品Pevisone®与国内地产化产品派瑞松®(派瑞松®是Pevisone®的音译中文名)的辅料种类完全相同,而英国上市产品Pevaryl®中加入了花香水作为香精。因此建议国内生产企业采用Janssen-Cilag Limited在法国上市的Pevisone®作为本品一致性评价的RLD。

3.4 小结

国产仿制药邦力®与地产化产品派瑞松® Q_1 和 Q_2 明显不一致,因而 Q_3 也存在显著性差异,进一步推测邦力®与原研产品Pevisone® Q_3 差异可能更大,关于 Q_3 如何影响本品体外释放及体外透皮行为的差异还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局药品审评中心. 新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求(征求意见稿)[EB/OL]. www.cde.org.cn/news.do?method=largeInfo&id=9f58eb9a8abeed59, 2018-07-11.
- [2] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. draft guidance on acyclovir[EB/OL][2012-03]. [https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidance compliance regulatory-information/guidances/ucm296732.pdf](https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidance%20compliance%20regulatory%20information/guidances/ucm296732.pdf).
- [3] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. draft guidance on docosanol[EB/OL][2017-10]. [https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance Compliance Regulatory-Information/Guidances/UCM572999.pdf](https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance%20Compliance%20Regulatory-Information/Guidances/UCM572999.pdf).
- [4] Shah V P, Yacobi A, Rădulescu F Ş, *et al.* A science based approach to topical drug classification system (TCS)[J]. *Int J Pharmaceut*, 2015, 491(1-2): 21-25.
- [5] 西安杨森制药有限公司. 曲安奈德益康唑乳膏(派瑞松®)药品说明书[Z/OL]. https://www.xian-janssen.com.cn/sites/default/files/PDF/pai_rui_song_qu_an_nai_de_yi_kang_zuo_ru_gao_shuo_ming_shu_-20200515.pdf, 2020-05-15.
- [6] Janssen-Cilag Ltd. Summaries of product characteristics of pevaryl 1% topical cream[Z/OL]. <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/spcpil/documents/spcpil/con1500616142405.pdf>, 2015-07-03.
- [7] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Résumé des caractéristiques du produit Pevisone®[Z/OL]. <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=66108628&typedoc=R>, 2020-08-24.
- [8] 重庆华邦制药有限公司. 曲安奈德益康唑乳膏(邦力®)药品说明书[Z/OL]. www.huapont.cn/product/20.html, 2015-12-01.
- [9] 郭涤亮, 徐萍蔚, 王亚敏. 皮肤局部外用仿制药质量等同性评价的一般考虑[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(18): 2116-2120.
- [10] 聂鹤云, 王森, 朱卫丰, 等. 曲安奈德益康唑乳膏中防腐剂苯甲酸含量测定[J]. *江西中医药大学学报*, 2014, 26(4): 80-81.
- [11] Niazi S K. Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations: Over-the-Counter Products[M]. 2nd ed. New York: Informa healthcare USA, Inc., 2009: 270.
- [12] Johnson&Johnson Consumer Inc. Antifungal treatment of nails: WO, 1996019186A1[P]. 1994-12-22.
- [13] 郭涤亮, 王亚敏, 马玉楠. 皮肤局部外用仿制药研发和评价用参比制剂选择的一般考虑[J]. *中国新药杂志*, 2019, 28(6): 661-665.