

# 逆向工程技术在仿制药开发中的应用

根据国家食品药品监督管理局的要求，仿制药与原研药须在剂型、规格、给药途径、安全性、质量、生物利用度保持最大的一致。但原研药公司通常只会公布其处方所用辅料种类，不会公布辅料的用量，这给仿制药的研发带来一定的难度。运用逆向工程技术可以有效的解决此问题，使仿制药做到与原研药的辅料用量相同，从而提高仿制药的质量。逆向工程技术在国外的仿制药开发中已经有不少应用[1,2]，但在国内关注的人并不多，尚未检索到关于逆向工程在制药领域应用的相关中文文献报道。

## 1. 运用元素分析法测定原研药中辅料的含量

对于液体制剂，用元素分析法可以精准的定量辅料的含量。以莫西沙星滴眼液（商品名：Vigamox）为例，原研说明书[3]公布其辅料有：硼酸、氯化钠、注射用水、可能含有盐酸或者氢氧化钠调节 pH 值用。元素分析法检测出其氯化钠的含量为 0.7005g/100ml，硼酸的含量为 0.3016g/100ml，由此就可以确认处方，完全避免了处方筛选过程，且用元素分析法可以保证自研仿制药处方的辅料用量和原研处方完全一致，最大的保证了疗效。对于固体制剂，通过对钠元素的检测，可以速度确定处方中使用的崩解剂交联羧甲基纤维素钠等关键辅料的用量，对制剂的研发起到事半功倍的效果。同样，对于制剂中常用的粘合剂羧甲基纤维素钠、填充剂磷酸氢钙亦可使用元素检测，方便地测定出含量。

## 2. 重量法测定制剂中不溶性辅料的用量

制剂中所常用的辅料除微晶纤维素、硬脂酸镁外，基本都为可溶性辅料。对于使用微晶纤维素的原研制剂，用 100ml 水分别溶解原研制剂和自研制剂，过滤干燥后测定不溶物的重量，从而测算出原研制剂中微晶纤维素的用量，避免盲目拟定处方中微晶纤维素的用量进行处方筛选。例如在琥珀酸普卡必利片（prucalopride succinate Tablets）项目的开发中，可以查询到原研中辅料的种类为一水乳糖、微晶纤维素、微粉硅胶、硬脂酸镁（Magnesium stearate），且在欧盟公开的原研资料[5]中规格为 1mg 的片剂中含有一水乳糖 150mg，规格为 2mg 的片剂含有一水乳糖 165mg，通过片剂重量减去一水乳糖重量得到处方中微晶纤维素、微粉硅胶、硬脂酸镁的总重量，微粉硅胶和硬脂酸镁的重量设定为片重的 1%后，得到规格 1mg 的片剂中微晶纤维素的用量的 26mg；2mg 规格的片剂中微晶纤维素的用量 29mg。以此为自研片的处方，制备相同重量的片剂，分别测定在 100ml 水中的不溶性辅料的重量，以验证自研制剂与原研制剂中的微晶纤维素的用量是否相同。

## 3. 离子色谱测定阴离子在原研制剂中的用量

离子色谱是高效液相色谱的一种，随着离子色谱的普及，使用离子色谱测定原研制剂中辅料的用量越来越容易。离子色谱法经常检测的常见阴离子有：F<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、甲酸，乙酸，草酸等。使用离子色谱仪，一针样品进去，约在 20 分钟以内就可得到 7 个常见离子的测定结果，这是其他分析手段所无法达到的，关于阳离子的测定，离子色谱法与原子吸收光谱（AAS）法和原子发射光谱（ICP）法相比则未显示出优越性。

## 4. 如何判断原研制剂的制备工艺

固体口服制剂常用湿法制粒、干法制粒、粉末直接压片三种制备工艺。但原研制剂的公开资料一般不会披露其采用何种制备工艺，需要仿制药开发者自己通过实验判断其所用的制备工艺。通常通过原料（API）的理化性质，可以对制备工艺进行初步判断，例如：对湿热不稳定的原料，通常会采用干法制粒或粉末直接压片工艺。规格比较大（25mg以上）或原料在制剂中的比例 25%以上，通常不会采用粉末直接压片工艺。从溶出度和生物利用度的考虑，难溶性药物使用湿法制粒的工艺较多。通过对片剂切面的观察，湿法或干法制粒所制备的片剂的切面要比粉末直接压片的切面要粗糙。也可直接把片剂放在培养皿中，通过光学显微镜观察崩解后的颗粒大小。观察到单个粒子较多的是多粉末直接压片工艺，观察到有较多较大颗粒或很多颗粒聚集在一块的为湿法或干法制粒工艺。亦可以通过原研制剂所用辅料种类进行制粒工艺的判断，不含羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、羧甲基纤维素钠、聚维酮、淀粉等粘合剂的处方，通常采用的为粉末直接压片工艺。

## 5. 判断原研制剂所用原料的晶型和粒径

原研公司通常不会公布原料的晶型。虽然原研公司通常会采用理化性质较稳定和生物利用度较高的晶型，当原料有多个稳定性较好晶型时，需通过 X-衍射确定原研制剂中原料的晶型。除乳糖外的其他常用辅料均无明显的晶型衍射，可以通过测定原研的 X-衍射图判断原研制剂中所用原料的晶型。原料微粉化是常用的改善难溶性溶出速率的方法。对于难溶性药物，原料的粒径分布通常直接影响制剂的溶出速率和生物利用度。因此，选择合适的原料粒径分布是确保仿制药生物利用度和生物等效性的关键。常用的测定粒径的激光粒度测定仪，由于辅料干扰，难以判断原料的粒径。显微镜法可以区分辅料的形态和原料形态，在偏振光下，药物的晶型表现出双折射图案而辅料多为非晶态，因此不表现出双折射图案。高温热台显微镜可以补充有光学显微镜，根据原料的熔点来确定的原料粒子。因此，识别其在分子和粒子的水平表征原药时具有独特的优势。

### 总结:

在目前如火如荼的仿制药开发中，如何能快速有效的开发出与原研制剂生物等效的制剂是很多药学工作者面临的共同问题。逆向工程技术无疑是解决这一问题最有力的手段，值得每一个药学工作者掌握。

### 【参考文献】

- [1] Rong-Kun Chang, "etal., Generic Development of Topical Dermatologic Products: Formulation Development, Process Development, and Testing of Topical Dermatologic Products", AAPS[J]. 2013 Jan; 15(1): 41-52.
- [2] Arvind K. Bansal and Vishal Koradia, the Role of Reverse Engineering in the Development of Generic Formulations, Pharmaceutical Technology[J], 2005, Aug : 502-504.
- [3] 美国 FDA 官方网站，文献链接：  
[http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/021598s017lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/021598s017lbl.pdf).
- [4] 欧盟 EMEA 官方网站，文献链接：  
[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001012/human\\_med\\_001030.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001012/human_med_001030.jsp&mid=WC0b01ac058001d124).
- [5] A.S. Raw et al., "Regulatory Considerations of Pharmaceutical Solid Polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs)," Adv. Drug Del. Rev. 56(3), 397-414 (2004).