

复方蒿甲醚本芴醇片溶出度的一致性评价

姚俊娜^{1,2}, 杜茂波², 易红², 李尧尧^{2*}, 张志杰^{2*}, 贾陆¹, 刘淑芝²

(1. 郑州大学 药物研究院, 郑州 450001; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:考察复方蒿甲醚本芴醇片仿制制剂与参比制剂在4种溶出介质中的溶出度,对二者体外溶出行为的一致性进行评价。方法:按照《中国药典》2015年版(四部)溶出度测定方法浆法,分别对3批仿制制剂和3批参比制剂进行溶出度试验,采用高效液相色谱法(HPLC)和紫外分光光度法(UV)分别测定2种制剂中蒿甲醚和本芴醇在水,pH 1.2(1%氯化苄基二甲基烷基胺的0.1 mol·L⁻¹的盐酸溶液),pH 2.5(三羟甲基氨基甲烷的盐酸溶液)和pH 4.5(氢氧化钠和柠檬酸的盐酸溶液)4种溶出介质中的溶出曲线,并分别计算3批仿制制剂和3批参比制剂溶出曲线两两之间的相似因子(f_2),分析数据,对各批仿制制剂、仿制-参比制剂溶出曲线的相似性进行比较分析。结果:在所考察的4种溶出介质中,3批仿制制剂之间溶出曲线的相似因子在90~96,均 ≥ 90 ,表明生产工艺较稳定;3批仿制制剂与3批参比制剂的溶出曲线均相似,其相似因子在52~71,均 > 50 ,即2种制剂体外溶出行为一致。结论:3批仿制制剂生产工艺稳定,并与参比制剂的体外溶出行为一致,为进一步研究该仿制制剂提供参考。

[关键词] 复方蒿甲醚本芴醇片; 仿制制剂; 参比制剂; 浆法; 高效液相色谱法; 紫外分光光度法; 溶出曲线; 一致性评价

[中图分类号] R284.1;R289;R2-031 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2018)15-0043-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181416

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180425.1709.012.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 16:16

Conformance Assessment of Dissolution Curves of Compound Artemether Lumefantrine Tablets *in Vitro*

YAO Jun-na^{1,2}, DU Mao-bo², YI Hong², LI Rao-rao^{2*},

ZHANG Zhi-jie^{2*}, JIA Lu¹, LIU Shu-zhi²

(1. Institute of Drug Discovery & Development, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

2. Institute of Chinese Materia, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To assess the conformance of dissolution behavior of artemether and lumefantrine in compound artemether lumefantrine tablets in four different dissolution media in this study. **Method:** According to the second method of determination and release in *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition), the dissolution curves of artemether and lumefantrine in the four dissolution media of water, pH 1.2 (0.1 mol·L⁻¹ hydrochloric acid solution of 1% benzyl chloride of dimethyl alkyl amine), pH 2.5 (hydrochloric acid solution of three hydroxymethyl aminomethane) and pH 4.5 (hydrochloric acid solution of sodium hydroxide and citric acid) were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) and ultraviolet and visible (UV) spectrophotometry respectively. The method of similarity factor (f_2) was used to compare the similarities of dissolution curves of the imitation preparation and the reference preparation. **Result:** Among the four dissolution

[收稿日期] 20180123(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09202101-005)

[第一作者] 姚俊娜,在读硕士,从事天然药物化学研究,E-mail:13733195479@163.com

[通信作者] *李尧尧,博士,副研究员,从事中药质量标准研究,E-mail:leeraorao@163.com;

*张志杰,副研究员,硕士生导师,从事中药基源及质量研究,E-mail:zzjtem@126.com

media, the similarity factors between the imitation preparations were from 90 to 96, which meant that the production process was stable; the similarity factors between the imitation preparation and the control preparation were from 52 to 71, all greater than 50, which meant that the dissolution curves were similar to each other.

Conclusion: The dissolution curves are consistent between the imitation formulations and control formulations *in vitro*, which provide the basis for further study of the imitation preparations.

[Key words] compound artemether lumefantrine tablets; imitation preparations; reference preparations; slurry method; high performance liquid chromatography; ultraviolet and visible spectrophotometry; dissolution curves; conformance assessment

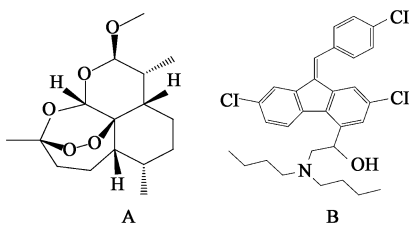
疟疾是由疟原虫寄生于人体引起的一种传染病,病情严重的患者若不及时救治就会危及生命。经过近几十年的综合防治,疟疾疫情得到了有效的控制。但截至 2016 年底,全球依然有 2.16 亿疟疾病例^[1],加之近年全球经济快速发展,人员流动较大,输入性疟疾疫情给我国消除疟疾工作带来巨大挑战^[2-4]。

1967 年,我国学者屠呦呦等^[5]从植物药黄花蒿中提取得到了青蒿素,对疟原虫达到了 100% 的抑制率。蒿甲醚(图 1A)是青蒿素的甲基醚化类脂溶性衍生物,于 1987 年以油针剂在我国批准为新药上市,其抗疟效果是青蒿素的 6 倍^[6]。青蒿素类药物的优点是快速杀灭原虫,速效控制症状,无抗药性、低毒副作用;但存在着复发率高和半衰期短的缺点^[7]。本芴醇(图 1B)属于芴的芳香基氨基醇衍生物,也是我国创新研发的抗疟药^[8]。该药属于奎宁的氨基甲醇类化学合成药物,具有较强的杀灭疟原虫的作用,毒性极小,安全范围大,治愈率较高^[9];但由于奎宁药物产生了抗药性、且发挥作用缓慢。复方蒿甲醚本芴醇片是蒿甲醚和本芴醇的组合,发挥了二者的优势且克服了二者的缺点^[10-11]。该制剂适用性广泛,世界卫生组织(WHO)在 2002 年将其列入第 12 版基本药物核心目录^[12]中,并成为现今治疗疟疾的主要药物。

原研药相比,具有投资少、周期短、见效快的特点,是世界药品需求的主体。为了扩大产量,我国在重大新药创制中立项研究该制剂的仿制制剂,本课题组对该仿制制剂和参比制剂进行了一致性评价研究。《中国药典》2015 年版二部^[14]收录了蒿甲醚在水中和本芴醇在 pH 1.2 溶出介质中的溶出方法,已有文献报道^[15]仅考察了自制品与原研品中蒿甲醚在 4 种溶出介质(水, pH 1.2 的盐酸缓冲液, pH 4.0 的乙酸盐缓冲液和 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液)中的体外溶出曲线,结果表明两种制剂的溶出曲线均相似。由于本芴醇与蒿甲醚均是该制剂中的主要成分(本芴醇与蒿甲醚的比例为 120 mg:20 mg),因此同时考察 2 个成分在 4 种介质中的溶出曲线至关重要。预实验中,笔者发现本芴醇在 pH 1.2 的盐酸缓冲液中溶解度较好,而在 pH 4.0 的乙酸盐缓冲液, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液和水中均不溶解,最终寻找到 pH 2.5(三羟甲基氨基甲烷的盐酸溶液)和 pH 4.5(氢氧化钠和柠檬酸的盐酸溶液)的溶出介质,试验证明蒿甲醚和本芴醇在这 2 种介质均具有合适的溶出度,且具有较好的区分力。因此,本文考察了该仿制制剂和参比制剂在 4 种溶出介质(pH 1.2, 2.5, 4.5 的溶液和水)中体外溶出行为,并采用国家食品药品监督管理局颁布的相似因子(f_2)比较法评价了仿制制剂与参比制剂的相似程度,为进一步研究该仿制制剂提供了实验数据。

1 材料

LC-20 AT 型高效液相色谱仪, SPD-M20A 检测器[岛津企业管理(中国)有限公司]; SR8 PLUS 型溶出仪(美国 Hanson Research); T6 新世纪型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); CPA225D 型 1/10 万电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; FA1004 型分析电子天平(上海良平仪器仪表有限公司); AS2060B 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); HI2216 型 pH 计[哈纳沃德仪器(北京)有限公司]; ZP-5B 型



A. 蒿甲醚; B. 本芴醇

图 1 蒿甲醚及本芴醇化学结构式

Fig. Structure of artemether and lumefantrine

目前复方蒿甲醚本芴醇片是基于青蒿素的组合疗法(ACT)治疗疟疾的主要药物^[13]。仿制药与

旋转压片机(上海天凡药机制造厂);纯水机购自北京丰南新业纯水设备经营部。

对照品蒿甲醚(批号1002710-201003,纯度99.3%),本苋醇(批号GOL394,纯度99.9%)均购自中国食品药品检定研究院。蒿甲醚和本苋醇原料药以及复方蒿甲醚片参比制剂(编号CB1#~CB3#)均购自昆药集团股份有限公司。

微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、二氧化硅、聚山梨酯(聚山梨酯80)及硬脂酸镁,均购自北京凤礼精求医药股份有限公司。医用95%乙醇购自北京化学工业集团有限责任公司。溶出仪用样品过滤器(35 Micron 1/16,批号081204),溶出实验用水为自制过滤水。十二烷基二甲基苄基氯化铵(benzyl dimethyldoecyl ammonium chloride, DDBAC, 纯度99%,批号139-07-1,麦克林)。浓盐酸(36%~38%)及其他试剂均为分析纯,均购自北京化工厂。乙腈、甲醇均为色谱纯(Fisher),液相流动相用水为娃哈哈纯净水。

2 仿制制剂的制备

中试处方^[14]:蒿甲醚200 g,本苋醇1 200 g,辅料适量(包括稀释剂微晶纤维素、润湿剂95%乙醇、润滑剂硬脂酸镁、助流剂二氧化硅、崩解剂交联羧甲基纤维素钠和聚山梨酯80),制成1万片。

制备工艺包括制粒和压片2个环节。制粒:将处方量的蒿甲醚、本苋醇、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠和二氧化硅过筛混匀。用95%乙醇(加入处方量聚山梨酯80)进行制粒,过24目筛,铺于托盘中,室温放置30 min,60℃烘干,备用。压片:将上述颗粒与处方量的外加辅料(交联羧甲基纤维素钠和二氧化硅)及硬脂酸镁混匀,于旋转压片机上进行压片,压制成片重约0.24 g,直径约0.9 cm的片剂,即得。

按照上述复方蒿甲醚本苋醇片的处方及制备工艺,制备3批仿制制剂(编号为FZ1#~FZ3#),同样方法制得蒿甲醚阴性对照片、本苋醇阴性对照片和辅料空白片。

3 溶出度的考察

3.1 溶出介质的配制 pH 1.2 溶出介质:称取DDBAC 10 g,加入0.1 mol·mL⁻¹盐酸溶液1 L,溶解,即得。pH 2.5 溶出介质:称取DDBAC 10 g,加入的pH 2.5试剂(0.1 mol·mL⁻¹三羟甲基氨基甲烷和0.1 mol·mL⁻¹盐酸溶液的混合溶液)1 L,溶解,即得。pH 4.5 的溶出介质:称取DDBAC 10 g,加入pH 4.5试剂(氢氧化钠8.3 g和柠檬酸21 g,用水溶

解后加入0.1 mol·mL⁻¹盐酸溶液适量)1 L,溶解,即得。

3.2 溶出试验 参照《中国药典》2015年版四部溶出度测定方法浆法(通则0931第二法)^[16],每批样品各取12片,分别以pH 1.2, pH 2.5, pH 4.5的溶出介质和水1 L为溶出介质,温度(37±0.5)℃,转速100 r·min⁻¹,依法测定。其中,以pH 4.5的溶出介质和水为溶出介质时,分别在15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min时取样(样1~样7),以pH 1.2和pH 2.5的溶液为溶出介质时,分别在5, 15, 30, 45, 60, 80, 150 min时取样(样1~样7)。7个时间点各取样5 mL,静置3 min,取续滤液2 mL作为蒿甲醚供试品溶液,其余的作为本苋醇供试品溶液。

阴性对照液的制备:分别取蒿甲醚阴性对照片,本苋醇阴性对照片和辅料空白片,按照上述方法操作,分别得到3个阴性对照溶液。

4 HPLC测定制剂中蒿甲醚的溶出度^[14]

4.1 对照品溶液的制备 取蒿甲醚对照品适量,精密称定,加水-乙腈(1:1)适量,超声使其溶解并定量稀释制成每1 mL中约含20 μg的溶液,作为对照品溶液。

4.2 色谱条件 采用Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), RB-02 C₁₈保护柱(4.6 mm×10 mm),流动相乙腈-水(68:32),流速1.0 mL·min⁻¹;柱温30℃,进样体积100 μL,检测波长210 nm。按照外标一点法计算蒿甲醚的溶出量。

4.3 线性关系考察 精密称取蒿甲醚对照品适量,用溶出介质稀释,制成质量浓度为0.003 5, 0.007 0, 0.010 5, 0.014 0, 0.017 5, 0.021 0, 0.024 5, 0.028 0 g·L⁻¹的系列对照品溶液。分别按照4.2项下方法测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 46\ 075X - 896$ ($r = 0.999\ 7$),表明蒿甲醚质量浓度在0.003 5~0.028 0 g·L⁻¹与峰面积具有良好的线性关系。

4.4 方法学考察

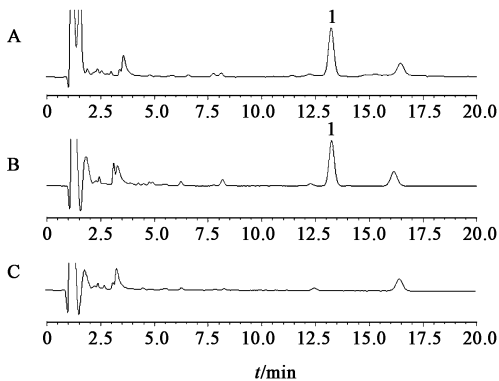
4.4.1 精密度考察 取仿制制剂FZ1#,以水为溶出介质,按3.2项下方法制备溶出样品,取300 min时的溶出样品,按照4.2项下方法连续进样6次,记录峰面积RSD 1.8%,表明仪器的精密度良好。

4.4.2 稳定性考察 取同一供试品溶液,按照4.2项下方法依次在0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h进行测定,记录平均峰面积RSD 2.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

4.4.3 重复性考察 取仿制制剂 FZ1#, 每次 6 片, 共测定 6 次, 按 3.2 项下方法制备溶出样品, 取 300 min 时的溶出样品, 按照 4.2 项下测定法测定, 计算平均蒿甲醚溶出度为 84.66%, RSD 1.7%, 表明重复性良好。

4.4.4 加样回收率考察 按处方量分别取空白辅料 6 份, 按标示量的 100% 分别精密加入蒿甲醚对照品 20 mg, 按 3.2 项下方法制备供试品溶液, 按照 4.2 项下方法测定, 记录峰面积, 计算平均回收率为 98.62%, RSD 2.5%, 表明方法准确度良好。

4.4.5 干扰性试验 取辅料空白片和仿制制剂 FZ1# 各 3 片, 按 3.2 项下的方法溶出, 取 300 min 溶液适量, 滤过, 分别取续滤液作为阴性对照液和供试品溶液。按照 4.2 项下方法测定, 记录色谱图。结果显示阴性对照液在蒿甲醚色谱峰处无吸收, 即本品辅料和溶出介质对溶出度的测定无干扰; 对照品溶液与供试品溶液中蒿甲醚的峰位一致, 表明该方法专属性良好, 结果见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 蒿甲醚

图 2 复方蒿甲醚本芬醇片溶出度 HPLC

Fig. 2 HPLC of compound artemether lumefantrine tablets

5 紫外分光光度法测定制剂中本芬醇的溶出度

5.1 本芬醇溶出度测定方法 取供试品溶液, 照紫外-可见分光光度法, 在 342 nm 波长处测定吸光度, 分别按 $C_{30}H_{32}C_{13}NO$ 的吸收系数 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) 为 316.8, 315.5 和 100.8, 标准曲线法计算每片中本芬醇在 pH 1.2, pH 2.5 和 pH 4.5 溶出介质中的溶出量。

5.2 线性关系考察 精密称取本芬醇对照品适量, 制成质量浓度为 0.070, 0.090, 0.140, 0.190, 0.250, 0.280 $g \cdot L^{-1}$ 的系列对照品溶液, 以质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为 $Y = 0.0288X + 0.0345$ ($r = 0.9995$), 表明本芬醇质量浓度在 0.070 ~ 0.280 $g \cdot L^{-1}$ 与吸光度具有良好的线性关系。

5.3 方法学考察

5.3.1 精密度考察 取仿制制剂 FZ1#, 用 pH 1.2 溶出介质, 按 3.2 项下方法制备溶出样品, 取 150 min 时的溶出样品, 按照 5.1 项下方法连续测 6 次, 记录平均吸光度为 0.343, RSD 0.2%, 表明仪器的精密度良好。

5.3.2 稳定性考察 取同一供试品溶液, 按照 5.1 项下方法依次在 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 h 进行测定, 记录平均吸光度为 0.350, RSD 0.2%, 表明本芬醇在 5 h 内稳定性良好。

5.3.3 重复性考察 取仿制制剂 FZ1#, 每次 6 片, 按 3.2 项下方法制备溶出样品, 取 150 min 时的溶出样品, 按照 5.1 项下方法测定, 记录吸光度, 重复以上操作 6 次, 计算本芬醇的平均溶出度为 91.27%, RSD 1.2%, 表明重复性良好。

5.3.4 加样回收率考察 分别取处方量空白辅料 6 份, 分别精密加入本芬醇 120 mg, 按 3.2 项下方法制备供试品溶液, 按照 5.1 项下方法测定, 记录吸光度, 计算平均回收率为 99.37%, RSD 1.5%, 表明方法准确度良好。

5.3.5 干扰性试验 取辅料空白片和仿制制剂 FZ1# 各 3 片, 按 3.2 项下的方法溶出, 取 150 min 时的溶液适量, 滤过, 分别取续滤液作为阴性对照液和供试品溶液。按照 5.1 项下方法测定, 阴性对照液在 342 nm 下平均吸光度为 0.002, 计算本芬醇的溶出度为 0.26%, 即本品辅料和溶出介质对本芬醇溶出度的测定无干扰。

6 数据处理

按照 3.2 项下方法, 进行溶出实验, 分别按外标一点法和标准曲线法计算蒿甲醚溶出浓度, 吸收系数和标准曲线法计算本芬醇溶出浓度, 则第 n 个时间点 ($i = n$) 蒿甲醚和本芬醇的累积溶出百分率 Y , 计算公式分别为 $Y = [C_n \times (1005 - 5n) + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 5/m] \times 100\%$; 其中, C_i 为第 i 个点的溶出浓度, C_n 为第 n 个时间点的溶出浓度, m 为标示量。

依照国家食品药品监督管理总局颁布的 f_2 相似因子比较法评价仿制制剂和参比制剂溶出曲线的相似程度, 计算公式为 $f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$ 。其中, n 为取样时间点的个数, R 为参比制剂在第 i 个时间点时的平均累积溶出度值, f_2 值计算规定, 参比制剂与仿制

制剂在 15 min 内溶出达到 85% 时,不用再计算 f_2 值,可直接认为 2 种制剂溶出行为相似。当 f_2 值在 50 ~ 100 时,则可认为两者的溶出行为一致。

7 结果

根据累积溶出度公式分别计算 3 批仿制制剂与 3 批参比制剂在水, pH 1.2, 2.5 和 4.5 溶出介质中蒿甲醚和本芴醇的溶出度(表 1, 2), 并绘制溶出曲线(图 3); 根据相似因子公式分别计算 f_2 值(表 3), 可知 3 批仿制制剂与参比制剂在 4 种不同 pH 的溶出介质中蒿甲醚和本芴醇的 f_2 值 (> 50) 均符合规定。

8 讨论

8.1 仿制药的优势 改革开放以来,中国的药企数量膨胀,成为仿制原料药出口大国。仿制药的质量与疗效与世界人民的健康息息相关。但制剂产品重复多、规格小、品种少、技术含量低,因此,2012 年初,国务院办公厅印发了《关于印发国家药品安全“十二五”规划的通知》明确提出,要全面提高仿制药质量,对 2007 年修订的《药品注册管理法》施行前批准的仿制药,分期分批与被仿制药进行质量一致性评价^[17]。仿制药一致性评价是提高仿制药质量的一部分,相关工作人员应该重视并严格实施。在全球,仿制药是各国民生用药的主体,仿制药的地位是不能动摇的^[18]。

8.2 溶出度与相似因子 溶出度测定是一种模拟口服固体制剂在胃肠道中崩解和溶出过程的体外实验方法,在一定条件下与制剂的生物利用度有一定的相关性。在多种溶出介质中测定溶出曲线是国家药物审评机构评价口服固体制剂内在质量的一种重要手段^[19]。 f_2 相似因子法评价溶出曲线间相似度是国家食品药品监督管理局(CFDA)推行的口服固体制剂溶出一致性评价中使用最广泛的方法。本研究采用 f_2 相似因子法分别评价了 3 批参比制剂与 3 批仿制制剂之间的相似度,因此,可以明确得出 3 批仿制制剂之间的相似度,从一定程度上说明 3 批仿制制剂的制备工艺是否稳定。CFDA 与欧洲药品评估局(EMA)规定:若受试与参比制剂的溶出曲线间的 f_2 值不小于 50,则认为两者相似。该法简单迅速,可快速评价受试制剂与参比制剂溶出行为的差异。

8.3 溶出介质的选择^[20-21] 复方蒿甲醚本芴醇片是由蒿甲醚和本芴醇组成,因此,本实验对 2 种主要成分在 4 种 pH 溶出介质中的溶出曲线进行了研究,避免了仿制制剂中一种成分的溶出行为与参比

表 1 3 批参比制剂与 3 批仿制制剂在 4 种溶出介质中蒿甲醚的溶出度($n = 12$)

Table 1 Percentagedissolution of artemether of imitation preparations and reference preparationsin four dissolution medium ($n = 12$) %

制剂编号	介质	样 1	样 2	样 3	样 4	样 5	样 6	样 7
CB1#	水	44.26	60.88	71.72	81.07	85.27	88.89	91.60
CB2#		43.20	60.48	71.83	81.32	85.94	89.91	92.41
CB3#		42.79	59.02	71.02	79.68	84.14	88.48	91.69
FZ1#		40.06	54.79	63.23	73.34	78.47	81.69	84.18
FZ2#		40.03	54.98	65.77	73.94	78.55	81.57	84.58
FZ3#		40.50	54.82	64.55	73.63	77.93	81.13	84.02
CB1#	pH 1.2	44.73	68.58	78.45	82.82	79.07	76.13	67.30
CB2#		43.93	68.20	77.98	82.38	78.59	74.98	67.95
CB3#		44.94	68.78	77.61	81.93	78.14	74.83	66.40
FZ1#		40.81	60.57	68.42	70.71	68.33	67.67	60.86
FZ2#		41.60	61.67	69.58	71.27	68.99	67.79	60.94
FZ3#		40.46	60.31	68.18	71.15	68.84	65.62	60.96
CB1#	pH 2.5	43.14	68.18	81.19	87.61	92.45	94.83	97.11
CB2#		42.60	69.75	82.44	88.69	91.78	94.66	96.57
CB3#		42.42	67.94	82.08	88.59	91.35	94.87	96.60
FZ1#		40.73	62.75	76.08	82.88	86.68	89.38	93.43
FZ2#		39.75	62.76	75.31	83.86	86.66	89.66	94.14
FZ3#		39.26	62.13	74.47	81.81	86.39	90.76	94.55
CB1#	pH 4.5	55.54	68.26	77.84	89.24	93.35	95.38	97.70
CB2#		57.23	69.21	77.66	88.8	93.53	96.27	97.51
CB3#		56.18	67.77	78.90	88.9	94.16	96.24	98.66
FZ1#		54.40	64.07	71.88	84.48	89.25	91.39	92.01
FZ2#		55.12	66.44	71.93	85.16	88.19	89.89	91.68
FZ3#		53.83	65.52	70.73	85.04	88.44	90.14	91.51

注:介质为水, pH 4.5 时,样 1 ~ 样 7 时间点分别是 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min; pH 1.2, 2.5 时,样 1 ~ 样 7 时间点分别是 5, 15, 30, 45, 60, 80, 150 min(表 2 同)。

制剂一致,而另一种成分的溶出行为与参比制剂相差较大的情况。本研究评价了仿制制剂复方蒿甲醚本芴醇片与参比制剂体外溶出的一致性,为该仿制制剂的有效性提供实验数据。

指导原则^[20]推荐采用 pH 4.5(乙酸钠 2.99 g 加 2 mol·L⁻¹ 乙酸溶液 14.0 mL,用水溶解并稀释至 1 L,摇匀,即得), pH 6.8(取 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 250 mL 加入 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 112.0 mL 混合,用水稀释至 1 L,摇匀,即得)的溶出

表 2 3 批参比制剂与 3 批仿制制剂在 3 种溶出介质中本芬醇的溶出度 ($n=12$)

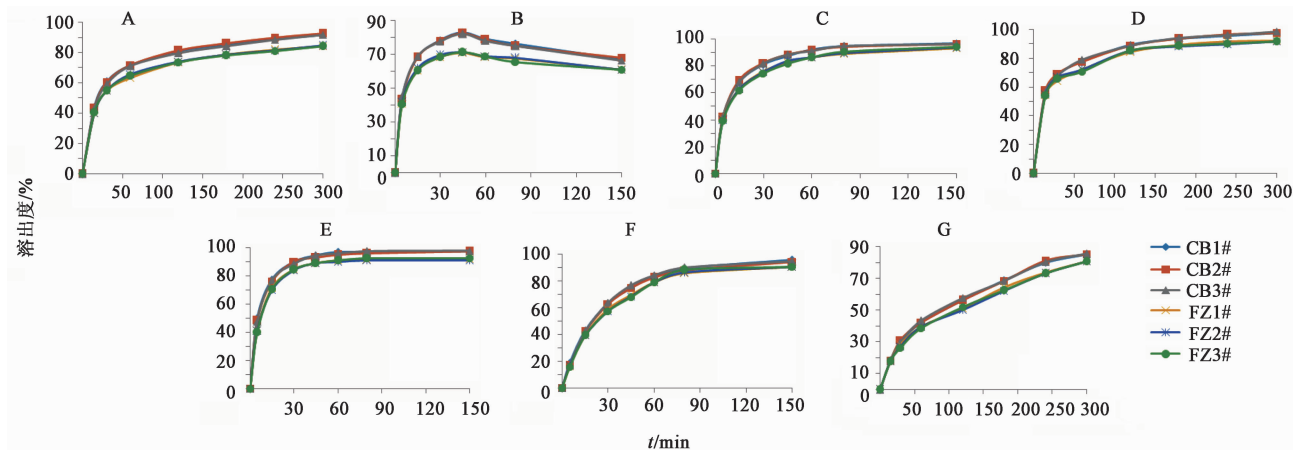
Table 2 Percentage dissolution of lumefantrine of imitation preparations and reference preparations in four dissolution medium ($n=12$) %

制剂编号	介质	累积溶出率						
		样 1	样 2	样 3	样 4	样 5	样 6	样 7
CB1#	pH 1.2	49.73	77.42	89.80	94.48	96.64	96.96	97.18
CB2#		48.15	76.03	89.82	92.70	94.62	95.77	97.21
CB3#		47.35	76.98	88.35	94.10	95.74	97.27	97.53
FZ1#		40.65	71.27	84.53	88.87	90.87	91.42	92.00
FZ2#		40.68	69.86	84.04	88.94	89.91	90.59	90.72
FZ3#		39.72	70.21	84.15	88.58	90.74	92.20	92.44
CB1#	pH 2.5	18.79	43.04	63.11	74.61	83.36	89.37	95.46
CB2#		17.24	41.84	62.48	74.73	82.40	87.77	94.13
CB3#		17.32	42.47	63.71	76.43	84.26	89.70	94.31
FZ1#		16.31	39.12	58.53	69.12	78.58	85.48	90.30
FZ2#		16.86	39.35	57.35	68.48	78.52	86.30	90.23
FZ3#		15.85	39.18	57.21	67.76	78.86	88.06	90.51
CB1#	pH 4.5	18.27	29.57	41.96	56.13	68.53	79.92	85.20
CB2#		18.26	31.11	42.10	56.20	68.27	81.21	85.18
CB3#		18.70	29.93	43.24	57.60	68.40	80.28	85.40
FZ1#		17.56	28.18	39.69	50.79	64.11	73.63	80.48
FZ2#		17.74	27.17	39.44	50.29	62.06	72.95	80.47
FZ3#		17.66	26.19	38.63	52.06	62.36	73.01	80.55

表 3 3 批参比制剂与 3 批仿制制剂中蒿甲醚和本芬醇溶出度相似因子 (f_2 值) ($n=12$)

Table 3 Similarity factor (f_2 value) for two ingredients in imitation formulations and reference formulations in four dissolution medium ($n=12$)

样品	蒿甲醚溶出相似因子 f_2			本芬醇溶出相似因子 f_2			
	水	pH 1.2	pH 2.5	pH 4.5	pH 1.2	pH 2.5	pH 4.5
CB1#CB2#	96	96	93	94	89	91	95
CB1#CB3#	91	94	95	95	91	91	95
CB2#CB3#	89	95	95	93	91	89	93
FZ1#FZ2#	92	95	96	90	94	96	95
FZ1#FZ3#	96	94	91	93	96	90	95
FZ2#FZ3#	96	90	92	95	92	94	91
FZ1#CB1#	58	52	66	67	60	67	66
FZ1#CB2#	57	53	64	66	64	71	65
FZ1#CB3#	60	54	66	64	63	66	64
FZ2#CB1#	59	54	66	66	58	66	68
FZ2#CB2#	58	55	64	65	62	70	66
FZ2#CB3#	63	56	66	64	60	65	66
FZ3#CB1#	58	52	64	65	59	66	66
FZ3#CB2#	57	53	62	64	63	69	64
FZ3#CB3#	61	54	64	63	62	65	64



A. 蒿甲醚(水); B. 蒿甲醚(pH 1.2); C. 蒿甲醚(pH 2.5); D. 蒿甲醚(pH 4.5); E. 本芬醇(pH 1.2); F. 本芬醇(pH 2.5); G. 本芬醇(pH 4.5)

图 3 蒿甲醚和本芬醇在 4 种溶出介质中的溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curves of artemether and lumefantrine in four dissolution media

介质,但发现以上 2 种溶出介质, 无论是否添加 1% 的 DDBAC, 本芬醇均几乎不溶解 ($A < 0.003$)。因此, 配制了多种溶出介质, 经比对区分力和溶出度,

最终确定 pH 2.5 和 pH 4.5 的溶出介质更适用, 但未找到适用于本芬醇溶出度测定的 pH 6.8 的溶出介质。

分别考察了不同体积(500,750,1 000 mL)溶出介质、不同转速(50,75,100 r·min⁻¹)对蒿甲醚(水为溶出介质)和本芴醇(pH 1.2的溶出介质)溶出率的影响,结果表明溶出介质体积为500,750 mL的区分力没有1 000 mL强。转速50,75,100 r·min⁻¹均能区分开两个制剂。由于2015年版《中国药典》复方蒿甲醚片项下采用转速100 r·min⁻¹,溶出介质体积1 000 mL。因此,综合考虑,采用溶出体积1 L,转速100 r·min⁻¹。

另外,对比了麦克林和阿拉丁两个厂家的DDBAC的溶解性能以及对2种成分的溶出量的影响,结果显示两者的溶解性能均较好,后者成本较高,因此选择使用前者。

8.4 结果讨论 由表1可知,取样时间相同时,蒿甲醚在水,pH 4.5,2.5介质中溶出度依次升高,且在同一种介质中溶出度随时间延长而增大,表明当pH≥2.5时,随着酸性增强,蒿甲醚的溶出度也增大。然而当pH 1.2时,蒿甲醚的溶出度,从0~45 min,随着时间的延长而增加,当45 min时达到最高点,而当超过45 min时,蒿甲醚的溶出度降低。

对比蒿甲醚在pH 1.2和pH 2.5介质中的溶出曲线,0~15 min时前者溶出度均高于后者,而15 min后均低于后者,说明蒿甲醚在强酸环境中溶解速率快但不稳定;查阅资料^[22]可知蒿甲醚在体外水溶液中也会发生类似体内代谢过程中的分解,其分解速率受溶液的酸碱度的影响,并证明蒿甲醚在pH 1.0的酸性环境中的半衰期仅为74.6 min,且大部分转化为二氢青蒿素。因此,可推测蒿甲醚在pH 1.2的介质中结构不稳定,45 min之前实际溶出量大于转化量,45 min之后实际溶出量小于转化量,即溶出曲线在45 min时达到最高而后又降低。

由表2可知,取样时间相同时,本芴醇在pH 4.5,2.5,1.2介质中溶出度依次升高,且在同一介质中随时间的增加溶出度增大,说明本芴醇在酸性环境中溶解速率快且稳定。

在所考察的4种溶出介质中,3批仿制制剂之间溶出曲线的相似因子在90~96,均大于或等于90,即中试生产工艺较稳定,可以保证不同批次的仿制制剂质量的稳定性;3批仿制制剂与3批参比制剂的溶出曲线均相似,其相似因子在52~71,均大于50,即两种制剂体外溶出行为相似,在一定程度上说明该仿制制剂与参比制剂的生物等效性一致。

9 结论

当pH≥2.5时,两种制剂中蒿甲醚在水,pH

2.5和pH 4.5的溶出介质中最终溶出量均达到标示量的90%以上,并且取样点相同时,随着酸性增强,溶出度也增大;但在pH 1.2的溶出介质中蒿甲醚结构不稳定,最高溶出量均未达到标示量的85%。本芴醇在pH 1.2的溶出介质中迅速溶解,并在45 min时达到标示量的85%;在pH 2.5的溶出介质中溶解略慢,但在80 min时溶出量也能达到标示量的85%。在pH 4.5溶出介质中溶出量最少,溶出速率最慢,终点时达到标示量的80%。

仿制制剂中蒿甲醚和本芴醇的累积溶出百分率均低于参比制剂,相同取样点平均相差5%左右;在pH 1.2的溶出介质中蒿甲醚的溶出速度相差较大(6%~11%),与蒿甲醚在强酸环境中不稳定性有关。

在所考察的4种溶出介质(pH 1.2,2.5,4.5的溶液和水)中3批仿制制剂之间相似因子 f_2 值均达到90以上,与3批参比制剂的相似因子 f_2 值均在50以上,说明3批仿制制剂工艺稳定,并与参比制剂在体外的溶出行为一致。

[参考文献]

- [1] WHO. Malaria cases worldwide in 2015 [EB/OL]. <http://www.who.int/malaria/en/>. 2015.
- [2] 陈远东,屈志强,李萍. 全球疟疾流行现状及我国输入性疟疾疫情[J]. 医学动物防制,2017,33(1):51-54.
- [3] 侯慧玉,宋华芹,张顺先,等. 我国疟疾报告病例数自回归移动平均模型预测研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2017,29(4):436-440,458.
- [4] 邓积广,余水兰,江超穗. 我国输入性疟疾现状及防治策略[J]. 医学动物防制,2017,33(5):507-509.
- [5] TU Y Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine [J]. Nat Med, 2011, 17(10):1217-1220.
- [6] 单成启,刘光裕,焦岫卿. 复方蒿甲醚临床治疗恶性疟的效果观察[J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2005,12(1):14-16.
- [7] 杨耀芳. 青蒿素及其衍生物的药理作用和临床应用[J]. 中国临床药学杂志,2003,12(4):253-257.
- [8] 武光亮,代英杰,康从民,等. 抗疟药本芴醇的合成新工艺[J]. 中国新药杂志,2012,21(24):2944-2947.
- [9] Byakika-Kibwika P, Lamorde M, Mayanja-Kizza H, et al. Artemether-lumefantrine combination therapy for treatment of uncomplicated malaria: the potential for complex interactions with antiretroviral drugs in HIV-infected individuals[J]. Malar Res Treat, 2011, doi:10.

- 4061/2011/703730.
- [10] Pfeil J, Borrmann S, Tozan Y. Dihydroartemisinin-piperaquine vs. artemether-lumefantrine for first-line treatment of uncomplicated malaria in African children: a cost-effectiveness analysis [J]. PLoS One, 2014, 9(4):e95681.
- [11] Dieye B, Affara M, Sangare L, et al. West Africa international centers of excellence for Malaria research: drug resistance patterns to artemether-lumefantrine in senegal, Mali, and the Gambia [J]. Am J Trop Med Hyg, 2016, 95(5):1054-1060.
- [12] WHO Expert Commit. The selection and use of essential medicines (including the 12th Model List of Essential Medicines) [M]. Geneva: WHO, 2002.
- [13] 张亚红, 王丽娟, 甘淋玲, 等. 蒿甲醚及其制剂的临床应用研究进展 [J]. 重庆医学, 2014, 43(29): 3967-3970.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 822, 823, 1451.
- [15] 王荣昌, 周健, 蒋锋. 复方蒿甲醚苯苄醇片体外溶出曲线一致性评价 [J]. 淮海工学院学报: 自然科学版, 2016, 25(2): 46-48.
- [16] 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: 121.
- [17] 国务院. 国家药品安全“十二五”规划 [EB/OL]. http://www.gov.cn/zwggk/2012-02/13/content_2065197.htm. 2012.
- [18] 刘昌孝. 药品安全战略与仿制药一致性评价策略 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(10): 1081-1087.
- [19] 周海钧. 药品注册的国际技术要求 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 43.
- [20] 国家食品药品监督管理局. 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则 [EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL1616/114288.html>. 2015.
- [21] 张启明, 谢沐风, 宁保明, 等. 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.
- [22] 陈有根, 余伯阳. 蒿甲醚在模拟体内酸碱环境中的代谢动力学研究 [J]. 色谱, 2002, 20(1): 37-39.

[责任编辑 顾雪竹]