往复筒法测定阿司匹林肠溶片的溶出曲线

张馨月[1,2]，邹文博[2]，刘　伟[2,3]，孙春萌[1]，史继锋[4]，宁保明[2*]

（1. 中国药科大学药学院，江苏南京 211198；2. 中国食品药品检定研究院，国家药品监督管理局重点实验室，化学药品质量研究与评价重点实验室，北京 102629；3. 烟台大学，山东烟台 264005；4. 北京凯因科技股份有限公司，北京 102199）

摘要：考察往复频率、上下筛网孔径等因素在往复筒法溶出条件下对阿司匹林肠溶片溶出行为的影响，建立了用往复筒法测定阿司匹林肠溶片溶出度的方法，测定不同处方制剂的体外溶出曲线。用 f_2-bootstrap 法评价参比制剂和其他处方制剂的溶出曲线，得到处方 A、处方 B、处方 C 和处方 D 的制剂与参比制剂溶出曲线的相似因子（f_2）分别是 81.4、33.5、20.9、17.9。证明处方 A 制剂与参比制剂的溶出曲线相似，处方 B、处方 C 和处方 D 制剂与参比制剂溶出曲线不相似。将往复筒法测得的溶出评价结果与篮法进行比较，说明采用往复筒法测定阿司匹林肠溶片溶出行为具有良好的区分力和耐用性，为往复筒法在药品质量评价中的应用提供参考。

关键词：阿司匹林肠溶片；往复筒法；体外溶出曲线

中图分类号：R944.4；R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)05-0698-06

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.05.014

Characterization of Dissolution Profiles for Aspirin Enteric Coated Tablets by Reciprocating Cylinder Apparatus

ZHANG Xinyue[1,2], ZOU Wenbo[2], LIU Wei[2,3], SUN Chunmeng[1], SHI Jifeng[4], NING Baoming[2*]

(*1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198; 2. Key Lab. of Research and Evaluation of Chemical Drug Quality, Key Lab. of National Medical Products Administration, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629; 3. Yantai University, Yantai 264005; 4. Beijing Kawin Technology Share-Holding Co., Ltd., Beijing 102199*)

ABSTRACT: Investigating the impacts of reciprocating frequency and screen aperture on the dissolution behavior of aspirin enteric-coated tablets. Establishing a reciprocating cylinder method for determining the dissolution of aspirin enteric coated tablets, to figure out the *in vitro* dissolution profiles for different formulations. The dissolution behavior of reference listed drugs and 4 test formulations was evaluated by f_2-bootstrap method, the similarity factor(f_2) of the dissolution profiles between formulations A, B, C, D and reference listed drugs was 81.4, 33.5, 20.9 and 17.9. The dissolution profiles of formulation A and reference listed drugs were similar, however, the dissolution profiles of formulation B, C and D were different. Compared with basket apparatus, using reciprocating cylinder is a discriminative and durable method for dissolution behavior characterization of aspirin enteric-coated tablets, providing reference for the application of reciprocating cylinder method in drug quality evaluation.

Key Words: aspirin enteric-coated tablet; reciprocating cylinder method; *in vitro* dissolution curve

阿司匹林（aspirin，**1**）是 BCS Ⅰ类药物，但 **1** 肠溶片在人体内的药动学参数呈高变异特征[1]，给仿制药的生物等效性研究带来了挑战，药物的溶出是限制其口服固体制剂吸收的关键步骤。虽然体外溶出曲线的相似性评价不能完全代替生物等效性研究，但其可以降低体内生物不等效的风险，缩短仿制药的开发周期。具有区分力和体内相关性的体外溶出方法是指导处方工艺研究、预测体内行为的重要工具。

目前，**1** 肠溶片的体外溶出试验多采用篮法（100 r/min）或桨法（50、75 r/min）[2]。药物溶出是在固定体积、单一溶出介质中进行的，不能真实反映药物在胃肠道中的生理环境，且更换介质的操作烦琐。采用桨法时，样品被投放后会沉降在溶出杯中不同位置，导致表现出不同的动力学特性，可能存在堆积问题；而采用篮法时，不方便实时观察制剂的溶出现象。

1980 年，英国伦敦大学的 BECKETT 教授首次提出了往复筒溶出度仪的概念[3]。往复筒溶出度测定装置既能自动切换不同的溶出介质，考察一系列 pH 梯度或不同组成溶出介质对药物溶出的影响，提供更接近胃肠道生理环境的模拟环境；又能模拟类似胃肠道蠕动的特殊流体力学，几乎没有流体动力学死区，可避免样品在溶出杯底部聚集，能更真实反映药物制剂在胃肠道内的动态溶出行为。由于该方法能模拟口服制剂不同时间在人体胃肠道崩解、溶出等过程中经过的动态生理环境，因此又被称作“Bio-dis”。

ChP 2020 年版四部通则中已新增往复筒法。目前，往复筒法已成为 ChP 2020、USP 43 版等国际主要药典收载的法定溶出方法之一。已有试验[4]表明，往复筒法能得到与篮法、桨法相似的溶出曲线，且能更好地区分不同质量属性的药物。梁爱仙等[5]、庞发根等[6]、袁娜娜等[7]以缓释制剂为研究对象，考察了往复筒法的基本特征，分析出关键仪器参数对药物溶出度的影响因品种而异；YU 等[3]对美托洛尔片和雷尼替丁片的试验表明，往复筒法也适用于溶解性良好的普通制剂；KLEIN 等[8]、LI 等[9]和 JOSHI 等[10]则采用往复筒法测定了 pH 敏感性制剂的溶出曲线。

目前，ChP 2020 年版中暂未收载用往复筒法测定溶出度的品种，且国内尚未见针对肠溶片使用往复筒法进行溶出度评价的报道。因此，本研究利用往复筒法装置转换溶出介质，以使体外溶出过程更接近胃肠道体内行为，开发了往复筒法 **1** 肠溶片的体外溶出评价方法，并通过优化溶出条件保证溶出试验的准确性与稳定性，以此来研究 **1** 肠溶片的溶出特性，达到区分不同处方制剂的目的，为今后往复筒法在国内更广泛、深入的应用提供参考。

1 仪器与试药

Disso Ⅲ-7 型往复筒溶出仪（美国 LOGAN 仪器设备有限公司）；AT-7X 型桨法溶出仪（瑞士 Sotax 公司）；LC-20AC 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；DXR2xi 型显微拉曼成像光谱仪（美国 Thermo 公司）；MS4002TS 型电子天平和 S400-K 型 pH 计（瑞士 Mettler Toledo 公司）；MSA225 电子天平（德国 Sartorius 公司）。

1 肠溶片（参比制剂：德国拜耳公司，规格 100 mg，批号 BJ71081；处方 A：国内企业 A，规格 100 mg，批号 2209282012f；处方 B：国内企业 B，规格 100 mg，批号 2862208213；处方 C：国内企业 C，规格 100 mg，批号 041220713；处方 D：国内企业 D，规格 100 mg，批号 22054303）。**1** 对照品（含量 99.8%，批号 100113-201706）和水杨酸对照品（含量 99.9%，批号 100106-202106）均购于中国食品药品检定研究院；乙腈、四氢呋喃为色谱纯，磷酸二氢钾、氢氧化钠、十二水合磷酸氢二钠、一水合枸橼酸、乙酸钠、乙酸均为分析纯，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

溶出介质：pH 1.2、pH 5.7、pH 6.0、pH 6.8 的溶出介质均按照 ChP 2020 年版配制。

1 对照品溶液：精密称取 **1** 对照品 100 mg，置 50 mL 量瓶中，加入 1%冰乙酸 - 甲醇溶液 10 mL，

收稿日期：2023-11-30

作者简介：张馨月（1999—），女，硕士研究生，专业方向：药物制剂质量研究。

通信作者：宁保明（1968—），男，博士，研究员，从事化学药品质量评价与控制研究。

E-mail：ningbm@nifdc.org.cn

振摇使溶解，再加入 pH 6.8 溶出介质溶解并定容，作为 **1** 对照品贮备液；精密量取 **1** 对照品贮备液 4 mL，置 20 mL 量瓶中，加入 pH 6.8 溶出介质定容，制成每 1 mL 中含 **1** 0.4 mg 的 **1** 对照品溶液。

水杨酸对照品溶液：精密称取水杨酸对照品 40 mg，置 100 mL 量瓶中，加入 1%冰乙酸 - 甲醇溶液 5 mL，振摇使溶解，再加入 pH 6.8 溶出介质定容，制成每 1 mL 含水杨酸 0.4 mg 的水杨酸对照品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱 Ultimate XB-C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；*流动相* 乙腈、四氢呋喃、冰乙酸和水（体积比 20 ∶ 5 ∶ 5 ∶ 70），等度洗脱；*检测波长* 276 nm；*流速* 1 mL/min；*柱温* 40 ℃；*进样量* 10 μL。

2.3 方法学验证

方法学验证结果证明上述色谱条件的系统适用性、重复性和回收率良好，**1** 质量浓度在 0.012 ～ 0.6 mg/mL 内与峰面积呈良好的线性关系，**1** 和水杨酸的保留时间约为 5.5 和 6.5 min。此外，还考察了溶出液稳定性和滤膜吸附情况，结果显示溶出液在 12 h 内的稳定性良好，滤膜对 **1** 的吸附作用很小，对测定结果无影响。

2.4 篮法溶出方法

照 ChP 2020 年版中 **1** 肠溶片溶出度的测定方法，溶出介质体积设置为 900 mL，转速设置为 100 r/min，先以 pH 1.2 盐酸溶液为溶出介质，2 h 后取样，测得 **1** 在酸溶液中的溶出量。置换溶出介质为同体积的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液，继续溶出，经 10、20、30、40、50、60 min 取样并补液，测得 **1** 在 pH 6.8 缓冲液中的溶出量。

2.5 往复筒溶出方法的优化

2.5.1 溶出条件

考察往复筒法关键仪器参数往复频率、上筛网孔径和下筛网孔径对 **1** 肠溶片溶出过程的影响，以筛选出较优的往复筒溶出方法。本试验将上述 3 个因素作为试验设计因子，各因子设置 3 个水平，具体如表 1 所示，采用正交试验设计得到由 9 次试验组成的试验设计方案，如表 2 所示。响应设置为溶出量达 10%的时间和溶出量从 10%至 80%的持续溶出时长。

表 1　试验因素的水平表

Tab.1　Levels of the Test Factors

试验因素	往复频率 /(dips·min^{-1})	上筛网孔径 /μm	下筛网孔径 /μm
1	5	无	380
2	10	830	180
3	15	550	120

表 2　试验设计方案

Tab.2　Experimental Design Scheme

试验编号	往复频率 /(dips·min^{-1})	上筛网孔径 /μm	下筛网孔径 /μm
试验 1	5	550	380
试验 2	5	830	180
试验 3	5	无	120
试验 4	10	550	180
试验 5	10	830	120
试验 6	10	无	380
试验 7	15	550	120
试验 8	15	830	380
试验 9	15	无	180

1 肠溶片的溶出具有较强的 pH 依赖性，在较低 pH 值的溶出介质中不溶或缓慢溶出。为更明显地观察到仪器参数对 **1** 肠溶片开始溶出时间和溶出持续时长的影响，本试验采用 pH 6.0 的磷酸盐缓冲液作为溶出介质。

在其他仪器参数设置（如往复行程、滴水时间、停留时间等）固定不变的条件下，照表 2 中的方案进行 9 次试验，收集试验结果（n=6），代入各取样时间及对应溶出量，计算形状参数 m、位置参数 T、尺度参数 t_0，拟合出各次试验药物溶出的 Weibull 分布方程“$\ln\ln[1/(1-F(t))]=m\ln(t-T)-\ln t_0$”［式中：$F(t)$ 表示时间 t 时的累积溶出百分数］。将 F=10%和 F=80%分别代入各方程进行计算，得到各次试验的 T_{10} 和 T_{80}，即溶出量达 10%和 80%的时间。为了更直观形象地分析试验结果，以 3 个试验因子的水平为横坐标，分别以设置的响应 T_{10} 和 $T_{80}-T_{10}$ 为纵坐标，采用画效应曲线的方法观察各试验因子对响应的影响主次和影响趋势。结果如图 1、2 所示，往复频率对开始溶出时间和持续溶出时长的影响大于上下筛网孔径的影响，且上筛网孔径的影响略大于下筛网孔径的影响；此外，随着往复频率的增加，开始溶出时间和

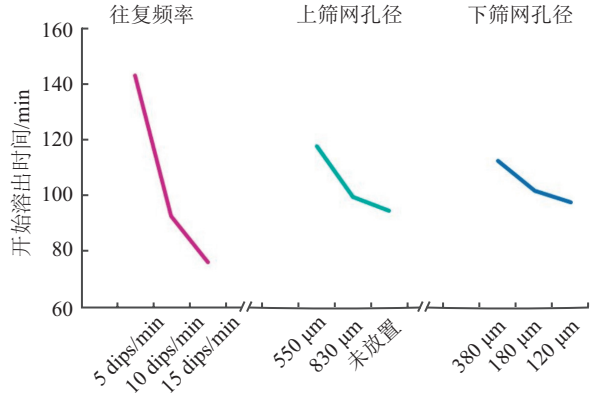


图 1 开始溶出时间与试验因素的关系

Fig.1 Relationship between Dissolution Time and Test Factors

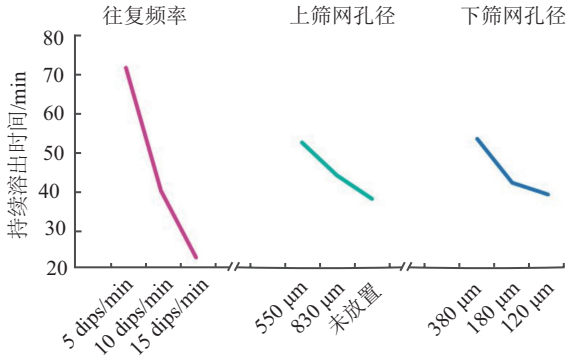


图 2 持续溶出时长与试验因素的关系

Fig.2 Relationship between Dissolution Duration and Test Factors

持续溶出时长均缩短；随着上筛网孔径变小，开始溶出时间和持续溶出时长均延长；随着下筛网孔径变小，开始溶出时间和持续溶出时长均缩短。

了解了各仪器参数对溶出的影响后，为建立有区分力的溶出方法，选择使溶出行为相对缓慢的参数组合。在 3 个仪器参数中，往复频率的改变对溶出行为的影响最显著，为达到通过溶出试验观察工艺差异的目的，最终选择往复频率为 5 dips/min；虽然上筛网孔径越大溶出越快，但用大孔径筛网可以满足往复筒内流体更平稳快速地进行交换，平衡上筛网孔径对溶出速度和批内溶出平行性的影响，最终选择不加上筛网进行试验；下筛网孔径越大时溶出越缓慢，最终选择 380 μm 的下筛网进行试验。

2.5.2 溶出介质的选择

本试验采用多排管模拟肠溶片在胃肠道蠕动时经过的动态环境，溶出介质体积 250 mL，第一排溶出介质为 pH 1.2 盐酸溶液；第二排溶出介质为 pH 5.7 的乙酸盐溶液，第三排溶出介质为 pH 6.8 磷酸盐缓冲液。其中，第二排 pH 5.7 的溶出介质是为了模拟十二指肠的 pH 环境，同时可减少往复筒筒壁上残留的酸液对溶出的影响。

2.5.3 确定溶出试验方法

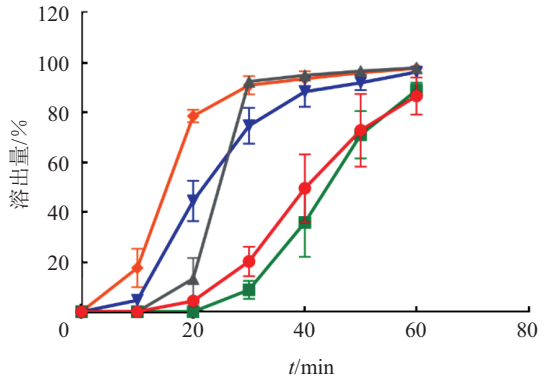
采用往复筒多排管进行溶出试验，溶出介质体积为 250 mL，第一排溶出介质为 pH 1.2 盐酸溶液，溶出时间 2 h；第二排溶出介质为 pH 5.7 的乙酸盐缓冲液，溶出时间 10 min，第三排溶出介质为 pH 6.8 磷酸盐缓冲液，溶出时间 60 min；往复行程为 10 cm，往复频率为 5 dips/min，不加上筛网，下筛网孔径为 380 μm 均为不锈钢筛网；滴水时间 40 s，停留时间 20 s。本试验共有 8 个取样点，分别在第一排溶出结束、第二排溶出结束、第三排溶出开始后的 10、20、30、40、50、60 min 时取样。

2.6 溶出曲线的相似性评价

2.6.1 篮法和往复筒法测得的溶出曲线

分别按“**2.4**”项下和“**2.5.3**”项下的试验参数进行试验（n=12），水浴温度为 37.5 ℃，取样后用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。取上述供试品溶液和“**2.1**”项下的 **1** 对照品溶液、水杨酸对照品溶液，按“**2.2**”项下的色谱条件进样测定其含量。

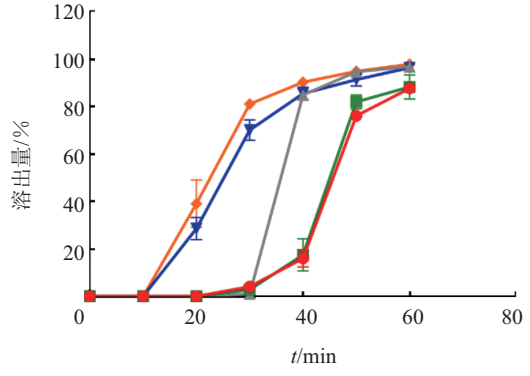
因为参比制剂和其他 4 家国内厂商的制剂在 pH 1.2 盐酸溶液和 pH 5.7 的乙酸盐溶液中均不溶出，仅用外标法计算各厂家的 **1** 肠溶片在 pH 6.8 中各取样时间点的溶出量，绘制溶出曲线。篮法溶出曲线结果如图 3 所示，往复筒法溶出曲线如图 4 所示。结果显示，**1** 肠溶片在往复筒中延迟溶出的现象更明显，各样品在往复筒法中的开始溶出时间均晚于在篮法结果；在往复筒中，各样品在开始溶出后的溶出速率均比在篮法中大，从开始溶出至到达溶出平台的时间更短，这可能是因为往复筒法装置减少了堆积效应对溶出的影响，上下往复的垂直运动保证了样品持续溶出。往复筒法展现的溶出行为更符合肠溶制剂进入胃肠道环境



●—参比制剂；■—处方 A；▲—处方 B；▼—处方 C；◆—处方 D。

图 3　参比制剂和其他处方制剂在篮法条件下的溶出曲线

Fig.3　Dissolution Curves of the Reference Listed Drug and Other Formulations Determined with the Basket Apparatus



●—参比制剂；■—处方 A；▲—处方 B；▼—处方 C；◆—处方 D。

图 4　参比制剂和其他处方制剂在往复筒法条件下的溶出曲线

Fig.4　Dissolution Curves of the Reference Listed Drug and Other Formulations Determined with the Reciprocating Cylinder Apparatus

后延迟溶出、当包衣破裂后快速溶出并吸收的情况。

2.6.2　相似性评价

根据《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》[11]，采用相似因子（f_2）法进行判定时，要求第一个取样时间点溶出量的 RSD 不得超过 20%，其余取样时间点溶出量的 RSD 不得超过 10%。但是，在具体溶出试验过程中经常会出现制剂批内 RSD 较大的情况，如表 3、4 所示，不能满足判定的限制条件。EFRON[12] 提出了一种新的非参数统计法 f_2-bootstrap 法。f_2-bootstrap 法作为一种测量小数据样本可靠性的方法，与 f_2 法有直接的关联性；同时考虑了曲线的平均值和数据的变异性；也具有明确的判定标准（f_2 的 90%置信区间的下限≥ 50）。因此，f_2-bootstrap 法被监管机构认可是溶出数据变异性较高时，取代 f_2 法的首选。

用 f_2-bootstrap 法计算所得的结果如表 5 所示。本试验中，往复筒法与篮法均能体现溶出行为存在的差异且区分结果相同，证明了往复筒法能够以较低的往复频率达到篮法高转速的区分效果，并且往复筒法测得的批内差异相较篮法小，能在突显差异的基础上克服正常偏差，体现了往复筒法的耐用性。

表 3　篮法测得的 5 家样品在各取样时间点溶出量的 RSD/%

Tab.3　Dissolution RSDs of Five Samples at Each Sampling Time Point with Basket Apparatus/%

时间 /min	参比制剂	处方 A	处方 B	处方 C	处方 D
10	—	—	—	31.31	46.85
20	47.16	—	52.23	20.43	3.43
30	28.99	40.42	0.72	10.74	4.36
40	27.45	38.44	0.54	7.72	2.25
50	20.11	13.37	0.33	6.76	2.21
60	8.65	3.39	0.41	3.24	1.68

注：“—”代表该时间点尚无溶出量，无法计算 RSD。

表 4　往复筒法测得的 5 家样品在各取样时间点溶出量的 RSD/%

Tab.4　Dissolution RSDs of Five Samples at Each Sampling Time Point with Reciprocating Cylinder Apparatus/%

时间 /min	参比制剂	处方 A	处方 B	处方 C	处方 D
10	—	—	—	—	—
20	—	—	—	21.19	36.22
30	33.50	18.96	13.10	7.97	2.07
40	24.93	7.08	2.56	4.36	1.06
50	2.09	3.87	1.43	1.23	0.78
60	1.24	2.03	0.10	0.16	0.56

注：“—”代表该时间点尚无溶出量，无法计算 RSD。

3　讨论

在往复筒法中，溶出杯的往复运动决定了该装置的流体动力学模式，通过调整往复筒上下筛网的孔径和往复频率，可以获得不同强度的流体动力学。药物

表 5 4 家样品相对于参比制剂用 f_2-bootstrap 法的计算结果

Tab.5 Results of Four Samples Calculated by f_2-bootstrap Method Relative to the Reference Listed Drug

方法	处方 A	处方 B	处方 C	处方 D
篮法	58.0	24.3	25.1	25.0
往复筒法	81.4	33.5	20.9	17.9

的开始溶出时间和持续溶出时长与往复频率呈负相关，推测是因为加大往复频率后，往复筒在单位时间内的往复次数变多，上下往复一次的时间变短，造成水流冲洗制剂的强度变大，加快了制剂的溶出。在往复筒的往复运动过程中，上筛网是空气进出往复筒的出入口，下筛网是溶出介质进出往复筒的出入口，上下筛网共同作用，形成了一个开放环境，保证了往复筒内外的介质平稳并快速地进行交换。若同样时间、相同体积的介质出入往复筒：上筛网的孔径越大，则气体交换越顺畅，流速越大，溶出越快；下筛网的孔径越小，则介质进出的阻力越大，剪切力越大，溶出越快。

判定 2 条溶出曲线相似的限度值为 50，$f_2 \geqslant 50$ 时可认为 2 个制剂的溶出特性相似[12]。相对于参比制剂，处方 B、处方 C 和处方 D 的 f_2 均小于 50，溶出曲线不相似，只有处方 A 的 f_2 大于 50，溶出曲线相似。与篮法相比，在往复筒法下获得的溶出曲线能有效区分不同处方的 **1** 肠溶片。分析溶出曲线可见，处方 C 和 D 的开始溶出时间较参比制剂提前，但溶出过程相似，推测是包衣层材料不同导致 **1** 肠溶片对溶出介质的耐受能力有差异，但包衣厚度、片芯 API 粒径以及原辅料比例可能与参比制剂相似；处方 B 的开始溶出时间与参比制剂相似，但包衣破裂后呈快速溶出趋势，推测处方 B 的包衣厚度、API 粒径以及原辅料比例与参比制剂有差异，造成溶出过程不能呈梯度溶出。

本研究分析总结了往复筒溶出度测定法中影响溶出行为的关键仪器参数，运用往复筒法比较了参比制剂和其他处方 **1** 肠溶片的体外溶出行为，建立了能够区分处方工艺的往复筒溶出方法。本研究工作为往复筒法在肠溶制剂等领域的应用提供了参考。同时，研究结果也提示往复筒法可以为制剂处方设计、工艺优化和控制提供新的思路和途径。

参考文献：

[1] 王 静，李 丽，陈 思，等．阿司匹林肠溶片的生物等效性试验设计要点及审评考虑［J］．中国新药杂志，2022, **31**(23)：2361-2364．

[2] 李 玲．阿司匹林肠溶片溶出度一致性评价［D］．上海：上海交通大学硕士学位论文，2018．

[3] YU L X, WANG J T, HUSSAIN A S．Evaluation of USP apparatus 3 for dissolution testing of immediate-release products［J］．*AAPS Pharm Sci Tech*, 2002, **4**(1)：1

[4] 保敏敏，吕蓓蓓，魏文芝，等．奥卡西平半片制剂的往复筒溶出方法研究及分剂量评价［J］．中国现代应用药学，2023, **40**(15)：2117-2123．

[5] 梁爱仙，庞发根，刘晶晶，等．往复筒法测定碳酸锂缓释片溶出度的基本特征［J］．中国药物评价，2021, **38**(2)：144-146．

[6] 庞发根，梁爱仙，刘晶晶，等．以氟西汀迟释胶囊为例探讨往复筒溶出度测定法的基本特征［J］．中国药品标准，2020, **21**(2)：150-153．

[7] 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．

[8] KLEIN S, RUDOLPH M W, SKALSKY B, *et al*．Use of the BioDis to generate a physiologically relevant IVIVC［J］．*J Controlled Release*, 2008, **130**(3)：216-219．

[9] LI J, YANG L, FERGUSON S M, *et al*．*In vitro* evaluation of dissolution behavior for a colon-specific drug delivery system（CODES）in multi-pH media using United States Pharmacopeia apparatus Ⅱ and Ⅲ［J］．*AAPS Pharm Sci Tech*, 2002, **3**(4)：59-64

[10] JOSHI A, PUND S, NIVSARKAR M, *et al*．Dissolution test for site-specific release isoniazid pellets in USP apparatus 3（reciprocating cylinder）：optimization using response surface methodology［J］．*Eur J Pharm Biopharm*, 2008, **69**(2)：769-775．

[11] 国家药品监督管理局．《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》［EB/OL］．［2023-10-01］．https: //www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20160318210001725.html．

[12] EFRON B．The 1977 rietz lecture bootstrap methods: another look at the jackknife［J］．*Ann Stat*, 1979, **7**(1)：1-26．