

中图分类号: R969.1; R977.1*2 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)21-0019-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.21.006



达格列净片的制备及体内外评价

郭 昊^{1,2}, 牟 聪^{1,2}, 杨迎迎^{1,2}, 路珊珊^{1,2}, 吴青青^{1,2}, 吕慧敏^{1,2△}

(1. 扬子江药业集团有限公司, 江苏 泰州 225321; 2. 克服递药屏障高端制剂全国重点实验室, 江苏 泰州 225321)
摘要:目的 为达格列净仿制药的研发提供参考。方法 制备达格列净片自制制剂, 考察自制制剂的崩解时限、溶出曲线。分别选择 30 名健康受试者开展空腹及餐后生物等效性试验, 比较自制制剂与参比制剂的体内药代动力学参数[最大血药浓度($C_{\max}$)、血药浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-1} 和 $AUC_{0-\infty}$)], 计算上述参数的几何均数比(T/R)的 90% 置信区间(90%CI), 判定 2 种制剂在人体内是否生物等效。结果 自制制剂与参比制剂在 4 种溶出介质中的溶出量相当, 15 min 内溶出量均大于 85%。空腹和餐后状态下, 自制制剂与参比制剂的 $C_{\max}$, AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$ 的 T/R (90%CI) 相似, 且均在 80.00%~125.00% 等效区间内。结论 达格列净片自制制剂与参比制剂的体内外溶出行为一致, 具有生物等效性, 可用于大规模生产。

关键词: 达格列净; 溶出曲线; 药代动力学

Preparation, *in Vitro* and *in Vivo* Evaluation of Dapagliflozin Tablets

GUO Hao^{1,2}, MU Cong^{1,2}, YANG Yingying^{1,2}, LU Shanshan^{1,2}, WU Qingqing^{1,2}, LYU Huimin^{1,2}

(1. Yangtze River Pharmaceutical Group, Taizhou, Jiangsu, China 225321; 2. National Key Laboratory of Complex Drug Formulations for Overcoming Delivery Barriers, Taizhou, Jiangsu, China 225321)

Abstract: Objective To provide a reference for the research and development of reference preparation of Dapagliflozin Tablets. **Methods** The self-made preparation of Dapagliflozin Tablets was prepared, and the disintegration time and dissolution curve of the self-made preparation were investigated. Thirty healthy subjects were selected to conduct fasting and postprandial bioequivalence tests, the *in vivo* pharmacokinetic parameters [maximum blood concentration ($C_{\max}$), area under the blood concentration-time curve (AUC_{0-1} and $AUC_{0-\infty}$)] of the self-made preparation and the reference preparation were compared. The 90% confidence interval (CI) of the geometric mean ratio (T/R) of the above parameters was calculated to determine whether the two preparation are bioequivalence in the human body. **Results** The dissolution rates of the self-made preparation and the reference preparation in the four dissolution media were comparable, with dissolution rates exceeding 85% within 15 min. Under the fasting and postprandial conditions, the T/R of $C_{\max}$, AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$ of the self-made preparation and the reference

第一作者: 郭昊, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为药物制剂, (电子信箱) guohao@yangzijiang.com。

△通信作者: 吕慧敏, 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为缓控释制剂、纳米晶、微粒载药制剂, (电子信箱) lvhuimin@yangzijiang.com。

中文科技期刊数据库(文摘版)教育, 2024(1):49-52.

[2] 宋新力, 陈芊羽, 李桂梅, 等. 应用型高校制药工程专业仪器分析教学探索[J]. 广东化工, 2023, 50(2):230-231.

[3] 李传平, 李倩, 朱贤东. 提高《仪器分析》课程教学质量的思考与初探[J]. 广东化工, 2021, 48(5):287.

[4] 张军丽, 马金金, 时文中. 基于产教融合的仪器分析实验教学方法改革的研究[J]. 高教学刊, 2021(6):140-143.

[5] ROBINSON JK. Project-based learning, improving student engagement and performance in the laboratory [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(1):7-13.

[6] KOKOTSAKI D, MENZIES V, WIGGINS A. Project-based learning: A review of the literature [J]. Improving Schools, 2016, 19(3):267-277.

[7] 任英杰, 戴心来. 网络环境下基于项目的协作学习探究[J]. 电化教育研究, 2004, 25(12):57-60.

[8] 周婷, 胡萍萍. 项目教学法的国内外研究现状与发展趋势[J]. 基础教育研究, 2020(17):20-23.

[9] 李静君. 我国项目式学习领域的研究现状及发展趋势概述: 基于 CiteSpace 的可视化分析[J]. 应用数学进展, 2022, 11(9):6368-6375.

[10] 侯肖, 胡久华. 在常规课堂教学中实施项目式学习: 以化学教学为例[J]. 教育学报, 2016, 12(4):39-44.

[11] 胡庆芳, 程可拉. 美国项目研究模式的学习概论[J]. 外国教育研究, 2003, 30(8):18-21.

[12] ACAR G. The effect of project-based learning on students' motivation [J]. International Journal of Academic Research, 2013, 5(2):82-86.

[13] LASAUSKIENE J, RAUDUVAITE A. Project-based learning at university: Teaching experiences of lecturers [J]. Procedia - Social Behavioral Sciences, 2015, 197:788-792.

[14] ALACAPINAR F. Effectiveness of project-based learning [J]. Eurasian Journal of Educational Research, 2008, 32(1):17-34.

[15] 莫家乐. 基于项目任务导向“仪器分析”课程信息化教学设计[J]. 安徽化工, 2020, 46(3):143-145.

(收稿日期: 2024-05-06; 修回日期: 2024-09-20)

preparation were similar, and they were within the equivalent range of 80.00% – 125.00%. **Conclusion** The *in vitro* and *in vivo* dissolution behavior of the self-made preparation of Dapagliflozin Tablets is consistent with that of the reference preparation with bioequivalence and suitability, which can be used for large-scale production.

Key words: dapagliflozin; dissolution profiles; pharmacokinetics

近年来,糖尿病的患病率呈逐年升高趋势^[1-3]。2021年,国际糖尿病联盟(IDF)发布的第10版《全球糖尿病地图》预测,预计到2045年将有7.38亿糖尿病患者,其中中国患者1.74亿,2型糖尿病(T2DM)患者将占所有糖尿病患者的90%以上,这与进行性 β 细胞衰竭导致的胰岛素分泌减少和胰岛素抵抗的增加相关。达格列净是全球首个上市的钠-葡萄糖协同转运蛋白2(SGLT2)抑制剂^[4-6],2012年11月获欧洲药品管理局(EMA)批准上市,2014年1月获美国食品和药物管理局(FDA)批准上市,2017年3月在我国批准上市^[7],用于T2DM成人患者的单药或联合治疗^[8]。目前,达格列净片已在全球80多个国家和地区上市,总体安全性良好^[9-11]。为加速仿制药的研发,本研究中制备了与参比制剂具有生物等效性的自制制剂,为国产达格列净片的研发提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

SR64000型电子天平(精度为1 g),XP205DR型电子天平(精度为0.01 mg),均购自瑞士Mettler Toledo公司;GMP03型气流粉碎机(青岛密克朗粉体机械有限公司);ZD-800B型自动提升料斗混合机(浙江迦南制药设备有限公司);SLD-400型提升干整粒机(创志科技<江苏>股份有限公司);LGS120型干法制粒机(北京新龙立科技有限公司);P3030型压片机(菲特<南京>压片机械有限公司);JGB/K-35/75型包衣机(浙江健牌机械科技有限公司);eB350型铝塑包装机(锦州万得包装机械有限公司);1260型高效液相色谱仪、708DS型溶出仪(美国Agilent公司);ZBS-6E型智能崩解试验仪(天大天发科技有限公司);BX53型显微镜(奥林巴斯<中国>有限公司);ST16R型冷冻离心机(美国Thermo Fisher公司)。

1.2 试药

达格列净片(参比制剂,商品名安达唐,瑞士Astra-Zeneca AB公司,批号为MJ3061);达格列净原料药(Honour Lab Limited, Unit-III, 批号为DP20070008);微晶纤维素(明台化工股份有限公司,批号为C1910130);无水乳糖(DFE Pharma GmbH & Co. KG,批号为104M2NG);交联聚维酮(ISP Chemicals LLC,批号为0002377347);二氧化硅(湖州展望药业有限公司,批号为20190445);硬脂酸镁(安徽山河药用辅料股份有

限公司,批号为191122);薄膜包衣预混剂(胃溶型,上海卡乐康包衣技术有限公司,批号为SH624454);达格列净丙二醇-水合物对照品(扬子江药业集团有限公司,批号为DP20090013-2110);乙腈(色谱纯,德国Merck公司);盐酸、醋酸、醋酸钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 自制制剂制备

粉碎:设置气流粉碎机粉碎压力为0.3~0.9 MPa,将原料药粉碎至累计分布百分数达90%时对应的粒径(D_{90})<30 μm 。

预混:将处方量的微晶纤维素、原料药(粉碎后)、交联聚维酮(内加)、二氧化硅(内加)、无水乳糖加入自动提升料斗混合机中,混合10 min,得混合物料1;混合物料1采用提升干整粒机过筛(18目筛网),得过筛物料;将过筛物料加入自动提升料斗混合机中,再加入硬脂酸镁(内加),混合5 min,得混合物料2。

干法制粒:将混合物料2加入干法制粒机中,设置压辊压力为45~55 bar,整粒速度为100 r/min,筛网孔径为1.0 mm。

终混:将制粒后的物料和交联聚维酮(外加)、二氧化硅(外加)加入自动提升料斗混合机中,混合10 min,得混合物料3;向混合物料3中加入硬脂酸镁(外加),混合5 min,得终混颗粒。

压片:采用压片机进行压片,使用圆形浅凹冲,设置主压力为9~20 kN,硬度为50~100 N,即得素片。

包衣:将合格素片加入包衣机中,采用15%固含量薄膜包衣预混剂溶液进行包衣,控制包衣增重范围为3%~5%。

包装:用铝塑包装机进行包装,每板7片,包装入库,即得达格列净自制制剂(批号为20100011)。

2.2 崩解时限测定

取自制制剂和参比制剂各6片,按2020年版《中国药典(四部)》通则0921 崩解时限检查法测定。将自制制剂和参比制剂置崩解试验仪上,测定其在 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 水浴中的崩解时间,结果分别为170~202 s和144~254 s,表明自制制剂与参比制剂的崩解速率相当。

2.3 溶出曲线测定

取自制制剂和参比制剂,参照FDA药品审批报告公布的达格列净片溶出曲线测定方法。取样品12片,按

2020 年版《中国药典(四部)》通则 0931 溶出度与释放度测定法第二法, 分别以 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、水 1 000 mL 为溶出介质, 设置转速为 60 r/min, 分别于溶出 5, 10, 15, 30, 45 min 时取溶液 5 mL (不补液), 0.45 μ m 滤膜滤过, 弃去 3 mL, 取续滤液, 即得不同时间点的供试品溶液; 另取达格列净丙二醇一水合物对照品 25 mg, 精密称定, 置 200 mL 容量瓶中, 加稀释剂[乙腈-水(50:50, V/V)]溶解并定容, 摇匀, 再量取上述溶液 2.0 mL, 置 20 mL 容量瓶中, 加溶出介质定容, 摇匀, 作为对照品溶液。精密量取 50 μ L, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定, 计算每片样品在各时间点的累计溶出量。结果自制制剂与参比制剂均非常快速溶出, 15 min 内溶出量大于 85%。详见表 1。

表 1 自制制剂与参比制剂累计溶出量比较(%)

Tab. 1 Comparison of cumulative dissolution between self-made preparation and reference preparation(%)						
溶出介质	制剂	5 min	10 min	15 min	30 min	45 min
pH 1.0 盐酸溶液	自制制剂	90	99	100	100	100
	参比制剂	87	98	99	99	99
pH 4.5 醋酸缓冲液	自制制剂	90	98	99	99	99
	参比制剂	85	97	98	98	98
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	自制制剂	90	98	99	99	99
	参比制剂	83	98	99	99	100
水	自制制剂	91	100	100	100	100
	参比制剂	84	98	99	98	98

2.4 体内药代动力学试验

试验方案: 达格列净片参比制剂推荐起始剂量为每日 1 次, 每次 5 mg, 晨服, 不受进食限制^[12], 故需同步开展空腹及餐后药代动力学研究。同时, 根据 FDA 公布的达格列净指南草案的要求, 需同步开展空腹及餐后生物等效性试验^[13]。选取 30 名健康受试者, 采用单中心、单剂量、随机、开放、两周期、双交叉设计^[14-15]。每部分筛选合格的受试者按 1:1 随机分配至 2 个给药序列组(TR 组、RT 组), 每周期给药 1 次, 每次 10 mg, 清洗期为 5 d。选择每周期给药 0 h (给药前 1.0 h 内) 和给药后 0.17, 0.33, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.25, 2.5, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 48.0 h 共 19 个时间点采集静脉血, 进行空腹试验; 每周期给药前 0 h (给药前 1.0 h 内) 和给药后 0.5, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.25, 2.5, 2.75, 3.0, 3.33, 3.67, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 48.0 h 共 20 个时间点采集静脉血, 进行餐后试验。

样品预处理与检测方法: 每次取静脉血约 4 mL, 置含 EDTA-K2 抗凝剂的真空采血管中, 轻柔颠倒混匀, 置 2~8 $^{\circ}$ C 温度下离心(温度为 4 $^{\circ}$ C, 1 700 g) 10 min, 分离得血浆样品, 室温条件下分成 2 份, 其中 1 份取约

1 mL 血浆置测试管中, 另 1 份置备份管中。所有样本应在血样采集后 1.0 h 内离心, 2.0 h 内置超低温冰箱(≤ -60 $^{\circ}$ C)中保存, 采用已验证的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法测定血浆浓度。

统计学处理: 采用 WinNonlin 8.3.3 软件对数据进行处理、分析。采用 SAS 9.4 统计学软件将最大血药浓度($C_{\max}$)、血药浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-t})和 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后采用线性混合效应模型分析, 模型中将序列、周期、制剂作为固定效应, 将受试者(序列)作为随机效应, 计算受试制剂与参比制剂的几何均值比(T/R)的 90% 置信区间(90%CI), 若 90%CI 在 80.00%~125.00% 等效区间内, 则判定 2 种制剂在人体内生物等效。

药代动力学试验结果: 空腹状态下, 达格列净的 $C_{\max}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ 的 T/R (90%CI) 分别为 99.33% (93.34%, 105.71%), 99.03% (96.32%, 101.82%), 98.48% (96.19%, 100.83%); 餐后状态下, 上述参数分别为 104.62% (99.19%, 110.33%), 101.14% (98.11%, 104.25%), 101.24% (98.35%, 104.22%)。以上参数均在 80.00%~125.00% 等效区间内, 表明空腹及餐后状态下 10 mg 达格列净片自制制剂和参比制剂均生物等效。详见表 2 和图 1。

表 2 空腹与餐后状态下口服制剂的药代动力学参数($n=30$)

Tab. 2 Pharmacokinetic parameters of self-made and reference preparations after oral administration under fasting and postprandial conditions ($n=30$)				
参数	空腹状态		餐后状态	
	自制制剂	参比制剂	自制制剂	参比制剂
$C_{\max}$ ($\bar{X} \pm s$, ng/mL)	112.76 $\pm$ 21.33	113.80 $\pm$ 24.26	136.95 $\pm$ 35.06	127.24 $\pm$ 33.77
AUC_{0-t} ($\bar{X} \pm s$, h $\cdot$ ng/mL)	530.57 $\pm$ 97.67	534.34 $\pm$ 96.43	586.73 $\pm$ 100.54	583.09 $\pm$ 114.43
$AUC_{0-\infty}$ ($\bar{X} \pm s$, h $\cdot$ ng/mL)	565.79 $\pm$ 97.90	572.74 $\pm$ 93.83	621.75 $\pm$ 99.51	617.21 $\pm$ 115.04
$T_{\max}$ (h)*	1.75	1.99	2.49	2.25

注: *指以中位数表示。

Note: * refers to $T_{\max}$ represented by median.

3 讨论

化学仿制药参比制剂遴选原则依次为国内上市的原研药品、经审核确定的国外原研企业在中国境内生产或经技术转移生产的药品、未进口原研药品。原研药品是指境内外首个获批上市, 且具有完整和充分的安全性、有效性数据作为上市依据的药品。本研究中选择参比制剂与国家药品监督管理局(NMPA)发布的仿制药参比制剂目录(第十九批)中公布的一致(为安达唐), 检测其关键属性粒度发现, 参比制剂所用原料药的粒径大部分为 15~20 μ m, 个别约为 30 μ m。故自制制剂所用原料药粒径应与参比制剂基本一致。

比较自制制剂与参比制剂的崩解时限及溶出曲线

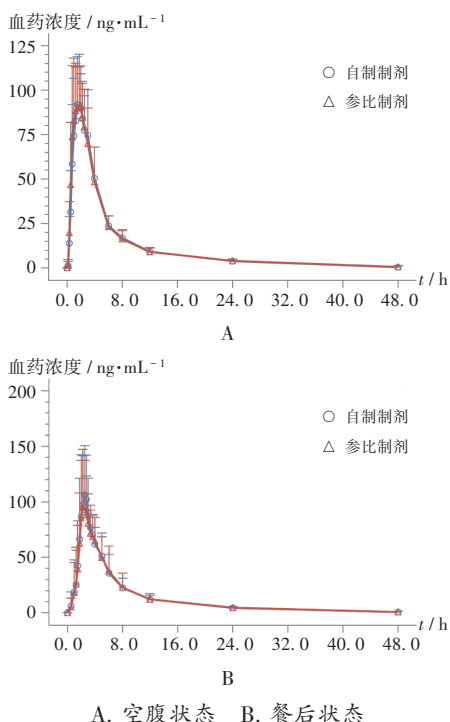


图1 空腹与餐后状态下口服制剂的血药浓度-时间曲线
A. Under fasting condition B. Under postprandial condition
Fig. 1 Plasma concentration - time curves of preparations after oral administration under fasting and postprandial conditions

发现,自制制剂与参比制剂的崩解和溶出速率相当,均为非常快速溶出。由表2可知,自制制剂和参比制剂的 C_{max} , AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$ 的 T/R (90%CI) 均在80.00%~125.00%范围内,符合生物等效性评价标准;且餐后状态下2种制剂的达峰时间(T_{max})均延长(自制制剂延长约1.0 h,参比制剂延长约0.5 h), T_{max} 及 AUC 餐后延长的趋势与参比制剂药品说明书基本一致, C_{max} 与参比制剂药品说明书中记载相反(餐后较空腹高),考虑可能与受试者人种差异有关。由于达格列净诱导的尿中葡萄糖的累积(每日)排泄量取决于其 AUC ,食物对达格列净 C_{max} 的影响不会对达格列净的疗效产生有临床意义的影响。故可在不考虑膳食的情况下给予达格列净。

综上所述,达格列净片自制制剂与参比制剂的药代动力学性质基本一致,具有生物等效性。本研究结果为国产达格列净片的研发提供了参考。

参考文献

[1] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏病防治指南(2021年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(8): 762 - 784.

[2] GARCIA - ROPERO A, BADIMON JJ, SANTOS - GALLEGO CG. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT₂ inhibitors for type 2 diabetes mellitus; the latest developments[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018, 14(12): 1287 - 1302.

[3] PANG ZD, WANG Y, WANG XJ, et al. K_{Ca}3.1 channel medi-

ates inflammatory signaling of pancreatic beta cells and progression of type 2 diabetes mellitus [J]. FASEB J, 2019, 33(12): 14760 - 14771.

[4] 刘玉萍, 刘 烨, 邱小玉, 等. 新型降糖药达格列净的临床研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(18): 1896 - 1899.

[5] SOLINI A, ROSSI C, MAZZANTI CM, et al. Sodium - glucose co - transporter SGLT₂ and SGLT₁ renal expression in patients with type 2 diabetes [J]. Diabetes Obes Metab, 2017, 19(9): 1289 - 1294.

[6] DEFONZO RA, HOMPESCH M, KASICHAYANULA S, et al. Characterization of renal glucose reabsorption in response to dapagliflozin in healthy subjects and subjects with type 2 diabetes [J]. Diabetes Care, 2013, 36(10): 3169 - 3176.

[7] 邹泰基, 彭 涛. 达格列净治疗2型糖尿病的研究进展[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2021, 42(2): 46 - 50.

[8] UPADHYAY J, POLYZOS SA, PERAKAKIS N, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update [J]. Metabolism, 2018, 78: 13 - 42.

[9] KAKU K, INOUE S, MATSUOKA O, et al. Efficacy and safety of dapagliflozin as a monotherapy for type 2 diabetes mellitus in Japanese patients with inadequate glycaemic control: A phase II multicentre, randomized, double - blind, placebo - controlled trial [J]. Diabetes Obes Metab, 2013, 15(5): 432 - 440.

[10] FERRANNINI E, RAMOS SJ, SALSALI A, et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycaemic control by diet and exercise [J]. Diabetes Care, 2010, 33(10): 2217 - 2224.

[11] BAILEY CJ, GROSS JL, PIETERS A, et al. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: a randomised, double - blind, placebo - controlled trial [J]. Lancet, 2010, 375(9733): 2223 - 2233.

[12] 阿斯利康制药有限公司. 达格列净片(安达唐®)中文说明书 [EB/OL]. (2022 - 09 - 18) [2023 - 10 - 09]. <https://www.cde.org.cn/main/xxgk/postmarketpage?acceptid=CODE=d13e5d4cbc596f281ead55902948f977>.

[13] U. S. Food and Drug Administration. Draft Guidance on Dapagliflozin [EB/OL]. (2022 - 09 - 03) [2023 - 10 - 09]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_202293.pdf.

[14] OROIAN M, POP DI, GHELDIU AM, et al. Relative bioavailability of two formulations containing dapagliflozin 10 mg under fed condition in a randomized crossover study in healthy Caucasian subjects [J]. Farmacia, 2020, 68(1): 76 - 81.

[15] OROIAN M, POP DI, GHELDIU AM, et al. The relative bioavailability of two formulations containing 10 mg Dapagliflozin assessed under fasting conditions in a randomized crossover study in healthy Caucasian subjects [J]. Acta Marisensis - Seria Medica, 2020, 66(1): 30 - 34.

(收稿日期: 2023 - 10 - 23; 修回日期: 2024 - 05 - 29)