

文章编号 1006-8143(2014)03-0247-05

论 著

坎地沙坦酯片溶出度考察

孙璇^{1,2}, 王婧斯², 龚莉², 郭金娟², 刘照胜¹

(1. 天津医科大学药学院, 天津 300070; 2. 天津泛博生物科技有限公司, 天津 300384)

摘要 目的: 考察坎地沙坦酯片(必洛斯)溶出度, 建立其溶出度测定方法。方法: 根据美国FDA、《日本药局方》、《国家药典委员会》以及自拟的坎地沙坦酯片溶出方法, 进行坎地沙坦酯片的溶出度测定, 绘制累积溶出曲线, 分析溶出结果, 选择最佳溶出方法。结果: 自拟方法(以0.5% SDS作为溶出介质)与FDA、JP方法测定的累积溶出曲线一致; 坎地沙坦酯在1~16 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均回收率为101.0%, RSD 为0.76% ($n=9$)。结论: 自拟方法适用性强、应用范围广、简便易行, 可用于坎地沙坦酯片溶出度的测定。

关键词 坎地沙坦酯片; 溶出度; 含量测定; 方法比较

中图分类号 R927.1

文献标志码 A

Study on dissolution determination of candesartan cilexetil tablets

SUN Xuan^{1,2}, WANG Jing-si², GONG Li², GUO Jin-juan², LIU Zhao-sheng¹

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin Fineample Biotechnology Company, Tianjin 300384, China)

Abstract Objective: To establish effective method for the determination of the dissolution of candesartan cilexetil tablets. **Methods:** The method for dissolution determination of candesartan cilexetil tablets acquired by FDA, Japanese Pharmacopoeia, Chinese Pharmacopoeia and our experiment method was studied, respectively. The optimal determination method was selected to determine the dissolution of the Blopress tablets. **Results:** The dissolution curves of the our method and FDA, Japanese Pharmacopoeia were similar. The calibration curve was linear in the range of 1~16 $\mu\text{g/mL}$. The average recoveries of candesartan cilexetil tablets was 101.0%, $RSD=0.76\%(n=9)$. **Conclusion:** Our experiment method is durable, simple, widely applicable, and can be used in the determination of candesartan cilexetil tablets.

Key words candesartan cilexetil; dissolution; quantitative determination; methods comparison

坎地沙坦酯为选择性血管紧张素 II 型受体拮抗剂类抗高血压药, 是由瑞典阿斯特拉公司和日本武田公司一起开发, 于 1997 年 12 月在瑞典首次上市, 临床上用于治疗轻中度原发性高血压, 效果显著, 安全有效, 不良反应一般较轻微。本品对患者的肾功能有一定的维护和改善作用, 且能减少糖尿病患者和轻度蛋白尿患者的尿蛋白排泄, 是一种具有良好前景的抗高血压药物^[1-3]。由于《中国药典》没有收载坎地沙坦酯片溶出度测定方法, 所以本文根据美国 FDA 溶出方法数据库中的“candesartan cilexetil tablets”溶出方法(简称“FDA 法”)、《日本药局方》第 16 版收录的“坎地沙坦酯片”溶出方法^[4](简称“JP16 法”)、《国家药典委员会》坎地沙坦酯片征求意见稿溶出方法(简称“ChP 法”)^[5]对坎地沙坦酯的溶出度测定进行考察, 以确立一种准确、可靠、适用性强的溶出度测定方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Lab Alliance SSI Series 1500 高

作者简介 孙璇(1989-), 女, 硕士在读, 研究方向: 药分与药剂学; 通信作者, 刘照胜, E-mail: zhaoshengliu@sohu.com。

效液相色谱仪; CShrom Plus 色谱工作站; 柱温箱(Model 100, 天津科贝尔光电技术有限公司); 智能溶出试验仪(ZRS-8G, 天津市天大天发科技有限公司); 坎地沙坦酯对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100685-200401); 坎地沙坦西酯片(必洛斯, 天津武田药品有限公司, 批号: 025A); 坎地沙坦西酯片(自制片, 批号: 01); 吐温 20(西陇化工股份有限公司); 吐温 20(日本和光纯药工业株式会社); 十二烷基硫酸钠(安徽山河药用辅料股份有限公司); 十二烷基硫酸钠(天津市江天化工技术有限公司); 十二烷基硫酸钠(天津大学科威公司); 甲醇、乙腈(天津康科德科技有限公司, 色谱纯); 其它试剂均为市售分析纯, 重蒸水(自制)。

1.2 溶出方法的建立

1.2.1 溶出度测定方法 本试验参考 FDA 法、JP16 法、ChP 法 3 种溶出度方法及其测定方法的比较, 详见表 1、表 2。

1.2.2 溶出介质的考察 取坎地沙坦酯片, 照溶出度测定法^[6](中国药典 2010 年版二部附录 X C 第二法)测定, 转速为 50 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 温度(37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 依法

表 1 坎地沙坦酯溶出度方法对比

Tab 1 Comparison on dissolution method by candesartan cilexetil

项目	FDA 法	JP16 法	ChP 法
溶出方法	浆法	浆法	浆法
溶出介质	pH 6.5-0.35%吐温 20	1%吐温 20 水溶液	0.25%SDS
溶出介质体积/mL	900	900	900
转速/(r/min)	50	50	50
45 min 累积溶出限度/%	-	75	80

表 2 坎地沙坦酯溶出度测定方法的比较

Tab 2 Comparison on three HPLC methods by candesartan cilexetil

项目	FDA 法	JP16 法	ChP 法
色谱柱	ODS-3 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm)	ODS-3 色谱柱 (150 mm×3.9 mm, 4 μm)	ODS-3 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm)
流动相	甲醇-乙腈-0.05 mol·L ⁻¹ 磷酸二氢钠 溶液(55:30:15)	乙腈-水-冰醋酸 (57:43:1)	乙腈-pH4.0 磷酸盐 缓冲液(65:35)
检测波长/(nm)	254	254	256

操作,经 5、10、20、30、45 和 60 min 时取样 5 mL,滤过,同时补加相应的溶出介质 5 mL,取续滤液 20 μL 注入液相色谱仪,根据相应的测定方法检测,记录色谱图;另取坎地沙坦酯对照品适量,制成每 1 mL 中约含坎地沙坦酯 10 μg 的溶液,同法测定。按外标法以峰面积计算坎地沙坦酯片的累积溶出百分率。

1.2.3 自拟方法的建立 本试验在 ChP 法基础上考察不同浓度的 SDS 为溶出介质的溶出度。根据溶出度试验指导原则,溶出介质中表面活性剂浓度大于 0.5%时,体内外相关性差;同时通过对坎地沙坦酯在不同浓度 SDS 的溶解度考察,确立以 0.5%SDS 为溶出介质测定坎地沙坦酯的体外溶出情况,测得其累积溶出百分率。

1.2.4 相似因子法 固体制剂的体外溶出度数据是评价一种药物制剂不同品种、不同厂家、不同批次间质量的重要数据^[7]。采用美国 FDA 的药物评估和研究中心(CDER)和欧洲药品管理局(EMA)收录并推荐使用的溶出曲线相似性 f_2 因子法^[8]对体外释药数据进行统计分析。美国 FDA 规定 f_2 值在 50~100 之间可以认为两种处方制剂在同一释药条件中或同一处方制剂在不同释药条件中释药无差别。被广泛应用于比较溶出曲线、筛选处方、评价药物稳定性、优化剂型、评价批间重现性等。

$$Q = \sum_{n=1}^i W(R_t - T_t)^2 \quad (1)$$

式中, R_t 为 t 时间对照药品的溶出度, T_t 为 t 时间试验药品的溶出度, W 为适宜的权重因子。

$$\text{相似因子 } f_2: f_2 = 50 \times \lg[(1 + Q/n) - 0.5 \times 100] \quad (2)$$

1.2.5 转速考察 照溶出度测定法(中国药典 2010 年版二部附录 X C 第二法),转速分别为 50、75 和 100 r·min⁻¹,其余照溶出度测定方法,计算累积溶出度百分率。

1.3 测定坎地沙坦酯全溶出曲线 依据自选 0.5% SDS 法建立坎地沙坦酯溶出度测定方法,以含 0.5% SDS 为溶出介质,转速为 50 r·min⁻¹,温度为 (37±0.5) °C 采用浆法进行试验,经 45 min 取样,过滤,续滤液作为供试品溶液;精密量取上述供试品溶液与对照品溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算出每片的溶出量,限度为标示量的 75%,应符合规定。

1.4 HPLC 测定方法

1.4.1 方法学验证

1.4.1.1 色谱条件为:色谱柱:Inertsil® ODS-3 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),根据自拟法流动相条件为乙腈-水-冰醋酸(75:25:1),检测波长为 254 nm,进样量:20 μL,柱温:35 °C。

1.4.1.2 样品溶液的制备:(1)对照品溶液:称取坎地沙坦酯原料约 25 mg,精密称定,置 25 mL 的量瓶中,加乙腈适量,超声溶解,用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL 于 100 mL 量瓶中,加 0.5%SDS 溶液稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液;(2)供试品溶液:取本品适量(约相当于坎地沙坦酯 8 mg),精密称定,加 0.5%SDS 超声溶解制成浓度约为 10 μg/mL 的溶液,过滤,取续滤液作为供试品溶液;(3)空白辅料溶液:称取相应处方比例混合辅料约 384 mg,精密称定,置 25 mL 的量瓶中,加乙腈适量,超声溶解,用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL 于 100 mL 量瓶中,加 0.5%SDS 溶液稀释至刻度,摇匀,作为空白辅料溶液。

1.4.1.3 系统适用性试验:分别取“1.4.1.2 项下”3 种溶液,按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

1.4.1.4 线性关系考察:精密称取坎地沙坦酯对照品适量,用乙腈溶解制成浓度为 0.1 mg/mL 的溶液作为对照品溶液贮备液。分别精密量取上述贮备液加 0.5%SDS 稀释并配制成 1、4、8、10、12 和 16 μg/mL 一系列浓度溶液。按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,取上述溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

1.4.1.5 精密度试验:按“1.4.1.2 项下”方法配制供试品溶液,按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,同一供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,同日内连续进样 6 次,记录色谱图,计算日内精密度;连续 3 d 测定

6次,计算日间精密度。

1.4.1.6 重复性试验:按照“1.4.1.2 项下”方法配制供试品溶液6份,按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,精密量取供试品溶液20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

1.4.1.7 稳定性试验:按“1.4.1.2 项下”方法配制供试品溶液,按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,精密量取供试品溶液20 μL 分别于0、1、2、4、7、8和24 h注入液相色谱仪,记录色谱图。

1.4.1.8 回收率试验:按“1.4.1.2 项下”方法配制对照品贮备液,精密称取对照品贮备液适量,按处方比例加入辅料,用溶出介质配制成测定浓度的50%、80%和100%的溶液,按照“1.4.1.1 项下”色谱条件,取上述溶液20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

2 结果

2.1 方法学验证结果

2.1.1 系统适用性试验 结果表明,供试品溶液与对照品溶液出峰时间一致,空白辅料不干扰测定。理论塔板数以坎地沙坦酯峰计算为8 748,坎地沙坦酯峰与溶剂峰的分离度为15.808,坎地沙坦酯峰的拖尾因子为1.017,结果见图1。

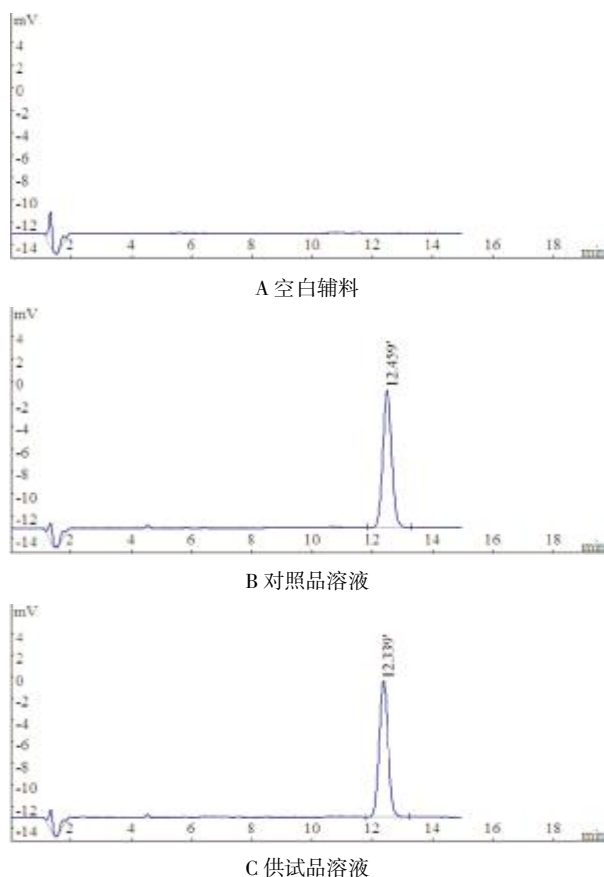


图1 系统适用性谱图

Fig 1 HPLC Chromatography of dissolution of system suitability

2.1.2 线性关系考察结果 坎地沙坦酯的回归方程为 $A=17\ 938C+2\ 809.4$, $r=0.999\ 8$ 。坎地沙坦酯在1~16 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性较好。

2.1.3 精密度试验结果 读取供试品溶液的主峰面积,计算日内精密度 $RSD=0.19\%(n=6)$,日间精密度 $RSD=0.43\%(n=6)$,试验结果表明,精密度良好,符合测定要求。

2.1.4 重复性试验结果 读取主峰峰面积,计算 $RSD=0.50\%(n=6)$ 。试验结果表明,重复配制供试液进行测定的结果具有很好的重复性。

2.1.5 稳定性试验结果 计算 RSD 为0.12%($n=7$),表明坎地沙坦酯样品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

2.1.6 回收率试验结果 计算回收率,结果9份样品平均回收率为101.0%, RSD 为0.76%($n=9$),回收率的测定结果符合要求,该方法准确度良好,见表3。

表3 回收率试验结果($n=9$)

Tab 3 Recovery of dissolution determination($n=9$)

样品名称	坎地沙坦酯/ mg	辅料/ mg	主峰峰 面积	回收率/ %	统计结果
对照	1	12.50	—	92 842	—
	2	12.54	—	92 891	—
50%	1	10.01	630.21	41 231	100.97
	2	10.08	629.97	41 897	101.88
	3	10.07	629.99	41 783	101.77
80%	1	16.04	630.16	65 217	99.66
	2	15.99	630.32	65 565	100.51
	3	16.06	629.93	66 603	101.66
100%	1	19.99	630.02	82 173	100.76
	2	20.04	630.10	81 978	100.27
	3	19.96	630.08	82 686	101.54

2.2 不同溶出介质考察结果

2.2.1 FDA法、JP16法、ChP法的考察 不同溶出介质测得的累积溶出曲线,结果见图2。对其进行相似因子(f_2)值比较,选定1%吐温20(日本和光)的溶出介质作为参比,结果如表4。

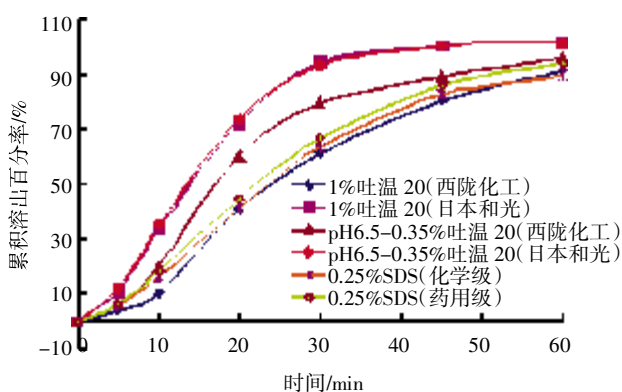


图2 不同溶出介质条件的累积溶出百分率考察

Fig 2 Curves of cumulative dissolution percent with different medium

表 4 不同溶出介质测定坎地沙坦酯片累积溶出曲线的 f_2 值比较

Tab 4 Comparison on cumulative dissolution curve similarity factor by candesartan cilexetil

时间 (min)	pH6.5-0.35% 吐温 20 (日本和光)	1%吐温 20 (西陇化工)	pH6.5-0.35% 吐温 20 (西陇化工)	0.25% SDS (药用级)	0.25%SDS (化学级)
5	12.16	4.28	6.50	6.50	6.13
10	35.00	10.66	20.02	18.77	16.30
20	73.92	40.66	60.02	44.41	41.20
30	93.23	60.98	79.21	66.63	63.30
45	100.18	80.28	89.01	85.90	82.43
60	101.00	91.29	96.00	93.71	89.28
f_2	90	31	46	35	33

由图 2、表 4 可知,只有使用日本进口的吐温 20 采用 FAD 和 JP16 法测得的累积溶出曲线才符合标准,但是日本进口的吐温 20 不易购买。

2.2.2 自拟方法的建立 以自拟方法 0.5%SDS 为溶出介质测定坎地沙坦酯的累积溶出百分率如图 3。对其溶出数据,进行相似因子(f_2)比较,选定 1%吐温 20(日本和光)的溶出介质作为参比,结果见表 5。

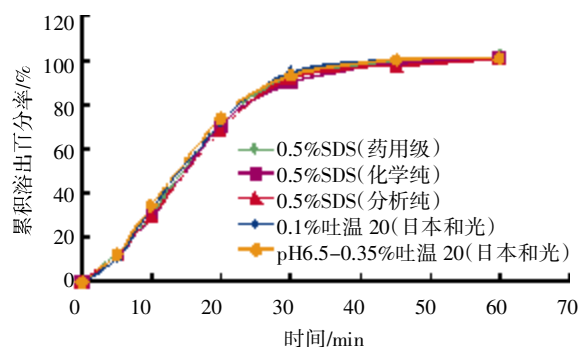


图 3 不同溶出介质条件的累积溶出百分率考察

Fig 3 Curves of cumulative dissolution percent with different medium

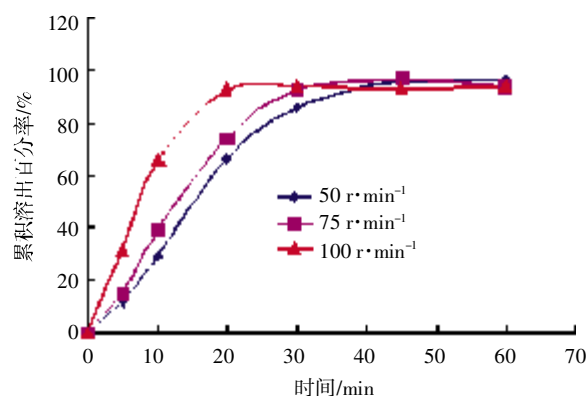
表 5 不同溶出介质测定坎地沙坦酯片累积溶出曲线的 f_2 值比较

Tab 5 Comparison on cumulative dissolution curve similarity factor by candesartan cilexetil

时间 (min)	pH6.5-0.35%吐温 20 (日本和光)	0.5%SDS (药用级)	0.5%SDS (化学纯)	0.5%SDS (分析纯)
5	12.16	12.89	12.02	12.04
10	35.00	31.00	28.91	29.95
20	73.92	71.30	70.89	68.56
30	93.23	92.80	89.71	91.92
45	100.18	99.50	98.65	94.65
60	101.00	101.80	100.90	100.82
f_2	90	83	71	70

从图 3、表 5 可知,(1)以 0.5%SDS 为溶出介质时,测得的累积溶出曲线与 FDA、JP 方法测得的累积溶出曲线一致。(2)使用不同厂家来源的 SDS 为溶出介质时,累积溶出百分率无明显差异。

2.2.3 转速考察结果 溶出结果见图 4。由图 4 可知,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 与 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的累积溶出百分率无显著性差异, $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 在 20 min 时已达到完全溶出,溶出速度过快,考虑 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 与体内胃肠蠕动相近且不同处方之间溶出行为差别不明显。因此试验最终选择溶出转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

图 4 不同转速条件累积溶出百分率考察 ($n=6$)Fig 4 Curves of Cumulative dissolution percent with different rotate speed ($n=6$)

2.3 自制片剂与市售制剂的相似性比较 对上市品和自制片的坎地沙坦酯用已建立的溶出方法进行累积溶出百分率测定,其累积溶出曲线见图 5,计算 f_2 因子,以上市品作为参比制剂,结果见表 6。由图 5 可知自制片与上市品的溶出行为相似,均符合要求。由表 6 可见,自制片和市售片比较所得的 f_2 值均大于 50。表明自制片与上市片的体外溶出行为一致,在 45 min 的累积溶出度都符合限度要求。

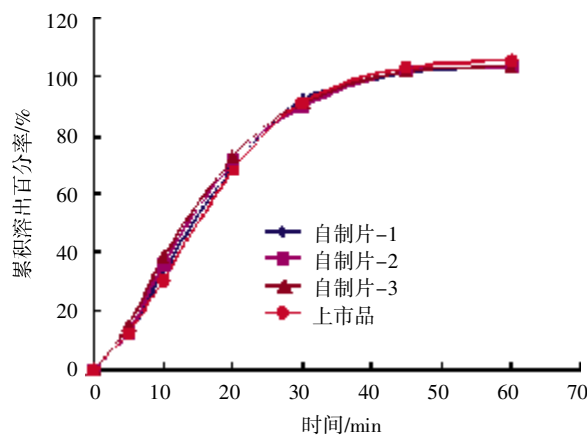


图 5 上市品和自制片的坎地沙坦酯累积溶出度曲线

Fig 5 Cumulative dissolution curve of candesartan cilexetil and self-made tablets

表6 上市品和自制片的 f_2 值比较

Tab 6 Similarity analysis of candesartan cilexetil and self-made tablets

时间(min)	自制片-1	自制片-2	自制片-3
5	12.67	12.85	15.06
10	33.70	36.17	38.46
20	69.22	71.32	72.64
30	91.95	89.76	91.07
45	101.30	102.00	102.10
60	103.70	103.00	103.60
f_2	85	75	69

3 讨论

溶出介质的筛选中首先采用FDA及《日本药局方》所提供的溶出介质,FDA推荐的溶出介质为0.35%吐温20-pH6.5磷酸盐缓冲液,《日本药局方》16版坎地沙坦酯片溶出度检查的溶出介质为1%吐温20溶液,试验过程中发现不同产地的吐温20所测得的累积溶出百分率差异较大,不能准确衡量坎地沙坦酯片的溶出情况,《国家药典委员会》0.25%SDS溶出方法不能全溶出,而以0.5%SDS为溶出介质时所测得的累积溶出百分率与采用日本进口吐

温20按照JP16及FDA方法所得结果相似。故经过多次试验考察,最终选择0.5%SDS溶液为坎地沙坦酯片的溶出介质,此方法简便易行、适用性强、应用范围广,可为坎地沙坦酯片的质量控制提供参考。此外本试验仅对一批上市品进行测定,不同批次上市品仍待继续考察。

参考文献:

- [1] 刘桂芹.坎地沙坦酯的临床应用及其研究进展[J].现代中西医结合杂志,2009,18(36):4592
- [2] 吕向群.抗高血压新药坎地沙坦研究进展[J].中国药业,2005,14(5):77
- [3] 陈凌,潘静薇,秦永文,等.坎地沙坦酯治疗轻中度高血压病人的疗效及安全性[J].药学服务与研究,2004,4(2):139
- [4] 日本药局方[S].第16版.2011:545
- [5] 国家药典委员会.(http://www.chp.org.cn/cms/home/)
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(二部)[S].2010版.北京:化学工业出版社,2010:附录X C:附录85
- [7] 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
- [8] Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry bio-availability and bioequivalences studies for orally administered drug products:General considerations[S].1999.10

(2013-09-09 收稿)

.....

(上接第246页)

此选择超声20 min的提取方法。

3.2 色谱条件的选择 不同流动相比比例的考察:分别配制甲醇-水-磷酸-三乙胺=61:39:0.12:0.3,甲醇-水-磷酸-三乙胺=62:38:0.12:0.3,甲醇-水-磷酸-三乙胺=59:41:0.12:0.3不同比例的3种流动相,分别精密量取对照品20 μ L进样,流速均为0.8 mL/min,观察OMP的出峰情况。含量测定结果显示,流动相的比例和流速有微小的变动对其几乎没有影响,说明本方法耐用性良好。

3.3 紫外分光光度法和HPLC法比较 两种质量控制方法的结果通过 t 检验进行分析, P 值均 >0.05 ,说明两种方法无显著性差异,由于杂质及有关物质检测的需要,所以首选HPLC法,紫外分光光度法可以作为溶出度结果的考察方法。

参考文献:

- [1] 卞志家,何亦秋,何瑜,等.奥美拉唑的全球专利申请状况分析

[J].统计分析,2012,8(10):57

- [2] Hiroshi I, Shingo K, Yusuke S, et al. Early effects of oral administration of omeprazole and roxatidine on intragastric pH[J]. J Zhejiang University, SCIENCE B, 2012,13(1):29
- [3] 梁建华,张石革.质子泵抑制剂的研究进展与临床应用[J].中国药房,2012,13(1):51
- [4] FDA. Patent Counseling Information. ZEGERID (omeprazole/sodium bicarbonate) Powder for Oral Suspension and Capsules. http://www.rxlist.com/zegerid-drug.htm
- [5] 娄伯琴,倪根珊.碳酸氢钠的近日临床应用[J].临床荟萃,1994,9(21):997
- [6] 国家药典委员会.《中国药典》2010年版(二部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:1038-1041
- [7] 陈新玲,许晓,翟卫芳.紫外-可见分光光度法测定奥美拉唑钠中间品中奥美拉唑的含量[J].首都医药,2009,16(18):52
- [8] 王旭,李美珍,卢欣,等.3种HPLC色谱条件下测定奥美拉唑含量方法的比较[J].天津医科大学学报,2012,18(4):510
- [9] 王宇和,朱润峰,曹文宁.复方奥美拉唑胶囊的制备和质量控制[J].中国药业,2011,20(16):45

(2013-11-29 收稿)