

他达拉非片的制备及其体内外评价

李文芳^{1, 2#}, 寻明金^{1, 2#}, 冯 中^{1, 2*}, 张贵民^{1, 2*}, 滕梦茹^{1, 2}, 姜修婷^{1, 2}

1. 鲁南制药集团股份有限公司 国家手性制药工程技术研究中心, 山东 临沂 276000

2. 山东新时代药业有限公司 山东省药物国际化工程实验室, 山东 临沂 273400

摘要: 目的 制备他达拉非片并考察其体内外释药特性。方法 以溶出度为评价指标, 筛选他达拉非片各辅料用量及包衣增重。用相似因子(f_2)法比较自制制剂与参比制剂在0.5% SDS溶液、含0.5% SDS的0.1 mol/L的盐酸溶液、含0.5% SDS的pH 4.5醋酸钠缓冲液、含0.5% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液中溶出曲线的相似性。比较二者在Beagle犬体内的药动学特征。结果 他达拉非片处方为他达拉非20 mg、乳糖50M 227.625 mg、羟丙基纤维素L 10.5 mg、交联羧甲基纤维素钠19.6 mg、SDS 0.525 mg、微晶纤维素M102 70 mg、硬脂酸镁1.75 mg, 包衣增质量范围2%~4%。自制与参比制剂在4种溶出介质中的 f_2 均大于65, 二者体外溶出行为相似。2种制剂在Beagle体内的药动学参数 AUC_{0-12} 、 C_{max} 、 t_{max} 均无显著性差异, 自制他达拉非片的相对生物利用度为 $(101.67 \pm 8.99)\%$ 。结论 成功制备他达拉非片, 其体外溶出和体内药动学行为与参比制剂相似。

关键词: 他达拉非; 体外溶出; 药动学试验; 体内释放; 一致性评价

中图分类号: R944.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)09-1902-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.013

Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of Tadalafil Tablets

LI Wenfang^{1,2}, XUN Mingjin^{1,2}, FENG Zhong^{1,2}, ZHANG Guimin^{1,2}, TENG Mengru^{1,2}, JIANG Xiuting^{1,2}

1. National Engineering and Technology Research Center of Chirality Pharmaceutical, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276000, China

2. International Pharmaceutical Engineering Lab. in Shandong Province, Shandong New Time Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi 273400, China

Abstract: **Objective** To prepare Tadalafil tablets and investigate its *in vitro-in vivo* release characteristics. **Methods** Using dissolution degree as index, to screen the amount of each excipient and the coating weight gain. f_2 similarity factor method was used to compare the similarity of dissolution curves between self-made preparation and reference preparation in 0.5% SDS solution, 0.1 mol/L hydrochloric acid solution containing 0.5% SDS, pH 4.5 sodium acetate buffer containing 0.5% SDS, and pH 6.8 phosphate buffer containing 0.5% SDS. To compare the pharmacokinetic characteristics of the two preparations in beagle body. **Results** The formulation of tadalafil tablets was tadalafil 20 mg, 227.625 mg lactose 50M, 10.5 mg hydroxypropyl cellulose L, croscarmellose sodium 19.6 mg, SDS 0.525 mg, 70 mg microcrystalline cellulose M102, and magnesium stearate 1.75 mg, and the coating weight gain ranged from 2% to 4%. The similarity factor (f_2) of the self-made preparation and the reference preparation was greater than 65 in the four dissolution media, and the dissolution behavior of the two preparations was similar *in vitro*. There were no significant differences in pharmacokinetic parameters AUC_{0-12} , C_{max} and t_{max} . The relative bioavailability of self-made tadalafil tablets was $(101.67 \pm 8.99)\%$. **Conclusions** Tadalafil tablets were successfully prepared, and its *in vitro* dissolution and *in vivo* pharmacokinetic behavior were similar to reference preparations.

Key words: Tadalafil Tablets; dissolution *in vitro*; pharmacokinetic studies; release *in vivo*

他达拉非是环磷酸鸟苷(cGMP)特异性磷酸二酯酶5的可逆性抑制剂, 通过增加阴茎海绵体内

cGMP水平使平滑肌松弛, 导致阴茎血流量增加而起到治疗男性勃起功能障碍(erectile dysfunction,

收稿日期: 2021-03-16

基金项目: 国家手性制药工程技术研究中心资助项目(2016GGH4528)

#共同第一作者: 李文芳(1991—), 女, 工程师, 主要从事制剂研究与开发。E-mail: liwenfang96@163.com

寻明金(1986—), 男, 工程师, 主要从事新药研究与开发。E-mail: 15244332055@163.com

*共同通信作者: 冯 中(1983—), 男, 高级工程师, 主要从事新药研究与开发。E-mail: fengzhong22@163.com

张贵民(1969—), 男, 研究员, 主要从事新药研究与开发。E-mail: lunanzhangguimin@163.com

ED)的作用,与其他治疗ED药物相比,他达拉非具有选择性高,半衰期长,耐受性好等优点^[1-3]。此外,他达拉非还可用于肺动脉高压、良性前列腺增生等疾病的治疗^[4-5]。他达拉非由礼来公司研发,2003年11月23日经美国FDA批准上市,商品名为希爱力®,上市剂型为速释片剂,规格为20.0、10.0、5.0、2.5 mg。

近年来,仿制药质量和疗效一致性评价工作不断推进,本研究以国家药品监督管理局公布的参比制剂目录为依据,选定由礼来公司生产的希爱力®作为参比制剂仿制了规格为20 mg的他达拉非片,并以溶出度为评价指标,对他达拉非片的各辅料用量和包衣增质量进行优化筛选^[6-8],同时考察了自制制剂和参比制剂体外溶出行为及二者在人体内的药动学特征,比较二者的体内外释药特性。

1 材料

1.1 仪器

VG65/10型混合制粒机、Combo 250型流化床(德国Glatt公司);Comil-U5型SLS可拓展多功能实验系统(英国Fitzpatrick公司);HBD-50型混合机(南通贝特医药机械有限公司);P3030型压片机(菲特压片机械有限公司);Perfima型包衣机(意大利IMA公司);Distek 2500型智能溶出仪(美国Distek公司);UltiMate 3000型高效液相色谱仪、Finnigan TSQ Quantum Ultra型三重四极杆质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)和Xcalibur3.0工作站(美国Thermo公司)。

1.2 药物及主要试剂

他达拉非原料药(山东特珐曼药业有限公司,批号20191002);他达拉非对照品(自制,批号191201,质量分数99.48%);他达拉非参比制剂(美国礼来制药有限公司,批号C931765A,规格20 mg);乳糖200M(荷兰DMV公司);羟丙基纤维素L(日本曹达株式会社);十二烷基硫酸钠(SDS,德国巴斯夫股份公司);微晶纤维素M102(明台化工股份有限公司);交联羧甲基纤维素钠(德国J. Rettenmaier Sohne GmbH Co.KG);硬脂酸镁(荷兰Peter Greven Nederland C.V.);薄膜包衣预混剂(型号32K52002-CN,上海卡乐康包衣技术有限公司);水为纯化水、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;地西洋标准品(中国食品药品检定研究院,批号201211-231707,质量分数99.97%)。

1.3 动物

6只雄性Beagle犬,体质量8~12 kg,购于北京

玛斯生物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-0001。实验犬身体均健康,实验前1周末服用任何药物。

2 方法与结果

2.1 他达拉非片的制备

称取他达拉非原料药20 g、乳糖50M 227.6 g、羟丙基纤维素L 10.5 g、交联羧甲基纤维素钠9.8 g,一起置于湿法制粒机中混合10 min,另将0.533 g SDS溶于50.4 g纯化水中,加至上述混合物中湿法制粒,干燥后过1 mm筛网整粒,将微晶纤维素M102 70 g和交联羧甲基纤维素钠9.8 g加入内颗粒中混合10 min,再加入硬脂酸镁1.75 g混合5 min,压片,包衣,即得。

2.2 溶出度测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱辛基硅烷键合硅胶(Agilent Zorbax SB-C₈, 5.0 cm×4.6 mm, 3.5 μm);检测波长225 nm;流动相甲醇和水(50:50);柱温40℃;体积流量1.0 mL/min;进样体积50 μL。

2.2.2 溶液制备

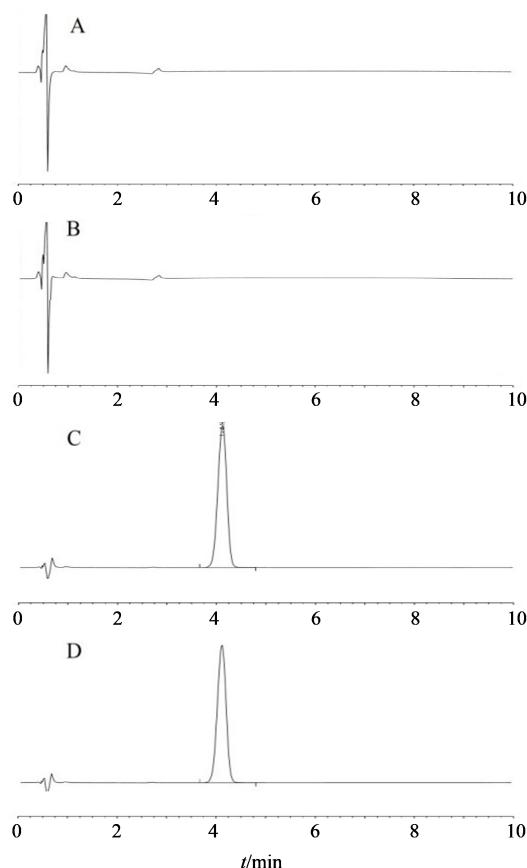
对照品溶液:精密称定他达拉非对照品25 mg,至100 mL容量瓶中,用乙腈-水(1:1)溶液超声溶解并稀释成0.25 g/L的贮备液,再取贮备液4 mL,至50 mL量瓶中,用溶出介质稀释成20 mg/L的对照品溶液。

供试品溶液:取自制和参比制剂各6片,按照溶出度测定浆法,以1 000 mL 0.5% SDS溶液为溶出介质,转速为50 r/min,分别于5、10、15、20、30、45 min取溶出液5.0 mL(不补液),用0.45 μm滤膜过滤,弃去3 mL,取续滤液2 mL作为供试品溶液。按照“2.2.1”项色谱条件测定,按外标法以峰面积计算累积溶出度,绘制溶出曲线。

2.2.3 方法学验证

(1)专属性考察:取溶出介质溶液、相应的空白辅料溶液、供试品溶液和对照品溶液,照“2.2.1”项下色谱条件进样分析,结果显示各溶出介质和辅料对主成分的测定均无干扰,对照品溶液和供试品溶液中主峰保留时间一致,表明该方法专属性良好,代表性图谱见图1。

(2)线性关系考察:取对照品溶液适量,加溶出介质逐级稀释为质量浓度分别为0.5、2.5、5、10、20、30、40 μg/mL的溶液,按照“2.2.1”项色谱条件测定,结果表明,他达拉非质量浓度在0.509 3~30.557 4 μg/mL与峰面积线性关系良好,回归方程 $Y=7\times 10^{-6}X-1.698\times 10^{-3}$, $r=0.999\ 98$ 。



A-溶出介质; B-空白辅料溶液; C-对照品溶液; D-供试品溶液
A- dissolution medium; B- blank accessory solution; C- reference substance solution; D- test solution

图1 0.5% SDS+pH 6.8磷酸盐缓冲液为介质的代表性图谱
Fig. 1 Representative chromatogram of 0.5% SDS + pH 6.8 phosphate buffer medium

(3) 滤膜吸附性考察: 将溶出液分成2份, 一份离心取上清液, 另一份过滤2、4 mL后取续滤液, 按照“2.2.1”项色谱条件测定, 过滤2、4 mL所得续滤液的峰面积分别为离心所得上清液测得的峰面积的99.75%、100.01%, 说明滤膜对他达拉非无吸附。

(4) 重复性考察: 溶出45 min时于同一溶出杯中平行取6份供试品溶液, 由不同人在不同仪器测定供试品的溶出度, 结果显示6份供试品溶液的RSD为0.59%。

(5) 回收率考察: 分别精密称取约1.6、2.0、2.4 mg的他达拉非原料药置100 mL量瓶中, 再加入处方中的其他辅料, 用溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 作为80%、100%、120%浓度水平的供试品溶液, 平行制备3份, 进样测定, 3个浓度范围内的平均回收率分别为99.68%、99.91%、99.77%, RSD值为0.12%, 回收率符合规定。

(6) 溶液稳定性考察: 溶出供试溶液和对照品溶液室温放置, 分别于0、4、8、12、24、48 h取样, 进

样分析, RSD分别为0.11%、0.60%, 说明室温放置48 h内稳定性良好。

2.2.4 溶出曲线相似性评价 溶出曲线的相似性一般采用 f_2 相似因子法进行评价, 计算公式如下。

$$f_2 = 50 \times \lg \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{i=1}^n (T_i - R_i)^2}{n}}} \right]$$

n 为取样时间点个数, T_i 和 R_i 分别为各取样时间点自制制剂和参比制剂平均溶出度

根据溶出曲线的相似性计算方法, 他达拉非片自制品和参比制剂通常取3个点以上的溶出度结果进行计算, $f_2 > 50$ 时, 表明两条溶出曲线相似, f_2 越大溶出曲线相似性越大。

2.3 单因素考察

他达拉非在药剂学分类系统中为BCS II类, 即低溶解性、高渗透性药物^[9], 影响此类药物片剂质量的因素主要为稀释剂、黏合剂、崩解剂等。本研究以溶出度为评价指标, 采用单因素试验对上述因素分别进行筛选。

2.3.1 乳糖50M与微晶纤维素比例的考察 乳糖50M和微晶纤维素M102均为稀释剂, 二者比例可以影响药物溶出^[8]。按照“2.1”项下方法, 分别以乳糖50M和微晶纤维素M102质量比为5:3、3:1、7:1制备片剂, 考察其在0.5% SDS溶液中的溶出度, 结果见图2。

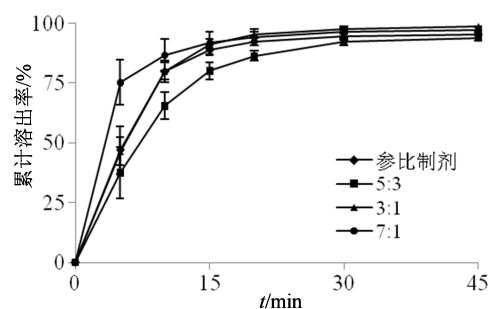


图2 不同乳糖和微晶纤维素比例他达拉非片的体外溶出曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different lactose and microcrystalline cellulose ratios ($\bar{x} \pm s, n=6$)

如图2所示, 随着乳糖50M和微晶纤维素M102质量比增加, 他达拉非片溶出速度随之增加。计算3种自制与参比制剂溶出曲线的 f_2 值分别为57.1、93.5、49.2, 且在压片过程中发现乳糖50M和微晶纤维素M102质量比为5:3时, 细粉较多, 物料流动性差, 容易黏冲, 综合上述因素, 确定乳糖50M和微晶

纤维素M102质量比为3:1。

2.3.2 黏合剂种类及用量的考察 为保证自制片剂与参比制剂的一致性,选择羟丙基纤维素和羟丙甲纤维素为黏合剂。按照“2.1”项下方法,分别以羟丙基纤维素L用量3%、4%,羟丙甲纤维素E5LV用量3%、4%制备片剂,照“2.2”项下方法进行溶出度考察,结果见图3。

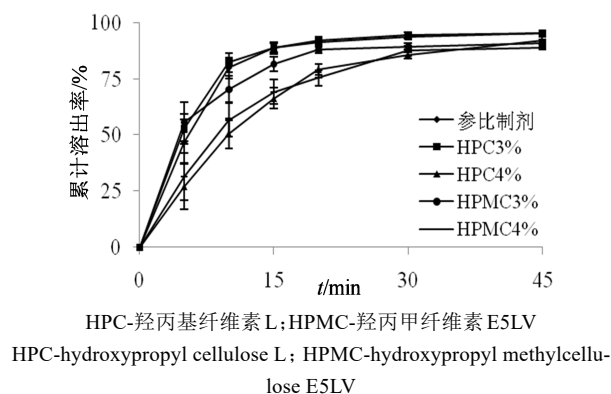


图3 不同黏合剂种类及用量他达拉非片的体外溶出曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different types and dosages of binders ($\bar{x} \pm s, n=6$)

在制粒过程中发现,羟丙基纤维素L和羟丙甲纤维素E5LV用量为4%时,所制得颗粒较硬,导致片剂崩解较慢;羟丙基纤维素L和羟丙甲纤维素E5LV用量为3%时,颗粒较均匀、流动性与可压性均较好,所制得片剂性质在可接受标准之内。计算羟丙基纤维素L用量3%、4%和羟丙甲纤维素E5LV用量3%、4%时所制片剂与参比制剂溶出曲线的 f_2 值分别为80.3、40.0、62.9、43.2,综合考虑,选择羟丙基纤维素L为黏合剂,处方量为3%。

2.3.3 交联羧甲基纤维素钠用量的考察 按照“2.1”项下方法制备片剂,考察交联羧甲基纤维素钠用量为1.5%、2.8%、4.0%时,对他达拉非片在0.5% SDS溶液中溶出的影响,结果见图4。

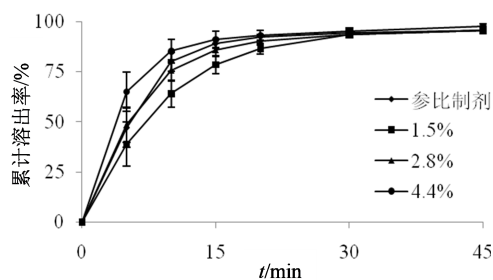


图4 不同交联羧甲基纤维素钠用量他达拉非片的体外溶出曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different contents of croscarmellose sodium ($\bar{x} \pm s, n=6$)

由图4中3种片剂溶出曲线可知,随交联羧甲基纤维素钠用量的增加溶出速度加快,计算3者与参比制剂溶出曲线的 f_2 值分别为55.8、82.9、58.4,观察到交联羧甲基纤维素钠用量为2.8%时所制片剂与参比制剂的溶出最为相似。经考察,交联羧甲基纤维素钠的加入方式采用内外加时,能保证片剂溶出速率的均衡,故确定交联羧甲基纤维素钠用量为2.8%,其中1.4%加入内颗粒中,另1.4%加入外颗粒中。

2.3.4 SDS用量的考察 他达拉非原料药几乎不溶于水,因此需要加入增溶剂以保证其溶解,选用SDS为增溶剂,按照“2.1”项下方法,分别以SDS用量0.10%、0.15%、0.20%制备片剂,考察其在0.5% SDS溶液中的溶出行为,结果见图5。

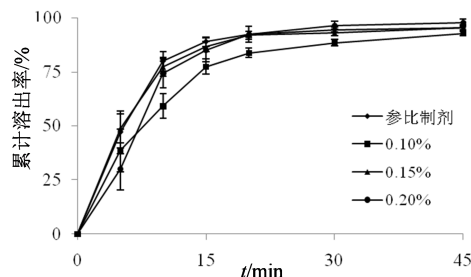


图5 不同SDS用量他达拉非片的体外溶出曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 5 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different contents of SDS ($\bar{x} \pm s, n=6$)

如图5所示,SDS用量与45 min时片剂累计溶出率呈正相关,但SDS用量为0.20%时5 min溶出度较低,原因为SDS用量过大会降低溶出介质的表面张力,不利于片剂崩解。计算自制片剂与参比制剂溶出曲线的 f_2 值分别为50.7、88.2、59.4。选择SDS用量为0.15%。

2.3.5 硬脂酸镁用量的考察 按照“2.1”项下方法,分别以硬脂酸镁用量0.25%、0.50%、0.75%制备片剂,按照“2.2”项下方法进行溶出度考察,结果见图6。

如图6所示,硬脂酸镁用量对他达拉非片的溶出无影响。硬脂酸镁用量为0.25%、0.50%、0.75%时, f_2 值依次为74.3、86.3、60.6。但在压片过程中发现硬脂酸镁用量为0.25%时,存在黏冲现象,不利于操作。从处方耐用性考虑,最终选择硬脂酸镁用量为0.5%。

2.3.6 包衣增质量的考察 包衣增质量对药物的溶出也有影响,按照“2.1”项下方法制备片剂,包衣增质量分别为2%、3%、4%,考察包衣增质量对药物在0.5% SDS溶液中溶出的影响,结果见图7。

如图7所示,包衣增质量为2%、3%、4%时对他

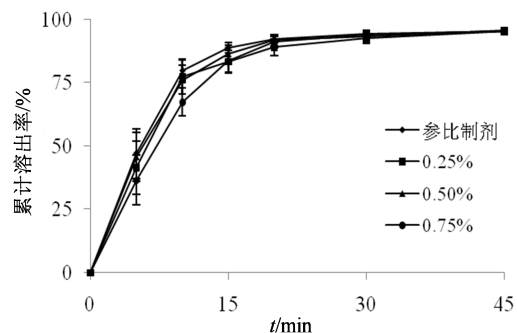


图6 不同硬脂酸镁用量他达拉非片的体外溶出曲线($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 6 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different contents of magnesium stearate ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

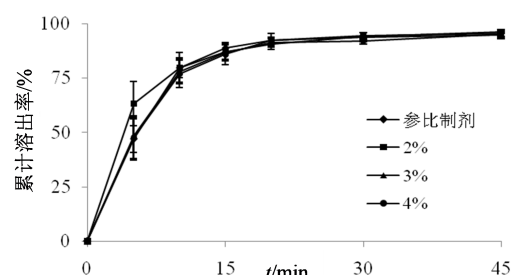


图7 不同包衣增质量他达拉非片的体外溶出曲线($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 7 Dissolution curves *in vitro* of Tadalafil Tablets with different coating weight gains ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

达拉非片的溶出行为无明显影响,计算 f_2 值依次为61.4、90.9、87.5,因此将包衣增质量设定在2%~4%。

2.4 处方工艺的验证

2.4.1 含量与有关物质检测方法 根据美国药典各论中收载的他达拉非片检测方法进行含量和有关物质的检测,具体操作如下:

(1) 色谱条件:色谱柱辛基硅烷键合硅胶(Agilent Zorbax SB-C₈, 15.0 cm×4.6 mm, 3.5 μm);检测波长285 nm;乙腈、水和三氟乙酸(35:65:0.1)为流动相;柱温35℃;体积流量1.0 mL/min;进样体积10 μL。

(2) 样品溶液制备:取25片片剂,置500 mL量瓶中,加约400 mL稀释液[乙腈和水(1:1)],机械振摇15 min,使片剂分散,用稀释液定容,摇匀,静置至少1 h后,精密量取上述溶液2.5 mL,置10 mL量瓶中,用稀释液稀释至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜,弃去3 mL,取续滤液检测。

2.4.2 含量均匀度 称取1片片剂,置200 mL量瓶中,加入体积约100 mL稀释液[乙腈和水(1:1)],机械振摇15 min,用稀释液定容至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜,弃去3 mL,取续滤液,采用紫外分光

光度法,在285 nm波长处测定样品溶液吸光度(A)值。

2.4.3 优化处方的确定 中试批(批量60 000片):将他达拉非原料药1.200 kg、乳糖50M 13.657 kg、羟丙基纤维素L 0.630 kg、交联羧甲基纤维素钠0.588 kg一起过20目筛后,置于湿法制粒机中混合10 min;另将0.032 kg SDS溶于3.024 kg纯化水中,加至上述混合物中制软材,过5 mm筛网制粒,于40℃流化床干燥至颗粒水分≤2%,过1 mm筛网整粒;将微晶纤维素M102 4.200 kg和交联羧甲基纤维素钠0.588 kg加入内颗粒中混合10 min(转速10 r/min),加入过60目筛的硬脂酸镁0.105 g,总混5 min(转速10 r/min),压片,冲模尺寸12.7 mm×7.5 mm,控制片质量339.5~360.5 mg,片剂硬度80~100 N,包衣,得3批中试片剂(批号200701、200702、200703)。取中试3批的他达拉非片,依法检测质量分数、含量均匀度、溶出度、有关物质,结果见表1。

表1 他达拉非片中试结果

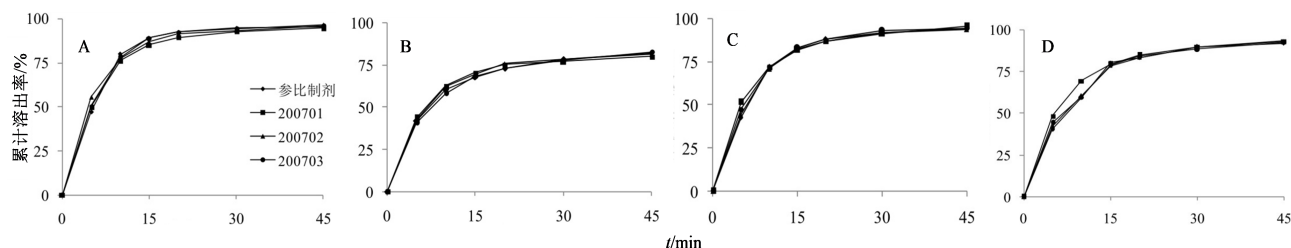
Table 1 Pilot batch results for Tadalafil Tablets

批号	质量分数/%	均匀度A值	10 min 累计溶出率/%	30 min 累计溶出率/%	有关物质/%
200701	99.89	3.26	75.62	93.11	0.03
200702	100.21	3.13	76.34	93.22	0.02
200703	100.31	2.67	77.33	92.45	0.03

如表1所示,中试3批他达拉非片的质量分数、含量均匀度、有关物质结果均符合《中国药典》2020年版的要求;按照“2.2”项下方法测定溶出度,在10和30 min累计溶出率的RSD分别为4.64%、1.00%,表明自制片剂的溶出均一性好;按照“2.2”项下方法测定溶出曲线,累计溶出率的RSD值均小于10%,结果表明自制片剂工艺稳定、中试批的批间重现性良好。

2.4.4 体外溶出行为的比较 取自制他达拉非片,分别测定其在0.5% SDS溶液(A)、含0.5% SDS的0.1 mol/L的盐酸溶液(B)、含0.5% SDS的pH 4.5醋酸钠缓冲液(C)、含0.5% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液(D)4种溶出介质中的溶出度,绘制溶出曲线,见图8。并与他达拉非参比制剂的溶出曲线进行比较,溶出曲线的 f_2 值见表2。

按溶出行为相似因子 f_2 法进行判断,只要 f_2 值大于50即可认定为溶出行为相似^[10],由表2可知,自制制剂与参比制剂4种溶出介质中溶出曲线的 f_2 值均大于65,由此判断,2者在4种溶出介质中的体外溶出行为相似。



A-0.5% SDS 溶液; B-含 0.5% SDS 的 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液; C-含 0.5% SDS 的 pH 4.5 醋酸钠缓冲液; D-含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液
A-0.5% SDS solution; B-0.1 mol·L⁻¹ hydrochloric acid solution containing 0.5% SDS; C-pH 4.5 sodium acetate buffer containing 0.5% SDS; D-Phosphate buffer of pH 6.8 with 0.5% SDS

图8 自制制剂与参比制剂在4种介质中的体外溶出曲线($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 8 *In vitro* dissolution curves of self-made preparation and reference preparation in four media ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

表2 自制制剂与参比制剂在4种溶出介质中的 f_2 值($n=6$)

Table 2 f_2 of self-made preparation and reference preparation in four media ($n=6$)

批号	f_2 值			
	A	B	C	D
200701	78.6	83.2	72.8	66.3
200702	73.3	87.1	93.3	92.1
200703	87.9	93.1	83.7	86.4

2.5 体内药动学研究

2.5.1 给药方法与血样采集 采用单剂量双周期交叉试验方案,将6只雄性Beagle犬随机分为A、B两组,每组3只,试验前禁食至少12 h,采完空白血液后,可饱腹给药。A组Beagle犬ig参比制剂1片(规格20 mg),B组Beagle犬ig自制制剂1片(规格20 mg),采集样品结束后,经1周洗脱期,给Beagle犬交叉服药。

分别在给药后0.33、0.67、1.00、1.50、2.00、2.50、4.00、8.00、12.00、24.00、36.00、48.00、64.00 h于Beagle犬的前肢或后肢静脉取血4 mL,置1%肝素抗凝的离心管中,在3 000 r/min离心10 min后,取上清液置于-20 °C冰箱中保存待测。

2.5.2 血浆样品测定^[11] 色谱条件:色谱柱 Shim-pack Scepter C₁₈-120 (100 mm×2.1 mm, 3 mm);流动相 10 mmol/L 乙酸铵溶液-甲醇(10:90);体积流量 0.3 mL/min;柱温 40 °C。

质谱条件:电喷雾电离源;正离子模式;多重反应监测;毛细管温度 350 °C;鞘气 5.25 MPa;辅助气 1.75 MPa;他达拉非和内标地西泮的碰撞电压为 40、35 V、碰撞能为 22、30 eV;用于定量分析的离子反应分别为 m/z 389.5→258.2 (他达拉非)、 m/z 284.3→151.4 (地西泮)。

血浆样品的处理:取各时间点血浆样品 300 μ L,加入质量浓度为 200 ng/mL 的地西泮内标溶液(甲醇溶解、稀释)30 μ L,涡旋混匀后,加入醋酸乙酯 4 mL,再

涡旋 3 min。3 000 r/min离心 10 min,取上清液 3.0 mL,用氮气在室温下吹干,用 100 μ L 流动相复溶,涡旋 3 min,6 000 r/min离心 10 min,取上清液进样测定。

2.5.3 检测结果 Beagle犬ig给予参比制剂和自制制剂后,平均血药浓度-时间曲线见图9。

不同时间点血药浓度经DAS 2.0药动学软件的非房室模型拟合,主要药动学参数见表3。

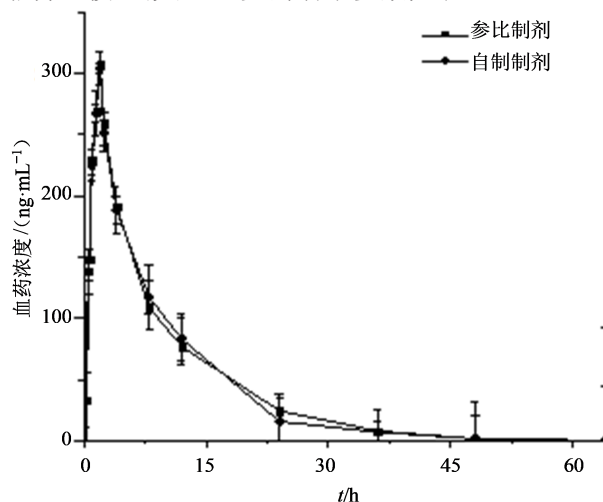


图9 自制制剂和参比制剂的平均血药浓度-药时曲线($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Fig. 9 Mean drug plasma concentration-time curves of self-made preparation and reference preparation ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

表3 自制制剂和参比制剂的药动学参数($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of self-made preparation and reference preparation ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

参数	单位	自制制剂	参比制剂
AUC _{0-64 h}	h· μ g·L ⁻¹	2 661.48±14.21	2 634.68±15.08
AUC _{0-∞}	h· μ g·L ⁻¹	2 670.77±25.01	2 641.08±21.78
t_{max}	h	2.00±7.71	2.00±15.82
C_{max}	μ g·L ⁻¹	303.99±9.59	311.89±12.75
$t_{1/2}$	h	8.34±23.32	8.27±15.31

对自制制剂和参比制剂药动学参数进行配对 t 检验分析,结果无统计学差异,表明2个制剂在人体内释药特征无明显差异。与参比制剂相比,自制片剂的口服相对生物利用度为(101.67±8.99)%。

3 讨论

生物药剂学分类系统中,在37℃、pH值1.0~7.5内,单次最大给药剂量的药物可溶于不多于250 mL的介质时,则认为该药物是高溶解性的,反之为低溶解性^[9]。他达拉非单次最大给药剂量为20 mg,经溶解度预试验,20 mg他达拉非原料药在纯化水、0.1 mol/L的盐酸溶液、pH 4.5醋酸钠缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液中完全溶解所需体积依次为5 882、6 250、6 666、7 407 mL,均大于250 mL,由此可判断他达拉非为难溶性药物。

以参比制剂的溶出行为,考察溶出度曲线的区分力。他达拉非参比制剂在0.5% SDS溶液、含0.5% SDS的0.1 mol/L的盐酸溶液、含0.5% SDS的pH 4.5醋酸钠缓冲液、含0.5% SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液中,10 min溶出度达40%,30 min溶出度达80%,因此,用其作为溶出介质考察自制制剂与参比制剂的体外释药特性。

体内实验采用单剂量双周期交叉试验方案,分别考察了自制制剂与参比制剂在Beagle犬体内的药动学参数。采用LC-MS/MS法测定他达拉非的血浆浓度,该法重现性好、专属性强,可满足他达拉非血浆浓度的测定要求。对自制制剂和参比制剂体内药动学参数进行统计学分析,结果无显著性差异,说明二者在体内的药动学过程相似。

本研究成功仿制了他达拉非片,其处方工艺可实现中试批次生产,重现性良好,产品质量均符合质量标准。体内外评价表明,自制制剂与参比制剂的体外溶出行为相似,体内药动学参数无显著性差异,符合仿制药质量和疗效一致性评价的要求,为他达拉非片的研发和生产提供了有力的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Patel A A, Patel R J, Mishra P. Nanosuspension for oral delivery of tadalafil: Pharmacodynamic and pharmacokinetic studies [J]. J Drug Deliv Sci Technol, 2021, 61: 102203.
- [2] Gallo L, Pecoraro S, Sarnacchiaro P, et al. The daily therapy with L-arginine 2, 500 mg and tadalafil 5 mg in combination and in monotherapy for the treatment of erectile dysfunction: a prospective, randomized multicentre study [J]. Sex Med, 2020, 8(2): 178-185.
- [3] ElHady A K, Shih S P, Chen Y C, et al. Extending the use of tadalafil scaffold: Development of novel selective phosphodiesterase 5 inhibitors and histone deacetylase inhibitors [J]. Bioorg Chem, 2020, 98: 103742.
- [4] 姜成龙, 王梓阳, 李肖肖, 等. 他达拉非5 mg治疗良性前列腺增生所致下尿路症状的Meta分析[J]. 现代泌尿外科杂志, 2020, 25(9): 816-820, 831.
- [5] Jiang C L, Wang Z Y, Li X X, et al. Meta-analysis of tadalafil 5 mg in the treatment of lower urinary tract symptoms caused by benign prostatic hyperplasia [J]. J Mod Urol, 2020, 25(9): 816-820, 831.
- [6] Singh I, Tk A, Gupta S. Efficacy and safety of tadalafil vs tamsulosin in lower urinary tract symptoms (LUTS) as a result of benign prostate hyperplasia (BPH)-open label randomised controlled study [J]. Int J Clin Pract, 2020, 74(8): e13530. DOI:10.1111/ijcp.13530.
- [7] 白润, 王阳, 尚海花, 等. 美洛昔康咀嚼片的生物等效性研究[J]. 药物评价研究, 2017, 40(9): 1254-1258.
- [8] Bai R, Wang Y, Shang H H, et al. Study on bioequivalence of meloxicam chewable tablets [J]. Drug Eval Res, 2017, 40(9): 1254-1258.
- [9] 黄雅萍, 罗旦朝, 李宁, 等. 缬沙坦片的制备工艺及质量一致性评价研究[J]. 药物评价研究, 2017, 40(5): 607-611, 637.
- [10] Huang Y P, Luo D Z, Li N, et al. Study on preparation of valsartan tablets and evaluation of quality consistency [J]. Drug Eval Res, 2017, 40(5): 607-611, 637.
- [11] 何仲贵. 药用辅料在仿制药质量和疗效一致性评价中的作用[J]. 中国食品药品监管, 2018(9): 44-46.
- [12] He Z G. Role of pharmaceutical excipients in quality and efficacy consistency evaluation of generic drugs [J]. China Food Drug Administ, 2018(9): 44-46.
- [13] 闫方, 王玉珠, 张宁, 等. 国际人用药品注册技术协调会基于生物药剂学分类系统的生物等效性豁免最新技术要求[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 8: 1037-1040, 1048.
- [14] Yan F, Wang Y Z, Zhang N, et al. International council for harmonisation of technical requirements for biopharmaceutics classification system-based biowaiver [J]. Chin J Clin Pharm, 2020, 8: 1037-1040, 1048.
- [15] 徐亮. 固体药物制剂的体外溶出度的统计学评价与分析[J]. 家庭生活指南, 2020, 8: 109-110.
- [16] Xu L. Statistical evaluation and analysis of *in vitro* solubility of solid pharmaceutical preparations [J]. Family Life Guide, 2020, 8: 109-110.
- [17] 束超. 他达拉非舌下片的制备工艺及其在比格犬体内的初步药动学研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2017: 51-61.
- [18] Shuo C. Tadalafil sublingual tablets preparation process formulation and preliminary pharmacokinetic study in beagle dogs [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2017: 51-61.

【责任编辑 兰新新】