

羟苯磺酸钙片仿制药与原研药的溶出度一致性评价

唐锦飞, 辛洪亮*

南京医科大学 药学院, 江苏 南京 211166

摘要:目的 建立羟苯磺酸钙片体外溶出曲线试验方法, 评价仿制药与原研药溶出曲线的一致性。方法 以 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、水为溶出介质, 采用紫外-可见分光光度法测定仿制药与原研药的溶出度, 绘制溶出曲线, 采用相似因子法评价溶出曲线的相似性。结果 羟苯磺酸钙片仿制制剂在 4 种溶出介质中的溶出曲线与原研药相比, f_2 值均大于 50, 与原研药溶出曲线相似。结论 建立的方法适用于羟苯磺酸钙片仿制药的溶出曲线测定, 为羟苯磺酸钙片质量一致性评价提供参考。

关键词: 羟苯磺酸钙片; 溶出度; 溶出曲线; 相似因子; 一致性评价

中图分类号: R927.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2022)07-1487-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.07.009

Consistency evaluation of dissolution of generic and original preparation of Calcium Dobesilate Tablets

TANG Jin-fei, XIN Hong-liang

College of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

Abstract: Objective To establish a method for *in vitro* dissolution test of Calcium Dobesilate Tablets, to evaluate the consistency of dissolution curves between the generic formulation and the original formulation. **Methods** Using pH 1.2 hydrochloric acid solution, pH 4.5 acetate buffer, pH 6.8 phosphate buffer, and water as dissolution media, the dissolution rate of Calcium Dobesilate Tablets generic formulation and the original formulation was determined by UV-visible spectrophotometry method, and the dissolution curve was drawn. Similarity factor method (f_2) was used to evaluate the similarity of the dissolution curve. **Results** Compared with original formulation, the f_2 values of the generic formulation in the four dissolution media were all above 50, indicating similar dissolution behavior of the two formulations. **Conclusion** The method can be used to determine the dissolution curve of Calcium Dobesilate Tablets generic formulation, which can provide reference for quality consistency evaluation of Calcium Dobesilate Tablets.

Key words: Calcium Dobesilate Tablets; dissolution; dissolution curve; similarity factor; consistency evaluation

羟苯磺酸钙作为一种改善微循环的血管保护药物主要用于治疗静脉循环病变和血液循环引发的视觉障碍, 上市后在心血管系统疾病领域得到了广泛应用^[1-3]。羟苯磺酸钙已上市的剂型有胶囊剂和片剂^[4]。羟苯磺酸钙片由瑞士的 OM Pharma 公司于 1970 年 1 月 31 日在瑞士首次上市, 商品名为 DOXIUM, 剂型为口服片剂, 规格为 250 mg, 但尚未在中国申请上市。羟苯磺酸钙片用于治疗糖尿病视网膜病变、慢性静脉功能不全(静脉曲张综合征)

等心血管系统疾病, 也适用于老年患者^[5-6]。国外已上市的羟苯磺酸钙片虽然疗效确切, 但价格昂贵。国产仿制药需要通过质量和疗效一致性评价提高产品质量, 满足患者的需求^[7]。口服固体制剂给药后, 药物从制剂中溶出或释放的程度是影响药物吸收的主要因素, 而药物在各时间点的溶出度可以绘制成溶出曲线。因此, 溶出曲线的一致性对于口服固体制剂质量和疗效一致性评价工作具有重要意义^[8]。本研究建立了羟苯磺酸钙片的体外溶出曲线

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671018)

作者简介: 唐锦飞(1982—), 男, 江苏盐城人, 工程师, 本科, 硕士在读, 研究方向为药物制剂。E-mail: tjf2100@163.com

*通信作者: 辛洪亮(1982—), 男, 江西万载人, 教授, 博士生导师, 博士。E-mail: xhl@njmu.edu.cn

测定方法,采用相似因子法评价仿制制剂和参比制剂在不同 pH 值溶出介质中的溶出曲线,为羟苯磺酸钙片的一致性评价体外溶出分析提供参考。

1 仪器与试药

708+850DS 型自动溶出仪(美国安捷伦公司);UV2700 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);XSE105DU 型电子分析天平、S220 型 pH 计(瑞士梅特勒公司)。

羟苯磺酸钙对照品(批号 100573-201503,中国食品药品检定研究院);羟苯磺酸钙片参比制剂(批号 AY002,规格 250 mg,持证商 OM PHARMA S. A,生产商 Sanofi Winthrop Industrie);羟苯磺酸钙片仿制制剂(批号 171101、171102、171103,规格 500 mg,南京长澳制药有限公司);羟苯磺酸钙(批号 20170406,质量分数 100.5%,湖北广辰药业有限公司);甘露醇(160C)(批号 E932H,质量分数 98.0%~102.0%,有关物质 $\leq$ 2.0%,干燥失重 $\leq$ 0.3%,法国罗盖特公司);无水亚硫酸钠(质量分数 97.0%~100.5%,批号 101020170201,湖南尔康制药股份有限公司);柠檬酸一钠(质量分数 99.0%~101.0%,批号 2017021501,干燥失重 $\leq$ 0.4%,宁乡新阳化工有限公司);硬脂酸镁(批号 170323,含 Mg 4.0%~5.0%,安徽山河药用辅料股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶出试验方法

目前,美国食品药品监督管理局、日本橙皮书中均未收载羟苯磺酸钙片的溶出试验方法、溶出曲线,已有的法定标准为国家药品标准^[9],采用篮法,转速为 75 r/min,以水 900 mL 为溶出介质,检测方法为紫外-可见分光光度法,检测波长为 301 nm(国标法)。本研究在羟苯磺酸钙片国家药品标准的基础上依据国家食品药品监督管理局发布的相关指导原则确定溶出试验方法,仍采用紫外-可见分光光度法检测溶出度^[10-11]。

在国家药品标准方法的基础上,采用参比制剂对溶出测定装置、溶出转速进行筛选,比较了 4 种释药条件。采用篮法,转速 75 r/min(国标法),结果样品溶胀,篮体网孔堵塞,在 pH 1.2、6.8 介质中,溶出均一性较差,多个取样点 RSD 值 $\geq$ 10%(试验条件 1)。采用篮法,转速 50、100 r/min,结果样品溶胀,篮体网孔堵塞,改变转速后溶出速率无明显

变化,溶出均一性没有改善(试验条件 2)。采用桨法,转速 50 r/min,结果在 pH 1.2、4.5 介质和水中样品漂浮于液面;在 pH 6.8 介质中样品粘附于杯底。在 pH 1.2、6.8 介质中的溶出均一性较差,多个取样点 RSD 值 $\geq$ 10%(试验条件 3)。采用桨法加沉降篮,转速 50 r/min,样品固定于沉降篮内部,在 4 种介质中既不产生漂浮,也不粘附于杯底。结果在 4 种介质中的溶出均一性较好,各取样点的 RSD 值均小于 10%(试验条件 4)。依据以上结果确定溶出测定装置为样品加沉降篮,采用桨法,转速为 50 r/min^[12]。

2.2 UV 法测定羟苯磺酸钙

2.2.1 专属性试验 按处方配比分别取空白辅料约 54 mg,精密称定,置 250 mL 量瓶内,分别加入 4 种溶出介质适量,超声 5 min 后加入相应溶出介质至刻度,摇匀后滤过,取续滤液 3 mL,置 50 mL 量瓶内,加入相应溶出介质至刻度,摇匀,即得空白辅料溶液。取羟苯磺酸钙对照品适量,精密称定,加入相应溶出介质,制成 30 μ g/mL 对照品溶液。以相应溶出介质为空白,取空白辅料溶液和对照品溶液分别于 200~400 nm 进行扫描,并提取在 301 nm 处的吸光度值。采用 UV 法测定时,4 种溶出介质中对照品溶液在(301 $\pm$ 1) nm 波长处均有最大吸收,空白辅料溶液吸光度值占对照品溶液吸光度值的百分比均 $<$ 2%,表明辅料对样品测定无干扰。

2.2.2 线性关系试验 取羟苯磺酸钙对照品适量,用溶出介质配制成 300 μ g/mL 的对照品储备液。分别量取对照品储备液 3、4、6、8、10、12、16、18 mL,置 100 mL 量瓶中,加入溶出介质稀释至刻度,摇匀,即得标准曲线工作液。按照上述操作,配制不同溶出介质的线性溶液。取线性溶液适量,以溶出介质为空白,于 301 nm 波长下测定其吸光度值。分别以线性溶液质量浓度为横坐标、吸光度值为纵坐标进行线性回归,得回归方程,结果见表 1。

2.2.3 准确度试验 在按处方配比的空白辅料中分别加入不同质量浓度的羟苯磺酸钙原料,根据所测得的羟苯磺酸钙质量分数与加入量进行对比,计算回收率。取空白辅料约 20 mg,精密称定后,置 100 mL 量瓶内,按处方量的 20%、50%、80%比例分别加入羟苯磺酸钙原料,加入适量溶出介质超声 3 min,定容,摇匀,滤过,精密量取续滤液适量,分别加入溶出介质稀释制成吸光度在 0.3~0.7 的溶

表 1 羟苯磺酸钙在不同溶出介质中的回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 Regression equation, correlation coefficient, and linear range of calcium dobesilate in the four dissolution media

溶出介质	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g mL}^{-1}$)
水	$A=0.018\ 3\ C+0.004\ 8$	1.000 0	8.68~52.06
pH 1.2 盐酸溶液	$A=0.018\ 5\ C+0.000\ 7$	0.999 9	8.32~49.91
pH 4.5 醋酸盐缓冲液	$A=0.018\ 4\ C+0.006\ 1$	0.999 9	8.49~50.92
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	$A=0.018\ 2\ C+0.007\ 3$	0.999 9	8.65~51.93

液, 各 3 份, 作为供试品溶液; 另取羟苯磺酸钙对照品适量, 加入溶出介质溶解并定量稀释制成约 30 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 作为对照品溶液。取上述溶液适量, 以溶出介质为空白, 于 301 nm 波长下测定吸光度值, 按外标法分别计算供试品溶液中羟苯磺酸钙的量, 将实测值与加入量比较, 计算回收率。结果在水中的平均回收率为 100.5%, RSD 值为 0.6%; pH 1.2 盐酸溶液中的平均回收率为 101.8%, RSD 值为 1.2%; pH 4.5 醋酸盐缓冲液中的平均回收率为 101.6%, RSD 值为 1.3%; pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的平均回收率为 99.6%, RSD 值为 1.4%。结果表明不同质量浓度羟苯磺酸钙在不同溶出介质中的平均回收率在 98.2%~102.8%, 且 RSD 值均小于 2%。

2.3 “pH-溶解度”曲线测定试验

考察药物在不同的 pH 值条件下的溶解度是选择溶出介质的依据。在 pH 1.0~7.8 介质中加入过量的羟苯磺酸钙原料, 制成过饱和溶液, 振摇过夜, 温度保持在 $(37.0\pm 0.5)^\circ\text{C}$, 分别于 2、4、6、24 h 后取一定体积的样品溶液, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。用相应的介质进行稀释后采用 UV 法测定, 计算得溶解平衡时溶液中羟苯磺酸钙的质量浓度, 结果见图 1。结果表明, 羟苯磺酸钙为非 pH 值依赖型药物, 在不同介质中的溶解度差别不大, 均大于 500 mg/mL , 远高于漏槽条件的要求。

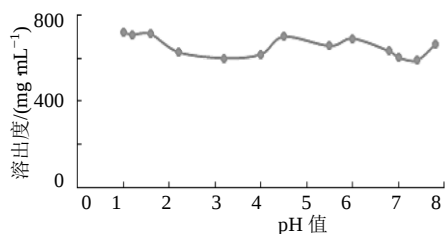


图 1 羟苯磺酸钙“pH-溶解度”曲线

Fig. 1 “pH-solubility” curve of calcium dobesilate

2.4 溶出曲线的测定

2.4.1 溶出介质的选择

因羟苯磺酸钙为非 pH 值依赖型药物, 在不同溶出介质中的溶解度无明显差异, 根据国家食品药品监督管理总局发布的相关指导原则, 选择 pH 1.2、4.5、6.8 溶出介质。另外, 因国家药品标准中以水作为溶出介质检查溶出度, 最终确定溶出介质为 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、水。

2.4.2 溶出曲线测定时间点的确定 根据国家药品监督管理局发布的相关指导原则, 以连续两点溶出量均达 85% 以上, 且该两点溶出量差值在 5% 以内时作为溶出曲线考察截止时间点^[13]。经过预实验, 最终确定的溶出曲线测定时间点, pH 1.2 盐酸溶液测定时间点为 5、10、15、20、30、40、50 min, pH 4.5 醋酸盐缓冲液测定时间点为 5、10、15、20、30、40、50、60 min, pH 6.8 磷酸盐缓冲液测定时间点为 5、10、15、20、30、40、50、60、70 min, 水测定时间点为 5、10、15、20、30、40、50、60 min。

2.4.3 溶出试验 量取新配制的 900 mL 溶出介质, 置 12 个溶出杯内, 待溶出介质温度恒定在 $(37.0\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 时, 取本品 12 片, 分别投入 12 个转沉降篮内, 设定转速为 50 r/min, 启动溶出仪。在不同溶出介质的每个取样时间点分别取样 5 mL, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 弃去初滤液 1 mL, 取样至滤过应在 30 s 内完成, 并补液 5 mL。取续滤液用溶出介质稀释, 使吸光度值在 0.3~0.7, 摇匀, 作为供试品溶液。取羟苯磺酸钙对照品适量, 用溶出介质配制成 30 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 作为对照品溶液, 平行配制 2 份。按照《中国药典》2020 年版四部通则 0401 紫外-可见分光光度法要求^[14]在 301 nm 波长处测定吸光度值; 2 份对照品溶液分别测定 13、2 次, 供试品溶液各测定 1 次。计算溶出量。以时间为横坐标, 各时间点的累积溶出度为纵坐标, 绘制溶出曲线。

$$f = (W_{\text{对}} \times C_{\text{对}} \times 3) / (A_{\text{对}} \times 500)$$

$$\text{溶出度} = (f \times A_{\text{样}} \times 900) / 500$$

$A_{\text{样}}$ 为供试品溶液的主峰面积; $A_{\text{对}}$ 为对照品溶液的主峰面积; $W_{\text{对}}$ 为对照品的质量; $C_{\text{对}}$ 为对照品的质量分数

取 3 批仿制制剂(批号分别为 171101、171102、171103)和 1 批参比制剂(批号 AY002)进行上述 4 种溶出介质中溶出曲线测定,对测定结果采用相似因子(f_2)法进行溶出曲线相似性比较,结果见图 2、表 2。

$$f_2 = 50 \times \lg \left\{ 1 + \left(\frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right)^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$R_t - T_t$ 为 t 时间参比样品平均溶出量与受试样品平均溶出量的差值; n 为溶出曲线测定时间点的数量

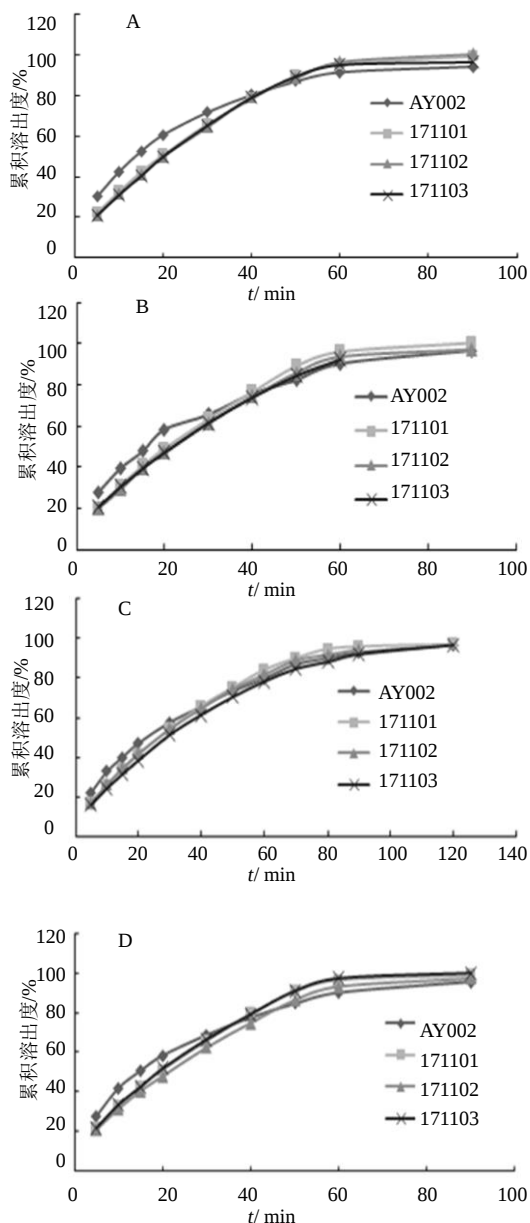


图 2 羟苯磺酸钙片在 pH 1.2 盐酸溶液 (A)、pH 4.5 醋酸盐缓冲液 (B)、pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (C) 和水 (D) 中的溶出度曲线

Fig. 2 Dissolution curves in pH 1.2 hydrochloric acid solution (A), pH 4.5 acetate buffer (B), pH 6.8 phosphate buffer (C), and water (D)

表 2 不同溶出介质中的 f_2 值

Table 2 f_2 values in different dissolution media

溶出介质	f_2 值		
	171101	171102	171103
pH 1.2 盐酸溶液	56	53	53
pH 4.5 醋酸盐缓冲液	59	57	59
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	66	69	60
水	60	56	60

结果显示,羟苯磺酸钙片仿制制剂和参比制剂在 4 种溶出介质中的 f_2 值均大于 50,表明仿制制剂与参比制剂的溶出曲线相似,体外溶出行为相似。

3 讨论

羟苯磺酸钙片 250 mg 片剂已在法国上市,因此,依据参比制剂选择和确定的技术指导原则,本研究选择了 OM pharma 公司在法国上市的羟苯磺酸钙片作为参比制剂,规格为 250 mg,生产方为赛诺菲制药公司。本研究建立了羟苯磺酸钙片溶出曲线测定方法,所采用的溶出试验方法、溶出装置的选择、溶出介质的选择、溶出曲线的测定与相似性评价等均符合《中国药典》2020 年版以及仿制药质量和疗效一致性评价相关指导原则的要求。为了满足参比制剂、仿制制剂溶出度试验的要求,溶出装置选择时进行了各种条件下的探索性试验,最终明确了适合该品种的溶出试验装置。研究结果表明,羟苯磺酸钙片仿制制剂与参比制剂溶出曲线相似,体外溶出行为相似。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张成珍, 张玉侠. 羟苯磺酸钙的应用进展 [J]. 医药导报, 2012, 31(9): 1181-1184.
- [2] 余洋, 黄仲义. 羟苯磺酸钙治疗糖尿病微血管并发症的机制及临床获益 [J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40(12): 811-815.
- [3] 曾爱蓉, 李玉, 李满星. 贝那普利联合羟苯磺酸钙辅助胰岛素治疗老年早期糖尿病肾病的临床价值评价 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(11): 98-101.
- [4] 黄晓波, 生侠. 羟苯磺酸钙胶囊辅助治疗老年糖尿病视网膜病变的疗效及对 eGFR 和 ACR 的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(24): 5514-5517.
- [5] 刘静, 夏天, 郭艺, 等. 532nm 激光 PRP 联合羟苯磺酸钙对 DR 患者眼底微循环及黄斑厚度的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2020, 20(8): 1343-1346.
- [6] 江洋, 刘冰. 羟苯磺酸钙联合眼底激光治疗老年重症

- 糖尿病视网膜病变的疗效 [J]. 医学信息, 2020, 33(22): 158-160.
- [7] 苏峰, 汪萍, 鲁胜男, 等. 不同厂家羟苯磺酸钙胶囊溶出曲线相似性研究 [J]. 广州化工, 2020, 48(24): 60-63.
- [8] 孙婷, 姜建国, 张菁, 等. 硝酸甘油片参比制剂与仿制制剂的体外质量一致性评价 [J]. 中国药房, 2020, 31(5): 586-590.
- [9] 国家食品药品监督管理局国家药品标准 (WS1-XG-009-2012) 羟苯磺酸钙片 [S]. 2013.
- [10] 国家食品药品监督管理局总局. 《国家食品药品监督管理局总局关于发布普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则和化学药物 (原料药和制剂) 稳定性研究技术指导原则的通告》(2015 年第 3 号) [EB/OL]. (2015-02-05) [2021-10-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/yaopin/ypggtg/ypqtgg/20150205120001100.html>.
- [11] 王海莹, 杨星钢, 魏斌斌, 等. 多潘立酮片体外溶出的一致性评价 [J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(3): 238-242.
- [12] 刘明鹭, 李震, 杨龙华, 等. 左乙拉西坦片仿制药与原研药溶出度一致性评价 [J]. 中国药业, 2021, 30(13): 37-40.
- [13] 国家食品药品监督管理局总局. 《总局关于发布普通口服固体制剂参比制剂选择和确定等 3 个技术指导原则的通告》(2016 年第 61 号) [EB/OL]. (2016-03-18) [2022-02-04]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/qtggtg/20160318210001725.html>.
- [14] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 39-40.

[责任编辑 解学星]