

# 辛伐他汀片体外溶出一致性评价方法的建立

郭志渊, 谢华, 袁军(四川省食品药品检验检测院, 成都 611731)

**摘要:** 目的 建立辛伐他汀片体外溶出一致性评价方法, 为该品种的仿制药一致性评价工作提供理论依据。方法 采用中国药典 2015 年版四部 0931 第二法(桨法), 以 pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8 缓冲液和水(含 0.4% 聚山梨酯 80) 900 mL 为溶出介质, 转速为 75 r·min<sup>-1</sup>, HPLC 测定溶出度。结果 辛伐他汀在 4 种介质中的线性范围均为 4.408~44.080 μg·mL<sup>-1</sup>, 平均回收率分别为 100.2%(RSD 1.2%), 100.0%(RSD 2.0%), 99.8%(RSD 1.9%), 99.9%(RSD 1.5%)(n=12)。5 家仿制药制剂中 3 家与原研药相似性较高( $f_2 > 50$ )。结论 建立的溶出曲线测定方法准确、可靠, 可为辛伐他汀片的仿制药一致性评价提供参考。

**关键词:** 辛伐他汀片; 溶出曲线; 一致性评价

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)01-0015-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.01.004

引用本文: 郭志渊, 谢华, 袁军. 辛伐他汀片体外溶出一致性评价方法的建立[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(1): 15-19.

## Quality Consistency Evaluation of Simvastatin Tablets

GUO Zhiyuan, XIE Hua, YUAN Jun(*Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for the determination of Simvastatin tablets and provide experimental basis for generic drugs quality consistency evaluation. **METHODS** According to the second dissolution method(paddle method) stated in 0931 of Chinese Pharmacopoeia(2015 Edition), the dissolution of simvastatin in different media (pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8, buffer solution and water) with rotation of 75 r·min<sup>-1</sup> was determined by HPLC. **RESULTS** The linear of simvastatin was 4.408–44.080 μg·mL<sup>-1</sup>, with the average recovery of 100.2%(RSD 1.2%), 100.0%(RSD 2.0%), 99.8%(RSD 1.9%), 99.9%(RSD 1.5%)(n=12) respectively in the four media. Three of the five generics had a highly similarity to the original( $f_2 > 50$ ). **CONCLUSION** The established method for the determination of simvastatin is accurate and reliable, which can make reference for further quality consistency evaluation of Simvastatin tablets.

**KEYWORDS:** Simvastatin tablets; dissolution profile; consistency evaluation

辛伐他汀是洛伐他汀经半合成而得到的降胆固醇药, 它是一种非活性的内酯化前体药物, 通过肝脏水解成活性代谢产物或其衍生物而起作用, 其作用机制同洛伐他汀, 为 HMG-CoA 还原酶抑制剂, 它能竞争性抑制胆固醇合成过程中的限速酶 HMG-CoA 还原酶, 从而降低体内的内源性合成的胆固醇水平。该药于 1988 年由默克公司开发并在瑞典上市, 1995 年在美国上市, 在国内, 1998 年批准生产。目前我国高血脂的患者达 1.6 亿, 辛伐他汀在我国一直位列他汀类药物销售额的首位, 其临床中应用的主要制剂为口服制剂。辛伐他汀片是国家仿制药一致性评价 2018 年底必须完成的品种之一。

日本橙皮书<sup>[1]</sup>记载有辛伐他汀片的溶出度评价方法, 采用 HPLC 测定, 以 pH 1.2, pH 4.0, pH

6.8 缓冲液和水(均含 0.3% 的聚山梨酯 80)为溶出介质, 测定并绘制溶出曲线。各国药典<sup>[2-3]</sup>中记载的溶出度方法均以含 0.5% 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)的 0.01 mol·L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲液(pH 7.0)为溶出介质, 且测定方法与日本橙皮书也有一定差异。本研究参照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》<sup>[4]</sup>及日本橙皮书中辛伐他汀片的溶出曲线方法, 进一步优化并建立辛伐他汀片的体外溶出曲线一致性评价方法。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

CP225D 电子天平(赛多利斯公司); RCZ-8M 智能溶出仪(天大天发科技有限公司); AT7smart 型溶出仪(瑞士 SOTAX 公司); Waters Acquity

基金项目: 四川省科技计划项目(2018SZ0001)

作者简介: 郭志渊, 女, 副主任药师

Tel: (028)87877145

E-mail: gejiwan@sina.com

UPLC(美国 Waters 公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); ZKT-18F 真空脱气机(天大天发科技有限公司); Seven Multi pH 计(梅特勒公司)。

## 1.2 试药

辛伐他汀对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100601-201003; 含量: 99.0%); 辛伐他汀片参比制剂(默沙东制药有限公司, 批号: 120990; 规格: 20 mg); 辛伐他汀片仿制制剂(国内 5 家生产企业); 辛伐他汀(默沙东制药有限公司, 批号: 120202)。

乙腈、甲醇(色谱纯, Fisher 公司); 磷酸二氢钾、氢氧化钠、醋酸钠、冰醋酸均为分析纯, 均来自成都科龙化工试剂厂; SDS(分析纯, ACROS 公司); 聚山梨酯 80(注射级, ACROS 公司; 分析纯, Sigma 公司; 分析纯, 成都金山化学试剂有限公司; 分析纯, 成都科龙化工试剂厂)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm), 以 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-甲醇(20:80) 为流动相, 检测波长为 238 nm, 柱温为 40 °C, 样品室温度为 5 °C, 进样量为 4 μL。理论板数按辛伐他汀峰计算应≥3 000, 拖尾因子应≤2.0。

### 2.2 理化性质的测定

**2.2.1 辛伐他汀在不同介质中的溶解度测定** 分别取辛伐他汀约 20 mg, 加入含 0.4% 聚山梨酯 80 的溶出介质(水、pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液)各 5 mL, 在 37 °C 水浴中, 机械振摇 30 min, 制成过饱和溶液, 滤过, 取上清液, 按“2.1”项下方法测定饱和溶液浓度, 并计算溶解度。通过测定得知, 辛伐他汀在含 0.4% 的聚山

梨酯 80 的各溶出介质中的溶解度均为 0.2 mg·mL<sup>-1</sup>。

**2.2.2 辛伐他汀在不同介质中的稳定性考察** 取辛伐他汀片研细, 称取细粉(约相当于辛伐他汀 5 mg), 共 4 份, 分别置 200 mL 量瓶中, 用 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水(均含 0.4% 的聚山梨酯 80)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 于 37 °C 保温 2 h, 分别于 0, 2 h 取样品滤过, 按“2.1”项下方法测定, 并计算降解率[降解率(%)=(A<sub>0</sub>-A<sub>n</sub>)/A<sub>0</sub>×100%, 其中 A<sub>0</sub> 为 0 h 时的溶液峰面积, A<sub>n</sub> 为放置不同时间的溶液峰面积], 在 37 °C 的 4 种介质中的降解率分别为 1.1%, 0.2%, 1.4%, 0.3%。

取上述同法配制的样品溶液于 20, 5 °C 保温, 分别于 0, 7 h 取样品滤过, 按“2.1”项下方法测定, 并计算降解率, 在 20 °C 的 4 种介质中的降解率分别为 12.5%, 4.6%, 3.8%, 6.4%, 而在 5 °C 的 4 种介质中的降解率均为 0。

### 2.2.3 不同过滤方式对辛伐他汀吸附作用的考察

将“2.2.2”项下制得的辛伐他汀片供试品溶液分别用与自动溶出仪配套的 10 μm 在线滤头加 0.22 μm 聚醚砜滤膜过滤或离心(5 000 r·min<sup>-1</sup>, 15 min), 取滤液和上清液进行测定, 并计算不同处理方式对辛伐他汀的吸附率[吸附率(%)=100%-滤液峰面积/离心峰面积]。结果见表 1, 结果表明, 在考察的浓度范围内, 4 种介质供试品溶液采用过滤的方式时, 去除 1 mL 初滤液后, 滤膜的吸附率均<2.0%。滤头及滤膜对检测无影响。

### 2.3 溶出介质种类的考察

辛伐他汀为难溶性药物, 溶出介质考察中主要对表面活性剂种类及浓度进行考察, 参考日本橙皮书采用 75 r·min<sup>-1</sup> 的条件对参比制剂在不同的表面活性剂及表面活性剂的不同浓度的溶出行为进行了考察(以水为介质), 结果见图 1。

表 1 滤膜吸附情况考察

Tab. 1 Adsorption of filter membrane

初滤液弃去 体积/mL	pH 1.2 盐酸溶液		pH 4.0 缓冲液		pH 6.8 缓冲液		水	
	辛伐他汀峰面积	吸附率/%	辛伐他汀峰面积	吸附率/%	辛伐他汀峰面积	吸附率/%	辛伐他汀峰面积	吸附率/%
0	496 056	2.2	497 352	2.1	458 021	2.0	487 064	1.9
1	499 956	1.3	505 841	0.4	462 723	1.0	494 588	0.4
2	501 879	0.9	505 028	0.6	465 225	0.4	491 894	0.9
3	500 382	1.2	503 810	0.8	464 181	0.7	496 675	0.9
4	504 254	0.4	505 749	0.4	465 088	0.5	495 800	0.1
离心后 峰面积	506 305	/	508 009	/	467 283	/	496 382	/

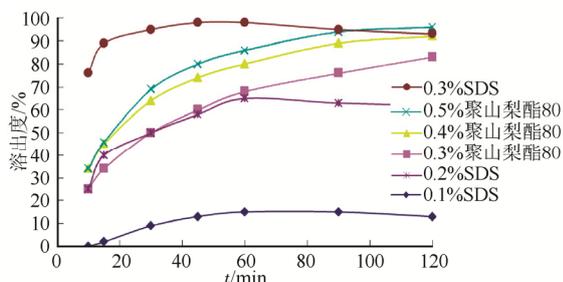


图1 不同溶出介质的溶出曲线(批号: 120990)  
Fig. 1 The dissolution curve of different media(Batch No. 120990)

## 2.4 转速的考察

以0.4%聚山梨酯80水为溶出介质,比较转速为50, 75 r·min<sup>-1</sup>时辛伐他汀片参比制剂的溶出曲线,结果见图2。

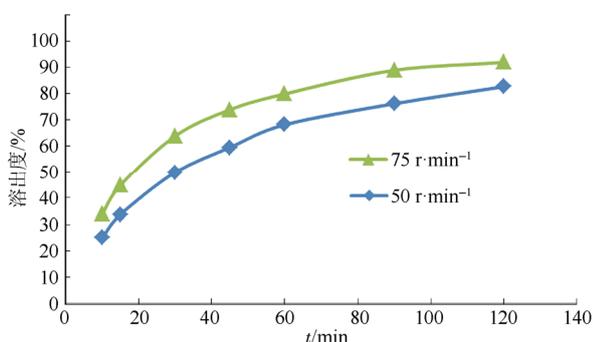


图2 不同转速下的溶出曲线(批号: 120990)  
Fig. 2 The dissolution curve of different rotation rates (Batch No. 120990)

## 2.5 取样时间点的考察

根据辛伐他汀片在各种介质的溶出特性,拟定溶出曲线的取样时间点为10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min。

## 2.6 溶出曲线方法的建立

取本品,按溶出度测定法(中国药典2015年版四部0931第二法),分别以4种溶剂(含0.4%聚山梨酯80 pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8和水)900 mL为溶出介质,转速为75 r·min<sup>-1</sup>,依法操作,经10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min时,取溶液3 mL,并及时回补溶出介质,溶出液经微孔滤膜过滤,续滤液作为供试品溶液。另精密称取辛伐他汀对照品约10 mg,置50 mL量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取适量,用相应的溶出介质稀释制成10 μg·mL<sup>-1</sup>的溶液,摇匀,作为对照品溶液。精密量取上述2种溶液各5 μL(UPLC)或10 μL(HPLC),注入液相色谱仪,记录色谱图;按外标法以峰面积计算每片溶出量(pH 1.2介质中以辛

伐他汀酸与辛伐他汀峰之和计算)。并采用该方法对参比制剂进行测定,溶出曲线见图3。

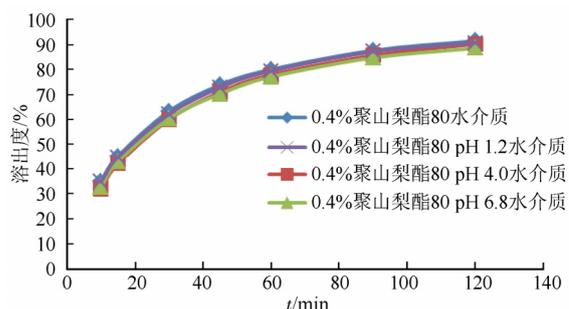


图3 参比制剂在4种介质中的溶出曲线(批号: 120990)  
Fig. 3 The dissolution curve of original tablet in four media(Batch No. 120990)

## 2.7 方法学验证

**2.7.1 线性关系** 精密称取辛伐他汀对照品11.02 mg置10 mL量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取适量,分别加“2.6”项下4种溶出介质,稀释制成含辛伐他汀4.408, 8.816, 17.632, 26.448, 35.264, 44.080 μg·mL<sup>-1</sup>的系列溶液,精密量取5 μL,进样测定。以进样量(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),辛伐他汀在4种介质中的线性方程分别为Y=7 981 490X+8 580.288, r=0.999 9; Y=8 216 689X-15 567.2, r=0.999 7; Y=8 177 574X+1 134.54, r=0.999 9; Y=8 133 628X-5 316.49, r=0.999 9。结果表明,辛伐他汀在4.408~44.080 μg·mL<sup>-1</sup>内线性关系良好。

**2.7.2 回收率试验** 取一定量的样品辅料,精密量取辛伐他汀对照品储备液(1 mg·mL<sup>-1</sup>)适量,分别加入“2.6”项下4种溶出介质,制成30%, 80%, 100%, 120%浓度的溶液,每个浓度各3份样,按“2.1”项下方法测定。计算辛伐他汀片在4种溶出介质中的平均回收率分别为100.2%, 100.0%, 99.8%, 99.9%, RSD分别为1.2%, 2.0%, 1.9%, 1.5%(n=12)。

**2.7.3 重复性试验** 取辛伐他汀片,在“2.6”项下4种溶出介质中溶出120 min,各6份,计算辛伐他汀片在4种溶出介质中的平均溶出量,分别为89%, 88%, 88%, 91%, RSD分别为0.6%, 0.8%, 0.5%, 0.9%(n=6)。

**2.7.4 专属性试验** 取辛伐他汀片的辅料适量溶解于“2.6”项下4种溶出介质中,按“2.1”项下方法测定,结果辛伐他汀片的辅料及溶出介质均不干扰样品的测定。结果见图4。

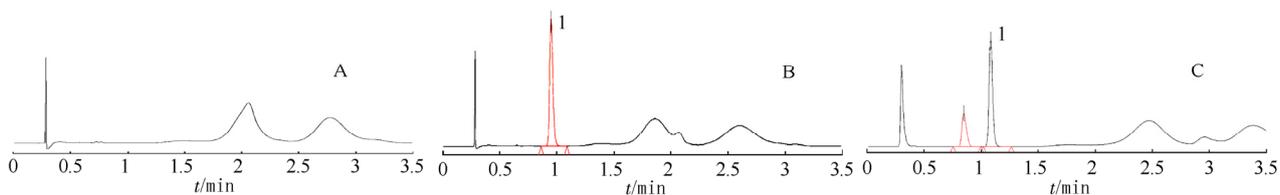


图4 高效液相色谱图

A-空白介质; B-水、pH 4.5、pH 6.8(均含 0.4%聚山梨酯 80)中供试品溶液; C-pH 1.2(含 0.4%聚山梨酯 80)中供试品溶液; 1-辛伐他汀。

Fig. 4 HPLC chromatograms

A-blank media; B-sample solution in water, pH 4.5 buffer and pH 6.8 buffer(containing 0.4% polysorbate 80); C-sample solution in pH 1.2(containing 0.4% polysorbate 80); 1-simvastatin.

**2.7.5 耐用性试验** 考察样品在不同溶出仪上的溶出曲线及在不同液相色谱仪上的测定结果, 结果表明辛伐他汀片采用不同自动溶出仪及不同液相色谱仪进行溶出度试验, 结果显示无显著差异。

### 2.8 溶出曲线相似性评价

取参比制剂(批号: 120990)及 5 家仿制制剂(A、B、C、D、E, 其中 A 企业样品 2 批分别为工艺更改前后的样品), 按“2.6”项下方法以 0.4% 聚山梨酯 80 水溶液为溶出介质测定其累积溶出率, 绘制溶出曲线, 结果见图 5。采用  $f_2$  相似因子评价法评价仿制制剂与参比制剂的溶出曲线相似性, 结果见表 2。结果显示, 5 家仿制药企业中, 3 家样品(A2、C、E)  $f_2$  因子 > 50, 其余 2 家及 A 企业工艺变更以前的批次与参比制剂溶出行为差异较大。

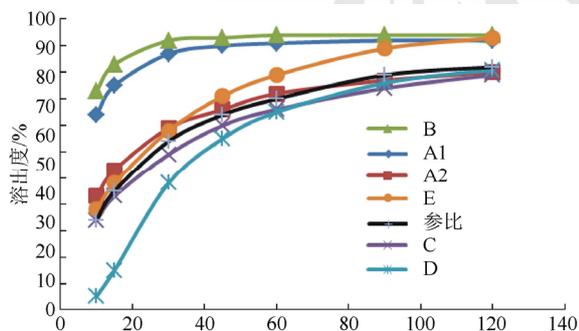


图5 参比制剂与仿制制剂辛伐他汀片在 0.4%聚山梨酯 80 水溶液中的溶出曲线

Fig. 5 The dissolution curve of original and generic simvastatin tablet in water (0.4% polysorbate 80)

表 2 相似度比较统计表

Tab. 2 Similarity comparison tables

生产企业	批号	$f_2$
A1(A 厂变更工艺前)	1201102	27
A2(A 厂变更工艺后)	12066	63
B	120704	23
C	SL006	77
D	J120601	36
E	20120101	70

### 3 讨论

辛伐他汀片原研企业为默沙东制药有限公司, 其规格有 5, 10, 20, 40, 80 mg, 本研究选择规格为 20 mg 作为参比制剂, 并以其为试验药物, 建立辛伐他汀片的溶出曲线的测定方法, 为该品种仿制药一致性评价工作提供试验依据。

辛伐他汀为难溶性药物, 辛伐他汀片体外溶出方法的建立难点在于表面活性剂种类的选择。通过比较 SDS 和聚山梨酯 80 可以看出, 辛伐他汀片在 >0.2% SDS 浓度的溶出介质中释放速度太快, 导致溶出曲线区分力较差, 而当 SDS 浓度降为 0.2% 时, 参比制剂的批内差异又明显增加(批内后期 RSD 远 > 20%<sup>[5]</sup>), 说明以 0.2% 的 SDS 为表面活性剂对该制剂过度区分; 而采用 0.4% 聚山梨酯 80 为表面活性剂, 辛伐他汀片的溶出速率适中, 15 min 溶出速率 < 50%, 45~120 min 内达到 85%<sup>[6]</sup>, 且参比制剂的批内及批间差异均较小( $f_2 > 50$ )。

辛伐他汀片的稳定性较差, 对温度特别敏感, 笔者采用 0.4% 聚山梨酯 80 为溶出介质时, 可以通过控制样品室低温(5 °C)的方法来保证其稳定性, 而采用 0.2% SDS 为溶出介质时, 样品室温度不能降得太低, 否则 SDS 会析出, 这也成为选择聚山梨酯 80 作为表面活性剂的理由之一。

通过溶解度结果可以看出, 辛伐他汀为一种非 pH 依赖的难溶性物质。而在表面活性剂筛选过程中发现, 辛伐他汀片在以 0.2% SDS 为表面活性剂的 4 种溶出介质中, 溶出曲线不一致, 表现出的特征是 pH 对其溶出行为有影响, 这与其性质相悖, 故考虑 0.2% SDS 的表面活性剂不能模拟辛伐他汀片在体内的溶出行为。

聚山梨酯 80 表面活性剂的使用会影响色谱柱的寿命, 故选择较低浓度(0.4%)的聚山梨酯 80, 采用较高转速(75 r·min<sup>-1</sup>)作为溶出曲线测定条件。

聚山梨酯 80 的质量会影响样品在溶出介质中

的稳定性<sup>[7]</sup>,而且由于活性的差异,也会引起最终的溶出曲线测定的差异,因此对比了国产聚山梨酯 80 与进口聚山梨酯 80 的差异,最终筛选出使用 Sigma 和 Acros 试剂公司的聚山梨酯 80,并在体外一致性评价方法中指定聚山梨酯 80 的品牌型号,以保证体外一致性评价方法的重现性。

日本橙皮书中收录的辛伐他汀片的溶出曲线方法中以 pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8 缓冲液和水(均含 0.3%的聚山梨酯 80)为释放介质,使用该方法测定参比制剂发现,样品在 2 h 溶出率仍<85%,与橙皮书收录曲线不一致,后调研发现是原研企业在日本上市的处方跟国内上市处方不一致导致的,故本研究在日本橙皮书的方法上做了进一步优化,提高聚山梨酯 80 的浓度以达到理想的溶出曲线。

试验中发现辛伐他汀片在 0.4%聚山梨酯 80 pH 1.2 介质中会分解为 2 个峰,前一个峰为辛伐他汀酸,后一个峰为辛伐他汀峰,随时间变化辛伐他汀酸会逐渐增大,但 2 个峰的峰面积之和在测定时间内保持恒定,故以 2 个峰的峰面积之和计算溶出率。

辛伐他汀片在 4 种介质中溶出曲线一致性很高(图 3),故“2.8”项下试验中仅进行了辛伐他汀片参比制剂和仿制制剂在 0.4%聚山梨酯 80 水溶液中的溶出曲线相似性评价。由“2.8”项下结果可知,本研究建立的方法能有效区分不同厂家以

及相同厂家不同工艺的辛伐他汀片。

溶出曲线既是评价口服固体制剂仿制药一致性的重要手段<sup>[8]</sup>,也对保证药品批间质量的一致性起着重要作用。迄今为止,国家药品监督管理局已批准的国产仿制药共 122 个批准文号,本研究为辛伐他汀片仿制药质量一致性评价工作起到了一定的推进作用。

## REFERENCES

- [1] Day Medical Engineering corporation. Simvastatin Tablets [EB/OL]. [http://www.jp-orangebook.gr.jp/cgi-bin/search\\_h/search\\_e.cgi?action=diss\\_view&effect=218&find=Simvastatin&seq=1999](http://www.jp-orangebook.gr.jp/cgi-bin/search_h/search_e.cgi?action=diss_view&effect=218&find=Simvastatin&seq=1999).
- [2] 中国药典. 二部[S]. 2015: 521.
- [3] USP [S]. 2013, 36: 5144-5145.
- [4] State Food and Drug Administration. Guidance for Dissolution Curve Determination and Comparison of Oral Dosage. [EB/OL]. <http://samr.cafa.gov.cn/wsol/CL1751/147583.html>.
- [5] XIE M F. The dissolution curve with distinguishing ability [J]. Chin J Pharm(中国医药工业), 2014, 45(7): 687-689.
- [6] XIE M F. How to develop and validate the dissolution test on the quality criteria [J]. Chin J Pharm(中国医药工业), 2012, 43(3): A23.
- [7] SHAO P. Study on consistency evaluation of the dissolution of generic and original preparations of clozapine tablet [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(2): 177-181.
- [8] XIE M F. Introduction on foreign drug administration evaluating the internal quality of oral solid formulations by drug dissolution curve [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2008, 22(3): 257-261.

收稿日期: 2018-01-05

(本文责编: 李艳芳)