

3D 打印氨茶碱分剂量片的辅料相容性研究

王夏影¹, 周柏先¹, 曾少枫¹, 洪诗杰¹, 李思婷¹, 陈君丽¹, 陈杰燕^{2*}, 杨帆^{1,3*} (1.广东药科大学新药研发中心, 广东省药物新剂型重点实验室和广东省局部精准药物递药制剂工程技术研究中心, 广州 510006; 2.广州市花都区人民医院, 广州 510810; 3.广东药科大学附属第一医院, 临床药学重点专科, 广州 510006)

摘要: **目的** 制备性质稳定的 3D 打印氨茶碱分剂量片, 通过考察其理化性质, 对药物与辅料的相容性进行研究。**方法** 制备不同处方和工艺的 3D 打印氨茶碱分剂量片, 根据中国药典 2020 年版方法进行检测, 初步确定影响药物稳定性的因素。采用差式扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)、X 射线粉末衍射(X-ray powder diffraction, XRPD)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、HPLC 等方法对 3D 打印氨茶碱分剂量片进行分析, 揭示药物与辅料的相容性以及影响药物稳定性的机制。根据研究结果, 制备性质稳定的 3D 打印氨茶碱分剂量片, 并考察其质量。**结果** 根据中国药典 2020 年版方法检测无水茶碱和乙二胺含量, 初步确定影响药物稳定性的因素为填充剂的添加。添加 MCC 或乳糖的 2 种 3D 打印氨茶碱分剂量片在 DSC、XRPD 检测均有药物特征峰的消失; FTIR 检测结果表明反应产物的官能团吸收峰与药物的有重叠, 使特征谱带变宽; HPLC 在检测无水茶碱时有小的杂质峰出现, 说明 MCC 中存在少量的糖类降解产物, 而乳糖不适合氨茶碱的辅料, 会影响药物的稳定性, 因此 3D 打印氨茶碱分剂量片处方采用非糖类无水磷酸氢钙做填充剂, 并根据临床需求规格设计药物处方并打印药片。所得片剂的药物含量及溶出度均符合中国药典 2020 年版规定, 在 DSC、FTIR、XRPD 图谱中, 药物特征峰均未受辅料影响, 药物与辅料相容性良好。**结论** 3D 打印药品分剂量片添加辅料时, 需考察药物与辅料的相容性, MCC 中微量杂质还原糖会与氨茶碱中乙二胺发生 Maillard 反应, 在制备 3D 打印分剂量片时, 需选择不影响药物稳定性的辅料。

关键词: 3D 打印; 氨茶碱; 分剂量; 辅料相容性

中图分类号: R944.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)22-2935-10

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.22.006

引用本文: 王夏影, 周柏先, 曾少枫, 等. 3D 打印氨茶碱分剂量片的辅料相容性研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(22): 2935-2944.

Compatibility Study of Excipients for 3D Printed Aminophylline Split-dose Tablets

WANG Xiaying¹, ZHOU Baixian¹, ZENG Shaofeng¹, HONG Shijie¹, LI Siting¹, CHEN Junli¹, CHEN Jieyan^{2*}, YANG Fan^{1,3*} (1.The Center for Drug Research and Development, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Advanced Drug Delivery Systems and Guangdong Provincial Engineering Center of Topical Precise Drug Delivery System, Guangzhou 510006, China; 2.Huadu District People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510810, China; 3.Key Specialty of Clinical Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare 3D printed aminophylline split-dose tablets with stable properties, the compatibility of drug and excipients was investigated by examining their physicochemical properties. **METHODS** 3D printed aminophylline split-dose tablets with different prescriptions and processes were first prepared and tested according to the method in Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition to determine the factors affecting the stability of the drug. Then the 3D printed aminophylline split-dose tablets were analyzed by differential scanning calorimetry(DSC), X-ray powder diffraction(XRPD), Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR), and HPLC to reveal the compatibility of drug and excipients and the mechanism affecting the stability of the drug. Based on the results of the study, 3D printed aminophylline split-dose tablets with stable properties were prepared and their quality was investigated. **RESULTS** According to the method of Chinese Pharmacopoeia 2020 edition, the content of anhydrous theophylline and ethylenediamine was preliminarily determined, and the factors affecting the stability of the drug were the addition of filler. The two 3D printed aminophylline dispensed tablets with MCC or lactose were detected by DSC and XRPD with the disappearance of the characteristic peaks of the drug; FTIR showed that the absorption peaks of the functional groups of the reaction products overlapped with those of the drug, which widened the characteristic bands; HPLC

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金(“攀登计划”专项资金)项目(pdjh2022b0265); 广州市卫生健康科技一般引导项目(20221A010080); 广东省普通高校重点领域专项(2019KZDZX1019)

作者简介: 王夏影, 女, 硕士生 E-mail: 104156796@qq.com

通信作者: 杨帆, 女, 博士, 教授 E-mail: gzyangfan@hotmail.com

陈杰燕, 女, 主管药师 E-mail: 549319858@qq.com

showed small impurity peaks in the detection of anhydrous theophylline, indicating the presence of a small amount of sugar degradation products in MCC, while lactose was not suitable for the determination of aminophylline. Therefore, the prescription of 3D printed aminophylline divided-dose tablets was filled with non-sugar anhydrous calcium hydrogen phosphate, the drug prescription was designed and the tablets were printed according to the clinical requirement specifications. The drug content and dissolution degree of the obtained tablets were by the Chinese Pharmacopoeia 2020 edition, and the drug characteristic peaks in DSC, FTIR, and XRPD spectra were not affected by the excipients, and the drug was well compatible with the excipients. **CONCLUSION** When adding excipients to 3D printed drug-dosed tablets, it is necessary to investigate the compatibility of the drug and the excipients. A small amount of impurity-reducing sugar in MCC will undergo a Maillard reaction with ethylenediamine in aminophylline. When preparing 3D printed dosed tablets, it is necessary to choose excipients that do not affect the stability of the drug.

KEYWORDS: 3D printing; aminophylline; split dose; excipient compatibility

氨茶碱片在临床上主要用于治疗各种呼吸系统疾病, 由于氨茶碱的治疗指数窄, 临床使用需定期监测血清茶碱浓度, 同时调整药物剂量以保证最大的疗效, 避免发生血药浓度过高的危险。但市售氨茶碱片只有 0.1 g 和 0.2 g 2 个较大规格, 为获得儿童所需的药物剂量, 药师常采用徒手分劈或剪药器、磨粉分包、固体制剂液体化法等分剂量方法, 但存在剂量不准确, 交叉污染, 耗时费力, 辨识度低等问题, 临床治疗可能常常达不到预期效果^[1]。

3D 打印技术具有精准、智能、高效的优点, 将其应用于临床药品分剂量, 可突破传统技术的局限性, 实现临床个性化精准给药。目前广东省人民医院已将 3D 打印药品分剂量应用于临床^[2], 较好地解决了当前临床上分剂量方法的短板, 提高药物的治疗效果。笔者在制备儿童常用的低剂量 3D 打印氨茶碱分剂量片时, 发现放置后有变黄的现象, 因此本研究对 3D 打印氨茶碱分剂量片辅料相容性进行研究, 并对最佳制备工艺和处方设计的 3D 打印分剂量片进行质量评价, 保证临床应用的安全性。

1 仪器与试剂

3D 打印机(杭州捷诺飞生物科技有限公司); DSC 4000 型差示扫描量热仪、Nicolet iS10 傅里叶变换红外光谱仪均购自铂金埃尔默股份有限公司; SmartLab9 X 射线衍射仪(日本理学株式会社); ACQUITY Arc 高效液相色谱仪(Waters 科技有限公司); 北洋 ZRS-8G 智能溶出度实验仪(天津大学无线电厂); YPD-200C 型片剂硬度测试仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

氨茶碱片(天津力生制药股份有限公司, 规格: 0.1 g; 批号: 2103006); SH-E30 羟丙甲基纤维素(hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 190811); SH-105

微晶纤维素(microcrystalline cellulose, MCC, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 180551); 无水乳糖(安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: L101854819); 无水磷酸氢钙(JRS PHARMA, 批号: 795363); 盐酸(分析纯, 茂名市雄大化工有限公司); 无水乙醇(药用级, 上海麦克林生化科技有限公司); 甲醇、乙腈均为色谱纯, 均购自瑞典欧普森公司; 蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

2 方法

2.1 不同工艺及处方成分的 3D 打印氨茶碱分剂量片的制备

3D 打印氨茶碱分剂量片的主要制备步骤包括打印浆料的制备、模型参数的设置、氨茶碱分剂量片的打印。①打印浆料的制备过程: 准备氨茶碱市售片与适量黏合剂 HPMC-E30 水醇凝胶, 根据需要加入适量填充剂, 粉碎混合搅拌制成半固体状打印浆料, 装入一次性料管。②模型及打印参数设置: 打开电脑中的建模软件 SOLIDWORKS, 25 mg 的氨茶碱分剂量片设置模型圆柱形, 模型参数包括直径 6.0 mm、高度 1 mm; 打印参数包括层数: 5 层、层高 0.2 mm、填充间距 1.0 mm、填充偏置 0.3 mm。设置好以上参数后, 保存模型文件, 导入操作软件。③25 mg 的氨茶碱分剂量片的打印: 将装有药浆的料筒安装固定在 3D 打印机上, 启动 3D 打印机, 首先进行设备自检, 然后电脑操作界面上选择上述保存的模型及打印的位置, 进行定高校准, 调节喷嘴与打印平台之间的距离, 调节气压为预定值, 使打印丝顺滑, 之后调节挤出速度使得打印过程中不会出现打印丝断丝或打印丝直径过粗的情况。开始打印分剂量药片, 打印完成的药品分剂量片需进行烘干。

根据美国食品药品监督管理局(FDA)公布的氨茶碱片处方中有填充剂 MCC, 以及文献报道^[3]氨茶碱和乳糖混合物的样品在 60 °C 下储存 3 周后出

现棕色变色,并使用差式扫描量热分析(differential scanning calorimetry, DSC)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)表征分析,结果表明,变色是氨茶碱中的乙二胺与乳糖发生 Maillard 反应所致。因此本研究制备了无填充剂(氨茶碱市售片:5%HPMC-E30 水醇凝胶=2:1)以及添加 MCC 或乳糖填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片(氨茶碱市售片:MCC=1:1、氨茶碱市售片:乳糖=1:1),研究 3D 打印氨茶碱分剂量片的辅料相容性。同时考察了不同混合制浆方式(手动混合制浆、球磨机混合制浆)、黏合剂 HPMC-E30 水醇凝胶的含水量(100%, 50%, 5%)和干燥温度(室温、45, 60 °C)对氨茶碱分剂量片的稳定性影响。

2.2 3D 打印氨茶碱分剂量片的性质研究

检查“2.1”项下制备完成后的 3D 打印分剂量片外观变化,并根据中国药典 2020 年版中氨茶碱片含量测定项无水茶碱、乙二胺含量测定方法进行测定,初步评价各因素对 3D 打印氨茶碱分剂量片的稳定性影响^[4]。

2.2.1 无水茶碱含量测定 随机选取规格为 25 mg 的 3D 打印氨茶碱分剂量片 20 片研磨成粉末,精密称定粉末(约含氨茶碱 25 mg),置于 50 mL 量瓶中,首先加 5 mL 的 0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液与 15 mL 水振摇 10 min 使氨茶碱溶解,用水稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置另一个 50 mL 量瓶中,用 0.01 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液稀释至刻度,摇匀,得到供试品溶液;在 275 nm 的波长处测定吸光度,按 C₇H₈N₄O₂ 的吸收系数为 650 计算无水茶碱含量。

2.2.2 乙二胺含量测定 随机选取规格为 25 mg 的 3D 打印氨茶碱分剂量片 20 片研磨成粉末,取研细的粉末适量(约相当于氨茶碱 250 mg),置于 50 mL 锥形瓶中,加水 25 mL,微温使氨茶碱溶解,放冷,加茜素磺酸钠指示液 4 滴,用 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸滴定至溶液显黄色。每 1 mL 盐酸滴定液相当于 3.005 mg 的乙二胺(C₂H₈N₂)。

2.3 不同填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片的理化性质检测

根据“2.2”项下结果,选择最佳的制备工艺来制备含有不同填充剂(MCC、乳糖)的 3D 打印氨茶碱分剂量片,采用 DSC、X 射线粉末衍射(X-ray powder diffraction, XRPD)、FTIR、HPLC 等分析方法对制备的 3D 打印氨茶碱分剂量片进行性质

检测,研究药物与辅料的相容性。

2.3.1 DSC 采用 DSC 4000 型差式扫描量热仪,分别对氨茶碱市售片、无填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片、MCC、乳糖、添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片、添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片 6 个样品进行检测。在 DSC 铝锅中称重至约 5 mg,并在 30~300 °C 进行扫描,升温速率为 10 °C·min⁻¹,保护气为氮气,流速为 10 mL·min⁻¹。

2.3.2 XRPD 采用 X 射线粉末衍射仪对“2.3.1”项下同样的 6 个样品进行检测,其中电压设置为 40 kV,电流设置为 40 mA,扫描范围为 2θ=5°~50°。

2.3.3 FTIR 将“2.3.1”项下同样的 6 个样品采用溴化钾压片法制备成检测样品,应用 FTIR 光谱仪在 400~4 000 cm⁻¹ 内进行扫描。

2.3.4 HPLC 测定无水茶碱 根据文献报道^[5]的方法检测 3D 打印氨茶碱分剂量片中的无水茶碱。液相色谱条件为: Waters Symmetry C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(30:70); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 275 nm; 进样量 20 μL; 柱温: 30 °C。

对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的茶碱对照品适量,置棕色量瓶中,加流动相制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液,摇匀,即得茶碱对照品储备液。

供试品溶液的制备:分别取氨茶碱市售片、25 °C 放置不同时间(第 15 天、第 30 天、第 60 天)的添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片、25 °C 放置 30 d 的添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片,各 10 片,研细,精密称定适量粉末至 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声处理 15 min,取出,放冷,加流动相稀释至刻度,摇匀,过滤作为供试品溶液。

2.3.5 乙二胺含量测定 取氨茶碱市售片、25 °C 放置不同时间(第 15 天、第 30 天、第 60 天)的添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片、25 °C 放置 30 d 的添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片,各 20 片,按“2.2”项下方法检测。

2.4 制备性质稳定的 3D 打印氨茶碱分剂量片

根据对不同制备工艺及不同填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片的理化性质的考察结果,确定影响氨茶碱药物活性成分的原因,指导 3D 打印氨茶碱分剂量片的制备工艺及处方筛选,并制备不同规格的 3D 打印氨茶碱分剂量片。根据中国药典 2020 年版对氨茶碱片的质量要求,检测硬度、含

量、溶出度。片剂的硬度应用硬度计检测,按“2.2”项下方法进行无水茶碱及乙二胺的含量测定。根据中国药典 2020 年版通则 0931 第一法进行溶出度的测定: 800 mL 水为溶出介质, 转速为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 于 2, 4, 6, 8, 10, 12 min 时取溶出液 10 mL, 滤过, 精密量取续滤液适量, 加入定量的 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液进行稀释, 在 275 nm 的波长处测定吸光度, 按 $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ 吸光系数为 650 计算每个样品的溶出量^[4]。同时对含有无水磷酸氢钙的处方进行 DSC、XRPD、FTIR 检测。

3 结果

3.1 3D 打印氨茶碱分剂量片的性质研究

不同工艺及处方成分的 3D 打印氨茶碱分剂量片的检测结果见表 1, 黏合剂水分、混合制浆方式对药物稳定性影响很小, 外观均无变化, 无水茶碱、乙二胺的含量均在中国药典 2020 年版规定的范围内(无水茶碱含量为氨茶碱标示量的 74%~84%, 乙二胺含量不得少于氨茶碱标示量的 11.25%)^[4]。黏合剂的含水量为 50%, 选择球磨机制得的浆料, 有较好的打印适宜性, 而且制备流程更加自动化。干燥温度 60 °C 会影响药物稳定性, 无水茶碱含量、乙二胺含量均会下降, 但药物未出现变色现象, 因此干燥温度选择为 45 °C。但添加乳糖、MCC 的处方对药物稳定性有较大影响, 药片均变色, 无水茶碱、乙二胺的含量均下降, 乳糖为填充剂出现了药片变黄、药物降解的现象, 与文献报道氨茶碱与几种片剂赋形剂(淀粉、葡萄糖、乳糖)混合, 在有葡萄糖和乳糖的情况下, 药物降解特别强烈, 颜色从白色变成黄色, 出现相似的结果^[6]。

3.2 不同填充剂 3D 打印氨茶碱分剂量片的理化性质检测结果

3.2.1 DSC 氨茶碱市售片的 DSC 曲线有 3 个特征吸热峰, 第 1 个峰的峰温为 122 °C, 第 2 个峰的峰温约为 149 °C, 第 3 个峰为 279 °C。氨茶碱受热变化过程: 当温度升到 122 °C 时, 氨茶碱脱去一分子水, 紧接着在 149 °C 脱去一分子乙二胺, 此时氨茶碱变为固态茶碱; 当温度升高到 279 °C 时茶碱由固态转变液态; 继续升温, 茶碱将分解产生一个特征峰, 为茶碱的吸热峰^[7]。DSC 结果见图 1。

其他样品与市售药片进行分析对比, 无充填剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片中氨茶碱的 3 个特征

表 1 不同工艺及处方成分的 3D 打印氨茶碱分剂量片的性质

Tab. 1 Properties of 3D printed aminophylline split-dose tablets with different processes and prescription ingredients

处理因素	条件	外观	茶碱含量/%	乙二胺含量/%
未处理	市售片粉末	白色	79.78	13.28
混合制浆方式	手动搅拌混合	白色	77.56	12.53
	球磨机混合	白色	79.81	12.77
黏合剂水分含量/%	100	白色	78.94	13.31
	50	白色	77.90	13.65
	5	白色	78.09	13.25
干燥温度/°C	25	白色	77.56	12.53
	45	白色	79.56	12.32
	60	白色	75.00	11.62
不同填充剂	乳糖	棕色	74.64	5.05
	MCC	黄色	75.84	10.43
	未添加填充剂	白色	78.44	13.29

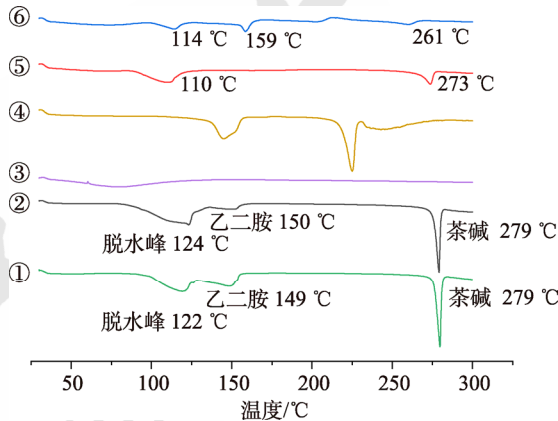


图 1 DSC 图谱

①-氨茶碱市售片;②-无填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片;③-MCC;④-乳糖;⑤-添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片;⑥-添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片。

Fig. 1 DSC chromatograms

①-aminophylline commercially available tablets; ②-3D printed aminophylline split-dose tablets without filler; ③-MCC; ④-lactose; ⑤-3D printed aminophylline split-dose tablets with MCC added; ⑥-3D printed aminophylline split-dose tablets with lactose added.

峰均无明显变化, 说明药物与黏合剂 HPMC-E30 有良好的相容性, 在进行 3D 打印后药物没有与辅料产生反应; 添加填充剂乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片的吸热峰出现在 114, 159, 261 °C, 乙二胺的特征峰和乳糖的特征峰消失, 药物 3D 打印片在添加了乳糖后发生 Maillard 反应, 产生新的化学键, 出现新的吸热峰。添加填充剂 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片的 DSC 图谱中的吸热峰出现在 110, 273 °C, 乙二胺的特征峰消失, 无水茶碱的相位偏移, 添加了辅料后影响了乙二胺的挥发或与药物生成了新的化学键, 可初步推测填充剂

MCC 与乳糖相似,与药物存在不相容的现象。

3.2.2 XRPD XRPD 主要用来表征晶型,氨茶碱的晶型峰为无水茶碱,据文献报道^[8]茶碱的特征峰为 $2\theta=6.9^\circ$, 12.4° , 14° , 25.3° 。氨茶碱市售片中可见茶碱的各个特征峰;无填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片与市售片对比特征峰均无明显变化,说明药物与黏合剂 HPMC-E30 有良好的相容性;添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片,其特征峰只有一个 12.5° 的衍射峰;添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片,晶体特征衍射峰消失,提示氨茶碱可能由晶型变为无定形,或者药物以某种作用力和辅料形成新的复合物,由此可判断药物与辅料可能存在不相容性。XRPD 结果见图 2。

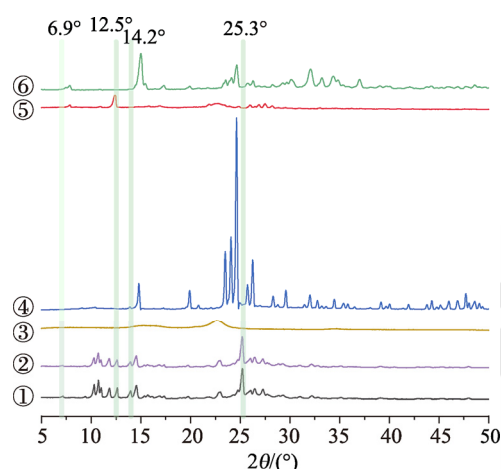


图 2 XRPD 图谱

①-氨茶碱市售片;②-无填充剂的 3D 打印分剂量片;③-MCC;④-乳糖;⑤-添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片;⑥-添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片。

Fig. 2 XRPD chromatograms

①-aminophylline commercially available tablets; ②-3D printed aminophylline split-dose tablets without filler; ③-MCC; ④-lactose; ⑤-3D printed aminophylline split-dose tablets with MCC added; ⑥-3D printed aminophylline split-dose tablets with lactose added.

3.2.3 FTIR 氨茶碱市售片在波长为 1687 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$)、 1640 cm^{-1} ($\text{C}=\text{N}$)、 1530 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$) 处有特征吸收峰。无填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片与市售片的特征吸收峰一致。样品⑤、⑥与市售片对比,均有 3 个特征吸收峰,但在 1687 , 1640 cm^{-1} 处的吸收峰谱带明显变宽,并且在 1447 cm^{-1} 出现新的吸收峰,由于 C-H 弯曲振动所引起。FTIR 结果见图 3。

1640 cm^{-1} 吸收峰谱带变宽原因:一方面 MCC、乳糖在此处有小的吸收峰,另一方面可能为氨茶碱与填充剂 MCC 中的还原糖杂质或者乳糖相互作用,发生了 Maillard 反应,导致 FTIR 谱

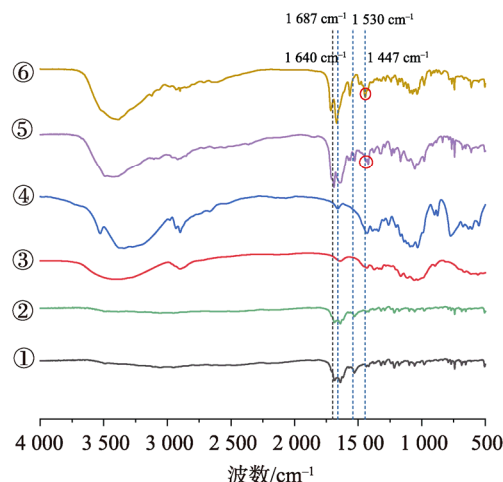


图 3 FTIR 图谱

①-氨茶碱市售片;②-无填充剂的 3D 打印氨茶碱分剂量片;③-MCC;④-乳糖;⑤-添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片;⑥-添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片。

Fig. 3 FTIR chromatograms

①-aminophylline commercially available tablets; ②-3D printed aminophylline split-dose tablets without filler; ③-MCC; ④-lactose; ⑤-3D printed aminophylline split-dose tablets with MCC added; ⑥-3D printed aminophylline split-dose tablets with lactose added.

中亚胺带的形成。含亚胺化合物^[9-12]包括席夫碱的红外光谱在 $1630\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ 处出现 $\text{C}=\text{N}$ 伸缩带。 1687 cm^{-1} 谱带变宽可能为反应产物中含有 $\text{C}=\text{O}$ 发生重叠。样品⑤、⑥的红外谱图相似,可判断 MCC 中含有杂质乳糖,药物与乳糖发生了相互作用。

Maillard 反应式见图 4。

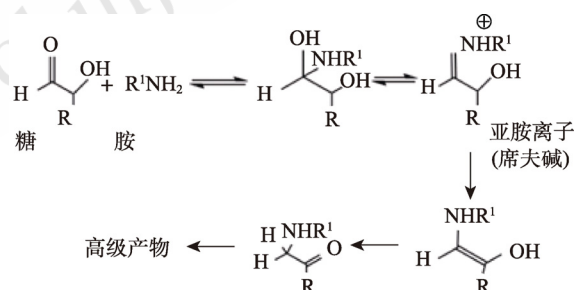


图 4 Maillard 反应

R, R' 分别为糖和胺上的烃基。

Fig. 4 Maillard reaction

R, R' were hydrocarbon groups on sugar and amine, respectively.

3.2.4 HPLC 测定无水茶碱 HPLC 检测结果见图 5、表 2。添加 MCC 的 3D 打印氨茶碱分剂量片、添加乳糖的 3D 打印氨茶碱分剂量片的 2 个样品在 1.630 min 附近均出现未知杂质峰,由于杂质的量较少,与茶碱相比峰面积较小,但可发现随着放置时间增加、颜色强度的增加,峰面积变大,此处的杂质峰应该与药物颜色变黄相关,见图 6,判断可能是发生了 Maillard 反应产物。该反应的发

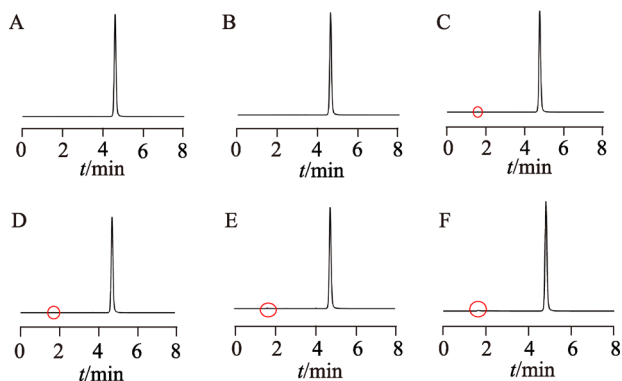


图 5 HPLC 图谱

A-无水茶碱; B-氨茶碱市售片; C-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(15 d); D-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(30 d); E-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(60 d); F-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+乳糖(30 d); o-杂质峰。

Fig. 5 HPLC chromatograms

A-anhydrous theophylline; B-commercial tablet; C-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(15 d); D-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(30 d); E-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(60 d); F-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+lactose(30 d); o-impurity peak.

表 2 不同混合物的外观、杂质峰个数及峰面积

Tab. 2 Appearance, impurity peak number, and peak area of different mixtures

样品名称	外观	杂质峰个数及杂质峰面积
市售片	白色	0 个
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶	白色	0 个
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(15 d)	淡黄色	1 个(1.699 801)
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(30 d)	黄色	2 个(1.697 137 6, 3.764 200 8)
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(60 d)	棕色	2 个(1.646 548 7, 4.075 217 9)
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+乳糖(30 d)	褐色	4 个(1.630 346 41, 1.915 101 44, 2.114 115 41, 2.349 611 9)



图 6 不同填充剂放置不同时间的混合物外观

A-市售片; B-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(15 d); C-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(30 d); D-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(60 d); E-市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+乳糖(30 d)。

Fig. 6 Mixture appearance with different fillers at different times

A-commercial tablet; B-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(15 d); C-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(30 d); D-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+MCC(60 d); E-commercial tablet+HPMC-E30 hydroalcoholic gel+lactose(30 d).

生可能由 MCC 中的活性杂质单糖所引起, 所以该反应速率与添加乳糖的 3D 打印分剂量片相比较慢, 反应产物的量较少。HPLC 的结果进一步确证了 DSC、XRPD、FTIR 的实验结果, 填充剂 MCC 中的活性杂质还原糖与药物中的乙二胺发生了与乳糖相似的相互作用。

3.2.5 乙二胺含量测定 3D 打印氨茶碱分剂量片变黄伴随有乙二胺含量降低, 未知杂质的增多, 对不同填充剂放置不同时间的乙二胺含量检测结果见表 3。图 6 中颜色越深的样品, 乙二胺的含量越低, 均低于中国药典 2020 年版规定量 11.25%。可能是 MCC 中的活性杂质单糖与乙二胺发生反应所引起。与添加乳糖的 3D 打印分剂量片相比, 该反应速率较慢, 反应产物的量较少, 但乙二胺的含量下降有相同的趋势。因此应避免加入还原糖类或含有还原糖杂质的填充剂, 以提高 3D 打印氨茶碱分剂量片的稳定性。

表 3 不同填充剂放置不同时间的乙二胺含量

Tab. 3 Ethylenediamine content of different fillers at different times

样品名称	乙二胺相对氨茶碱标示量百分比	降低量	合格量
市售片	13.28	0.00	
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(15 d)	10.43	-2.85	
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(30 d)	10.33	-2.95	≥11.25
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+MCC(60 d)	8.23	-5.05	
市售片+HPMC-E30 水醇凝胶+乳糖(30 d)	5.05	-8.22	

3.3 制备性质稳定的 3D 打印氨茶碱分剂量片及质量评价

根据临床分剂量规格情况设计 2 个处方: 处方一适合高剂量规格的氨茶碱分剂量片, 无需添加填充剂, 氨茶碱市售片与 5% HPMC-E30 水醇凝胶黏合剂的质量比为 2:1, 球磨机混合搅拌制成半固体状打印浆料, 装入一次性料管, 根据计算机预设参数进行氨茶碱分剂量片的打印, 片剂打印完成后干燥温度为 45℃。处方二适合低剂量规格的氨茶碱分剂量片, 需要添加填充剂, 因此填充剂选用无水磷酸氢钙。处方二比例的确定: ①根据氨茶碱分剂量规格来添加填充剂的量, 据调查低剂量的规格范围为 2~20 mg, 通过添加 1 倍的辅料进行稀释可增大其打印体积, 增加打印精度。因此确定制剂处方为氨茶碱市售片 2 g、无水磷酸

氢钙 2 g。②黏合剂 5%HPMC-E30 水醇凝胶的加入量由打印效果来确定,加入量过少,浆料过干难以挤出;加入量过多,太稀难以成型,在上述氨茶碱市售片与无水磷酸氢钙的配比中加入 1.8 mL 的水醇凝胶(密度为 $0.91 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$)时打印效果较好,出丝顺滑连贯。因此处方二配比为氨茶碱市售片:无水磷酸氢钙:5%HPMC-E30 水醇凝胶的质量比为 2:2:1.64,球磨机混合搅拌制成半固体状打印浆料,装入一次性料管,根据计算机预设参数进行氨茶碱分剂量片的打印,片剂打印完成后干燥温度为 45°C 。

3.3.1 外观及硬度 临床使用氨茶碱频率较高的分剂量规格为 25.0, 11.1 mg, 2 个规格的 3D 打印氨茶碱分剂量片见图 7, 外观为白色网格状片剂, 硬度均值分别为 9.31, 8.02 N。

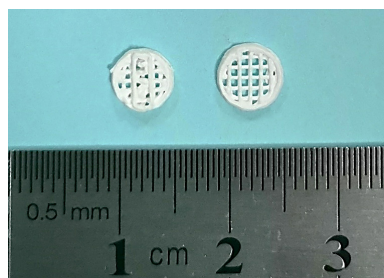


图 7 3D 打印氨茶碱分剂量片
左-规格 11.1 mg; 右-规格 25.0 mg。
Fig. 7 3D printed aminophylline dosed tablet
Left-specification 11.1 mg; right-specification 25.0 mg.

目前,3D 打印固体口服制剂的硬度和易碎性还没有具体的指南,在中国药典 2020 年版中也没有具体规定值。但有文献对抗压强度的相关描述及规定:一般来说,抗拉强度 $>1.7 \text{ MPa}$ 被认为是足够的,并确保片剂在商业制造和运输过程中保持其结构完整性,而对于不承受大机械载荷的小批量片剂而言,高达 1 MPa 的抗拉强度就足够^[13]。本品属于不承受大机械载荷的小批量片剂。对于具有平面的圆形片剂,可使用以下公式将破碎力(硬度值)与抗拉强度联系起来:

$$\sigma_d = 2F/\pi Dt$$

σ_d : 抗拉强度; F: 为破碎力(N); D: 药片直

径(m); t: 药片厚度(m)。

25 mg 3D 打印氨茶碱分剂量片抗拉强度:药片直径为 5.5 mm、厚度 1 mm、破碎力 9.31 N,代入公式计算 $\sigma_d = 1.078 \text{ MPa} > 1 \text{ MPa}$ 。

11.1 mg 3D 打印氨茶碱分剂量片抗拉强度:药片直径为 5 mm、厚度 1 mm、破碎力 8.02 N,代入公式计算 $\sigma_d = 1.022 \text{ MPa} > 1 \text{ MPa}$ 。

2 种规格的 3D 打印分剂量片的抗拉强度均 $> 1 \text{ MPa}$, 适合储存和运输。

3.3.2 含量测定 测定 2 种规格 3D 打印氨茶碱分剂量片中的无水茶碱及乙二胺含量。结果 25, 11.1 mg 分剂量片中无水茶碱为氨茶碱标示量百分比分别为 $(77.73 \pm 3.8)\%$, $(77.12 \pm 0.6)\%$, 乙二胺为氨茶碱标示量百分比分别为 $(13.41 \pm 0.30)\%$, $(13.25 \pm 0.74)\%$ 。符合中国药典 2020 年版规定。

3.3.3 溶出度 25, 11.1 mg 3D 打印氨茶碱分剂量片在 10 min 溶出度分别为氨茶碱标示量的 $(77.94 \pm 3.09)\%$, $(71.82 \pm 3.75)\%$, 符合中国药典 2020 年版规定(无水茶碱 10 min 的溶出度大于氨茶碱片标示量的 60%)。2 种规格的分剂量片与市售片相比溶出速率较快,在 6 min 可达到最大溶出量,而市售片为 8 min 达到最大溶出量。其原因可能与 3D 分剂量片的网格设计有关。2 种规格 3D 打印氨茶碱分剂量片各时间点 6 片药品的溶出度标准偏差较小,无显著性差异,第 1 个时间点 2 min 的标准偏差均 $<10\%$, 其余各时间点的标准偏差均 $<5\%$, 本品的批内均一性良好。溶出度结果见图 8, 表 4。

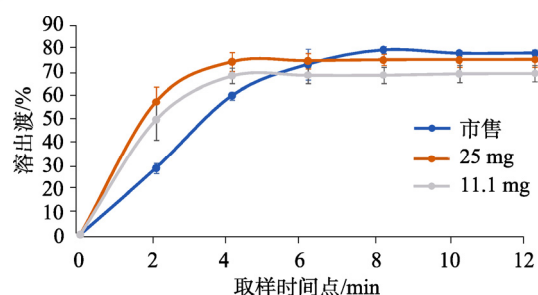


图 8 2 种规格 3D 打印氨茶碱分剂量片溶出曲线($n=6$)
Fig. 8 Dissolution curves of two specifications of 3D printed aminophylline split-dosed tablets($n=6$)

表 4 2 种规格 3D 打印氨茶碱分剂量片累积溶出度($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Cumulative dissolution rate of two sizes of 3D printed aminophylline split-dose tablets($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

规格/mg	累积溶出度/%					
	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min
25	59.21 ± 6.65	76.92 ± 4.15	77.38 ± 3.61	77.81 ± 2.50	77.86 ± 3.17	77.94 ± 3.09
11.1	51.30 ± 9.24	70.78 ± 3.44	71.05 ± 3.52	71.08 ± 3.86	71.76 ± 3.53	71.82 ± 3.75

3.3.4 含无水磷酸氢钙的处方 DSC 结果 氨茶碱市售片的 DSC 曲线的 3 个特征吸热峰：122 °C 的脱水峰、149 °C 乙二胺的吸热峰、279 °C 茶碱的吸热峰，均可在含无水磷酸氢钙的 3D 打印片中找到，说明无水磷酸氢钙与氨茶碱有良好的相容性。DSC 结果见图 9。

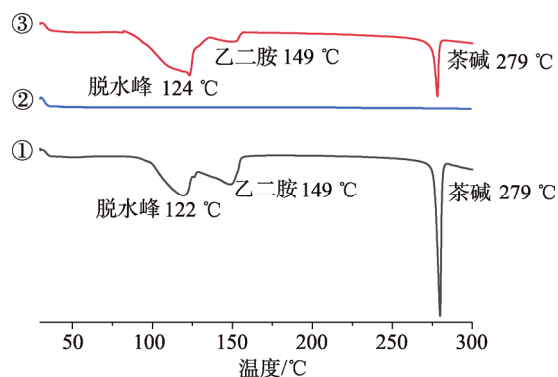


图 9 DSC 图谱

①-氨茶碱市售片；②-无水磷酸氢钙；③-添加无水磷酸氢钙的 3D 打印氨茶碱分剂量片。

Fig. 9 DSC chromatograms

①-aminophylline commercially available tablets; ②-anhydrous calcium hydrogen phosphate; ③-3D printed aminophylline split-dose tablet with added calcium hydrogen phosphate anhydrous.

3.3.5 含无水磷酸氢钙的处方 FTIR 结果 氨茶碱市售片在波长为 1687 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$)、 1640 cm^{-1} ($\text{C}=\text{N}$)、 1530 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$) 处有特征吸收峰。添加无水磷酸氢钙的 3D 打印氨茶碱分剂量片与市售片的特征吸收峰一致，说明无水磷酸氢钙与氨茶碱有良好的相容性。结果见图 10。

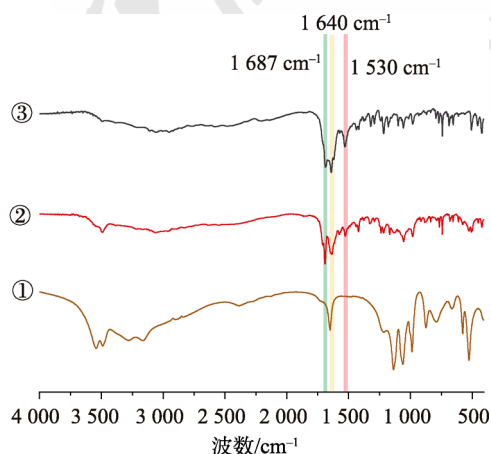


图 10 FTIR 图谱

①-无水磷酸氢钙；②-添加无水磷酸氢钙的 3D 打印氨茶碱分剂量片；③-氨茶碱市售片

Fig. 10 FTIR chromatograms

①-anhydrous calcium hydrogen phosphate; ②-3D printed aminophylline split-dose tablet with added calcium hydrogen phosphate anhydrous; ③-aminophylline commercially available tablets

3.3.6 含无水磷酸氢钙的处方 XRPD 结果 氨茶碱市售片中可见茶碱的各个特征峰，添加无水磷酸氢钙的 3D 打印氨茶碱分剂量片中茶碱衍射强度较强的 3 个特征峰 (12.5° , 14.2° , 25.3°) 均可看到，说明无水磷酸氢钙与氨茶碱有良好的相容性。而衍射强度较弱的 6.9° 的特征峰未看到，可能因为添加了无水磷酸氢钙后此处的衍射峰强度更弱。结果见图 11。

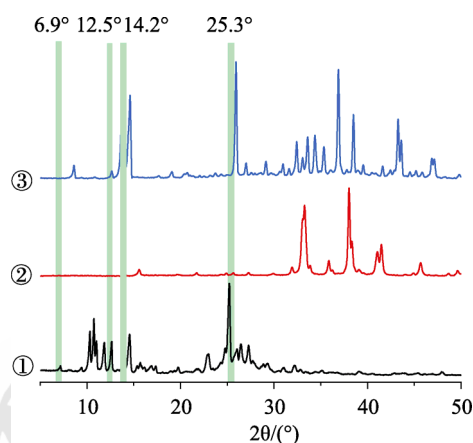


图 11 XRPD 图谱

①-氨茶碱市售片；②-无水磷酸氢钙；③-添加无水磷酸氢钙的 3D 打印氨茶碱分剂量片。

Fig. 11 XRPD chromatograms

①-aminophylline commercially available tablets; ②-anhydrous calcium hydrogen phosphate; ③-3D printed aminophylline split-dose tablet with added calcium hydrogen phosphate anhydrous.

4 讨论

本实验通过将 3D 打印技术应用于临床，来解决临床氨茶碱片分剂量使用规格多、分剂量不准确、存在安全隐患等问题。为了避免发生药物与辅料不相容的问题，在制备 3D 打印氨茶碱分剂量片时选择 FDA 公布的制剂处方填充剂 MCC 来进行添加，但发现制备的分剂量片放置一段时间后出现药物变黄、降解的现象。为制备出不影响药物活性成分的 3D 打印氨茶碱分剂量，避免盲目加入辅料，本实验对 MCC 与氨茶碱相互作用的原因进行了深入探究。

通过文献查阅，葡萄糖和乳糖是还原糖辅料，胺类药物，如氨茶碱与这些糖会发生 Maillard 反应，即含羰基化合物(如糖类等)与含氨基化合物(如氨基酸等)通过缩合、聚合而生成类黑色素的反应。由于众多药物中含有伯胺或仲胺，同时许多辅料或者辅料的杂质含有还原性单糖、二糖和多糖(如葡萄糖、乳糖、淀粉)，因此，常常能观察到由 Maillard 反应导致的药物降解^[14]。

据文献报道微量还原糖也存在于 MCC、淀粉、甘露醇、麦芽糖醇和蔗糖等非还原辅料中。George 等^[15]发现伯胺类药物氨基烯酸与 MCC 中含有的少量的杂质单糖成分葡萄糖发生 Maillard 反应的产物与氨基烯酸片的褐变有关。在另一项研究中, MCC 被发现是由药物复合物(药物:L-苯丙氨酸:水=1:1:1)与 MCC 组成的胶囊剂变色的原因,在配方中使用的特定批次的 MCC 中检测到大约 0.004%浓度的葡萄糖。该变色表明 MCC 中的葡萄糖杂质与药物复合物中的 L-苯丙氨酸发生了 Maillard 反应^[16]。

根据实验结果和上述报道,推测 3D 打印氨茶碱分剂量片变黄的主要原因是 MCC 中的还原糖杂质与氨茶碱中的乙二胺进行 Maillard 反应。本研究通过使用不同的分析方法完成了相容研究。DSC、XRPD、FTIR 的结果,初步证明氨茶碱-乳糖、氨茶碱-MCC 单糖杂质存在相互作用,在 DSC、XRPD、FTIR 结果中有药物特征峰的消失及杂峰出现。FTIR 中由于反应产物与茶碱的特征峰有重叠,没有另外 2 种分析方法的提示作用强。进一步使用 HPLC 对不同放置时间的样品进行检测,与添加乳糖的样品进行对比,在 HPLC 的结果中出现了与乳糖相似的杂质峰,药物越黄杂质越多。并对乙二胺的含量进行检测,发现药物越黄,乙二胺含量越低。药物的变黄、杂质的含量、乙二胺的含量三者有一定的相关性,进一步验证 MCC 中的还原糖杂质与乙二胺发生 Maillard 反应。FDA 公布的氨茶碱片处方中所使用的 MCC 应该是纯度更高,或者经过处理不含糖的 MCC,所以未出现变黄现象。本研究结果可指导 3D 打印氨茶碱分剂量的处方筛选,选用无机盐类的填充剂无水磷酸氢钙进行制备,未出现药物变黄变质现象,而且 3D 打印技术可根据临床需求设计分剂量规格和标记,药物含量和溶出度均符合中国药典 2020 年版要求,可满足临床个性化需求。

根据调查,目前儿科药品剂型比较缺乏,还远远不能满足不同年龄儿童多样化的药品剂型规格需求,因此在临床用药时常常需要分剂量^[17]。本研究一方面将 3D 打印技术与临床需求的药品分剂量相结合,解决当前药品分剂量方式存在的问题,并且通过 3D 打印制备的分剂量片可进行质量评价,推动中国个性化精准医疗的进一步发展。另一方面对 3D 打印药物及仿制药的制备中辅料

的筛选有一定的参考意义。当前 3D 打印在药物制剂方面的应用主要在药物结构方面的设计使药物能达到缓控释效果,但是对于 3D 打印药物与辅料相容性的专题研究还没有相关报道^[18]。仿制药在制备制剂时往往会参考原研药处方,应注意由于制备工艺、辅料的纯度不同即使使用 FDA 公布的制剂处方的药物辅料,也应首先进行药物辅料的相容性研究。辅料相容性的研究在药物研发过程中是非常重要的工作,辅料相容性研究所获得的实验结果对处方的选择、药物稳定性的评估,降解产物的鉴定以及对于药物与辅料相互作用机制的了解都有一定的指导意义。另外药物辅料不相容对药物稳定性、产品制造、药物释放、治疗活性和不良反应都有一定的影响^[19]。因此无论 3D 打印药物的处方设计还是仿制药的处方设计都应进行详细的药物与辅料相容性研究,以及时发现问题,确保药品开发后阶段的顺利进行。

REFERENCES

- [1] JIANG Z H, HONG C T, ZHANG L W, et al. Drug manipulation for pediatric dosing in China[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2020, 40(24): 2584-2588.
- [2] ZHENG Z J, LYU J Q, YANG W, et al. Preparation and application of subdivided tablets using 3D printing for precise hospital dispensing[J]. Eur J Pharm Sci, 2020(149): 105293.
- [3] HARTAUER K J, GUILLORY J K. A comparison of diffuse reflectance FT-IR spectroscopy and DSC in the characterization of a drug-excipient interaction[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1991, 17(4): 617-630.
- [4] 中国药典. 二部[S]. 2020: 1376.
- [5] WANG X Y. Determination of anhydrous theophylline in aminophylline tablets by HPLC[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2010, 22(9): 39-41.
- [6] RIAZ M, AMI K. Stability of aminophylline[J]. Pak J Pharm Sci, 1993, 6(1): 35-44.
- [7] XU F, QIU S J, LIANG J G, et al. Low-temperature heat capacity and thermal analysis of caffeine, theophylline, and aminophylline[J]. J Phys Chem(物理化学学报), 2010, 26(8): 2096-2102.
- [8] GUO J J. Thermodynamic study of theophylline-nicotinamide eutectic and exploration of the solution complexation mechanism[D]. Tianjin: Tianjin University, 2013.
- [9] NAZIR H, ARICI C, EMREGÜL K C, et al. A crystallographic and spectroscopic study on the imine-amine tautomerism of 2-hydroxyaldimine compounds[J]. Zeitschrift Für Kristallographie Cryst Mater, 2006, 221(10): 699-704.
- [10] WNOROWSKI A, YAYLAYAN V A. Monitoring carbonyl-amine reaction between pyruvic acid and

- alpha-amino alcohols by FTIR spectroscopy: A possible route to Amadori products[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(22): 6537-6543.
- [11] NAMLI H, TURHAN O. Background defining during the imine formation reaction in FT-IR liquid cell[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2006, 64(1): 93-100.
- [12] SAINI A K, CARLIN C M, PATTERSON H H. Confirmation of the presence of imine bonds in thermally cured polyimides[J]. *J Polym Sci A Polym Chem*, 1993, 31(11): 2751-2758.
- [13] KARALIA D, SIAMIDI A, KARALIS V, et al. 3D-printed oral dosage forms: Mechanical properties, computational approaches and applications[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(9): 1401.
- [14] WU Y M, LEVONS J, NARANG A S, et al. Reactive impurities in excipients: Profiling, identification and mitigation of drug-excipient incompatibility[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2011, 12(4): 1248-1263.
- [15] GEORGE R C, BARBUCH R J, HUBER E W, et al. Investigation into the yellowing on aging of sabril® tablet cores[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 1994, 20(19): 3023-3032.
- [16] WU Y M, DALI M, GUPTA A, et al. Understanding drug-excipient compatibility: Oxidation of compound A in a solid dosage form[J]. *Pharm Dev Technol*, 2009, 14(5): 556-564.
- [17] WANG R L, YAN C C, ZHANG S N, et al. Analysis of the current situation of the use of commonly used drug formulations in children in China[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2021, 38(17): 2124-2127.
- [18] XU G H, HE D T, YUAN Y Y, et al. Study on preparation of compound Salvia Miltiorrhiza sustained and controlled release preparation based on 3D printing technology[J]. *Pharm Today(今日药理学)*, 2022, 32(2): 117-119.
- [19] CAO X C, JIA F, TAO Q F. Research progress on the compatibility of drugs and excipients[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2013, 30(2): 223-228.

收稿日期: 2022-04-16

(本文责编: 沈倩)