

非洛地平缓释片的制备和体内体外相关性评价

许如^{1,2}, 李杰², 李宏伟^{1,3*}, 陶春蕾^{2*}, 王东凯^{1*}

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 安徽万邦医药科技股份有限公司, 安徽 合肥 230000;
3. 哈尔滨三联药业股份有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要: **目的** 制备非洛地平缓释片, 进行自研制剂与参比制剂体内体外相关性评价。**方法** 以两种型号的羟丙甲纤维素联合使用作为缓释材料, 采用湿法制粒工艺制备非洛地平缓释片。分别采用释放度测定法; 浆法(多介质)、流池法、往复筒法评价自研制剂与参比制剂体外释放曲线的相似性, 采用负荷-距离曲线评价自研制剂与参比制剂凝胶强度的差异, 并进行空腹/餐后各 12 例健康受试者的生物等效性试验。**结果** 浆法及往复筒法测定自研制剂与参比制剂释放曲线 $f_2 > 50$, 流池法测定自研制剂较参比制剂释放速率慢 ($f_2 < 50$); 凝胶强度试验结果表明, 参比制剂水化速度较自研制剂快, 凝胶强度较自研制剂低; 生物等效性试验空腹试验 C_{max} 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 置信区间分别为 61.10~99.60、80.01~95.78、79.39~95.87, 餐后例数翻倍至 24 例的 C_{max} 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 置信区间均在 80.00~125.00 范围内。**结论** 空腹试验自研制剂吸收速率和吸收程度低于参比制剂, 两种制剂不等效; 餐后试验例数翻倍后自研制剂与参比制剂等效, 此次研究非洛地平缓释片体外浆法和往复筒法评估方法与空腹条件下体内相关性较差, 与餐后条件下体内存在一定的相关性, 流池法及负荷-距离曲线体外评价与空腹条件下体内存在一定的相关性。

关键词: 非洛地平缓释片; 流池法; 凝胶强度; 体内体外相关性; 生物等效性试验

中图分类号: R94 **文献标志码:** A

非洛地平缓释片是一种高度血管选择性钙离子拮抗剂, 能够有选择地作用于血管平滑肌, 与其他钙离子拮抗剂药物相比, 该药物的选择性和抑制作用更显著, 发挥药效过程中不会伤及心肌功能, 疗效确切^[1]。该药物每日 1 次给药, 且剂量较小, 这对于减少药物不良反应有积极影响^[2-4]。

目前非洛地平缓释片已上市(如波依定[®]), 但其制备工艺、释药机制及质量评价体系仍有优化空间。例如, 辅料选择、工艺参数可能影响药物释放的均一性; 体外释放行为与体内药代动力学的相关性需进一步验证。

本次验证的非洛地平缓释片释放方法, 采用浆法结合特殊的四角释药篮装置, 解决了亲水凝胶型骨架片释放过程中容易粘溶出杯及浆的问题。

非洛地平作为长效钙通道阻滞剂, 其缓释制剂的体内暴露稳定性直接影响降压疗效和安全性。体内体外相关性(IVIVC)的研究可以从制剂的体外与参比制剂的相似性, 预测体内与参比制剂药效的一致性^[5]。传统 IVIVC 方法依赖单一溶出介质和简单数学模型, 无法真实反映胃肠道动态环境

收稿日期: 2025-04-20

作者简介: 许如(1987-), 女(汉族), 安徽合肥人, 硕士研究生, E-mail 337149673@qq.com; ***通信作者:** 李宏伟(1983-), 男(汉族), 黑龙江哈尔滨人, 正高级工程师, 硕士研究生, 新药研发负责人, 主要从事新药研究, E-mail 13836033204@163.com; 陶春蕾(1971-), 女(汉族), 安徽合肥人, 副主任药师, 硕士生导师, 主要从事药物制剂和药代动力学研究, E-mail taochunlei@ahwbyy.cn; 王东凯(1962-), 男(汉族), 辽宁沈阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事化学药物缓控释制剂技术及纳米给药系统研究, E-mail wangdksy@syphu.edu.cn。

及个体差异。本研究采用浆法加特殊装置、流池法、往复筒法分别进行自研制剂与参比制剂体外相似性评估,并以负荷-距离曲线评估自研制剂与参比制剂凝胶强度的差异,结合生物等效性试验,建立有效的 IVIVC 模型,仿制药一致性评价和创新药研发均需可靠的 IVIVC 支持。本研究可推动 IVIVC 技术升级,降低临床试验成本,加速药物上市进程。

1 仪器与材料

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司),GC-2014C 型气相色谱仪(日本 Shimadzu 公司),RT612-AT 型溶出仪和 RT7 型流通池(深圳市锐拓仪器设备有限公司),DGU-900 型溶媒脱气机(深圳市华溶分析仪器有限公司),system ADR-III 型往复桶[禄亘仪器设备(上海)有限公司],CT30K 型质构仪(美国 Brookfield 公司),XSR104 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],G6 型湿法混合制粒机、P100 型粉碎整粒机、XYT-I 型流化制粒包衣机和 Labcoating III 型高效包衣机(深圳市信宜特科技有限公司),ZP10A 型旋转式压片机(北京新龙立科技有限公司)。

非洛地平对照品(批号:100717-201904,中国食品药品检定研究院),参比制剂(批号:2106A22、1901A10,英国 AstraZeneca 公司),中试批非洛地平缓释片(受试制剂,批号:02308103),非洛地平(批号:002-221205,浙江苏泊尔制药有限公司),没食子酸丙酯(江苏东南纳米材料有限公司),羟丙纤维素(美国 Ashland Specialty Ingredients G.P. 公司),羟丙甲纤维素 60HD50/E50(山东赫达集团股份有限公司),羟丙甲纤维素[亚什兰化工(南京)有限公司],微晶纤维素[瑞登梅尔天然纤维制造(常州)有限公司],无水乳糖(江苏道宁药业有限公司),二氧化硅(日本富士硅化学株式会社),聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油(德国 BASF SE 公司),轻质氧化镁(湖南新绿方药业有限公司),硬质富马酸钠(德国 MOEHS CANTABRA S.L. 公司),薄膜包衣预混剂(上海卡乐康包衣技术有限公司)。

2 方法与结果

2.1 非洛地平缓释片的制备

按照处方量称取原辅料,配浆。溶液 I:将乙醇加入处方量氯化钠中,搅拌使溶解;溶液 II:将聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油、没食子酸丙酯、非洛地平和羟丙纤维素加入乙醇中,搅拌直至完全溶解澄清。预混合:将无水乳糖、微晶纤维素、二氧化硅、羟丙甲纤维素(60HD50/E50)和羟丙甲纤维素(E10M)加入湿法混合制粒机,设置搅拌 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,切刀 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,混合 5 min。加浆:设置搅拌 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,切刀 $1,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,依次加入溶液 I、溶液 II。制粒:加浆结束,设置搅拌 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,切刀 $1,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,制粒 3 min。湿整粒:将湿颗粒通过不锈钢 $2\times 2\text{ mm}$ 方孔筛网,出料。干燥:将湿颗粒加入流化床中,设置进风温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$,控制进风量使物料处于良好的沸腾状态,物料温度 $45\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$,干燥终点为物料水分 $< 2.5\%$ 。干整粒:将湿颗粒通过不锈钢 1.0 mm 圆孔筛网。混合:将整粒后的干颗粒、硬脂富马酸钠加入料斗混合机中,混合转速 $10\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,混合 5 min。压片:根据中间产品(总混颗粒)含量折算应压片重,进行压片,冲模: $\Phi 9\text{ mm}$ 浅凹,硬

度控制 5~9 kg。包衣：将包衣预混剂按质量分数 12% 加入纯化水，配制薄膜包衣预混剂水溶液，设置进风温度 $\leq 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，片床温度控制为 40~50 $^{\circ}\text{C}$ ，调整锅转速使物料处于良好的流动状态，调整包衣液流速和雾化压力，增重至 3.5% 停止包衣。

2.2 释放度方法学考察

参照非洛地平缓释片 USP48 标准、非洛地平缓释片国家药品标准（标准号：YBH00692021）拟定本品释放度测定方法为高效液相色谱法。并对不同介质释放度测定方法进行全面的验证。

2.2.1 释放度介质的制备

质量分数 0.4% 十六烷基三甲基溴化铵（CTAB）pH 6.5 磷酸盐缓冲液：称取十六烷基三甲基溴化铵 20.0 g，加入 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钠溶液 206 mL、 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠溶液 196 mL，加水至 5,000 mL，超声至溶解。

质量分数 0.1% 吐温 80 水溶液：取 1.0 g 吐温 80，加水至 1,000 mL。

质量分数 0.1% 吐温 80 pH 4.5 醋酸盐缓冲液：称取乙酸钠 2.99 g，加入冰醋酸 1.6 mL，加水溶解稀释至 1,000 mL，称取 1.0 g 吐温 80，加 pH 4.5 醋酸盐缓冲液溶解并稀释至 1,000 mL，摇匀。

质量分数 0.1% 吐温 80 盐酸溶液：取 1.0 g 吐温 80，加 9 mL 盐酸溶解稀释至 1,000 mL，摇匀。

2.2.2 释放度装置及方法

照溶出度与释放度测定法（《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0931 第二法），并采用释放吊篮（特制的连有不锈钢杆的金属丝网篮。不锈钢杆穿过释放缸盖，固定于距缸中心 3.2 cm 处，吊篮底部应位于桨的上方 1 cm 处，装有供试品的网篮应顺着水流的方向放置）。

以各介质 500 mL 为释放介质，标准介质转速为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，其他介质转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，依法操作，按照取样点分别取释放液 5 mL，并即时在操作容器中补充相同温度、相同体积的释放介质。

2.2.3 对照品溶液的制备

取非洛地平对照品适量，精密称定，乙醇溶解后，用释放介质定量稀释制成每 1 mL 约含非洛地平 10 μg 的溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备

分别取各取样点的释放液，用 0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液。

2.2.5 色谱条件

Cosmosil 5C₁₈-MS-II 色谱柱，十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（150 mm \times 4.6 mm，5 μm ）；流动相：甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲溶液（取磷酸 0.8 g、磷酸二氢钠 8 g，加水溶解至 1,000 mL）（体积比 25:45:30）；检测波长：362 nm；柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；进样体积：40 μL 。

2.2.6 专属性

空白辅料溶液：称取空白辅料约 204 mg，置 500 mL 量瓶，分别加各介质超声溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液。取对照品溶液、空白溶剂、空白辅料溶液、供试品溶液各 40 μL ，注入液相色谱仪。结果表明，空白辅料和空白溶剂在主峰位置均无干扰。

2.2.7 线性与范围

分别使用各介质配制相当于对照品浓度 0.509,6、2.038,2、6.114,6、8.152,9、10.191,1、12.229,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，取 40 μL ，注入液相色谱仪，记录色谱图。用最小二乘法进行线性回归。各介质线性方程及相关系数见表 1。试验结果表明，各释放介质中，在 0.509,6 ~ 12.229,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内，非洛地平的峰面积和浓度具有良好的线性关系。

Table 1 Linear and range test results of felodipine in different media

表 1 非洛地平在不同介质中的线性与范围试验结果

释放介质	线性方程	相关系数 r
0.4% CTAB pH 6.5 磷酸盐缓冲液	$y = 42,004.708,0 x + 392.848,0$	1.000,0
0.1% 吐温 80 水溶液	$y = 42,905.388,6 x - 835.404,8$	1.000,0
0.1% 吐温 80 pH 4.5 醋酸盐缓冲液	$y = 42,326.130,6 x - 190.326,0$	1.000,0
0.1% 吐温 80 盐酸溶液	$y = 42,383.905,8 x - 50.161,2$	1.000,0

2.2.8 溶液稳定性

取各介质对照品溶液与供试品溶液室温放置，分别于 0、2、4、8、12、24、48、72 h（时间点以实际实验过程为准）进样测定，记录色谱图，计算不同时间点峰面积 RSD。结果表明，各介质条件下，放置 72 h 内对照品溶液和供试品溶液的峰面积 RSD 均小于 2.0%，72 h 内对照溶液和供试品溶液均稳定。

2.2.9 回收率

分别配制各介质 5%、50%、100%、120% 浓度样品，回收率样品配制：取空白辅料约 410 mg，精密称定，置 1,000 mL 量瓶中，精密加入原料贮备液 2.5 mL，加释放介质超声使溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液。平行制备 3 份。取上述溶液各 40 μL ，注入液相色谱仪，记录色谱图。各介质回收率试验结果见表 2。结果表明，各释放介质条件下，各浓度样品回收率均在 95% ~ 105%，最大为 101.0%，12 份样品回收率 RSD 均小于 2.5%，RSD 最大为 0.74%，符合要求。

Table 2 Recovery rate test results of nifedipine in different media

表 2 非洛地平在不同介质中的回收率试验结果

释放介质	各浓度平均回收率/%				RSD/%
	5%	50%	100%	120%	
0.4% CTAB pH 6.5 磷酸盐缓冲液	99.9	107.7	100.2	100.3	0.66
0.1% 吐温 80 水溶液	99.5	100.3	99.8	99.6	0.53
0.1% 吐温 80 pH 4.5 醋酸盐缓冲液	101.0	99.7	99.9	99.5	0.76
0.1% 吐温 80 盐酸溶液	100.8	99.9	99.6	99.9	0.52

2.2.10 重复性

取自制品 1 片，按拟定释放试验方法在各释放介质中进行释放试验，分别于 1、4、7 h 取样（不同时间点样品使用不同释放杯进行试验），滤过，取续滤液。每个时间点平行取样 6 份，作为

供试品溶液。取对照品溶液、供试品溶液各 40 μL ，注入液相色谱仪，记录色谱图。重复性试验结果见表 3。试验结果表明，各释放介质条件下，6 份供试品溶液中，释放度测定结果 RSD 均小于 2%，各介质不同时间点 RSD 最大为 1.36%，最小为 0.10%，符合要求。

Table 3 Results of repeatability test

表 3 重复性试验结果

释放介质	RSD/%		
	1 h	4 h	7 h
0.4% CTAB pH 6.5 磷酸盐缓冲液	0.25	0.35	0.10
0.1% 吐温 80 水溶液	0.13	0.12	0.14
0.1% 吐温 80 pH 4.5 醋酸盐缓冲液	1.36	0.80	0.23
0.1% 吐温 80 盐酸溶液	0.46	0.17	0.16

2.3 多介质浆法释放曲线测定

取参比制剂(批号: 2106A22)、自研非洛地平缓释片(批号: 02308103)，选择“2.2.1”项下释放介质，“2.2.2”项下释放装置及方法，依法操作，按照下面统计的取样点取释放液 5 mL，并补充相同温度、相同体积的释放介质。自研制剂与参比制剂各介质释放曲线相似因子 f_2 见表 4。各介质自研制剂与参比制剂释放曲线对比图见图 1~4。

Table 4 The similarity factor f_2 between the dissolution curves of self-developed formulations and reference formulations for each medium ($n = 12$)

表 4 各介质自研制剂与参比制剂释放曲线相似因子 f_2 ($n = 12$)

释放介质	f_2
0.4% CTAB pH 6.5 磷酸盐缓冲液	78.3
0.1% 吐温 80 水溶液	78.3
0.1% 吐温 80 pH 4.5 醋酸盐缓冲液	80.9
0.1% 吐温 80 盐酸溶液	84.4

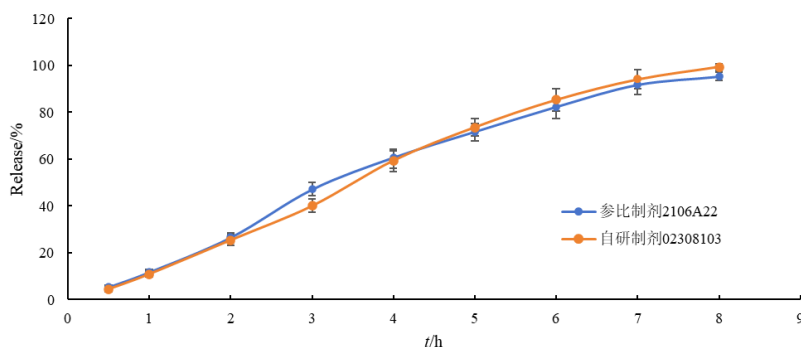


Fig. 1 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations—0.4% CTAB pH 6.5 medium/paddle method ($n = 12$)

图 1 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图—0.4% CTAB pH 6.5 介质/桨法 ($n = 12$)

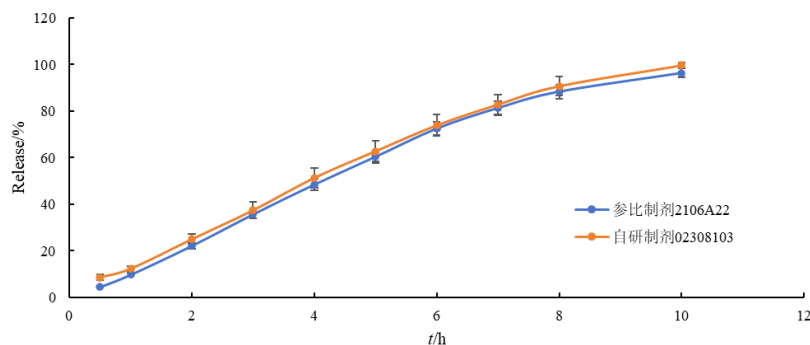


Fig. 2 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations—0.1% Tween-80 water medium/paddle method ($n = 12$)

图 2 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图—0.1% 吐温 80 水介质/桨法 ($n = 12$)

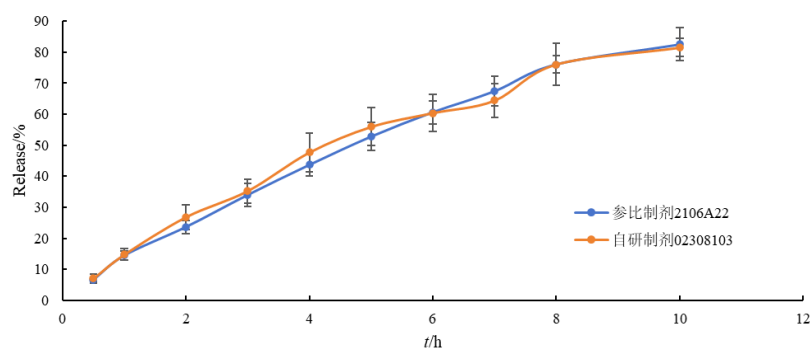


Fig. 3 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations—0.1% Tween-80 hydrochloric acid medium/paddle method ($n = 12$)

图 3 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图—0.1% 吐温 80 盐酸介质/桨法 ($n = 12$)

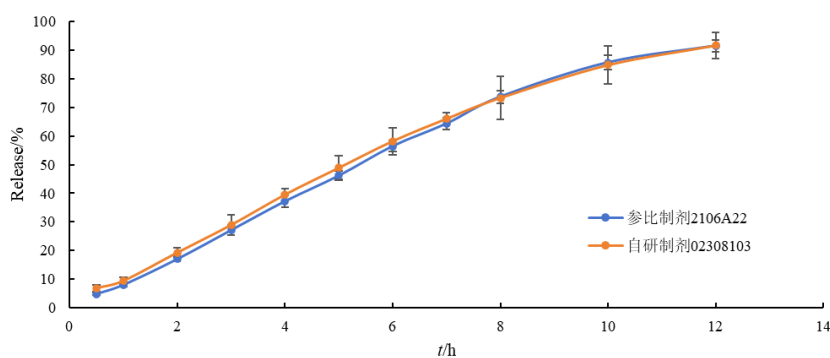


Fig. 4 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations—0.1% Tween-80 pH4.5 medium/paddle method ($n = 12$)

图 4 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图—0.1% 吐温 80 pH 4.5 介质/桨法 ($n = 12$)

研究表明, 多种释放介质中自研制剂与参比制剂释放曲线 $f_2 > 50$, 两种制剂桨法多介质中释放行为高度相似。

2.4 流池法

桨法得到的药物体外释放速率显著大于体内实际吸收速率, 而流池法的体外释放速率与体内吸

收速率较为接近, IVIVC 较好^[7]。

流池法: 照溶出度与释放度测定法(《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0931 第六法), 模式为闭环, 温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 以 22.6 mm 直径流通池作为样品池, 释放介质为质量分数 0.1% 吐温 80 水溶液。

检测方法: 照高效液相色谱法(《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0512)测定。

色谱条件: 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈ (100 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(取磷酸 0.8 g、磷酸二氢钠 8 g, 加水溶解至 1,000 mL)(体积比 25:45:30); 检测波长为 362 nm; 柱温为 40 °C; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 进样体积为 40 μL。

自研制剂与参比制剂流池法释放曲线对比见图 5。

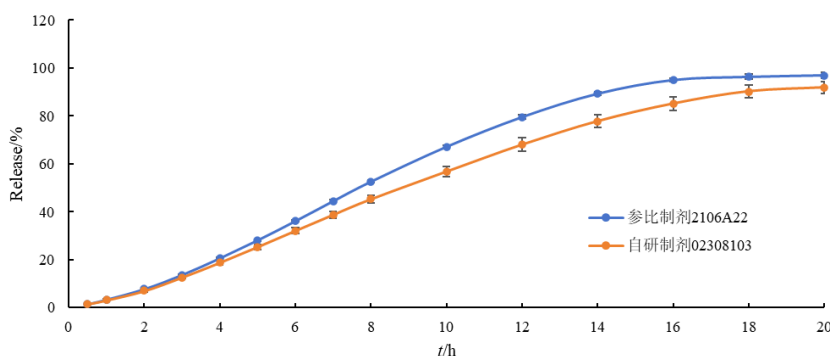


Fig. 5 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations-flow-through cell ($n = 12$)

图 5 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图-流池法 ($n = 12$)

研究表明, 参比制剂表现出比自研制剂更快的释放速率。释放曲线相似因子 f_2 为 43.0 (小于 50), 参比制剂的释放浓度在释放实验的前-中期都持续高于自研制剂。可能导致自研制剂体内药代动力学参数与参比制剂存在一定的差异。

2.5 往复筒法

采用桨法和流池法研究的结果趋势不一致, 经查阅文献^[8-9]证实往复筒能够预测缓控释制剂在体内的吸收情况, 并且可以预测食物对药物释放的影响, 故选择往复筒法进行体内餐后试验的体外相关性评估。

根据文献^[10]选择往复筒方法为: 照溶出度与释放度测定法(《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0931 第七法), 水浴温度为 37 °C; 往复频率为 10 dpm; 介质体积为 250 mL。取非洛地平缓释片 12 片分别置于往复筒内管中, 样品在第 1 排质量分数 0.3% 吐温 80 盐酸溶液释放介质中往复 2 h 后, 自动移动至第 2 排, 在质量分数 0.3% 吐温 80 的 pH 6.5 缓冲释放介质中继续往复至实验结束, 分别于 2、4、8、12、16 和 24 h 取样 2 mL, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。对照品溶液: 取非洛地平对照品适量, 精密称定, 用流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 约含 48 μg 的溶液。

检测方法: 照高效液相色谱法(《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0512)测定。

色谱条件: Cosmosil 5C₁₈-MS-II 色谱柱, 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(150 mm × 4.6 mm,

5 μm)；流动相为乙腈-甲醇-磷酸盐缓冲液 (pH 3.0, 体积比 2:1:2)；流速为 $1.1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；柱温为 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ ；检测波长为 362 nm ；进样体积为 $20 \mu\text{L}$ 。

自研制剂与参比制剂往复筒法释放曲线对比图见图 6。

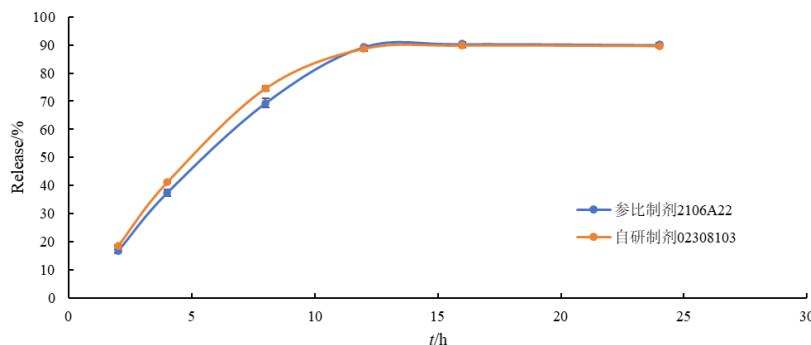


Fig. 6 Comparison of dissolution curves between self-developed and reference formulations-reciprocating cylinder ($n = 12$)

图 6 自研制剂与参比制剂释放曲线对比图-往复筒法 ($n = 12$)

研究表明, 自研制剂的释放速率与释放量与参比制剂基本一致。释放曲线相似因子 f_2 为 76.9 (大于 50), 表征两者的往复筒法测得的释放行为基本一致, 自研制剂释放速率稍快于参比制剂, 与桨法的结果一致。

2.6 凝胶强度

缓释片的凝胶体积是由骨架的溶胀和溶蚀同时决定的^[11], 体积膨胀率和吸水增重率能够反映亲水凝胶的溶胀过程, 溶蚀率能够反映骨架的溶蚀和非洛地平扩散的情况^[12]。缓释片的凝胶强度通常影响药物释放速率, 故设计试验通过自研制剂与参比制剂释放过程中两者的凝胶强度, 进一步剖析两者的差异, 建立体内体外相关性。

凝胶强度测定方法: 将参比制剂 (批号: 2106A22) 与多批自研制剂 (批号: 02308103) 分别放入释放介质 (质量分数 0.1% 吐温 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液) 中, 分别于 1、2、3、4 h 取出, 用滤纸吸干表面水分, 固定于质构仪探头下方, 质构仪通过探头对样品 (如缓释片的凝胶层) 施加挤压、穿刺等力学作用, 实时记录受力 (负荷, 单位: g) 与位移 (距离, 单位: mm) 的变化, 绘制负荷-距离曲线见图 7~10。

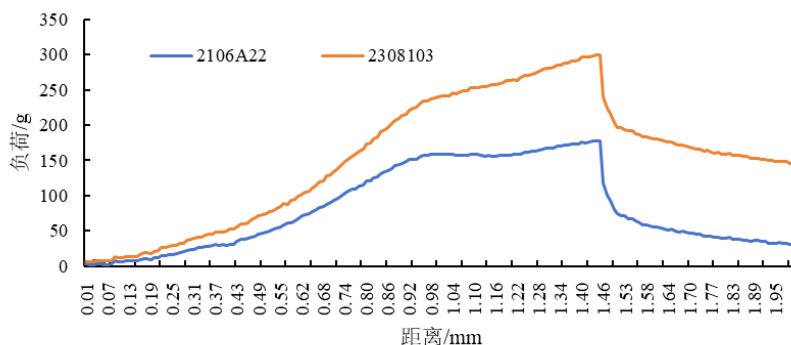


Fig. 7 Comparison of 1 hour load distance curves between self-developed and reference formulations

图 7 自研制剂与参比制剂 1 h 负荷-距离曲线对比图

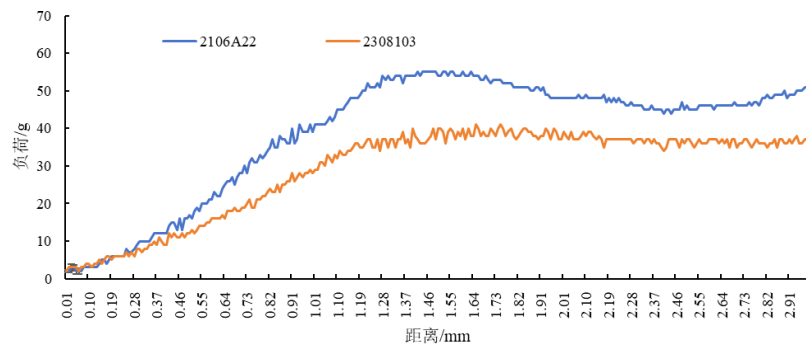


Fig. 8 Comparison of 2 hour load distance curves between self-developed and reference formulations

图 8 自研制剂与参比制剂 2 h 负荷-距离曲线对比图

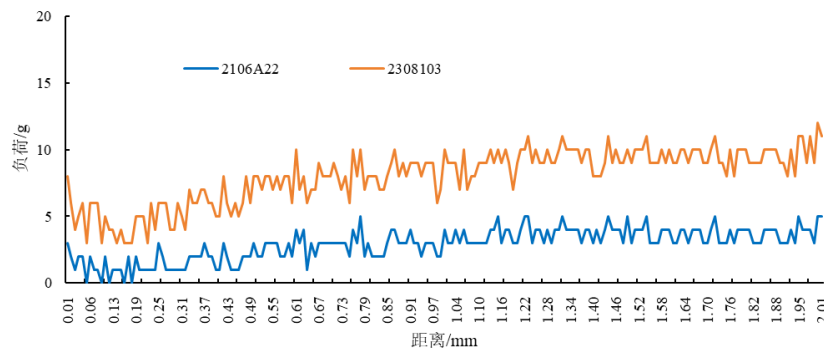


Fig. 9 Comparison of 3 hour load distance curves between self-developed and reference formulations

图 9 自研制剂与参比制剂 3 h 负荷-距离曲线对比图

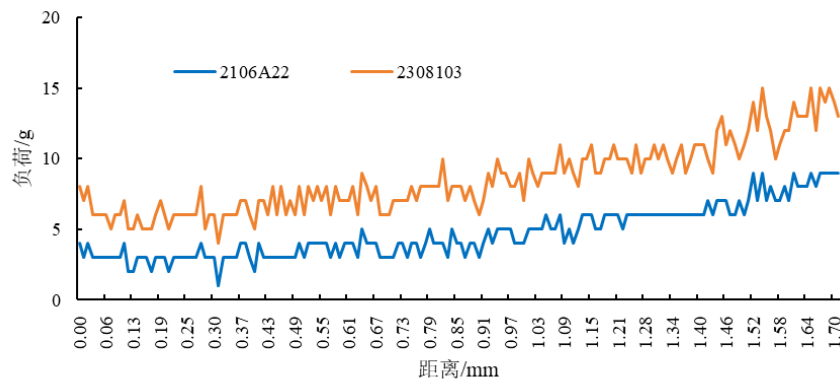


Fig. 10 Comparison of 4 hour load distance curves between self-developed and reference formulations

图 10 自研制剂与参比制剂 4 h 负荷-距离曲线对比图

研究表明,自研制剂与参比制剂在质量分数 0.1% 吐温 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液中,1 h 参比制剂的水化速度较自研制剂快,2 h 参比制剂凝胶强度下降的幅度小于自研制剂,3 h 和 4 h 制剂基本都水化形成了凝胶,凝胶负荷强度已经非常低了,故没有进行更长时间的检测。两种制剂的负荷-距离曲线存在一定的差异,自研制剂需要加快水化速度。

2.7 生物等效性试验

选择参比制剂(R药,批号:2106A22)与自研中试批非洛地平缓释片(受试制剂T药,批号:

02308103), 开展空腹/餐后、随机、开放、单剂量、两周期、双交叉的生物等效性预试验(伦理委员会批件号: [2022]论审字(004)号), 12例健康志愿者每周服用受试制剂(T)1片(规格: 5 mg)或参比制剂(R)1片(商品名: 波依定; 规格: 5 mg), 共两周期。血浆样品的分析方法: 采用 LC-MS/MS 法测定血浆中非洛地平的药物浓度。生物样本分析单位将对血浆样本进行预处理, 然后用验证过的 LC-MS/MS 方法检测分析非洛地平的血液浓度。生物样本分析单位对血浆样品生物分析的数据进行归档, 出具生物分析报告。参照相关的法规指南进行 LC-MS/MS 法测定血浆中非洛地平药物浓度分析方法的验证。参照相关指导原则进行数据统计^[13]。

空腹药代动力学参数统计结果见表 5。空腹平均血药浓度-时间曲线图见图 11。

Table 5 Statistical table of pharmacokinetic parameters under fasting conditions ($n = 12$)

表 5 空腹药代动力学参数统计表 ($n = 12$)

参数	T- T_{max}/h	T- $C_{max}/(pg \cdot mL^{-1})$	R- T_{max}/h	R- $C_{max}/(pg \cdot mL^{-1})$	T/R- C_{max}
Mean	2.958	2,005.671	3.271	2,507.597	0.857
SD	1.196	1,179.451	1.782	1,183.229	0.413
CV/%	40.4	58.8	54.5	47.2	48.2

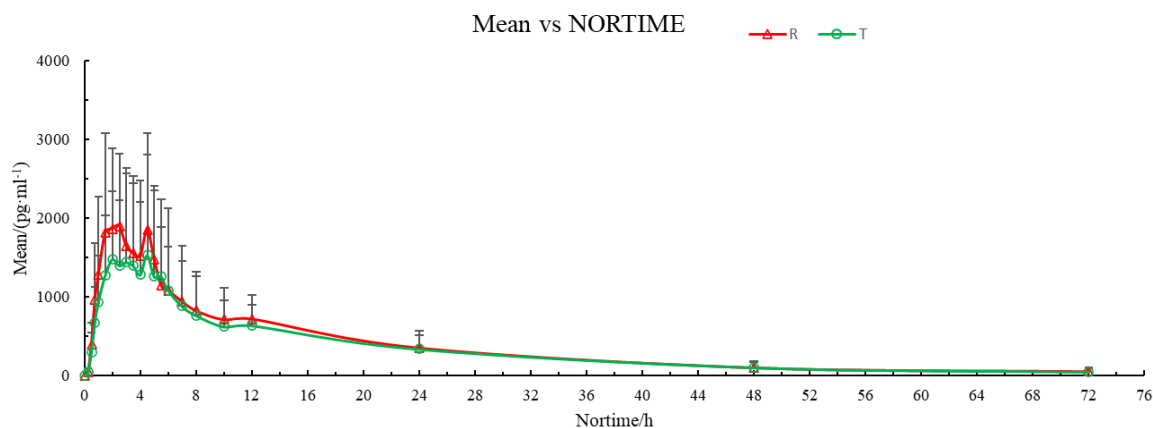


Fig. 11 The curves of mean plasma concentration over time under fasting conditions

图 11 空腹平均血药浓度-时间曲线图

餐后药代动力学参数统计结果见表 6。餐后平均血药浓度-时间曲线图见图 12。

Table 6 Statistical table of pharmacokinetic parameters after a meal ($n = 12$)

表 6 餐后药代动力学参数统计表 ($n = 12$)

参数	T- T_{max}/h	T- $C_{max}/(pg \cdot mL^{-1})$	R- T_{max}/h	R- $C_{max}/(pg \cdot mL^{-1})$	T/R- C_{max}
Mean	4.208	7,393.093	4.542	6,531.874	1.194
SD	2.083	3,616.661	2.005	2,455.110	0.409
CV/%	49.5	48.9	44.2	37.6	34.2

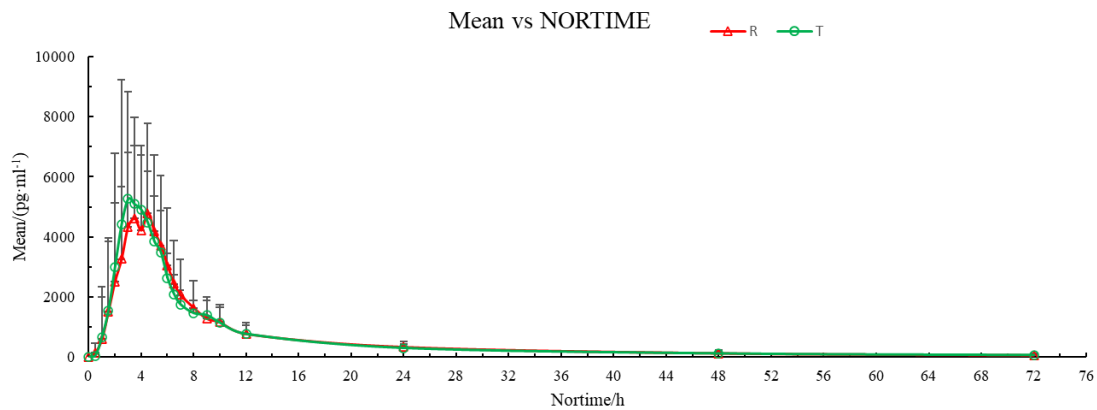


Fig. 12 The curves of mean plasma concentration over time after a meal

图 12 餐后平均血药浓度-时间曲线图

计算上述参数几何均值比值的 90% 置信区间, 数值应不低于 80.00%, 且不超过 125.00%。空腹生物等效性结果见表 7。餐后生物等效性结果见表 8。预计例数翻倍后统计餐后生物等效性结果见表 9。

Table 7 The results of bioequivalence under fasting conditions ($n = 12$)

表 7 空腹生物等效性结果 ($n = 12$)

参数	几何均值比/%	90% 下限/%	90% 上限/%
C_{\max}	78.01	61.10	99.60
AUC_{0-t}	87.54	80.01	95.78
$AUC_{0-\infty}$	87.24	79.39	95.87

Table 8 The results of bioequivalence after a meal ($n = 12$)

表 8 餐后生物等效性结果 ($n = 12$)

参数	几何均值比/%	90% 下限/%	90% 上限/%
C_{\max}	113.18	97.12	131.91
AUC_{0-t}	102.20	91.30	114.40
$AUC_{0-\infty}$	102.59	91.42	115.13

Table 9 Expected post meal bioequivalence results after doubling the number of cases ($n = 24$)

表 9 预计例数翻倍后餐后生物等效性结果 ($n = 24$)

参数	几何均值比/%	90% 下限/%	90% 上限/%
C_{\max}	113.18	102.64	124.81
AUC_{0-t}	102.20	95.10	109.83
$AUC_{0-\infty}$	102.59	95.31	110.43

研究表明, 空腹条件下自研制剂的吸收速度较参比制剂慢, 吸收程度较参比制剂低。餐后条件下自研制剂的吸收速度较参比制剂快, 吸收程度较参比制剂高, 预计例数翻倍至 24 例, 自研制剂与参比制剂餐后等效。

3 讨论

1) 本研究采用高效液相色谱法测定非洛地平缓释片释放度, 并进行方法学验证, 经验证拟定的释放度测定方法专属性强, 线性关系良好, 试验期间各溶液稳定性好、准确度高、重复性好。该释放度检测方法可靠性强, 适合于非洛地平缓释片的释放度检测。

2) 自研非洛地平缓释片在开发过程中, 采用了浆法、流池法、往复筒法、凝胶强度分别进行了体外评估, 浆法多介质及往复筒法自研制剂与参比制剂释放曲线相似因子 f_2 均大于 50, 释放速率和释放量两种制剂基本一致, 自研制剂释放速率略快于参比制剂。流池法参比制剂表现出比自研制剂更快的释放速率、更高的释放量, 释放曲线相似因子 f_2 为 43.0 (小于 50), 参比制剂的释放浓度在释放实验的前-中期都持续高于自研制剂。质量分数 0.1% 吐温 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液中自研制剂 1、3、4 h 的凝胶强度均大于参比制剂, 参比制剂水化速度快于自研制剂, 凝胶强度能够使凝胶在胃肠中保持完整的形态^[12], 自研制剂与参比制剂各时间点凝胶强度减弱的趋势一致, 但是凝胶强度的差异可能导致体内吸收速率和吸收程度存在差异。

3) 生物等效性试验结果表明, 空腹条件下药代动力学参数 C_{\max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 几何均值比值的 90% 置信区间偏低, 而餐后偏高, 表明空腹自研制剂的吸收速度较参比制剂慢, 吸收程度较参比制剂低。餐后条件下预计例数翻倍至 24 例, 自研制剂与参比制剂餐后等效。空腹变异较高, 而餐后变异降低。推测其原因, 首先因为空腹时, 排空非常快, 在胃内释放的药物, 迅速被排空进入肠道吸收, 排空因个体差异不同导致在不同时期进入肠道的量是不能被固定的, 其差异会显著影响体内的血药浓度水平; 而餐后条件下, 由于食物滞留, 使得排空变的缓慢, 药物呈现连续、节律性地进入肠道, 个体化的差异会被削弱。因此, 餐后变异要小于空腹。另外餐后因为胆酸的分泌, 提高了药物在肠道中的溶解度, 促进了吸收, 当吸收的浓度增加时, 因首过效应而保留的药物浓度变高, 使得变异得到抑制; 再者可能为样本量小导致的空腹变异性高。空腹体内结果与浆法及往复筒法体外评估结果相关性差, 但是与流池法及凝胶强度评价结果趋势一致, 存在一定的相关性。餐后体内结果与浆法及往复筒法体外评估结果趋势一致, 相关性较高, 但是与流池法及凝胶强度评价结果相关性差。建立 IVIVC 能够更好地指导处方工艺优化, 预测体内的药代动力学过程, 后期处方工艺需进行微调, 以流池法和凝胶强度为主要的体外评估方式, 以达到空腹条件下生物等效。

参考文献:

- [1] 付燕兵. 用非洛地平缓释片对社区高血压患者进行治疗的效果分析[J]. 中国保健营养, 2021, 31(25): 262.
- [2] 王伟, 于淑萍. 非洛地平缓释片治疗高血压的临床疗效观察[J]. 中国保健营养, 2021, 31(31): 228.
- [3] 刘刚. 探讨美托洛尔联合非洛地平治疗社区高血压的临床疗效观察[J]. 中国社区医师, 2021, 37(30): 60-61.
- [4] 王玉宏, 李振秀. 非洛地平联合缬沙坦治疗高血压的临床效果评价[J]. 中国现代药物应用, 2021, 15(14): 117-119.
- [5] LU Y, KIM S, PARK K. *In vitro-in vivo* correlation: perspectives on model development[J]. Int J Pharm, 2011, 418(1), 142-148.
- [6] DAVANÇO M G, CAMPOS D R, CARVALHO P O. (2020). *In vitro-in vivo* correlation in the development of oral drug formulation: a screenshot of the last two decades[J]. Int J Pharm, 2020, 580: 119210.

- [7] 李辉, 赵悦清, 蒋妮谚含, 等. 基于流通池装置的新溶出方法与尼莫地平片的一致性评价[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3):137.
- [8] MU X, TOBYN M J, STANIFORTH J N et al. Development and evaluation of bio-dissolution systems capable of detecting the food effect on a polysaccharide-based matrix system [J]. J Control Release, 2003, 93(3): 309.
- [9] TOMOHIRO A, HIROYUKI K, ATSUSHI K, et al. Prediction of the oral pharmacokinetics and food effects of gabapentin enacarbil extended-release tablets using biorelevant dissolution tests [J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(11): 1708.
- [10] 袁娜娜, 程杰, 谢子立, 等. 往复筒法测定非洛地平缓释片体外释放度[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(7): 804-809.
- [11] XU D Y, TU X D. Advances in study of hydrogel matrix tablets for oral administration [J]. Prog Pharm Sci, 2002, 26(1): 10-15.
- [12] 李镇铭, 霍美蓉, 邓淇丹, 等. 沙格列汀二甲双胍缓释片的体外评价[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(2): 541-546.
- [13] 国家药品监督管理局. 生物等效性研究的统计学指导原则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 4-5.

Preparation of felodipine sustained-release tablets and evaluation of *in vitro* and *in vivo* correlation

XU Ru^{1,2}, LI Jie², LI Hongwei^{1,3*}, TAO Chunlei^{2*}, WANG Dongkai^{1*}

(1. College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Pharmaceutical Laboratory of Anhui Wanbang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hefei 230000, China; 3. Harbin Medisan Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 150025, China)

Abstract: Objective To prepare felodipine sustained-release tablets and evaluate the *in vitro-in vivo* correlation between the self-developed preparation and the reference preparation. **Methods** The self-developed felodipine sustained-release tablets were prepared by the wet granulation process, using two types of hypromellose in combination as the sustained-release material. The similarity of the *in vitro* release profiles of the self-developed preparation and the reference preparation was evaluated by the dissolution test methods such as paddle method (multiple media), flow-through cell method, and reciprocating cylinder method. The difference in the gel strength between the self-developed preparation and the reference preparation was evaluated by the load-distance curve, and a bioequivalence test was conducted on 12 healthy subjects in the fasting state and 12 healthy subjects in the postprandial state, respectively. **Results** In the paddle method and reciprocating cylinder method, the similarity factor f_2 of the dissolution profiles between the self-developed preparation and the reference preparation was greater than 50. In the flow-through cell method, the dissolution rate of the self-developed preparation was slower than that of the reference preparation with $f_2 < 50$. The gel strength test showed that the hydration rate of the reference preparation was faster than that of the self-developed preparation, while its gel strength was lower than the latter. In the fasting bioequivalence test, the 90% confidence intervals of C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ were 61.10 – 99.60, 80.01 – 95.78 and 79.39 – 95.87, respectively. In the postprandial state, the 90% confidence intervals of C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ were all within the range of 80.00 – 125.00 after doubling the number of cases. **Conclusion** In the fasting test, the absorption rate and extent of the self-developed preparation are

lower than those of the reference preparation, and the two formulations are not bioequivalent. After doubling the number of cases in the postprandial test, the self-developed preparation is bioequivalent to the reference preparation. This study finds that the *in vitro* evaluation methods using the paddle method and reciprocating cylinder method for felodipine sustained-release tablets shows poor *in vivo* correlation under fasting conditions but a certain correlation under postprandial conditions. In contrast, *in vitro* evaluation by the flow-through cell method and load-distance curves show a certain correlation with *in vivo* results under fasting conditions.

Key words: felodipine sustained release tablets; flow cell method; gel strength; *in vitro-in vivo* correlation; bioequivalence trial