

中图分类号: R943; R971 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)15-0042-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.15.011



普瑞巴林口服溶液处方研究

杨凯歌¹, 张梦婷², 吴雪英², 王 昕¹, 黄志军^{1△}

(1. 武汉理工大学化学化工与生命科学学院, 湖北 武汉 430070; 2. 健民药业集团股份有限公司, 湖北 武汉 430050)

摘要:目的 为普瑞巴林口服溶液仿制制剂的研发提供参考。方法 以普瑞巴林口服溶液参比制剂为研究对象, 采用逆向工程对制剂进行处方分析和小试工艺研究。采用高效液相色谱(HPLC)法测定抑菌剂羟苯甲酯、羟苯丙酯的含量, 并进行抑菌效力检查; 采用紫外分光光度法结合 pH 检测法测定缓冲液磷酸二氢钠一水合物与磷酸氢二钠十二水合物的含量; 采用 HPLC 法测定甜味剂三氯蔗糖的含量; 根据口味和性状调整芳香剂草莓香精的加入量; 结合单因素试验筛选原辅料的溶解温度及配制顺序, 确定制剂的小试工艺。**结果** 生产规格为 20 mg/mL (200 mL) 的普瑞巴林口服溶液时, 以 85 °C 溶解羟苯甲酯 0.25 g 与羟苯丙酯 0.033 g, 降温至 30 °C 时依次加入磷酸二氢钠一水合物 0.748 g、磷酸氢二钠十二水合物 0.210 g、普瑞巴林 4 g、三氯蔗糖 0.65 g、草莓香精 0.1 g, 搅拌至完全溶解, 加 80 mL 纯化水, 搅拌 20 min 至均匀, 即得。**结论** 所制备的普瑞巴林口服溶液质量稳定, 可为仿制制剂的研发提供参考。

关键词: 普瑞巴林口服溶液; 逆向工程; 处方研究; 小试工艺

Prescription Analysis of Pregabalin Oral Solution

YANG Kaige¹, ZHANG Mengting², WU Xueying², WANG Xin¹, HUANG Zhijun¹

(1. Chemical Engineering and Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan, Hubei, China 430070; 2. Jianmin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Wuhan, Hubei, China 430050)

Abstract: Objective To provide a reference for the development of generic Pregabalin Oral Solution. **Methods** The reference preparation of Pregabalin Oral Solution was taken as the research object, and reverse engineering was used for prescription analysis and small-scale process research of preparations. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the content determination of antibacterial agents hydroxybenzoate and hydroxypropyl ester, and the antibacterial efficacy test was conducted. Ultraviolet (UV) spectrophotometry combined with pH detection method was used for the content determination of buffering agents sodium dihydrogen phosphate monohydrate and sodium dihydrogen phosphate dodecahydrate. HPLC method was used for the content determination of sweetener sucralose. The amount of strawberry essence was adjusted according to taste and character. The dissolution temperature and preparation sequence of raw materials and excipients were screened by the single factor test, and the small-scale process of Pregabalin Oral Solution was determined. **Results** The Pregabalin Oral Solution with the specification of 20 mg/mL (200 mL) was dissolved at 85 °C with 0.25 g of hydroxybenzoate and 0.033 g of hydroxypropyl

第一作者: 杨凯歌, 女, 硕士研究生在读, 研究方向为药剂学, (电子信箱)26223493634@qq.com。

△通信作者: 黄志军, 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向为中药新药研发, (电子信箱)452354589@qq.com。

毒肺炎患者中医证候特征及用药规律[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(9): 87-90.

[3] 陈 彤, 万梅玲, 贾先红, 等. 正交实验法优选升清祛湿汤提取工艺的研究[J]. 抗感染药学, 2022, 19(3): 327-330.

[4] 秦 梦, 郭兰萍, 裴 林, 等. 正交试验法优化中药废渣的最佳发酵工艺[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(12): 31-34.

[5] 陈雪婷, 徐文杰, 冯健英, 等. 正交试验法优选温脾降糖颗粒提取工艺[J]. 中国药业, 2023, 32(22): 53-56.

[6] 徐 勇, 张 叶. 多指标正交实验法优选降糖活血合剂提取工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(2): 33-36.

[7] 韦宝含, 林小明, 覃祖前, 等. 正交试验法优选肺炎合剂提取工艺[J]. 中国药业, 2019, 28(6): 7-11.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 26.

[9] 李安杰. 中药提取工艺对药品质量的影响[J]. 环球市场信息导报, 2013(19): 120.

[10] 余杨健, 谢和兵, 白玛旦增. 小儿清热颗粒指标成分测定和水提工艺研究[J]. 中国药业, 2023, 32(7): 64-68.

[11] 黄 江, 黄 锐, 袁 渊, 等. 正交试验优选麝香化痰醒脑颗粒水提工艺[J]. 中国药业, 2023, 32(6): 51-54.

[12] 卢 兴, 王艳宁, 黄 玲, 等. 基于信息熵的正交试验优选苦柏洗剂提取工艺[J]. 中国药业, 2022, 31(6): 61-64.

[13] 张 玮. 正交试验法提取益肾止晕丸有效成分的分析[J]. 吉林中药, 2022, 42(9): 1083-1086.

[14] 李明梅, 程 锦, 唐菁倩, 等. 肺炎合剂中盐酸麻黄碱的高效液相色谱法测定研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 2993-2997.

[15] 李德强. 川连止泻胶囊制备工艺及临床运用研究[J]. 中国实用医药, 2016, 11(19): 273-274.

(收稿日期: 2023-07-28; 修回日期: 2024-03-28)

ester. After cooling down to 30 °C, 0.748 g of sodium dihydrogen phosphate monohydrate, 0.210 g of sodium hydrogen phosphate dodecahydrate, 4 g of pregabalin, 0.65 g of sucralose and 0.1 g of strawberry essence were added successively, and stirred until completely dissolved, 80 mL of purified water were added and stirred for 20 min until uniform. **Conclusion** The quality of Pregabalin Oral Solution prepared by this method is stable, which can provide a reference for the development of generic drugs.

Key words: Pregabalin Oral Solution; reverse engineering; prescription research; small - scale process

普瑞巴林是一种抑制性神经递质 γ -氨基丁酸(GABA)的结构衍生物,最早作为抗癫痫药开发^[1],适应证广泛,具有镇痛效果强、用药剂量小、不良反应少等优点。目前,被推荐为神经性疼痛的一线治疗用药^[2-6],且对纤维肌痛、糖尿病性周围神经痛、脊髓损伤后神经痛、带状疱疹神经痛等神经性疼痛表现出良好的治疗效果。仿制药可节约社会医疗支出、减轻患者负担、提高药品可及性等重要经济和社会效益。逆向工程在仿制药的开发过程中对保证仿制药与原研药的一致性及仿制药的质量具有重要意义。国内的普瑞巴林剂型多为胶囊,依从性较差,口服溶液有明显的临床优势。本研究中以Pf Prism CV公司的普瑞巴林口服溶液为参比制剂,采用逆向工程对方剂及小试工艺进行研究^[7-8],为后续普瑞巴林口服溶液仿制药的研发提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司),配有示差折光检测器;Shimadzu LC-2030c Plus型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);ME203E型电子天平(精度为千分之一),ME104E型电子天平(精度为万分之一),FE28型pH计,均购于梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Milli-Q Direct 8型超纯水仪(默克化工技术<上海>有限公司);Evolution 201型紫外分光光度计(安正计量检测公司)。

1.2 试剂

普瑞巴林口服溶液[参比制剂, Pf Prism CV公司,批号分别为FC0777, DT5904, 规格为20 mg/mL(473 mL)];普瑞巴林对照品(Quality Control Chemical INC, 批号为28-SET-19-00, 含量为96.88%);羟苯甲酯对照品(批号为100278-201906, 含量为99.9%),羟苯丙酯对照品(批号为100444-202005, 含量为99.9%),三氯蔗糖对照品(批号为100120-201902, 含量为99.9%),均购于中国食品药品检定研究院;磷酸二氢钠一水合物(批号为20210301),磷酸氢二钠十二水合物(批号为2021050),均购于国药集团化学试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 处方成分确定

根据国家药品监督管理局(NMPA)已公布的仿制

药参比制剂目录,选择Pf Prism CV公司的普瑞巴林口服溶液作为参比制剂。根据参比制剂的药品说明书,辅料包括羟苯甲酯、羟苯丙酯、无水磷酸二氢钠、无水磷酸氢二钠、三氯蔗糖、草莓香精和纯化水。其中,无水磷酸盐极具吸湿性,拟采用磷酸氢二钠十二水合物和磷酸二氢钠一水合物代替。以羟苯甲酯和羟苯丙酯作为抑菌剂,采用高效液相色谱(HPLC)法测定^[9],并进行抑菌效力检查^[10];以磷酸二氢钠一水合物与磷酸氢二钠十二水合物作为缓冲剂,采用紫外分光光度法结合pH检测法测定^[11],并考察缓冲能力;以三氯蔗糖作为甜味剂,采用HPLC法测定^[12];以草莓香精作为芳香剂,以风味等级评估确定含量。

2.2 羟苯甲酯与羟苯丙酯含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters μ -Bondapak C₁₈柱(300 mm × 3.9 mm, 10 μ m);流动相:甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾3.5 g和磷酸氢二钠十二水合物14.62 g,加水溶解并定容至1000 mL,加1 mol/L氢氧化钾溶液调pH至7.0)-水(350:100:1:550, V/V/V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:30 °C;检测波长:257 nm;进样量:50 μ L。系统适用性溶液在此色谱条件下的色谱图见图1。可见,羟苯甲酯、羟苯丙酯色谱峰的保留时间分别为7.629, 21.418 min,拖尾因子分别为1.02, 1.08,理论板数分别为7348, 9524,分离度为21.586。

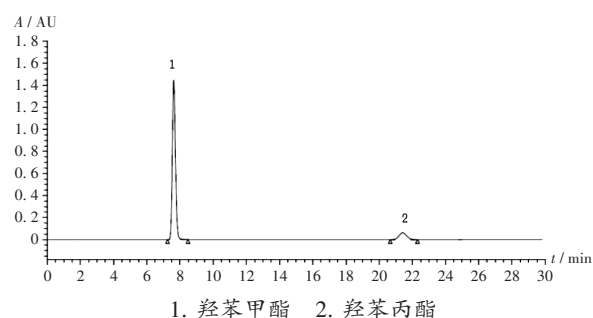


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Hydroxybenzoate 2. Hydroxypropyl ester

Fig.1 HPLC chromatogram of the system suitability test

2.2.2 溶液制备

取羟苯甲酯对照品32.49 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得羟苯甲酯对照品贮备液。取羟苯丙酯对照品8.06 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得羟苯

丙酯对照品贮备液。取上述贮备液各 2 mL, 置 20 mL 容量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

精密量取参比制剂 5 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 即得供试品溶液。

取羟苯甲酯对照品贮备液 2 mL、羟苯丙酯对照品贮备液 4 mL, 置 20 mL 容量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 即得系统适用性溶液。

按处方与工艺制备不含羟苯甲酯、羟苯丙酯的空白辅料样品, 按供试品溶液制备方法制备空白辅料溶液。

精密量取羟苯甲酯对照品贮备液 2 mL、羟苯丙酯对照品贮备液 8 mL, 分别置 20 mL 容量瓶中, 加流动相定容, 摇匀, 即得羟苯甲酯和羟苯丙酯定位溶液。

不加羟苯甲酯, 加普瑞巴林 1 mg/mL、羟苯丙酯约 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及其他辅料适量, 加流动相制成质量浓度为 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 即得羟苯甲酯空白溶液。同法制备羟苯丙酯空白溶液, 其中羟苯甲酯质量浓度为 65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。2 种溶液均不作定量分析。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 取羟苯甲酯定位溶液、空白溶液, 以及羟苯丙酯定位溶液、空白溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定, 色谱图见图 2。羟苯甲酯空白溶

液在羟苯甲酯色谱峰处, 羟苯丙酯空白溶液在羟苯丙酯色谱峰处均不出峰, 不干扰检测, 表明方法专属性良好。

线性关系考察: 取 20 mL 容量瓶 5 个, 分别加入羟苯甲酯、羟苯丙酯贮备液各 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL, 加流动相定容, 配制成梯度溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 以质量浓度 ($X, \mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y_{\text{甲}} = 293\,659 X_{\text{甲}} - 23\,733$ ($r = 0.999\,9, n = 5$)、 $Y_{\text{丙}} = 125\,810 X_{\text{丙}} - 1\,614.1$ ($r = 0.999\,8, n = 5$)。结果表明, 羟苯甲酯和羟苯丙酯的质量浓度分别在 16.229 ~ 129.830 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.013 ~ 16.104 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取线性关系考察项下中间浓度的混合对照品溶液 (约含羟苯甲酯 65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、羟苯丙酯 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 结果羟苯甲酯、羟苯丙酯峰面积的 RSD 分别为 0.18% 和 0.37% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取参比制剂适量, 按 2.2 项下供试品溶液制备方法制备, 平行 6 份, 按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定。结果羟苯甲酯和羟苯丙酯峰面积的 RSD 分别为 0.48% 和 0.87% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

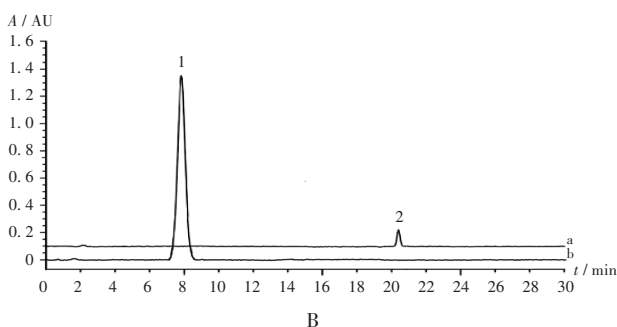
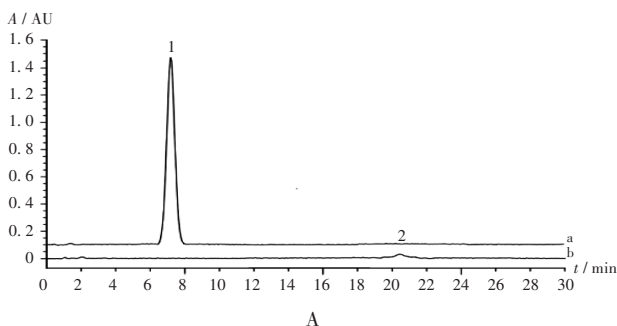
稳定性试验: 取重复性试验项下供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件下进样测定。结果羟苯甲酯、羟苯丙酯峰面积的 RSD 分别为 0.54% 和 0.89% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验: 取空白辅料溶液 2.5 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 分别加入羟苯甲酯贮备液和羟苯丙酯贮备液 4, 5, 6 mL, 各 3 份, 加流动相定容, 摇匀, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

加入量 (mg)		测得量 (mg)		回收率 (%)		\bar{X} (%)		RSD (%)	
羟苯甲酯	羟苯丙酯	羟苯甲酯	羟苯丙酯	羟苯甲酯	羟苯丙酯	羟苯甲酯	羟苯丙酯	羟苯甲酯	羟苯丙酯
2.599 2	0.322 4	2.610 2	0.318 5	100.42	98.79				
2.599 2	0.322 4	2.505 3	0.320 8	96.39	99.50				
2.599 2	0.322 4	2.589 9	0.328 2	99.64	101.80				
3.249 0	0.403 0	3.274 3	0.407 6	100.78	101.14				
3.249 0	0.403 0	3.199 6	0.408 4	98.48	101.34	99.54	100.55	1.45	1.06
3.249 0	0.403 0	3.225 8	0.406 8	99.29	100.94				
4.061 2	0.483 6	4.110 2	0.487 2	101.21	100.74				
4.061 2	0.483 6	4.039 7	0.480 2	99.47	99.30				
4.061 2	0.483 6	4.070 3	0.490 2	100.22	101.36				



1. 羟苯甲酯 2. 羟苯丙酯
a. 定位溶液 b. 空白溶液
A. 羟苯甲酯溶液 B. 羟苯丙酯溶液

图 2 专属性试验高效液相色谱图

1. Hydroxybenzoate 2. Hydroxypropyl ester
a. Positioning solution b. Blank solution

A. Hydroxybenzoate solution B. Hydroxypropyl ester solution

Fig. 2 HPLC chromatograms of the specific test

2.2.4 样品含量测定

取2批(批号分别为FC0777,DT5904)参比制剂,依法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法计算含量。结果供试品溶液中羟苯甲酯、羟苯丙酯的平均含量分别为62.5 μg/mL和8.25 μg/mL,即参比制剂(473 mL)中羟苯甲酯、羟苯丙酯的平均含量分别为1.25 μg/mL和0.165 mg/mL。则仿制制剂普瑞巴林口服溶液[规格为20 mg/mL(200 mL)]中羟苯甲酯与羟苯丙酯的投入量应分别为0.25 g和0.033 g。

2.3 磷酸二氢钠一水合物与磷酸氢二钠十二水合物含量测定

2.3.1 溶液制备

取干燥至恒定质量的磷酸二氢钾0.7165 g,精密称定,置1000 mL容量瓶中,加纯化水溶解并定容,得标准溶液贮备液。精密量取20 mL,置500 mL容量瓶中,加纯化水定容,即得磷酸根标准溶液。

精密量取参比制剂2 mL,置100 mL容量瓶中,加纯化水定容,即得供试品溶液。

精密量取供试品溶液2 mL,置50 mL容量瓶中,依次加入20 mL纯化水、2 mL 酸铵溶液(质量浓度为26 g/L)和3 mL 抗坏血酸溶液(质量浓度为20 g/L),加纯化水定容,室温放置10 min,即得标准曲线溶液。

2.3.2 检测波长确定

在酸性条件下,正磷酸盐与钼酸铵会在钽盐的存在下发生反应,生成黄色的磷钼杂多酸,抗坏血酸可将其还原成磷钼蓝(蓝色络合物),于710 nm波长处有最大吸收^[13]。取标准曲线溶液,采用紫外分光光度计进行全波长扫描,用1 cm比色皿,以空白调零测定吸光度。结果磷酸根于718 nm波长处有最大吸光度,故确定检测波长为718 nm。详见图3。

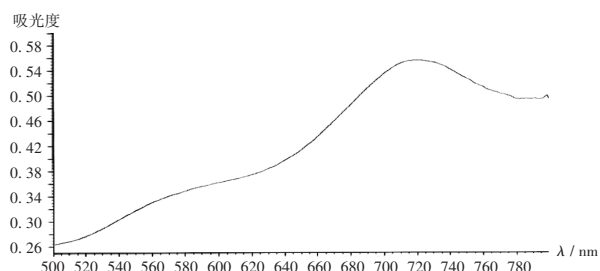


图3 参比制剂溶液的紫外光谱图

Fig. 3 Ultraviolet spectrum of the reference preparation solution

2.3.3 磷酸根含量测定

取2,3,4,5,6,7,8 mL磷酸根标准溶液,分别置7个50 mL容量瓶中,按2.3.1项下法制备标准曲线溶液,于718 nm波长处测定吸光度。以吸光度(Y)为纵坐标、磷酸根质量浓度(X, μg/mL)为横坐标进行线性回归,得

回归方程 $Y = 0.218X + 0.0626$ ($r = 0.9982, n = 7$)。结果表明,磷酸根的质量浓度在0.8~2.8 μg/mL范围内与吸光度线性关系良好。根据回归方程计算溶液中磷酸根质量浓度为2.282 μg/mL,即参比制剂(473 mL)中磷酸根质量浓度为2.853 mg/mL。则仿制制剂普瑞巴林口服溶液[规格为20 mg/mL(200 mL)]中磷酸根的投入量为0.5706 g。

2.3.4 pH检测法测定磷酸盐含量

对2批(批号分别为FC0777,DT5904)参比制剂进行多次测量,其pH在5.8~6.2范围内。配制pH为6的磷酸盐缓冲液时,磷酸二氢钠一水合物与磷酸氢二钠十二水合物的质量比约为3.56。取溶液200 mL,除普瑞巴林和羟苯酯类化合物确定含量,其他辅料对溶液pH影响可忽略,配制成质量浓度为0.5 mg/mL的溶液,测定pH。在磷酸根总含量为0.5706 g条件下,磷酸盐加入量见表2。可见,200 mL普瑞巴林口服溶液中磷酸二氢钠一水合物和磷酸氢二钠十二水合物的含量分别为0.748,0.210 g时缓冲液pH为6.02,最接近参比制剂pH范围。为测试缓冲液的缓冲能力,取仿制制剂普瑞巴林口服溶液20 mL,平行5份,按表3考察缓冲能力。参考《欧洲药典质量标准的起草技术指南(第4版)》酸碱度检查, $\Delta |pH| < 0.2$ 表明该缓冲液缓冲能力较强^[14]。可见,5批样品的变化pH均小于0.2。

表2 不同比例磷酸盐缓冲液的pH测定结果

Tab. 2 Measured values of pH with different ratios of phosphate solution

编号	质量比 ($m_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}} / m_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}}$)	加入量(g)		pH
		$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	
1	1.56	0.664	0.426	6.54
2	2.56	0.719	0.281	6.32
3	3.56	0.748	0.210	6.02
4	4.56	0.762	0.167	5.61

表3 缓冲液的缓冲能力考察试验

Tab. 3 Test on the buffering capacity of buffer

序号	试验方案	加入量	初始pH	最终pH	$\Delta pH $
1	加 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.015 g(约处方量的20%)	6.03	6.02	0.01
2	加 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	0.004 g(约处方量的20%)	6.03	6.03	0
3	加纯化水	4 mL(约处方量的20%)	6.03	6.09	0.06
4	0.01 mol/L氢氧化钠	0.5 mL	6.03	6.11	0.08
5	0.01 mol/L盐酸	0.5 mL	6.03	6.05	0.02

2.4 三氯蔗糖含量测定

2.4.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:水-乙腈(85:15, V/V);流速:1.0 mL/min;示差折光检测器;池温:50 °C;柱温:40 °C;进样量:20 μL。

2.4.2 溶液制备

精密量取参比制剂2 mL,置25 mL容量瓶中,加流动相定容,即得供试品溶液。

取三氯蔗糖对照品24.90 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得对照品溶液。

2.4.3 样品含量测定

取2.4.2项下供试品溶液与对照品溶液,按2.4.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法计算含量,结果供试品溶液和参比制剂中三氯蔗糖的质量浓度分别为0.26,3.25 mg/mL,则仿制制剂普瑞巴林口服溶液[规格为20 mg/mL(200 mL)]中三氯蔗糖的投入量为0.65 g。

2.5 草莓香精用量

草莓香精为食品、药品芳香剂,主要通过口味(甜味、苦味、香味)和性状来调整草莓香精的加入量。其他原辅料加入量相同,调整草莓香精含量(0.1~1.0 mg/mL),制备10批样品,与参比制剂进行风味等级评分。由6位人员对参比制剂在内的11份溶液的甜味(基本味道和余味)、苦味(基本味道和余味)和口感进行双盲评分。结果表明,当草莓香精含量为0.5 mg/mL时,仿制制剂与参比制剂口味和性状最接近。且美国食物和药物管理局(FDA)辅料数据库查询结果提示,草莓香精含量为0.5 mg/mL在口服液体剂剂中辅料最大安全用量范围内。

2.6 口服溶液制备工艺

2.6.1 溶解温度筛选

普瑞巴林在纯水介质中的饱和溶解度大于30 mg/mL^[15],生产时能快速溶解。羟苯酯类化合物极微溶于水,其他辅料易溶于水。因此,对羟苯酯类化合物和普瑞巴林进行溶解温度筛选。取处方量羟苯甲酯与羟苯丙酯,加纯化水200 mL,平行4份,以100 r/min的转速搅拌。由表4可知,85 °C与95 °C的溶解时间和溶解现象接近,考虑生产难度与成本,选择85 °C、转速100 r/min溶解处方量羟苯酯类溶液,平行3份,完全溶解后降温,加普瑞巴林4 g,考察普瑞巴林的溶解情况。由表5可知,转速等其他条件相同时,随着溶解时间的延长,能完全溶解;温度较高时,溶解速度较快,但制剂pH不稳定。故普瑞巴林原料药溶解温度选择30 °C。

2.6.2 配制顺序筛选

羟苯酯类化合物溶解性差,配制时应先加入,高温溶解;高温可能导致普瑞巴林分解而引进杂质,应在羟苯酯类化合物完全溶解降温后再加入;草莓香精加热后性状可能会发生改变,待其他原辅料溶解完全降至室温后再加入;三氯蔗糖性质稳定且易溶于水,加入顺

表4 羟苯甲酯和羟苯丙酯溶解温度筛选

Tab. 4 Screening of dissolution temperature of hydroxybenzoate hydroxyphenyl esters

编号	溶解温度(°C)	溶解时间(min)	溶解现象
1	95	29	无色澄清溶液
2	85	32	无色澄清溶液
3	75	45	存在少量浑浊
4	65	50	明显不溶

表5 普瑞巴林原料药溶解温度筛选

Tab. 5 Screening of dissolution temperature of pregabalin active pharmaceutical ingredients

编号	溶解温度(°C)	溶解时间(min)	溶解现象	pH		
				0 d	5 d	10 d
1	50	14	无色澄清溶液	5.94	6.11	6.28
2	40	26	无色澄清溶液	6.02	6.13	6.35
3	30	32	无色澄清溶液	5.97	6.01	6.06

表6 普瑞巴林口服溶液配制顺序筛选

Tab. 6 Screening of preparation sequence of Pregabalin Oral Solution

项目	顺序1		顺序2		
	0 d	10 d	0 d	10 d	
pH	5.98	6.15	6.03	6.39	
含量(%)	99.06	98.58	99.03	97.12	
有关物质	内酰胺	0.02	0.19	0.01	0.45
(%)	其他单个杂质	ND	ND	ND	ND
	总杂质	0.02	0.19	0.01	0.45

注:ND为未检出。

Note:ND refers to not detected.

序对制剂影响较小,一般与草莓香精同时加入。因此,控制其他条件相同,调整磷酸盐和普瑞巴林的加入顺序,以溶解时间、溶解现象、60 °C下10 d内pH值、有关物质和含量的变化幅度为依据,筛选配制顺序。

顺序1:羟苯甲酯→羟苯丙酯+磷酸二氢钠一水合物→磷酸氢二钠十二水合物+普瑞巴林+三氯蔗糖→草莓香精。

顺序2:羟苯甲酯→羟苯丙酯+普瑞巴林+磷酸二氢钠一水合物→磷酸氢二钠十二水合物+三氯蔗糖→草莓香精。

结果显示,顺序1、顺序2均为无色澄清溶液,主药溶解时间分别为26 min和23 min,其余结果见表6。《英国药典》的质量标准规定,内酰胺不得超过0.2%。60 °C放置10 d后,顺序2的内酰胺含量为0.45%,且pH值变化较大。因此,选择顺序1作为普瑞巴林口服溶液的配制顺序。

2.6.3 口服溶液小试工艺

取120 mL纯化水,加入烧杯,加热并保持在85 °C,加羟苯甲酯0.25 g、羟苯丙酯0.033 g,以100 r/min转

速至少搅拌 35 min,直至完全溶解,降温至 30 °C 以下,按顺序依次加入磷酸二氢钠一水合物 0.748 g、磷酸氢二钠十二水合物 0.210 g、普瑞巴林 4 g、三氯蔗糖 0.65 g 和草莓香精 0.1 g,搅拌至完全溶解,加 80 mL 纯化水,搅拌 20 min 至均匀。即得普瑞巴林口服溶液 20 mg / mL (200 mL)。

2.7 抑菌效力检查

按 2.6.3 项下小试工艺生产 4 批样品,即含 0, 80%, 100%, 120% 处方量羧苯酯类化合物(批号分别为 221201, 221202, 221203, 221204),每批各 3 份。参照 2020 年版《中国药典(四部)》通则 1121 抑菌效力检查法,将制备样品分别接种。模拟正常使用条件 20 ~ 25 °C 避光储存,分别于接种 14 d 和 28 d 时进行细菌和真菌计数,将各间隔时间测定的菌数 lg 值与 1 mL 试验样品中接种的菌数 lg 值进行比较,计算减少的 lg 值。由表 7 可知,14 d 时计数结果减少的 lg 值与判断标准相比,除 1 批样品(批号为 221201)外,其余 3 批样品均符合规定,且在接种 28 d 时仍符合规定。表明含处方量 80%, 100%, 120% 羧苯酯类化合物的普瑞巴林口服溶液抑菌效力检查结果符合规定。优选与参比制剂相同的处方量,即 100% 处方量的羧苯甲酯和羧苯丙酯。

表 7 普瑞巴林口服溶液抑菌效力检查结果

Tab. 7 Results of bacteriostatic efficacy of Pregabalin Oral Solution

时间	批号	减少的 lg 值				
		金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	大肠埃希菌	白色念珠菌	黑曲霉
14 d	221201	0.5	1.0	1.2	0	0.3
	221202	>4.8	>4.8	>4.8	3.1	4.1
	221203	>4.8	>4.8	>4.8	5.7	5.7
	221204	>4.8	>4.8	>4.8	5.7	5.7
28 d	221201	NI	NI	NI	NI	NI
	221202	NI	NI	NI	NI	NI
	221203	NI	NI	NI	NI	NI
	221204	NI	NI	NI	NI	NI

注:NI 表示未增加,指对前 1 个测定时间,试验菌增加的数量不超过 0.51 g。

Note: NI indicates no increase, which means that the increase in the number of test bacteria during the previous measurement time does not exceed 0.51 g.

3 讨论

3.1 缓冲液优化

参比制剂的公开说明书中,所用缓冲液为无水磷酸二氢钠和无水磷酸氢二钠,同时参考国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)辅料登记情况,无水磷酸二氢钠与制剂共同审评审批结果为 I 类(即尚未通过与制剂共同审评审批),且无水磷酸二氢钠和无水磷酸氢二钠极具吸湿性。综合考虑国内辅料的可及性,选择符

合《中国药典》且溶解性更好的磷酸二氢钠一水合物和磷酸氢二钠十二水合物。参比制剂处方分析结果显示,参比制剂中磷酸二氢钠一水合物和磷酸氢二钠十二水合物的含量分别为 3.74 mg / mL 和 1.05 mg / mL,并结合缓冲能力考察结果,确定上述加入量的磷酸盐具有较强的缓冲能力。

3.2 自制制剂与参比制剂主要理化性质一致

自制制剂与参比制剂主要理化性质检测结果显示,自制制剂与参比制剂的性状均为无色澄清溶液,pH 值均在 5.5 ~ 6.5 之间,含量均在 95.0% ~ 105.0% 之间,内酰胺的含量分别为 0.03%, 0.01%,其他单个杂质均未检出,有关物质总量分别为 0.03%, 0.01%。60 °C 条件下,自制制剂与参比制剂的内酰胺含量均明显增加,自制制剂由 0.03% 增至 0.65%,参比制剂由 0.01% 增至 0.74%,均超过限度值,但两者涨幅基本一致;40 °C 条件下,未显示出明显变化趋势,与参比制剂一致,表明两者稳定性相当。

3.3 方法评价

本研究中通过对普瑞巴林口服溶液参比制剂进行逆向工程研究得到的处方合理,制备工艺重复性好,可初步确定按此方法制备的普瑞巴林口服溶液药品质量稳定、安全性和有效性均较好。

参考文献

- [1] 李建川,王薇薇,吴 逊. 一种新型抗癫痫药物普瑞巴林[J]. 中国临床药理学杂志,2009,25(2):145-148.
- [2] 梁东风,杨春花,张 洁,等. 度洛西汀和普瑞巴林治疗纤维肌痛的疗效和安全性对照研究[J]. 中国疼痛医学杂志,2023,29(3):194-200.
- [3] 韩俊萍,田如新,樊碧发,等. 度洛西汀和普瑞巴林治疗糖尿病性周围神经理性疼痛疗效与安全性比较的 Meta 分析[J]. 中国疼痛医学杂志,2020,26(5):357-361.
- [4] 苏小霞. 普瑞巴林治疗脊髓损伤后神经痛的疗效和安全性分析[J]. 智慧健康,2021,7(23):126-128.
- [5] 朱 谦,赵 晶,覃旺军,等. 基于血药浓度监测普瑞巴林治疗带状疱疹后神经痛的临床观察[J]. 中国疼痛医学杂志,2022,28(5):340-346.
- [6] 李泓锡,姚 鹏. 普瑞巴林在神经病理性疼痛中应用的研究进展[J]. 中国医师进修杂志,2019,42(1):81-84.
- [7] 凌 骅,余丽花,黄志军,等. 咪塞米口服溶液的逆向工程研究[J]. 中国药师,2021,24(10):1907-1910.
- [8] 付 强,刘 青,徐兴志,等. 盐酸伊立替康注射液中乳酸反向工程研究[J]. 中国药业,2020,29(5):60-62.
- [9] 李静如,王增明,钱 好,等. 高效液相色谱法同时测定普瑞巴林口服溶液中普瑞巴林及羧苯酯类抑菌剂含量[J]. 国际药学研究杂志,2020,47(7):579-582.
- [10] 王银环,王征南,钱 凌,等. 普瑞巴林口服溶液抑菌效力研究