

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.201706032



采用原研制剂制备米诺膦酸片及 体外溶出度的一致性考察

宋伟杰^{1,2}, 曾皓月^{1,2}, 龙莎², 王立强^{1,2}, 乔凤敏³, 方美娟⁴

- (1. 华侨大学 生物医学学院, 福建 泉州 362021;
2. 解放军 211 医院, 黑龙江 哈尔滨 150080;
3. 福建太平洋制药有限公司, 福建 泉州 362021;
4. 厦门大学 药学院, 福建 厦门 361102)

摘要: 制备米诺膦酸片,并以原研制剂为参比制剂,采用 f_2 相似因子法对两者体外溶出度的一致性进行考察.建立合适的体外溶出度测定方法,研究参比制剂的溶出情况,通过单因素试验对辅料的用量进行筛选,制备出米诺膦酸片.比较自制品与原研制剂在不同溶出介质中的溶出行为,评价两者体外溶出行为的相似性.结果表明:制备的米诺膦酸片剂与原研制剂在 4 种不同 pH 值溶出介质中的溶出相似因子 f_2 均大于 50;制备的米诺膦酸片剂与原研制剂体外溶出行为相似.

关键词: 米诺膦酸片; 溶出曲线; 一致性评价; 相似因子

中图分类号: R 944 文献标志码: A 文章编号: 1000-5013(2018)01-0070-05

Preparation of Minodronic Acid Tablets Using Innovator Products and *In Vitro* Consistency Investigation of Their Dissolubility

SONG Weijie^{1,2}, ZENG Haoyue^{1,2}, LONG Sha²,
WANG Liqiang^{1,2}, QIAO Fengmin³, FANG Meijuan⁴

- (1. School of Biomedical Sciences, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;
2. No. 211 Hospital of PLA, Harbin 150080, China;
3. Fujian Pacific Pharmaceuticals Limited, Quanzhou 362021, China;
4. School of Pharmaceutical Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: To prepare minodronic acid tablets, *in vitro* dissolution profile was investigated by f_2 similarity factor with the innovator products as a reference. The *in vitro* dissolution test method was established and the dissolution profile of innovator products was investigated, and then minodronic acid tablets were prepared by screening excipient dosage using single factor experiment. By comparing the dissolution behavior of the test tablets with the innovator products in four kinds of dissolution medium, the similarity was evaluated. The results showed that the dissolution similarity factor f_2 of the minodronic acid tablets and innovator products in four dissolution media with different pH values were all larger than 50. Besides, the dissolution behavior *in vitro* of the prepared tablets was similar to that of the innovator products.

Keywords: minodronic acid tablets; dissolution curves; consistency evaluation; similarity factors

收稿日期: 2017-06-13

通信作者: 王立强(1970-),男,教授,博士,主要从事药剂学和创新药物研发的研究. E-mail: wlq1599@163.com.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302652);福建省自然科学基金资助项目(2015J01342)

双膦酸类药物是治疗骨质疏松应用最为广泛的药物之一。米诺膦酸(minodronic acid)是一种新型杂环双膦酸类化合物,为第三代含氮杂环双膦酸盐,它通过抑制破骨细胞内焦磷酸法尼酯(FPP)合成酶的活性^[1],抑制破骨细胞的骨吸收功能,降低骨转换,起到防治骨质疏松的效果,其抑制骨吸收活性分别是阿仑膦酸钠和帕米膦酸的 10 倍和 100 倍^[2-3]。与以往药物相比,米诺膦酸具有疗效更好,不良反应轻微短暂的优势。米诺膦酸片由日本小野药品工业株式会社和日本 Astellas 制药株式会社共同开发,2009 年 1 月 21 日首次获准上市,规格为 1 mg,商品名分别为 Recalbon[®](小野药品)和 Bonoteo[®](Astellas 制药)^[4]。目前,国内尚无上市品,也尚未见进口的有关报道。通过检索文献,初步了解其处方组成为乳糖、淀粉、羟丙基纤维素、硬脂酸镁、羟丙甲纤维素、聚乙二醇、滑石粉、二氧化钛^[5]。其中,羟丙甲纤维素、聚乙二醇、二氧化钛和滑石粉为包衣材料。现今,仿制药在全球药物市场处于主流地位,开展仿制药与原研药物体外溶出行为相似性的研究是确保仿制药临床疗效的首要前提^[6]。本文通过单因素试验对米诺膦酸片处方辅料的用量进行筛选,采用湿法制粒压片工艺制备出米诺膦酸片,以原研上市品(Recalbon[®])为参比制剂,采用相似因子 f_2 法考察两者在 4 种溶出介质中体外溶出行为的相似性。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

试剂:甲醇、焦磷酸钠、四丁基溴化铵、磷酸二氢钾和氢氧化钠(广东省西陇化工股份有限公司);磷酸(上海市国药集团化学试剂有限公司);米诺膦酸对照品(加拿大 TRC 公司);羟丙纤维素、淀粉和硬脂酸镁(安徽省山河药用辅料股份有限公司);乳糖和乙醇(湖南省尔康制药有限公司);欧巴代包衣预混粉(上海市卡乐康包衣技术有限公司)。

仪器:LC-10ATvp 型高效液相色谱仪、PB-10 型 pH 计、BT-125D 型电子天平(北京市赛多利斯科学仪器有限公司);GF300A 型粉碎机、YK-160A 型摇摆式颗粒机、ZPY-129 型压片机(上海市天祥健合机械有限公司);ZRS-8G 型智能溶出试验仪(天津市天津大学精密仪器厂);SC-3610 型低速离心机(安徽省中科中佳科学仪器公司);SNG-X4-207 型热风循环烘箱(江苏省通州飞达药机有限公司);ZS-650 型旋振筛、GHJ-100V 型混合机(江苏省瑰宝集团有限公司);BGB-75A 型高效包衣机(北京市北京航空工业研究所)。

1.2 参比制剂的体外溶出行为考察

参比制剂为 Recalbon[®](日本小野药品工业株式会社),其规格为 1 mg,生产批号为 089JA。通过浆法进行测定,介质体积为 500 mL,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,取样时间为 45 min。参比制剂在水、盐酸溶液(pH 值为 1.0)、磷酸盐缓冲液(pH 值为 4.0)、磷酸盐缓冲液(pH 值为 6.8)中的溶出曲线($n=6$),如图 1 所示。

1.3 米诺膦酸片的制备

将原辅料过 80 目筛备用。精密称取米诺膦酸、乳糖、淀粉、羟丙纤维素,按等量递加法手工混合均匀。然后,向混合均匀的物料中加入纯化水适量制软材,20 目筛网手工制粒,50 °C 干燥,20 目整粒。向整粒好的颗粒中加入处方量的硬脂酸镁混合、压片、包薄膜衣。

1.4 溶出度测定方法学的建立

1.4.1 色谱条件 色谱柱为迪马 C₁₈ 柱(250.0 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为 0.01 mol·L⁻¹ 焦磷酸钠中含 0.001 mol·L⁻¹ 四丁基溴化铵溶液(用磷酸调节 pH 值至 6.5)-甲醇(体积比为 95:5),检测波长为 280 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温为 25 °C,进样量为 20 μL。

1.4.2 线性试验 精密称取米诺膦酸对照品 11.25 mg(质量分数为 95.06%),置于 100 mL 量瓶中,加入 1 mL 氢氧化钠溶液(0.1 mol·L⁻¹)使药品溶解,加介质至容量瓶刻度线处并混合均匀。分别精密量取储备液 0.2,0.5,1.0,1.5,2.0 mL,置于 50 mL 量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,作为线性 1[#]~5[#]

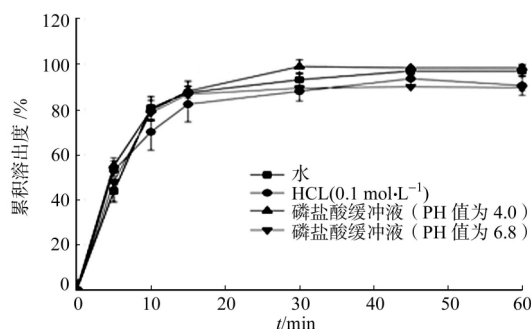


图 1 参比制剂在 4 种溶出介质中的溶出曲线
Fig. 1 Dissolution curves of reference products in four kinds of media

溶液.精密量取 1#~5# 溶液各 100 μL ,用注射器注入液相色谱仪中,进行线性回归并计算相关系数(以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标).

1.4.3 回收率试验 分别精密称取米诺膦酸约 16,20,25 mg(即质量分数分别为 50%,80%,100%)各 3 份置于 100 mL 容量瓶中,加入适量空白辅料(按处方比例)后,用少许盐酸($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶解稀释,加入适量流动相,使每 1 mL 溶液中含 2 μg 米诺膦酸.取过滤后的续滤液作为供试品溶液,另精密称取原研对照品适量制备对照品溶液,同样加流动相定量稀释,使每 1 mL 溶液中含 2 μg 米诺膦酸,以作对照品溶液.精密量取供试品溶液和对照品溶液各 100 μL ,分别注入液相色谱仪,溶出量用外标法的峰面积计算,回收率由溶出量与标示量之间的比值计算所得.

1.4.4 供试品溶液稳定性试验 取本品,按照上述确定的溶出度测定方法制备供试品溶液,于 0,2,4,8,12 h 量取供试品溶液 100 μL ,注入液相色谱仪,记录峰面积,按照峰面积计算相对标准偏差(RSD).

1.4.5 体外溶出度测定 取本品,参照溶出度测定法^[7],以水作为溶出介质,体积为 500 mL,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,于 0,15,30,45,60 min 分别取样,过滤后取续滤液作为供试品溶液.另精密称取原研对照品适量制备对照品溶液,加流动相稀释,使每 1 mL 溶液中含米诺膦酸 2 μg .精密量取供试品溶液和对照品溶液各 100 μL ,分别注入高效液相色谱仪进行测定,按外标法以峰面积计算各点的累积溶出度.

1.5 处方筛选

根据参比制剂的处方组成,在常规用量范围内,对辅料的用量(w),进行以下处方筛选.

1.5.1 填充剂的筛选 在初步掌握参比制剂的质量情况后,结合前期研究结果,对淀粉用量(质量分数分别为 0%,20%,40%,60%)进行单因素考察,试验方案如表 1 所示.

1.5.2 崩解剂的筛选 为进一步提高制剂的溶出度,以拟用的崩解剂羟丙纤维素的用量(1 000 片片剂用量)为水平,采用溶出度作为主要评价指标之一,对其用量进行筛选,试验方案如表 1 所示.

表 1 淀粉与羟丙纤维素用量的筛选

Tab.1 Dosage screening of starch and hydroxypropylcellulose

辅料	处方	w (主药)/g	w (淀粉)/g	w (乳糖)/g	w (羟丙纤维素)/g	w (硬脂酸镁)/g
填充剂	1	1.0	0	93.5	5.0	0.5
	2	1.0	20.0	73.5	5.0	0.5
	3	1.0	40.0	53.5	5.0	0.5
	4	1.0	60.0	33.5	5.0	0.5
崩解剂	2	1.0	20.0	73.5	5.0	0.5
	5	1.0	20.0	70.5	8.0	0.5
	6	1.0	20.0	68.5	10.0	0.5

1.5.3 包衣粉的筛选 包衣粉选用 21K58794 型欧巴代系列胃溶型包衣粉(上海市卡乐康包衣技术有限公司).用体积分数为 85%的乙醇为溶剂,配置成质量分数为 6%的溶液,过 100 目筛后搅拌备用.

按处方 6 制备片芯,称质量后置包衣锅内,调节适宜转速,向锅内喷包衣溶液适量,同时 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 热风干燥,当片剂质量增加约 3%时,停止包衣,干燥后即得薄膜衣片.然后,分别取本品片芯和薄膜衣片,照溶出度测定法,比较包衣前后溶出曲线的变化,并同时与参比制剂作比较.

1.6 与原研制剂体外溶出度的比较

为了体现自制样品与参比制剂的一致性,采用相似因子法比较自制样品与参比制剂的相似性^[8-9].

相似因子 f_2 计算公式为 $f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{0.5} \times 100 \right\}$. 式中: n 为溶出度试验取样点数; R_i, T_i 为 t 时刻两种处方制剂在同一溶出条件下,或同一处方制剂在不同溶出条件下的累积溶出度. f_2 的计算结果表示两条释药曲线的吻合程度.一般认为, f_2 在 50~100 之间,两释药曲线相似; f_2 在 0~50 之间,则两释药曲线不相似.

2 实验结果

2.1 溶出度测定方法学的测定结果

2.1.1 标准曲线的绘制 米诺膦酸的质量浓度范围为 $0.4278 \sim 4.2777 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得出样品的线性

<http://www.hdxh.hqu.edu.cn>

回归方程为 $Y=88\ 343X+514.84$, $r=0.999\ 9$, 米诺膦酸的质量浓度与吸收峰面积线性关系良好。

2.1.2 回收率试验 回收率试验结果, 如表 2 所示. 表 2 中: δ 为主药量; η 为回收率; η_{ave} 为平均回收率. 由表 2 可知: 回收率试验的 RSD 为 1.30%, 表明上述方法适用于米诺膦酸片的溶出度测定。

2.1.3 供试品溶液稳定性试验 由供试品溶液稳定性试验结果可知: 供试品溶液在室温放置 12 h, 峰面积基本无变化, 表明供试品溶液稳定性良好。

2.2 处方筛选

2.2.1 填充剂的筛选 淀粉与羟丙纤维素用量的考察结果, 如表 3 所示. 由表 3 可知: 处方 1 的片剂外观不光滑. 随着淀粉用量的增加(20%~60%), 片剂外观得到改善, 但制剂的脆碎度明显增大(0.15%~0.68%)^[10]. 因此, 综合考虑, 最优处方为处方 2, 并在该处方基础上对崩解剂的用量进行筛选。

2.2.2 崩解剂的筛选 由表 3 可知: 当羟丙纤维素的量由 5.0% 提高到 10.0% 时, 溶出度由 91.80% 提高到 98.07%. 因此, 暂定处方 6 为最佳片芯处方, 并在此基础上进行包衣粉的筛选。

表 2 回收率试验结果

Tab. 2 Recovery test results

$\delta/\%$	$\eta/\%$	$\eta_{ave}/\%$	RSD/ $\%$
	100.91		
50	100.52		
	96.20		
	98.06		
80	100.23	98.83	1.30
	97.80		
	99.98		
100	97.74		
	98.04		

表 3 淀粉与羟丙纤维素用量考察结果

Tab. 3 Dosage survey of starch and hydroxypropylcellulose

辅料	处方	质量情况			
		片剂外观	脆碎度/ $\%$	$\delta/\%$	溶出度/ $\%$
填充剂	1	麻面	0.21	99.95	85.82
	2	光滑	0.15	97.04	91.80
	3	光滑	0.41	99.26	85.67
	4	光滑	0.68	98.89	92.26
崩解剂	2	光滑	0.15	97.04	91.80
	5	光滑	0.19	100.79	94.97
	6	光滑	0.11	101.94	98.07

2.2.3 包衣粉的筛选 自制片芯、自制薄膜衣片和参比制剂在水中的溶出曲线, 如图 2 所示. 由图 2 可知: 米诺膦酸片包衣前后溶出曲线无明显变化, 且与参比制剂溶出趋势基本相同, 因此, 暂定处方 6 为最佳处方。

2.3 与原研制剂体外溶出度的比较

为进一步验证处方, 在 4 种溶出介质中, 对自制样品与参比制剂进行体外溶出度对比. f_2 相似因子测定结果: 水为 63; 磷酸盐缓冲液(pH 值为 6.8)为 68; 盐酸溶液(0.1 mol · L⁻¹)为 69; 磷酸盐缓冲液(pH 值为 4.0)为 60. 绘制的溶出曲线图, 如图 3 所示。

由图 3 可知: 在 4 种溶出介质中, 自制样品与参比制剂的溶出曲线相似因子 f_2 均大于 50, 说明自制样品与参比制剂的溶出行为基本一致。

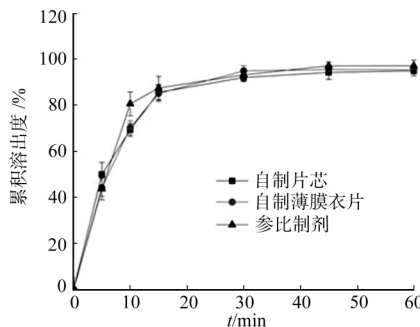
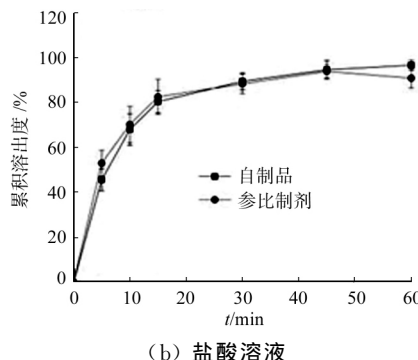
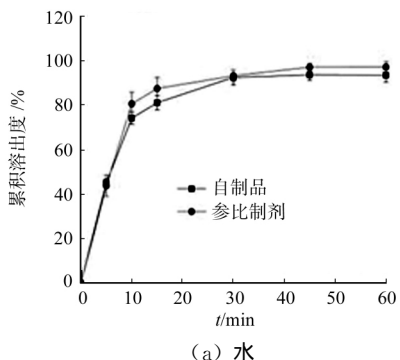


图 2 自制片芯和薄膜衣片与参比制剂在水中的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of reference products, self-made core tablets and film-coated tablets in water



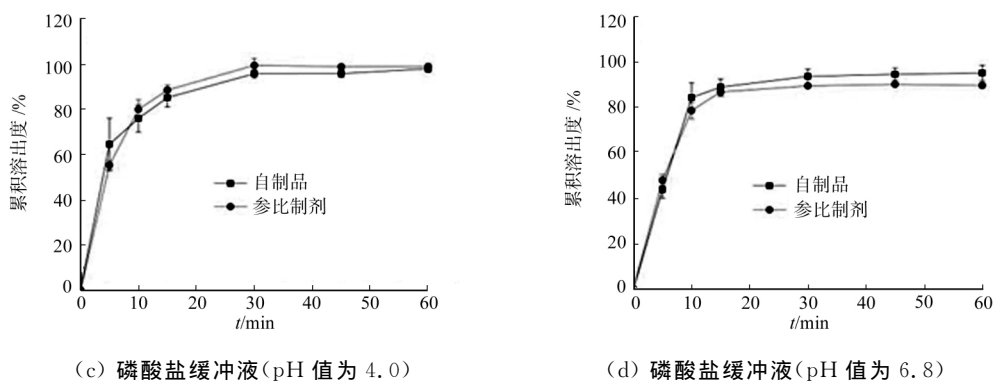


图3 自制品与原研制剂在不同溶出介质中的溶出曲线对比
Fig. 3 Comparison of dissolution curves of self-made products and innovator products in different dissolution media

3 讨论

建立米诺膦酸片的体外溶出度测定方法,参考原研制剂的处方组成,对方用量进行单因素考察,成功制备出米诺膦酸片.同时,采用相似因子 f_2 法对自制品与原研制剂在4种溶出介质中的溶出行为相似性进行评价.结果表明, f_2 均大于50,说明自制样品与原研制剂的体外溶出行为具有一致性.后期可对其处方工艺研究细化,以期获得与原研米诺膦酸片生物等效的目的.值得注意的是,药物在各时间点的平均累积释放度的差异在平台区最小(如果外推到释放100%,差值将为0),在平台区上取样点的增加会直接导致 f_2 偏大.因此,在应用相似因子 f_2 法评价体外溶出行为时,为了减少误差,药物的累积释放度达到85%以上的取样点数目应不多于一个.

2016年3月,国务院印发《关于开展仿制药质量和疗效一致性评价的意见》,其明确指出,与原研参比制剂的溶出曲线一致或具有相似性,是评价仿制药质量和疗效一致性的重要指标^[11].尽管溶出曲线相似与具有生物等效性之间不能划上等号,但相似的溶出曲线可降低仿制药出现临床差异的概率.若溶出曲线与原研药基本一致,则可提高生物等效性试验的成功率,为后续的体内生物等效性试验起到一定的预测作用.

参考文献:

- [1] 姚文瑾, 范鸣. 治疗骨质疏松症的新药米诺膦酸[J]. 药学进展, 2009, 33(11): 526-527.
- [2] 袁淑杰. 新型杂环双膦酸类化合物米诺膦酸的合成新工艺研究[J]. 中国医药指南, 2015, 13(5): 291-292. DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2015.05.220.
- [3] DIAD D L, WATTS N B. Bisphosphonates in the treatment of osteoporosis[J]. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2012, 41(3): 487-506. DOI: 10.1016/j.ecl.2012.04.007.
- [4] 赵丽嘉, 王利华, 胡雅萍, 等. 米诺膦酸水合物[J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 479-484.
- [5] 米诺膦酸片说明书[EB/OL]. [2009-06-01]. <http://database.japic.or.jp/pdf/newPINS/00056594.pdf>.
- [6] 王红娟, 赵艳菊. 裸花紫珠阴道片辅料的研究及应用[J]. 西北药学杂志, 2007, 22(2): 73-74.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [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): 308-311. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8255.2009.04.024.
- [9] KASSAYE L, GENETE G. Evaluation and comparison of *in-vitro* dissolution profiles for different brands of amoxicillin capsules[J]. Afr Health Sci, 2013, 13(2): 369-375.
- [10] ROWE R C. 药物辅料手册[M]. 郑俊民, 译. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [11] 国家食品药品监督管理总局. 国务院办公厅关于开展仿制药质量和疗效一致性评价的意见[EB/OL]. [2016-03-05]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0056/146200>.

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)

<http://www.hdxh.hqu.edu.cn>