

替吉奥仿制药与原研药的体外一致性评价

游隽¹, 盛孔胜², 黄萍^{3*} (1.中国科学院大学附属肿瘤医院药剂科, 杭州 310022; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053; 3.浙江省人民医院, 杭州 310010)

摘要: 目的 建立替吉奥制剂体外溶出曲线的测定方法, 评价国内 10 种替吉奥仿制药与原研药体外溶出曲线的相似性。方法 采用高效液相色谱法建立替加氟(tegafluorogen, FT)、吉美嘧啶(gemiracil, CDHP)和奥替拉西钾(oteracil potassium, OXO)的定量测定方法。色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈, 流动相为磷酸盐缓冲液-乙腈(90:10), 等度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长在 0~5 min 为 240 nm, 5~9 min 为 288 nm, 9~14 min 为 270 nm, 进样量 10 μL。采用转篮法测定各制剂在 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水 4 种不同溶出介质中的标准溶出曲线, 并通过相似因子(*f*₂)评价仿制药与原研药溶出曲线的相似性。结果 其中 8 种替吉奥仿制药与原研药的体外溶出行为相似。结论 该方法适用于替吉奥制剂的溶出曲线测定, 可为替吉奥制剂质量一致性评价提供参考。

关键词: 替吉奥; 一致性评价; 溶出度; 溶出曲线

中图分类号: R965.3 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)05-0604-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.05.017

引用本文: 游隽, 盛孔胜, 黄萍. 替吉奥仿制药与原研药的体外一致性评价[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(5): 604-608.

In Vitro Consistency Evaluation Between Generic and Original TS-1 Preparations

YOU Jun¹, SHENG Kongsheng², HUANG Ping^{3*} (1.Department of Pharmacy, Cancer Hospital of the University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China; 2.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 3.Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310010, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of *in vitro* dissolution curve of TS-1 preparations and to evaluate the consistency of *in vitro* dissolution curve between 10 domestic TS-1 generics and the original preparation. **METHODS** Quantitative method for the determination of tegafur(FT), gemiracil(CDHP) and oteracil potassium(OXO) was established by HPLC. The column was Agilent ZORBAX SB-C₁₈. The mobile phase was consist of phosphate buffer and acetonitrile(90:10) with a flow rate of 1 mL·min⁻¹ under isocratic elution. The detection wavelength was 240 nm at 0-5 min, 288 nm at 5-9 min, and 270 nm at 9-14 min. Sample injection volume was 10 μL. The standard dissolution curves of each preparation in four different dissolution media, namely pH 1.2 hydrochloric acid solution, pH 4.5 acetate buffer, pH 6.8 phosphate buffer and water, were determined by the basket method. The similarity between the dissolution curves of the generic drug and the original drug were evaluated by the similarity factor(*f*₂). **RESULTS** The dissolution behavior of 8 domestic TS-1 generics was consistent with that of the original preparation. **CONCLUSION** The established method can efficiently determine the dissolution curve and provide reference for the quality consistency evaluation of TS-1 preparations.

KEYWORDS: TS-1; consistency evaluation; dissolution; dissolution curve

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位居世界恶性肿瘤前 5 位, 中国胃癌的发病率和死亡率是世界平均水平的 2 倍之多^[1]。由日本大鹏药品工业株式会社研发并生产的替吉奥(TS-1)胶囊是一种新型口服氟尿嘧啶类衍生物, 是目前已知对胃癌最有效的药物之一。TS-1 由替加氟(tegafluorogen, FT)、吉美嘧啶(gemiracil, CDHP)和奥替拉西钾(oteracil potassium, OXO)3 种有效成分组成, 含 TS-1 的联合化疗可作为晚期胃癌的一

线标准化治疗方案^[2]。在日本有>80%的晚期胃癌患者使用 TS-1 胶囊进行辅助化疗, 其治疗有效率可达 44.6%, 联合顺铂治疗胃癌的总缓解率高达 76%, 其疗效和安全性得到了研究者的肯定^[3-4]。

目前, TS-1 制剂已经由中国多个厂家申报仿制生产并用于临床, 降低了中国肿瘤患者的治疗成本。但由于 TS-1 中 3 个有效成分的理化性质差异明显, FT 属于 BCS III 类药物(高溶解度-低通透性), 溶解性较好, CDHP 和 OXO 属于 BCS II 类

基金项目: 浙江省医药卫生科技项目(2018KY317)

作者简介: 游隽, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (0571)88122137
(0571)85893222 E-mail: huangpwly@sina.com

E-mail: chg0202@163.com

*通信作者: 黄萍, 女, 博士, 主任药师

Tel:

药物(低溶解度-高通透性)。不同厂家生产的仿制药虽然主药成分与参比制剂一致,但辅料和生产工艺等却并非总是相同,可能影响药物在体内的药动学行为,进而影响药效。因此,本研究拟建立 TS-1 胶囊在多种 pH 溶出介质中溶出曲线的测定方法,并对国内市售的 10 种 TS-1 仿制药与原研药体外溶出曲线的相似性进行评价^[5]。

1 材料

1.1 仪器

ZRS-8G 智能药物溶出仪(天津市鑫洲科技有限公司); BS 224S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); HP1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器(美国 Agilent)。

1.2 试药及试剂

FT 对照品(批号: F1502072; 含量: 99.70%)、CDHP 对照品(批号: B1528016; 含量: 98.12%) 和 OXO 对照品(批号: H1715021; 含量: 98.81%)、无水醋酸钠(批号: C1927021)、磷酸二氢钾(批号: J1609041, B1912077)、氢氧化钠(批号: J1609041)、磷酸(批号: K1630027)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 10 种市售 TS-1 仿制药信息见表 1。TS-1 胶囊参比制剂(大鹏药品工业株式会社, 批号: 8F89A; 规格: 20 mg)。盐酸(上海凌峰化学试剂有限公司, 批号: 20181029); 冰醋酸(美国天地有限公司, 批号: 105087); 乙腈、甲醇均购自临海市浙东特种试剂厂。水为实验室自制纯净水。

表 1 TS-1 仿制药信息

Tab. 1 TS-1 generic information

编号	剂型	批号	规格/mg
A	胶囊	7F009E07	20
B	胶囊	9A0023E06	25
C	胶囊	023190103	20
D	胶囊	026190201	25
E	胶囊	181006NG	20
F	胶囊	180512NB	25
G	片剂	19030910	20
H	片剂	19031210	25
I	片剂	7B001D07	20
J	片剂	7M0093E06	25

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸盐缓冲液(5.44 g 磷

酸二氢钾+1 L 水+1 mL 磷酸)-乙腈(90 : 10); 柱温: 30 °C; 流速: 1 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL; 检测波长: 0~5 min 为 240 nm, 5~9 min 为 288 nm, 9~14 min 为 270 nm。该色谱条件下样品与对照品的色谱图见图 1。图中从左到右依次是 OXO、CDHP、FT。

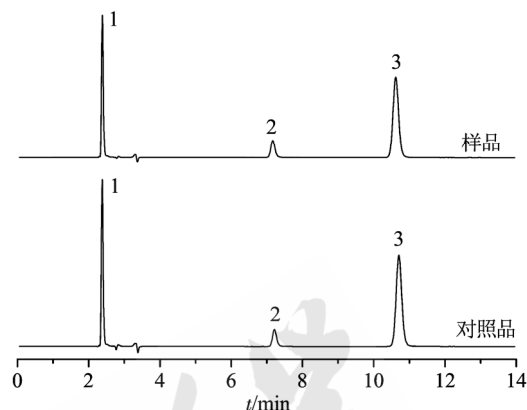


图 1 对照品与样品色谱图

1-OXO; 2-CDHP; 3-FT。

Fig. 1 HPLC chromatograms of references and samples
1-OXO; 2-CDHP; 3-FT.

2.2 样品制备

2.2.1 不同溶出介质的配制 按国家药品监督管理局发布的《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》为标准分别配制 4 种不同溶出介质。①pH 1.2 盐酸溶液: 取盐酸 10 mL, 加水稀释至 1 000 mL, 摇匀。②pH 4.5 醋酸盐缓冲液: 称取 1.802 4 g 无水醋酸钠, 加水稀释至 1 000 mL, 加 1.596 mL 冰醋酸, 混匀。③pH 6.8 磷酸盐缓冲液: 称取 6.804 5 g 磷酸二氢钾和 0.895 9 g 氢氧化钠, 加水稀释至 1 000 mL, 摇匀。④水: 实验室自制纯净水。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取预先经 105 °C 干燥 4 h 的 FT 对照品 45.0 mg, CDHP 对照品 10.7 mg, OXO 对照品 42.3 mg, 分别置于 100 mL 量瓶中, 加 15% 甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密移取各对照品储备液 5 mL 于 100 mL 量瓶中, 加溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液(浓度: FT 0.022 5 mg·mL⁻¹, CDHP 0.005 35 mg·mL⁻¹, OXO 0.021 15 mg·mL⁻¹)。

2.2.3 供试品溶液的配制 取 TS-1 样品, 分别置 12 个溶出杯中, 按溶出度与释放度测定法(中国药典 2015 年版四部通则 0931 第一法), 分别以 pH 1.2

盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水各 900 mL 为溶出介质，转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ，温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ，依法操作，在 5, 10, 15, 30, 45, 60 min 时，分别取溶液 5 mL 作为供试品溶液。

2.2.4 空白辅料溶液的制备 称取空白辅料 118 mg(相当于 1 粒 25 mg 胶囊内容物的辅料量)各 4 份，精密称定，分别置 4 个溶出杯中，并在各溶出杯内加入一粒明胶空心胶囊后，按“2.2.3”项下方法制备，作为空白辅料溶液。

2.3 专属性试验

分别取 4 种不同溶出介质制备的供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，记录色谱图，见图 2。由结果可知，不同溶出介质中 OXO、CDHP、FT 的出峰时间稳定在 2.4, 7.2, 10.7 min，且峰型良好，分离度高，表明不同溶出介质不影响 FT、CDHP、OXO 的出峰。

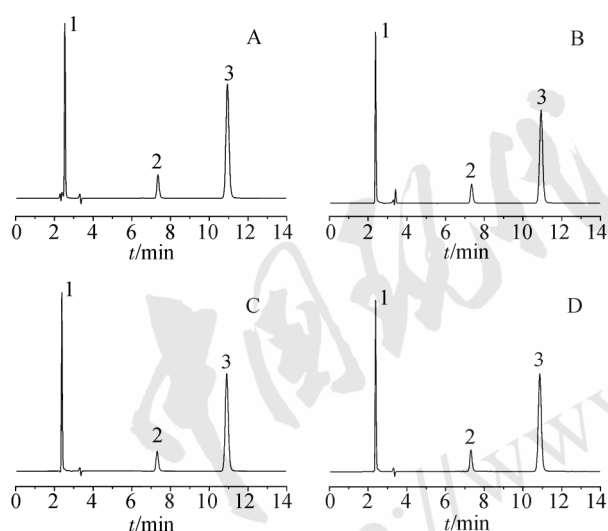


图 2 以 4 种溶出介质为溶剂的供试品 HPLC 色谱图
A-pH 1.2 盐酸溶液；B-pH 4.5 醋酸盐缓冲液；C-pH 6.8 磷酸盐缓冲液；D-水；1-OXO；2-CDHP；3-FT。

Fig. 2 HPLC chromatograms of test solution in four dissolution media

A-hydrochloric acid solution(pH 1.2); B-acetic acid-sodium acetate buffer solution(pH 4.5); C-phosphate buffer solution(pH 6.8); D-water; 1-OXO; 2-CDHP; 3-FT.

2.4 线性关系考察

分别精密量取 10 mL “2.2.2”项下对照品溶液置 50 mL 量瓶，用水稀释至刻度，摇匀，作为线性储备液(浓度：FT $90 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，CDHP $21.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，OXO $84.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。分别精密量取线性储备液 0.7, 1.4, 2.8, 4.2, 5.6, 7, 8.4, 9.8, 11.2 mL

置于 25 mL 量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。分别取上述溶液 10 μL 进样，记录峰面积。以峰面积(X)为横坐标，浓度(Y)为纵坐标建立线性回归方程。定量限和检测限分别在信噪比为 10 和 3 的时候测得。线性、定量限和检测限测定结果见表 2。

表 2 线性关系考察

Tab. 2 Investigation of linear relations

化合物	回归方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	检测限/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
OXO	$Y=0.063 \ 3X-0.007 \ 5$	0.999 5	2.52~40.32	0.09	0.32
CDHP	$Y=0.064 \ 9X+0.002 \ 1$	0.999 2	0.60~9.59	0.07	0.23
FT	$Y=0.034 \ 7X-0.098 \ 6$	0.999 1	2.37~37.90	0.16	0.55

2.5 仪器精密度、重复性和稳定性考察

取供试品溶液一份连续进样 6 针，按“2.1”项下色谱条件分析，结果显示 3 种化合物的 RSD 值均 $<0.29\%$ ，说明本仪器的仪器精密度良好。平行制备 6 份供试品溶液，按上述方法分析，结果显示 3 种化合物的 RSD 值均 $<2.52\%$ ，说明本方法重复性良好。取同一份供试品溶液适量，分别于 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样测定，3 种化合物的 RSD 均 $<0.49\%$ ，说明本样品在 24 h 内稳定。

2.6 加样回收率试验

取已知浓度的样品溶液，分别加入相当于制剂中药物含量的 80%, 50%, 25% 的对照品溶液，摇匀。低、中、高 3 种浓度各制备 3 份供试品进样，分别测定 OXO、CDHP、FT 的回收率。结果表明各指标加样回收率符合标准，结果见表 3。

表 3 回收率测定

Tab. 3 Determination of recovery

化合物	低		中		高	
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
OXO	99.01	0.07	98.75	0.16	98.77	0.53
CDHP	98.24	0.29	97.92	0.17	101.10	5.43
FT	101.15	0.20	100.85	0.19	100.37	0.25

2.7 溶出度测定

取“2.2.3”项下制备的供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进样，将所得峰面积分别代入各自的标准曲线内，得相应浓度，分别计算在 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水 4 种介质下各药物的累积溶出度，绘制溶出曲线，结果见图 3。

2.8 溶出曲线相似性评价方法

根据《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》,在4种溶出介质中,若参比制剂在15 min内的平均溶出率 $>85\%$,仿制制剂在15 min以内平均溶出率也 $>85\%$ 或15 min时仿制制剂与参比制剂平均溶出率的差 $\leq \pm 15\%$,则判定仿制制剂的溶出行为与参比制剂相似。

4种溶出介质中各药物的溶出曲线相似度比较结果见表4。参比制剂在15 min内的累积溶出度均 $>85\%$,结果见图3。因此,除A胶囊(20 mg)在pH 4.5醋酸盐缓冲液中OXO的溶出行为与原研药不相似,F胶囊(25 mg)在pH 6.8磷酸盐缓冲液中

中OXO和CDHP、在水中OXO的溶出行为与原研药不相似外,其余8种仿制制剂在4种溶出介质中的溶出行为均与原研药相似。

3 讨论

本研究通过建立TS-1胶囊在不同溶出介质中的标准溶出曲线,对国产TS-1仿制药与参比制剂在pH 1.2盐酸溶液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液和水这4种不同溶出介质中进行了溶出行为的比较。结果显示,10种仿制药中8种与原研药的体外溶出行为相似。该方法适用于TS-1胶囊的溶出曲线测定,可为TS-1胶囊质量一致性评价提供参考。

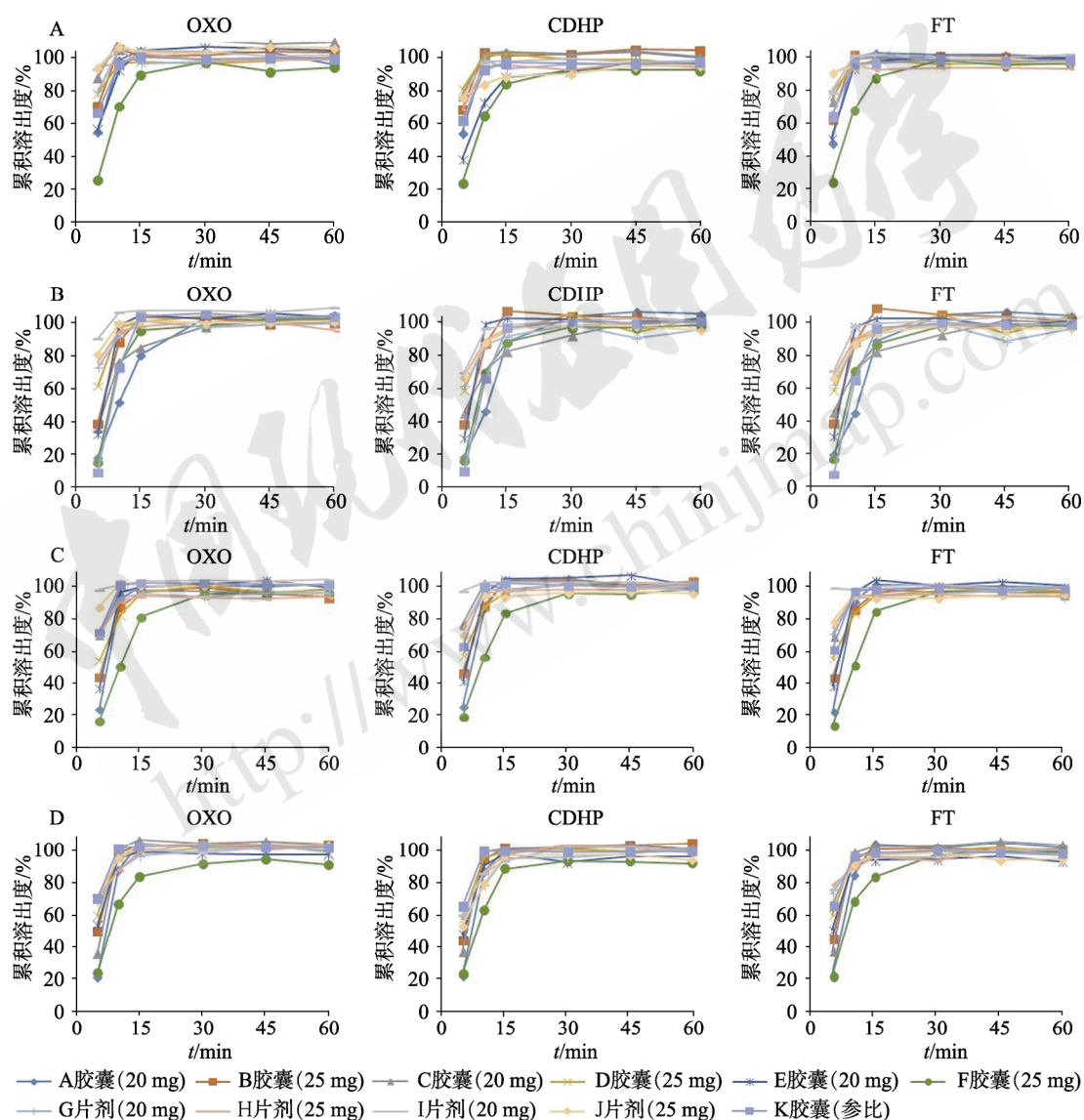


图3 4种溶出介质下各药物溶出曲线

A-pH 1.2 盐酸溶液; B-pH 4.5 醋酸盐缓冲液; C-pH 6.8 磷酸盐缓冲液; D-水。

Fig. 3 Dissolution curves of each drug in four dissolution media

A-hydrochloric acid solution(pH 1.2); B-acetic acid-sodium acetate buffer solution(pH 4.5); C-phosphate buffer solution(pH 6.8); D-water.

表 4 溶出曲线相似度比较结果(15 min 累积溶出度)

Tab. 4 Comparison result of similarity of dissolution curves(accumulative dissolution at 15 min)

%

样品名称	pH 1.2 盐酸溶液			pH 4.5 醋酸盐缓冲液			pH 6.8 磷酸盐缓冲液			水		
	OXO	CDHP	FT	OXO	CDHP	FT	OXO	CDHP	FT	OXO	CDHP	FT
K 胶囊(参比)	101.0	96.7	96.9	104.1	97.3	97.4	104.0	102.3	100.0	103.0	99.8	97.9
A 胶囊(20 mg)	104.4	102.8	103.0	81.0	88.6	89.5	101.9	104.2	103.0	105.2	101.2	103.8
B 胶囊(25 mg)	101.1	101.0	99.9	103.7	107.3	109.0	98.1	103.1	97.9	103.0	101.7	100.6
C 胶囊(20 mg)	110.8	102.9	100.2	85.1	83.2	83.2	99.4	98.2	100.1	107.4	101.2	102.2
D 胶囊(25 mg)	98.2	101.8	98.5	100.5	95.3	94.2	97.5	96.4	96.2	99.5	99.5	96.3
E 胶囊(20 mg)	104.5	87.5	98.1	104.4	102.9	102.6	101.8	105.2	105.5	99.8	98.0	93.3
F 胶囊(25 mg)	90.5	84.0	88.1	95.6	88.9	87.7	83.0	83.8	86.3	84.5	88.8	82.9
G 片剂(20 mg)	97.1	92.9	101.1	100.9	92.4	93.6	97.2	98.1	95.2	97.4	95.2	96.2
H 片剂(25 mg)	102.8	94.8	92.6	98.0	96.7	96.9	96.0	97.6	96.6	99.6	97.6	95.0
I 片剂(20 mg)	104.6	97.3	101.8	107.2	98.8	100.1	105.0	102.7	101.7	101.8	93.6	95.5
J 片剂(25 mg)	103.6	88.4	97.0	101.3	96.4	94.5	102.5	93.7	94.4	104.0	96.9	96.6

REFERENCES

- [1] ROSATI G, FERRARA D, MANZIONE L. New perspectives in the treatment of advanced or metastatic gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(22): 2689-2692.
- [2] KOIZUMI W, NARAHARA H, HARA T, et al. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer(SPIRITS trial): A phase III trial[J]. Lancet Oncol, 2008, 9(3): 215-221.
- [3] KOIZUMI W, TANABE S, SAIGENJI K, et al. Phase I/II study of S-1 combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 89(12): 2207-2212.
- [4] MAEHARA Y. S-1 in gastric cancer: A comprehensive review [J]. Gastric Cancer, 2003, 6(Suppl 1): 2-8.
- [5] ZHANG Q M, XIE M F, NING B M, et al. Evaluation of solid oral products by dissolution profiles in different mediums[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2009, 40(12): 946-950, 955.

收稿日期: 2020-02-27

(本文责编: 蔡珊珊)