

不同厂家比沙可啶肠溶片仿制制剂与参比制剂溶出曲线的相似性评价

孙婷*, 姜建国#, 郭永辉, 韩学静(河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)09-1268-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.09.32

摘要 目的:考察比沙可啶肠溶片不同仿制制剂与参比制剂在多种溶出介质中溶出曲线的相似性,为其仿制制剂的生产工艺和内在质量提升提供参考。方法:采用桨法,转速75 r/min,分别以1 000 mL的含2%十二烷基硫酸钠的pH 6.0磷酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、水为溶出介质进行溶出试验,采用高效液相色谱法测定比沙可啶肠溶片3种仿制制剂与参比制剂中主成分在不同时间点的平均累积溶出度,并绘制溶出曲线,进而采用相似因子(f_2)法评价其溶出曲线的相似性。结果:参比制剂在3种溶出介质中的溶出曲线基本一致;3个厂家生产的仿制制剂中有1种与参比制剂溶出曲线的 $f_2 \geq 50$,即具有相似性。结论:不同厂家生产的比沙可啶肠溶片仿制制剂质量存在明显差异,其在生产工艺和内在质量上有待提高。有必要加强对仿制制剂溶出曲线的实时监控,确保药品质量的可控性。

关键词 比沙可啶肠溶片;仿制制剂;参比制剂;高效液相色谱法;相似因子法;溶出曲线

Similarity Evaluation of Dissolution Curves for Generic Preparation and Reference Preparation of Bisacodyl Enteric-coated Tablets

SUN Ting, JIANG Jianguo, GUO Yonghui, HAN Xuejing (Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the similarity of dissolution curves between generic preparations and reference preparations of Bisacodyl enteric-coated tablets in various dissolution mediums, and to provide reference for improving production technology and internal quality of generic preparations. METHODS: Paddle method was adopted with rotation speed of 75 r/min. The dissolution test was performed using 1 000 mL pH 6.0 phosphate buffer solution, pH 6.8 phosphate buffer solution, water containing 2% sodium lauryl sulfate. HPLC method was used to determine average accumulative dissolution of main components from 3 kinds of generic preparations and reference preparations at different time points to draw out dissolution curves. Similarity factor (f_2) method was used to the similarity of dissolution curves. RESULTS: Dissolution curves of reference preparations were basically the same in 3 kinds of dissolution mediums. But the dissolution curve f_2 of one generic preparation among 3 manufactures to dissolution curve of reference preparation were ≥ 50 , namely the similarity. CONCLUSIONS: The quality of generic Bisacodyl enteric-coated tablets produced by different manufacturers is obviously different; the generic preparations needs to be further improved in the production technology and internal quality. For domestic generic preparation, it is necessary to strengthen the real-time monitoring of its dissolution curve, to ensure the drug quality.

KEYWORDS Bisacodyl enteric-coated tablets; Generic preparation; Reference preparation; HPLC; Similarity factors method; Dissolution curves

比沙可啶是国外20世纪50年代末上市的优良缓泻药,化学名称为4,4'-(2-吡啶亚甲基)-二苯酚醋酸酯,临床上主要通过肠黏膜直接接触刺激其感觉神经末梢而增强肠反射性蠕动,从而导致排便。该药亦可以用于小儿结肠镜术前肠道准备^[1],或与莫沙必利联合治疗老年慢性功能性便秘。其肠溶片剂属于甲类非处方药(OTC),现行质量标准收载于2015年版《中国药典》(二部)^[2],但该标准中缺少溶出度检查项,仅设置崩解时限检查仅考察该制剂的崩解情况,不能有效考察其主成分

的溶出情况,更无法比较不同厂家制剂的溶出行为的差异。而对于常用于儿童与老年人的口服固体制剂更需要通过溶出试验明确其溶出情况。同时,溶出试验还被作为小分子药物重要的质量控制手段,用来保证产品批次间的一致性^[3]。因此,笔者参考相关文献^[4-7],采用高效液相色谱法(HPLC)结合相似因子(f_2)法,对比沙可啶肠溶片不同仿制制剂与参比制剂在多种pH溶出介质中溶出曲线的相似性进行了评价,旨在为其仿制制剂的生产工艺和内在质量提升提供参考。

1 材料

1.1 仪器

EDT-14Lx型智能溶出试验仪(上海仪真分析仪器有限公司);SOTAX AT7型智能溶出试验仪(瑞士

* 主管药师,硕士。研究方向:仿制药质量与疗效一致性评价、药品检验、杂质鉴定。E-mail:122547652@qq.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药品检验、杂质鉴定。E-mail:meshall1983@126.com

SOTAX公司);RC12A型溶出仪(天津天大天发科技有限公司);1260型HPLC仪,包括G1311C四元泵、G1329B自动进样器、G1316A柱温箱、G1314紫外可变波长检测器等(美国Agilent公司);XS105型十万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

比沙可啶肠溶片(A厂家,仿制制剂,批号:140102,规格:每片5mg;B厂家,仿制制剂,批号:131211,规格:每片5mg;C厂家,仿制制剂,批号:130937,规格:每片5mg;D厂家,参比制剂,批号:318580,规格:每片5mg);比沙可啶对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100181-200402,纯度:100.0%,105℃干燥2h);乙腈(色谱纯,美国Fisher Chemical公司);磷酸二氢钾、氢氧化钠、十二烷基硫酸钠(SDS)和乙酸铵(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);冰醋酸(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);试验用水为去离子纯净水(经测定pH为5.9)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(150 m×4.6 mm,5 μm);流动相:20 mmol/L 乙酸铵溶液(冰醋酸调节pH至5.0)-乙腈(45:55, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:265 nm;柱温:30℃;进样量:100 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 3种溶出介质 含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液:取SDS 20 g、0.2 mol/L磷酸二氢钾溶液250 mL,与0.2 mol/L氢氧化钠溶液28 mL混合后,加水稀释至1 000 mL,摇匀,即得。含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液:取SDS 20 g、0.2 mol/L磷酸二氢钾溶液250 mL,与0.2 mol/L氢氧化钠溶液112 mL混合后,加水稀释至1 000 mL,摇匀,即得。含2% SDS的水:取SDS 20 g,加水稀释至1 000 mL,摇匀,即得。上述3种溶出介质用水均采用脱气装置经40℃脱气40 min后立即使用。

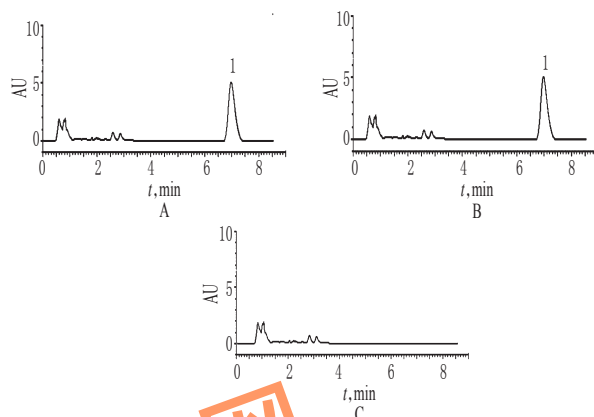
2.2.2 对照品溶液 精密称取比沙可啶对照品适量,分别用“2.2.1”项下3种不同pH溶出介质溶解并稀释成每1 mL中约含5 μg的溶液,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液 按照2015年版《中国药典》(四部)“通则0931第二法(桨法)”,分别量取0.1 mol/L盐酸溶液750 mL置于各溶出杯内,实际量取的体积与规定体积的偏差应在±1%范围之内,待溶出介质温度恒定在(37.0±0.5)℃,取样品12片分别投入溶出杯中,注意避免其表面产生气泡,立即按各品种项下规定的转速启动仪器,2 h后在规定取样点吸取溶出液适量,滤过,自取样至滤过应在30 s内完成,12片样品每片的溶出量均≤标示量的10%;再分别采用“2.2.1”项下3种不同pH溶出介质,溶出介质体积1 000 mL,溶出温度(37.0±0.5)℃,转速75 r/min,依法操作,经时45 min,取溶出液5 mL,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 空白辅料溶液 精密称取生产厂家处方中所有辅料适量,按“2.2.3”项下方法进行操作,即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、空白辅料溶液各适量(溶出介质为水),按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,比沙可啶峰保留时间约为7.24 min,理论板数按比沙可啶峰计≥3 000,拖尾因子≤1.5;且比沙可啶峰与溶剂及其他杂质峰分离良好。



A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.空白辅料溶液;1.比沙可啶
A. substance control solution; B. test sample solution; C. blank excipients solution; 1. bisacodyl

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密称取比沙可啶对照品10 mg,置于100 mL量瓶中,加pH 6.8溶出介质溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密量取上述贮备液1、2、5、10、20、30、40 mL,分别置于200 mL量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,取100 μL注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以比沙可啶质量浓度(x, μg/mL)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得比沙可啶的回归方程为 $y=1.12 \times 10^6 x - 3.18 \times 10^5$ ($r=0.9999$)。结果表明,比沙可啶检测质量浓度线性范围为0.5~20 μg/mL。

2.5 精密度试验

取“2.2.2”项下3种不同溶出介质的对照品溶液各适量,分别按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,比沙可啶峰面积的RSD分别为0.4%(含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液)、0.3%(含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液)、0.5%(含2% SDS的水)($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取按“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液(D厂家样品,批号:318580)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,比沙可啶峰面积的RSD分别为0.23%(含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液)、0.14%(含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液)、0.31%(含2% SDS的水)($n=8$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(D厂家样品,批号:318580)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算溶出度。结果,比沙可啶溶出度的RSD分别为0.7%(含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液)、0.6%(含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液)、1.1%(含2% SDS的水)($n=6$),表明本方法重复性较好。

2.8 回收率试验

根据样品(A厂家样品,批号:140102)处方,按处方量80%、100%、120%精密称取比沙可啶对照品,辅料按处方量100%称取,每个水平各3份,置于不同的1 000 mL量瓶中,分别用“2.2.1”项下3种不同pH溶出介质稀释制成3种待测溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

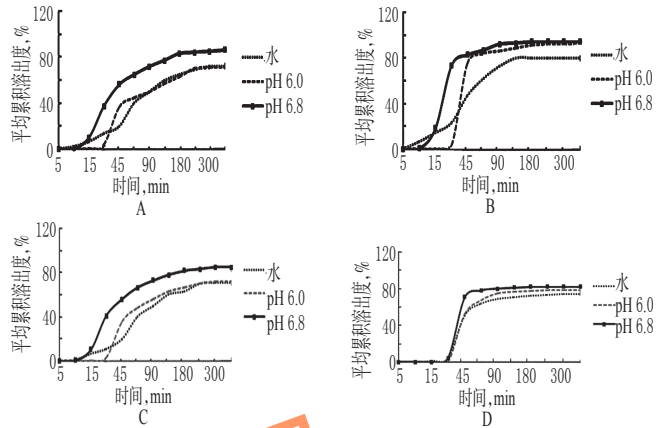
Tab 1 Results of recovery tests ($n=9$)

溶出介质	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收 率, %	RSD, %
含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液	8.01	7.88	98.4	98.7	0.5
	7.97	7.89	99.0		
	8.03	7.99	99.5		
	9.99	9.88	98.9		
	9.93	9.78	98.5		
	10.06	9.93	98.7		
	12.03	11.87	98.7		
	11.96	11.70	97.8		
	12.08	11.88	98.3		
	含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液	8.01	7.93		
7.92		7.87	99.4		
8.03		7.97	99.3		
9.95		9.90	99.5		
9.97		9.91	99.4		
10.00		9.93	99.3		
12.02		11.90	99.0		
11.96		11.85	99.1		
12.01		11.90	99.1		
含2% SDS的水		8.00	7.89	98.6	98.7
	7.98	7.86	98.5		
	8.02	7.93	98.9		
	9.96	9.84	98.8		
	9.94	9.79	98.5		
	10.02	9.95	99.3		
	12.05	11.89	98.7		
	11.94	11.72	98.2		
	12.05	11.89	98.7		

2.9 溶出度测定及溶出曲线绘制

取3批仿制制剂和1批参比制剂,按“2.2.3”项下方法操作,至“溶出介质体积1 000 mL,溶出温度(37.0 ± 0.5) °C,转速75 r/min”,依法操作,分别于5、10、15、30、45、60、90、120、180、240、300、360 min等时间点取溶出液5 mL(及时补加相同温度相同体积的溶出介质),滤过(具备在线过滤功能的溶出仪无需重复滤过),取续滤液作为供试品溶液。另取比沙可啶对照品适量,精密称

定,按“2.2.2”项下方法分别以3种不同pH溶出介质制备对照品溶液。精密量取上述供试品溶液和对照品溶液各100 μL,分别注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算每片样品在各时间点的累积溶出度。以12片样品的平均累积溶出度(%)为纵坐标、时间(min)为横坐标绘制溶出曲线,详见图2。



A.A厂家生产的仿制制剂;B.B厂家生产的仿制制剂;C.C厂家生产的仿制制剂;D.参比制剂

A.generic preparations by manufacturer A; B. generic preparations by manufacturer B; C. generic preparations by manufacturer C; D. reference preparation

图2 比沙可啶肠溶片3种仿制制剂与参比制剂在各溶出介质中的溶出曲线($n=12$)

Fig 2 Dissolution curves of 3 kinds of generic preparations and reference preparation of Bisacodyl enteric-coated tablets in various dissolution curves ($n=12$)

2.10 溶出曲线的相似性评价

采用美国FDA推荐使用的 f_2 法来评价仿制制剂(受试制剂)与参比制剂溶出曲线的相似性,以考察其内在质量的差异^[3]。 f_2 计算公式如下:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

式中, R_t 为 t 时点参比制剂的平均累积溶出度; T_t 为 t 时点受试制剂的平均累积溶出度; n 为取样时点的个数(从5、10、15、30、45、60、90、120、180、240、300、360 min等12个时间点中选取)。 f_2 从统计学上度量了两条溶出曲线之间的相似性, f_2 值越大,说明两条溶出曲线的差异越小,若 $50 \leq f_2 \leq 100$,可以推断两条溶出曲线相似(完全相同的两条溶出曲线,其 $f_2=100$)。根据《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》选择合适的时间点(10、15、45、90 min 4个时间点)就比沙可啶肠溶片3种仿制制剂与参比制剂在各溶出介质中溶出曲线的 f_2 值进行计算,结果见表2。

3 讨论

3.1 开展本研究的原因

2015年版《中国药典》所收录的比沙可啶肠溶片标

表2 比沙可啶肠溶片3种仿制制剂与参比制剂在各溶出介质中溶出曲线的 f_2

Tab 2 f_2 of the dissolution curves of 3 kinds of generic preparations and reference preparation of Bisacodyl enteric-coated tablets

编号	溶出介质	f_2		
		A厂家样品	B厂家样品	C厂家样品
1	含2%SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液	34	57	32
2	含2%SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液	36	60	40
3	含2%SDS的水	31	50	29

准中设置了崩解时限检查项,而比沙可啶在水中不溶,即使制剂能够保证在崩解介质中崩解完全,也无法保证主成分能够充分溶出。因此,本试验中笔者对比沙可啶肠溶片进一步进行了多种溶出介质中溶出行为的研究。

3.2 溶出方法的选择

国外药典均未收载比沙可啶肠溶片溶出度检查项。参考2015年版《中国药典》(四部)肠溶固体制剂溶出度检查项,发现常用的溶出方法包括篮法和桨法。因此,笔者在溶出体积等其他条件一致的情况下,考察采用两种溶出方法时溶出行为的差异。结果,45 min时,采用篮法,比沙可啶肠溶片参比制剂及仿制制剂样品的溶出度均 $<15\%$;采用桨法,比沙可啶肠溶片参比制剂及仿制制剂样品的溶出度有明显提高。因此,确定溶出方法为桨法。

3.3 溶出介质的选择

固体制剂口服给药后,药物的吸收取决于药物从制剂中的溶出或释放、药物在生理条件下的溶解以及在胃肠道的渗透。溶出度试验应尽可能在生理条件下进行,这样可以从药品体内行为的角度更好地理解体外溶出数据^[8],且溶出介质中药物溶解性应满足漏槽条件的要求。预试验中,取比沙可啶原料1 g,分别加入3 mL的pH 6.0磷酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、水,37 °C恒温,均呈现难溶状态,而在3种溶出介质中分别加入2% SDS后,则均呈现溶解状态,完全满足漏槽条件。故参考国家食品药品监督管理总局发布的《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》,最终选择含2% SDS的pH 6.0磷酸盐缓冲液、含2% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液、含2% SDS的水作为溶出介质。

3.4 转速的选择

本试验在筛选溶出条件时,曾选取50、75、100 r/min的转速分别进行考察,结果发现50 r/min转速无法达到完全溶出,而75、100 r/min转速的溶出结果较为接近,因75 r/min比100 r/min更接近大部分人的胃肠道环境,故最终选择了75 r/min的转速。

3.5 溶出行为考察方式的选择

经查阅文献和资料^[8-12],肠溶固体制剂溶出行为考察方式包括:(1)先在pH 1.0盐酸溶液中考察2 h后,再将溶出介质更换为pH 6.0磷酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐

缓冲液、水考察溶出行为;(2)直接在pH 6.0磷酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、水中考察溶出行为。结果表明,第一种考察方式更符合人体服用肠溶固体制剂后的溶出行为。因此,选择了此种方式考察溶出行为。

3.6 本研究结果的启示

本研究建立了具有区分力的比沙可啶肠溶片多种溶出介质中的溶出曲线的溶出试验方法,为比沙可啶肠溶片仿制制剂的处方和工艺筛选以及与参比制剂的质量一致性评价提供了试验依据。研究表明,参比制剂在3种溶出介质中的溶出曲线基本一致,3个厂家生产的仿制制剂中有1种与参比制剂溶出曲线具有相似性,一定程度说明仿制制剂的生产工艺和内在质量有待提高,也说明针对仿制制剂有必要加强对其溶出曲线的实时监控,确保药品质量的可控性。而关于二者的体内生物利用度和生物等效性是否一致还有待进一步考察。

参考文献

- [1] 章许平,欧弼悠,陈肖肖,等.口服必沙可啶用于小儿结肠镜术前肠道准备[J].中华护理杂志,1998,33(4):189-191.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:74.
- [3] 胡昌勤,潘瑞雪.溶出度试验评价预测固体口服制剂生物等效性的研究进展[J].中国新药杂志,2014,23(1):44-51.
- [4] 丁盛,陈文,赵海涛,等.采用不同介质中的溶出曲线评价硫酸氢氯吡格雷片的内在质量[J].中国现代应用药学,2011,28(13):1341-1342.
- [5] 杨晓菊,谢沐风.不同厂家格列美脲片溶出度的比较[J].中国医药工业杂志,2008,39(10):758-761.
- [6] 谢沐风.如何科学、客观地制订溶出度试验质量标准[J].中国医药工业杂志,2012,43(3):A23-A32.
- [7] 谢沐风,操洪欣.溶出度测定中的若干问题[J].中国医药工业杂志,2006,37(12):859-862.
- [8] 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):946-950.
- [9] 简晓娜,蒋学华,王凌.奥美拉唑在不同pH介质中的释放曲线及其在肠溶制剂质量评价中的应用[J].华西药学杂志,2011,26(5):476-478.
- [10] 谢沐风.简介日本“药品品质再评价”工程:溶出度研究系列一[J].中国药品标准,2005,6(6):42-46.
- [11] 谢沐风,张启明,陈洁,等.国外药政部门采用溶出曲线评价口服固体制剂内在品质情况简介[J].中国药事,2008,22(3):257-261.
- [12] 谢沐风.改进溶出度评价方法,提高固体药物制剂水平:论如何提高我国口服固体制剂的内在品质:溶出度研究系列二[J].中国药品标准,2006,7(1):43-47.

(收稿日期:2016-04-01 修回日期:2017-02-13)

(编辑:周 箐)