

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.13.019

尼群地平片溶出度一致性评价研究*

程新杰^{1,2}, 徐艳梅¹, 郝丽娟¹, 赫玉霞³, 高燕霞^{1,Δ}

(1. 河北省药品医疗器械检验研究院, 河北 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第二医院药学部, 河北 石家庄 050000; 3. 石药集团中奇制药技术<石家庄>有限公司·河北省制技工程技术研究中心·新型药物制剂与辅料国家重点实验室, 河北 石家庄 050035)

摘要:目的 建立尼群地平片溶出度的测定方法, 评价国产仿制药和参比制剂溶出曲线的相似性。方法 采用桨法测定, 转速为 100 r/min, 分别以 900 mL 水-0.15% 吐温-80、pH 1.2 氯化钠盐酸溶液-0.15% 吐温-80、pH 4.0 醋酸盐缓冲液-0.15% 吐温-80、pH 6.8 磷酸盐缓冲液-0.15% 吐温-80 为溶出介质, 采用高效液相色谱法测定尼群地平片的溶出度, 计算累积溶出量(%), 绘制溶出曲线, 并采用相似因子法评价溶出曲线的相似性。结果 在 4 种不同 pH 的溶出介质中, 尼群地平质量浓度在 1~120 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r \geq 0.9997$, $n=6$), 精密度、重复性和稳定性试验结果的 RSD 均小于 2.00% ($n=6$); 45 min 或 60 min 时仿制药的累积溶出量均小于 85%, 国产仿制药和参比制剂溶出曲线的 f_2 均小于 50。结论 尼群地平片仿制药和参比制剂的溶出行为不一致, 其质量和生产工艺有待提高; 所建立的方法适用于尼群地平片溶出曲线的测定, 可为尼群地平片的溶出度一致性评价提供参考。

关键词: 尼群地平片; 仿制药; 参比制剂; 相似因子法; 溶出曲线; 一致性评价

中图分类号: R917; R972+.4 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2022)13-0083-05

Consistency Evaluation of Dissolution of Nitrendipine Tablets

CHENG Xinjie^{1,2}, XU Yanmei¹, HAO Lijuan¹, HE Yuxia³, GAO Yanxia¹

(1. Hebei Institute for Drug and Medical Device Control, Shijiazhuang, Hebei, China 050011; 2. Department of Pharmacy, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050000; 3. CSPC Zhong-Qi Pharmaceutical Technology <Shijiazhuang> Co., Ltd. · Hebei Pharmaceutical Engineering & Technology Research Center · State Key Lab. of Novel Pharmaceutical Preparation and Excipients, Shijiazhuang, Hebei, China 050035)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of the dissolution of Nitrendipine Tablets, and to evaluate the similarities of the dissolution profiles of the domestic generic drug and reference preparation of Nitrendipine Tablets. **Methods** The paddle method was adopted, the rotation speed was 100 r/min, and 900 mL of water-0.15% tween-80, sodium chloride-hydrochloric acid solution with pH 1.2-0.15% tween-80, acetate buffer solution (ABS) with pH 4.0-0.15% tween-80 and phosphate buffer solution (PBS) with pH 6.8-0.15% tween-80 were used as the dissolution media. The dissolution of Nitrendipine Tablets was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method to calculate the cumulative dissolution amounts (%) and draw the dissolution profiles of Nitrendipine Tablets. The similarities of the dissolution profiles were evaluated by the similarity factor method. **Results** In the four kinds of dissolution media with different pH, the mass concentration of nitrendipine had a good linear relationship with the peak area in the range of 1-120 μg/mL ($r \geq 0.9997$, $n=6$). The RSDs of precision, repeatability and stability tests were less than 2.00% ($n=6$). The cumulative dissolution amount of the generic drug at 45 min or 60 min was less than 85%. The f_2 of dissolution profiles of the domestic generic drug and reference preparation was less than 50. **Conclusion** Nitrendipine Tablets generic drug has inconsistent dissolution behavior with the reference preparation, their quality and production process need to be improved. The established method is suitable for the determination of the dissolution profile of Nitrendipine Tablets, which can provide a reference for the consistency evaluation of the dissolution of Nitrendipine Tablets.

Key words: Nitrendipine Tablets; generic drug; reference preparation; similarity factor method; dissolution profile; consistency evaluation

* 基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目[216Z4802G]。

第一作者: 程新杰, 女, 在读硕士研究生, 药师, 研究方向为中药药效物质基础, (电子信箱)1073840805@qq.com。

Δ 通信作者: 高燕霞, 女, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为药品质量控制, (电话)0311-69086005(电子信箱)657968434@qq.com。

- 中国医药科技出版社, 2020: 480-483.
- [8] 张静霞, 唐克慧, 李喆宇, 等. 阿奇霉素有关物质检测方法研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(11): 876-880
- [9] AL-RIMAWI F, KHAROUF M. Analysis of azithromycin and its related compounds by RP-HPLC with UV detection[J]. J Chromatogr Sci, 2010, 48(2): 86-90.
- [10] 寇晋萍, 王成刚, 王国兰, 等. 反相梯度 HPLC 测定注射用阿奇霉素有关物质[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(15): 1301-1308.
- [11] MIGUEL L, BARBAS C. LC determination of impurities in azithromycin tablets[J]. J Pharm Biomed Anal, 2003, 33(2): 211-217.
- [12] 徐伟. 阿奇霉素的含量及有关物质的 HPLC 方法学研究[J]. 中国处方药, 2021, 19(3): 37-38.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 395-397.

(收稿日期: 2021-11-15; 修回日期: 2022-01-14)

尼群地平为二氢吡啶类钙通道拮抗剂^[1-2],可对血管平滑肌及心肌的跨膜钙离子内流产生抑制作用,且血管选择性较强,引起冠状动脉、肾小动脉等全身血管扩张而发挥降压作用,临床主要用于治疗高血压和冠状动脉粥样硬化性心脏病^[3-6]。国产仿制药的质量参差不齐,迫切需要对其进行一致性评价,以提高其质量与疗效^[7-8]。口服固体制剂内在品质的重要指标是溶出度,可通过体外模拟制剂在胃肠道中的释放过程来实现,与生物利用度密切相关。在不同pH介质中测定制剂的溶出曲线,可更直观地反映药物在体内的释放速率与程度^[9]。本研究中以尼群地平片为模型药物,采用高效液相色谱法检测尼群地平含量,测定不同厂家尼群地平片在不同pH溶出介质中的溶出度,采用相似性因子法与参比制剂^[10]的溶出曲线进行对比,建立了尼群地平片体外溶出度的一致性评价方法,可为尼群地平片仿制药的质量评价和处方工艺改进提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司); EDT-14Lx型自动溶出仪(英国Electrolab公司); XS105型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为十万分之一); PB-20型酸度计(德国Sartorius公司); Milli-Q纯水制造系统(美国Millipore公司)。

1.2 试药

尼群地平对照品(中国食品药品检定研究院,批号为100585-201705,含量为99.9%);尼群地平片(市售仿制药,规格均为每片10 mg, A厂,批号分别为H1709014, H1709015, H1709016; B厂,批号分别为376171002, 376171003, 376171004);尼群地平片(原研制剂, Bayer Vital GmbH,批号为BJ33777,规格为每片10 mg);甲醇、乙腈、四氢呋喃(色谱纯,德国默克股份有限公司);水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax Eclipse XDB C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-四氢呋喃-水(5:6:14, V/V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:25℃;检测波长:356 nm;进样量:20 μL。

2.2 溶出条件^[11-12]

采用桨法测定,转速为100 r/min,溶出介质体积为900 mL,温度为(37 ± 0.5)℃,以4种区分能力较强的溶剂为溶出介质^[12]。水:取纯化水,添加0.15%吐温-80,摇匀,即得;pH 1.2氯化钠盐酸溶液:取氯化钠2.0 g和盐酸7 mL,加水至1 000 mL,添加0.15%吐温-80,摇匀,即得;pH 4.0醋酸盐缓冲液:取0.05 mol/L醋酸

3.0 mL,加水至1 000 mL,加氢氧化钠调pH至4.0,添加0.15%吐温-80,摇匀,即得;pH 6.8磷酸盐缓冲液:取0.2 mol/L磷酸二氢钾溶液250 mL、0.2 mol/L氢氧化钠溶液118 mL,加水至1 000 mL,添加0.15%吐温-80,摇匀,即得^[12]。取样时间点分别为5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min。

2.3 溶液制备

取尼群地平对照品28 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得质量浓度为280 μg/mL的对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液适量,分别加入2.2项下4种溶出介质稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度均为5.6 μg/mL的对照品溶液。取样品(批号分别为H1709014, H1709015, H1709016, 376171002, 376171003, 376171004)各6片,溶于900 mL 4种溶出介质中,按2.2项下条件进行溶出试验,由自动溶出仪取样,即为供试品溶液。取尼群地平片(批号为BJ33777)6片,按供试品溶液制备方法制备参比制剂溶液。以不同pH的溶出介质作为空白溶液。

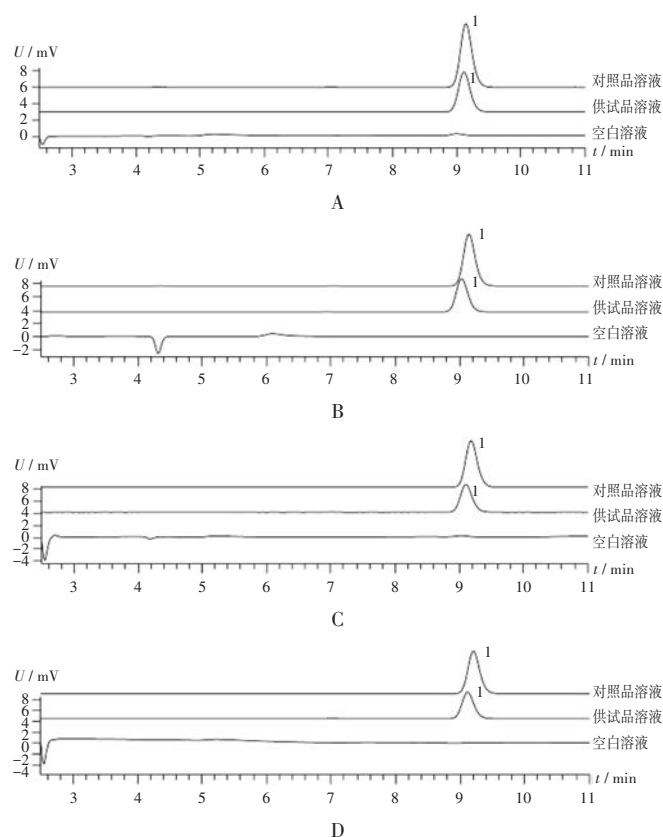
2.4 方法学考察

系统适用性试验:取2.3项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果对照品溶液和供试品溶液色谱图中尼群地平色谱峰保留时间相同,且空白溶液不干扰测定,表明方法专属性良好。色谱图见图1。

线性关系考察:取尼群地平对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,得质量浓度为1 mg/mL的尼群地平对照品贮备液。分别精密量取上述对照品贮备液0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 1.20 mL,置10 mL容量瓶中,加入2.2项下4种溶出介质定容,摇匀,制成质量浓度分别为1, 5, 10, 50, 100, 120 μg/mL的系列工作溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以尼群地平质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程。结果见表1。

精密度试验:取2.3项下对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件重复进样测定6次,记录色谱图。计算RSD。结果在水、pH 1.2氯化钠盐酸溶液、pH 4.0醋酸盐缓冲液和pH 6.8磷酸盐缓冲液不同溶出介质中,尼群地平峰面积的RSD分别为0.05%, 0.37%, 0.15%, 0.20%(n=6),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为376171002)20片,研细,取适量,精密称定,约相当于尼群地平片10 mg,置100 mL容量瓶中,加溶出介质适量,振荡使溶解,定容,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,弃去至少10 mL初滤液,精密量取续滤液适量,加溶出介质稀释成每1 mL中含5.6 μg的溶液,平行制备6份,按2.1项下色谱条件



1. 尼群地平

A. 水 B. pH 1.2 氯化钠盐酸溶液 C. pH 4.0 醋酸盐缓冲液
D. pH 6.8 磷酸盐缓冲液

图1 专属性试验高效液相色谱图

1. Nitrendipine

A. Water B. Sodium chloride - hydrochloric acid solution with pH 1.2
C. ABS with pH 4.0 D. PBS with pH 6.8

Fig. 1 HPLC chromatograms of the specificity test

表1 尼群地平线性关系考察结果 (n = 6)

Tab. 1 Results of linear relation test of nitrendipine (n = 6)

溶出介质	线性回归方程	r	线性范围(μg/mL)
水	$Y = 993.45 X + 1578.1$	0.9999	1~120
pH 1.2 氯化钠盐酸溶液	$Y = 993.96 X + 1369.1$	0.9999	1~120
pH 4.0 醋酸盐缓冲液	$Y = 983.31 X + 1536.8$	0.9997	1~120
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	$Y = 999.66 X + 1339.1$	0.9999	1~120

进样测定,记录色谱图,并计算平均累积溶出量。结果在水、pH 1.2 氯化钠盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液不同介质中,供试品溶液平均累积溶出量的RSD分别为0.52%,1.80%,1.90%,1.32% (n = 6),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取2.3项下4种不同pH溶出介质中取样时间点为45 min时的供试品溶液,分别于室温下放置0,2,4,6,8,12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并计算RSD。结果水、pH 1.2 氯化钠盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液不同

溶出介质中尼群地平峰面积的RSD分别为0.86%,0.74%,0.91%,0.64% (n = 6),表明取样时间点为45 min的供试品溶液于室温下放置12 h内稳定性良好。

耐用性试验:取2.3项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各适量,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。分别调节流速(1.2 mL/min和0.8 mL/min)、流动相乙腈比例(15%和25%)、柱温(20℃和30℃)、检测波长(354 nm和358 nm),并使用不同色谱柱[Agilent Zorbax Eclipse XDB C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)和Epic C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm, 120 Å)],以及不同生产厂家的液相色谱仪(LC-20AT型高效液相色谱仪,日本岛津公司;WATERS e2695型高效液相色谱仪,美国Waters公司)等耐用性因素进行试验^[13-14]。结果供试品溶液中尼群地平的峰面积基本一致,表明方法耐用性良好。

2.5 样品溶出度测定

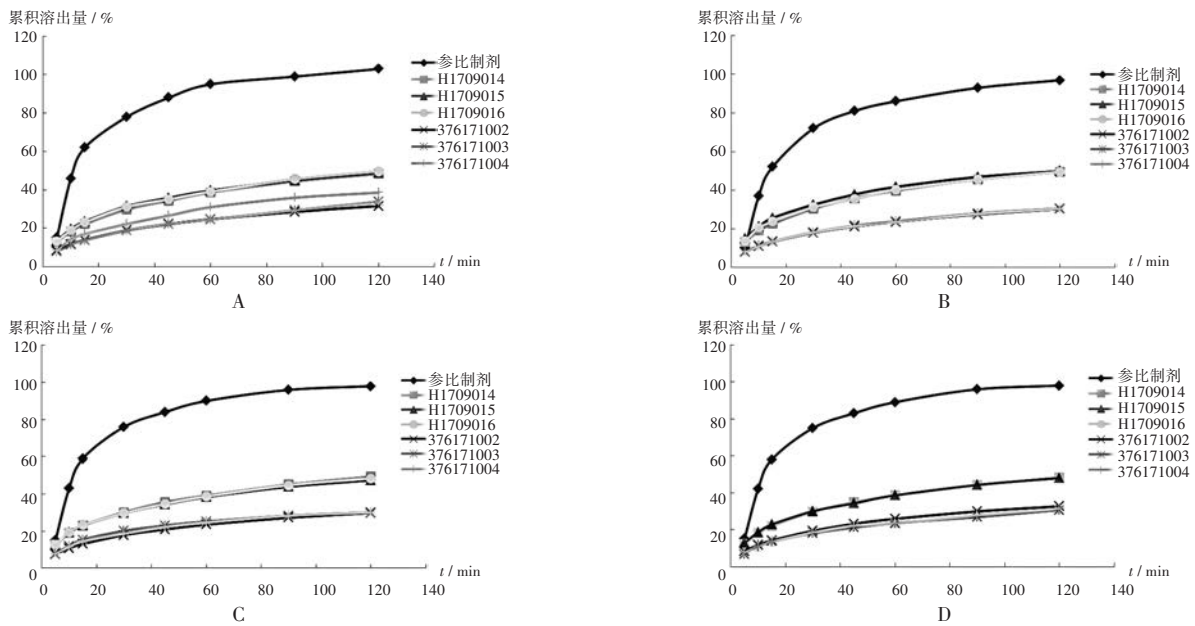
取样品(批号分别为H1709014, H1709015, H1709016, 376171002, 376171003, 376171004)6片,按2.2项下溶出条件进行溶出试验,分别于5,10,15,30,45,60,90,120 min时取样。分别将上述各时间点的供试品溶液及2.3项下对照品溶液注入液相色谱仪,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,以外标法计算累积溶出量。以累积溶出量(%)为纵坐标、溶出时间(min)为横坐标绘制溶出曲线,尼群地平片仿制药与参比制剂^[10]在不同pH溶出介质中的溶出曲线见图2。结果两个厂家6批药品的累积溶出曲线与参比制剂的溶出曲线差异明显。

2.6 溶出曲线相似性判定^[15]

取2批样品(A厂批号H1709015, B厂批号376171004),按2.2项下方法进行溶出试验。结果45 min时,A厂样品在水中溶出量为35.78%,而B厂样品为26.53%;60 min时,A厂样品在另外3种不同溶出介质中的溶出量为38.40%~41.74%,而B厂样品仅为23.42%~24.58%,这与参比制剂45 min或60 min时85%以上的溶出量相差甚远,且 f_2 均小于50。可见,2个厂家的尼群地平片在水、pH 1.2 氯化钠盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液和pH 6.8 磷酸盐缓冲液不同溶出介质中的溶出行为均不满足相似要求,溶出速度均低于参比制剂,且溶出不完全。详见表2。

3 讨论

我国作为仿制药大国,仿制药质量参差不齐,对药品的安全性和有效性评价造成了严重影响。为全面提高仿制药的内在品质和制药企业的综合能力,同时确保人民用药安全,并降低医疗费用的支出,开展仿制药一致性评价工作十分必要。测定参比制剂和仿制药在不同溶



A. 水 B. pH 1.2 氯化钠盐酸溶液 C. pH 4.0 醋酸盐缓冲液 D. pH 6.8 磷酸盐缓冲液

图2 尼群地平片仿制药和参比制剂在4种不同溶出介质中的溶出曲线 (n = 6)

A. Water B. Sodium chloride - hydrochloric acid solution with pH 1.2 C. ABS with pH 4.0 D. PBS with pH 6.8

Fig. 2 Dissolution profiles of the generic drug and reference preparation of Nitrendipine Tablets in four kinds of different dissolution media (n = 6)

表2 尼群地平片仿制药和参比制剂在4种不同溶出介质中的平均累积溶出量和 f_2 值

Tab. 2 Average cumulative dissolution amount and f_2 values of generic drug and reference preparation of Nitrendipine Tablets in four kinds of different dissolution media

溶出 介质	药品 厂家	平均累积溶出量(%)								f_2
		5 min	10 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	
水	R	15.00	46.00	62.00	78.00	88.00	95.00	99.00	103.00	-
	A	13.28	19.51	23.46	31.42	35.78	39.64	45.09	49.03	21.21
	B	8.34	14.06	16.90	22.14	26.53	30.95	35.86	38.54	17.46
pH 1.2 氯化钠 盐酸溶液	R	10.00	37.00	52.00	72.00	81.00	86.00	93.00	97.00	-
	A	14.88	20.96	25.64	32.48	37.76	41.74	46.92	49.88	24.35
	B	7.91	10.82	13.28	18.18	21.32	23.45	27.73	30.25	16.98
pH 4.0 醋 酸盐缓 冲液	R	15.00	43.00	59.00	76.00	84.00	90.00	96.00	98.00	-
	A	12.54	19.19	23.12	29.78	34.47	38.40	44.01	47.48	20.46
	B	7.82	11.50	14.52	18.58	22.22	24.58	28.37	30.24	15.48
pH 6.8 磷 酸盐缓 冲液	R	15.00	42.00	58.00	75.00	83.00	89.00	96.00	98.00	-
	A	12.79	18.60	22.83	30.02	34.31	38.59	44.23	48.00	20.92
	B	7.70	10.79	13.38	18.45	22.23	23.42	27.79	31.36	15.64

注: R 为参比制剂, - 为无法计算。

Note: R refers to the reference preparation, and - indicates that the f_2 value cannot be calculated.

出介质中的溶出曲线, 并采用相似因子法判定其体外溶出度差异, 是评价口服固体制剂内在品质的重要手段^[16]。目前, 国家药品监督管理局推荐使用此方法, 也是口服固体制剂一致性评价中使用最广泛的方法。

通过比较尼群地平片仿制药与参比制剂在4种不

同pH溶出介质中的溶出度, 可以观察到市售仿制药与参比制剂的溶出曲线并不相似, 说明存在一定质量差异。分析其原因, 可能为仿制药的原料、辅料的种类和质量、生产工艺等。仿制药生产企业需要综合评价和考虑原料、辅料和处方工艺的影响, 进一步优化产品及处方工艺, 提升仿制药与参比制剂的相似度。

采用相似因子法判断仿制药与参比制剂之间溶出曲线的相似性, 当2条溶出曲线的 $f_2 \geq 50$ 时, 表示溶出度相似。仿制药与参比制剂的平均累积溶出量达到85%以上的取样点不超过1个。参比制剂在水中45 min时平均累积溶出量为88.00%, 故选取的时间点为5, 10, 15, 30, 45 min; 在另外3种溶出介质中60 min时平均累积溶出量至少达86.00%, 故选取的时间点为5, 10, 15, 30, 45, 60 min。

本研究中建立了测定尼群地平片仿制药在不同pH溶出介质中溶出度的高效液相色谱法, 绘制溶出曲线, 并与参比制剂的溶出曲线进行比较。结果显示, 2个厂家的6批尼群地平片仿制药和参比制剂相比, 溶出曲线均不相似, 溶出速度慢且不完全, 说明仿制药和参比制剂溶出行为不一致, 其质量与生产工艺有待提高。本方法适用于尼群地平片仿制药溶出度的测定, 可为尼群地平片仿制药的质量一致性评价提供参考。

参考文献

- [1] 黎月玲, 郑企琨, 黄作君, 等. 尼群地平固体分散体的体外溶出特性[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(12): 9-11.
- [2] SANTIAGO TM, LOPEZ LM. Nitrendipine: a new dihydropyri-