

辛伐他汀片溶出曲线相似性评价及有区分力溶出度检测方法的研究

梅梅¹, 张森¹, 李煜², 杨伟峰^{1,2*} (1.浙江工业大学, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要: 目的 考察国产与原研辛伐他汀片体外溶出曲线的相似性, 建立有区分力的溶出度检查方法。方法 采用日本橙皮书与中国药典的试验条件, 使用相似因子法评价国产与原研片溶出曲线的相似性; 有区分力的溶出度检查方法为: 桨法, 50 r·min⁻¹, 溶出介质为 900 mL 含 0.4% 十二烷基硫酸钠的 pH 7.0 磷酸盐缓冲液, 30 min 取样, HPLC 测定, 限度为标示量的 80%。结果 以日本橙皮书与中国药典的溶出度方法测定, 国产与原研片剂溶出曲线相似, 没有区分力。新建立的溶出度检查方法显示, 原研和国产片剂溶出曲线有显著不同, 在 30 min 时溶出量出现显著差异。结论 溶出介质中的十二烷基硫酸钠浓度是建立辛伐他汀片具有区分力溶出度方法的关键, 本研究可为仿制药质量一致性评价提供试验依据。

关键词: 辛伐他汀片; 溶出曲线; 一致性评价; 区分力; 相似因子法

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)06-0816-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.06.007

引用本文: 梅梅, 张森, 李煜, 等. 辛伐他汀片溶出曲线相似性评价及有区分力溶出度检测方法的研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(6): 816-819.

Similarity Evaluation of Dissolution Curves of Simvastatin Tablets and Study on Dissolution Method with Discriminatory Power

MEI Mei¹, ZHANG Miao¹, LI Yu², YANG Weifeng^{1,2*} (1.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the similarity of the dissolution curves between original and generic simvastatin tablets, and establish a distinguishable dissolution method. **METHODS** The experimental condition of dissolution methods in Japanese orange book and Chinese Pharmacopoeia were adopted. With the original drug in parallel, the dissolution curves of generic tablets were compared by the similarity factor method. Meanwhile, the new discriminative dissolution method was developed as follows: paddle stirring at 50 r·min⁻¹, pH 7.0 phosphate buffer solution (900 mL) containing 0.4% SDS as dissolution medium, HPLC analysis after 30 min, and the limit was set at 80%. **RESULTS** The experimental conditions following the Japanese orange book and Chinese Pharmacopoeia could not discriminate the original and generic tablets. The newly established method could afford a significant difference at 30 min. **CONCLUSION** The concentration of SDS in the dissolution medium is found to be essential, and even the key to discriminate the dissolution behavior of simvastatin tablets. This result provides the experimental basis for consistency evaluation.

KEY WORDS: simvastatin tablet; dissolution curve; consistency evaluation; discriminatory power; similarity factor method

辛伐他汀为 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA)还原酶的竞争性抑制剂, 是一种高效的降血脂药^[1-3]。辛伐他汀的生物药剂学分类属于 II 类(低溶解性-高渗透性), 其溶出行为是吸收利用的限速步骤, 直接决定生物利用度, 因此辛伐他汀片的溶出度研究十分重要^[4-7]。在多种不同 pH 值溶出介质中测定溶出曲线已成为国内外评价口服固体制剂内在品质的一种重要手段, 是提高仿制药生物等效性(bioequivalency, BE)试验成功率的必经之路。本研究以辛伐他汀为研究对象, 比

较了国产与原研制剂在不同溶出介质中的溶出曲线, 并用相似因子法(f_2 值)进行判定^[8-11], 探索仿制药与参比制剂体外溶出曲线的相似性。本实验考察了日本橙皮书收载的方法和通过多次试验建立的自拟溶出方法对溶出曲线测定结果的影响, 为处方和工艺研究提供依据, 以提高体内 BE 试验的成功率; 并在中国药典的基础上进一步研究更有区分力的溶出试验条件, 为中国药典辛伐他汀片质量标准^[12]的修订提供科学依据。

基金项目: 浙江省食品药品监管系统科技计划项目(2018015)

作者简介: 梅梅, 女, 硕士生 Tel: (0571)87180340 E-mail: 2231805924@qq.com *通信作者: 杨伟峰, 男, 主任药师 Tel: (0571)87180355 E-mail: ywfzhz@163.com

1 仪器与试剂

708DS 全自动溶出仪(美国 Agilent); XPE-205 分析天平(梅特勒); LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津); Inert Sustain AQ-C₁₈ 色谱柱(GL Science, 4.6 mm×150 mm, 5 μm); SW22 恒温震荡水浴(JULABO)。

磷酸氢二钠(批号: 20160327)、磷酸二氢钠(批号: 20160424)、磷酸二氢钾(批号: 20160218)、醋酸钠(批号: 20160229)、聚山梨酯 80(批号: 20160904)以及盐酸(批号: 20160302)均为分析纯; 电泳极十二烷基硫酸钠(SDS, 批号: 20170302); 以上试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。溶出介质实验用水: 纯化水, 采用脱气装置 42 °C 脱气 1 h 后立即使用。

原研参比片剂(美国默沙东公司, 批号: 3425200、3425210、3425220; 规格: 40 mg); 国产辛伐他汀片(国内 A 公司, 批号: A1603191、1506111、1506121, 规格: 40 mg)。

2 方法与结果

2.1 辛伐他汀的溶解度测定

日本橙皮书和中国药典分别使用了聚山梨酯 80 和 SDS 作为增溶剂, 笔者对辛伐他汀在两者中的溶解度进行考察。取过量的辛伐他汀原料药, 置 25 mL 量瓶中, 分别加入 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水 4 种溶出介质(均添加 0.3% 聚山梨酯 80)各 10 mL, 置 37 °C 恒温震荡水浴中放置 24 h, 过滤, 取续滤液, HPLC 测定: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以 0.025 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠溶液(用磷酸或氢氧化钠试液调节 pH 值至 4.5)-乙腈(35: 65)为流动相, 检测波长为 238 nm。计算辛伐他汀溶解度。同法测定均含 0.5% SDS 的 4 种溶出介质中辛伐他汀的溶解度。①试验用水; ②pH 1.2 溶出介质: 取盐酸 7.65 mL, 加水稀释至 1 000 mL 即得; ③pH 4.0 溶出介质: 取 2 mol·L⁻¹ 醋酸溶液[取 120.0 g (114 mL)冰醋酸用水稀释至 1 000 mL, 摇匀, 即得] 20.5 mL 与醋酸钠 1.22 g, 加水溶解并稀释至 1 000 mL, 摇匀, 即得; ④pH 6.8 溶出介质: 取 1.56 g 磷酸二氢钠加水溶解并稀释至 1 000 mL, 并用 50% 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8。

结果辛伐他汀在含 0.3% 聚山梨酯 80 的 pH 1.2 溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水中的溶解度分别为 0.14, 0.11, 0.12, 0.13 mg·mL⁻¹; 在

含 0.5% SDS 的 pH 1.2 溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水中的溶解度分别为 0.74, 0.69, 1.03, 0.73 mg·mL⁻¹。

2.2 日本橙皮书溶出曲线试验方法考察

2.2.1 溶出曲线测定方法 采用日本橙皮书收载的辛伐他汀溶出曲线试验条件考察 4 种溶出介质中辛伐他汀片的溶出行为。按“2.1”项下方法配制 4 种溶出介质, 各加入 0.3% 的聚山梨酯 80, 分别于 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min 取样, 其余条件及 HPLC 方法同“2.1”。

2.2.2 溶出曲线相似性评价 采用相似因子法比较国产和原研的溶出曲线相似性, 2 条溶出曲线相似因子(f_2)>50 则认为 2 条曲线相似。在含 0.3% 聚山梨酯 80 的 pH 1.2 溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水 4 种条件下溶出曲线相似因子(f_2)分别为 75.9, 61.5, 73.9 及 80.9, 试验结果表明溶出曲线相似。

2.3 建立有区分力的溶出度检查方法

2.3.1 考察含不同浓度 SDS 溶出介质中的溶出行为 辛伐他汀片执行标准为中国药典 2015 年版二部, 所列溶出度检查方法为浆法: 50 r·min⁻¹, 30 min 取样; 溶出介质: 含 0.5% SDS 的 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(用 50% 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0)溶液 900 mL; HPLC 检测, 限度: 80%。

综合研究结果后设定实验方案如下: 取本品 6 片, 改变 SDS 的浓度(即 0.3%, 0.4%, 0.5%), 取溶出液 1.5 mL, 作为供试品溶液, 同时补液, 其余溶出条件同中国药典 2015 年版二部。另取辛伐他汀对照品, 精密称定, 加乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 醋酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 值至 4.0)(8:2)溶解, 并定量稀释制成每 1 mL 中约含 48 μg 的对照品溶液。取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL, 分别注入色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算每片的溶出量。

色谱条件与系统适用性试验: 取辛伐他汀和洛伐他汀对照品各适量, 加乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 醋酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 值至 4.0)(8:2)溶解并稀释制成每 1 mL 约含 48 μg 的溶液, 取 20 μL 注入色谱仪, 按“2.1”项下方法测定, 辛伐他汀与洛伐他汀的分离度应>3, 理论板数按辛伐他汀峰计算≥2 000。溶出曲线图见图 1。

2.3.2 确立溶出度检查取样时间 含 0.4% SDS 的溶出介质对于国内外辛伐他汀片区分力最大,

30 min 时溶出曲线达到平台期, 故确定取样时间为 30 min。

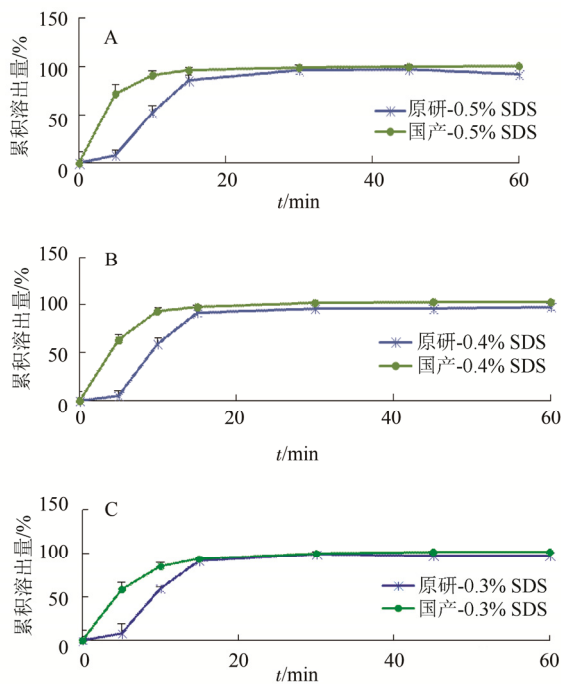


图 1 国内外辛伐他汀片在不同浓度 SDS 溶出介质中的溶出曲线
A-0.5% SDS; B-0.4% SDS; C-0.3% SDS。

Fig. 1 The dissolution curves of simvastatin tablets in dissolution media containing SDS with different concentration
A-0.5% SDS; B-0.4% SDS; C-0.3% SDS.

2.3.3 溶出方法学验证 ①线性关系: 取辛伐他汀对照品适量, 精密称定, 用溶出介质溶解并稀释制成 4.985, 24.92, 49.85, 74.78, 99.70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列浓度溶液, 按“2.1”项下方法测定。以浓度 X 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 结果回归方程为 $Y=59\,437X-69.359$, 相关系数 $R^2=0.999\,9$, 结果表明, 对照品溶液浓度在 4.985~99.7 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

表 1 辛伐他汀片溶出曲线测定结果

Tab. 1 The determination results of the dissolution curves of simvastatin tablets

企业	批号	溶出度/%					
		5 min	10 min	15 min	30 min	45 min	60 min
默沙东	3425200	5.00±1.72	25.11±6.45	61.52±7.07	86.21±1.47	93.15±0.52	95.26±0.67
	3425210	6.67±1.23	31.87±3.00	67.20±1.67	86.80±0.86	92.21±2.04	93.92±2.41
	3425220	7.59±2.24	25.81±7.64	59.14±8.96	84.03±2.05	90.02±2.35	93.01±0.97
国内 A 公司	1506111	38.06±4.92	67.95±4.00	82.51±4.38	92.14±1.19	95.36±2.01	97.38±2.29
	1506121	35.89±1.83	62.99±1.96	78.25±1.92	91.18±0.81	95.06±1.62	95.34±1.53
	A1603191	44.85±2.76	68.55±4.92	84.31±2.77	92.09±2.69	95.60±2.35	97.55±2.16

内与峰面积线性关系良好。②辅料的干扰试验: 按处方比例, 制成不含主药的空白样品, 取适量, 加 pH 7.0 磷酸盐缓冲液(含 0.4% SDS)适量, 超声振荡, 并稀释至规定浓度, 摇匀, 过滤, 取 20 μL 按“2.1”项下色谱条件测定, 辅料基本无干扰。③回收率试验: 按处方比例, 分别精密称取样品标示量的 80%, 100%, 120%的辛伐他汀对照品溶液及相应的空白辅料, 加 pH 7.0 磷酸盐缓冲液(含 0.4% SDS)稀释至规定浓度, 摇匀过滤, 取 20 μL 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果平均回收率为 99.9%, RSD 为 0.15%($n=9$)。

2.3.4 辛伐他汀片溶出曲线测定结果 取国内外辛伐他汀片各 3 批, 每批 12 片, 采用新方法进行溶出度考察, 溶出曲线图见图 2, 测定结果见表 1。 f_2 因子 <50 , 对比中国药典中的方法, 更具有区分力。

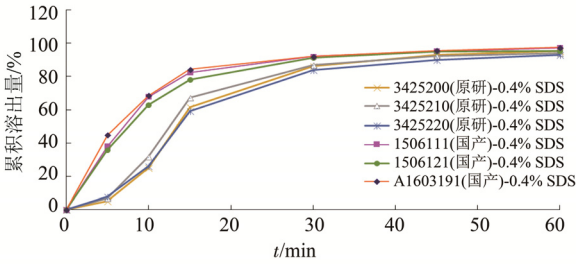


图 2 国内外辛伐他汀片在 0.4% SDS 溶出介质中的溶出曲线图

Fig. 2 The dissolution curves of simvastatin tablets in dissolution media containing 0.4% SDS

3 讨论

3.1 溶出曲线

本方法在 pH 6.8(± 0.1)条件下, 45~60 min 溶出度达到 85%, 且溶出曲线无拐点和突释, 可认为是开发具有区分力溶出曲线的先决条件^[13]。

3.2 建立了具有区分力的溶出度检测方法

运用该方法,原研和国产的溶出曲线在 30 min 时有显著不同。原研药溶出相对较慢,因本品为 BCS II 类药物,国产仿制药溶出过快,可能导致 BE 试验时血药浓度($C_{\max}$)和达峰时间($t_{\max}$)的差异。

3.3 所建立方法的关键

本研究发现了对原研与仿制药有区分力的溶出介质(含 0.4% SDS 的 pH 7.0 磷酸盐缓冲液)。溶出介质中的 SDS 含量是建立辛伐他汀片具有区分力溶出度方法的关键。

3.4 溶出快慢的影响因素

辛伐他汀存在多晶型现象,由于晶型的不同,结合辅料(崩解剂等)及制剂工艺的不同也可能引起药物溶出行为的不同。本研究下一步计划从原料晶型及制剂工艺方面进一步研究,探索引起溶出行为差异的根本原因。

3.5 转速的设置

本法采用浆法和 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的条件,符合一般溶出实验要求。根据实验结果,30 min 时溶出量均 >80%,所以未对转速进行深入研究。

3.6 pH 6.8 和 pH 7.0 的影响

日本橙皮书采用 pH 6.8 的缓冲液,而中国药典采用 pH 7.0 的缓冲液。两者的 pH 之差在 ± 0.2 之间,本研究结果表明两者之间的差别对实验影响不大。

同时,辛伐他汀经口服后对肝脏有高度的选择性。其在肝脏中的浓度明显高于其他非靶性组织。大部分辛伐他汀在肝脏进行广泛的首过吸收。辛伐他汀大鼠肠吸收动力学研究文献报道,辛伐他汀在大鼠肠道内无特定吸收部位,各肠段吸收速率常数按十二指肠、结肠、空肠、回肠顺序依次下降;在 pH 5.0~7.4 内药物吸收不受 pH 值影响。因此溶出介质的 pH 值选择在 6.8~7.0 内测定较为合理。

4 结论

本研究通过考察国产与原研辛伐他汀片体外

溶出曲线的相似性,建立了有区分力的溶出度检查方法。本研究发现溶出介质中 SDS 浓度是建立辛伐他汀片具有区分力溶出度方法的关键,并对溶出参数的设置进行了分析,进一步对溶出度可能产生差异的原因及其结果进行探讨,研究成果对他汀类药物的一致性评价具有参考价值。

REFERENCES

- [1] TODD P A, GOA K L. Simvastatin [J]. Drugs, 1990, 40(4): 583-607.
- [2] FANG D F, WANG X Q, WANG C J, et al. Study on the effect of simvastatin combined with ezetimibe on glycolipid and level of VEGF, IL-1 β , CRP of type 2 diabetes mellitus with atherosclerosis rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(1): 49-52.
- [3] XU Z, LIU Y, LI W F. Effect of simvastatin on Hs-CRP, MMP-9 and TGF- β 1 in patients with coronary heart disease [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(6): 759-762.
- [4] 刘怀周, 单敏, 田富元. HPLC 法测定辛伐他汀片的溶出度 [J]. 西北药学杂志, 2008, 23(2): 99-101.
- [5] CHEN C S, ZHUO K H. Investigation of dissolution rate of simvastatin tablets from 7 pharmaceutical factories [J]. China Pharm(中国药房), 2011, 22(13): 1203-1205.
- [6] WANG F, REN Z Y, ZHOU Y, et al. Studies and comparison on the process monitoring of dissolution of simvastatin tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(3): 506-510.
- [7] XIN Z H, SONG M W, GE Z Q. Study on direct powder compression of simvastatin tablet [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2005, 25(12): 1194-1195.
- [8] 日本厚生省医药安全局. 日本医疗用医药品品质情报集 [EB/OL]. 2010-01-27[2017-06-30]. <http://www.nifdc.org.cn/fzy/CL0845/9089.html>.
- [9] COSTA P. An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing [J]. Int J Pharm, 2001, 220(1-2): 77-83.
- [10] YANG Y, WANG C J, GU Y L, et al. Real-time dissolution of simvastatin tablets manufactured by 3 factories [J]. China Mod Doc(中国现代医师), 2014, 52(14): 82-85.
- [11] 孔彬, 漆新文, 李文军, 等. 采用过程分析方法对不同厂家辛伐他汀片溶出曲线进行一致性评价 [J]. 兵团医学, 2015, 46(4): 48-51.
- [12] 中国药典. 二部[S]. 2015: 521.
- [13] XIE M F. The dissolution curve with distinguishing ability [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2014, 45(7): 687-689.

收稿日期: 2017-06-30

(本文责编: 李艳芳)