

氯沙坦钾片仿制药与原研药溶出曲线的相似性评价

史立川^{1,2*}, 蒲旭峰^{1#}, 余永秀², 罗春颖¹(1.成都中医药大学药学院, 成都 610072; 2.扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司, 四川 都江堰 611830)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4298-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.33

摘要 目的:考察氯沙坦钾片仿制药与原研药溶出曲线的相似性,为完善该制剂的质量评价提供参考。方法:采用桨法,以盐酸溶液(pH 3.0)、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 6.8)、水为溶出介质,溶出介质体积为900 mL,转速为50 r/min,进行溶出试验,采用紫外-可见分光光度法,检测波长为256 nm,分别测定氯沙坦钾片仿制药与原研药的累积溶出度,并通过计算相似因子(f_2)来评价其溶出曲线的相似性。结果:氯沙坦钾检测质量浓度线性范围为12.11~35.96 $\mu\text{g/mL}$ ($r \geq 0.9997$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD $<5.0\%$;4种溶出介质中的回收率分别为98.66%~100.84% (RSD=0.77%, $n=9$)、98.91%~100.59% (RSD=0.49%, $n=9$)、98.33%~101.39% (RSD=0.85%, $n=9$)、99.46%~101.32% (RSD=0.55%, $n=9$)。在4种溶出介质中,3批氯沙坦钾片仿制药与原研药溶出曲线的 f_2 均 >70 。结论:氯沙坦钾片仿制药与原研药的体外溶出曲线相似性较好。

关键词 氯沙坦钾片;仿制药;原研药;溶出曲线;紫外-可见分光光度法;相似因子;评价

Similarity Evaluation of the Dissolution Curves of Generic and Original Preparation of Losartan Potassium Tablets

SHI Lichuan^{1,2}, PU Xufeng¹, YU Yongxiu², LUO Chunying¹(1.School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China; 2.Sichuan Heron Pharmaceutical Co., Ltd., Yangtze River Pharmaceutical Group, Sichuan Dujiangyan 611830, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the dissolution curves similarity of generic and original preparation of Losartan potassium tablets, and to provide reference for improving quality evaluation of the preparation. METHODS: Using hydrochloric acid solution (pH 3.0), phosphate buffer solution (pH 4.5), phosphate buffer solution (pH 6.8) and water as medium, paddle method was adopted for dissolution test with dissolution medium volume of 900 mL and rotation speed of 50 r/min. UV-visible spectrophotometry was adopted to determine accumulative dissolution of generic and original preparation of Losartan potassium tablets with the detection wavelength of 256 nm. The similarity of dissolution curves were evaluated by calculating similarity factor (f_2). RESULTS: The linear range of losartan potassium was 12.11-35.96 $\mu\text{g/mL}$ ($r \geq 0.9997$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 5.0%. The recoveries of 4 dissolution media were 98.66%-100.84% (RSD=0.77%, $n=9$), 98.91%-100.59% (RSD=0.49%, $n=9$), 98.33%-101.39% (RSD=0.85%, $n=9$), 99.46%-101.32% (RSD=0.55%, $n=9$). In 4 dissolution media, f_2 of the dissolution curves of 3 batches of generic and original preparation of Losartan potassium tablets were all higher than 70. CONCLUSIONS: The dissolution curves of self-made and original preparation of Losartan potassium tablets show good similarity.

KEYWORDS Losartan potassium tablet; Generic preparation; Original preparation; Dissolution curve; UV-visible spectrophotometry; Similarity factor; Evaluation

氯沙坦钾片原研厂家为美国默沙东公司(商品名:COZAAR,科素亚),该药是全球第一个治疗高血压的血管紧张素 II 受体拮抗药。该药在临床上广泛适用于原发性高血压的治疗^[1-3],效果好,不良反应发生率低,安全性高^[4]。

溶出度系指药物从片剂或胶囊剂等固体制剂在规定溶剂中溶出的速度和程度^[5],是影响口服固体制剂生物吸收性能的重要参数^[6];而体外溶出试验通常选择在3~4种溶出介质进行溶出曲线考察以评价口服固体制

剂内在质量^[7]。本研究中,笔者按照2015年版《中国药典》(四部)溶出度测定方法^[8]进行氯沙坦钾片仿制药与原研药溶出试验,采用紫外-可见分光光度法测定累积溶出度,并采用FDA推荐使用的相似因子(f_2)法进行二者溶出曲线的相似性评价,以期完善该制剂的质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

UV-2550型紫外-可见分光光度计(日本Shimadzu公司);708-DS型溶出试验仪(美国Agilent公司);850-DS型自动取样器(美国Agilent公司);MS1003S型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂、新剂型、新技术。E-mail: lychuans@live.com

通信作者:主任中药师,博士。研究方向:中药新制剂、新剂型、新技术。E-mail: px68@263.net

氯沙坦钾片仿制药(扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司,批号:161123、161206、161209,规格:100 mg);氯沙坦钾片原研药(美国 Merck Sharp & Dohme Limited 公司,批号:L021856,规格:100 mg);氯沙坦钾原料药(浙江天宇药业有限公司,批号:10100-160418);氯沙坦钾对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100597-201102,纯度:100%);所用试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶出介质的选择

参考2015年版《中国药典》(四部)溶出度测定方法^[9],拟采用浆法、溶出介质体积为900 mL和转速为50 r/min进行溶出试验。氯沙坦钾为低溶解、高渗透药物,属于生物药剂学分类系统(BCS)中的II类,其解离常数(pKa)为5~6,由于分子中四氮唑结构呈酸性,为pH依赖性药物,其在水或0.1 mol/L氢氧化钠溶液中易溶,在0.1 mol/L盐酸溶液中微溶。故需考察氯沙坦钾原料药在酸性溶液中的溶解行为:分别配制pH为1.0、1.2、2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0的盐酸溶液,在(37.0±0.5)℃条件下,用上述溶液制备氯沙坦钾饱和溶液,采用紫外-可见分光光度法,在256 nm波长处测定其吸光度(若吸光度>0.8应进行适当稀释后再测定)并计算溶解度,考察是否达到漏槽条件,结果见表1。

表1 氯沙坦钾在不同pH盐酸溶液中的溶解度

Tab 1 Solubility of losartan potassium in hydrochloric acid solution with different pH values

盐酸溶液 pH	1.0	1.2	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8	3.0
溶解度,mg/mL	0.085	0.052	0.158	0.371	0.180	0.272	0.692	2.022

由表1可知,氯沙坦钾在pH 1.0~3.0盐酸溶液中溶解较差,仅在pH 2.2、2.8及3.0的盐酸溶液中达到漏槽条件。进一步采用该3种溶液为溶出介质,取氯沙坦钾片原研药适量,按溶出度测定法[2015年版《中国药典》(四部)“通则0931”第二法(浆法)]进行溶出度测定^[9],结果,氯沙坦钾片的溶出度分别为58.76%、66.69%、86.98%,仅pH 3.0的溶出度达到85%。结合上述结果,根据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曲线测定与比较指导原则》及文献[8-10],最终确定本试验的溶出介质为:盐酸溶液(pH 3.0)、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 6.8)和水。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取氯沙坦钾对照品约13.5 mg,精

密称定,置于10 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液;精密量取对照品贮备液1 mL,置于50 mL量瓶中,分别用盐酸溶液(pH 3.0)、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 6.8)和水4种溶出介质稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL中约含氯沙坦钾27 μg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取原研药样品适量,按溶出度测定法[2015年版《中国药典》(四部)“通则0931”第二法(浆法)]^[9],分别以盐酸溶液(pH 3.0)、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 6.8)和水为溶出介质,溶出介质体积为900 mL,转速为50 r/min,温度为37.0℃,依法操作,分别于10、20、30、45、60 min时取样10 mL,并自动补加10.5 mL(自动溶出仪取液会弃去0.5 mL)溶出介质,用0.45 μm水系滤膜滤过,精密量取续滤液适量,用同种介质定量稀释,制成每1 mL中约含氯沙坦钾27 μg的溶液,作为供试品溶液。

2.2.3 空白辅料溶液 按样品的处方比例和制备工艺,取空白辅料200 mg,分别投入4种溶出介质中,按“2.2.2”项下步骤操作,于45 min时单点取样10 mL,用0.45 μm水系滤膜滤过,精密量取续滤液2 mL,用同种介质稀释至10 mL,作为空白辅料溶液。

2.3 检测波长的选择

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、空白辅料溶液各适量,在200~400 nm波长范围扫描,结果显示,氯沙坦钾在256 nm波长处有最大吸收,且空白辅料无干扰。故选择256 nm作为检测波长^[11]。

2.4 滤膜吸附试验

取“2.2.1”项下4种溶出介质制备的对照品溶液各适量,不滤过直接测定;并经0.45 μm水系滤膜滤过,弃去3 mL滤液,取续滤液,在256 nm波长处分别测定吸光度并计算对照品溶液回收率。同时,取“2.2.2”项下供试品溶液各适量,在256 nm波长处分别测定吸光度,并计算滤膜对供试品溶液中氯沙坦钾的吸附量。结果,对照品溶液经滤膜滤过后,氯沙坦钾回收率>97%,滤膜对4种供试品溶液中氯沙坦钾的吸附量<2%,说明0.45 μm水系滤膜对氯沙坦钾没有吸附。

2.5 线性关系考察

取“2.2.1”项下对照品贮备液适量,共4份,分别用盐酸溶液(pH 3.0)、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 6.8)和水定容于100 mL量瓶中,制成每1 mL中约含氯沙坦钾80 μg的溶液,精密量取上述溶液1.5、2、2.5、

3、3.5、4.5 mL,分别置于10 mL量瓶中,并用相应介质稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL中约含氯沙坦钾12、16、20、24、28、36 μg的溶液,在256 nm波长处测定吸光度。以氯沙坦钾质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表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, μg/mL
盐酸溶液(pH 3.0)	$y=0.023 1x+0.012 8$	0.999 8	
磷酸盐缓冲液(pH 4.5)	$y=0.024 5x+0.012 2$	0.999 7	12.11~35.96
磷酸盐缓冲液(pH 6.8)	$y=0.028 6x-0.002 9$	0.999 9	
水	$y=0.026 5x-0.009 9$	0.999 8	

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下4种对照品溶液各适量,在256 nm波长处测定吸光度,重复测定6次。结果,氯沙坦钾吸光度的RSD分别为0.69%、0.52%、0.06%、0.07% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下45 min时取样的4种供试品溶液(批号:161123)各适量,分别于室温下放置0、2、4、8、24、28 h时在256 nm波长处测定吸光度。结果,氯沙坦钾吸光度的RSD分别为4.87%、3.82%、0.41%、0.49% ($n=6$),表明4种溶出介质制备的供试品溶液于室温下放置28 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取“2.2.2”项下45 min时取样的4种供试品溶液(批号:161123)各适量,在256 nm波长处测定吸光度。结果,氯沙坦钾吸光度的RSD分别为0.46%、0.39%、0.63%、0.28% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 回收率试验

精密称取样品原料药80、100、120 mg,各3份,加入相应量的按处方比例配制的混合辅料,分别置于50 mL量瓶中,再按“2.2.2”项下方法操作,于45 min时单点取样制备供试品溶液,取适量,在256 nm波长处测定吸光度并计算回收率,结果见表3。

2.10 溶出时间的选择

FDA溶出度数据库可查询到氯沙坦钾片的溶出试验的推荐取样时间为10、20、30、45 min。由于氯沙坦钾片在酸性介质中溶出较缓慢,故本试验将取样时间延长至60 min,选择溶出取样时间为10、20、30、45、60 min。

2.11 溶出曲线的绘制及相似度评价

取4批样品各12片,按“2.2.2”项下方法制备供试品

表3 回收率试验结果($n=9$)

Tab 3 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,%
盐酸溶液(pH 3.0)	1.920	1.926	100.31	99.88	0.77
	1.917	1.910	99.63		
	1.936	1.910	98.66		
	2.414	2.396	99.25		
	2.371	2.391	100.84		
	2.390	2.371	99.21		
	2.867	2.858	99.69		
	2.830	2.849	100.67		
	2.848	2.866	100.63		
	磷酸盐缓冲液(pH 4.5)	1.909	1.899		
1.909		1.888	98.91		
1.902		1.899	99.83		
2.387		2.376	99.54		
2.377		2.391	100.59		
2.378		2.371	99.71		
2.864		2.858	99.80		
2.884		2.862	99.25		
2.855		2.860	100.17		
磷酸盐缓冲液(pH 6.8)		1.915	1.910	99.75	99.61
	1.875	1.880	100.26		
	1.938	1.918	99.01		
	2.382	2.371	99.54		
	2.399	2.359	98.33		
	2.388	2.371	99.29		
	2.858	2.849	99.66		
	2.876	2.856	99.30		
	2.823	2.862	101.39		
	水	1.912	1.912	100.00	
1.920		1.917	99.83		
1.902		1.909	100.34		
2.409		2.402	99.71		
2.411		2.398	99.46		
2.354		2.385	101.32		
2.867		2.862	99.83		
2.854		2.857	100.08		
2.887		2.877	99.64		

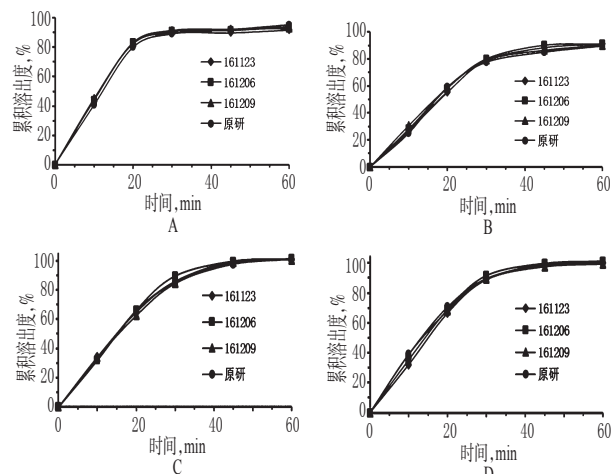
溶液,在256 nm波长处测定吸光度并计算各时间点累积溶出度,绘制溶出曲线,结果见图1。

采用FDA推荐使用的 f_2 法比较仿制药与原研药样品溶出曲线的相似性^[12-13]。根据《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》,对于普通口服固体制剂,当受试样品与参比样品在15 min的平均溶出度均 $\geq 85\%$ 时,可认为溶出曲线相似;否则,需选取3~4个取样点(溶出度 $\geq 85\%$ 的时间点不超过1个)计算 f_2 ,当 $f_2 \geq 50$ 时,可认为溶出曲线相似。 f_2 计算公式如下:

$$f_2 = 50 \lg \left| \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum (R_i - T_i)^2}{n}}} \right|$$

其中, R_i 为 t 时间点参比样品平均累积溶出度; T_i 为 t 时间点受试样品平均累积溶出度; n 为取样时间点的个数。仿制药样品与原研药样品在4种溶出介质中的溶出

曲线 f_2 测定结果见表4。由表4可知,仿制药样品与原研药样品在4种溶出介质中的溶出行为相似。



A. 盐酸溶液(pH 3.0); B. 磷酸盐缓冲液(pH 4.5); C. 磷酸盐缓冲液(pH 6.8); D. 水

A. hydrochloric acid solution (pH 3.0); B. phosphate buffer (pH 4.5); C. phosphate buffer (pH 6.8); D. water

图1 氯沙坦钾片仿制药与原研药在4种溶出介质中的溶出曲线

Fig 1 Dissolution curves of generic and original preparation of Losartan potassium tablets in 4 dissolution media

表4 4种溶出介质中的 f_2

Tab 4 f_2 factors in 4 dissolution media

溶出介质	样品批号		
	161123	161206	161209
盐酸溶液(pH 3.0)	70.67	70.34	77.86
磷酸盐缓冲液(pH 4.5)	80.05	83.89	79.16
磷酸盐缓冲液(pH 6.8)	92.30	83.95	86.43
水	76.05	80.75	90.57

3 讨论

桨法的转速通常选用50和70 r/min^[13]。本试验通过对比氯沙坦钾片在该两种转速条件下的溶出曲线发现,在75 r/min条件下样品溶出速率高于50 r/min,但为了有利于考察不同制剂处方工艺的差别,溶出度试验应选择较低转速。故本试验选择转速为50 r/min。

本试验在不同pH溶出介质条件下对3批仿制药样品与原研药样品进行溶出试验,绘制溶出曲线。结果发

现,两种制剂在4种溶出介质中的溶出曲线 f_2 均达70以上,说明自研氯沙坦钾片与原研制剂的体外溶出曲线相似性较好。

参考文献

- [1] 曲辉,赵冰.氯沙坦钾治疗原发性高血压疗效观察[J].中国实用医药,2013,7(20):85-86.
- [2] 胡益蓉.氯沙坦钾治疗原发性高血压75例疗效分析[J].中国当代医药,2010,17(13):32-34.
- [3] 胡岚.氯沙坦钾片对糖尿病伴原发性高血压78例患者的疗效观察[J].海峡药学,2012,24(11):190-191.
- [4] 耿荣凯.氯沙坦钾片治疗原发性高血压的临床分析[J].现代养生,2016(11):147-148.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:121-124.
- [6] 吕亚军,嵇晓娜,谷志勇.盐酸马尼地平片仿制药与原研药的溶出度一致性评价[J].中国药房,2015,26(30):4291-4294.
- [7] 谢沐风.改善溶出度评价方法,提高固体药物制剂水平[J].中国医药工业杂志,2005,36(7):447-451.
- [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剂的内在质量[J].中国医药工业杂志,2009,40(12):946-955.
- [9] 夏锦辉,刘昌孝.固体药物制剂的体外溶出度的统计学评价分析[J].中国药学杂志,2000,35(2):130-131.
- [10] 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):243-245.
- [11] 贺玲,温海成,贾微.紫外分光光度法测定氯沙坦钾片溶出度的研究[J].中临床研究,2014(32):14-16.
- [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):308-310.
- [13] 国家食品药品监督管理总局.普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[EB/OL].(2015-02-05)[2017-01-03].<http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0087/114286.html>.

(收稿日期:2017-04-03 修稿日期:2017-07-25)

(编辑:刘柳)

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅