

国产马来酸依那普利制剂与进口片剂体外溶出度比较

刘春平^{1,2*}, 陈耀娣¹, 王超¹, 全向阳¹, 向飞军^{1,2} (1. 广东康美药物研究院有限公司, 广州 510006; 2. 康美药业股份有限公司, 广东普宁 515300)

中图分类号 R927.11; R972*.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1991-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.25

摘要 目的: 考察国内3个厂家马来酸依那普利制剂(胶囊、片剂)与进口片剂(商品名: 悦宁定)的体外溶出度, 比较其体外溶出行为。方法: 采用高效液相色谱法分别在水、pH 1.2的盐酸溶液、pH 4.0的醋酸盐缓冲液及pH 6.8的磷酸盐缓冲液4种介质及低转速(50 r/min)条件下测定样品累积溶出度, 并评价溶出曲线的相似性。结果: 国内3个厂家样品与进口样品在4种介质及低转速条件下15 min累积溶出度均达到85%以上, 但5、10 min时国内2个胶囊样品溶出度明显低于国内片剂。结论: 国内3个厂家马来酸依那普利制剂与进口片剂体外释放具有相似性, 但不同厂家样品在15 min内的释放行为有差异。

关键词 马来酸依那普利; 胶囊; 片剂; 溶出度; 溶出介质; 比较

Comparison of *in vitro* Dissolution of Domestic Enalapril Maleate Preparations and Imported Tablets

LIU Chun-ping^{1,2}, CHEN Yao-di¹, WANG Chao¹, QUAN Xiang-yang¹, XIANG Fei-jun^{1,2} (1. Guangdong Kangmei Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangzhou 510006, China; 2. Kangmei Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Puning 515300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the *in vitro* dissolutions of domestic Enalapril maleate preparations from 3 factories (capsule, tablet) and imported tablets (Renitec®), so as to compare their *in vitro* release behaviors. METHODS: HPLC method was adopted for the determination of accumulative dissolution rate of samples in water, pH 1.2 hydrochloric acid solution, pH 4.0 acetate buffer and pH 6.8 phosphate buffer and at low rotating rate (50 r/min). The similarity of dissolution curves was determined. RESULTS: The accumulative dissolution rate of Enalapril maleate preparations from 3 domestic factories and Renitec® in 4 media and at low rotating speed reached more than 85% within 15 min. The dissolution of 2 capsule samples from domestic factories were significantly lower than the tablet from domestic factories at 5 and 10 min. CONCLUSIONS: Enalapril maleate preparations from 3 domestic factories and imported tablets show similarity in aspect of *in vitro* release, but there is still difference in the release behaviors of the samples from different factories within 15 min.

KEY WORDS Enalapril maleate; Capsule; Tablet; Dissolution; Dissolution medium; Comparison

马来酸依那普利(Enalapril maleate, EM)为第2代血管紧张素转换酶抑制剂, 由默克公司研制成功, 1985年美国FDA批准其片剂(商品名: 悦宁定)上市^[1], 临床常被推荐为治疗高血压病的一线药物^[2], 我国于2000年由默克公司进口。在多种pH溶出介质中溶出曲线的比较是先进国家药物审评机构评价口服固体制剂内在质量的一种重要手段^[3], 也是仿制药一致性评价的重要内容之一。目前国内文献未查阅到本品在多种介质中溶出度对比研究的报道。因此, 笔者参考有关文献^[3-6]及《中国药典》^[7]溶出度检查方法, 对国产3个厂家EM制剂与悦宁定进行在4种介质中和不同转速下的体外溶出行为比较, 为EM口服固体制剂的研发及临床应用提供基础。

1 材料

AT 7smart off-line自动溶出系统(瑞士Sotax公司); 1100型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司); XP6型和AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

EM对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100705-200902, 纯度: 99.8%); EM胶囊(A厂, 康美药业股份有限公司试制, 批号: 120316, 规格: 每粒5 mg; B厂, 批号:

1006604, 规格: 每粒5 mg); EM片(C厂, 批号: 120402, 规格: 每片5 mg; D厂, 商品名: 悦宁定, 默沙东制药有限公司, 批号: R3409, 规格: 每片5 mg); 乙腈为色谱纯, 浓盐酸、醋酸、醋酸钠、氯化钠、磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钠均为分析纯, 试验用水为去离子纯净水。

2 方法与结果

2.1 pH 1.2、pH 4.0及pH 6.8溶液配制方法^[8]

pH 1.2的盐酸溶液: 取氯化钠2.0 g, 加水适量溶解后, 加盐酸7 ml, 再加水稀释至1 000 ml, 摇匀, 即得。

pH 4.0的醋酸盐缓冲液: 将0.05 mol/L醋酸溶液与0.05 mol/L醋酸钠溶液按16.4:3.6体积比混合, 摇匀, 即得。

pH 6.8的磷酸盐缓冲液: 取磷酸二氢钾1.7 g和无水磷酸氢二钠1.775 g, 加水溶解并定容至1 000 ml, 摇匀, 即得。

2.2 含量测定方法学验证

2.2.1 色谱条件。色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 2.2)-乙腈(75:25), 流速: 1.5 ml/min; 检测波长: 215 nm; 进样量: 20 μl; 柱温: 50 ℃。

2.2.2 系统适用性与专属性试验。取EM对照品, 加水溶解并稀释成每1 ml中含10 μg的溶液, 作为对照品溶液; 取A厂

* 工程师。研究方向: 药物制剂开发。电话: 020-39389796。E-mail: webmaster669@126.com

胶囊1粒,置于溶出杯中,用篮法以水500 ml为介质,温度(37±0.5)℃,转速100 r/min,经30 min时取溶液滤过,作为溶出样品溶液;取1粒囊壳,同法制得空胶囊溶液;另精密称取1粒处方量的辅料,加入500 ml水,振摇,滤过,制成空白辅料溶液。分别取上述各溶液及溶剂(水),按“2.2.1”项下的色谱条件进样,记录色谱峰,详见图1。

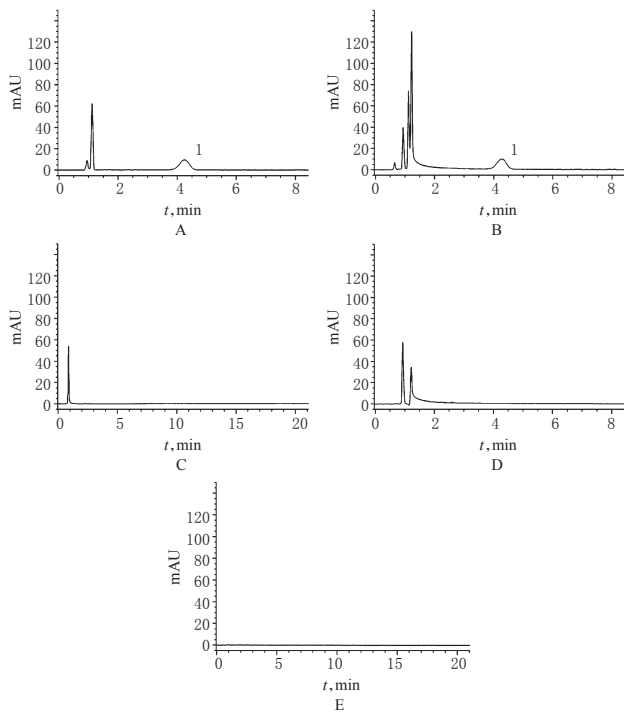


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.样品;C.空白辅料;D.空胶囊;E.溶剂;1.依那普利

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; C. blank excipient; D. blank capsule; E. solvent; 1. enalapril

由图1结果可知,依那普利峰保留时间为4.23 min,且与其他杂质峰分离良好,各空白溶液不干扰主药测定。

2.2.3 线性关系考察。精密称取EM对照品约8 mg,置于10 ml量瓶中,加水溶解,定容,摇匀,制成对照品贮备液。精密量取贮备液适量,加水制成质量浓度分别为1.6、4、8、16、40、80 μg/ml的系列溶液,进样,记录峰面积,计算。以对照品质量浓度(c)为横坐标、相应峰面积(y)为纵坐标进行线性分析,得回归方程为 $y=23.60c+5.345(r=0.9999)$ 。结果表明,EM检测质量浓度线性范围为1.6~80 μg/ml。

2.2.4 回收率试验。根据A厂胶囊处方,按处方量的50%、100%、150%精密称取EM对照品,辅料按处方量100%称取,每个水平各3份,分别置于500 ml量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液;按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液,分别进样测定。结果,平均回收率为99.9%,RSD为1.4%(n=9)。

2.2.5 精密度试验。按“2.2.2”项下方法制备溶出样品溶液,连续进样6次。结果峰面积RSD为0.6%,表明精密度良好。

2.2.6 稳定性试验。分别以水、pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8溶液为介质,按“2.2.2”项下方法制备相应介质的溶出样品溶液,于室温下放置0、2、4、8、12 h,按时依法进样,记录峰面积。结果RSD分别为0.7%、0.7%、0.9%、1.0%,说明样品在4种介质溶

液中12 h内均具有良好的稳定性。

2.2.7 耐用性试验。按“2.2.2”项下方法制备溶出样品溶液,设置柱温分别为45、50、55℃,其他色谱条件不变,进样,记录峰面积;同法考察流动相比例改变(磷酸二氢钾溶液与乙腈体积比分别为67.5:32.5、75:25、82.5:17.5)的峰面积情况。结果测得6组峰面积RSD均为0.9%,表明该测定方法耐用性良好。

2.3 溶出度测定

2.3.1 标准介质下溶出曲线对比。(1)取4个厂家样品各12粒(或片),采用篮法,以500 ml水为介质,温度(37±0.5)℃,转速100 r/min,在5、10、15、30、45 min分别取样,滤过,作为供试品溶液;按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液。分别进样,记录峰面积,计算各取样时间点的样品累积溶出度,结果见表1及图2A。

表1 4个厂家样品在4种介质中的累积溶出度测定结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 1 Accumulative dissolution rate of samples from 4 factories in 4 mediums($\bar{x} \pm s, n=12$)

介质条件(方法)	厂家	累积溶出度, %				
		5 min	10 min	15 min	30 min	45 min
水(篮法)	A	78.6±5.0	95.3±3.2	97.4±1.5	98.5±1.3	99.0±0.8
	B	0	38.6±9.0	89.3±18.5	98.0±3.4	100.1±2.2
	C	47.0±12.8	92.3±3.1	99.2±2.8	99.5±2.5	99.7±1.7
	D	69.3±10.0	97.5±2.5	98.8±2.9	99.9±1.3	100.4±1.0
(浆法)	A	75.5±6.1	95.6±3.5	96.0±2.4	98.6±2.2	98.8±0.9
	D	70.3±9.4	96.1±2.1	97.6±1.8	99.9±2.5	101.4±1.2
[低转速(50 r/min)]	A	65.5±6.3	90.8±3.0	92.6±2.5	95.8±1.9	97.1±1.1
	B	0	32.0±12.1	86.9±16.6	97.5±2.7	99.9±2.0
	C	42.9±11.1	87.7±3.3	95.6±2.1	98.6±2.4	99.9±1.0
	D	58.5±9.2	92.4±2.1	94.5±3.1	96.5±2.9	100.4±0.8
pH 1.2的盐酸溶液	A	85.4±5.6	97.4±2.6	97.7±3.0	97.9±1.8	97.9±1.0
	B	0	40.6±9.0	92.5±12.3	98.6±2.2	100.3±1.8
	C	48.2±7.8	90.4±5.4	99.3±1.8	99.8±2.2	99.9±1.1
	D	78.9±10.3	99.9±2.5	100.9±2.3	100.4±1.7	100.2±1.1
pH 4.0的醋酸盐缓冲液	A	69.5±4.5	94.1±3.2	95.8±3.0	97.5±1.5	98.0±0.9
	B	0	37.6±7.7	88.9±15.8	98.0±2.7	99.8±1.5
	C	43.9±13.0	89.6±3.8	100.2±2.3	99.8±1.7	99.9±1.5
	D	74.2±9.3	98.3±3.1	101.8±2.8	101.7±1.9	101.7±0.5
pH 6.8的磷酸盐缓冲液	A	75.1±4.2	97.5±2.6	98.7±2.2	99.2±1.8	100.2±0.8
	B	0	35.9±13.7	89.7±15.0	99.5±3.0	100.4±2.1
	C	50.4±9.8	89.9±2.7	99.5±3.3	99.8±2.8	99.6±1.2
	D	67.2±11.3	100.0±3.1	102.4±1.9	102.3±1.9	102.5±1.0

(2)为考察方法的适用性,采用浆法,其他条件与上述篮法一致,分别测定A厂胶囊和悦宁定的累积溶出度。结果见表1及图2A。

2.3.2 低转速条件下溶出曲线对比。考察转速对溶出曲线的影响。选择转速50 r/min,采用篮法,其他条件与标准介质条件一致,分别对4个厂家样品进行溶出度测定,并计算各取样时间点的样品累积溶出度。结果见表1及图2B。

2.3.3 其他介质下溶出曲线对比。介质分别选择pH 1.2的盐酸溶液、pH 4.0的醋酸盐缓冲液及pH 6.8的磷酸盐缓冲液,对照品溶液采用相应的介质配制。采用篮法,转速100 r/min,其他条件与标准介质(水)条件一致,分别对4个厂家样品进行溶出测定,并计算各取样时间点的样品累积溶出度。结果见表1及图2C、D、E。

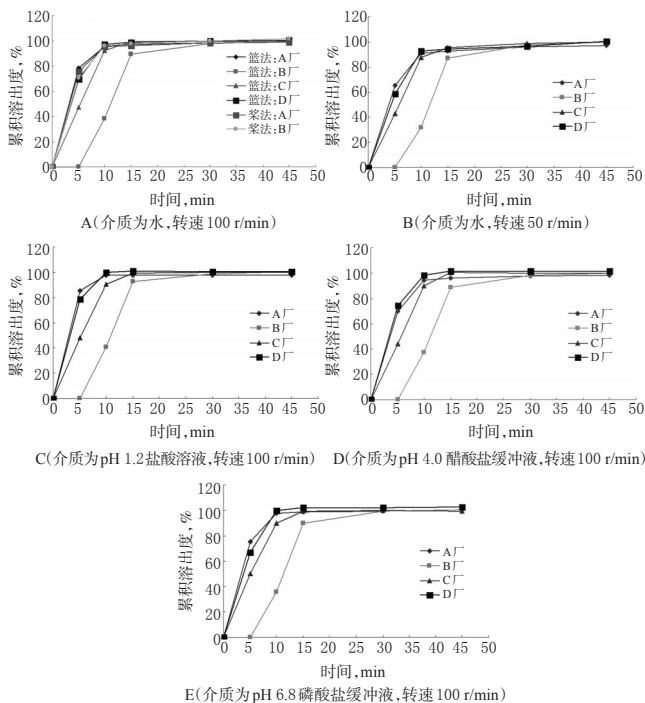


图2 溶出曲线

Fig 2 Dissolution curves

2.3.4 结果分析与评价。分别将A厂及D厂样品以篮法与桨法测定的累积溶出度数据进行 t 检验分析,结果2种方法无显著性差异($P>0.05$),表明篮法及桨法均可用于EM制剂溶出度的测定,结果见表2。

表2 2个厂家样品篮法及桨法累积溶出度检测结果的 t 检验

Tab 2 Results of t -test for average accumulative dissolution of samples from 2 factories by basket method and paddle method

厂家	自由度	方差齐性(F 检验)	P	显著性
A	4	0.799 86	0.245 79	无显著性差异
D	4	0.941 87	0.827 56	无显著性差异

4个厂家样品在4种不同介质及低转速条件下15 min内累积溶出度均达到85%以上,可以判定国产3个厂家样品与进口片剂在上述各条件下的体外释放行为均具有相似性^[6]。但不同厂家样品前期15 min内的释放行为有较大差异,胶囊剂均有迟释效应(对产品释放行为有影响),A厂家样品在约2 min时破胶囊壳,B厂家样品在6~8 min时才破胶囊壳(这是导致B厂家前期释放差的主要原因),且B厂家样品溶出数据的变异系数(RSD值)较大。A厂家样品与进口片剂溶出曲线相似度最好。

3 讨论

3.1 不同介质下溶液的稳定性考察

同一药物在不同的pH条件下的稳定性可能是不一样的,采用多介质对产品进行溶出度考察时应该对每种介质下样品的溶液进行稳定性考察。前期试验表明EM在水、pH 1.2、pH 4.0及pH 6.8溶液中12 h内均具有良好的稳定性,保证了测定结果的可靠性。

3.2 低转速条件下的溶出度考察

考虑到某些患者身体机能虚弱、胃肠蠕动功能较差等因素影响,在体外多介质溶出度考察的同时还应该进行低转速条件下的溶出行为比较,以评价该药物在特殊人群中可能存在的释放差异。前期试验中比较了4个厂家样品在转速50、100 r/min时的平均累积溶出度,结果发现样品在转速50 r/min下均比100 r/min下溶出略低,但无显著性差异($P>0.05$)。

3.3 溶出自动取样系统的应用

自动溶出系统分为在线(on-line)及离线(off-line)系统。离线系统的主要功能是自动进行样品取样收集,并实现自动吹扫残液,最大程度减少了误差,收集的样品可直接用于紫外检测或HPLC检测。本试验采用Sotax公司的离线系统,自动取样,操作简单,非常方便制剂工艺的考察,且省时省力。

3.4 检测方法的选择

《中国药典》收载的溶出度方法有篮法(第一法)、桨法(第二法)及小杯法(第三法),篮法常用于胶囊,也可用于片剂;桨法常用于片剂,也可用于胶囊;小杯法常用于小剂量品种。采用哪种方法主要是要考虑方法对检品的适用性。本试验通过篮法及桨法分别对A厂胶囊和进口片剂进行溶出度测试,结果显示2种方法对EM 2种不同剂型的检测结果无显著影响。

3.5 建议与思考

仿制药一致性评价是要求仿制药达到与原研药的“一致性”:不仅化学等效,而且生物等效、治疗等效。我国药监部门及药品生产企业应积极落实“仿制药一致性评价”工作,以全面提高我国仿制药标准及产品质量,临床使用部门也应注意不同厂家产品的质量差异,合理地选择用药。体外溶出度在某种程度上与体内生物利用度呈现一定的相关性,可在一定程度上预测生物等效性研究情况,提高生物等效性研究的成功率。但多介质体外溶出度对比研究只是仿制药一致性评价的内容之一,在研究评价过程中,还应该重视对其原料物理性质(如晶体形态、粒径等)、制备工艺、杂质谱等进行全面的研究,必要时还应进行药动学、生物利用度及临床试验研究。

参考文献

- [1] 周新腾,石晓东,姜斯博.马来酸依那普利制剂稳定性研究进展[J].首都医药,2009,16(14):13.
- [2] 孙悦,唐素芳,高立勤.流通池法测定EM片溶出度及对其体内外相关性的考察[J].药物分析杂志,2009,29(4):560.
- [3] 张启明,谢沐风,宁保明,等.采用多条溶出曲线评价口服固体制剂的内在质量[J].中国医药工业杂志,2009,40(12):946.
- [4] 刘红,张关敏,张艳华.不同厂家枸橼酸他莫昔芬片的体外溶出度考察[J].中国医院药学杂志,2012,32(6):436.
- [5] 赵霓.不同厂家卡托普利片在四种溶出介质中的溶出曲线比较研究[J].中国药师,2012,15(6):845.
- [6] 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.
- [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,2010:47、附录85.

(收稿日期:2012-08-01 修回日期:2012-09-16)