

# 盐酸普拉克索缓释微丸胶囊的制备及有关物质检测

戈文兰\*,张根元(江苏省药物研究所有限公司,南京 210009)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)31-4433-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.31.33

**摘要** 目的:制备盐酸普拉克索缓释微丸胶囊,建立其有关物质的检测方法。方法:采用流化床空气悬浮包衣法制备载药丸芯,以乙基纤维素水分散体(Surelease®)进行包衣,制成盐酸普拉克索缓释微丸,装入胶囊即可。采用高效液相色谱(HPLC)法检测缓释微丸中有关物质,色谱柱为Capcell PAK MG-II C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);梯度洗脱,流动相A为甲酸铵缓冲液(pH 5.0),流动相B为甲醇;流速为1.0 ml/min;二极管阵列检测器,检测波长为240、262、326 nm;进样量为80 μl。结果:该色谱条件下,盐酸普拉克索能与7种有关物质完全分离,且空白辅料不干扰测定,7种有关物质检测质量浓度的线性范围均为0.2~2 μg/ml( $r>0.999 0$ ),检测限为0.5~1.8 ng,定量限为1.7~5.9 ng,平均回收率为98.93%~102.0%(RSD为1.90%~0.24%, $n=9$ ),精密度和稳定性试验的RSD均小于1.0%( $n=5$ )。所制得的盐酸普拉克索缓释微丸胶囊中仅检测出1种有关物质。结论:成功制得盐酸普拉克索缓释微丸胶囊;所建立的HPLC法可用于其有关物质的检测。

**关键词** 盐酸普拉克索;缓释微丸;胶囊;制备;高效液相色谱法;有关物质;检测

## Preparation of Pramipexole Dihydrochloride Sustained-release Pellets Capsules and Related Substances Determination

GE Wenlan, ZHANG Genyuan (Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica Co., Ltd., Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Pramipexole dihydrochloride sustained-release pellets capsules and to establish a method for the determination of related substances. METHODS: Drug loaded core was prepared by fluid bed air suspension coating method, and pramipexole dihydrochloride pellets were prepared using Surelease® as coating materials and put into capsules. HPLC method was used to determine related substance in sustained-release pellets; the determination was performed on Capcell PAK MG-II C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase A consisted of ammonium formate buffer solution (pH 5.0) and mobile phase B consisted of methanol for gradient elution at flow rate of 1.0 ml/min; diode array detector was used with detection wavelength of 240, 262, 326 nm and injection volume of 80 μl. RESULTS: Pramipexole dihydrochloride and 7 kinds of related substances were separated by the established HPLC conditions. The blank excipient did not interfere with the assay of the related substances. The linear ranges of 7 related substances were 0.2-2 μg/ml ( $r>0.999 0$ ); the limit of detection ranged 0.5-1.8 ng, and the limit of quantitation ranged 1.7-5.9 ng; average recovery ranged 98.93%-102.0% (RSD were 1.90%-0.24%,  $n=9$ ). RSD of precision and stability test were all lower than 1.0% ( $n=5$ ). Only one related substance was found in prepared Pramipexole dihydrochloride pellets capsules. CONCLUSIONS: Pramipexole dihydrochloride pellets capsules are prepared successfully. Established HPLC method can be used for the determination of its related substances.

**KEYWORDS** Pramipexole dihydrochloride; Sustained-release pellets; Capsules; Preparation; HPLC method; Related substances; Determination

盐酸普拉克索为非麦角碱类D<sub>2</sub>和D<sub>3</sub>受体激动药,能高度选择性地刺激多巴胺受体,从而改善患者症状。它是优于麦角类衍生物的新一代抗帕金森病(PD)药物,也是目前美国神经病学学会、运动障碍学会以及各国PD治疗指南推荐的一线治疗药物。临床上盐酸普拉克索主要用于治疗PD,能有效地缓解PD患者伴发的抑郁症<sup>[1-3]</sup>。盐酸普拉克索片(商品名:Mirapex IR)首先由德国勃林格殷格翰(Boehringer-Ingelheim)公司开发,于1997年5月首先在美国上市,每天需服药3~4次。将盐酸普拉克索制成缓释片可增强其药效,减少服药次数,降低药品不良反应,便于老年患者长期服药<sup>[4]</sup>。国外已有盐酸普拉克索缓释片(商品名:Mirapex ER)上市,已获批进口,并在中国上市。缓释微丸胶囊除具有缓释片的特点外,其安全性更高,在胃肠道分布广,且不受胃肠道pH变化等因素的影响。本研究拟将盐酸普拉克索制备成缓释微丸胶囊,并建立其有关物质的检查方法,以期为其新药的研制和质量标准的制订

\* 副研究员。研究方向:药物新剂型的研究与开发。电话:025-58139406。E-mail:gwlan@sina.com

提供科学依据。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

Agilent 1260 series 高效液相色谱仪(美国Agilent公司)。

#### 1.2 药品与试剂

盐酸普拉克索对照品(批号:20140101,纯度:99.50%)、盐酸普拉克索缓释微丸胶囊(批号:20140601、20140604、20140607,规格:每粒0.375 mg)均由江苏省药物研究所有限公司提供;羟丙甲纤维素E5(HPMC E5)、乙基纤维素水分散体(Surelease®)均购自上海卡乐康公司;空白丸芯(德国JRS公司,规格:30~35目);杂质a对照品(Rac-trans-7-hydroxy pramipexole,批号:H952145,纯度:97%)、杂质b对照品(Pramipexole C-N dimer impurity,批号:H952140,纯度:98%)、杂质c对照品(Rac-7-oxo-pramipexole,批号:A630480,纯度:96%)、杂质d对照品(Rac N-propyl-2-cyanimidopyrrolidine-5-acetic acid,批号:P835150,纯度:98%)、杂质e对照品[N-(aminothioxomethyl)-5-oxo-1-propyl-2-pyrrolidineacetamide,批号:O858940,纯

度:98%)、杂质g对照品(2-aminobenzothiazole,批号:A593500,纯度:98%)均购自上海致化化学科技有限公司;杂质f对照品(1,3-benzoxazol-2-amine,美国Santa Cruz Blotechnology公司,批号:SC-273567,纯度:100%);甲醇为色谱纯,甲酸铵为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 制备工艺

2.1.1 素丸 将30~35目的空白丸芯加入流化床中,预热10 min。包衣条件:喷嘴直径1 mm,进风温度55 ℃,雾化压力0.4 MPa,物料温度(40±2) ℃,流化风量0.15 m<sup>3</sup>/min,喷液速度1~3 g/min。分次交替喷入2.5%盐酸普拉克索水溶液,依法反复操作,直至达到规定的药物含量。包衣溶液喷完后再次流化干燥30 min。

2.1.2 隔离层包衣 称取处方量的HPMC E5,加入蒸馏水放置溶解,制成5%HPMC E5溶液,再加入10%聚乙二醇4000,磁力搅拌溶解,即配成隔离层包衣液。取盐酸普拉克索丸包衣,直至包衣增质量约3%。包衣条件同“2.1.1”项。

2.1.3 缓释微丸 将包了隔离层的素丸置于流化床中,喷入10% Surelease<sup>®</sup>包衣液。包衣条件:喷嘴直径1 mm,流化风量0.15 m<sup>3</sup>/min,雾化压力0.6 MPa,包衣温度(40±2) ℃,喷液速度0.7~1.0 ml/min。如此反复,直至缓释微丸的释放度符合规定,取出,装入胶囊即可。

### 2.2 有关物质的检查

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Capcell PAK MG-II C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相A:pH 5.0甲酸铵缓冲液(取甲酸铵31.5 g,加水溶解并稀释至1 000 ml,用甲酸调节pH至5.0),流动相B:甲醇,梯度洗脱(0~5 min 99% A,5~38 min 99%~44% A,38~40 min 44%~99% A,40~50 min 99% A),流速:1.0 ml/min;采用二极管阵列检测器,主药的检测波长:262 nm,杂质d、f的检测波长:240 nm,杂质a、b、e、g的检测波长:262 nm,杂质c的检测波长:326 nm;温度:室温;进样量:80 μl。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品的内容物适量,研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸普拉克索1 mg),置于5.0 ml量瓶中,加适量甲酸铵缓冲液(pH 5.0,下同),超声使盐酸普拉克索溶解,放冷,用甲酸铵缓冲液稀释至刻度,10 000 r/min(离心半径3 cm)离心10 min,用0.45 μm的滤膜滤过,取续滤液,即得。

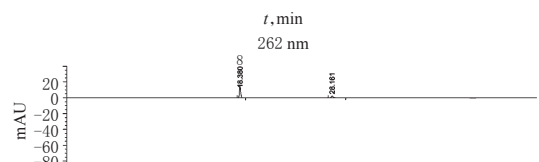
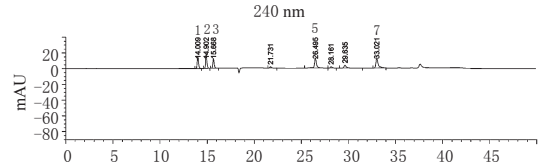
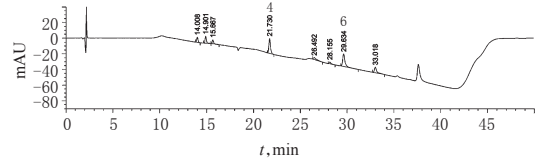
2.2.3 混合对照品溶液的制备 精密称取杂质a、b、c、d、e、f、g对照品适量,用甲酸铵缓冲液溶解并定量稀释制成每1 ml中约含1 μg的混合对照品溶液。

2.2.4 空白辅料溶液 按处方量制备不含盐酸普拉克索的空白缓释微丸胶囊内容物适量,按“2.2.2”项下方法制备成空白辅料溶液。

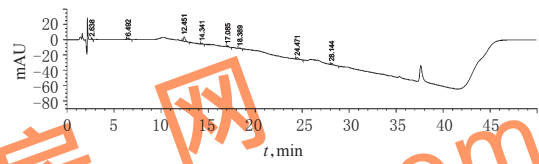
2.2.5 系统适用性试验 分别取混合对照品溶液、供试品溶液、空白辅料溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样,记录色谱。结果显示,盐酸普拉克索峰保留时间约为15 min,待测成分峰与溶剂及其他杂质峰分离良好,空白辅料对其测定无干扰。色谱图见图1(图中1为杂质a,2为杂质b,3为普拉克索,4为杂质d,5为杂质e,6为杂质f,7为杂质g,8为杂质c)。

2.2.6 专属性试验 取本品内容物适量,研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸普拉克索1 mg),共6份,分别置于5 ml量瓶中,对其中5份进行酸、碱、热、氧化及光照破坏后,制备成供试品溶液,剩余1份作未破坏对照。取上述6份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示,本品经碱、酸破坏后未见明显降解产物;氧化、热、光照破坏后均产生了明显

混合对照品溶液:



空白辅料溶液:



的降解产物,且各降解产物与已知杂质及主峰分离良好,表明本方法专属性好,能够满足有关物质的检查要求。

2.2.7 线性关系考察 分别精密称取杂质 a、b、c、d、e、f、g 对照品适量,按“2.2.3”项下方法制备成 0.1~3 μg/ml 的线性对照溶液,分别进样测定,记录峰面积。以各杂质峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行线性回归分析,以信噪比 3 和 10 计算检测限和定量限。结果表明,各杂质与峰面积的线性关系良好,回归方程、线性范围、检测限和定量限的检测结果见表 1。

表 1 回归方程、线性范围、检测限和定量限的检测结果

Tab 1 Results of regression equations, linear range, limit of detection and limit of quantitation

样品	回归方程	r	线性范围, μg/ml	检测限, ng	定量限, ng
杂质 a	y=2.228 3+240.50x	1.000 0	0.132~1.32	0.6	1.9
杂质 b	y=-1.209 4+168.98x	1.000 0	0.202~2.02	1.0	3.3
杂质 c	y=-2.984 1+366.50x	0.999 3	0.220~2.20	0.8	2.6
杂质 d	y=-3.373 6+388.68x	0.999 9	0.120~1.20	0.6	1.9
杂质 e	y=18.986+203.59x	0.996 5	0.156~1.56	0.5	1.7
杂质 f	y=-8.307 0+467.01x	1.000 0	0.246~2.67	0.7	2.3
杂质 g	y=-1.224 6+342.21x	1.000 0	0.255~2.55	1.8	5.9

2.2.8 加样回收率试验 取本品内容物细粉适量(约相当于盐酸普拉克索 1 mg),9 份,分别置于 5 ml 量瓶中,分别加入 0.5% 的各杂质对照品溶液 0.8、1.0、1.2 ml,制成低、中、高 3 个质量浓度的加样回收溶液,进样测定峰面积,计算加样回收率。结果显示,杂质 a、b、c、d、e、f、g 的平均加样回收率分别为 99.10% (RSD=0.20%)、100.5% (RSD=0.20%)、98.93% (RSD=0.23%)、102.0% (RSD=0.21%)、99.71% (RSD=1.9%)、102.0% (RSD=0.40%)、100.5% (RSD=0.24%),n=9,表明杂质检测准确度较好,方法符合定量分析的要求。

2.2.9 精密度的试验 取混合对照品溶液 80 μl,连续进样 5 次,记录色谱图,计算各杂质峰面积的 RSD。结果显示,杂质 a、b、c、d、e、f、g 峰面积的 RSD 分别为 0.15%、0.18%、0.11%、0.11%、0.16%、0.36%、0.14% (n=5),表明仪器的进样精密度高。

2.2.10 稳定性试验 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 进样测定,记录峰面积,考察主成分及各杂质的变化。结果显示,盐酸普拉克索和杂质 a 峰面积的 RSD 分别为 0.10%、2.0% (n=5),表明二者在 8 h 内稳定。

2.2.11 样品中有关物质测定 取盐酸普拉克索缓释微丸胶囊,按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,进样测定,记录峰面积。将检出杂质按外标法计算其相当于盐酸普拉克索标示量的百分含量。结果显示,3 批样品仅检出杂质 a (约为 0.04%),其他杂质均未检出,具体见表 2。

### 3 讨论

预试验时,笔者选用了 Surelease<sup>®(5-6)</sup>和 Eudragit<sup>®NE30D(7-8)</sup>作为缓释微丸的包衣材料。Eudragit<sup>®NE30D</sup>包衣时无需外加增塑剂,但通常需要加入抗黏剂(如滑石粉),包衣完成后还需对微丸进行热处理。Surelease<sup>®</sup>是一种全配方的乙基纤维素水性分散体,无需外加增塑剂和抗黏剂,包衣完成后无需对微丸进行热处理。通过处方筛选,两者均能达到同样的释药效果,最终选择操作更简便的 Surelease<sup>®</sup>为缓释微丸的包衣材料。

表 2 盐酸普拉克索缓释微丸胶囊的有关物质检测结果

Tab 2 Results of related substances in Pramipexole dihydrochloride sustained-release pellets capsules

杂质	批号		
	20140601	20140604	20140607
a	0.04%	0.04%	0.05%
b	未检出	未检出	未检出
c	未检出	未检出	未检出
d	未检出	未检出	未检出
e	未检出	未检出	未检出
f	未检出	未检出	未检出
g	未检出	未检出	未检出

笔者曾考察了隔离层对微丸释放的影响,通过相似因子 $f_2$ 比较,发现有无隔离层的缓释微丸的释放曲线基本一致。由此可知,隔离层对微丸的释放没有影响,但可以防止水溶性药物向缓释衣膜迁移,增加缓释微丸的稳定性。

针对本品中可能存在的杂质、潜在杂质及降解杂质较多,笔者进行了色谱条件的选择及优化。笔者曾采用甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸盐缓冲液、甲醇-醋酸盐缓冲液系统进行梯度洗脱,后期也参考过文献[9-10]的色谱条件,但都存在各杂质与主成分不能全部分开、主峰峰形不佳、拖尾较严重等问题。经流动相多次优化试验,最终采用本文的梯度洗脱法进行有关物质的检测;因各杂质在不同的波长处有最大吸收,为确保检测灵敏度及准确度,故采用不同吸收波长进行杂质检测。

### 参考文献

- [1] 余丹丽,张雄.普拉克索在帕金森病中的应用[J].实用医学杂志,2009,25(1):20.
- [2] 朱宝霞.盐酸普拉克索治疗帕金森病伴发抑郁 45 例分析[J].中国医药指南,2013,11(23):610.
- [3] 邓强,李映会,覃瑜.普拉克索联合左旋多巴治疗帕金森病的临床观察[J].中国药房,2013,24(4):347.
- [4] Chwieduk CM, Curran MP. Pramipexole extended release [J]. CNS Drugs, 2010, 24(4):327.
- [5] 许志仁,卞俊,将雪涛,等.阿莫西林脉冲释药微丸的研制[J].中国药房,2012,23(9):819.
- [6] 余凤玮,龚涛,刘福.扎托布洛芬缓释微丸的制备及释放特性[J].华西药理学杂志,2013,28(1):32.
- [7] 李均艳,孟策,方玉,等. Eudragit NE30D 膜的制备及其性能参数的标准化研究[J].现代药物与临床,2015,30(2):136.
- [8] 柳晓蕊,章正赞,贺周扬,等.克拉霉素缓释包衣微丸的制备及体外释放度研究[J].中国现代应用药学,2013,30(2):143.
- [9] 李华,陈笑艳,施孝金,等.高灵敏度液相色谱-串联质谱法测定人血浆中普拉克索[J].药物分析杂志,2011,31(2):330.
- [10] 周益芬,林楠,宋光华,等. HPLC 测定盐酸普拉克索缓释片中的有关物质[J].华西药理学杂志,2015,30(2):245.

(收稿日期:2016-01-21 修回日期:2016-04-22)

(编辑:邹丽娟)