

原料粒度对硝苯地平缓释片(I)体内外等效性的影响

牟聪, 李甜甜, 林小超, 吕慧敏* (扬子江药业集团有限公司, 克服递药屏障高端制剂全国重点实验室, 江苏 泰州 225300)

摘要:目的 研究硝苯地平不同粒度对其缓释片(I)体内外等效性的影响,并确定合适的粒度范围。方法 采用溶出 f_2 相似因子法,通过试验设计评价不同粒度分布的原料对硝苯地平缓释片(I)溶出行为的影响,并比较放大的自研制剂与参比制剂的体外溶出行为和体内生物等效性。结果 将原料微粉化至 $Dv90 \leq 20 \mu\text{m}$ 所制样品与参比制剂在体外4种溶出介质中溶出行为均相似,在体内生物等效。结论 原料药粒度是影响硝苯地平缓释片(I)体内外等效性的关键因素。

关键词:硝苯地平;缓释制剂;原料粒度分布;体外释放;生物等效性

doi:10.11669/cpj.2024.07.005 中图分类号:R944 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)07-0600-05

Effect of Active Pharmaceutical Ingredient Particle Size on the *in vitro* and *in vivo* Equivalence of Nifedipine Sustained-Release Tablets(I)

MU Cong, LI Tiantian, LIN Xiaochao, LÜ Huimin* (Yangtze River Pharmaceutical Group Co., Ltd. National Key Laboratory of Complex Drug Formulations for Overcoming Delivery Barriers, Taizhou 225300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of different particle size of nifedipine on the *in vitro* and *in vivo* equivalence of its sustained-release tablets (I), and confirm the appropriate range. **METHODS** The effect of API with different particle size on the dissolution of nifedipine sustained-release tablets (I) was evaluated by experimental design and dissolution similarity factors (f_2), and the *in vitro* dissolution and *in vivo* bioequivalence of the commercial products with the reference preparations were compared. **RESULTS** The dissolution of the industrial products prepared by micronizing the API to $Dv90 \leq 20 \mu\text{m}$ is similar to the reference preparations in four dissolution media *in vitro*, and both are bioequivalent *in vivo*. **CONCLUSION** The particle size of API is the key factor affecting the release and equivalence of nifedipine sustained-release tablets (I).

KEY WORDS: nifedipine; sustained-release drug; particle size range; *in vitro* release; bioequivalence

硝苯地平最早由德国拜耳公司开发,1975年于德国上市胶囊剂,规格为10 mg,主要用于治疗原发性高血压、肾性高血压及心绞痛。由于硝苯地平溶解性差,生物利用度低,半衰期短,患者多次用药导致血药浓度波动大,临床应用时易引发头痛、面部潮红及心律失常等不良反应^[1-4]。而硝苯地平缓控释制剂能提高生物利用度,降低不良反应,提高患者依从性^[5-6]。相较于硝苯地平控释片的复杂制备工艺,高生产成本和低产量,硝苯地平缓释片生产工艺更简单,患者治疗成本更低,是当前该药物研发领域的更好选择。

国内外硝苯地平缓释片(I)的仿制药多采用亲水凝胶材料如羟丙甲纤维素、羟丙纤维素,制备骨架型缓释片^[7-10],查询参比制剂的日本(Interview Form, IF)文件及相关专利,硝苯地平缓释片的缓释机理是基于硝苯地平的难溶性特点,对硝苯地平原料进行微粉化处理,使其粒径呈一定粒度分布,在溶出介质中缓慢、逐步溶解,从而达到缓释的效果^[11-12]。因此对该品种而言,硝苯地平原料药的粒

度分布对其缓释制剂的溶出有显著影响,在药物制剂生产过程中进行粒度控制至关重要。一般情况下,随着粒径的减少,比表面积增大,孔隙率增加,吸附性增强,溶解性增强,从而影响体内外释放和吸收情况。硝苯地平的粒度如何影响其制剂体内外等效性,本文通过对原料粒度进行探究以确定合适的粒度控制范围,并根据放大的自研制剂与参比制剂的体外溶出及体内吸收结果进行确证。

1 材料与方法

1.1 试药和试剂

硝苯地平缓释片(商品名:Adalat[®]-L10,规格:10 mg,批号:JPS2206,日本バイエル薬品株式会社);硝苯地平对照品(批号:RS19081201-201912,中国食品药品检定研究院);硝苯地平(批号:051907003,河北广祥制药有限公司);乳糖(批号:L101853619,德国美剂乐沃斯堡牛奶房两合公司);微晶纤维素(批号:P119832920, DuPont Nutrition

作者简介:牟聪,男,硕士,工程师 研究方向:药物固体剂型研发
纳米晶、微粒载药制剂开发 Tel:(0523)86975063

*通讯作者:吕慧敏,女,硕士,副主任药师 研究方向:缓控释制剂、

USA, Inc); 淀粉(批号:190207, 曲阜市天利药用辅料有限公司); 聚山梨酯 80(批号:20190643, 南京威尔药业集团股份有限公司); 羟丙甲纤维素(批号:7038095, 信越化学工业株式会社); 硬脂酸镁(批号:190501, 浙江中维药业股份有限公司); 薄膜包衣预混剂(批号:SH613831, 上海卡乐康包衣技术有限公司)。甲醇、乙腈为 HPLC 级, 聚山梨酯 80 等其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

YQ100-01 型气流粉碎机(上海赛山粉体机械制造有限公司); HLSH4-10A 湿法混合制粒机(北京航空制造工程研究所); Y-160 摇摆式颗粒机(泰州第三制药厂); FLZB-3 型流化床(创志科技股份有限公司); C&C800 旋转式压片机(北京创博佳维科技有限公司); YPD-300C 片剂硬度测定仪(上海黄海药检仪器有限公司); VFC-LDCS 高效薄膜包衣机(德国 VECTOR 公司); Mastersizer 3000 激光粒度仪(英国马尔文公司); AT7 Smart Sotax 溶出仪(瑞士 Sotax 公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

2 试验方法

2.1 处方工艺及样品制备

查阅参比制剂说明书, 本品辅料组成为: 乳糖、微晶纤维素、淀粉、聚山梨酯 80、羟丙甲纤维素、聚乙二醇 4000、氧化钛及三氧化二铁^[13]。其中每片含主药硝苯地平 10mg, 乳糖、微晶纤维素、淀粉作为填充剂, 聚山梨酯 80 作为增溶剂, 羟丙甲纤维素作为黏合剂, 硬脂酸镁作为润滑剂, 薄膜包衣粉(羟丙甲纤维素、聚乙二醇 4000、氧化钛及三氧化二铁)。硝苯地平缓释片(I)的制备工艺采用湿法制粒, 避光条件下^[14], 按处方量称取原辅料, 混合均匀, 将黏合剂倒入制粒锅中湿法制粒, 湿颗粒经整粒后置流化床中干燥得干颗粒, 整粒后加入外加辅料总混, 压片并包衣。

2.2 粒度和粒度分布测定法

硝苯地平粒度和粒度分布测定方法参照 2020 年版《中国药典》四部通则中的粒度和粒度分布测定法中的第三法^[15], 搅拌速度为 $1\ 800\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 遮光度为 8%~20%, 预分散介质为 0.3% 聚山梨酯 80, 样品外超声时间为 1 min^[16], 该方法稳定、结果准确、重现性良好, 适用硝苯地平原料药的粒度分布测定。

2.3 溶出曲线测定方法的确定

参照化学药物口服缓释制剂药学研究技术指导原则, 本研究按照 2020 年版《中国药典》四部通则 0931 溶出度与释放度测定法的第二法的规定进行

试验^[17]。测定方法如下: 取本品, 避光操作。溶出介质为 0.3% 聚山梨酯 80 水溶液、含 0.3% 聚山梨酯 80 的 pH 1.0 盐酸溶液、含 0.3% 聚山梨酯 80 的 pH 4.0 醋酸盐缓冲液、含 0.3% 聚山梨酯 80 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 体积 900 mL, 转速 $75\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 温度 $(37 \pm 0.5)\ ^\circ\text{C}$, 分别于 15、30 min、1、2、3、10、12 h 时取样。以外标法计算硝苯地平的累积溶出度。采用相似因子 f_2 值法评价自研制剂与参比制剂的溶出行为相似性。

2.4 原料药粒度考察及确认

硝苯地平原料药通过控制气流粉碎机不同参数, 制得不同粒度范围的原料药粒度 (20~30 μm 、10~20 μm 和小于 10 μm), 以探究原料药的粒度对其缓释片溶出情况的影响。并在确认的粒度范围内, 以相同的处方工艺连续制备 3 批样品, 确认原料药粒度对制剂溶出行为的影响。

2.5 放大批确认

按照确定的处方工艺进行放大, 批量放大至商业化生产规模(百万级), 按照“2.3”项下方法检测样品, 确认硝苯地平原料药粒度范围的合理性。

3 结果

3.1 原料药粒度考察结果

不同粒度范围见表 1。按照“2.1”项下制备 3 批硝苯地平缓释片(I)样品进行溶出曲线测定。粒度在 $Dv_{90} > 20\ \mu\text{m}$ 时所制样品的溶出行为明显快于参比制剂, 结果见表 2 和图 1, 粒度 $Dv_{90} \leq 20\ \mu\text{m}$ 时, 样品的溶出行为与参比制剂更为相似, 故原料药粒度 Dv_{90} 初步定在 $\leq 20\ \mu\text{m}$ 。

表 1 粉碎后硝苯地平粒度范围

Tab. 1 Size range of crushed nifedipine API

Particle size distribution	Particle size range/ μm		
	20~30 μm	10~20 μm	<10 μm
Dv90	27.1	14.3	6.28
Dv50	7.64	4.27	2.72
Dv10	1.45	1.05	0.85

对原料药粒度范围进一步确认。对原料药进行气流粉碎, 原料药粒度控制在粒度 $Dv_{90} \leq 20\ \mu\text{m}$, 优先 0~10 μm 粒度, 结果见表 3, 并对 3 批样品在体积分数 0.3% 聚山梨酯 80 水溶液中进行溶出曲线检测, 结果见表 4, 图 2。结果表明, 3 批确认批样品与参比制剂溶出行为相似, 且批间差异小, 表明该范围粒度控制制得的样品重现性良好。

表2 不同粒度范围的确苯地平溶出检测结果(0.3%聚山梨酯80水溶液, n=6)

Tab.2 Dissolution results of nifedipine sustained-release tablets with different particle size (0.3% Tween 80, n=6)

t/h	Reference drug	Formulation 1 Dv90 (20-30 μm)	Formulation 2 Dv90 (10-20 μm)	Formulation 3 Dv90 (<10 μm)
0.25	23.9%	35.1%	30.3%	25.6%
0.5	37.1%	52.3%	44.5%	38.3%
1	49.9%	68.1%	57.4%	50.6%
2	63.6%	82.9%	70.2%	64.4%
3	70.3%	90.0%	77.9%	70.9%
10	87.9%	98.8%	91.3%	88.5%
12	90.0%	99.1%	95.6%	91.6%
f_2 with reference		40	59	92

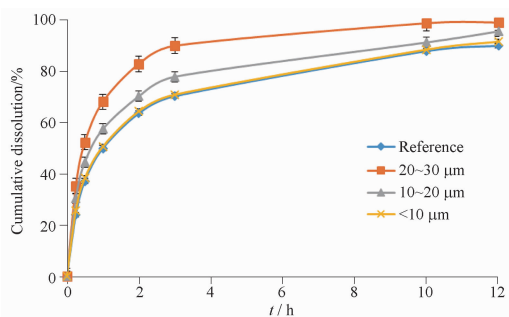


图1 不同粒度范围确苯地平对制剂产品溶出的影响(0.3%聚山梨酯80水溶液). n=6, $\bar{x} \pm s$

Fig.1 Effect of nifedipine power with different size on the dissolution of formulation products (0.3% Tween 80). n=6, $\bar{x} \pm s$

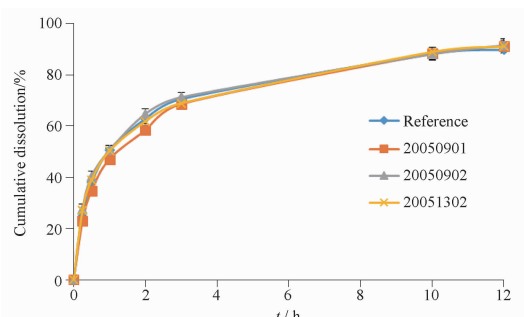


图2 3批确苯地平缓释片(I)溶出曲线(0.3%聚山梨酯80水溶液). n=6, $\bar{x} \pm s$

Fig.2 Dissolution curves of three confirmed batches of nifedipine sustained-release tablets (I) (0.3% Tween 80). n=6, $\bar{x} \pm s$

表3 3批确认批粉碎后确苯地平粒度范围

Tab.3 Three confirmed batches of size range of crushed nifedipine API

Particle size distribution	Particle size range/μm		
	20050901	20050902	20051302
Dv90	7.22	6.37	8.64
Dv50	2.57	2.83	3.26
Dv10	0.86	0.92	0.93

表4 3批确认批(Dv90 <10 μm)确苯地平缓释片(I)溶出检测结果(0.3%聚山梨酯80水溶液). n=6

Tab.4 The dissolution results of three confirmed batches (Dv90 <10 μm) of nifedipine sustained-release tablets (I) (0.3% Tween 80). n=6

t/h	Reference preparation	20050901	20050902	20051302
0.25	23.9%	22.9%	27.5%	27.2%
0.5	37.1%	34.8%	40.3%	38.9%
1	49.9%	47.1%	50.5%	50.3%
2	63.6%	58.3%	64.7%	61.8%
3	70.3%	68.6%	71.2%	68.9%
10	87.9%	88.2%	88.0%	88.9%
12	90.0%	91.2%	91.5%	91.0%
f_2 with reference		85	84	84

3.2 工艺放大

采用确定粒度范围的原料,按照既定处方工艺将批量逐步放大至商业化生产规模(百万级),粉碎过程中的前、中、后在出料口取样检测粒度(表5),经确认粉碎生产过程中粒度控制较为稳健。

自制样品放大至生产规模后在 pH 1.0 盐酸 + 0.3% 聚山梨酯 80 溶液、pH 4.0 醋酸 + 0.3% 聚山梨酯 80 溶液、pH 6.8 磷酸 + 0.3% 聚山梨酯 80 溶液及水 + 0.3% 聚山梨酯 80 溶液 4 种介质中的溶出曲线与参比制剂比较 f_2 值分别为 77、79、74、74,均大于 50,体外溶出行为相似(图3)。

表5 放大批确苯地平原料药粉碎前中后粒度控制

Tab.5 The particle size results of the nifedipine API of the front, middle and end of airflow crushing (the enlarged batch)

Particle size distribution	Particle size range/μm		
	Front of airflow crushing	Middle of airflow crushing	End of airflow crushing
Dv90	5.62	5.94	4.43
Dv50	2.60	2.69	2.51
Dv10	0.86	0.92	0.73

3.3 生物等效性研究

本研究经武汉大学中南医院伦理委员会批准(登记号:CTR20192546),在健康成年受试者中进行的随机、开放、单剂量、双周期、自身交叉空腹及餐后状态下生物等效性试验,纳入生物等效性试验的 84

例受试者空腹/餐后给予硝苯地平缓释片(I)(自制制剂, 10 mg)与 Adalat® -L10(参比制剂, 10 mg)。受试制剂 T 和参比制剂在空腹及餐后状态下 ρ_{\max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 90% CI 均在 80% ~ 125% 内,2 种制剂具有生物等效性,见表 6 和图 4。

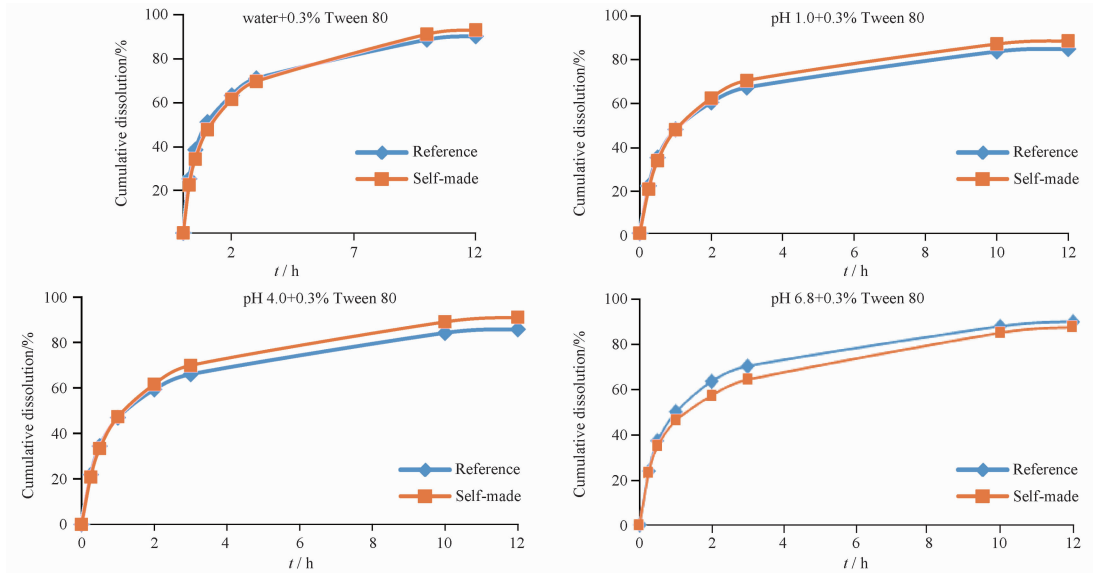


图 3 硝苯地平缓释片(I)自制样品与参比制剂在 4 种溶出介质中的溶出曲线. $n = 12, \bar{x} \pm s$

Fig. 3 Dissolution curves of nifedipine sustained-release tablets (I) and reference preparations in four dissolution media. $n = 12, \bar{x} \pm s$

表 6 健康受试者空腹和餐后单次口服受试制剂(T)与参比制剂(R)后硝苯地平的药动学参数

Tab. 6 The pharmacokinetic parameters of nifedipine after single-dose oral administration of the test (T) and reference preparations (R) in fasting and fed conditions in healthy subjects

Trial	$\rho_{\max}/ng \cdot mL^{-1}$				$AUC_{0-t}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$				$AUC_{0-\infty}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$			
	T	R	T/R (%)	90% CI	T	R	T/R (%)	90% CI	T	R	T/R (%)	90% CI
Fasting	20.6	21.2	97.23	90.19 ~ 104.81	200	212	94.60	89.91 ~ 99.54	204	216	94.21	89.54 ~ 99.14
Fed	30.9	31.3	98.59	94.13 ~ 103.27	246	257	95.61	92.41 ~ 98.93	249	260	95.75	92.54 ~ 99.07

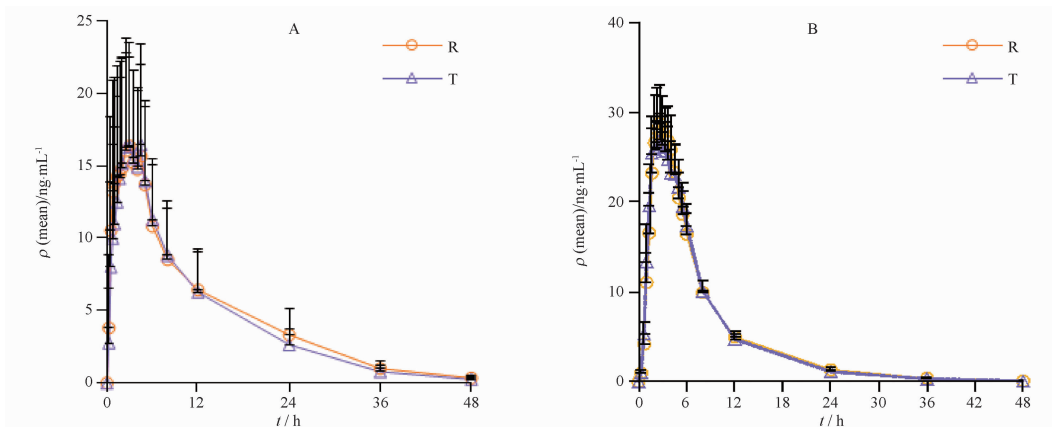


图 4 42 例受试者空腹状态下(A)和餐后(B)单次口服受试制剂(T)或参比制剂(R)后硝苯地平的药-时曲线. $n = 42, \bar{x} \pm s$

Fig. 4 Mean plasma concentration-time curves of nifedipine after single-dose oral administration of the test (T) and reference preparations (R) in 42 healthy subjects under fasting conditions(A) and fed conditions(B). $n = 42, \bar{x} \pm s$

4 结论与讨论

硝苯地平原料药属于生物药剂学分类系统(BCS)Ⅱ类(低溶解高渗透)化合物,溶出速率是影响吸收的关键因素^[18],而原料的粒度分布会直接影响片剂的溶出。水溶性差的原料药的粒度分布会显著影响药物的溶出速率,通常粒度较小的颗粒具有较大的表面积和较小的扩散层厚度,可增大溶解速率。但经研究硝苯地平缓释片(Ⅰ)的粒度经不同粒度范围发现,硝苯地平原料药粒度越小,自研制剂溶出行为越接近参比制剂,与相关文献^[19]报告结论吻合,即当粉末过细后则会形成静电堆积,颗粒周围形成气泡囊,阻碍水分进入颗粒,从而延缓药物的溶出,达到缓释效果。最终按照确定的原料粒度范围所制的硝苯地平缓释片(Ⅰ)具有理想的释药特性,与参比制剂 Adalat[®]-L10 在体外不同溶出介质中溶出行为均相似($f_2 > 50$),在体内生物等效,质量与疗效一致。

笔者研究的硝苯地平缓释片(Ⅰ)制备方法采用传统的湿法制粒工艺,其处方工艺简单可控,可大大降低制剂难度和生产成本,更易于产业化生产。不可否认,除原料药的粒度分布外,处方工艺中如辅料的型号、制粒时间等其他因素也有可能影响产品的药学质量,同时处方工艺的放大过程中需同步关注。

REFERENCES

- [1] MURDOCH D, BROGDEN R N. Sustained release nifedipine formulations[J]. *Drugs*, 1991, 41(5):737-779.
- [2] COREY B T. Formulation dependent pharmacokinetics does the dosage form matter for nifedipine[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44(1):82-86.
- [3] HORVAT G, PANTI M, KNEZ E, et al. Encapsulation and drug release of poorly water soluble nifedipine from bio-carriers [J]. *J Non-Cryst Solids*, 2018, 481:486-493.
- [4] MALATERRE V, OGORKA J, LOGGIA N, et al. Oral osmotically driven systems: 30 years of development and clinical use

- [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 73(3):311-323.
- [5] YU H Y, OU S Y, LIU D, et al. Bioequivalence study of nifedipine sustained-release tablets in chinese healthy subjects[J]. *Her Med(医药导报)*, 2022, 41(2):180-186.
- [6] JOHN G, DEVANE, IAN R, et al. New developments in sustained-release antihypertensive therapy: formulation and pharmacokinetic considerations[J]. *Am J Cardiol*, 1922, 69(13):23-27.
- [7] 京都薬品(アルフレッサ). (京都药品工业株式会社). ヘルラート錠 10 [EB/OL]. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/380087_2171014G1305_1_06.pdf.
- [8] YU B, ZHAO D, YAN Z, et al. Study on the formulation of nifedipine sustained-release matrix tablets[J]. *Strait Pharm J(海峡药理学)*, 2019, 31(8):11-15.
- [9] LI Z, LIU J, PAN Y, et al. Study on dissolution curve of nifedipine sustained-release tablets(Ⅰ) *in vitro* and quality consistency evaluation [J]. *China Pharm(中国药业)*, 2019, 28(23):9-13.
- [10] HOU N L, CHANG G, LI M, et al. Nifedipine sustained-release tablet and production process there of; China, 202010736065. 8 [P]. 2022-06-07.
- [11] BAYER A G. Solid medicament formulations containing nifedipine, and processes for their preparation; US, 5264446 [P]. 1993-11-03.
- [12] バイエル薬品(拜耳药品株式会社). Adalat[®]-L10 医薬品インタビューフォーム(医药品 Interview Form) [EB/OL]. <https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuSearch>.
- [13] バイエル薬品(拜耳药品株式会社). Adalat[®]-L10 [EB/OL]. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/630004_2171014G1020_1_17.pdf.
- [14] *Ch. P(2020) Vol II(中国药典 2020 年版. 二部)* [S]. 2020: 1533-1534.
- [15] *Ch. P(2020) Vol IV(中国药典 2020 年版. 四部)* [S]. 2020: 145-146.
- [16] LIU J, FANG J, MIAO Y, et al. Influence of different particle size on the quality of nifedipine sustained release tablets [J]. *China Pharm(中国药师)*, 2018, 21(6):1108-1111.
- [17] *Ch. P(2020) Vol II(中国药典 2020 年版. 二部)* [S]. 2020: 132.
- [18] HE Q, YANG J. Development of digital gastrointestinal model and its application in absorption prediction of nifedipine sustained-release tablets[J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2012, 43(1):85-91.
- [19] GUAN Y J, YANG B, JIANG C Y. Determination of particle size distribution of poorly water-soluble drugs by laser light diffraction technique [J]. *Strait Pharm J(海峡药理学)*, 2017, 29(7):1-3.

(收稿日期:2022-11-08)