酒石酸美托洛尔片中一种新杂质的结构鉴定和定量测定

沈 征[1,2]，葛纪龙[2]，毛秋霞[2]，陈飞鹏[2]，孙柏旺[1*]
（1. 东南大学化学化工学院，江苏南京 210089；2. 常州四药制药有限公司，江苏常州 213000）

摘要：已有文献报道在含仲胺药物（如比索洛尔）的制剂中，如果辅料中用到一水乳糖（**3**），则比索洛尔会与 **3** 反应，产生的最终和最大杂质是 *N*- 甲酰化产物。本研究根据人用药品技术要求国际协调理事会（ICH）Q1 指南，采用 HPLC 法测定在加速条件（40 ℃、相对湿度 75%）下放置 6 个月的酒石酸美托洛尔（**1**）片，发现 1 个含量超过 0.2% 的杂质。通过合成、分离及鉴定，确定该最大单杂为麦芽酚（**4**），与文献结果不同。此外，通过比较几种不同的胺类化合物与 **3** 的美拉德反应产物，均没有检测到 **4**，包括与美托洛尔（**2**）结构非常相似的普奈洛尔。据报道，**4** 具有细菌致突变作用，但目前监管机构认为 **4** 是安全的，这可能也是目前上市的 **1** 片使用 **3** 作为辅料的原因。但从绝对安全的角度考虑，建议尽量避免胺类化合物与 **3** 等还原糖的配伍。

关键词：美托洛尔；麦芽酚；美拉德反应；乳糖；稳定性
中图分类号：R917 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)08-1179-07
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.08.013

Structural Identification and Quantitative Determination of a New Impurity in Metoprolol Tartrate Tablets

SHEN Zheng[1,2], GE Jilong[2], MAO Qiuxia[2], CHEN Feipeng[2], SUN Baiwang[1*]
(*1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, Nanjing 210089;*
2. Changzhou Siyao Pharmaceutical Co., Ltd., Changzhou 213000)

ABSTRACT: In the pharmaceutical preparations of secondary amine drugs, such as bisoprolol, reported in literature, if lactose monohydrate (**3**) was used as an adjuvant, the drug might react with **3**, resulting in the *N*-formylation product as the final and maximum impurity. According to the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q1 guideline, the HPLC method was used to determine the metoprolol tartrate (**1**) tablets stored under the accelerated condition (40 ℃, relative humidity of 75%) for six months, and one largest impurity was found with a content of more than 0.2%. According to the results of synthesis, separation and identification tests, it was proved to be maltol (**4**), which was different from those in existing literature. In addition, the Maillard reaction products of several different amines with **3** were detected, including propranolol, which had a very similar structure of metoprolol (**2**), but none of them was **4**. The bacterial mutagenic effects of **4** was reported, but currently the regulatory agencies considered **4** to be safe, which might be the reason why **3** was used as an excipient in **1** tablets currently on the market. However, from the perspective of absolute safety, it is recommended to avoid the combination of amine compounds with **3** and other reducing sugars.

Key Words: metoprolol; maltol; Maillard reaction; lactose; stability

酒石酸美托洛尔（metoprolol tartrate，**1**）的化学名为 1- 异丙氨基 -3-［对 -(2- 甲氧乙基）苯氧基］-2- 丙醇 L(+) - 酒石酸盐，是一种选择性 β_1 受体阻断剂，常用于治疗高血压、心脏供血不足引起

收稿日期：2022-02-23
作者简介：沈 征(1983—)，男，博士，从事药物开发研究。
通信作者：孙柏旺(1965—)，男，教授，博士生导师，从事新药的研究与开发。
E-mail：chmsunbw@seu.edu.cn

的胸痛和许多涉及心律异常快速的疾病[1—3]。在**1**片剂中，活性成分为美托洛尔（metoprolol，**2**），而一水乳糖（lactose monohydrate，**3**）是其中一种用作稀释剂的辅料[4]。**2**含有仲胺结构，而含有仲胺结构的药物制剂中如使用**3**作为辅料，在贮存过程中可能会发生美拉德反应[5—6]，产生一系列杂质，影响药物的安全性和有效性。

1片在贮存过程中会与辅料**3**发生美拉德反应，产生**3**和**2**的加合物（结构式见图1），含量超过0.1%[4]。有研究表明，**3**与比索洛尔（结构与**2**相似）也会发生美拉德反应，生成**3**与比索洛尔的加合物，但这种物质不稳定，最终会变为*N*-甲酰基比索洛尔[7]。

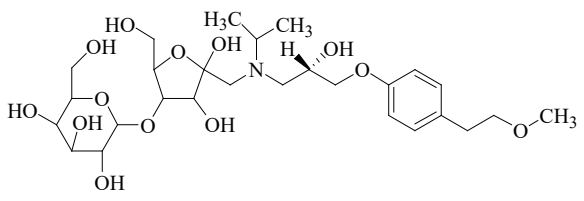


图1　3和2加合物的化学结构式

Fig.1　Chemical Structure of the Adduct of **3** and **2**

本课题组前期研究表明，**1**片在加速稳定性研究期间，产生的最大单杂与上述报道不同；通过合成、分离及鉴定，确定为麦芽酚（maltol，**4**），并建立了HPLC法检测**4**的含量；进一步研究对比了不同胺类化合物与**3**的美拉德反应产物，以期为**1**片剂处方开发过程中辅料的选择提供参考和借鉴。

1　仪器与试药

1100型高效液相色谱仪和8890GC+7000D TQ型气相色谱-质谱联用仪均购于美国Agilent公司；Avance 400型核磁共振仪（德国Bruker公司）。

1（含量99.7%，批号A20190806）、**2**（含量99.7%，批号A20191008）、盐酸氟西汀（含量99.3%，批号A20181033）和盐酸普奈洛尔（含量99.5%，批号A20190506）（常州四药制药有限公司）；**4**对照品（中国食品药品检定研究院，含量99.6%，批号190076-201501）；**1**片（企业A、B，其中企业A产品是参比制剂，来自中国市场，企业B产品是仿制药，来自美国市场，规格均为50 mg，均含**1**和**3**）；所有辅料均为商业化辅料，并根据《中华人民共和国药典》2020年版（ChP 2020）进行了测试，符合所有要求；微晶纤维素（日本旭化成公司，型号PH301，批号1863）；聚维酮（德国巴斯夫公司，型号K30，批号0002164945）；羧甲淀粉钠（永日化学工业股份公司，含量按含钠计为2.9%，批号10273ZG）；**3**（德国美剂乐公司，含量100.0%，批号101VTL9）；二氧化硅（湖州展望药业有限公司，含量99.2%，批号157123016）；硬脂酸镁（安徽山河药用辅料股份有限公司，含量按含镁计为4.2%，批号180202）；乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为纯化水。

2　方法与结果

2.1　经过6个月加速试验的**1**片中的未知杂质检测

2.1.1　色谱条件

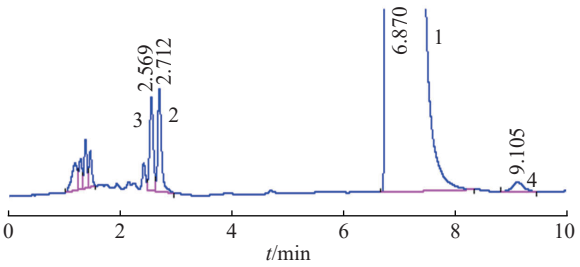
色谱柱 Phenomenex Symmetry C_{18}柱（4.6 mm×250 mm，5.0 μm）；流动相 乙酸铵缓冲液（将乙酸铵3.9 g溶于水810 ml中，加入三乙胺2.0 ml、磷酸3.0 ml和冰乙酸10.0 ml）：乙腈（824 ∶ 160），等度洗脱；柱温 30 ℃；流速 2 ml/min；检测波长280 nm；进样量20 μl。

2.1.2　未知杂质的测定

照人用药品技术要求国际协调理事会（ICH）Q1指南[8]，将在加速条件（40 ℃、相对湿度75%）下放置6个月的**1**片（企业A）进行研磨，取适量细粉（相当于含**1**约50 mg），置25 ml量瓶中，并加入“**2.1.1**”项下的流动相适量，超声10 min使溶解，用流动相定容，摇匀，用0.45 μm滤膜过滤，取滤液按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定，结果见图2。

在色谱图中发现了1个新的最大杂质（超过了ICH Q3B规定的最大单一杂质的0.2%限值），该杂质的保留时间为2.71 min，而**2**为6.87 min，初步判断此新杂质是**1**和**3**的美拉德反应副产物。因此，设计试验加剧**1**和**3**的反应以提取、分离该杂质。将三乙胺（4.04 g，20 mmol）、**1**（27.4 g，20 mmol）和**3**（28.8 g，40 mmol）混合于*N*,*N*-二甲基乙酰胺（140 ml）和乙醇（140 ml）中，于90 ℃加热回流60 h；反应物于80 ℃减压蒸馏除去溶剂，得黑色油状物，用二氯甲烷150 ml溶解并过滤，除去不溶性固体；滤液浓缩，采用柱色谱法分离［洗脱剂：石油醚∶乙酸乙酯（1 ∶ 1）］；最后收集目标组分并浓缩，得

杂质粗品（棕色油状物）约 4 g。在浓缩的杂质粗品（0.4 g）中加入无水乙醚，缓慢析出少量固体并通过过滤分离出白色杂质固体 20 mg；按上述方法配制相应溶液并按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，该提取杂质的出峰时间与加速条件下放置 6 个月的 **1** 片（企业 A）中的未知杂质一致。

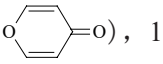


1－**2**；2－最大未知杂质峰；3－已知杂质Ⅰ（ChP 2020已收载，峰面积乘以 0.1 才是其实际大小）；4－未知杂质

图 2　加速试验中放置 6 个月的 1 片的 HPLC 色谱图

Fig.2　HPLC Chromatogram of **1** Tablets Stored for Six Months in Accelerated Test

2.1.3　未知杂质的初步鉴定

借助 ^{1}H NMR、^{13}C NMR、HRMS 和 IR 等技术对上述杂质进行表征：由 MS 前体离子质量（*m*/*z*）[M+H]$^{+}$=127.0 计算得相对分子质量为 126；^{1}H NMR（300 MHz, CD_3CN）δ: 7.85（d, *J*=5.6 Hz, 1H）, 6.83（s, 1H）, 6.35（d, *J*=5.6 Hz, 1H）, 2.32（s, 3H）；^{13}C NMR（75 MHz, CD_3CN）δ: 173.21, 155.59, 149.25, 143.41, 113.16, 13.94；IR（KBr）主要信号：3 064 cm^{-1}（强宽信号归属于 OH），1 656、1 633 和 1 558 cm^{-1}（信号归属于 ），1 251cm^{-1}（信号归属于 −C-O-C−）。

通过对以上信息的表征，初步推测该杂质为 **4**（图 3）。

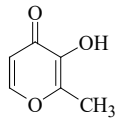


图 3　4 结构的初步推测

Fig.3　Preliminary Speculation on the Structure of **4**

2.1.4　进一步确认未知杂质

精密称取 **4** 对照品约 10 mg，置 100 ml 量瓶中，加入“**2.1.1**”项下流动相适量，超声 10 min 使溶解，用流动相定容，摇匀，再精密移取 1 ml 置 50 ml 量瓶中，用流动相定容，摇匀，按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**4** 对照品的出峰时间为 2.72 min，与加速条件下放置 6 个月的 **1** 片（企业 A）的未知杂质基本一致。

取在加速条件下放置 6 个月的 **1** 片（企业 A）共 4 片，置 20 ml 量瓶中，加入 0.1 mol/L 盐酸 8 ml，振摇使片剂完全崩解，然后将悬浮液转移至 10 ml 锥形离心管中，离心（16 000×*g*）5 min，取上清液，置 20 ml 量瓶中，加入乙酸乙酯 5 ml 萃取，分离出有机相，剩余水相再加入乙酸乙酯 5 ml 萃取，有机相合并后用氮气吹干，最后将残余物溶解在甲醇 0.5 ml 中并转移至注射瓶中，按下述 GC-MS 条件进样测定；同时取 **4** 对照品适量，用甲醇制成 20 μg/ml 的溶液，同样按下述 GC-MS 条件进样测定。

GC-MS 色谱条件：色谱柱 HP-INNOWax 柱（0.32 mm×30 m×0.25 μm）；柱温 140 ℃保持 8.5 min，然后以 20 ℃ /min 的速度升至 220 ℃并保持 5 min；分流比 10 ∶ 1；流速 1.5 ml/min；进样量 1 μl。

GC-MS 质谱条件：离子源 电子轰击离子源（EI），正离子检测模式，多反应监测（MRM）模式；离子源电压 70 eV；离子源温度 220 ℃；加热器温度 250 ℃；溶剂延迟 2 min；扫描范围 *m*/*z* 50 ～ 200。

结果显示，上述 2 种溶液图谱中的保留时间和相对分子质量均一致，可进一步确认加速 6 个月的 **1** 片中出现的最大杂质是 **4**。

2.2　HPLC 法测定 **4** 的方法学验证

2.2.1　专属性试验

精密称取 **4** 对照品适量，加入“**2.1.1**”项下流动相，配制成质量浓度为 20 μg/ml 的对照品溶液，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定。另取 **1** 和空白辅料（含微晶纤维素、**3**、聚维酮、羧甲淀粉钠、二氧化硅、硬脂酸镁），同法处理后进样测定。结果显示，**4** 的保留时间为 2.72 min，理论塔板数为 4 568，对称

因子为1.012，符合HPLC法对理论塔板数>2 000和对称因子在0.95～1.05的要求；空白辅料及溶剂峰在**4**保留时间附近不出峰；**1**的出峰时间为6.87 min，远离**4**峰，方法专属性良好。

2.2.2 线性试验、检测限及定量限

精密称取**4**对照品适量，加入“**2.1.1**”项下流动相，配制成系列线性试验溶液（0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 μg/ml），经0.45 μm微孔滤膜过滤，按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以峰面积A为纵坐标、质量浓度c为横坐标，绘制标准曲线。结果显示，回归方程为A=41 856c－53.89，R^2为0.999 9，说明**4**在0.05～2.0 μg/ml内线性关系良好。方法检测限为0.003 μg/ml（信噪比>3），定量限为0.005 μg/ml（信噪比>10）。

2.2.3 精密度及溶液稳定性

取“**2.2.1**”项下的**4**对照品溶液，按“**2.1.1**”项下色谱条件连续进样6针，结果显示RSD<2%，表明精密度良好。

上述溶液于室温放置，分别在0、4、8、16、24 h时取样按“**2.1.1**”项下色谱条件进样测定，计算峰面积RSD。结果显示，**4**峰面积的RSD（n=5）为0.17%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3 采用确认的HPLC法研究美拉德反应中产生的**4**

鉴于建立的HPLC法能较好地监控**4**，因此分别研究了**1**在液体和固体状态下的美拉德反应，并监控**4**的产生情况。

2.3.1 研究液体状态下的美拉德反应产物

首先制备8个样品。样品1～3：取**1**（含**2** 1.46 mmol，0.5 g）和**3**（1.47 mmol，0.53 g），分别加至装有乙醇、50%乙醇、纯水各6 ml的小瓶中密封，作为样品1～3；样品4：取**2**（1.87 mmol，0.5 g）和**3**（1.89 mmol，0.68 g），加至装有乙醇6 ml的小瓶中密封；样品5～8：分别取①盐酸普奈洛尔（含普奈洛尔1.69 mmol，0.5 g）和**3**（1.69 mmol，0.61 g）、②盐酸氟西汀（0.5 g，含氟西汀1.44 mmol）和**3**（1.44 mmol，0.52 g）、③氨溶液（0.05 g，含NH_3H_2O 1.43 mmol）和**3**（1.44 mmol，0.52 g）、④二乙胺溶液（0.1 g，含$C_4H_{11}N$ 1.37 mmol）和**3**（1.39 mmol，0.50 g），分别置不同的装有纯水6 ml的小瓶中密封，作为样品5～8。每个样品制备2份，置60 ℃烘箱中，5 d后取出1份，10 d后取出另1份，取上清液1 ml转移至50 ml量瓶中，用“**2.1.1**”项下流动相稀释并超声处理15 min，然后将样品离心10 min，取上清液，按“**2.1.1**”项下色谱条件进行分析。

其中，制备样品1～4的目的是为了研究溶剂类型对美拉德反应主要产物杂质**4**和加合物生成的影响。迄今为止，尚未见**2**与**3**发生美拉德反应产生**4**的报道；而**2**和**3**的加合物在文献中已有报道。加合物是许多胺类化合物与**3**发生美拉德反应的第一步[4]。然而，由于加合物性质往往不稳定，会发生水解。在本研究中，没有刻意制备和分离加合物，仅使用文献报道的HPLC法测试制备样品，并根据相对保留时间确定样品中的加合物[4]。尽管未见**2**和**3**发生美拉德反应得到*N*-甲酰化产物的报道，但许多关于仲胺和**3**的美拉德反应的报道表明，*N*-甲酰化产物往往是最终和最大的产物[7,9—12]。本次研究中没有刻意关注*N*-甲酰化产物，因为加速稳定性考察的HPLC结果显示，除了存在最大的单一杂质**4**外，其他未知杂质都非常少，远小于ICH对该产品最大单一杂质的控制限度。

样品1～4的HPLC测定结果见表1，所有杂质均采用HPLC峰面积归一化法计算。当以**1**的形式与**3**混合时，**4**含量随时间的延长而增加；以水为介质时，**4**含量最高，可能是因为**1**和**3**均易溶于水而微溶于乙醇；然而，**3**和**2**的加合物却显示出相反的结果，以水为介质时含量最少，10 d时仅为0.02%，这可能是因为加合物不稳定且易水解；样品4的**4**含量测定结果比样品1少，而**3**和**2**的加合物比样品1多，表明酒石酸的存在会促进**4**的产生，这可能是通过催化**3**和**2**的加合物转化而获得的。

制备样品5～8的目的是为了研究**4**是否是**2**和**3**之间美拉德反应所特有的产物。因为截至目前，所有报道的制剂中，仲胺药物与**3**相互作用产生的杂质都是加合物和*N*-甲酰化物。本研究选择了2

种仲胺为研究对象，即盐酸氟西汀和盐酸普萘洛尔，其中普萘洛尔的结构与 **2** 非常相似（含有仲胺的结构片段完全相同，区别仅在于左侧的芳环区域，见图 4）；同时还考察了简单的仲胺，即氨水和二乙胺。

样品 5 ～ 8 的 HPLC 测定结果显示，仅样品 8 中检测出少量 **4**（5 和 10 d 的 **4** 峰面积分别为 4.4 和 5.3），其他样品中均未发现 **4**。这表明并非所有的仲胺都能通过美拉德反应与 **3** 反应生成 **4**，即使结构与 **2** 非常相似的普萘洛尔也不产生 **4**；说明结构式中的芳环区域差异可能会影响仲胺的活性，导致美拉德反应产物的差异。

表 1　样品 1 ～ 4 的测定结果

Tab.1　Determination Results of Samples 1 – 4

样品	时间/d	杂质 **4**/%	**3** 和 **2** 的加合物 /%
样品 1	5	0.065	0.055
	10	0.100	0.094
样品 2	5	0.111	0.161
	10	0.250	0.184
样品 3	5	0.291	未检出
	10	0.486	0.020
样品 4	5	0.050	0.041
	10	0.055	0.229

2.3.2　研究固体状态下的美拉德反应产物

上述试验已证明在液体状态下，**4** 是 **3** 和 **2** 美拉德反应的预期产物。为了更接近药物制剂的实际状态，下面将研究在固体状态下的美拉德反应。

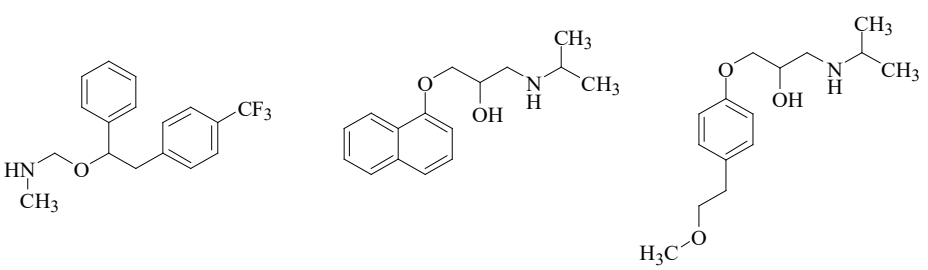
将 **1** 分别与 6 种空白辅料（微晶纤维素、**3**、聚维酮、羧甲淀粉钠、二氧化硅、硬脂酸镁）以质量比 1 ∶ 1 混合，即得样品 1 ～ 6，分别以敞口和封闭 2 种状态保存并转移至温度 40 ℃、相对湿度 75% 的考察箱中，在贮存期满（1 个月）后采用“**2.1.1**”项下色谱条件进行测定。此外，还考察了在温度 60 ℃、相对湿度 <10% 的条件下放置 10 d 时，**4** 和加合物的检出情况。

结果显示，在温度为 40 ℃、相对湿度为 75% 的考察箱中放置 1 个月，除样品 2 在敞口条件下的 **4** 含量为 0.137%、加合物含量为 0.122% 以外，其余样品在敞口和封闭条件下均未检出 **4** 和加合物。因为上述辅料中只有 **3** 具有还原能力，与胺类化合物会发生美拉德反应。然而，在封闭状态下的样品 2 中没有检测到 **4**，这可能是由于 **4** 的产生还需要水分和热量的协同作用，在封闭状态下，水不能或很少进入系统，**3** 中虽然有一分子结晶水，但结晶水不参与反应。

而在温度为 60 ℃、相对湿度 <10% 条件下放置 10 d，样品 1 ～ 6 在敞口和封闭条件下，均未检出 **4** 和加合物。理论上，在如此高的温度下，样品 2 中应发生美拉德反应，但结果与液态样品相反。这可能是由于虽然贮存温度足够高，但相对湿度很低，而美拉德反应的发生不仅需要温度，还需要一定的湿度，两者缺一不可。

2.3.3　模拟口服固体剂型的配方测试固体混合物和片剂的稳定性

通过模拟口服固体剂型的配方，测试固体混合物（**1** 和所有辅料的松散固体混合物）和 **1** 片剂（通过制粒、总混、最后按平均硬度为 80 N 压片制得）的稳定性。将固体混合物和 **1** 片剂分别以敞口



氟西汀　　普萘洛尔　　**2**

图 4　氟西汀、普萘洛尔和 2 的化学结构式

Fig.4　Chemical Structures of Fluoxetine, Propranolol and **2**

和封闭状态装入聚乙烯容器中，分别在加速考察箱（40 ℃、相对湿度 75%）中贮存 0、5、20 d；另将 **1** 片剂置 60 ℃烘箱中存放 5、10 d。各样品中 **4** 和加合物的检测结果见表 2 ～ 3。

表 2 显示，在相同条件下，**1** 片剂中 **4** 的含量高于固体混合物。这是因为在固体混合物中，原料药和辅料松散接触，而原料药和辅料在压片后紧密接触；仅在 **1** 片剂中检出加合物，但检出量极少，其规律与 **4** 基本一致。

表 3 显示，**1** 片剂在封闭状态下的 **4** 含量远高于敞口状态，原因可能是 **1** 片剂本身含有一定量的水分，在封闭状态下，水被困在系统中，在 60 ℃的高温作用下，提供了相对湿度较高的环境；敞口状态刚好相反，虽然片剂最初含有一定量的水分，但随着时间的推移，水分会在高温下挥发，从而提供相对低湿度的环境。加合物的检测结果在 2 种状态下没有显著差异，但随着时间的推移，含量有所下降，可能是因为加合物不稳定，容易水解。

表 2　加速考察箱中的固体混合物和 1 片剂的杂质检测结果

Tab.2　Determination Results of the Impurities in Solid Mixtures and **1** Tablets in Accelerated Inspection Chamber

贮存时间/d	样品	状态	**4**/%	**3** 和 **2** 的加合物 /%
0	固体混合物	敞口	未检出	未检出
		封闭	未检出	未检出
	1 片剂	敞口	未检出	未检出
		封闭	未检出	未检出
5	固体混合物	敞口	0.012	未检出
		封闭	0.002	未检出
	1 片剂	敞口	0.020	未检出
		封闭	0.011	0.005
20	固体混合物	敞口	0.085	未检出
		封闭	0.059	未检出
	1 片剂	敞口	0.117	未检出
		封闭	0.064	0.058

表 3　烘箱中的1 片剂的杂质检测结果

Tab.3　Determination Results of the Impurities in **1** Tablets in Oven

贮存时间/d	状态	**4**/%	**3** 和 **2** 的加合物 /%
5	敞口	0.030	0.155
	封闭	0.133	0.154
10	敞口	0.112	0.126
	封闭	0.341	0.141

2.4　样品测定

取 **1** 片（企业 A、B，均含 **1** 和 **3**）；在加速条件（40 ℃、相对湿度 75%）下，进行了 1、2、3、6 个月的稳定性研究，片剂均保存在原始销售包装中（铝箔 / 聚氯乙烯泡罩）以模拟真实的贮存条件。结果见表 4。

所有样品中都观察到了大量的 **4** 产生，企业 B 的 **1** 片甚至在 0 时间点也含有 **4**。但由于缺乏对详细配方和制造工艺的了解，难以对商业产品进行全面比较。例如，观察到参比制剂是没有包衣的素片，而仿制药是包衣片，2 种产品的剂型和制造工艺不同，片剂的吸湿性不同，进而会导致片剂水分含量产生差异，甚至是杂质含量的差异。

表 4　加速稳定性研究期间 1 片中 4 的含量变化

Tab.4　Content Changes of **4** in **1** Tablets during Accelerated Stability Study

时间/月	**4** 含量 /%		**3** 和 **2** 的加合物含量 /%	
	企业 A	企业 B	企业 A	企业 B
0	未检出	0.016	未检出	未检出
1	0.017	0.101	未检出	未检出
2	0.046	0.285	0.027	0.020
3	0.084	0.449	0.036	0.116
6	0.278	0.818	0.043	0.140

3　讨论

有报道称 **1** 片在贮存过程中会与辅料 **3** 产生美拉德反应，然而，本研究结果却出乎意料，获得的最大杂质是 **4**，因其结构与 API 无关，是否通过美拉德反应机制产生，有待进一步研究确定。通过液态和固态研究，发现 **4** 的增加与湿、热密切相关，接触的松紧也会影响 **4** 的产生量。此外，发现 **4** 似乎是 **3** 和 **2** 的独特产物，因为使用结构类似的普萘洛尔和 **3** 进行相容性研究时，没有发现 **4** 的产生。

此外，本研究发现在市售产品 **1** 片（企业 A、B）的加速和长期稳定性测试中，**4** 都会随着时间的推移而增长。据报道，**4** 是弱细菌诱变剂 [13]，从这个角度来看，似乎应该在配方中去除 **3**。但根据调研结果发现，目前市场上的 **1** 片剂无一例外都使用了 **3**，这可能是由于包括美国 FDA 在内的许多监管部门将 **4** 作为食品添加剂处理，每天的最大允许量远

大于 ICH 对药物杂质限度的要求[14—15]。因此，从目前来看，权威监管机构认为 **4** 对人类是安全的。但是，从绝对安全的角度考虑，对于胺类化合物制剂的开发，在辅料的选择上应尽量避免 **3** 等还原糖，毕竟，美拉德反应是一个非常复杂的反应，会产生一系列的副产物，一些副产品可能无法通过现有手段检测到，因此其安全性未知。

参考文献：

[1] SABBAH H N, SHAROV V G, GUPTA R C, *et al*. Chronic therapy with metoprolol attenuates cardiomyocyte apoptosis in dogs with heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **36**(5): 1698-1705.

[2] MACZEWSKI M, MACKIEWICZ U. Effect of metoprolol and ivabradine on left ventricular remodelling and Ca^{2+} handling in the post-infarction rat heart [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, **79**(1): 42-51.

[3] PRABHU S D, WANG G, LUO J, *et al*. β-adrenergic receptor blockade modulates Bcl-X_S expression and reduces apoptosis in failing myocardium [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, **35**(5): 483-493.

[4] REDDYR B, MOREK R, GUPTA L, *et al*. Identification, synthesis, isolation and characterization of new impurity in metoprolol tartrate tablets [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, **117**: 104-108.

[5] KUMAR B P, SAHU R K, MURTHY K V R, *et al*. A review on mechanism, importance and methods of compatibility testing in the formulation of dosage forms [J]. *J Chem Pharm Sci*, 2011, **4**(4): 141-151.

[6] BHARATE S S, BHARATES B, BAJAJ A. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review [J]. *J Excip Food Chem*, 2010, **1**: 3-26.

[7] SZALKA M, LUBCZAK J, NAROG D, *et al*. The Maillard reaction of bisoprolol fumarate with various reducing carbohydrates [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, **59**: 1-11.

[8] ICH Q1. Guidance for industry-stability testing of new drug substances and products [EB/OL]. [2021-11-01]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q1ar2-stability-testing-new-drug-substances-and-products.

[9] WIRTH D D, BAERTSCHI S W, JOHNSON R A, *et al*. Maillard reaction of lactose and fluoxetine hydrochloride, a secondary amine [J]. *J Pharm Sci*, 1998, **87**(1): 31-39.

[10] WATERMAN K C, ARIKPO W B, FERGIONE M B, *et al*. *N*-methylation and *N*-formylation of a secondary amine drug (varenicline) in an osmotic tablet [J]. *J Pharm Sci*, 2008, **97**(4): 1499-1507.

[11] SKIBIC M J, KING L A, KHAN M, *et al*. Artifactual formylation of the secondary amine of duloxetine hydrochloride by acetonitrile in the presence of titanium dioxide: implications for HPLC method development [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, **53**(3): 432-439.

[12] HOAGLUND H,WILLIAMSON M L, JANSEN P J, *et al*. Mechanistic studies of the *N*-formylation of edivoxetine, a secondary amine-containing drug, in a solid oral dosage form [J]. *J Pharm Sci*, 2017, **106**(5): 1218-1238.

[13] BJELDANES L F, CHEW H. Mutagenicity of 1,2-dicarbonyl compounds: maltol, kojic acid, diacetyl and related substances [J]. *Mutation Res*, 1979, **67**(4): 367-371.

[14] PENG J F, WEI M L, HU Y W, *et al*. Simultaneous determination of maltol, ethyl maltol, vanillin, and ethyl vanillin in foods by isotope dilution headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Anal Methods*, 2019, **12**(8): 1725-1735.

[15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760-2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.