

制药工程中仿制药方法验证的含量测定方法研究

杨丽

(浙江海洲制药股份有限公司, 浙江 临海 317016)

【摘要】仿制药能够以较低的成本实现与原研药相同的效果, 在提高药物可及率, 降低医药费用等方面有非常重要的作用。而在仿制药开发与生产过程中, 含量测定是其中最重要的步骤之一, 是确保仿制药质量的关键。所以必须选择科学合理的含量测定方法, 并对其实施方法验证, 才能更加有效地保证仿制药整体质量。本文将针对仿制药含量测定的概念与方法做简要介绍, 然后重点就其方法验证的参数和步骤展开探讨, 希望对仿制药研发和生产有所帮助。

【关键词】仿制药; 方法验证; 含量测定

引言:

仿制药在药品中占据非常大的比重, 其通过仿制专利到期的原研药, 以较低的成本提供与原研药相同的治疗效果, 能够帮助患者以较低的价格获得药品治疗疾病, 所以仿制药的开发与生产在全球范围内都具有非常重要的意义^[1]。含量测定就是对药品中活性成分含量的测定, 这是仿制药开发中的重要步骤, 精确的含量测定是保证仿制药疗效与安全的前提条件^[2]。

一、仿制药含量测定方法

含量测定就是对药物中的活性成分含量进行分析和确定的一种技术, 其通过对药物中主要成分的定量分析, 保证药物的剂量、纯度、效力符合药物的预定标准^[3]。在仿制药研发阶段, 含量测定方法的选择和验证是一个关键环节。科学、合理的测定方法能够提供可靠的数据支持, 为仿制药的配方设计和工艺优化提供重要依据。

含量测定的目的主要包括以下几方面。第一, 通过含量测定能够保证仿制药与原研药在剂量、效力方面的一致性, 这也是仿制药质量控制的核心要求。只有对药物中活性成分的含量进行精准测定并严格控制, 才能够确保每一批次的仿制药都符合质量要求, 具有相同的治疗效果和安全性^[4]。第二, 通过含量测定, 能够对药物的生产过程予以有效监控, 及时发现并纠正药物生产过程中的质量偏差, 保证产品的合格率和生产效率。第三, 含量测定对于保证药物稳定性同样至关重要。通过对药物有效成分的长期监测, 了解其变化情况, 才能够对药物的存储条件、有效期等做出明确的结论, 以保证患者的用药安全。

二、仿制药常用的含量测定方法

从当前仿制药研发与生产中适用的含量测定方

法来看, 较为常用的包括HPLC、GC、UV-Vis和滴定法等方法。这些方法有着各自的优点和适用范围, 在实际应用中需要根据药物的化学性质, 以及分析要求, 选择合适的含量测定方法。

高效液相色谱法(HPLC), 是目前药物分析中最常用的一种含量测定方法^[5]。这种方法主要是以液相流动相通过填充有固定相的色谱柱的方法, 实现对药物成分的有效分析, 然后再运用检测器对不同成分的含量进行精准的监测。HPLC被认为是仿制药含量测定的首选方法之一, 其具有高分离度、高灵敏度和高精密度的特点, 尤其在复杂成分分析、微量成分检测方面具有很大的优势。从当前其实际应用情况来看, 多用于小分子药物、大分子生物药物的检测与分析。

气相色谱法(GC), 同样是一种色谱分离技术, 但这种方法适用气体作为流动相, 用于对具有一定挥发性的化合物的分析有非常重要的意义。检测过程中, 将检测样品汽化以后, 时期进入色谱柱, 并在柱内对其进行成分分离, 然后再运用检测器对不同成分的含量进行精准的监测。GC在有机化合物、挥发性物质和残留溶剂的分析中具有非常显著的优势, 其不但分离效率高, 而且灵敏度与选择性都相对较高。如果检测的挥发性较差, 在实际使用中也可以通过衍生化处理提高其挥发性, 再运用GC对其实施检测^[6]。

紫外-可见分光光度法(UV-Vis)作为一种含量测定方法, 其主要原理是利用不同物质对于紫外线、可见光的吸收特性差异进行分析的方法。在实际应用中, 通过药物溶液中对于特定波长下的吸光度, 从而计算溶液中各种成分的浓度。UV-Vis法操作简便、快速, 且检测成本低廉, 特别适用于结构

简单、具有紫外或可见光吸收特性的药物成分分析^[7]。但是这一技术因为选择性相对较低，对于复杂样品的分析，一般需要与其他分离技术相结合才能够发挥较好的作用。

滴定法，是一种利用滴定剂与待测物质发生化学反应，进而确定待测物质的成分含量的分析方法。滴定法在使用过程中操作简单，结果直观，并且对于设备没有太高的要求，一般用于具有较高含量的药物成分分析。根据与滴定剂发生的化学反应的不同，滴定法也有不同的分类，包括沉淀滴定、氧化还原滴定、络合滴定以及酸钾滴定。滴定法在使用过程中操作简单，结果直观，并且对于设备没有太高的要求，一般用于具有较高含量的药物成分分析。但是这一方法的局限性也较为明显，测量的精密度与准确性容易受到操作者技术水平的影响；而且这种方法对于微量成分，复杂混合物分析，难以获得较好的效果。

三、方法验证及含量测定方法验证的主要参数

方法验证是指通过实验和分析，对某一分析方法在预定应用中的适用性、可靠性和一致性进行科学的、系统的评估。方法验证的主要目的是保证该方法在特定条件下能够提供准确、精密和可靠的分析结果。

仿制药含量测定方法验证，对于保证仿制药质量至关重要。只有运用通过方法验证的含量测定方法，才能够准确测定仿制药中活性成分的含量，每一批次产品都符合既定的质量标准，确保药品的疗效和安全性，有效避免由于成分含量波动带来的质量风险。同时方法验证也是仿制药注册和批准的关键环节，通过方法验证可以向监管机构证明仿制药在质量控制和稳定性研究中所采用的分析方法是科学、合理和可行的，有助于仿制药的注册审批。

仿制药含量测定方法验证，主要涉及的参数有如下八项：

1. 精密度。所谓精密度，就是在特定实验条件下，同一样品的多次测定结果之间的一致性。一般来说精密度以多次检测结果的相对标准偏差来表示。精密度的高低，直接决定了分析结果的可靠性，是方法验证中的关键参数。较高的精密度意味着对检测物进行检测时，重复测量能够获得一致的结果。

2. 准确度。所谓准确度，就是检测结果的测量值与其真实值之间的接近程度。一般情况下准确度的评估，是通过回收率实验来进行的，也就是在检测样品中加入数量确定的标准物质，然后再利用检

测的方法对其回收量进行检测。通过实施标准度评估，能够保证选择适用的含量测定方法，能够对样品中各种成分的实际含量予以正确反映，防止因为检测系统误差，使得检测结果出现偏差。在仿制药的质量控制中，高准确度的测定方法有非常重要的意义。

3. 专属性。所谓专属性，就是适用的测定方法，能够不受其他成分干扰地将目标成分有效地区分并测量出来。在仿制药含量测定中，专属性验证非常重要。因为药物样品中，除了有效成分，还包括杂质、辅料、降解产物等其他成分。如果适用的含量测定方法不具有较高的专属性，必然会被其他成分干扰，从而检测结果的可靠性与准确性受到影响。为了保证专属性，在适用HPLC方法的时候，一般会适用不同的检测波长，或者使用选择性检测器来提高专属性。

4. 线性。所谓线性就是在一定范围内，测定结果与样品浓度之间的线性关系。对于检测方法线性的评估，一般是通过绘制校准曲线并计算其相关系数来进行。具有良好线性的测定方法，能够在不同浓度范围内都能提供准确的定量结果，对于含量变化较大的样品也有良好的测量能力。在实际使用中，可以通过优化分离条件和检测器设置来提高方法的线性。

5. 范围。范围就是检测方法能够对样品浓度获取准确、精密和线性结果的最高值与最低值区间。在仿制药含量测定中，要求使用的方法的范围，应将预期样品的浓度全部覆盖。确保范围的合理性，才能够使检测方法在不同浓度下都能提供可靠的结果。

6. 检测限。检测限即测定方法能够检测到的最低样品浓度，特别说明的是，这里只能检测到的，并非能够准确定量的。一般检测限是通过信噪比（S/N）为3：1的标准来确定。验证检测限，主要是用于对微量成分的检测，保证使用相应的测量方法，能够对低浓度的目标成分或杂质予以发现和识别。在实际应用中，可以通过提高检测器灵敏度，以及优化样品等措施，来降低检测限。

7. 定量限。定量限即测定方法能够准确定量的最低样品浓度。定量限一般是通过信噪比（S/N）为10：1的标准来确定。这一指标的验证，主要是为了保证能够对目标成分在低浓度范围内，获取符合精密度和准确性要求的定量结果。仿制药质量控制中，设定和验证定量限，对于确保产品在微量成分方面的合格性和一致性至关重要。

8. 稳定性。稳定性即样品在特定条件下保存一

段时间后,其含量和特性保持不变的能力。稳定性包括了几个方面,一是短期稳定性,二是长期稳定性,三是样品稳定性,四是标准溶液的稳定性。稳定性验证,能够确定样品在不同储存条件下的有效期,确保测定结果的可靠性。在实践中,可以通过实验室条件模拟实际储存环境,评估样品在不同时间段内的稳定性。

总的来说,上述都是含量测定方法验证的主要参数。对这些参数进行有效验证,能够确保分析方法在实际应用中的可靠性和准确性,为仿制药的研发和生产提供有力的支持。

四、仿制药含量测定方法验证的具体步骤

仿制药含量测定方法验证必须严格按照相应的步骤展开,这样才能够确保验证结果的科学性与准确性。

1. 试验设计。试验设计是制定详细的验证计划,明确验证目标和步骤。设计过程中需要考虑验证的关键参数,同时还需确定样品种类、标准物质、实验条件和仪器设备。一个好的试验设计能够确保验证过程系统、有序,为后续步骤的顺利进行奠定基础。

2. 样品制备。样品制备主要包括待测样品和标准物质的准备。待测样品需代表实际生产中的样品,并覆盖预期的浓度范围。标准物质通常为已知浓度的纯化合物,用于校准和比较。样品制备过程中需要考虑溶剂选择、溶液配制和存储条件等因素,以确保样品的稳定性和代表性。此外,样品制备过程中应严格遵循实验室操作规范,以防止样品污染或降解。

3. 方法的初步评估。包括测定精密度、准确度和专属性等关键参数。在初步评估阶段,需要进行多次重复测定,以确定方法的可重复性和稳定性。初步评估有助于发现方法中的潜在问题,并为后续优化提供数据支持。评估过程中实验人员需要详细记录所有实验条件和结果,确保数据的完整性和可追溯性,进而初步判断该方法是否适用于仿制药的含量测定。

4. 数据收集与分析。这是方法验证的核心步骤。需要系统地进行多次实验,收集与方法验证相关的数据,包括样品的响应值、校准曲线的数据点、精密度和准确度的测量结果等。数据收集过程中应确保数据的准确性和一致性,并使用适当的统计方法对数据进行分析。通过数据分析,可以评估方法的各项性能参数,确定方法的可行性和可靠性。数据分析结果还可以用于识别方法中的不足之处,为后续的调整和优化提供依据。

5. 方法调整与优化。在初步评估和数据分析的

基础上,需要对方法进行调整和优化。主要包括调整实验条件、改进样品制备过程和优化仪器参数等。方法调整和优化目的是提高方法的精密度、准确度和稳定性,使其更适用于仿制药的含量测定。在调整和优化过程中,应进行反复试验,评估每一次调整的效果,直到方法达到预期的性能要求。优化后的方法应再次进行初步评估,以确认其改进效果。

6. 最终验证与确认。最终验证包括多次重复实验,并覆盖方法的全部验证范围,以确保方法在不同条件下的可靠性和一致性。最终验证的结果应记录在详细的验证报告中,包括所有实验数据、分析结果和结论,以及方法的适用范围、局限性和验证结果,为仿制药的含量测定提供科学依据和技术支持。

五、小结

综上所述,本文系统介绍了仿制药含量测定方法的验证过程,探讨其在实际应用中的重要性,希望能够为仿制药开发和质量控制提供有效的支持,推动仿制药的整体质量水平的提升。

参考文献:

- [1]杨莉萍,林逸玲.授权仿制药反竞争问题及其规制进路[J].福州大学学报(哲学社会科学版),2024,38(01): 104-112.
- [2]中际丽,龚青,孙春萌,张新房.逆向工程法在仿制药开发中的应用及关注点[J].中国医药工业杂志,2023,54(12): 1774-1780+1788.
- [3]王倩格,肖茹,陈龙俊,蔡鸿福,郑斌.仿制药替代的影响因素及药师对促进替代的作用和建议[J].中国现代应用药学,2023,40(10): 1429-1434.
- [4]张兰平,王寅,陈俊辰.化学仿制药注射剂一致性评价研究要点解析[J].中国医药工业杂志,2021,52(10): 1386-1395.
- [5]许明哲,陈敬,翟琛琛,管晓东,张夏,刘文,王翀,朱炯,史录文.我国仿制药品质量差异研究[J].中国新药杂志,2020,29(18): 2148-2152.
- [6]程晓昆,仇俊新,王娅莉,马苗锐,刘月,王会娟.关于体外溶出实验在仿制药一致性评价中的应用与思考[J].中国医药工业杂志,2019,50(09): 1065-1071.
- [7]黄仲义,李光慧.仿制药质量一致性评价及有关建议[J].上海医药,2019,40(07): 3-5.

作者简介:

杨丽(1998—),女,汉族,河南新蔡人,本科,助理工程师,研究方向为医药工程。