

自制和原研缬沙坦氨氯地平片质量对比研究

李 静^{1,2} 张 娜^{1*} 刘 璐²

1. 山东大学药学院 255000;

2. 山东新华制药股份有限公司 255000

【摘要】目的:为评估自制和原研参比制剂缬沙坦氨氯地平片体外质量一致性,我们进行了硬度、静态崩解时限、溶出度以及体外溶出曲线的研究。方法 测定了自制和原研参比制剂的硬度、静态崩解时限和溶出度, f2 相似因子法比较了自制和参比制剂在不同溶出介质中的溶出相似性。结果 自制和参比制剂的硬度略有差异,但静态崩解时限基本相同。此外,两种制剂在两种溶出介质中的溶出曲线的相似因子 f2 值均 > 50,表明它们的体外溶出行为相似。结论 自制和原研参比缬沙坦氨氯地平片在不同溶出介质中的溶出行为相似,为体内生物等效性研究提供依据。

【关键词】抗高血压药物;缬沙坦氨氯地平片;参比制剂;质量对比;硬度;静态崩解时限;溶出曲线;

Comparative study on quality of self-made and original valsartan and amlodipine tablets

LiJing Zhang Na* LiuJun

1、School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University;

2、Shandong Xinhua Pharmaceutical Company Limited

Abstract: Objective To evaluate the quality consistency of Valsartan and amlodipine tablets, the hardness, static disintegration time, dissolution rate and dissolution curve in vitro were studied. Methods The hardness, static disintegration time and dissolution of self-made and original reference preparations were determined. The dissolution similarity of self-made and reference preparations in different dissolution media was compared by f2 similarity factor method. Results The hardness of the self-made preparation and the reference preparation were slightly different, but the static disintegration time was basically the same. In addition, the similarity factor f2 values of the dissolution curves of the two formulations in the two dissolution media were both > 50, indicating that their dissolution behavior was similar in vitro. Conclusion The dissolution behavior of self-made and original reference Valsartan and amlodipine tablets in different dissolution media is similar, which provides a basis for bioequivalence study in vivo.

Keywords: Antihypertensive drugs; valsartan and amlodipine tablets; RLD; Quality contrast; Hardness; Static disintegration time limit; Dissolution profile

引言:

缬沙坦氨氯地平片(I)由诺华制药研究开发。2007年1月16日首次在欧盟获得上市许可,商品名 Exforge, 2009年9月29日在国内获批上市,用于治疗原发性高血压^[1],单药不能重复控制血压的患者。缬沙坦(valsartan)属于血管紧张素 II 受体拮抗剂类抗高血压药物,氨氯地平^[2](amlodipine)属于钙离子通道阻滞剂类抗高血压药物。目前,该产品国内有 25 个批准文号,我们选择仿制研究的规格为缬沙坦氨氯地平片(I)(每片含缬沙坦 80mg,氨氯地平 5mg),通过对自制和参比制剂进行全面的制剂的质量研究,评估二者质量一致性。

1. 材料与方法

1.1 仪器

ME204E 型万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);U3000 型高效液相色谱仪(Thermo 公司);708DS-850DS 型溶出仪(Agilent 公司);S210 型 pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司);V200 型片剂硬度仪(Varian, Inc.);ZB-1E 型片剂崩解仪(天津市天大天发科技有限公司)。

1.2 材料

材料:苯磺酸氨氯地平对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100374-201605,含量 100.0%);缬沙坦(中国食品药品检定研究院,批号 100651-201805,含量为 98.6%);缬沙坦氨氯地平片(参比制剂,批号 BU806,规格含缬沙坦 80mg/片、氨氯地平 5mg/片);缬沙坦氨氯地平片(自制制剂,批号 2001001,规格含缬沙坦 80mg/片、氨氯地平 5mg/片);三氟乙酸、乙腈、甲醇均为色谱纯,盐酸、磷酸二氢钾为分析纯,纯化水为自制。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件优化

1.3.1.1 检测波长选择

依次取苯磺酸氨氯地平对照品溶液和缬沙坦对照品溶液,进行全波长扫描,显示,氨氯地平在 237nm 波长处有最大吸收,缬沙坦在 273nm

波长处有最大吸收,当检测波长选择为 237nm 时,两种药物的检测灵敏度良好。

1.3.1.2 柱温优化

分别考察了 30℃、35℃和 40℃,实验结果显示,柱温变化 ± 5℃,考虑保留时间与分离度情况,确定柱温为 35℃。

1.3.1.3 流速优化

分别考察了 1.0、1.2 和 1.4ml/min,实验发现,色谱条件中流速变化 ± 0.2ml/min,两种药物的分离度较好,系统适用性符合要求,确定流速为 1.2ml/min。

1.3.1.4 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂^[3],乙腈-水-三氟乙酸(500:498:2)为流动相,流速为 1.2ml/min,检测波长为 237nm,柱温为 35℃,进样体积 10 μl。

1.3.2 方法学考察

1.3.2.1 对照品溶液的配制

试验精密称定取苯磺酸氨氯地平对照品约 14mg,另取缬沙坦对照品约 160mg,精密称定,置 100ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。精密量取贮备液 5ml,置 100ml 量瓶中,用溶出介质稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

1.3.2.2 供试品溶液配制

取溶出液 10ml,用聚四氟乙烯膜(直径 25mm,孔径 0.22 μm)滤过,弃去初滤液 6ml,取续滤液。

1.3.2.3 辅料溶液配制

称取空白辅料约 9mg,置 100ml 容量瓶中,用溶出介质稀释至刻度,摇匀,用聚四氟乙烯膜(直径 25mm,孔径 0.22 μm)滤过,弃初滤液 6ml,取续滤液作为各介质辅料溶液。

1.3.2.4 系统适用性试验

试验分别取对照品溶液、供试品溶液和辅料溶液,按照 1.3.1.4 项下

的色谱条件连续进样 5 次检测,并记录色谱图,计算结果显示,氨氯地平色谱峰与缬沙坦色谱峰的拖尾因子均 ≤ 2.0 ,氨氯地平峰与缬沙坦峰的分离度 ≤ 1.5 ,系统适用性符合要求。

1.3.2.5 线性考察

精密称定苯磺酸氨氯地平对照品约 3.5mg、缬沙坦对照品约 40mg,置 50ml 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,作为线性贮备液。(氨氯地平为 50 μ g/ml,缬沙坦为 800 μ g/ml)取贮备液适量,用溶出介质(pH6.8、pH4.5、pH1.2)逐级稀释至一系列浓度的线性溶液,配制成含有缬沙坦浓度为 4.0、8.0、16.0、40.0、64.0、80.0 和 96.0 μ g/ml 对照品溶液,氨氯地平浓度为 0.25、0.5、1.0、2.5、4.0、5.0、6.0 μ g/ml 对照品溶液。按照 1.3.1.4 项下的色谱条件进样检测,记录色谱图,以氨氯地平峰面积(y)为纵坐标,以两组分药物浓度(x)为横坐标进行线性回归,绘制方程,见下表 1

表 1 氨氯地平与缬沙坦在不同 pH 值溶出介质中的线性回归方程

药物组分	溶出介质 pH 值	回归方程	r 值
氨氯地平	1.2	y=18.84x-0.37	r=0.9994
	4.5	y=20707.7x-1972.0	r=0.9999
	6.8	y=20587.0x-1719.6	r=0.9997
缬沙坦	1.0	y=24.19x+28.69	r=0.9997
	4.5	y=25519.5x-3252.3	r=1.0000
	6.8	y=25431.0x+3213.1	r=0.9999

结果显示:以上三种溶出介质中氨氯地平在 0.25~6.0 μ g/ml 浓度范围内、缬沙坦在 4.0~96.0 μ g/ml 浓度范围内线性关系良好。

1.3.2.6 滤膜吸附性考察

取片剂研磨后细粉约 34mg,置 200ml 量瓶中,分别取 1.3.2.5 项下配制三种溶出介质 150ml,分别用各溶出介质稀释至刻度,摇匀,分别取适量溶液离心(3000r/min, 5min)和 0.22 μ m 和 0.45 μ m 滤膜滤过,分别取上述滤膜滤过和离心处理的供试品溶液,按 1.3.1.4 项下的色谱条件检测。结论:本品在 pH6.8 磷酸盐缓冲液、pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH1.2 盐酸介质中采用滤膜(聚四氟乙烯材质;0.22 μ m*25mm),取溶出液 10ml 弃初滤液 6ml,取续滤液作为供试品溶液,滤膜无干扰。

1.3.2.7 精密度试验

取 1.3.2.1 项下配制的对照品溶液,取 1.3.2.5 项下溶出介质 pH6.8 磷酸盐缓冲液,照拟定的溶出度检测方法,以 1000ml 溶出介质,转速为 75rpm,依法操作,经 30 分钟时,取溶出液 10ml,用聚四氟乙烯膜(25mm*0.22 μ m)滤过,弃初滤液 6ml,取续滤液作为供试品溶液,供试品溶液平行配制 6 份,按 1.3.1.4 项下的色谱条件检测,记录色谱图。

2. 结果

2.1 质量的对比研究

2.1.1 硬度及静态崩解时限研究

试验分别取自制和参比缬沙坦氨氯地平片各 5 片,通过硬度仪测定片剂硬度,自制制剂硬度为 6.3~9.0kp,参比制剂硬度 8.2~10.6kp 另取各 5 片,测定片剂的静态崩解时限,自制制剂时间为 175~292s,参比自制及时间为 167~271s。结论:两种缬沙坦氨氯地平片的静态崩解时限基本一致,硬度自制制剂硬度偏低。

2.1.2 溶出度对比研究

依据拟定的缬沙坦氨氯地平片溶出度方法,选择浆法,搅拌转速为 75rpm,溶出介质为 pH6.8 磷酸盐缓冲液,体积为 1000mL,温度为(37.0 \pm 0.5) $^{\circ}$ C,分别取自制与参比制剂各 6 片加入到溶出杯中,并启动搅拌浆,在 30min 时间点取溶出介质 10mL,弃去初滤液 6ml,经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,取续滤液,按照 1.3.1.4 项下色谱条件进行检测,分别记录缬沙坦和氨氯地平的峰面积,并计算两组分的溶出度,氨氯地平溶出度为自制:91.5%,参比:89.6%和缬沙坦溶出度为自制:99.7 参比:96.0%,均不低于标示量的 80%,与参比制剂一致。

2.1.3 溶出相似性比较

比较 1.3.2.5 项下三种溶出介质中的溶出曲线相似性,以评估自制与参比制剂质量的一致性^[4-6]。选择 2.2.2 项下自拟定的测定缬沙坦氨氯地平片溶出度方法。分别取自制与参比制剂各 6 片加入到溶出杯中,启动搅拌浆,分别在时间点按照 1.3.2.2 制备供试品溶液,按照 1.3.1.4 项下色谱条件进行检测,分别记录缬沙坦和氨氯地平的色谱峰面积,并计算两种药物的溶出度,将溶出结果带入到下图中公式中计算相似因子(f₂),根据 f₂ 值比较自制与参比制剂在各溶出介质中的溶出曲线相似性。

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

表 2 自制和参比的溶出数据-氨氯地平

介质	样品	5min	10min	15min	20min	30min	45min	60min	90min	120min	f2 (BU806)
pH6.8	2001001	58.1	82.6	92.8	95.6	95.6	96.7	97.3	96.9	95.8	15min 累积溶出度 > 85%, 判定相似
	BU806	45.1	70.7	85.7	86.5	87.5	87.1	88.5	87.7	88.3	
pH1.2	2001001	69.8	84.0	86.3	87.1	88.2	88.9	89.8	90.4	90.8	15min 累积溶出度 > 85%, 判定相似
	BU806	65.5	78.5	85.8	86.9	88.3	88.7	88.3	89.4	89.4	
pH4.5	2001001	11.5	24.3	36.8	47.1	63.4	77.1	85.1	93.9	95.6	63
	BU806	13.8	26.9	35.5	43.5	54.7	66.8	74.1	81.2	85.4	

表 3 自制样品和参比制剂的溶出数据-缬沙坦

介质	样品	5min	10min	15min	20min	30min	45min	60min	90min	120min	f2 (BU806)
pH6.8	2001001	89.0	98.9	99.6	99.5	99.3	99.6	99.4	99.4	99.4	15min 累积溶出度 > 85%, 判定相似
	BU806	90.0	98.9	100.3	100.1	100.7	100.4	100.4	99.5	101.6	
pH1.2	2001001	3.5	6.7	10.2	13.4	18.7	25.6	30.9	39.8	46.0	85
	BU806	1.8	5.8	9.3	12.6	18.0	24.5	29.6	37.0	42.8	
pH4.5	2001001	21.5	39.2	51.4	60.5	74.3	84.1	90.0	95.8	97.6	70
	BU806	25.6	40.3	50.6	58.5	69.3	79.9	85.9	91.7	94.8	

自制制剂和参比制剂中氨氯地平在 pH6.8 和 pH1.2 介质中、缬沙坦在 pH6.8 介质中在 15 分钟时溶出量均能达 85% 以上,快速溶出;氨氯地平在 pH1.2、缬沙坦在 pH1.2 和 pH4.5 介质中,缓慢溶出, f₂ 值均 > 50,与参比制剂溶出行为一致,自制制剂与原研参比制剂体外溶出相似。

3. 讨论

经查询氨氯地平是 BCS I 类药物,高溶解高渗透,口服治疗剂量的氨氯地平绝对生物利用度为 64%~80%。缬沙坦为 BCS II 类药物,平均绝对生物利用度为 23% ($\pm 7\%$),吸收较差,缬沙坦难以达到生物等效^[7]。本研究通过比较自制制剂和参比制剂在不同溶出介质中缬沙坦和氨氯地平的溶出曲线相似性,开发了能同时测定两种药物含量的 HPLC 检测方法,该方法能够有效分离准确测定氨氯地平溶出和缬沙坦介质中的含量,体外溶出曲线相似性研究为体内生物等效性试验提供强有力的技术支持。

参考文献:

[1] 缬沙坦/氨氯地平单片复方制剂在高血压治疗中的应用.戴彤,张抒扬.中华高血压杂志, 2011

[2] 苯磺酸氨氯地平片在中国健康受试者中的生物等效性研究.高茸,马亚中,赵海霞,王肇源,张伟红,袁海龙.中国临床药理学与治疗学, 2022

[3] UPLC 法同时测定缬沙坦氨氯地平片复方制剂的含量.王威,杜晓思. Chinese Journal of New Drugs 2020

[4] 复方缬沙坦氨氯地平片的粉末直接压片处方研究及溶出曲线一致性评价.张相山,周燕.化工设计通讯, 2022

[5] 多潘立酮片体外溶出的一致性评价.王海莹;杨星钢;魏斌斌;潘卫三.沈阳药科大学学报, 2021

[6] 复方氨氯地平阿托伐他汀钙片制备工艺一致性研究.陈振阳;胡瑞祥;倪宇翔;曾环想.中国新药杂志, 2018

[7] 复方缬沙坦片生物不等效性原因分析.邵坦;张逸凡;詹燕;陈笑艳;钟大放.药理学学报, 2014