2 种晶型酒石酸唑吡坦的体外固有溶出速率和渗透性检测

时晓燕[1]，王延华[2]，王　楠[2]，潘增玉[1]，冯　中[1,2]*

（1. 鲁南贝特制药有限公司，药物新制剂研发山东省工程研究中心，山东临沂 273400；2. 山东中医药大学药学院，山东济南 250355）

摘要：分别考察了 2 种晶型酒石酸唑吡坦（**1**）（晶型 A 和晶型 D）的溶解和溶出特性。首先，通过 XRD 和 DSC 法确证 2 种晶型 **1** 具有不同晶体结构和热力学特性。随后分别测定了晶型 A 和晶型 D 在不同 pH 值介质（水、0.01 mol/L 盐酸、pH 4.5 乙酸盐缓冲液和 pH 6.8 PBS）中的表观溶解速率和固有溶出速率。结果显示，2 种晶型 **1** 在 pH 6.8 PBS 中的表观溶解速率、表观溶解度和固有溶出速率有较大差异。根据所得结果，2 种晶型都表现出高溶解特性。平行人工膜渗透试验结果显示，**1** 的有效渗透系数为 8×10^{-5} ～ 9×10^{-5} cm/s，提示其渗透性强。该研究显示，2 种晶型 **1** 的溶解和溶出速度、晶体结构和熔点都具有一定差异，但都分类为 BCS Ⅰ类药物，可为制剂研发中原料药的晶型筛选提供依据。

关键词：酒石酸唑吡坦；多晶型；表观溶解速率；固有溶出速率；渗透性

中图分类号：$R971^{+}.3$；O645.12；$O742^{+}.4$　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)05-0680-06

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.05.012

Determination of Intrinsic Dissolution Rate and Permeability of Two Crystal Forms of Zolpidem Tartrate *in vitro*

SHI Xiaoyan[1], WANG Yanhua[2], WANG Nan[2], PAN Zengyu[1], FENG Zhong[1,2]*

(*1. Shandong Engineering Research Center for New Drug Pharmaceuticals R&D in Shandong Province, Lunan Better Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi 273400; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355*)

ABSTRACT: The solubility and dissolution characteristics of two crystal forms (A and D) of zolpidem tartrate (**1**) were investigated. Firstly, the two crystal forms were characterized by XRD and DSC. The results showed that they had different crystal structures and thermodynamic properties. Subsequently, the apparent dissolution rates and intrinsic dissolution rates of crystal forms A and D were measured in various pH media (water, 0.01 mol/L hydrochloric acid, pH 4.5 acetate buffer, and pH 6.8 PBS). The results showed that there were significant differences in the apparent dissolution rate, apparent solubility, and intrinsic dissolution rate between the two crystal forms in pH 6.8 PBS. According to the test results, both crystal forms of **1** showed the high solubility. The results of the parallel artificial membrane permeation test showed that the effective permeability coefficient of **1** was 8×10^{-5} – 9×10^{-5} cm/s, indicating they had high permeability. Although both crystal forms in this study could be classified to BCS class Ⅰ drugs, there were certain differences in solubility and dissolution rates, crystal structure, and melting point, which should be given some references for screening the crystal forms of drug substance in formulation development.

Key Words: zolpidem tartrate; polymorph; apparent dissolution rate; intrinsic dissolution rate; permeability

收稿日期：2023-05-22

基金项目：泰山产业领军人才项目（tscx202306086）

作者简介：时晓燕（1987—），女，工程师，从事新药研究与开发。

通信作者：冯　中（1983—），男，正高级工程师，硕士生导师，从事新药研究与开发。

E-mail：fengzhong22@163.com

口服固体制剂在人体肠道内的吸收与制剂的溶出行为、药物的渗透性有关[1]。制剂的溶出行为主要取决于药物的溶解度、粒径、晶型、制剂的处方与制备工艺等[2]。

BCS 研究中药物渗透性的测定方法[3]主要有原

位肠道灌流试验、Caco-2 细胞渗透性试验、质量平衡试验、绝对生物利用度试验和人体药物动力学试验等。但人体临床试验存在成本高、操作复杂、不可预测风险多等问题。近年来，模拟人体胃肠道环境的人工膜越来越多地被用于药物渗透行为研究，这种平行人工膜渗透试验（parallel artificial membrane permeability assay，PAMPA）可以高效、低耗地测定被动渗透吸收药物的渗透性[4]。

酒石酸唑吡坦（zolpidem tartrate，**1**）属于咪唑并吡啶类安眠药，已被批准用于偶发性或暂时性失眠症的治疗。**1** 在缩短失眠症患者的睡眠等待时间和延长总睡眠时间方面与苯并二氮䓬类药物有同样的效果[5]。

有研究[6]报道 **1** 至少含有 3 种不同的晶型，但尚未见考察 **1** 的不同晶型对其生物利用度影响的研究。一些制剂生产企业使用的原料药存在混晶现象，并且混晶中不同晶型的比例也不确定。如选用的晶型不稳定，在生产和贮存过程中还可能发生转晶，对控制药品质量和体内生物利用度非常不利[7—9]。原料药的不同晶型通常会表现出不同的理化性质，可能对其溶解性、溶出速率、渗透性、稳定性、制剂的成型工艺、生物利用度及安全性产生影响。通过研究原料药的不同晶型，可为药物制剂的质量研究提供参考，同时为化学仿制药的研发提供数据支持。因此，在开发 **1** 缓释制剂时，有必要了解不同晶型的溶解和释放差异，以预测产品在体内的吸收情况和生物利用度。本研究旨在对比 **1** 的晶型 A 和晶型 D（这 2 种晶型贮存稳定性较高）的体外溶解速率差异，为制剂处方筛选提供一定的数据支持。

1 仪器与试药

μDiss™ 型药物溶解性与渗透性处方筛选测试仪及体内外相关性评价仪（美国 Pion 公司）；SevenCompact S210 型 pH 计和 XPE105DR 型电子分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）；7602 EA ALMELO 型 X 射线粉末衍射仪（德国 Empyrean 公司）；Milli-Q 型实验室超纯水系统（法国 Merck Millipore 公司）；DSC25 型差示扫描量热仪（美国 TA 公司）。

1 原料药［晶型 A：熔点 121.59 ℃，含量 100.0%，批号 0108201001，鲁南贝特制药有限公司；晶型 D：熔点 119.88 ℃，含量 99.7%，批号 230405-2，鲁南制药集团有限公司；2 种晶型的 $d(0.9)$ 均约为 40 μm］；**1** 对照品（USP 标准品，批号 R14E10）；接收池漏槽条件缓冲液［Acceptor Sink Buffer（ASB），pH 7.4，批号 520962］、磷脂溶液（批号 520928）和人工仿生膜（批号 520958，0.45 μm 孔径的疏水性聚偏二氟乙烯膜）（美国 Pion 公司）；磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钾、氯化钠、氢氧化钠、二甲基亚砜（DMSO）与盐酸均为分析纯，试验用水为纯化水（实验室自制）。

2 方法与结果

2.1 1 晶型的鉴定

分别采用 XRD 和 DSC 法鉴定 **1** 的晶型 A 和晶型 D。XRD 仪的工作参数：以 CuK_α 射线为衍射源，λ=0.154 06 nm，步长为 0.01º ～ 0.040º，扫描速度为 0.164 (º)/s，扫描范围（2θ）为 5° ～ 45°。DSC 仪的工作参数：25 ℃平衡 1 min，以 10 ℃/min 速率升温至 200 ℃，平衡 1 min。结果如图 1 和图 2 所示。

晶型 A：XRD 图谱显示，其特征峰位于 8.9° 和 16.6° 处；DSC 法测得熔点为 121.59 ℃。

晶型 D：XRD 图谱显示，其特征峰处于 7.1°、9.5°、14.1°、16.9°。19.5°、24.5° 处，DSC 法测得熔点为 119.88 ℃。

由此可见，2 种晶型在 XRD 特征和热力学性质方面都存在较大差异。

2.2 表观溶解速率的测定

2.2.1 标准曲线建立

称取 **1** 对照品适量，分别用水（通道 CH1）、0.01 mol/L 盐酸（通道 CH2）、pH 4.5 乙酸盐缓冲液（通道 CH3）和 pH 6.8 PBS（通道 CH4）配制成系列质量浓度（50 ～ 200 μg/mL）的线性溶液，分别在 250 ～ 350 nm 检测波长条件下，采用药物溶解性与渗透性处方筛选测试仪的 2 mm 光纤探头，收集各系列线性溶液吸光度的数据。以质量浓度（c）为纵坐标、吸光度的二阶导数（Y）为横坐标，进行线性回归，所得各介质下的标准曲线结果如表 1 所示。

2.2.2 pH 值对表观溶解速率的影响

采用药物溶解性与渗透性处方筛选测试仪，分

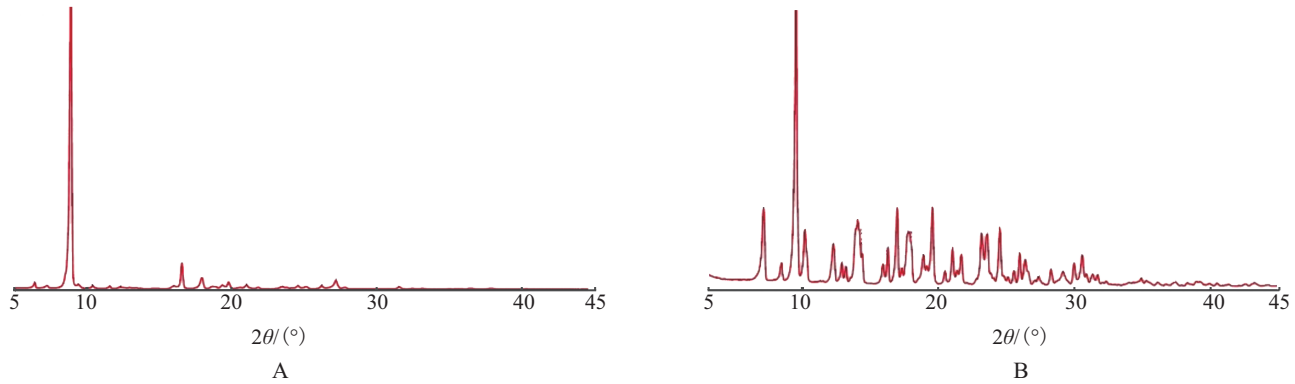


图 1　1 原料药的晶型 A（A）和晶型 D（B）的 XRD 图谱

Fig.1　XRD Patterns of Crystal Form A (A) and Crystal Form D (B) of Bulk Drug **1**

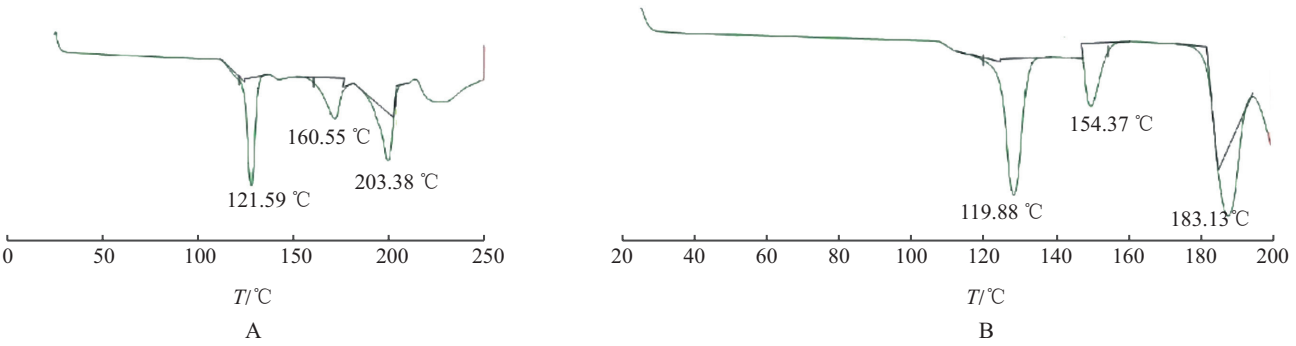


图 2　1 原料药的晶型 A（A）和晶型 D（B）的 DSC 曲线

Fig.2　DSC Curves of Crystal Form A (A) and Crystal Form D (B) of Bulk Drug **1**

表 1　1 在 4 种介质中的线性方程

Tab.1　Regression Equations of **1** in Four Media

通道	介质	线性方程	线性相关系数（r^2）
CH1	水	Y=5 107.11c+1.42	0.999 6
CH2	0.01 mol/L 盐酸	Y=5 054.69c − 0.99	0.999 6
CH3	pH 4.5 乙酸盐缓冲液	Y=5 464.34c − 0.363	0.999 9
CH4	pH 6.8 PBS	Y=13 298.92c − 1.63	0.999 5

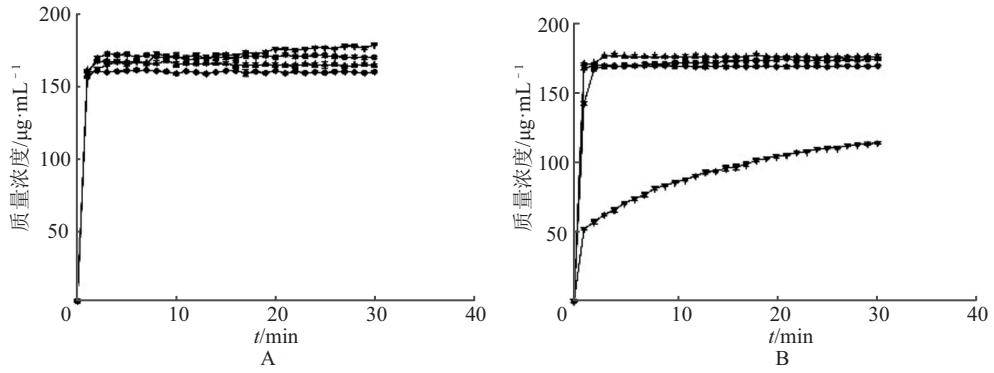
别量取 0.01 mol/L 盐酸、pH 4.5 乙酸盐缓冲液、pH 6.8 PBS 和水 20 mL，置样品杯中，再分别加入过量 **1** 的晶型 A 和晶型 D，照“**2.2.1**”项下方法，在采样间隔为 60 s、采集时间为 30 min 的条件下，收集不同时间段 **1** 的吸光度的数据。由上述标准曲线计算晶型 A 和晶型 D 在 4 种不同介质中的表观溶解速率数据。重复测定 3 次。结果如图 3 所示。

结果表明，在水、0.01 mol/L 盐酸和 pH 4.5 乙酸盐缓冲液介质中，晶型 A 和晶型 D 的溶解速率无显著差异，均在 1 min 达到溶解平衡；但在 pH 6.8 PBS 中，晶型 A 可在 1 min 内达到溶解平衡，而晶型 D 的溶解速度明显降低。2 种晶型在不同 pH 值溶液中表观溶解度曲线如图 4 所示。上述结果提示，2 种晶型在 pH 6.8 PBS 中的溶解速率和表观溶解度均有显著差异，在开发缓释制剂时需予以关注。

2.3　固有溶出速率（intrinsic dissolution rate，IDR）的测定

2.3.1　测定方法

分别称取 **1** 原料药的晶型 A 和晶型 D，各约 10 mg，置压片模具的放样小孔中，设置压力为 689.48 kPa（100 psi）、时间为 60 s 的条件进行压片。压片结束后取出模具并组装到载药模具中，一并移入样品杯中，分别加入上述 4 种溶出介质 15 mL，调整为搅拌速度 150 r/min、采样间隔 60 s、采集时间 30 min、温度为 37 ℃，收集各样品吸光度的二阶导数。由标准曲线法计算晶型 A 和晶型 D 在不同溶



■—水；●—0.01 mol/L 盐酸；▲—pH 4.5 乙酸盐缓冲液；▼—pH 6.8 PBS。

图 3 晶型 A（A）和晶型 D（B）在不同 pH 值介质中的溶解速率曲线（*n*=3）

Fig.3 Solubility Rate Curves of Crystal Form A (A) and Crystal Form D (B) in Various pH Media (*n*=3)

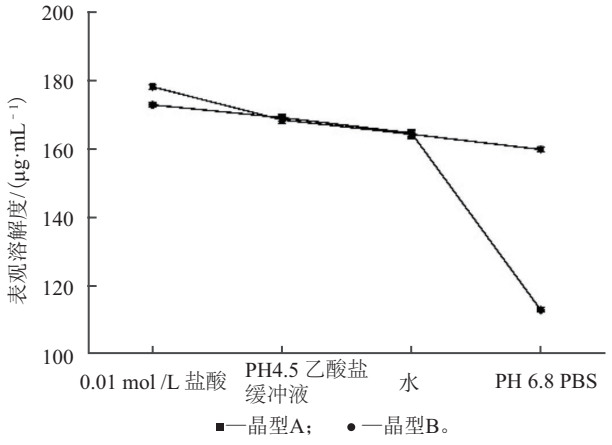


图 4 pH 值对晶型 A 和晶型 D 表观溶解度的影响（*n*=3）

Fig.4 Effect of pH Value on Apparent Solubilities of Crystal Form A and Crystal Form D (*n*=3)

出介质中的的质量浓度，照下式计算 IDR。重复试验 3 次。

$$IDR=(dc/dt)\cdot V/A$$

式中：*dc*/*dt* 为单位时间内药物溶出的速；*V* 为加入各介质的体积；*A* 为压片模具中放样小孔的面积（0.070 7 cm^2）。

2.3.2 IDR 测定结果

晶型 A 和晶型 D 在水、0.01 mol/L 盐酸、pH 4.5 乙酸盐缓冲液介质和 pH 6.8 PBS 中的 IDR 测定结果如表 2 所示。可见，晶型 A 和晶型 D 在 pH 6.8 PBS 中的固有溶出速率明显大于晶型 D。

2.4 1 原料药渗透性的测定

2.4.1 标准曲线建立

供体室（通道 CH1、CH3、CH5）中加入 pH 6.8 PBS 20 mL，受体室（通道 CH2、CH4、CH6）中加入 ASB 20 mL。称取 **1** 对照品适量，用 DMSO 溶解并配制母液；分别量取一定体积的母液，分次加至供体室和受体室中，使供体室中为质量浓度 50 ～ 200 μg/mL 的线性溶液。受体室质量浓度（5 ～ 30 μg/ml）的线性溶液。采用“**2.3.1**”项下参数，采用 2 mm 光纤探头收集供体室 pH 6.8 PBS 中 **1** 浓度的数据，采用 20 mm 光纤探头收集受体室 ASB 中 **1** 浓度的数据。以质量浓度为纵坐标、各样品吸光度的二阶导数为横坐标，进行线性回归，所得各介质

表 2 晶型 A 和晶型 D 的 IDR 测定结果（$\bar{x}\pm s$，*n*=3）

Tab.2 Determination Results of Intrinsic Dissolution Rates of Crystal Form A and Crystal Form D ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

溶出介质	晶型 A		晶型 D	
	dc/dt/(μg·mL⁻¹·min⁻¹)	IDR/(μg·cm⁻²·min⁻¹)	*dc/dt*/(μg·mL⁻¹·min⁻¹)	IDR/(μg·cm⁻²·min⁻¹)
0.01 mol/L 盐酸	15.05±0.16	3 193.1±33.9	13.11±0.27	2 781.5±57.0
水	5.42±0.10	1 149.1±20.2	8.38±0.86	1 777.7±181.4
pH 4.5 乙酸盐缓冲液	6.99±0.20	1 483.4±42.1	7.70±0.82	1 633.6±174.0
pH 6.8 PBS	0.72±0.05	151.8±10.6	0.32±0.02	67.5±4.2

中的标准曲线如表 3 所示。

2.4.2 有效渗透性的测定

采用 PAMPA 测定 **1** 在被动转运中的有效渗透性，测定装置如图 5 所示。该装置分为供体室和受体室，中间由涂有磷脂的人工膜隔开。由于人体的空腹肠液 pH 6.5、血液 pH 7.4，因此为了使渗透性的测定条件接近人体胃肠道环境，参照日本橙皮书和《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》，选择 pH 6.8 PBS 作为试验介质。供体室代表胃肠道，加入 pH 6.8 PBS；受体室代表血液，加入 pH 7.4 的 ASB；中间的人工膜代表胃肠道细胞膜，涂以胃肠道模拟磷脂溶液。

精密量取 pH 6.8 PBS 和 ASB 各 20 mL，分别置供体室和受体室中，两室间以面积为 1.54 cm^2 仿生膜（用 20 μL 磷脂溶液浸润）隔离。取 **1** 适量，用 DMSO 溶解并稀释制成含 **1** 20 mg/mL 的溶液，作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 200 μL，加至供体室中，设置温度为 37 ℃、搅拌速度为 250 r/min、采样间隔 60 s，采集时间 70 min，在 250 ～ 350 nm 波长条件下，采用 2 mm 光纤探头测定供体室药物浓度，采用 20 mm 光纤探头测定受体室药物浓度，照下式计算 **1** 的有效渗透系数（P_e）。重复测试 3 次。计算结果表明，**1** 原料药的有效渗透系数为 8×10^{-5} ～ 9×10^{-5} cm/s。

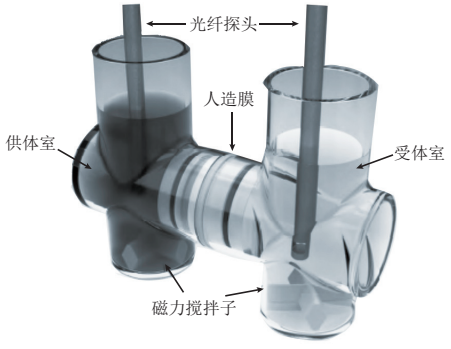


图 5　PAMPA 的装置示意图

Fig.5　Schematic Diagram of the Test Device for PAMPA

$$P_e = (dc/dt)\times V/(A\times c_t\times 60)$$

式中：dc/dt 为单位时间内受体室药物浓度的变化速率；V 为受体室加入缓冲液的体积；A 为人工膜面积（1.54 cm^2）；c_t 为供体室中药物的初始质量浓度。

3　讨论

BCS 对高溶解性的定义为：在 37 ℃条件下，药物的最大使用剂量能完全溶解于规定 pH 范围内、体积不大于 250 mL 的水性介质中。**1** 缓释片的规格设计为 12.5 mg，最大使用剂量为 12.5 mg。若是选用晶型 A，要在 30 min 内达到溶解平衡，在不同 pH 值缓冲液中的最低溶解度为 159.3 μg/mL。若是选用晶型 D，其 30 min 内在水、0.01 mol/L 盐酸和 pH 4.5 乙酸盐缓冲溶液中可达到溶解平衡，但在 pH 6.8 PBS 中 30 min 的最低溶解度为 116.0 μg/mL。基于此，可计算得晶型 A 与晶型 D 的最大给药剂量与表观溶解度的比值分别为 78.5 和 107.8 mL，二者均小于 250 mL，提示 **1** 的 2 种晶型为高溶解性药物。本试验结果表明，2 种晶型的 **1** 虽然都在高溶解性范围内，但溶解和溶出速度、晶体结构和熔点都具有一定差异，在制剂处方筛选中应予以一定关注。

本研究采用的渗透性测试系统由美国 Pion 公司研制，该系统采用人工仿生膜模拟小肠上皮细胞，测定药物的被动吸收，表征其渗透性。研究[10—12]表明其与 Caco-2 细胞模型具有良好的相关性，因此被广泛用于测定被动转运机制药物的渗透性。本试验计算得 **1** 的有效渗透系数与文献[12]报道的高渗透性药物美托洛尔（有效渗透系数为 11.9×10^{-5} cm/s）

表 3　1 在供体室和受体室中的线性试验结果

Tab.3　Linearity Test Results of **1** in Donor and Acceptor Chambers

通道	介质	线性范围 /(μg·mL^{-1})	线性方程	线性相关系数 (r^2)
CH1	pH 6.8 PBS	0 ～ 150.0	Y=1 666.63c - 1.01	0.999 8
CH2	ASB	0 ～ 19.5	Y=79.53c - 0.143	0.999 4
CH3	pH 6.8 PBS	0 ～ 150.0	Y=1 915.44c - 0.929	0.999 8
CH4	ASB	0 ～ 19.5	Y=75.17c+0.013	0.999 9
CH5	pH 6.8 PBS	0 ～ 150.0	Y=1 770.77c - 1.05	0.999 8
CH6	ASB	0 ～ 19.5	Y=75.11c - 0.039	0.999 8

相当，由此可见 **1** 为高渗透性药物。

综上所述，**1** 属于 BCS Ⅰ类药物（高溶解性、高渗透性）。

仿制药研发过程中晶型应尽量与原研药一致，以此来保证仿制药与原研药的生物等效。原研制剂目前有缓释和速释 2 种剂型，并且其中的原料药晶型未见报道。本研究测定了 2 种晶型 **1** 的表观溶解速率、IDR 和渗透性，可为制剂研发过程中的晶型选择提供溶解性和渗透性方面的数据支持，后续将考察 2 种晶型的稳定性，以期为 **1** 制剂的处方筛选提供依据。

参考文献：

[1] 刘雪婧, 李文龙, 关皓月, 等. 仿制药体外渗透性研究的应用进展 [J]. 中国新药杂志, 2022, **31**(11): 1066-1071.

[2] 刘 青, 张雅琦, 王文喜. 两相溶出系统及其在难溶性药物制剂评价中的应用 [J]. 药学学报, 2021, **56**(3): 743-750.

[3] 孙建国, 徐为人, 汤立达, 等. 各国关于基于 BCS 分类的生物等效性豁免的新进展及差异性分析 [J]. 药物评价研究, 2021, **44**(6): 1190-1196.

[4] 王文丽, 张晓明, 柯 静, 等. 采用平行人工渗透膜试验研究氨酚羟考酮片中对乙酰氨基酚和盐酸羟考酮的溶解性与渗透性 [J]. 中国药学杂志, 2021, **56**(21): 1735-1739.

[5] GRUBEROVÁ L, KRATOCHVÍL B. Dosage forms of zolpidem tartrate [J]. *Chem Listy*, 2018, **112**(11): 734-740.

[6] 吴建敏, 李慧义, 岳志华, 等. 酒石酸唑吡坦原料药的多晶型问题研究 [J]. 中国药事, 2007, **21**(11): 892-893.

[7] 郝晓锋, 侯 权, 曾 霞, 等. 匹莫范色林晶型 C 的结晶工艺研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(12): 1788-1795.

[8] 杨文智, 宁黎丽, 许真玉. 晶型研究在口服固体制剂仿制药药学研发中的几点关注 [J]. 中国药学杂志, 2022, **57**(15): 1302-1304.

[9] 张 艳, 朱 亮, 刘团坤, 等. 晶型调控与计算模拟在药物多晶型研究中的应用进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2021, **52**(10): 1297-1303.

[10] 牛剑钊, 张广超, 刘 倩, 等. 采用平行人工膜测定螺内酯片体外渗透速率的研究 [J]. 中国药事, 2021, **35**(4): 415-421.

[11] 王 琳, 吴 斌, 王铁松, 等. 基于溶解性、渗透性分析技术的左炔诺孕酮生物药剂学分类及制剂的渗透速率研究 [J]. 药物分析杂志, 2020, **40**(1): 104-110.

[12] 付 晖, 王 琳, 胡 琴, 等. 双氯芬酸钠肠溶片的溶出与渗透行为研究 [J]. 中国药学杂志, 2018, **53**(20): 1778-1784.