

非诺贝特片仿制药与原研药溶出度一致性评价研究

石云峰, 汤亚妮, 付馨慰, 俞雄杰, 陈悦* (浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要: 目的 建立非诺贝特片溶出度曲线测定方法, 评价国内 10 家仿制药产品与原研药品溶出曲线的相似性。方法 用含 $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水溶液 4 种溶出介质, 分别考察非诺贝特片仿制药与原研片的溶出状况, 并通过计算相似因子(f_2)评价溶出曲线的相似性。结果 国内仅 1 家企业产品与原研片在 4 种溶出介质中的溶出曲线均相似, 其余企业产品与原研片相比溶出行为均不一致。结论 该方法适用于非诺贝特片的溶出曲线测定, 可为非诺贝特片质量一致性评价提供参考。

关键词: 非诺贝特片; 溶出曲线; 一致性评价; 制剂工艺

中图分类号: R944.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)02-0148-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.02.004

引用本文: 石云峰, 汤亚妮, 付馨慰, 等. 非诺贝特片仿制药与原研药溶出度一致性评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(2): 148-151.

Study on Consistency Evaluation of the Dissolution of Generic and Original Preparations of Fenofibrate Tablet

SHI Yunfeng, TANG Yani, FU Xinwei, YU Xiongjie, CHEN Yue* (Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a new method for the dissolution curve determination of fenofibrate tablet, and evaluate the comparability of dissolution curve of 10 domestic generic tablets and the original tablet. **METHODS** Four dissolution media including pH 1.0 hydrochloric acid solution, pH 4.0 buffer solution, pH 6.8 buffer solution and water solution containing $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS were used, the dissolution behaviors of generic and original preparations of fenofibrate tablet were detected, and the dissolution curves of consistency were evaluated by calculating the similarity factor(f_2). **RESULTS** The dissolution curve of only one enterprise product in China was similar with the original tablet in the four dissolution media. The dissolution of the rest of the company's products were inconsistent with the original tablet. **CONCLUSION** The new dissolution behavior method is suitable for dissolution curve determination of fenofibrate tablet, can make reference for further quality consistency evaluation.

KEYWORDS: fenofibrate tablet; dissolution curve; consistency evaluation; technology of pharmaceuticals

非诺贝特为第二代苯氧芳酸类药物, 于 1974 年由法国 Laboratoires Fournier SAS(利博福尼)开发, 最早在法国上市, 在临床上得到了广泛应用^[1]。非诺贝特为水难溶性药物, 属于生物药剂学分类 BCS 分类 II 类药物, 其口服固体制剂的溶出度检查项不仅是控制药物体外质量的重要指标, 也是评价药物在体内释放情况的有效手段^[2]。

非诺贝特片已收载于 USP39^[3]、中国药典 2015 年版^[4]和进口注册标准^[5]中, 其溶出度方法在溶出介质的选择、转速的设定、取样时间、限度方面、溶出液测定方法(UV 法、HPLC 法等)均存在较大的差异。本研究采用体内外相关性预测软件 GastroPlus 对现行标准溶出度条件进行了初步分析, 建立了体内外相关性较好的溶出度曲线检查

方法, 对原研制剂及仿制药进行溶出曲线考察, 并采用 f_2 因子进行相似性评价, 为国内非诺贝特片仿制药一致性评价研究工作和处方工艺开发提供参考。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

SNTR-8400AT 全自动溶出仪、LC-20AD 型高效液相色谱仪均来自日本 Shimadzu 公司; CPA 2245 型电子分析天平(Sartorius); Zorbax XDB-C₁₈ 柱(Agilent, 150 mm×4.6 mm, 5 μm)。

1.2 试剂与试药

磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、醋酸钠以及盐酸均为分析纯; 十二烷基硫酸钠(SDS, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20170322, 电泳级, 含

作者简介: 石云峰, 男, 副主任药师 Tel: (0571)86459422
(0571)86459413 E-mail: zidccy@163.com

E-mail: lin-net@163.com

*通信作者: 陈悦, 男, 主任药师 Tel:

量 $\geq 99.0\%$); 溶出介质实验用水: 纯净水(娃哈哈), 均采用脱气装置经 42 ℃脱气 1 h 后立即使用。

非诺贝特对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100733-201502; 含量: 99.9%), 非诺贝特片样品信息见表 1。

表 1 非诺贝特片样品信息

Tab. 1 Fenofibrate sample information

样品批号	规格/mg	生产企业
20170502	100	A
171101	100	B
T17221	100	C
20170906	100	D
1711255	100	E
170609	100	F
20170922	100	G
09170506	100	H
20170306	100	I
170511	100	J
25105	160	法国利博福尼制药公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

流动相为水(用磷酸调节 pH 值至 2.5)-乙腈 (30 : 70); 检测波长为 286 nm, 柱温为 40 ℃, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 进样量为 10 μ L。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取非诺贝特对照品约 200 mg, 置 200 mL 量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备液, 精密量取 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 分别用相应溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液 取每批样品 12 片, 分别在 0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 缓冲液、pH 6.8 缓冲液和水溶液 4 种溶出介质条件下进行试验, 取溶出液用 0.45 μ m 滤膜滤过, 取续滤液即得。

2.3 溶出条件的选择

为优选出体内相关性较好的溶出检查方法, 本研究采用 GastroPlus 软件建立了基于原研药的体内相关性模型, 分别采用国内外药典收载的溶出条件测定原研片, 并进行体内相关性分析, 选择了体内相关性较好(图 1)的溶出度方法进行溶出曲线研究。最终确定的溶出度实验条件为

桨法, 转速为 75 r·min⁻¹; 溶出介质: ①0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液, ②0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 4.0 缓冲液, ③0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 6.8 缓冲液, ④0.025 mol·L⁻¹ SDS 水溶液; 取样时间: 10, 15, 30, 45, 60, 90 min。

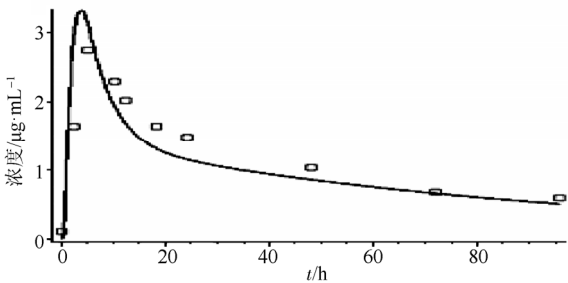


图 1 非诺贝特片体内相关性预测结果

线-预测结果; 点-实测结果。

Fig. 1 Prediction results of fenofibrate tablets *in vivo* and *in vitro*

line-the predicted result; point-the measured results.

2.4 溶出方法学试验^[6]

国内外标准溶出液测定方法有 HPLC 和 UV 2 种, 考虑到 UV 专属性相对较差, 不同企业辅料可能会对测定产生一定影响, 故本次研究选择采用专属性更好的 HPLC 进行方法学研究。

2.4.1 线性关系考察 精密量取“2.2.1”项下对照品储备液适量, 分别用相应溶出介质溶解并稀释制成系列浓度溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 以峰面积(Y)为纵坐标, 浓度(X)为横坐标建立回归方程, 结果非诺贝特在各溶出介质中回归方程及线性范围见表 2。

表 2 回归方程与线性范围

Tab. 2 Regression equations and linear ranges

溶出介质	回归方程	r	线性范围/ μ g·mL ⁻¹
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液	$Y=22\ 882X+4\ 741.8$	0.999 9	10.14~253.63
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 4.0 缓冲液	$Y=23\ 254X+300.0$	0.999 9	
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 6.8 缓冲液	$Y=22\ 966X+18\ 159$	0.999 9	
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 水溶液	$Y=23\ 247X+202.2$	0.999 8	

2.4.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下 4 种介质中 90 min 时的供试品溶液适量, 分别于室温下放置 0, 2, 4, 8, 16 h 后, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果显示非诺贝特峰面积基本无变化, 4 种溶出介质中非诺贝特峰面积的 RSD 分别为 0.66%,

0.49%, 0.28%和 0.55%, 供试品在 4 种介质中室温放置 16 h, 稳定性较好。

2.4.3 回收率试验 选取占国内市场份额较大的 A 企业样品进行研究, 按企业处方比例配制空白辅料, 称取 9 份相当于 1 片的量, 置 1 000 mL 量瓶中, 分别精密加入非诺贝特对照品 60, 80, 100 mg 各 3 份, 加入相应溶出介质溶解, 过滤, 取续滤液照“2.1”项下色谱条件测定, 结果见表 3, 表明方法回收率良好。

表 3 回收率试验结果($n=9$)

Tab. 3 Results of recovery tests($n=9$)

溶出介质	平均回收率/%	RSD/%
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液	98.66	0.67
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 4.0 缓冲液	98.15	0.96
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的 pH 6.8 缓冲液	99.09	0.55
0.025 mol·L ⁻¹ SDS 的水溶液	100.98	0.79

2.4.4 辅料干扰试验 取 A 企业空白辅料约 1 片量, 分别加 4 种溶出介质 1 000 mL, 超声振荡, 过滤, 取续滤液并照“2.1”项下色谱条件测定, 在主峰出峰位置无干扰峰。

2.4.5 滤膜吸附性 取“2.2.2”项下 90 min 取样点溶出液经离心和滤膜分别过滤 2, 4, 8 mL 后进行测定, 结果离心后非诺贝特峰面积与过滤后峰面积基本一致, 滤膜对非诺贝特基本无吸附。

2.4.6 管路吸附性 在溶出曲线最后一个取样点分别进行手动取样和仪器自动取样并进行测定, 结果 2 种溶出液测得的非诺贝特峰面积基本一致, 表明溶出仪管路对非诺贝特基本无吸附。

2.4.7 各品牌 SDS 对溶出曲线测定的影响 取 4 家国内外生产的 SDS 进行试验, 品牌 1(含量 $\geq 99.0\%$)、品牌 2(含量 $\geq 95\%$)、品牌 3(含量 $\geq 86\%$)和品牌 4(含量 $\geq 99\%$)配制 0.025 mol·L⁻¹ SDS 的水溶液, 对同一批样品进行溶出曲线测定, 结果不同品牌 SDS 对本品的溶出有一定影响, 其中含量较低的品牌 3 溶出最快, 结果见图 2。

2.4.8 溶出曲线测定 取 10 家生产企业样品和原研片(样品信息见表 1), 测定其在 4 种溶出介质中的溶出曲线, 结果见图 3。

2.4.9 相似因子 f_2 采用相似因子 f_2 法评价仿制药与原研片体外溶出曲线相似性, 以考察国内各企业产品与原研制剂溶出行为差异, 结果见表 4。

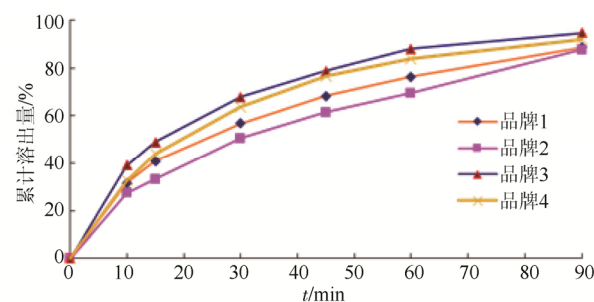


图 2 不同品牌 SDS 对溶出曲线的影响

Fig. 2 Effect of different brands of SDS on dissolution curve

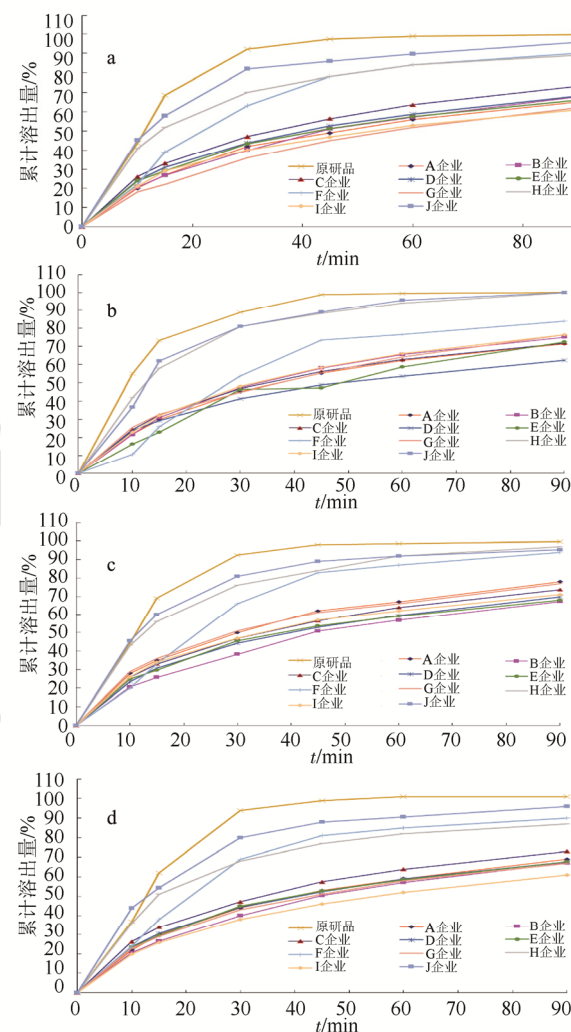


图 3 原研片和仿制药非诺贝特片在 4 种溶出介质中的溶出曲线图

a-0.025 mol·L⁻¹ SDS 水溶液; b-0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 1.0 盐酸溶液; c-0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 4.0 溶液; d-0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 6.8 溶液。

Fig. 3 Dissolution curve of generic and original fenofibrate tablets in four dissolution media

a-0.025 mol·L⁻¹ SDS aqueous solution; b-hydrochloric acid solution (pH 1.0) for 0.025 mol·L⁻¹ SDS; c-acetate buffer (pH 4.0) for 0.025 mol·L⁻¹ SDS; d-phosphate buffer (pH 6.8) for 0.025 mol·L⁻¹ SDS.

结果显示,国内仅 1 家企业(J 企业)产品 4 条溶出曲线与原研品相似。1 家企业(H 企业)产品在 0.025 mol·L⁻¹ SDS 水溶液和 0.025 mol·L⁻¹ SDS 的 pH 6.8 溶液与原研品相似,其余 8 家企业产品与原研品在 4 种溶出介质中均不相似。结果见表 4。

表 4 f_2 因子结果统计表

Tab. 4 f_2 factor results statistics table

生产 企业	批号	0.025 mol·L ⁻¹ SDS 溶液			
		水溶液	pH 1.0	pH 4.0 缓冲液	pH 6.8 缓冲液
A	20170502	27	27	30	32
B	171101	28	27	28	26
C	T17221	28	31	32	30
D	20170906	27	29	30	28
E	1711255	25	29	30	29
F	170609	26	36	41	34
G	20170922	28	25	30	32
H	09170506	51	47	47	53
I	20170306	28	27	28	30
J	170511	51	53	53	51

3 讨论

不同品牌的 SDS 对本品种的溶出会产生一定影响,试验结果表明采用纯度较低的品牌 3 溶出效果反而最好。经过对 SDS 的进一步试验,发现品牌 3 虽然纯度不高,但产品中除去十二烷基外还混有其他长链烷基,提高了非诺贝特溶解度,从而导致非诺贝特溶出最好。

溶出曲线研究结果表明,国内 10 家企业,仅 1 家企业产品与原研品溶出曲线相似,国内企业产品溶出均较原研品慢,部分企业产品 90 min 溶出量仅 50%,而原研品在 30 min 时已基本达到溶出平台,结合非诺贝特本身理化性质等因素,并结合企业生产工艺,提示部分国内企业产品生产工艺与原研品可能存在差异,国内仿制药产品内在品质与原研片之间尚存在一定差距,建议国内生产企业在药品质量一致性评价研究过程中应对原研品进行全面剖析,从而达到与原研品质量和疗效一致的目的。

非诺贝特片已收载于中国药典 2015 年版中,其溶出度检查条件为桨法;转速为 100 r·min⁻¹;溶出介质为 1.0% SDS; 60 min 取样;限度为标示量

的 60%。溶出度条件、限度等设置不合理,同时研究中发现按中国药典标准进行检验,非诺贝特溶出液稳定性较差(2 h 内吸光度下降约 60%),检测速度的快慢对测定结果有较大影响。现有国家标准已不满足控制本品质量安全有效的需要,应尽快对标准进行修订完善。

近年来,血脂异常及其并发症的发病率迅速增高,非诺贝特调脂疗效确切,市场销售额逐年增加,为抢占不断扩大的降血脂药市场,国外各大药企采用微粉化技术^[7]、纳米结晶技术^[8-10]、固体分散体技术^[11]、自乳化技术^[11-12]等研发出具有更高生物利用度的非诺贝特制剂产品。与国外制药企业相比,我国制药企业非诺贝特制剂产品开发滞后,市场占有率低,只有开展新的研究和尝试,研制出更加高效、低毒的产品及其复方制剂,才能改变目前国内非诺贝特的市场格局。

REFERENCES

- [1] YU J X, YANG C X, WANG M L, et al. Relative bioavailability of fenofibrate capsules in healthy volunteers [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2008, 43(15): 1177-1180.
- [2] ZHANG Q M, XIE M F, NING B M, et al. Evaluation of solidoral products by dissolution profiles in different mediums [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2009, 40(12): 946-950.
- [3] USP(39) [S]. 39: 3969-3971.
- [4] 中国药典. 二部[S]. 2015: 642-643.
- [5] JX20110278, 非诺贝特片进口注册标准[S].
- [6] SHAO P, JING Y, CHEN S, et al. 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.
- [7] CURTET B, TEILLAUD E, REGINAULT P. Novel dosage form of fenofibrate: US, 4895726 [P]. 1990-01-23.
- [8] SHEGOKAR R, MULLER R H. Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives [J]. Int J Pharm, 2010, 399(1/2): 129-139.
- [9] LI X M, GU L, WANG Y L, et al. Preparation of fenofibrate nanosuspension by melt-emulsification [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2009, 40(5): 349-354.
- [10] 车尔玺, 姜同英, 王思玲. 纳米晶体技术在水难溶性药物口服制剂中应用的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(12): 933, 1004-1008.
- [11] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [12] PATEL A R, VAVIA P R. Preparation and *in vivo* evaluation of SMEDDS(self-microemulsifying drug delivery system) containing fenofibrate [J]. AAPS J, 2007, 9(3): E344-E352.

收稿日期: 2018-05-04

(本文责编: 李艳芳)