

伊潘立酮片溶出度一致性评价研究

米楠^{1,2}, 马超^{1,2}, 房思萌^{1,2}, 臧可昕^{1,2}, 苏慕君^{1,2}

1. 天津药物研究院制剂中心, 天津 300193

2. 天津药物研究院释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 考察自制伊潘立酮片(1 mg 规格)与参比制剂的溶出度一致性。方法 用 HPLC 法测定伊潘立酮在不同 pH 溶出介质中的溶解度, 绘制伊潘立酮“pH-溶解度”曲线, 测定自研制剂与参比制剂在 4 种不同 pH 溶出介质(0.1 mol/L HCl 溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、水)中的溶出度, 绘制溶出曲线, 用相似因子法进行拟合。结果 在所选 4 种溶出介质下, 自研制剂与参比制剂的溶出曲线相似因子 f_2 值均大于 50。结论 自研制剂与参比制剂能够达到体外溶出一致。

关键词: 伊潘立酮片; 溶出度; 一致性评价; 相似因子

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2017)02-0164-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.02.004

Evaluation of dissolution consistency of Iloperidone Tablets

MI Nan^{1,2}, MA Chao^{1,2}, FANG Si-meng^{1,2}, ZANG Ke-xin^{1,2}, SU Mu-jun^{1,2}

1. Centre of Pharmaceutics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To compare the dissolution curves of reference preparation and self-prepared Iloperidone Tablets in four different pH dissolution media (0.1 mol/L HCl solution, pH 4.5 acetate buffer solution, pH 6.8 phosphate buffer solution, and water).

Methods The solubility of Iloperidone in different pH solutions was measured, the dissolution curves of two preparations in four different pH dissolution media were determined by HPLC, and the similarity was investigated according to the f_2 factor method.

Results The f_2 factors between reference preparation and self-prepared Iloperidone Tablets in four different media were more than 50.

Conclusion The two preparations are equivalent in four different pH dissolution media *in vitro*.

Key words: Iloperidone Tablets; dissolution; consistency evaluation; f_2 factor

伊潘立酮(IPLT)是一种新型的非典型抗精神病药物,既是 5-羟色胺 2A(5-HT_{2A})受体阻滞药,又是多巴胺(D₂)受体阻滞药,与目前使用的其他抗精神病药物相比,在有效治疗精神分裂症的同时可以减少锥体外系综合症的发生,安全性和耐受性良好。2009 年 5 月,由美国 Vanda 制药公司开发的伊潘立酮片(商品名为 Fanapt)获得了 FDA 的批准并在美国上市,在临床上用于治疗成年人的精神分裂症,共分为 7 种规格:1、2、4、6、8、10 和 12 mg^[1]。伊潘立酮片的上市标志着对许多现有药物治疗仅部分有效的精神分裂症患者是一个新的机会,该药物可以更好地控制他们的症状。

多种 pH 值溶出曲线的测定已成为国内外评价固体制剂内在品质的一种重要科学手段,是提高仿制药生物等效性试验成功率的必经之路,本文以伊潘立酮为模型药物,进行了“pH-溶解度”曲线的测定,自研制剂与参比制剂的多溶媒溶出曲线的测定,并用 f_2 相似性因子拟合,来探索仿制药体外溶出一致性的研究方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AL104 天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); RC12AD 溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司); Waters e2695-e2489 高效液相色谱仪(沃特世

收稿日期: 2016-10-18

作者简介: 米楠(1985—),女,硕士,助理研究员,主要从事药物制剂及质量研究。Tel: (022)23006839 E-mail: minan518@126.com

*通信作者 苏慕君, Tel: (022)23006880 E-mail: sumj@tjpr.com

公司); FE20pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司); TGL-16C 离心机(上海安亭科学仪器厂)

1.2 药物与试剂

伊潘立酮原料药(天津药物研究院化药部, 批号 R121217); 伊潘立酮自研制剂(天津药物研究院制剂中心, 规格 1 mg/片, 批号 14091101); 伊潘立酮参比制剂 Fanapt(美国 Vanda 制药公司, 规格 1 mg/片, 批号 LOT FFZN); 盐酸、氢氧化钠购自天津市凯信化学工业有限公司, 分析纯; 乙酸钠、磷酸二氢钾、无水柠檬酸、无水磷酸氢二钠、磷酸氢二铵购自天津市光复科技发展有限公司, 分析纯; 冰乙酸(天津市康科德科技有限公司, 分析纯); 甲醇(天津市康科德科技有限公司, 色谱纯)

2 方法与结果

2.1 “pH-溶解度”曲线的测定

2.1.1 系列 pH 溶液的配制 配制 pH1.0~8.0 系列溶液, 盐酸溶液、pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH6.8 磷酸盐缓冲液的配制参照《中国药典》2015 年版^[2], 其他 pH 溶液采用 McIlvaine 缓冲液(用 0.1 mol/L 柠檬酸溶液和 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液混合配制)和磷酸盐缓冲液(用 0.2 mol/L 磷酸二氢钾溶液和 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液混合配制), 测定各溶液 pH。

2.1.2 “pH-溶解度”曲线的测定 以上述 pH1.0~8.0 系列溶液 500 mL 作为溶出介质, 采用桨法, 转速为 50 r/min, 介质温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 每杯投入过量伊潘立酮原料药(经气流粉碎处理), 使之形成过饱和溶液, 经 24 h 后取样滤过, 取续滤液, 稀释, 参照“溶出度试验测定方法”项下色谱条件, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算伊潘立酮在不同 pH 溶液中的溶解度(S), 结果见表 1。以 pH 为横坐标, 以 $\lg S$ 值为纵坐标, 绘制伊潘立酮“pH-溶解度”曲线, 结果见图 1。

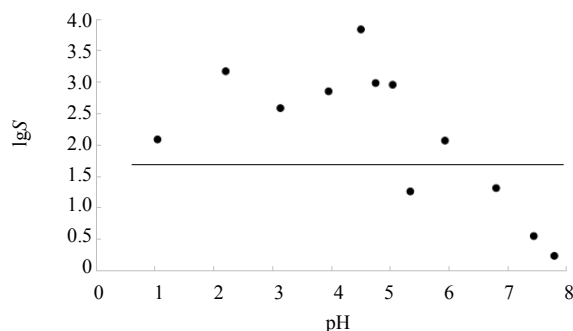
结果表明, 伊潘立酮为难溶性药物, 几乎不溶于水, pH6.8 磷酸盐缓冲液, 极微溶于 0.1 mol/L 盐酸溶液, 微溶于 pH4.5 醋酸盐缓冲液。

2.1.3 不同 pH 溶液中稳定性的测定 上述过饱和溶液, 分别经 24、48、72 h 后取样滤过, 取续滤液, 稀释, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算溶解度。结果表明, 在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 条件下, 伊潘立酮在上述 12 个 pH 溶液中 72 h 内, 溶解度 RSD 依次为 0.41%、0.88%、0.28%、0.26%、0.89%、0.78%、1.80%、1.71%、1.54%、0.86%、1.91%、1.86%, 均小于 2.0%, 未发生降解, 稳定性良好。

表 1 伊潘立酮在不同 pH 溶液中的溶解度 (37°C)

Table 1 Solubility of IPLT in different pH solutions (37°C)

溶液 pH	溶液类型	溶解度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1.05	0.1 mol/L 盐酸溶液	120.7
2.21	0.01 mol/L 盐酸溶液	1471
3.14	0.001 mol/L 盐酸溶液	380.5
3.96	McIlvaine 缓冲液	704.6
4.51	醋酸盐缓冲液	6816
4.78	磷酸盐缓冲液	954.4
5.05	McIlvaine 缓冲液	896.4
5.35	蒸馏水	17.94
5.94	McIlvaine 缓冲液	115.6
6.81	磷酸盐缓冲液	20.59
7.45	McIlvaine 缓冲液	3.490
7.86	McIlvaine 缓冲液	1.690



直线为最大规格剂量 (12 mg) 溶解在 250 mL 水中的溶解度
The straight line represents the solubility the maximum standard dose (12 mg) in the 250 mL water

图 1 pH-溶解度曲线 (37°C)

Fig. 1 pH Solubility profile of IPLT at 37°C

2.2 溶出度测定方法

2.2.1 溶出介质的选择 参照《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[3]及伊潘立酮“pH-溶解度”曲线测定结果, 选择 4 种不同 pH 溶液作为溶出介质: 0.1 mol/L 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、水。

2.2.2 溶出度测定方法

(1) 高效液相色谱条件 照高效液相色谱法(《中国药典》2015 年版四部通则 0512)进行测定。色谱柱为 Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸氢二铵(磷酸调节 pH 至 7.0 ± 0.05) (70:30); 检测波

长 229 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 °C; 进样体积 100 μ L; 运行时间 10 min。

(2) 专属性 分别取流动相、4 种溶出介质、混合辅料、伊潘立酮对照品溶液、伊潘立酮片样品溶液各 100 μ L, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见表 2。结果表明, 在该色谱条件下, 流动相、溶出介质、混合辅料峰保留时间 < 4.4 min, 伊潘立酮峰与各峰分离度良好, 不干扰伊潘立酮片溶出度测定。

表 2 伊潘立酮片溶出度测定方法学专属性结果
Table 2 Specificity results of IPLT Tablets resolution method

样品名称	保留时间/min			
	背景		伊潘立酮	
流动相	—	—	4.324	—
0.1 mol/L 盐酸溶液	2.790	3.165	4.337	—
pH4.5 醋酸盐缓冲液	2.812	3.083	4.326	—
pH6.8 磷酸盐缓冲液	—	3.117	4.286	—
水	—	3.112	4.282	—
混合辅料	2.799	3.179	4.334	—
对照品溶液	2.807	3.176	4.333	7.833
供试品溶液	2.817	3.174	4.332	7.830

(3) 线性范围 精密称取伊潘立酮对照品约 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量使溶解, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别精密移取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 置 100 mL 量瓶中, 分别用 4 种溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 注入液相色谱仪, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果表明, 在 0~3.057 μ g/mL 浓度范围内, 伊潘立酮在 0.1 mol/L 盐酸溶液、pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH6.8 磷酸盐缓冲液、水中的线性回归方程及相关系数分别为 $A = 293\ 493\ C - 2\ 835.5, r = 0.999\ 8$; $A = 284\ 709\ C - 3235.6, r = 0.999\ 9$; $A = 301\ 277\ C - 2\ 453.4, r = 0.999\ 8$; $A = 294\ 684\ C - 4048.9, r = 0.999\ 8$ 。伊潘立酮在 4 种溶出介质中线性关系均良好。

(4) 回收率 精密称取伊潘立酮对照品适量, 置量瓶中, 按处方量加入混合辅料, 分别用 4 种溶出介质溶解, 稀释, 配制成质量浓度为 1.4、2.0、2.6 μ g/mL 的样品, 每个质量浓度平行操作 3 份, 滤过, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算回收率。结果表明, 伊潘立酮在 0.1 mol/L 盐酸溶液、pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH6.8 磷酸盐缓冲液、水中的平均

回收率分别为 99.95%、99.62%、99.91%、99.74%; RSD 分别为 0.21%、0.65%、0.43%、0.78%。伊潘立酮在 4 种溶出介质中回收率均良好 ($n=9$)。

(5) 滤膜干扰 取伊潘立酮片 1 片, 置 500 mL 溶出介质中, 37 °C 水浴中振摇 30 min, 取出, 分别经离心 (11 000 r/min、7 min)、一次性针式过滤器 (尼龙 0.45 mm $\times$ 15 mm) 滤过, 取上述溶液分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 考察滤膜干扰情况。结果表明, 使用 0.45 mm 微孔滤膜滤过, 弃初滤液 5 mL, 测定结果与离心测定结果一致, 滤膜无吸附, 不干扰测定; 全溶出测定中滤液 40 mL, 滤膜无吸附, 结果表明, 使用 0.45 mm 微孔滤膜滤过不干扰伊潘立酮片溶出度的测定。

(6) 稳定性 将伊潘立酮对照品溶液、样品溶液样品仓内 (25 $\pm$ 5) °C 放置, 于 2、4、6、8、10、12、24、48 h 取样 100 mL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。

将对照品溶液、样品溶液置于 4 °C 冰箱内冷藏放置, 于 1、2、3、4 d 取样 100 mL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。

结果表明, 将对照品溶液、样品溶液于样品仓内放置 48 h, 峰面积 RSD 分别为 0.86%、0.69%; 将对照品溶液、样品溶液于 4 °C 冰箱放置 4 d, 峰面积 RSD 分别为 1.43%、1.98%, 溶液稳定性良好。

(7) 耐用性 改变高效液相色谱条件, 考察色谱系统参数变化耐用性, 包括: 体积流量 $\pm$ 0.1 mL/min、柱温 $\pm$ 2 °C, 波长 $\pm$ 2 nm、流动相比例 $\pm$ 2%、流动相 pH $\pm$ 0.2。设置高效液相色谱系统参数, 分别取对照品溶液和供试品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算含量。结果表明各微调条件下, 伊潘立酮测定结果的 RSD 值均小于 1.0% ($n=6$), 色谱系统参数耐用性良好。

2.2.3 溶出方法与数据处理 照溶出度测定法(《中国药典》2015 年版四部通则 0931 第二法), 用以上 4 种溶媒 500 mL 作为溶出介质, 温度 (37 $\pm$ 0.5) °C, 转速 50 r/min, 取自研制剂和参比制剂各 12 片, 依法操作, 分别在 5、10、15、20、30、45、60 min 取溶液 7 mL, 0.45 μ m 微孔滤膜弃初滤液, 取续滤液 2 mL 作为供试品溶液。

精密称定伊潘立酮对照品 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述伊潘立酮对照品溶液 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 作为对照

品溶液。

将对照品溶液、供试品溶液分别注入液相色谱仪,记录色谱图,计算每片制剂各时间点的溶出量,绘制相应的溶出度曲线,取两条曲线上各时间点的平均溶出度值,采用非模型依赖法中的相似因子(f_2)法计算相似因子。

相似因子计算公式如下:

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

其中 n 为取样时间点个数, R_t 为参比制剂的溶出度值, T_t 为自研制剂的溶出度值^[4]。

2.3 多溶媒溶出曲线测定结果

伊潘立酮参比制剂与自研制剂在 4 种不同 pH 溶出介质中的平均溶出度曲线 ($n=12$) 见图 2。

2.4 溶出一致性评价结果

伊潘立酮参比制剂与自研制剂在 4 种不同 pH 溶出介质中的相似因子拟合结果见表 3。由结果可知,在 0.1 mol/L 盐酸和 pH4.5 醋酸盐缓冲液中,自研制剂与参比制剂在 15 min 内的溶出量 >85%,可判定为溶出行为相似,无需进行 f_2 拟合^[5];在 pH6.8 磷酸盐缓冲液和水中,选择 5、10、15 min 进行相

似因子拟合, f_2 值均大于 50, 溶出行为相似。

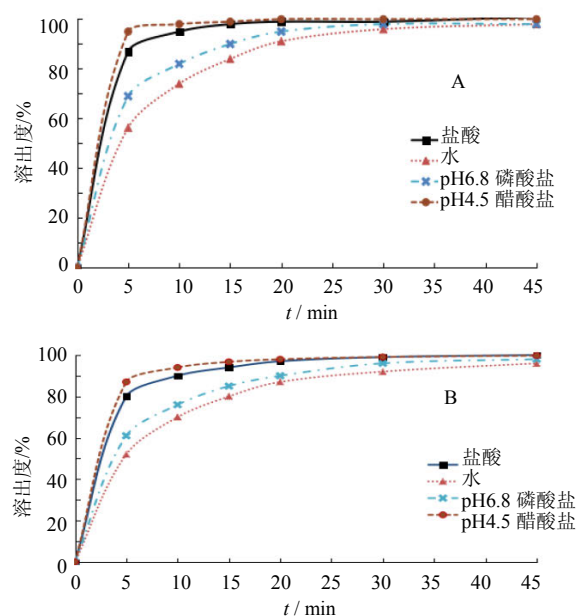


图2 伊潘立酮参比制剂(A)与自研制剂(B)在4种溶出介质下的溶出曲线

Fig.2 Dissolution curves of reference formulation (A) and the self-prepared formulation (B) in four different media

表3 多溶媒溶出相似因子拟合

Table 3 f_2 factors between two tablets in four different media

溶出介质	样品	溶出量/%							f_2
		0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	
0.1 mol/L HCl	参比	0	87	95	98	99	99	101	—
	自研	0	80	90	94	97	99	100	
pH 4.5醋酸盐缓冲液	参比	0	95	98	99	100	100	100	—
	自研	0	87	94	97	98	99	100	
pH 6.8磷酸盐缓冲液	参比	0	69	82	90	95	98	98	59
	自研	0	61	76	84	90	96	98	
水	参比	0	56	74	84	91	96	98	69
	自研	0	52	70	80	87	92	96	

3 讨论

近年来研究认为,基于生物药剂学分类系统(Biopharmaceutical Classification System, BCS)理论的溶出试验是最能替代药物生物等效性研究的体外试验方法^[6],当制剂的最大规格对应的原料药在 250 mL (或更少) pH1.0~6.8 的水溶性介质中自由溶解则可认为该药物是高溶解性药物^[7]。伊潘立酮属于低溶解度高渗透性的 BCS II 类药物^[8-9],研究表明,BCS II 类药物出现生物不等效的风险比 I、III

类药物高 4 倍^[10],因此伊潘立酮片的体外溶出行为直接影响其体内生物利用度,需要通过与参比制剂溶出曲线的比较,来推测在生物利用度方面可能存在的差异。

伊潘立酮片作为精神类药物,为提高精神分裂症患者口服给药的顺应性,要求片剂能够迅速释放,即在 500 mL 0.1 mol/L 盐酸、pH 4.5 缓冲介质、pH6.8 缓冲介质中,50 r/min 下,药物在 30 min 内的溶出量均应达到标示量的 85%以上^[7]。根据日本《仿制

药生物等效性试验指导原则》，难溶性药物制剂通常选择 pH1.2、pH3.0~5.0、pH6.8 的缓冲溶液、水作为体外一致性的溶出介质^[11]。综合“pH-溶解度”曲线结果及相关指导原则，本文选择了 0.1 mol/L 盐酸溶液、pH4.5 缓冲溶液、pH6.8 缓冲溶液、水 4 种溶出介质，同时满足了人体内消化道各器官的变化范围。结果表明，伊潘立酮自研制剂与参比制剂在上述 4 个 pH 溶出介质中都有一定的崩解、溶出，且溶出速度与“pH-溶解度”测定结果相一致：pH4.5 醋酸盐缓冲溶液>0.1 mol/L 盐酸>pH6.8 磷酸盐缓冲溶液>水。

本研究选取了 4 种不同 pH 的溶出介质，对自研制剂和参比制剂进行了溶出度一致性评价，两种制剂在四种溶出介质中溶出曲线均具有相似性，表明自研制剂与参比制剂能够达到体外溶出一致，且理论上对任何人群均应有较高的生物利用度，为生物等效性试验等提供了可靠基础。

参考文献

- [1] 刘 岩, 翟金国, 杨 涛. 新型非典型抗精神病药伊潘立酮临床应用新进展 [J]. 精神医学杂志, 2015, 28(5): 384-387.
- [2] 中国药典 [S]. 四部. 2015. 通则 8004, 8006.
- [3] 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则 [S]. 2015.
- [4] 张启明, 谢沐风, 宁保明. 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): 946-950.
- [5] 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): 308-311.
- [6] Amidon G L, Lennernäs H, Shah V P, et al. A theoretical basis for biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability [J]. Pharmaceut Res, 1995, 12(3): 413-420.
- [7] FDA. Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system guidance for industry [S]. 2015.
- [8] Dickinson P A, Lee W W, Stott P W, et al. Clinical relevance of dissolution testing in quality by design [J]. The AAPS Journal, 2008, 10(2): 280-290.
- [9] Arif S A, Mitchell M M. Iloperidone: A new drug for the treatment of schizophrenia [J]. Am J Health Syst Pharm, 2011, 68(4): 301-308.
- [10] Cristofolletti R, Chiann C, Dressman J B, et al. A comparative analysis of biopharmaceutics classification system and biopharmaceutics drug disposition classification system :a cross-sectional survey with 500 bioequivalence studies [J]. J Pharmaceut Sci, 2013, 102(9): 3136-3144.
- [11] 仿制药生物等效性试验指导原则 [S]. 2012.