

盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型对制剂制备的影响

卜鑫珏^{1*}, 张涛², 王驰^{1#}, 夏喜坚², 陈国松²(1.重庆医科大学药学院, 重庆 400016; 2.福安集团重庆礼邦药物开发有限公司, 重庆 401121)

中图分类号 O742*.4; R972*.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)10-1346-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.10.13

摘要 目的:研究盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型对制剂制备的影响,为其制剂开发及一致性评价提供理论基础。方法:采用 X-射线粉末衍射(XRD)、红外分光光度(IR)和差式扫描量热(DSC)法鉴定盐酸乐卡地平的 3 种晶型;采用 XRD 法比较粉碎、研磨、加压工艺,湿法制粒中黏合剂溶剂(水、乙醇)和干燥温度(50、60、70 °C)对盐酸乐卡地平 3 种晶型稳定性的影响;比较 3 种晶型盐酸乐卡地平片在水、盐酸、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液 4 种介质中的体外溶出度。结果:XRD 显示, I、II 晶型均有特征衍射峰,且 2θ 值不一致,无定型无特征衍射峰;IR 显示, 3 种晶型具有不同的吸收强度和吸收峰数目;DSC 显示, I、II 晶型分别在 194.6、207.3 °C 有明显吸热峰,无定型在 86.1 °C 有明显吸热峰、299.8 °C 有放热峰。粉碎、研磨、加压及干燥温度对 3 种晶型转变均无影响;湿法制粒时水对晶型转变无影响,乙醇会引起 I 晶型的晶型转变。除在盐酸中 I 晶型与 II 晶型片比较 $f_2=68$ 外, 4 种介质中 3 种晶型盐酸乐卡地平片溶出度两两比较的 f_2 均小于 50。结论:XRD、IR、DSC 法均能鉴定盐酸乐卡地平的 3 种晶型。用 I 晶型制备盐酸乐卡地平片时,湿法制粒应避免使用乙醇作为黏合剂溶剂,建议使用水。不同晶型会影响所制盐酸乐卡地平片的体外溶出度。

关键词 盐酸乐卡地平; I 晶型; II 晶型; 无定型; 鉴定; 稳定性; 体外溶出

Effects of I, II Crystal and Amorphous Forms of Lercanidipine Hydrochloride on the Preparation

BU Xinjue¹, ZHANG Tao², WANG Chi¹, XIA Xijian², CHEN Guosong²(1.College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2.Chongqing Lybon Pharm-tech Co., Ltd., Fuan Pharmaceutical Group, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of I, II crystal and amorphous forms of lercanidipine hydrochloride on the preparation, and provide theoretical basis for its development and consistency evaluation. METHODS: X-ray powder diffraction (XRD), infrared spectrophotometry (IR) and differential scanning calorimetry (DSC) were adopted to identify the 3 crystal forms of lercanidipine hydrochloride. XRD was used to compare the effects of crushing, grinding, pressing technology, wetting granulation, adhesive solvents (water, ethanol) and drying temperature (50, 60, 70 °C) on stability of 3 crystal forms of lercanidipine hydrochloride; the dissolution *in vitro* in water, hydrochloride, pH 4.5 acetate buffer, pH 6.8 phosphate buffer were compared among 3 crystal forms of Lercanidipine hydrochloride tablet. RESULTS: XRD showed both I, II crystal forms had characteristic diffraction peak with inconsistent 2θ values, amorphous had no characteristic diffraction peak; IR showed 3 crystal forms had different absorption intensity and absorption peak number; DSC showed I, II crystal forms had obvious endothermic peak in 194.6 °C, 207.3 °C, respectively, amorphous had obvious endothermic peak in 86.1 °C and exothermic peak in 299.8 °C. Crushing, grinding, pressing and drying temperature had no effects on the stability of 3 crystal forms; water had no effect on the stability of crystal in wetting granulation, ethanol may cause the change of I crystal form. Except for the comparison between I, II crystal forms in hydrochloride ($f_2=68$), the dissolution f_2 of 3 crystal forms in 4 kinds of medium were lower than 50. CONCLUSIONS: XRD, IR, DSC methods can identify the 3 crystal forms of Lercanidipine hydrochloride tablet. When preparing lercanidipine hydrochloride by I crystal form, wetting granulation should avoid using ethanol as a adhesive solvent, instead of water. Different crystal forms can affect the dissolution *in vitro* of prepared Lercanidipine hydrochloride tablet.

KEYWORDS Lercanidipine hydrochloride; I crystal form; II crystal form; Amorphous; Identification; Stability; Dissolution *in vitro*

近年来,国际上对药物的多晶型现象十分重视,药品的不同晶型对药品的临床有效性、安全性、药品质量都有影响^[1]。盐酸乐卡地平属于第三代二氢吡啶类钙离子拮抗药,是生物药剂学分类系统(BCS) II 类药物,已

于 2010 年在中国上市,相对分子量为 648.2。盐酸乐卡地平口服吸收好,药动学参数 t_{max} 为 1.5~3 h、 $t_{1/2\beta}$ 为 2~5 h,适用于轻、中度高血压的治疗,具有起效平缓、无耐受性、作用持久等特点^[2]。

目前已发现盐酸乐卡地平的晶型有 I、II、III、IV、V、VII 晶型及无定型,其中无定型不稳定,但溶解度高; I、II 晶型较其他晶型稳定,且 II 晶型比 I 晶型更稳定,但其溶解性不如 I 晶型。本文对盐酸乐卡地平的 I、II

* 药师,硕士研究生。研究方向:靶向制剂。电话:023-61213572。E-mail:719001823@qq.com

通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:靶向制剂。电话:023-61213572。E-mail:1006653936@qq.com

晶型及无定型进行鉴定、稳定性、体外溶出等研究,以期为盐酸乐卡地平的制剂开发及一致性评价提供理论基础。盐酸乐卡地平的化学结构式见图1。

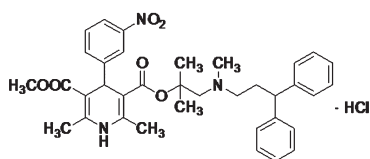


图1 盐酸乐卡地平的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of lercanidipine hydrochloride

1 材料

1.1 仪器

LC-20AD 高效液相色谱仪、XRD-6000 粉末衍射仪、傅里叶红外光谱(IR)仪、DTG-60H 差式扫描量热(DSC)仪(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸乐卡地平原料药(I晶型,批号:s160501,纯度:98.8%;II晶型,批号:s160504,纯度:98.9%;无定型,批号:s160509,纯度:98.8%)和盐酸乐卡地平对照品(II晶型,批号:s160528,纯度:98.7%,水分:0.53%)均由福安集团重庆礼邦药物开发有限公司提供;聚山梨酯80(重庆川东化工有限公司);微晶纤维素(FMC)、乳糖(DMV)、羧甲基淀粉钠(CMS-Na)均购自法国罗盖特公司;聚乙烯吡咯烷酮(PVP)K30(美国亚什兰公司);硬脂酸镁(安徽山河药用辅料有限公司)。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Microspher C₁₈(100 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.01 mol/L 三乙胺溶液-乙酸铵(650:350:1,冰醋酸调pH至6.0);流速:1.0 mL/min;检测波长:352 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

2.1.2 专属性 将空白辅料按比例制成空白片。取空白片和盐酸乐卡地平片各10片,分别置于250 mL量瓶中,加0.01 mol/L 盐酸溶液25 mL,超声使崩解,加甲醇100 mL,超声并稀释至刻度,摇匀,滤过;取续滤液2 mL,置于25 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为空白辅料溶液和供试品溶液。精密称取盐酸乐卡地平对照品10 mg,置于100 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取10 mL,置于100 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果表明,盐酸乐卡地平的保留时间为(7.85±0.5) min,溶剂峰和辅料峰对其测定均无干扰,色谱图见图2。

2.1.3 线性关系、定量限、精密度、回收率 分别将盐酸乐卡地平对照品制备成质量浓度为0.008 0、0.016 0、0.025 6、0.032 0、0.048 0 mg/mL的溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(A)对质量

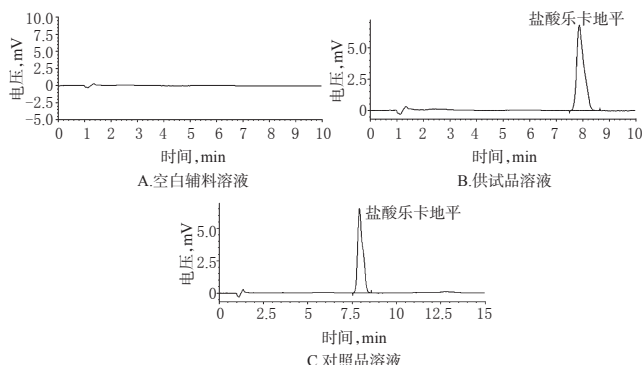


图2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

浓度(c)作线性回归,得回归方程为 $A=1\times 10^7c+3\ 563.8$ ($r=0.999\ 9$),表明盐酸乐卡地平检测质量浓度的线性范围为0.008 0~0.048 0 mg/mL。定量限为 0.56×10^{-3} mg/mL;精密度RSD为0.14%($n=6$);高、中、低水平盐酸乐卡地平溶液的回收率分别为99.7%、100.1%、98.6%(RSD分别为0.45%、0.21%、0.36%, $n=3$)。

2.2 鉴定

2.2.1 XRD法 采用XRD法分析盐酸乐卡地平I、II晶型及无定型原料药,扫描范围(2θ): $3.00\sim 50.00^\circ$,扫描方式:连续扫描,管流:40 mA,管压:40 kV,靶型:Cu,扫描速度:4.0 deg/min,结果见图3。

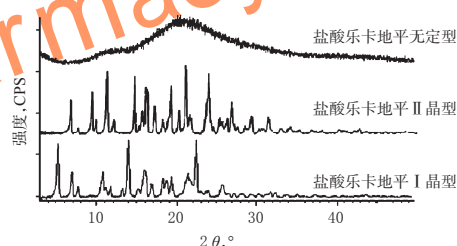


图3 XRD图

Fig 3 XRD diagram

由图3可知,I晶型的主要 2θ 特征衍射峰分别位于 5.34° 、 10.97° 、 14.17° 、 18.91° 、 21.50° 、 22.70° ;II晶型的主要 2θ 特征衍射峰分别位于 9.53° 、 14.72° 、 16.20° 、 19.07° 、 20.81° 、 23.57° ;无定型的衍射图谱为不规则图形,无特征衍射峰。与专利文献[3-4]中所载特征峰比较,可确定所测样品分别为盐酸乐卡地平I、II晶型及无定型。这表明采用XRD法,根据特征峰的 2θ 值可对盐酸乐卡地平3种晶型进行鉴定。

2.2.2 IR法 采用KBr压片法制样,IR法分析盐酸乐卡地平I、II晶型及无定型原料药,光谱扫描范围为 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,结果见图4。

由图4可知,II晶型在 $1\ 701.1\text{ cm}^{-1}$ 、I晶型在 $1\ 236.29\text{ cm}^{-1}$ 、无定型在 $3\ 500\sim 3\ 250\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰有明显区别,表明可采用IR法对盐酸乐卡地平3种晶型进行鉴定。这可能是因为盐酸乐卡地平的3种晶型具有不同的晶格能,导致分子间作用力、作用方式及强度不同,从而

造成吸收峰的缔合、移动,使吸收强度及吸收峰数目发生变化^[5]。

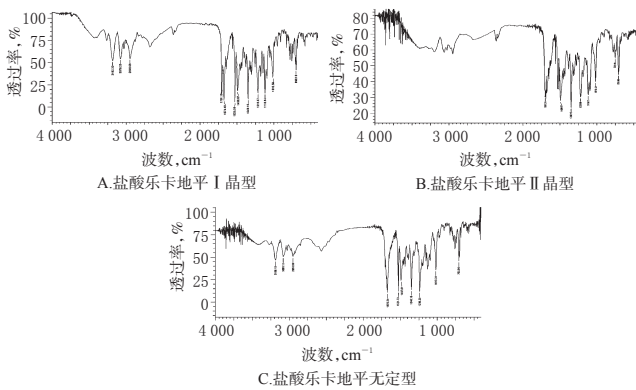


图4 IR图

Fig 4 IR diagram

2.2.3 DSC法 分别取盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型原料药各 5 mg 于铝坩埚中,采用 DSC 法进行分析。以空白铝坩埚为对照,升温速度:10 °C/min,气氛:氮气(20 mL/min),升温范围:30~350 °C,结果见图 5。

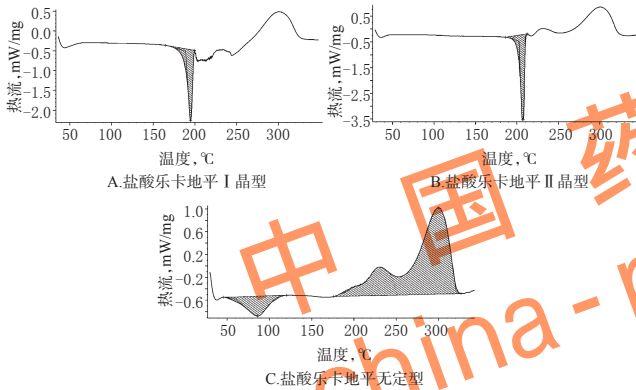


图5 DSC图

Fig 5 DSC diagram

由图 5 可知,盐酸乐卡地平 I、II 晶型分别在 194.6 °C 和 207.3 °C 处有明显吸热峰,均为熔点温度;无定型在 86.1 °C 有明显吸热峰,为熔点温度,在 299.8 °C 有放热峰,表明其化学结构已被破坏。这表明采用 DSC 法可对盐酸乐卡地平 3 种晶型进行鉴定。

2.3 稳定性考察

2.3.1 粉碎、研磨和加压对晶型的影响 称取适量盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型原料药,分别进行气流粉碎(粉碎压力:4 kg,进料压力:5 kg)、研磨(玛瑙研钵内研磨 0.5 h)和压片(硬度约为 10 kg)后取样,采用 XRD 法进行分析。结果显示,经处理后盐酸乐卡地平无定型的 XRD 图谱均为不规则图形,无特征衍射峰出现;I、II 晶型 2θ 值的测定结果见表 1。

由表 1 可知,I、II 晶型经处理后 2θ 值与处理前比较无明显变化,说明在上述处理条件下 3 种晶型均稳定,未发生晶型转变。

2.3.2 湿法制粒对晶型的影响 (1)黏合剂溶剂水、乙

表 1 经粉碎、研磨和加压后盐酸乐卡地平 I、II 晶型 2θ 值的测定结果

Tab 1 Determination results of 2θ of I, II crystal forms of lercanidipine hydrochloride after crushing, grinding and pressing

特征衍射峰	处理前		粉碎		研磨		加压	
	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型
1	5.34°	9.53°	5.35°	9.58°	5.39°	9.53°	5.40°	9.59°
2	10.97°	14.72°	10.97°	14.70°	11.02°	14.80°	11.09°	14.71°
3	14.17°	16.20°	14.25°	16.20°	14.15°	16.19°	14.17°	16.19°
4	21.50°	20.81°	21.49°	20.83°	21.57°	20.80°	21.50°	20.81°
5	22.70°	23.57°	22.78°	23.55°	22.69°	23.54°	22.69°	23.58°

醇的影响。将盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型原料药分别与辅料(DMV、FMC、CMS-Na)按一定比例(不含硬脂酸镁)过筛混合均匀,分别以 1%PVP K30 水溶液、1%PVP K30 乙醇溶液为黏合剂制备软材,过 30 目制粒,60 °C 烘干。将所得颗粒取样,进行 XRD 法分析。结果显示,经处理后无定型的 XRD 图谱均为不规则图形,无特征衍射峰出现;I、II 晶型 2θ 值的测定结果见表 2。

表 2 水、乙醇处理后盐酸乐卡地平 I、II 晶型 2θ 值的测定结果

Tab 2 Determination results of 2θ of I, II crystal forms of lercanidipine hydrochloride after treated by water and ethanol

特征衍射峰	处理前		水		乙醇	
	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型
1	5.34°	9.53°	5.34°	9.55°	9.49°	9.55°
2	10.97°	14.72°	10.97°	14.71°	14.65°	14.71°
3	14.17°	16.20°	14.17°	16.25°	16.15°	16.20°
4	21.50°	20.81°	21.51°	20.83°	22.01°	20.82°
5	22.70°	23.57°	22.69°	23.55°	22.90°	23.55°

由表 2 可知,以 PVP K30 水溶液为黏合剂时,3 种晶型均未发生晶型转变;以 PVP K30 乙醇溶液为黏合剂时,I 晶型发生晶型转变,无定型与 II 晶型较稳定。

(2)干燥温度。将以 PVP K30 水溶液制得的盐酸乐卡地平 I、II 晶型及无定型颗粒,分别于 50、60、70 °C 下烘干,干燥失重控制在 2%。将所得的颗粒取样,进行 XRD 法分析。结果显示,经干燥后无定型的 XRD 图谱均为不规则图形,无特征衍射峰出现;I、II 晶型 2θ 值的测定结果见表 3。

表 3 经 3 种温度干燥后盐酸乐卡地平 I、II 晶型 2θ 值的测定结果

Tab 3 Determination results of 2θ of I, II crystal forms of lercanidipine hydrochloride after dried by 3 kinds of temperature

特征衍射峰	处理前		50 °C		60 °C		70 °C	
	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型	I 晶型	II 晶型
1	5.34°	9.53°	5.37°	9.55°	5.36°	9.59°	5.34°	9.55°
2	10.97°	14.72°	10.96°	14.71°	10.96°	14.72°	10.97°	14.70°
3	14.17°	16.20°	14.21°	16.20°	14.16°	16.23°	14.17°	16.19°
4	21.50°	20.81°	21.47°	20.81°	21.51°	20.83°	21.55°	20.85°
5	22.70°	23.57°	22.71°	23.56°	22.70°	23.59°	22.69°	23.58°

由表3可知, I晶型与II晶型经处理后 2θ 值无明显差异,说明在上述条件下3种晶型均未发生晶型转变。

2.4 体外溶出度考察

2.4.1 溶出介质 根据《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》,选用常规的4种溶出介质,分别为水、0.1 mol/L 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液。由于盐酸乐卡地平原料药在上述4种介质中溶解度小,为保证其在溶液中溶解完全且制得的片剂在溶出介质中有良好的溶解梯度,故向4种溶出介质中加入0.3%的聚山梨酯80。

2.4.2 溶出方法 按专利处方^[6],在同一工艺条件下,采用湿法制粒,片质量为100 mg,压片硬度控制在4~6 kg。照溶出度测定法,设溶出介质为900 mL,转速为50 r/min,介质温度为(37±0.5)℃,依法操作。分别在5、10、15、30、45 min 取样,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并采用外标法计算溶出度(%)。根据《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》,采用非模型依赖的相似因子(f_2)法比较3种晶型制得的盐酸乐卡地平片在4种介质中的溶出度^[7-8],结果见表4。

表4 I、II晶型和无定型盐酸乐卡地平片的体外溶出结果

Tab 4 Results of *in vitro* dissolution of I, II crystal and amorphous forms of Lercanidipine hydrochloride tablet

时间	0.1 mol/L 盐酸			pH 4.5 醋酸盐缓冲液			pH 6.8 磷酸盐缓冲液			水					
	无定型	I晶型	II晶型	无定型	I晶型	II晶型	无定型	I晶型	II晶型	无定型	I晶型	II晶型			
5 min	67.50	33.86	33.09	32.73	32.42	49.11	49.21	43.85	37.03	15.70	12.39	21.54			
10 min	80.30	52.04	44.15	50.26	76.97	62.31	63.74	57.33	51.02	44.50	28.91	58.76			
15 min	83.98	54.12	52.85	68.34	80.26	80.78	72.38	68.79	61.98	47.90	61.74	67.63			
30 min	94.25	62.01	65.38	87.61	90.48	81.75	78.71	86.94	76.86	66.52	80.85	78.30			
45 min	93.35	77.88	75.34	94.32	91.54	83.63	81.35	89.11	80.01	80.26	94.95	78.70			
f_2 值															
	无定型与I晶型			无定型与II晶型			I晶型与II晶型								
	27			43			24			43					
	无定型与II晶型			25			47			23			45		
	I晶型与II晶型			68			46			24			39		

美国FDA规定 f_2 值在50~100时,可以认为两种处方制剂在同一释药条件下或同一处方制剂在不同释药条件下释药无差别^[9-10]。由表4中 f_2 值可知,除在盐酸中I晶型与II晶型比较无差别外,3种晶型所制备片剂在4种溶出介质中的其他溶出行为均有明显差别。

3 讨论

本文采用XRD、IR、DSC法对盐酸乐卡地平的3种晶型进行鉴定,结果发现,晶型不同,药物分子在晶格上排列方式不同,从而造成晶格内部分子间作用力的差异,引起多晶型药物不同晶型间各种理化性质的变化。这提示应加强原料药的理化性质、参比制剂的处方组成及制剂工艺的研究,避免由于主成分理化性质不同或制剂因素所造成的疗效差异。对原料药的晶型进行比较,

保证仿制药与原研药的原料药在疗效上具有等效性^[11]。

盐酸乐卡地平3种晶型所制得片剂在4种溶出介质中溶出行为大多数均有明显差异,提示需要建立溶出度等制剂质量检查指标与不同晶型之间的相关关系。

固体药物大多是分子晶体,其晶格能差较小,容易发生转型。对于某些难溶性药物,由于稳定型的生物利用度低,不能满足临床需要;而亚稳定型表观溶解度高,可得到较高的生物利用度,因而选择亚稳定型作为目标晶型。这时,了解并掌握影响晶体稳定性因素,对合理设计处方、制订工艺方案,最大限度地减少低效、无效晶型的产生,使亚稳定型稳定化具有重要意义。同时,药品质量标准中必须建立能区分其晶型的溶出度试验方法,从而保证药品质量及临床药效,为仿制药一致性评价打下坚实的基础^[12]。

参考文献

- [1] 吕扬,杜冠华.晶型药物[M].北京:人民卫生出版社,2009:1-11.
- [2] 韩寒.新一代二氢吡啶类钙通道阻滞剂:盐酸乐卡地平合成方法的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2001.
- [3] 刘意林,祁伟,杨璇,等.一种无定型盐酸乐卡地平及其制备方法:中国,CN102558032[P]. 2012-07-11.
- [4] 博尼法斯欧,卡姆帕纳,德艾斯,等.新的盐酸乐卡地平结晶多晶型物及其制备方法:中国,CN1538957[P]. 2004-10-20.
- [5] 陈菲菲,滕再进,束俭辉,等.盐酸厄洛替尼晶型研究[J].药学与临床研究,2015,23(3):249-253.
- [6] Leonardi A, Sartani A, Sironi G, et al. Combination therapy for hypertension: US, 20030180355[P]. 2003-09-23.
- [7] 唐了平,产运霞,马贵红,等.阿齐沙坦片国产品溶出度试验方法的建立及与原研品体外溶出行为比较[J].中国药房,2014,25(17):1609-1611.
- [8] 谢沐风.溶出曲线相似性的评价方法[J].中国医药工业杂志,2009,40(4):308-310.
- [9] 林兰,牛剑钊,许明哲,等.国外仿制药一致性评价比较分析[J].中国新药杂志,2013,22(21):2470-2474.
- [10] Food and Drug Administration. Guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms[EB/OL].[2016-05-24].<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070237.pdf>.
- [11] 张涛,赵先英.药物研究和生产过程中的多晶型现象[J].中国新药与临床杂志,2003,22(10):615-620.
- [12] 陈桂良,李君婵,彭兴盛,等.药物晶型及其质量控制[J].药物分析杂志,2012,32(8):1503-1508.

(收稿日期:2016-06-16 修回日期:2016-10-09)

(编辑:邹丽娟)