

自制与原研头孢克肟胶囊在4种介质中的体外溶出度比较

李小莉*, 张晓伟, 周 园, 解 斌*(成都倍特药业有限公司, 成都 610041)

中图分类号 R917;R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0999-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.41

摘要 目的:评价自制与原研头孢克肟胶囊体外溶出行为的相似性。方法:依据2010年版《中国药典》(二部)和日本《医疗用药品品质情报集》(橙皮书)中的溶出度试验条件,采用高效液相色谱法测定;分别以水、pH 1.2 盐酸溶液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液(PBS)、pH 7.5 PBS为溶出介质,采用桨法(加沉降篮),转速为50 r/min进行溶出度测定;通过相似因子 f_2 法评价2种产品溶出曲线的相似性。结果:自制胶囊在4种介质中溶出曲线 f_2 值均大于50。结论:2种产品的体外溶出曲线相似,提示自制头孢克肟胶囊处方合理、质量稳定可靠。

关键词 头孢克肟胶囊;体外溶出度;高效液相色谱法;相似因子 f_2 法

Comparison of *in vitro* Dissolution Rate between Self-made and Original Cefixime Capsules in 4 Kinds of Medium

LI Xiao-li, ZHANG Xiao-wei, ZHOU Yuan, XIE Bin (Chengdu Beite Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the similarity of *in vitro* dissolution rate between self-made and original Cefixime capsules. METHODS: According to the conditions of dissolution rate test stated in the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia* (the second part) and Japanese *Medical Drugs Quality Information Set* (orange book), HPLC method was adopted. Using water, pH 1.2 hydrochloric acid, pH 6.8 phosphate buffer solution (PBS) and pH 7.5 PBS as dissolution medium, paddle method (plus rotating basket method) was adopted to determine the dissolution rate with the rotational speed of 50 r/min. The similarity of dissolution curves of 2 products was evaluated by similarity factor f_2 method. RESULTS: The f_2 value of self-made capsules was above 50 in 4 kinds of medium. CONCLUSIONS: The *in vitro* dissolution curves of 2 kinds of capsules are similar, which suggests that self-made Cefixime capsules are rational in formulation and stable and reliable in quality.

KEYWORDS Cefixime capsules; *in vitro* dissolution rate; HPLC; Similarity factor f_2 method

头孢克肟属于第三代头孢菌素类药物,在机体内通过抑制细菌细胞壁的合成而发挥杀菌作用^[1]。头孢克肟胶囊最初由日本藤泽药品工业株式会社研制成功,该药品对多数细菌的 β -内酰胺酶稳定,并能在体内维持持久的杀菌浓度,具有广谱、高效、口服效果良好等特点。其在临床主要用于治疗敏感菌所致的肺炎、支气管炎、泌尿道炎、中耳炎、胆囊炎等^[2-3]。

溶出度是评价普通口服固体制剂质量的重要指标之一^[4]。科学、有效的体外溶出度试验是保证其体内生物利用度的前

提,其中溶出曲线的测定可全面、准确地反映制剂的内在质量,因此药品生产企业常以溶出度评价指标作为药品制剂工艺及质量控制的重要依据^[5-6]。本试验选用自制与原研头孢克肟胶囊进行4种介质的溶出曲线比较,采用相似因子 f_2 法对其进行相似性评价,以期为临床用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器

D-800L 智能药物溶出仪(天津大学无线电厂);SSI1500 高

- 32(7):1 200.
- [6] 辛继业,朱样根,危雪晖,等.马来酸噻吗洛尔滴眼液中羟苯乙酯含量测定方法研究[J].中国执业药师,2011,8(11):33.
- [7] 马康生,李汶,陈之敏.氯霉素滴眼液中羟苯乙酯和硫柳汞含量的测定[J].中国药事,2009,23(3):239.
- [8] 安彦,唐素芳.地塞米松磷酸钠滴眼液中两种抑菌剂的分析[J].中国药业,2011,20(9):14.
- [9] 李翔,许威. HPLC法测定加替沙星滴眼液中抑菌剂羟苯乙酯的含量[J].安徽医药,2011,15(7):832.
- [10] 夏源,吴义香. HPLC法测定氟康唑滴眼液中苯扎溴铵的含量[J].安徽医药,2010,14(5):539.
- [11] 刘利群,白政忠,姜连阁,等. HPLC法测定复方牛磺酸滴眼液中苯扎溴铵的含量[J].黑龙江医药,2011,24(2):168.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:365、723、825、870、1 003、1 031.

* 助理工程师。研究方向:新药质量标准。E-mail: lili_hn@126.com

通信作者:高级工程师,硕士。研究方向:新药研究。电话:028-85910822。E-mail: 1146426977@qq.com

(收稿日期:2014-05-29 修回日期:2014-07-21)

(编辑:刘 萍)

效液相色谱(HPLC)仪(美国奥泰公司);TU-1800SPC紫外分光光度计(北京普析通用仪器公司);CPA225D电子天平(德国Sartorius公司),以上仪器均由成都市计量监督检定测试院于2013年12月通过计量。

1.2 药品与试剂

自制头孢克肟胶囊(商品名:特普宁,成都倍特药业有限公司,批号:130707,规格:每粒0.1g);原研头孢克肟胶囊(商品名:cefspan,中文商品名:世福素,日本长生堂制药株式会社,批号:XK201,规格:每粒0.1g);头孢克肟标准品(批号:130503-201205,纯度:89.2%);水杨酸标准品(批号:100106-201104,纯度:99.9%);水杨酸溶出标准片(批号:100103-200610,规格:每片300mg)均来源于中国食品药品检定研究院;试验用分析纯试剂购自成都市科龙化工试剂厂。

2 方法与结果

2.1 溶出仪(浆法)校正

依据2010年版《中国药典》(二部)附录XC调试药物溶出仪^[7]。参照水杨酸溶出度校正片说明书,制备溶出介质磷酸盐缓冲液(PBS,pH=7.4),浆法参数:超声脱气溶出介质900ml,温度为37℃,转速为100r/min,取样时间为30min。采用紫外分光光度计在296nm波长处分别测定2份不同质量浓度水杨酸标准溶液、5份水杨酸标准梯度溶液和6份水杨酸标准片溶出液的吸光度。

以水杨酸质量浓度为横坐标(x ,mg/ml)、吸光度为纵坐标(y),求得标准梯度溶液的线性回归方程为 $y=24.656x+0.0052$ ($R^2=0.9999$);2份标准溶液的响应因子比值为1.007。经计算,6片标准片溶出量在26.93%~29.79%(RSD=3.87%, $n=6$),符合试验要求^[9]。

2.2 溶出方法与测定方法^[9]

溶出方法:浆法(加沉降篮),转速为50r/min,分别以水、pH 1.2盐酸溶液、pH 6.8 PBS、pH 7.5 PBS作为溶出介质,温度为37℃,取样时间点分别为5、10、15、30、45、60、90、120min(pH 1.2、pH 7.5介质)和5、10、15、30、45、60、90、120、180、240、300、360min(水、pH 6.8介质)。取续滤液用0.45 μ m滤膜过滤,并向溶出杯中及时补加与取样量相同体积的等温溶出介质。将续滤液用溶出介质稀释1倍后作为待测样品溶液。自制与原研2种制剂每种溶出介质各平行取样12粒测定。

溶出度测定色谱条件:色谱柱为Waters C₁₈(150mm \times 4.6mm,5 μ m);流动相为2.5%四丁基氢氧化铵溶液(用10%磷酸调pH至6.5)-乙腈(3:1,V/V);柱温为40℃;检测器选用紫外检测器,检测波长为254nm;进样体积为20 μ l;调整流速使头孢克肟色谱峰保留时间约为10min。

2.3 标准溶液制备

取头孢克肟标准品适量,精密称定,用pH 7.0 PBS溶解并制成质量浓度为0.28mg/ml的溶液作为标准贮备液,备用。分别取标准贮备液适量,用不同溶出介质稀释成每1ml中含头孢克肟56.00 μ g的溶液作为标准溶液,备用。

2.4 溶出度测定方法学验证

依据“2.2”项下溶出度检测方法进行相关方法学验证。

2.4.1 专属性试验 取标准溶液适量,在190~400nm波长范

围内进行紫外光谱扫描,图谱显示头孢克肟在4种溶出介质下254nm波长处均有最大吸收;另取空白胶囊用不同介质分别制备成溶液,经紫外光谱扫描,结果各介质空白溶液在254nm波长处无紫外吸收。按色谱条件进样标准溶液6次、供试品溶液(自制产品,在120min取样点)1次、空白溶液1次。经计算,4种介质中标准溶液峰面积的RSD \leq 0.69%,理论板数 \geq 7236,拖尾因子 \leq 1.24,供试品中头孢克肟的出峰时间与标准溶液一致,空白溶液在相应位置未出峰,结果见图1(pH 7.5 PBS介质中)。表明该方法可用于头孢克肟的定量测定,同时处方辅料对主成分检测无干扰。

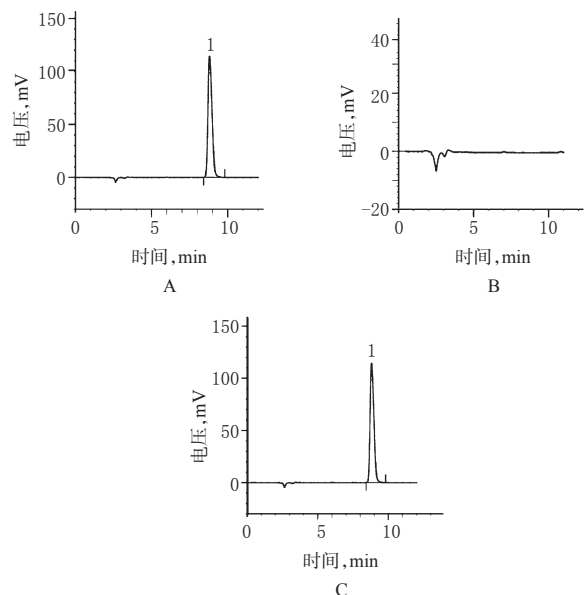


图1 高效液相色谱图

A. 标准品;B. 空白辅料;C. 供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. blank excipients; C. test sample; 1. cefixime

2.4.2 线性关系考察 精密量取标准贮备液适量,用各溶出介质制成质量浓度分别约为0.5、5.0、20.0、40.0、80.0 μ g/ml的标准梯度溶液,依次进样,记录色谱图。以头孢克肟的峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行线性回归。结果显示,水、pH 1.2盐酸溶液、pH 6.8 PBS、pH 7.5 PBS 4种介质的线性回归方程和相关系数(r)分别为 $y=35696x+23247$ ($r=0.9996$)、 $y=35707x+26723$ ($r=0.9994$)、 $y=36040x+11048$ ($r=0.9996$)、 $y=35939x+20179$ ($r=0.9997$),表明不同介质中头孢克肟的检测质量浓度线性范围均为0.5~80.0 μ g/ml。

2.4.3 精密度试验 取适量各介质标准溶液,依次进样并记录色谱图,每种介质标准溶液平行测定6次。结果显示,各介质标准溶液峰面积的RSD分别为0.07%(水)、0.12%(pH 1.2盐酸溶液)、0.09%(pH 6.8 PBS)、0.05%(pH 7.5 PBS),表明精密度良好。

2.4.4 回收率试验 取适量标准贮备液,用不同介质分别制备成相当于标准溶液浓度80%、100%、120%的梯度溶液,分别加入处方比例辅料,每种介质各浓度平行制备3份作为供试液。取供试液和标准溶液分别进样,记录各峰面积。结果显示,在水、pH 1.2盐酸溶液、pH 6.8 PBS、pH 7.5 PBS 4种介质中

的平均回收率($n=9$)分别为99.21%、99.24%、99.15%、99.36%,RSD分别为0.58%、0.49%、0.62%、0.41%,表明本方法准确度高。

2.4.5 溶液稳定性试验 取各溶出介质的溶出终点样品溶液,棕色瓶室温放置,分别于0、1、4、8、12、24 h进样,记录色谱图。结果显示,4份样品溶液峰面积($n=6$)的RSD $\leq 1.3\%$,表明24 h内头孢克肟在各溶出介质中稳定性良好。

2.5 样品溶出度测定

依据“2.2”项下方法,取自制产品、原研产品各取样时间点溶出样品溶液及标准溶液,分别测定4种介质条件下样品溶液中头孢克肟的含量,计算溶出量。每个时间点的溶出量由于补加了空白的溶出介质而均已经过校正,溶出曲线见图2。

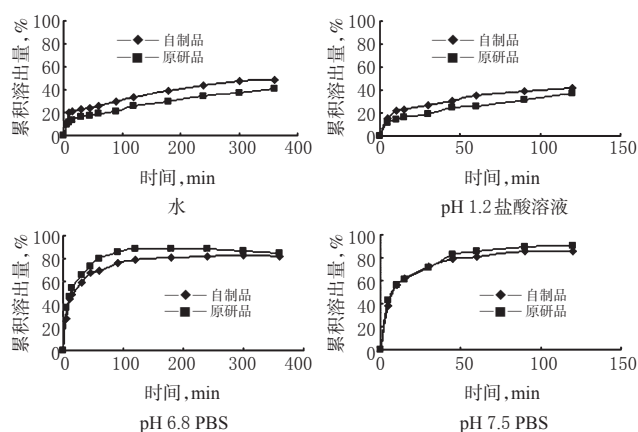


图2 2种样品在4种介质中的溶出曲线

Fig 2 Dissolution curves of 2 products in 4 kinds of mediums

2.6 溶出曲线相似性评价

采用相似因子 f_2 法,遵照取点原则,对各溶出曲线进行评价。该方法的基本假设是受试制剂与参比制剂累积溶出量差的平方和最小,当 f_2 在50~100之间时表明二者溶出度相似, f_2 值与相似度呈正相关^[10-11]。相似因子 f_2 的计算公式为: $f_2=50 \times \lg\{[1+(1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0.5} \times 100\}$ (其中 R_t 和 T_t 分别表示不同取样时间点原研制剂与自制制剂的平均溶出量, n 为取样时间点个数)。

经计算,自制与原研产品在水、pH 1.2盐酸溶液、pH 6.8 PBS、pH 7.5 PBS 4种介质中溶出曲线的 f_2 值分别为59.8、61.4、69.5、77.3(均大于50),提示2种产品在不同溶出介质中均具有较高的相似性。

3 讨论

3.1 溶出度方法的选择

药物有效成分在机体内的释放和吸收部位主要是胃肠道,胃酸和肠液的量及pH各有不同,因此,溶出度试验方法若设计得当,则可有效建立起体外与体内溶出的相关性。本研究以4种溶出介质、低转速的桨法来模拟药物有效成分在人体内不同环境和器官蠕动下的释放情况。溶出度数据显示,头孢克肟在pH 6.8、pH 7.5的PBS中具有超过80%的溶出度,而在水和pH 1.2盐酸溶液中的溶出度相对较低,提示头孢克肟的主要释放和吸收部位在小肠和十二指肠,因此对胃酸偏少和胃功能较弱的患者同样有效。

3.2 溶出度测定的方法学考察

同一药物在不同pH环境下的稳定性可能存在差异。本研究对拟采用的4种介质下样品溶液稳定性进行了相应考察,前期试验表明头孢克肟在4种介质中24 h内无明显降解,保证了HPLC法测定结果的可靠性。

头孢克肟原料中可能存在多种与主药具有相同紫外吸收强度的杂质,通过紫外分光光度法测定溶出度准确性不高。因此,在本试验中采用HPLC法,并通过调节流速使头孢克肟色谱峰与2个相邻已知杂质色谱峰实现完全分离,为溶出度数据的准确性提供了前提。

3.3 溶出度对比试验的思考

“仿制药不如原研药”的思想是业内人士和患者的普遍感受,其中体外溶出曲线的不一致性是重要因素之一。本试验以原研制剂作为参比,在4种介质中完成了自制与原研头孢克肟胶囊的溶出曲线测试,同时选用由美国FDA颁布并推荐使用的 f_2 法对2种产品体外溶出度进行了相似性评价^[12]。由结果可知,2种产品在4种介质中的溶出曲线均有较高相似度,尤其在pH 6.8、pH 7.5这2种PBS中的溶出度和相似性更高。本试验对患者的用药选择,特别是在有效性和经济性方面具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] 蔡德山,谢新明.谈头孢抗菌素类抗生素基础药物市场[J].经济与市场,2009,3(11):7.
- [2] 张明发,季珉.国内对头孢克肟的临床研究与评价[J].抗感染药学,2010,7(1):86.
- [3] 陈伟鸿,宿央央,程怡,等. f_2 因子法评价头孢克肟颗粒溶出曲线相似性[J].中国抗生素杂志,2011,36(9):359.
- [4] 李丽,周振旗.影响药物制剂溶出度实验的因素[J].西北药学杂志,2010,25(6):479.
- [5] 姜雄平,魏立平.一种新的溶出曲线比较方案[J].药物分析杂志,2010,30(6):1 026.
- [6] 刘春平,陈耀娣,王超,等.国产马来酸依那普利制剂与进口片剂体外溶出度比较[J].中国药房,2013,24(21):1 991.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录85-87.
- [8] 宁保明,何兰,张启明,等.国内外溶出度试验用标准片的研究及应用[J].药物分析杂志,2012,32(8):1 509.
- [9] 日本厚生省医药安全局.医疗用医药品品质情报集[S].2010年版.东京:药事日报社,2010:121-122.
- [10] 裘国丽,黄华,王也.不同厂家阿莫西林胶囊实时溶出度的比较[J].中国医院药学杂志,2010,30(23):2 041.
- [11] 蒋晨,张先华,徐霞,等.硫酸氢氯吡格雷片剂的体外溶出度测定[J].华西医学杂志,2010,25(5):580.
- [12] 谢沐风.溶出曲线相似性的评价方法[J].中国医药工业杂志,2009,40(4):308.

(收稿日期:2014-05-06 修回日期:2014-06-09)

(编辑:刘 萍)