

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.24.012

盐酸拉贝洛尔片仿制制剂与参比制剂溶出曲线相似性研究*

郝丽娟, 徐艳梅, 苗会娟, 王春霞, 高燕霞[△]

(河北省药品医疗器械检验研究院·仿制药质量控制与评价重点实验室, 河北 石家庄 050227)

摘要:目的 建立盐酸拉贝洛尔片溶出度的测定方法, 评价盐酸拉贝洛尔片仿制制剂与参比制剂溶出曲线的相似性。方法 采用浆法, 以高效液相色谱(HPLC)法测定制剂在4种溶出介质(pH1.2盐酸溶液、水、pH4.0醋酸盐缓冲液和pH6.8磷酸盐缓冲液)中的溶出量, 色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(25:75, V/V), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为230 nm, 柱温为40℃, 进样量为20 μL; 计算累积溶出度, 绘制溶出曲线, 并采用相似因子(f_2)法评价溶出曲线的相似性。结果 盐酸拉贝洛尔在4种溶出介质中的质量浓度均在10.11~1 011.00 μg/mL($r=0.9997, 0.9998, 0.9996, 0.9999$)范围内与峰面积线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于1.5%。以参比制剂为对照, B厂仿制制剂样品以pH1.2盐酸溶液和pH6.8磷酸盐缓冲液为溶出介质时所得溶出曲线与参比制剂具有相似性, C厂仿制制剂在4种溶出介质中均无此相似性。结论 本方法适用于测定盐酸拉贝洛尔片的溶出度, 可为盐酸拉贝洛尔片仿制制剂的质量一致性评价提供参考。

关键词: 盐酸拉贝洛尔片; 溶出曲线; 相似因子法; 一致性评价

中图分类号: R917; R972 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2022)24-0051-05

Similarity of Dissolution Profiles Between the Imitative Preparation and Reference Preparation of Labetalol Hydrochloride Tablets

HAO Lijuan, XU Yanmei, MIAO Huijuan, WANG Chunxia, GAO Yanxia

(Hebei Institute for Drug and Medical Device Inspection · NMPA Key Laboratory for Quality Control and Evaluation of Generic Drug, Shijiazhuang, Hebei, China 050227)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of the dissolution of Labetalol Hydrochloride Tablets, and to evaluate the similarity of the dissolution profiles between the imitative preparation and the reference preparation. **Methods** The dissolution of the preparation in four kinds of dissolution media (pH 1.2 hydrochloric acid solution, water, pH 4.0 acetate buffer and pH 6.8 phosphate buffer) was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method with paddle method. The chromatographic column was Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (25:75, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 230 nm, the column temperature was 40℃, and the injection volume was 20 μL. The cumulative dissolution was calculated, the dissolution profile was drawn, and the similarity factor (f_2) method was used to evaluate the similarity of dissolution profiles. **Results** The mass concentration of labetalol hydrochloride in four kinds of dissolution media showed a good linear relationship with the peak area in the range of 10.11-1 011.00 μg/mL ($r=0.9997, 0.9998, 0.9996, 0.9999$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 1.5%. With the reference preparation as the control, the dissolution profile of the imitative preparation sample from manufacturer B with hydrochloric acid solution (pH 1.2) and phosphate buffer (pH 6.8) as the dissolution medium was similar to that of the reference preparation, while the imitative preparation sample from manufacturer C has no such similarity in the four kinds of dissolution media. **Conclusion** The method is suitable for the determination of the dissolution of Labetalol Hydrochloride Tablets, and can provide a reference for the quality consistency evaluation of the imitative preparation of Labetalol Hydrochloride Tablets.

Key words: Labetalol Hydrochloride Tablets; dissolution profile; similarity factor method; consistency evaluation

盐酸拉贝洛尔收录于2018年版《国家基本药物目录》,用于治疗高血压和心绞痛,同时具有 α_1 受体和 β 受体拮抗作用,因其不进入母胎循环,广泛用于治疗妊娠期高血压^[1-2],与其他药物联用可取得较好妊娠效果^[3-5],因此对其安全性和有效性均有更严格的要

求。国家药品监督管理局(NMPA)网站显示,我国有8家企业具备生产盐酸拉贝洛尔片仿制制剂的资格,但均未开展该药的一致性评价工作,不符合“十三五”规划要求,亟须改进。本研究中以NMPA发布的仿制药参比制剂目录(第十批)为依据,按《普通口服固体制剂溶出

*基金项目:河北省中央引导地方科技发展资金项目[216Z4802G];河北省医学科学研究课题[20211193]。

第一作者:郝丽娟,女,硕士研究生,工程师,研究方向为药品质量控制,(电子信箱)454369979@qq.com。

[△]通信作者:高燕霞,女,硕士研究生,主任药师,硕士生导师,研究方向为药品质量控制,(电子信箱)657968434@qq.com。

度试验技术指导原则》^[6],采用高效液相色谱(HPLC)法测定盐酸拉贝洛尔片仿制制剂和参比制剂(Aspen Japan K. K. 公司)在4种溶出介质(水、pH1.2盐酸溶液、pH4.0醋酸盐缓冲液和pH6.8磷酸盐缓冲液)中的溶出度,采用相似性因子(f_2)法^[7-9]评价仿制制剂与参比制剂溶出曲线的相似性,为盐酸拉贝洛尔片仿制制剂的质量一致性评价工作提供参考。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Shimadzu公司);EDT-14Lx型智能溶出试验仪(上海仪真分析仪器有限公司);Logan UDT-814型智能溶出度试验仪(美国Logan公司);XS105型电子分析天平(梅特勒-托利多国际贸易<上海>有限公司,感量为0.01 mg);PB-20型酸度计(德国Sartorius公司)。

1.2 试药

盐酸拉贝洛尔对照品(美国TLC公司,批号为1744-096A1,含量99.8%);盐酸拉贝洛尔片(参比制剂,A厂,批号为2W4J,规格为每片50 mg);盐酸拉贝洛尔片(仿制制剂,B厂,批号分别为08181102,20170304,08180502;C厂,批号分别为180901,180201,180601;规格均为每片50 mg);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(25:75, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:40 ℃;进样量:20 μL。

2.2 溶出条件

依据日本橙皮书^[10]、《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》^[11]、原国家食品药品监督管理局药品审评中心药品体外溶出试验信息库^[12],以浆法测定溶出度,条件为,转速50 r/min,溶出介质900 mL,温度(37 ± 0.5)℃;选择的4种溶出介质分别为pH 1.2盐酸溶液(精密量取盐酸7.65 mL,加水稀释至1 000 mL混匀制成)、水、pH 4.0醋酸盐缓冲液(精密称定醋酸钠1.22 g,加2 mol/L醋酸溶液20.5 mL,加水溶解并定容至1 000 mL,摇匀制成)、pH 6.8磷酸盐缓冲液(精密量取0.2 mol/L磷酸二氢钾试液250 mL,置1 000 mL容量瓶中,再加入118 mL的0.2 mol/L氢氧化钠溶液,用水定容至1 000 mL制成);选择的取样时间分别为5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min。

2.3 溶液制备

对照品溶液:取盐酸拉贝洛尔对照品适量,精密称

定,分别加4种溶出介质溶解并稀释制成质量浓度为1 mg/mL的对照品贮备液;再分别以4种溶出介质稀释成每1 mL中约含50 μg的溶液,即得。

供试品溶液:取盐酸拉贝洛尔片仿制制剂和参比制剂样品各1片,分别平行12片,再分别以pH 1.2盐酸溶液、水、pH 4.0醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液为溶出介质,按2.2项下溶出条件进行溶出度试验。分别于2.2项下各时间点,取样10 mL(每次取样后均向溶出杯中补加相同体积相同温度的溶出介质),滤过,取续滤液作为供试品溶液。

空白对照溶液:以4种溶出介质为空白对照溶液。

2.4 方法学考察

系统适用性试验:取2.3项下对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果盐酸拉贝洛尔色谱峰形较好,供试品溶液在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰,且空白对照无干扰。详见图1。

线性关系考察:精密量取2.3项下对照品贮备液0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,再分别以4种溶出介质定容,取适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标、盐酸拉贝洛尔溶出量(X , μg/mL)为横坐标进行线性回归。结果在4种溶出介质中,盐酸拉贝洛尔溶出量均在10.11~1 011.00 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。详见表1。

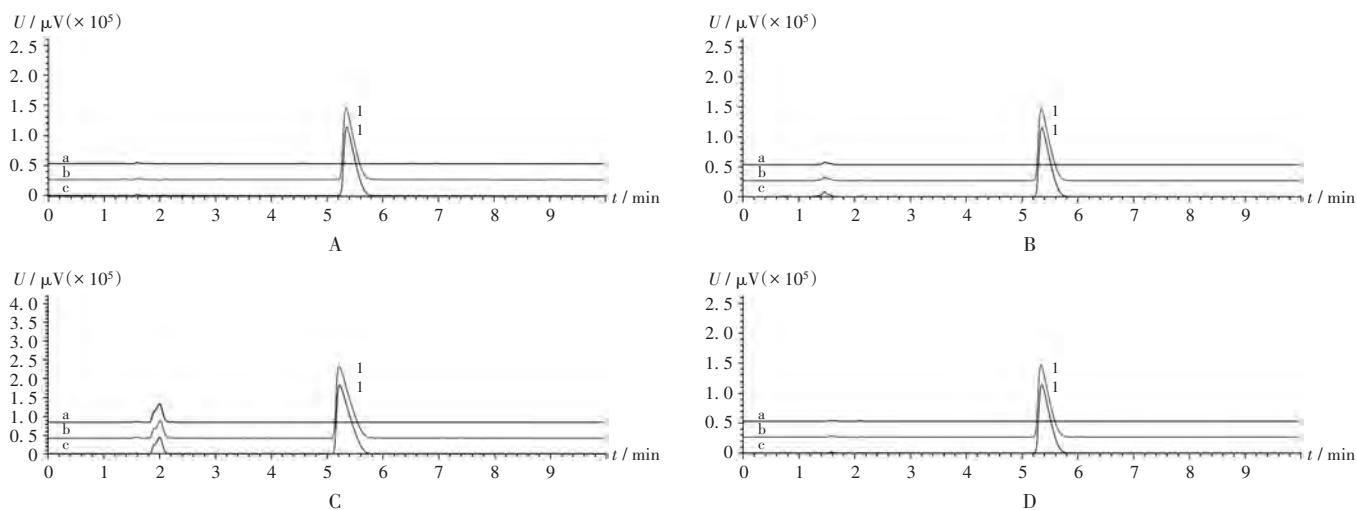
表1 不同溶出介质线性关系考察结果($n=6$)

Tab. 1 Results of linear relation test of different dissolution media ($n=6$)

溶出介质	回归方程	r	线性范围(μg/mL)
pH 1.2盐酸溶液	$Y_1 = 24\,998X_1 + 15\,447$	0.999 7	10.11~1 011.00
水	$Y_2 = 23\,765X_2 + 12\,860$	0.999 8	10.11~1 011.00
pH 4.0醋酸盐缓冲液	$Y_3 = 22\,554X_3 + 13\,209$	0.999 6	10.11~1 011.00
pH 6.8磷酸盐缓冲液	$Y_4 = 29\,598X_4 + 17\,821$	0.999 9	10.11~1 011.00

精密度试验:取盐酸拉贝洛尔参比制剂(批号为2W4J)粉末适量,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次及连续10 d进样测定,记录峰面积,测定日内精密度和日间精密度。结果盐酸拉贝洛尔在pH 1.2盐酸溶液、水、pH 4.0醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液中日内精密度结果的RSD分别为0.67%, 0.41%, 0.59%, 0.48% ($n=6$),日间精密度结果的RSD分别为0.74%, 0.53%, 0.69%, 0.71% ($n=10$),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取盐酸拉贝洛尔参比制剂(批号为2W4J)粉末适量,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h时,按



1. 盐酸拉贝洛尔
a. 空白对照溶液 b. 对照品溶液 c. 供试品溶液
A. 水 B. pH 1.2 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 高效液相色谱图

1. Labetalol hydrochloride
a. Blank control solution b. Reference solution c. Test solution
A. Water B. pH 1.2 hydrochloric acid solution C. pH 4.0 acetate buffer solution D. pH 6.8 phosphate buffer solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸拉贝洛尔在pH 1.2盐酸溶液、水、pH 4.0醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液中结果的RSD分别为0.53%, 1.12%, 0.70%, 1.20% ($n = 7$),表明供试品溶液室温放置12 h内基本稳定。

重复性试验:取盐酸拉贝洛尔参比制剂(批号为2W4J)粉末适量,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,平行6份,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸拉贝洛尔在pH 1.2盐酸溶液、水、pH 4.0醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液的平均含量分别为84.8%, 98.1%, 91.2%, 75.4%, RSD分别为0.95%, 0.67%, 0.76%, 0.86% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

2.5 耐用性试验

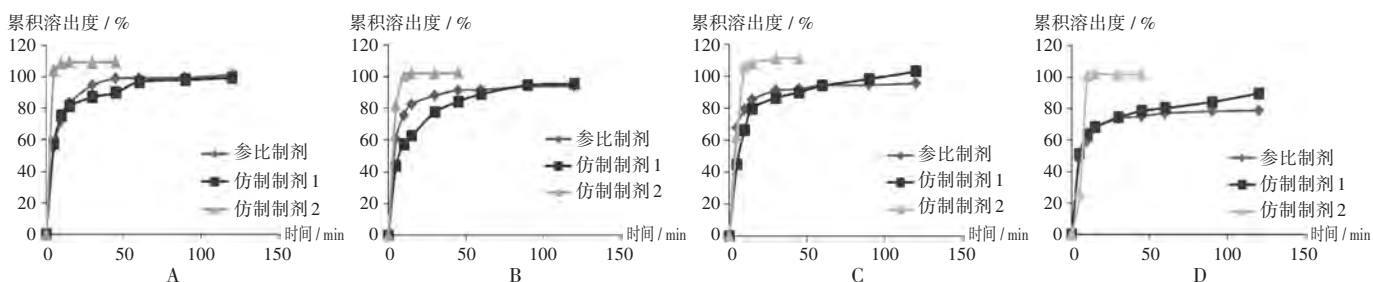
取2.3项下对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶

液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。分别考察不同的流速、流动相中乙腈比例、柱温、色谱柱及液相色谱仪等因素对结果的影响。结果供试品溶液中盐酸拉贝洛尔的峰面积基本一致,表明色谱条件发生一定程度变化时本方法仍可满足试验要求,耐用性良好。

2.6 溶出度测定

分别取参比制剂和B厂、C厂仿制制剂(分别记为仿制制剂1,2)各1片,分别平行12片,按2.2项下溶出条件测定各取样时间点的累积溶出度,以溶出时间为横坐标、以各时间点12片样品累积溶出度的平均值为纵坐标绘制溶出曲线。详见图2。

采用 f_2 法评价仿制制剂与参比制剂体外溶出曲线的差异。当 f_2 值为50~100时,认为两条溶出曲线相似。在4种溶出介质中,分别以时间点5, 15, 45 min时的累



A. 水 B. pH 1.2 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 盐酸拉贝洛尔片仿制制剂与参比制剂在不同溶出介质中的溶出曲线($n = 12$)

A. Water B. pH 1.2 hydrochloric acid solution C. pH 4.0 acetate buffer solution D. pH 6.8 phosphate buffer solution

Fig. 2 Dissolution profiles of imitative and reference preparations of Labetalol Hydrochloride Tablets in different dissolution media ($n = 12$)

积溶出度计算 f_2 ,结果见表2。可见,B厂样品以pH 1.2盐酸溶液和pH 6.8磷酸盐缓冲液为溶出介质时,所得溶出曲线与参比制剂具有相似性;C厂样品的4种溶出曲线与参比制剂均无相似性。

表2 仿制制剂与参比制剂溶出曲线相似性结果($n=12$)Tab. 2 Results of the f_2 of the imitative preparation and reference preparation ($n=12$)

溶出介质	B厂			C厂		
	批号	f_2	\bar{f}_2	批号	f_2	\bar{f}_2
pH 1.2 盐酸溶液	08181102	62.82		180901	16.34	
	20170304	64.95	64.42	180201	17.42	16.76
	08180502	65.49		180601	16.53	
水	08181102	40.31		180901	37.28	
	20170304	40.05	40.11	180201	37.04	
	08180502	39.98		180601	38.07	37.46
pH 4.0 醋酸盐缓冲液	08181102	43.04		180901	37.95	
	20170304	41.35	41.29	180201	39.49	
	08180502	39.49		180601	38.57	38.67
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	08181102	75.27		180901	27.57	
	20170304	75.69	74.37	180201	28.33	27.51
	08180502	72.14		180601	26.64	

3 讨论

3.1 溶出方法及其优化

溶出度的测定,法定标准选择篮法,100 r/min^[13],但美国药典41版和日本药局方第17版均采用桨法,50 r/min。篮法较适用于胶囊剂,依照原国家食品药品监督管理局要求^[11],对于小剂量片剂,采用桨法较为适宜,且50 r/min的溶出强度与人体内胃肠道蠕动强度更接近。因此,本研究中照此选择。

3.2 溶出仪选择

取B厂参比试剂,采用不同品牌溶出仪[仪真EDT-14Lx型智能溶出试验仪(上海仪真分析仪器有限公司)和UDT-814型智能溶出度试验仪(美国Logan公司)]进行试验,结果两者测定结果基本一致,溶出曲线基本相似。本研究中选择前者。

3.3 溶出介质选择

盐酸拉贝洛尔的解离常数为7.57(>3.0),视为碱性药物^[7],选择溶出介质时应选择pH分别为1.0或1.2,3.0~5.0,6.8的溶液及水。NMPA推荐的盐酸拉贝洛尔参比制剂为日本Aspen公司产品,且日本橙皮书中盐酸拉贝洛尔片溶出曲线测定选择的溶出介质分别为pH 1.2,4.0,6.8的溶液及水。故本研究在此基础上,结合文献^[11],选定文中所用4种溶出介质。

3.4 小结

盐酸拉贝洛尔片为我院2019年国家评价抽验品

种,目前国内具有盐酸拉贝洛尔片批准文号的8个厂家均未开展一致性评价工作。本研究中参照相关文献^[14-17],建立了测定盐酸拉贝洛尔片溶出度的方法,测定了仿制药在4种不同pH溶出介质中的溶出曲线。从溶出曲线和 f_2 结果可得,在特定溶出介质中,B厂和C厂的仿制制剂溶出过快或过缓,与参比制剂不具有相似性,结合调研分析,可能是生产中崩解剂的种类和用量不同所致,提示生产企业在配方和工艺方面应予以改进。综上所述,该方法适用于盐酸拉贝洛尔片仿制制剂溶出度的测定,灵敏度高、准确度好,可为仿制制剂质量一致性评价提供参考。

参考文献

- [1] MEYERS FH, JAWETZ E, GOLDLIEN A. Review of medical pharmacology[M]. 7th ed. Los Angeles: Lange Medical Publications, 1980:95-104.
- [2] 顾天华,顾得官. 柳胺苄心啉的临床药理和毒理进展[J]. 中国新药与临床杂志, 1984, 3(3):28.
- [3] 井微微,张琳. 阿司匹林肠溶片联合盐酸拉贝洛尔治疗妊娠期高血压的临床疗效及安全性[J]. 中国现代药物应用, 2022, 16(3):168-170.
- [4] 梁显章. 探讨盐酸拉贝洛尔在妊娠高血压中治疗的临床疗效及对分娩结局的影响[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2021, 8(15):45-47.
- [5] 宋玉花,张映辉,艾文. 盐酸拉贝洛尔联合叶酸治疗早发型子痫前期48例效果观察[J]. 承德医学院学报, 2020, 37(2):122-125.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则[EB/OL]. (2015-02-05)[2022-01-10]. <http://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/2015020512000/100.html>.
- [7] 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):946-955.
- [8] 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.
- [9] 牛剑钊,林兰,张启明. 美国和日本溶出曲线相似性判定方法介绍[J]. 中国药物评价, 2013, 30(2):67-69.
- [10] 中国食品药品检定研究院. 日本橙皮书前言及使用方法中文[EB/OL]. (2017-02-09)[2022-01-10]. <http://www.nifdc.org.cn/nifdc/jwzsg/fzhyxgli/20170209145601454.html>.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[EB/OL]. (2016-07-07)[2022-01-10]. <http://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/qtggtg/20160318210001725.html>.
- [12] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 药品体外溶出试验信息库[EB/OL]. (2010-01-27)[2022-01-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/>