盐酸氟桂利嗪胶囊有区分力溶出度方法的建立及溶出曲线相似性评价

陈世友[1,2]，张育乐[2]，沈 莹[2]，刘晓云[2]，袁 弘[1*]
（1. 浙江大学药学院，浙江杭州 310058；2. 正大青春宝药业有限公司，浙江杭州 310023）

摘要：建立了盐酸氟桂利嗪（**1**）胶囊有区分力的溶出度检测方法，并对自研仿制制剂与参比制剂的溶出曲线相似性进行评价。通过调整篮法转速或（和）添加不同浓度 Tween-80，优化了各介质的溶出检测条件，并对 **1** 胶囊在不同介质中的溶出曲线进行了考察。结果表明，**1** 胶囊在盐酸（pH 1.2，50 r/min）、乙酸盐缓冲液（pH 4.5，100 r/min）、含 0.15% Tween-80 的磷酸盐缓冲液（pH 6.8，100 r/min）和 0.10% Tween-80 水溶液（100 r/min）中的溶出曲线具有区分力。**1** 胶囊在盐酸中 15 min 的溶出率均≥ 85%，在其余介质中溶出曲线的相似因子（f_2）均≥ 50，表明 **1** 仿制制剂与参比制剂在上述介质中的溶出行为基本一致。

关键词：盐酸氟桂利嗪；胶囊；溶出曲线；相似性；相似因子
中图分类号：R927.1 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2023)03-0411-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.03.015

Establishment of Distinguishable Dissolution Method for Flunarizine Hydrochloride Capsules and Evaluation of the Similarity of Dissolution Curves

CHEN Shiyou[1,2], ZHANG Yule[2], SHEN Ying[2], LIU Xiaoyun[2], YUAN Hong[1*]
(*1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058;*
2. Chiatai Qingchunbao Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310023)

ABSTRACT: A distinguishable dissolution method for flunarizine hydrochloride (**1**) capsules was established, and the similarity of dissolution curves between the self-developed generic preparation and the reference preparation was evaluated. By adjusting the rotation speed of basket method and/or adding different concentrations of Tween-80, the dissolution test conditions of each medium were optimized, and the dissolution curves of **1** capsules in different media were investigated. The results showed that the dissolution curves of **1** capsules in hydrochloric acid (pH 1.2, 50 r/min), acetate buffer solution (pH 4.5, 100 r/min), phosphate buffer solution containing 0.15% Tween-80 (pH 6.8, 100 r/min) and 0.10% Tween-80 aqueous solution (100 r/min) were distinguishable. The dissolution rates at 15 min of **1** capsules in hydrochloric acid were all no less than 85%, and the similarity factor (f_2) values between dissolution curves in other media were no less than 50, which indicated that the dissolution behavior of **1** from the generic and reference preparations in above media was basically the same.

Key Words: flunarizine hydrochloride; capsule; dissolution curve; similarity; similarity factor

盐酸氟桂利嗪（flunarizine hydrochloride，**1**）为哌嗪类钙拮抗药，通过选择性抑制脑血管痉挛、血小板凝聚及血液黏滞度增高等作用而改善脑微循环及神经元代谢。**1** 胶囊最早由比利时 Janssen Pharmaceutical 公司于 1982 年在欧洲上市，商品名为 Sibelium，目前已停产。1989 年，西安杨森制药有限公司的原研地产化 **1** 胶囊在中国上市，商品名为西比灵，规格为每粒 5 mg（以氟桂利嗪计）。

1 胶囊收载于《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020），溶出度检查采用篮法，转速 100 r/min，

收稿日期：2022-10-24
作者简介：陈世友(1977—)，男，主管中药师，从事制剂新产品的开发。
通信作者：袁 弘(1970—)，男，教授，从事药物制剂研究。
E-mail：yuanhong70@zju.edu.cn

溶出介质为盐酸（取稀盐酸 24 mL，加水至 1 000 mL）600 mL，经 30 min 取样，HPLC 法检测，限度为标示量的 80%。该品种在美国药典（USP 42）、欧洲药典（EP 10.0）、英国药典（BP 2020）及日本药典（JP 18）中均未被收载，在美国 FDA 溶出度方法数据库和日本《医疗用医药品品质情报集》中也无溶出度方法信息。

据文献[1—3]报道，**1** 为 pH 依赖性药物，但在不同 pH 介质中，溶出曲线大多采用相同条件（篮法，100 r/min）检测，导致 **1** 胶囊在高溶解度介质中快速溶出（15 min 时溶出率≥ 85%），在低溶解度介质中溶出不完全（溶出终点时溶出率 <85%）。目前尚未见对低溶解度介质放宽试验参数并开展溶出度研究的报道。

本研究通过调整篮法转速或（和）添加不同浓度 Tween-80，对各溶出介质中的试验条件进行优化，建立了具有区分力的溶出度检测方法，并以原研地产化制剂为参比，评价了自研 **1** 仿制制剂与参比制剂在不同 pH 介质中溶出曲线的相似性，以期为 **1** 胶囊的仿制药质量一致性评价工作提供参考。

1　仪器与试药

SOTAX AT 7smart 型全自动溶出仪（瑞士 Sotax 公司）；1100 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；XS205 型电子分析天平和 FiveEasy Plus 型 pH 计（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

1 对照品（中国食品药品检定研究院，含量 100.0%，批号 100844-201803）；**1** 胶囊（仿制制剂：正大青春宝药业有限公司，规格 5 mg，批号 1903301、1904301、1904302；参比制剂：西安杨森制药有限公司，商品名为西比灵，规格 5 mg，批号 180902850）；乳糖（德国美剂乐沃斯堡牛奶房两合公司，批号 L101854517A533）；玉米淀粉（嘉兴市白浪淀粉制品有限公司，批号 2018110301）；滑石粉（广西龙胜华美滑石开发有限公司，批号 1709079）；硬脂酸镁（湖州展望药业股份有限公司，批号 20180514）；胶态二氧化硅（德国 Evonik Resource Efficiency 公司，批号 157050116）；甲醇为色谱纯，氢氧化钠、磷酸二氢钾、三水乙酸钠、冰乙酸、三乙胺、十二水合磷酸氢二钠、一水合枸橼酸、磷酸以及稀盐酸均为分析纯，Tween-80 为药用级，水为纯化水。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱 ZORBAX SB-C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5.0 μm）；流动相 甲醇和磷酸盐缓冲液（取磷酸二氢钾 1.36 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，加入三乙胺 4 mL，用磷酸调至 pH 3.5）（体积比 75 ∶ 25）的混合液，等度洗脱；检测波长 253 nm；柱温 30 ℃；流速 1.0 mL/min；进样量 20 μL。

2.2　溶液配制

pH 1.2 盐酸：取稀盐酸 24 mL，加水稀释至 1 000 mL，混匀即得。

pH 3.0 和 pH 3.5 枸橼酸缓冲液：取十二水合磷酸氢二钠 17.91 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，即得 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠溶液；另取一水合枸橼酸 5.25 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，即得 0.025 mol/L 的枸橼酸溶液；用枸橼酸溶液分别调节上述磷酸氢二钠溶液至 pH 3.0 和 pH 3.5，混匀即得。

pH 4.0 乙酸盐缓冲液：称取三水乙酸钠 1.22 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，加冰乙酸 2.337 mL，混匀即得。

pH 4.5 乙酸盐缓冲液：称取三水乙酸钠 2.99 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，加冰乙酸 1.596 mL，混匀即得。

pH 6.8 磷酸盐缓冲液：称取磷酸二氢钾 6.805 g 和氢氧化钠 0.896 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，混匀即得。

对照品溶液：精密称取 **1** 对照品 11.8 mg，置 100 mL 量瓶中，加乙醇 10 mL，振摇使溶解，并加盐酸定容，摇匀，作为对照品贮备液；精密量取对照品贮备液适量，用盐酸稀释成每 1 mL 中含 **1** 11.8 μg 的对照品溶液。

2.3　漏槽条件的考察

取 **1** 胶囊 1 粒，分别加入“**2.2**”项下不同 pH 介质 200 mL，于 37 ℃水浴中超声使溶解，过滤，取滤液按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，计算 **1** 浓度，实测浓度达到漏槽条件浓度 95%以上即视为满足漏槽条件。比较溶解前后各介质的 pH 值变化，结果显示水的 pH 值明显降低，其余各介质 pH 值无明

显变化。在 pH 1.2、pH 3.0 和 pH 3.5 介质中，**1** 的实测浓度接近或大于漏槽条件浓度（29.5 μg/mL），满足漏槽条件；在 pH 4.0、pH 4.5、pH 6.8 介质和水中均未达到漏槽条件。在 pH 1.2 ～ 6.8 范围内，**1** 的溶解度随 pH 值增大呈下降趋势，具有 pH 依赖性。

2.4 溶出率方法的建立

2.4.1 溶出介质的选择

参照《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》[4]，选择 pH 1.2 盐酸、pH 4.5 乙酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水 4 种介质进行溶出曲线考察。

2.4.2 参比制剂溶出曲线的测定

根据相关技术指导原则[4]，从低转速开始研究。采用篮法，转速 50 r/min，溶出介质 600 mL，检测参比制剂在 pH 1.2、pH 4.5、pH 6.8 和水 4 种介质中的溶出特性。分别于 10、15、30、45、60、90、120、180、240、300、360 min 时取样（如果连续 2 个时间点的溶出率均达到 85%以上，且差值在 5%以内，则作为考察截止时间点），及时补充同温等量相应介质。样品经过滤，取续滤液按“**2.1**”项下色谱条件测定，计算各时间点 **1** 的溶出率。参比制剂在不同 pH 介质中的溶出曲线如图 1 所示。**1** 参比制剂在 pH 1.2 盐酸中溶出非常快速（15 min 时溶出率≥ 85%）；在 pH 4.5 缓冲液和水介质中，6 h（溶出终点）溶出率均 <85%；在 pH 6.8 缓冲液中，6 h 溶出率极低（<5%）。因此，拟通过调整篮法转速或（和）添加 Tween-80 等措施，对不同介质的溶出检测条件进行优化，使 **1** 胶囊在各介质中的溶出曲线具有区分力[5]。

2.4.3 溶出试验条件的优化

2.4.3.1 pH 1.2 介质

取 **1** 参比制剂，以 pH 1.2 盐酸为溶出介质，转速分别采用 50、75、100 r/min，其余同“**2.4.2**”项，分别于 10、15、30 min 时取样检测，结果如图 2 所示。参比制剂在 3 种不同转速条件下，15 min 时溶出率均达到 85%以上，且批内均一性良好，故 pH 1.2 介质选择低转速 50 r/min。

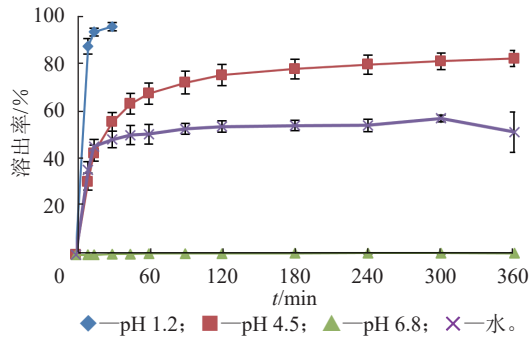


图 1 参比制剂在 4 种溶出介质中的溶出曲线（*n*=6）

Fig.1 Dissolution Curves of the Reference Preparation in Four Dissolution Media (*n*=6)

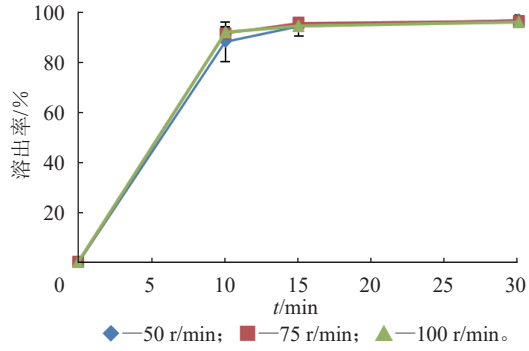


图 2 不同转速下参比制剂在 pH 1.2 介质中的溶出曲线（*n*=3）

Fig.2 Dissolution Curves of the Reference Preparation in pH 1.2 Medium under Different Rotation Speeds (*n*=3)

2.4.3.2 pH 4.5 介质

取 **1** 仿制制剂（批号 1903301），以 pH 4.5 乙酸盐缓冲液为溶出介质，转速分别采用 50、75、100 r/min，其余同“**2.4.2**”项，分别于 10、15、30、45、60、90、120 min 时取样检测，结果如图 3 所示。在 50 和 75 r/min 条件下检测，**1** 胶囊在 120 min 时的溶出率均 <85%；在 100 r/min 条件下，45 ～ 60 min 溶出率达到 85%，溶出曲线具有较好的区分力[5]，因此 pH 4.5 介质中溶出曲线检测选择转速 100 r/min。

2.4.3.3 水介质

取 **1** 参比制剂，采用 100 r/min，于水介质中分别添加 0.05%、0.10%和 0.15%的 Tween-80，其余同“**2.4.2**”项，分别在 10、15、30、45、60 min 时

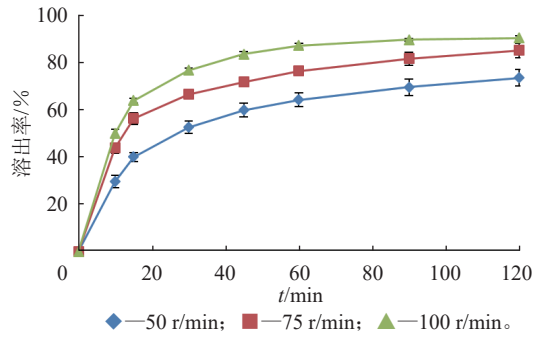


图 3　不同转速下 1 仿制胶囊在 pH 4.5 介质中的溶出曲线（*n*=3）

Fig.3　Dissolution Curves of **1** Generic Capsules in pH 4.5 Medium under Different Rotation Speeds (*n*=3)

取样检测，结果如图 4 所示。添加 0.05 % Tween-80 的条件下，**1** 的溶出偏慢（60 min 时溶出率 <85%）；添加 0.15% Tween-80 时溶出偏快（30 min 时溶出率≥ 90%）；当 Tween-80 添加量为 0.10%时，参比制剂在 45 ～ 60 min 的溶出率达到 85%，溶出曲线具有较好的区分力 [5]。因此，水介质中溶出曲线的检测选择添加 0.10% Tween-80 水溶液。

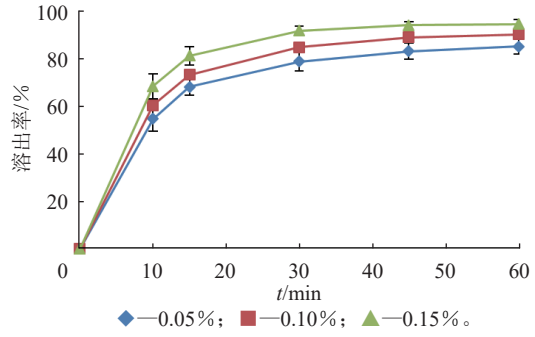


图 4　参比制剂在 Tween-80 水溶液中的溶出曲线（*n*=3）

Fig.4　Dissolution Curves of the Reference Preparation in Tween-80 Aqueous Solutions (*n*=3)

2.4.3.4　pH 6.8 介质

取参比制剂，采用 100 r/min，于 pH 6.8 介质中分别添加 0.10%和 0.15%的 Tween-80，其余同“**2.4.2**”项，分别在 10、15、30、45 和 60 min 时取样检测，结果如图 5 所示。当 Tween-80 的添加量为 0.10%时，参比制剂 45 min 溶出率未达到 85%；添加量达到 0.15%时，45 ～ 60 min 的溶出率达到 85%，具有较好的区分力 [5]，故 pH 6.8 介质中 Tween-80 的添加量选择 0.15%。

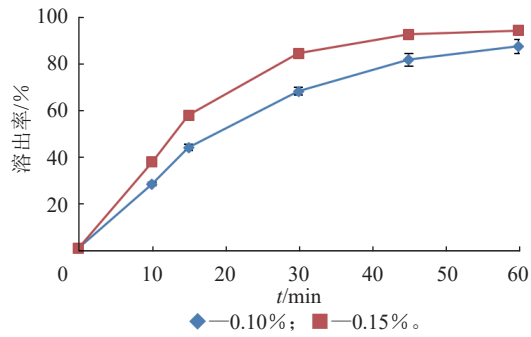


图 5　参比制剂在含 Tween-80 的 pH 6.8 介质中的溶出曲线（*n*=3）

Fig.5　Dissolution Curves of the Reference Preparation in pH 6.8 Medium Containing Tween-80 (*n*=3)

2.5　方法学验证

2.5.1　线性关系考察

精密称取 **1** 对照品 19.67 mg，置 200 mL 量瓶中，加入乙醇 17 mL，振摇使溶解，并加入“**2.4.1**”项下 4 种溶出介质定容，摇匀，作为对照品溶液。分别精密量取上述对照品溶液 1、3、5、8、10、12 mL，置 100 mL 量瓶中，用相应溶出介质定容，摇匀，制成系列质量浓度线性试验溶液，并按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，以峰面积（*A*）为纵坐标、质量浓度（*c*）为横坐标，进行线性回归。结果如表 1 所示，不同溶出介质中的 **1** 在 0.984 ～ 11.802 μg/mL 内线性关系均良好。

表 1　1 的标准曲线方程与线性范围

Tab.1　Standard Curve Equations and Linearity Ranges of **1**

溶出介质	标准曲线方程	*r*
pH 1.2介质	*A*=52.952*c*+1.676 0	0.999 9
pH 4.5介质	*A*=52.244*c*+1.584 8	0.999 8
pH 6.8介质	*A*=50.919*c*+1.207 4	0.999 9
水	*A*=50.876*c*+0.314 0	0.999 9

2.5.2　专属性试验

取空心胶囊 2 粒，加入“**2.4.1**”项下 4 种溶出

介质各 600 mL，加热至 37 ℃使溶解，放冷至室温（25 ℃），作为空心胶囊贮备溶液；按处方比例称取其余辅料，制成不含主药的空白样品，加入空心胶囊贮备溶液和相应溶出介质适量，超声，用溶出介质稀释至规定浓度，摇匀，过滤，取续滤液作为空白辅料溶液。取本品内容物适量，加入空心胶囊贮备溶液和相应溶出介质适量，超声使溶解，再用相应介质稀释至规定浓度，摇匀，过滤，取续滤液作为供试品溶液。

取上述空白辅料溶液和供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定。结果如图 6 所示，空白辅料在主药出峰位置无干扰峰。

2.5.3 稳定性试验

取“**2.5.2**”项下供试品溶液，于室温放置，分别于 0、4、8、12、24、36 h 时取样，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，用 4 种溶出介质配制的供试品溶液中 **1** 峰面积的 RSD（n=6）均＜2.0%，降解率均 <2.0%，说明 **1** 在 4 种溶出介质中 36 h 内的稳定性良好。

2.5.4 回收率试验

精密量取“**2.5.1**”项下的对照品溶液 2、5、8、10 mL（相当于标示量 20%、50%、80% 和 100% 的 **1**），分别置 100 mL 量瓶中，各平行配制 3 份，加入“**2.5.2**”项下空心胶囊贮备溶液及空白样品适量，用相应溶出介质定容，摇匀，过滤，取续滤液按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**1** 的平均回收率（n=12）均≥ 95%，RSD 均 <2.0%，提示方法回收率良好 [5]。

2.6 溶出曲线的相似性评价

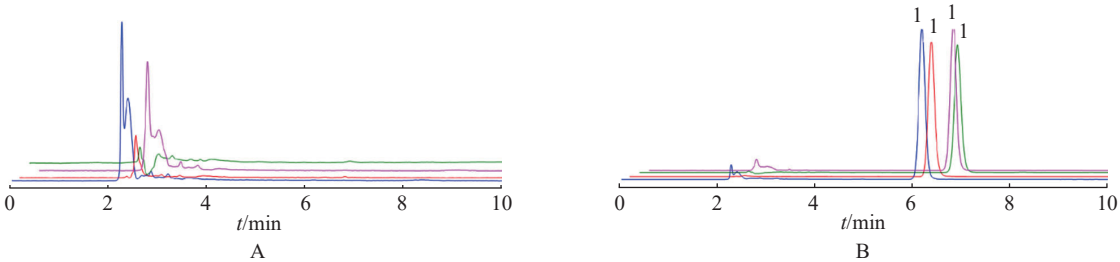
分别取 **1** 的仿制和参比制剂，各 12 粒，按优化后的溶出检测条件，分别考察其在 pH 1.2、pH 4.5、pH 6.8（含 0.15% Tween-80）和水（含 0.10% Tween-80）4 种介质中的溶出曲线，结果如图 7 所示。

此外，根据《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》[4]，采用相似因子（f_2）法评价溶出曲线相似性。当 f_2 值为 50 ～ 100 时，提示 **1** 的仿制和参比制剂溶出曲线相似；若两制剂 15 min 时溶出率≥ 85%，则直接判定溶出曲线相似，不再计算 f_2 值。结果显示，**1** 的仿制和参比制剂在 pH 1.2 介质中 15 min 时溶出率均≥ 85%，表明体外溶出行为相似；在 pH 4.5、pH 6.8（含 0.15% Tween-80）和水（含 0.10% Tween-80）介质中 f_2 值均≥ 50，也表明溶出曲线相似。

3 讨论

1 为哌嗪二盐酸盐，pK_{a1} 约为 6，pK_{a2} 约为 10，采用摇瓶溶解法测定药物的平衡溶解度时，**1** 的过量加入对各介质 pH 值影响明显，尤其是水的 pH 值显著降低，导致测得的表观溶解度偏大，与 **1** 在水中极微溶的性质不相符。漏槽条件是指药物在溶出介质中的浓度远小于其饱和浓度，一般要求溶出介质体积至少为药物饱和溶液所需体积的 3 倍。本研究在确保各介质 pH 值无明显变化的前提下，以制剂为试验对象，通过考察本品（1 粒）在 1/3 量的规定体积溶出介质中能否完全溶解，判断 **1** 是否满足漏槽条件，为溶出试验条件的优化提供参考。

试验结果表明，**1** 参比制剂在不同 pH 介质中



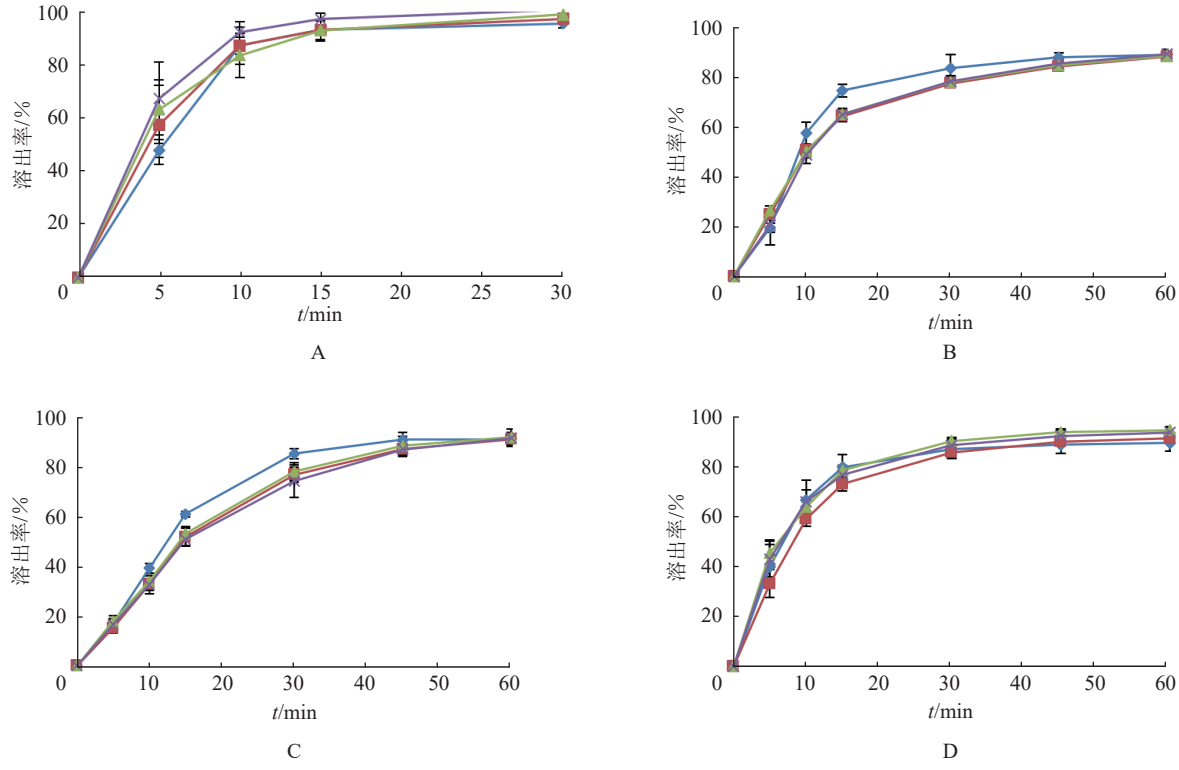
A—空白辅料溶液；B—供试品溶液。

—pH 1.2；—pH 4.5；—pH 6.8；—水。

1—**1**。

图 6 典型色谱图

Fig.6 Typical Chromatograms



A—pH 1.2 介质；B—pH 4.5 介质；C—pH 6.8 介质（含 0.15% Tween-80）；D—水（含 0.10% Tween-80）。

◆—批号180902850；■—批号1903301；▲—批号1904301；×—批号1904302。

图 7　1 的仿制与参比制剂在 4 种溶出介质中的溶出曲线（*n*=12）

Fig.7　Dissolution Curves of the Generic and Reference Preparations of **1** in Four Dissolution Media (*n*=12)

的溶出曲线差异较大，在 pH 1.2 盐酸中 15 min 即达到完全溶出，在 pH 6.8 介质中 6 h 几乎无法溶出，与文献[1—3]报道一致。本研究根据漏槽条件和 **1** 参比制剂的溶出曲线考察结果，通过调整篮法中的转速（高溶解度介质中采用低转速，低溶解度介质中采用高转速），或（和）添加不同浓度表面活性剂（提高转速至 100 r/min 后 60 min 溶出率仍<85%时，可使用表面活性剂），对各介质的溶出检测条件进行优化，使不同 pH 介质中的溶出曲线具有较好的区分力[5]。此外，本研究对 **1** 胶囊的溶出检测方法进行了验证，各项验证结果均符合规定，表明该方法适用于 **1** 胶囊的溶出曲线测定。

本研究表明，**1** 仿制和参比制剂在 pH 1.2 盐酸、pH 4.5 乙酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液（含 0.15% Tween-80）和水（含 0.10% Tween-80）中的溶出行为均相似，可为 **1** 胶囊仿制药的质量一致性评价提供参考。

致谢：正大青春宝药业有限公司丁嘉胤为本研究提供样品分析检测。

参考文献：

[1] 李青翠, 解　钰, 高　平. 用多条溶出曲线评价盐酸氟桂利嗪胶囊的质量[J]. 药学研究, 2018, **37**(11): 649-653.

[2] 党金虎, 汪　麟, 刘利群, 等. 盐酸氟桂利嗪胶囊溶出度研究及一致性评价分析[J]. 黑龙江医药, 2018, **31**(4): 713-717.

[3] 仝桂平, 刘延娟, 向　磊, 等. 不同企业盐酸氟桂利嗪胶囊溶出曲线相似性考察[J]. 食品与药品, 2015, **17**(6): 441-444.

[4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[EB/OL]. [2022-09-01]. https://www. cde. org. cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=d1f836895e2cf93933e5c4c7d586d6e0.

[5] 谢沐风. 具有区分力的溶出曲线[J]. 中国医药工业杂志, 2014, **45**(7): 687-689.