

药物晶型多态性及其测定、评价方法

金朝辉^{1*}, 顾锦建¹, 郑明琳¹, 赵 森^{2#} (1. 四川大学华西医院, 成都 610041; 2. 成都医学院药学院, 成都 610000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4318-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.46

摘要 目的: 为新药研发生产及药物质量控制指标的优化与完善提供参考。方法: 以“药物多晶型”“晶型多态性”“测定”“评价”等为关键词, 检索2006年1月—2015年12月在PubMed、中国知网、维普等数据库中收录的相关文献, 进行归纳、总结。结果: 药物晶型多态性可对新药研发生产及临床疗效产生影响, 不容忽视。多晶型药物的定量测定方法主要有X-射线粉末衍射法、拉曼光谱法、中红外光谱法、近红外光谱法、差示扫描量热法等。多晶型药物的体内外评价技术可分为细胞模型技术、动物离体组织器官技术、动物在体组织器官模型技术、动物模型技术等。结论: 药物晶型多态性研究已成为新药研发及药物质量控制的重要环节。我国当前应加强该方面的研究, 以提高仿制药的生物利用度和临床疗效, 缩小仿制药与原研药的差距。

关键词 药物晶型多态性; 测定; 评价

在临床上80%的药物以固体制剂形式给药, 固体药物的多晶型现象是普遍存在的, 化学药中50%以上存在多晶型的情况, 而晶型是影响药物稳定性、质量可控性、临床疗效与安全性的重要因素, 同一种药物由于晶型不同, 其理化性质、生物活性会有所差异, 因此药物晶型多态性问题不容忽视。本文中, 笔者以“药物多晶型”“晶型多态性”“测定”“评价”等为关键词, 检索2006年1月—2015年12月在PubMed、中国知网、维普等数据库中收录的相关文献, 进行归纳、总结, 旨在为 Newman 新药研发生产及药物质量控制指标的优化与完善提供参考。

1 药物晶型多态性及效应

1.1 药物晶型多态性对新药研发生产的影响

在新药研发生产过程中, 药物自身的晶型类型极为关键。多晶型药物根据其稳定性可分为稳定型、亚稳定型和不稳定型。稳定型熔点高、化学稳定性较好, 但溶出速率慢, 溶解度小; 不稳定型则溶出速率快、溶解度大, 但化学稳定性相对较差; 亚稳定型介于稳定型和不稳定型之间, 储存一段时间会向稳定型转变。在新药研发生产的过程中, 需重点关注药物的晶型类型, 探究药物晶型多态性产生的机制, 根据其各晶型类型的稳定性特征, 采取必要的工艺技术, 保障原料和制剂在生产与贮藏过程中的晶型一致。我国自20世纪70年代开始关注固体化合物的多晶型现象, 尤其是在药物研究方面, 但现在绝大多数药物晶型研究仍没有系统化。

1.2 药物晶型多态性对临床疗效的影响

药物晶型多态性对临床疗效的影响是目前药学界比较关注的问题。同一种药物在疗效上存在差异, 其原因除了因生产工艺不同而产生的质量差异外, 另一个可能原因就是药物

晶型对生物利用度的影响。药物因晶型不同(晶型自由能差异以及分子间作用力不同)导致其生物利用度不同, 进而影响药物在体内的吸收, 产生药效差异。有研究表明^[1-3], 造成仿制药与原研药、不同企业生产的同种药物、同一企业同种药物的不同生产批次临床疗效差异的原因, 大多数是由于固体药物的晶型物质存在状态变化。如, 那格列奈的S晶型与临床使用的H晶型溶解度均明显>B晶型; 阿司匹林有晶型I和晶型II, 相同给药剂量下服用II型的血药浓度超出I型达70%。

目前, 文献对于药物晶型的报道大多集中在药物晶型制备和表征及其多晶型的存在形式上, 而对药物不同晶型间生物利用度的差异研究则较少涉及^[9]。这提示我们需进一步掌握各种固体药物的晶型种类, 发现其优势晶型, 摸索引起晶型变化的各种控制条件, 保证药物晶型的稳定性, 改善药物的溶出速率和生物利用度, 从而提高临床疗效和安全性。

2 多晶型药物的定量测定

2.1 多晶型药物定量测定的必要性

目前, 我国药品质量标准中对药物晶型的控制相对薄弱, 多是定性分析, 而仅定性分析原料药或制剂中的晶型已不能满足药物临床疗效和安全性评价的需求。因此, 有必要研究完善的晶型质量控制体系来提高药物的质量标准, 进而为提高其临床疗效奠定基础。此外, 对药典上已经收录的各类固体药物的晶型问题尚缺少必要的、有效的、定量的检测数据支持, 该方面研究与国际水平仍存在着较大的差距。2015年版《中国药典》编制大纲中明确提出增订“晶型研究指导原则”, 这说明晶型控制问题已引起国家药典委员会的重视, 但该指导原则的推迟发布说明该方面的研究目前还未完全成熟, 在今后的药物质量评价与控制体系的发展方向上, 晶型的研究, 尤其是多晶型定量测定, 必然是其中的一项重要内容^[4]。

2.2 多晶型药物的定量测定方法

2.2.1 X-射线粉末衍射法(X-ray powder diffraction, XRD)^[5-7]

* 主管药师, 博士研究生。研究方向: 临床用药的药理学基础。电话: 028-85423202。E-mail: 695025422@qq.com

通信作者: 讲师。研究方向: 药事管理与法规。电话: 028-68289198。E-mail: xiangxijiaxia@163.com

每个化合物的晶体都有它自己特定的X射线衍射图,因此X-射线衍射分析是鉴别药物晶型的有力手段。XRD法常用最强衍射线的晶面间距和相对强度来进行定性分析和定量测定,具有特异、准确、快速、操作简便的优点,正日益受到人们的重视,已广泛应用于药物的晶型分析。

2.2.2 拉曼光谱法(Raman spectroscopy)^[7-12] 拉曼光谱(Raman spectra)是一种散射光谱。拉曼光谱法是基于拉曼散射效应,对与入射光频率不同的散射光谱进行分析以得到分子振动、转动方面信息,并应用于分子结构研究的一种定性、定量分析方法。该方法可获得样品的物理化学及深层结构信息^[13],与其他方法相比,其优势在于:样品无需前处理、对样品无破坏、操作简便、时间短、灵敏度高。此外,由于该方法对于非极性物质具有较高的响应值,而药用辅料通常为极性物质,响应值较低,因此其更适合于药物制剂的分析^[14]。

2.2.3 红外光谱法 红外光谱法可分为中红外光谱法和近红外光谱法。(1)中红外光谱法(Infrared spectroscopy, IR)。物质照射中红外光后,一部分中红外光被该物质吸收。被吸收的中红外光的波长和吸收程度(吸光度或透射率)由该物质决定,故测量中红外吸收光谱可以得知物质固有光谱。IR法通过选取样品中红外光谱的特征峰,采用内标法或外标法,测定有效晶型的含量,具有快速、简便、无污染等优点。(2)近红外光谱法(Near infrared spectroscopy, NIR)^[7, 11-15]。NIR法对样品在近红外光谱区域的特征吸收峰进行分析,获取其有效晶型在近红外光谱区域的特征吸收波段光谱,并在此基础上运用偏最小二乘法(PLS)建立校正模型,从而对其中的有效晶型进行定量测定。该方法分析速度快,不仅可以鉴别活性成分的不同晶型,还可以检测原料药和制剂中晶型的纯度。

2.2.4 差示扫描量热法(Differential scanning calorimetry, DSC) DSC法是一种热分析技术。物质的晶型不同,在DSC曲线上的熔化吸热峰的位置也各异,据此可进行多晶型的鉴别^[16]。对于混合有效晶型和无效晶型的药物,进行DSC扫描,绘制DSC曲线,根据峰面积正比于热焓的变化,即可计算两种晶型的百分含量。DSC试验中需要对参比物质和待测物质以相同的速率进行加热和冷却,记录的信息是保持两种样品的温度相同时两者之间的热量之差,在试验过程中,参比物质和待测物质始终保持温度相等,所以两者之间没有热传递,在定量计算时精度比较高。

3 多晶型药物的体内外评价

对于多晶型化合物,可在早期成药性评价中明确其药理活性是否具有晶型选择性,从而提前预测其后期开发的必要性,提高研发的效率和成功率,避免早期评价中存在的由于晶型不同造成的生物活性差异。目前,多晶型药物的生物学评价技术主要可分为体外模型技术和体内模型技术。

3.1 体外模型技术

体外模型技术是评价多晶型药物吸收机制、代谢酶和转运体处置原理以及药物与载体蛋白相互作用的常见研究方法。通过体外试验可预测多晶型药物体内处置结果,甚至药物体内相互作用机制^[17]。该技术可分为细胞模型技术和动物

离体组织器官技术。

3.1.1 细胞模型技术 细胞模型技术最常用的肠渗透模型是Caco-2细胞和MDCK细胞,其中Caco-2细胞是被美国食品与药品管理局(FDA)批准的药物吸收模型。(1)Caco-2细胞。Caco-2细胞与人肠组织的吸收特性十分相似,故被认为是体外研究药物吸收特性的主要手段,并被广泛应用。虽然Caco-2细胞模型尚存在一些不足,如细胞培养时间过长(21 d),模型本身为纯细胞系,缺乏在小肠上皮细胞中的黏液层,缺少细胞培养标准以及试验操作标准等,但作为一种药物离体口服特性筛选模型,Caco-2细胞可用于了解不同晶型药物的吸收机制及其在小肠的代谢情况^[18]。(2)MDCK细胞。MDCK细胞为犬肾近曲小管上皮细胞,可以在聚碳酸酯膜上生长分化为类似小肠上皮细胞的单层膜结构,具有3~7 d后细胞单分子层即可达到完全分化的优点。而通过用人类的mdr1基因稳定转染MDCK细胞后,建立的MDCK-MDR1细胞系,能大量表达P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp),具有培养周期短,代与代之间均一性高的特点,是一种很好的人小肠上皮细胞模型,可用于P-gp底物与具有晶型多态性的P-gp抑制剂活性的筛选、P-gp介导的药物(包括多晶型药物)相互作用评价及其吸收情况观察^[19]。

3.1.2 动物离体组织器官技术 动物离体组织器官技术是将动物离体肠段固定在扩散池中间,测定在组织器官水平上的药物吸收。该模型可用于考察多晶型促吸收剂作用的部位差异及用于促吸收剂的筛选^[20-21]。

3.2 体内模型技术

虽然体外细胞与组织器官水平的评价数据,可用于预测晶型药物的体内过程,但是药物处置的关键参数只能通过体内研究获得。为了得到更准确的晶型对体内药物吸收影响的结果,需采用体内模型技术。

3.2.1 动物在体组织器官模型技术 动物在体组织器官模型保留了完整的肠道神经以及内分泌系统,同时也保证了血液和淋巴液的供应。单向灌流法借用肠插管,用低流速对某一肠段进行单向灌流,考察进出口处灌流液中的药物浓度差,评价药物在该肠段的吸收情况。该方法组织活性高,易操控,与人体有良好的相关性^[22]。有研究者将单向灌流法与液相色谱-质谱联用技术相结合,成功建立了肠段灌注后肠系膜静脉中双环醇血浆浓度的检测方法,具有简单、快速、灵敏的优点^[23]。

3.2.2 动物模型技术 动物模型比细胞模型、动物离体组织器官模型及动物在体组织器官模型更接近于人体内药物代谢的实际情况。适宜的动物模型对晶型药物的研究和开发至关重要。缺少这类数据,将无法建立理想的生理药动学模型。对于固体多晶型口服药物在动物体内生物活性的研究,关键在于如何保证化合物的晶型保持不变。而采用与临床用药方式更为接近的给药方法,如将不同晶型的固体药物用灌胃器经口送到实验动物的胃中,由此可保证在给药过程中药物晶型不发生改变,从而能更加准确地反映不同晶型的固体药物生物活性的真实情况。

4 结语

目前,在药物晶型多态性研究方面,我国与国际先进水平存在较大差距。加强该方面的研究,尤其是多晶型药物的生物活性研究,不仅有助于改善药品质量标准中晶型控制的薄弱环节,为“晶型研究指导原则”的制订提供充实的实(试)验基础,还可以为化合物的早期成药性评价提供晶型选择依据,从而加快新药研发的进度。该方面的研究对于提高仿制药的生物利用度和临床疗效,缩小仿制药与原研药的差距,提升国内仿制药产业的竞争力具有重要意义,其产生的直接经济效益不容小觑。

参考文献

- [1] 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):1 503.
- [2] 李钢,徐群为,李瑞,等.那格列奈的多晶型与溶解度[J]. 化学学报,2007,65(24):2 817.
- [3] 张娜,黄海伟,林兰,等.心血管系统治疗药物的晶型研究进展[J]. 现代药物与临床,2014,29(6):690.
- [4] 马乐伟,杜葳,赵春顺.药物晶型定量分析方法的研究进展[J]. 药科学报,2011,46(8):896.
- [5] Tanninen VP, Yliruusi J. X-ray powder diffraction profile fitting in quantitative determination of two polymorphs from their powder mixture[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1992, 81(2/3):169.
- [6] Campbell RSN, Williams AC, Grimsey IM, *et al.* Quantitative analysis of mannitol polymorphs. X-ray powder diffractometry: exploring preferred orientation effects[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 28(6):1 149.
- [7] Croker DM, Hennigan MC, Maher A, *et al.* A comparative study of the use of powder X-ray diffraction, Raman and near infrared spectroscopy for quantification of binary polymorphic mixtures of piracetam[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 63(7):80.
- [8] Numata Y, Tanaka H. Quantitative analysis of quercetin using Raman spectroscopy[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(126):751.
- [9] Wu ZL, Zhang C, Stair PC. Influence of absorption on quantitative analysis in Raman spectroscopy[J]. *Catalysis Today*, 2006, 113:40.
- [10] Pratiwi D, Fawcett JP, Gordon KC, *et al.* Quantitative analysis of polymorphic mixtures of ranitidine hydrochloride by Raman spectroscopy and principal components analysis[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2002, 54(3):337.
- [11] Hu Y, Erxleben A, Ryder AG, *et al.* Quantitative analysis of sulfathiazole polymorphs in ternary mixtures by attenuated total reflectance infrared, near-infrared and Raman spectroscopy[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3):412.
- [12] Hennigan MC, Ryder AG. Quantitative polymorph contaminant analysis in tablets using Raman and near infrared spectroscopies[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 72(2):163.
- [13] 刘燕德,刘涛,孙旭东,等.拉曼光谱技术在食品质量安全检测中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(11):3 007.
- [14] Patel AD, Luner PE, Kemper MS. Quantitative analysis of polymorphs in binary and multi-component powder mixtures by near-infrared reflectance spectroscopy[J]. *Int J Pharm*, 2000, 206(1/2):63.
- [15] Reich G. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(8):1 109.
- [16] 刘文英. 药物分析[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社, 2006:15-62.
- [17] Brantley SJ, Argikar AA, Lin YS, *et al.* Heab-drug interactions: challenges and opportunities for improved predictions[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42(3):301.
- [18] Ding R, Jian Y, Kan H, *et al.* Studies on the intestinal absorption of the alkaloids in the Gancaofuzi decoction in a Caco-2 cell culture system by UPLC-MS/MS analysis[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2016, 27(6):915.
- [19] Hu PY, Liu D, Zheng Q, *et al.* Elucidation of transport mechanism of paeoniflorin and the influence of ligustilide, senkyunolide I and senkyunolide A on paeoniflorin transport through Mdr1 cells as blood-brain barrier in vitro model[J]. *Molecules*, 2016, 21(3):300.
- [20] Rozehnal V, Nakai D, Hoepner U, *et al.* Human small intestinal and colonic tissue mounted in the using chamber as a tool for characterizing the intestinal absorption of drugs[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 46(5):367.
- [21] Fortuna A, Alves G, Falcão A, *et al.* Evaluation of the permeability and P-glycoprotein efflux of carbamazepine and several derivatives across mouse small intestine by the Ussing chamber technique[J]. *Epilepsia*, 2012, 53(3):529.
- [22] Sun M, Zhai X, Xue K, *et al.* Intestinal absorption and intestinal lymphatic transport of sirolimus from self-emulsifying drug delivery systems assessed using the single-pass intestinal perfusion (SPIP) technique and a chylomicron flow blocking approach: linear correlation with oral bioavailabilities in rats[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(3):132.
- [23] Tan W, Wang BL, Hu JP, *et al.* Establishment of liquid chromatography/mass spectrometry for determination of bicyclol in rat single-pass intestinal perfusion[J]. *Biomed Chromatogr*, 2009, 23(10):1 059.

(收稿日期:2015-11-09 修回日期:2016-09-18)

(编辑:周 簪)