

# 阿齐沙坦片国产品溶出度试验方法的建立及与原研品体外溶出行为比较

唐了平<sup>1,2\*</sup>, 产运霞<sup>2</sup>, 马贵红<sup>2</sup>, 王立强<sup>3</sup>, 郭银汉<sup>1#</sup>(1.北京中医药大学中药学院, 北京 100029; 2.北京万生药业有限责任公司, 北京 101113; 3.北京元延医药科技有限公司, 北京 101102)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)17-1609-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.17.23

**摘要** 目的:建立阿齐沙坦片的溶出度试验方法,并将国产品与原研品进行溶出曲线比较,评价二者体外溶出行为的一致性。方法:筛选各溶出参数,采用紫外-可见分光光度法在246 nm波长处测定吸光度并计算溶出度;分别考察两种产品在pH 6.8磷酸盐缓冲液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、0.1 mol/L盐酸、水4种溶出介质中的溶出曲线,采用相似因子 $f_2$ 法与AV值法比较二者的溶出行为。结果:溶出方法采用桨法,转速为50 r/min,溶出介质为pH 6.8磷酸盐缓冲液;阿齐沙坦检测质量浓度线性范围为1.07~12.80  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9998$ ),平均回收率为99.32% (RSD=0.75%,  $n=3$ );在4种溶出介质中,两种产品的 $f_2$ 值均在50~100, AV平均值均小于15,表明二者相似性好。结论:建立的溶出度试验方法专属性强、灵敏、简便,能有效控制阿齐沙坦片的质量;同时国产品与原研品的体外溶出行为一致。

**关键词** 阿齐沙坦片;国产品;原研品;溶出行为;相似因子法;AV值法

## Establishment of Dissolution Test Method of Domestic Azilsartan Tablets and Comparison with Original Product of Dissolution Behavior *in vitro*

TANG Liao-ping<sup>1,2</sup>, CHAN Yun-xia<sup>2</sup>, MA Gui-hong<sup>2</sup>, WANG Li-qiang<sup>3</sup>, GUO Yin-han<sup>1</sup>(1.School of TCM, Beijing University of TCM, Beijing 100029, China; 2.Beijing Winsunny Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101113, China; 3.Beijing Yuanyan Medical Technology Co., Ltd., Beijing 101102, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the dissolution test method of Azilsartan tablets, and to compare dissolution curve of domestic product and original product and evaluate the consistency of dissolution behavior *in vitro* of them. METHODS: The dissolution parameters were selected, and the absorbance of Azilsartan tablets was determined by Ultraviolet-visible spectrophotometry at 246 nm. The dissolution curves of 2 kinds of products in 4 mediums were drew, such as pH 6.8 phosphate buffer, pH 4.5 acetate buffer, 0.1 mol/L hydrochloric acid, water. The dissolution behavior of 2 kinds of products were compared by using similar factor  $f_2$  and AV value. RESULTS: The dissolution of 2 kinds of products were determined by paddle method at rotation speed of 50 r/min using pH 6.8 phosphate buffer as medium. The linear range of azilsartan were 1.07-12.80  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9998$ ) with an average recovery of 99.32% (RSD=0.75%,  $n=3$ ). In 4 dissolution mediums, the value of  $f_2$  was between 50 and 100, and average AV value was less than 15, indicating that dissolution curves of 2 kinds of products had good similarity. CONCLUSIONS: The dissolution test method is sensitive, specific and simple. It can be used for the quality control of Azilsartan tablets. And dissolution behavior of domestic product and original product have good similarity.

**KEYWORDS** Azilsartan tablet; Domestic product; Original product; Dissolution behavior; Similar factor; AV value

阿齐沙坦是新一代选择性血管紧张素受体(AT)<sub>1</sub>亚型血管紧张素II受体拮抗药(ARBs),通过阻断AT<sub>1</sub>受体的活动达到降低血压的效果<sup>[1]</sup>;与血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)类降压药物相比,具有降压平稳、不会引起干咳的优点<sup>[2]</sup>。阿齐沙坦制剂目前上市的有片剂(商品名AZILVA),于2012年1月在日本获准上市;该药目前尚未在国内注册上市,但有相似产品正在研发。阿齐沙坦呈弱酸性,极难溶于水,因此阿齐沙坦片的溶出行为直接影响其体内生物利用度。为此,本研究建立了测定阿齐沙坦片溶出度的试验方法,并考察国产品与原研品在不同溶出介质中的溶出曲线,采用相似因子( $f_2$ )法与AV

值(即评价两条溶出曲线相似性的参数)法对其进行相似性评价,为其临床使用提供参考。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

ZB-1C药物溶出仪(天津大学精密仪器厂);UV-1800型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);BT125D型电子天平(北京赛多利斯公司)。

#### 1.2 药品与试剂

阿齐沙坦对照品(批号: DZ20120401, 纯度: 99.85%)、阿齐沙坦片(批号: 20130105、20130107、20130109, 规格: 每片20 mg)均由北京万生药业有限责任公司提供;原研品阿齐沙坦片(武田药品工业株式会社, 批号: 0002, 规格: 每片20 mg);磷酸二氢钾、氢氧化钠、盐酸、醋酸铵、冰醋酸均为分析纯。

\* 硕士研究生。研究方向:医药研发。E-mail: 642800788@qq.com

# 通信作者:研究员。研究方向:医药研发。电话:010-52165901。E-mail: guoyinhan@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 溶出方法的选择

2.1.1 试验装置。篮法和浆法是目前最为普及的法定溶出方法,均为各国药典所记载。对于片剂溶出度考察,大多采用浆法,故本方法采用浆法。

2.1.2 溶出介质的选择。取阿齐沙坦对照品适量,照溶解度试验法(2010年版《中国药典》二部凡例)<sup>[3]</sup>进行试验,考察阿齐沙坦在不同pH溶出介质中的溶解情况。结果阿齐沙坦对照品在pH 6.8磷酸盐缓冲液(以下简称PBS)中微溶,在pH 4.5醋酸盐缓冲液中极微溶解,在0.1 mol/L盐酸、水中几乎不溶。因此选择PBS为溶出介质。

2.1.3 溶出体积。由溶解度考察结果可知,本品在PBS中微溶,即10 ml中可溶解10 mg原料。本品的规格为每片20 mg,溶出介质在100 ml时就已符合漏槽条件(远大于饱和浓度的3~5倍);同时为减少试验操作过程中的稀释倍数,方便溶出度的测定,溶出介质体积选择900 ml。

2.1.4 溶出转速。按《口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》规定,溶出度试验过程中应该采用较缓和的转速,使溶出方法具有更好的区分能力,浆法转速一般为50~75 r/min<sup>[4]</sup>。同时将原研品在不同转速下进行溶出度试验:取原研品,照溶出度测定法(2010年版《中国药典》(二部)附录XC 第二法)<sup>[3]</sup>,以900 ml的PBS作为溶出介质,分别在转速为50、75 r/min条件下进行溶出曲线的测定( $n=6$ ),计算出相应的平均累积溶出度。结果两种转速下各值相似,且在溶出时间为20 min时,样品均溶出完全( $>95\%$ ),故选择较缓和的转速,即50 r/min。

### 2.2 溶出方法的建立

2.2.1 供试品溶液制备。取国产品,以PBS为溶出介质,体积为900 ml,转速为50 r/min;于30 min取溶出液适量,滤过,取续滤液5 ml置于10 ml量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液制备。取阿齐沙坦对照品10 mg,精密称定,置于500 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;再精密量取1 ml置于20 ml量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 测定条件。照紫外-可见分光光度法,在246 nm波长处分别测定吸光度,按外标法计算产品的溶出度。限度应为标示量的80%。

### 2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验。按处方比例以空白辅料制成空白片,取空白片与阿齐沙坦片及对照品,按“2.2”项下方法操作制备成供试品和对照品溶液后在200~400 nm波长范围内进行紫外扫描。结果供试品和对照品溶液均在246 nm波长处有最大的吸收,此波长下空白辅料未见吸收,故空白辅料不干扰主成分的测定。空白辅料和供试品溶液的紫外光谱图见图1。

2.3.2 线性关系考察。精密称取阿齐沙坦对照品10 mg,置于50 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液,用溶出介质依次稀释制成质量浓度约为1、2、3、5、10、12  $\mu\text{g/ml}$ 的溶液,摇匀,分别在246 nm波长处测定吸光度。以质量浓度( $x$ )为横坐标、吸光度( $y$ )为纵坐标,进行线性回归,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=0.0464x+0.0059$ ( $r=0.9998$ )。结果表明,阿齐沙坦检测质量浓度线性范围为1.07~12.80  $\mu\text{g/ml}$ 。

2.3.3 精密度试验。取“2.2.2”项下对照品溶液,在246 nm波长处测定其吸光度,重复6次,计算得RSD为0.35%( $n=6$ )。

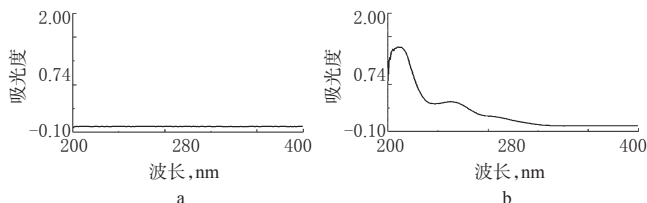


图1 紫外吸收光谱图

a.空白辅料;b.供试品

Fig 1 UV absorption spectrum

a. blank excipient; b. test sample

结果表明,仪器精密度良好。

2.3.4 溶液稳定性试验。取国产品制备成供试品溶液于室温放置,分别于0、1、2、4、6、8、10 h取样,246 nm波长处测定吸光度,计算得RSD为1.29%( $n=7$ )。结果表明,供试品溶液在室温下放置10 h稳定性良好。

2.3.5 回收率试验。精密称取阿齐沙坦对照品约10 mg,置于50 ml量瓶中,用甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。分别精密量取3、4、5 ml各置于100 ml量瓶中,再按处方比例加入空白辅料,用溶出介质稀释至刻度,摇匀,滤过,即得60%、80%和100%<sup>[5]</sup>的供试品溶液;另取贮备液5 ml,置于100 ml的量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。分别在246 nm波长处测定供试品溶液与对照品溶液的吸光度,计算回收率,结果阿齐沙坦在低、中、高水平的回收率平均值分别为99.78%、99.72%、98.46%,平均回收率为99.32%,RSD为0.75%( $n=3$ ),符合回收率试验要求。

## 3 溶出度的测定

分别取3批阿齐沙坦片国产品及1批原研品各6片,按“2.2”项下所述溶出度方法操作,在246 nm波长处分别测定吸光度,计算出样品的平均溶出百分率(限度为标示量的80%),应符合规定。结果3批国产品和1批原研品平均溶出百分率分别为99.89%、100.33%、100.32%、100.06%,RSD分别为0.64%、1.24%、0.91%、0.85%( $n=6$ )。

## 4 与原研品溶出曲线的比较

根据《口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》要求,分别以PBS、水、0.1 mol/L盐酸溶液及pH 4.5醋酸盐缓冲液为溶出介质,对国产品与原研品进行溶出度试验,同时绘制溶出曲线,评价二者的体外溶出行为。

取国产品(批号:20130105)与原研品各12片,照浆法,分别以4种溶液为溶出介质,体积为900 ml,转速为50 r/min,依法操作。分别于0、5、10、15、20、30、45、60 min取样10 ml,同时补加等温等体积相应的溶出介质10 ml,滤过,精密量取续滤液5 ml,置于10 ml的量瓶中,加相应的溶出介质至刻度,摇匀作为供试品溶液;测定吸光度,外标法计算出每片不同时间的累积溶出度,结果见表1、图2。

由表1和图2可见,两种产品在4种溶出介质中溶出行为相似,但均在以PBS为溶出介质时溶出更快、更完全。

在制剂的开发研究中,通过对比仿制产品与原研品间溶出曲线的相似性,可以评价仿制产品与原研品的质量一致性。近年来,国外针对溶出曲线的相似性评价方法报道很多,本文采用的是 $f_2$ 法与AV值法。

### 4.1 $f_2$ 法<sup>[4]</sup>

判定依据: $f_2$ 值在50~100时,可判定两条曲线相似。

表1 两种产品在4种溶出介质中的累积溶出度测定结果(%,  $\bar{x} \pm s, n=12$ )

Tab 1 Accumulative dissolution of 2 kinds of products in 4 dissolution mediums (% ,  $\bar{x} \pm s, n=12$ )

时间, min	PBS		水		0.1 mol/L 盐酸		pH 4.5 醋酸盐缓冲液	
	国产品	原研品	国产品	原研品	国产品	原研品	国产品	原研品
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	27.2±0.9	25.4±1.3	7.7±1.4	5.8±0.5	10.6±0.8	9.7±1.4	5.9±0.8	5.5±0.7
10	55.4±2.5	51.9±1.9	16.5±1.4	11.4±1.8	15.0±1.4	13.6±0.8	7.3±1.3	6.7±1.2
15	84.8±4.5	81.8±3.4	21.9±1.6	18.0±1.2	17.3±2.4	16.0±0.9	10.2±1.4	9.6±1.3
20	99.0±2.6	92.5±3.4	27.2±2.4	23.6±1.8	19.2±2.4	17.2±1.8	12.4±1.6	12.0±0.8
30	99.8±4.5	98.3±2.9	30.9±2.6	26.5±3.4	22.2±4.3	20.2±3.1	15.3±2.4	13.8±2.4
45	99.2±3.4	99.2±4.5	35.7±3.4	29.7±3.7	22.8±2.4	21.4±1.8	16.8±1.6	15.6±0.8
60	100.3±3.4	99.6±4.2	35.8±2.4	33.0±3.1	23.8±2.3	23.6±1.4	18.4±1.9	17.4±2.4

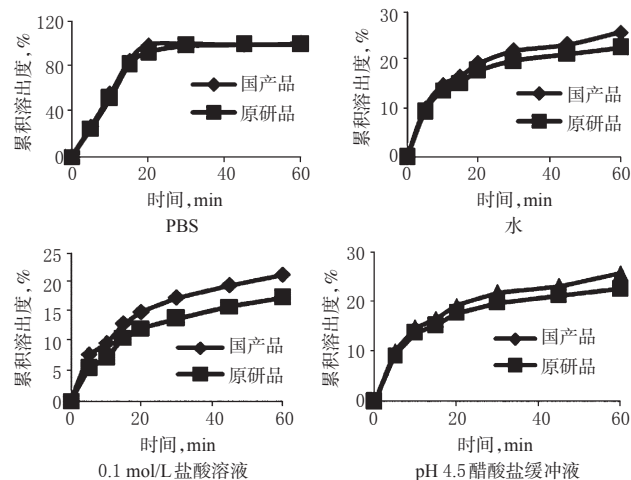


图2 两种产品在4种溶出介质中的溶出曲线

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

#### 4.2 AV 值法<sup>[6]</sup>

判定依据:排除溶出值小于10%的点和达到90%后的点,如全部有效点的AV值都 $\leq 15$ ,则两个产品溶出曲线整体相似;如部分有效点AV值 $\leq 15$ ,且所有有效点AV平均值 $\leq 15$ ,则认为两个产品溶出曲线基本相似;如AV平均值 $> 15$ ,则认为两个产品溶出曲线不相似。

采用 $f_2$ 法与AV值法评价国产品与原研品的溶出曲线结果见表2。

表2 两种产品在4种溶出介质中 $f_2$ 值与AV值的比较

Tab 2 Comparison of  $f_2$  and AV value of 2 kinds of products in 4 dissolution mediums

方法	PBS	水	0.1 mol/L 盐酸溶液	pH 4.5 醋酸盐缓冲液
AV值				
5 min	9.19			
10 min	9.68	10.54		8.53
15 min	9.72	10.33	4.98	7.79
20 min		9.36	5.97	8.77
30 min		9.72	6.35	8.08
45 min		9.71	6.18	8.65
60 min		8.28	6.18	10.50
平均值	9.53	9.66	7.88	8.72
$f_2$ 值	76	71	76	85

表2结果表明,表中全部有效点的AV值均 $\leq 15$ ,表明两条溶出曲线整体相似; $f_2$ 值均在50~100,表明两条溶出曲线相似。上述结果表明,在4种溶出介质中,通过两种评价方法的

比较,可认为国产品与原研品的体外溶出行为一致。

## 5 讨论

日本于1998年推出《药品品质在评价工程》,要求使用溶出曲线来严格和控制药品的内在品质,以保证口服固体制剂对于不同患者均能具有较高的生物利用度,使同一制剂的不同产品均能具有相同的生物等效性<sup>[7]</sup>。美国FDA仿制药办公室属下的生物等效部于2004年1月推荐采用溶出曲线来评价药品内在质量<sup>[8]</sup>。我国《国家药品安全“十二五”规划》要求提高仿制药质量,对未通过质量一致性评价的药品不予再注册,并注销其药品批准证明文件<sup>[9]</sup>。同时《药品注册管理办法》明确规定,仿制药与原研品所进行的质量一致性评价将作为申报注册的依据<sup>[10]</sup>。因此对仿制药而言,与原研品的溶出曲线一致或具有相似性,是评价仿制药与原研品一致性的重要指标。

本研究建立的阿齐沙坦片溶出度试验方法,具有专属性强、灵敏、简便等优点。分别采用美国FDA推荐使用的 $f_2$ 法及AV值法对国产品与原研品溶出曲线的相似性进行比较。 $f_2$ 法具有计算方便、无需模型拟合等优点,但该方法局限性在于仅使用了各时间点溶出百分率的均值,未考虑溶出百分率变异性,容易受取样时间点和点数的影响,同时最后一点设计对结果影响较大。而AV值法选取国产品与原研品各时间点的溶出百分率的差为统计量,用概率论和统计学进行分析,排除了溶出度百分率小于10%的点和达到90%后的点,考虑了溶出百分率的差和溶出百分率的离散度,但是仍为点与点的比较,不是整体曲线的比较,同样取样时间点及取样点数对结果影响较大。但二者结合可更好地判断两种产品溶出行为的相似性。本次试验结果显示,在4种溶出介质中,国产品与原研品的溶出行为一致。

## 参考文献

- [1] Rakugi H, Enya K. Azilsartan: a new angiotensin receptor blocker[J]. *Nihon Rinsho*, 2012, 70(9): 1 615.
- [2] Volpe M, Savoia C. New treatment options in the management of hypertension: appraising the potential role of azilsartan medoxomil[J]. *Integr Blood Pressure Control*, 2012 (5): 19.
- [3] 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: 凡例, 附录 23、85.
- [4] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 口服固体制剂溶出度试验技术指导原则[S]. 2012-11-19.
- [5] 郑国钢. 化学药品普通口服固体制剂溶出度方法验证易忽视的几个问题[EB/OL]. (2007-11-06)[2013-08-16]. <http://www.cde.org.cn/dzkw.do?method=largePage&id=2272>.
- [6] 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.
- [7] 谢沐风. 简介日本“药品品质在评价”工程(溶出度研究系列一)[J]. *中国药品标准*, 2005, 6(6): 42.
- [8] 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.
- [9] 国务院. 关于印发国家药品安全“十二五”规划的通知[S]. 2012-01-20.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 药品注册管理办法[S]. 2007-07-10.

(收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-05)