

沙格列汀二甲双胍缓释片的体外评价

李镇铭^{1,2}, 霍美蓉^{1*}, 邓淇丹^{1,2}, 陈登俊², 孙宏张²

(¹中国药科大学药学院药剂系, 南京 210009; ²合肥合源药业有限公司, 合肥 230031)

摘要 为评价自研的沙格列汀二甲双胍缓释片与参比制剂体外释放行为的一致性, 分别在 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液与纯化水 4 种溶出介质中比较自研制剂和参比制剂间溶出曲线的相似性, 并对自研制剂和参比制剂在 pH 1.0 盐酸溶出介质中的凝胶形态和凝胶强度进行比较。结果显示, 在 4 种溶出介质中自研制剂和参比制剂中沙格列汀的 15 min 溶出度均大于 85%, 盐酸二甲双胍的 f_2 相似因子分别为 89、83、80、86, 均大于 50, 自研制剂两种药物的溶出行为均与参比制剂一致。自研制剂亲水凝胶骨架的体积膨胀率、吸水增重率、溶蚀率与参比制剂一致; 自研制剂的凝胶强度与参比制剂一致。结果表明, 自研制剂和参比制剂体外释放行为一致, 为体内生物等效性试验提供了良好的保障。

关键词 沙格列汀; 二甲双胍; 缓释片; 体外评价; 生物等效性; 溶出度; 凝胶形态; 凝胶强度

中图分类号 R944 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2021)05-0541-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210505

引用本文 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(5):541-546.

Cite this article as: LI Zhenming, HUO Meirong, DENG Qidan, et al. *In vitro* evaluation of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets[J]. *J China Pharm Univ*, 2021, 52(5):541-546.

In vitro evaluation of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets

LI Zhenming^{1,2}, HUO Meirong^{1*}, DENG Qidan^{1,2}, CHEN Dengjun², SUN Hongzhang²

¹Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

²Hefei Cosource Medicine Technology Co., Ltd., Hefei 230031, China

Abstract In order to evaluate the consistency of the release behavior between the self-made saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets and the reference preparations *in vitro*, the similarity of the dissolution curves between the self-made preparations and the reference preparations in four dissolution mediums: HCl (pH 1.0), acetate buffer saline (pH 4.5), phosphate buffer saline (pH 6.8) and pure water, and the gel morphology and strength of the self-made preparations and the reference preparations in the HCl (pH 1.0) solution medium were compared. Results showed that in four dissolution mediums, the dissolution rates of saxagliptin in the self-made preparations and the reference preparations at 15 min were greater than 85%, and the f_2 similarity factors of metformin hydrochloride were 89, 83, 80, 86, all greater than 50, so the dissolution of the self-made preparations was consistent with those of the reference preparations. The volume expansion rate, water absorption rate and erosion rate were consistent with those of the reference preparations, and the gel strength of the self-made preparations was the same as that of the reference preparations. The *in vitro* release behaviors of the self-made preparations and the reference preparations are consistent, which provide a good guarantee for bioequivalence.

Key words saxagliptin; metformin; sustained-release tablets; *in vitro* evaluation; bioequivalence; dissolution; gel morphology; gel strength

沙格列汀二甲双胍缓释片由英国阿斯利康公司研制,商品名为安立格®,用于成人2型糖尿病的治疗。该缓释片为复方制剂:沙格列汀(saxagliptin)是二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂,其能够增强胰高血糖素样肽-1的片段和抑胃肽的活性,并能提高葡萄糖耐受水平^[1];盐酸二甲双胍(metformin hydrochloride)为2型糖尿病的一线用药,二者联用具有机制互补、协同增效的优势,同时可避免单一用药的不良反应^[2]。

为仿制该缓释片,首先分析其制剂特点:沙格列汀采用胃溶型薄膜包衣工艺,能够迅速释放;盐酸二甲双胍为亲水凝胶骨架工艺,能够缓慢释放,亲水凝胶骨架为22.7 mm×10.6 mm异型片,口服进胃后会吸水膨胀导致体积进一步增大,而人体胃幽门括约肌的直径为12~13 mm^[3],因此本品难以通过幽门,会在胃中滞留,又因为盐酸二甲双胍主要吸收部位在小肠中上部,即十二指肠和空肠^[4],所以在胃中滞留的时间将会影响盐酸二甲双胍的吸收。由此可以认为,沙格列汀作为速释部分,保证其在15 min内的溶出度大于等于85%即可,但盐酸二甲双胍作为缓释部分,其释放和胃肠环境中的亲水凝胶的形成过程^[5]和凝胶形态^[6]关系密切,单纯以药品溶出度作为考察指标来判断体外一致性是远远不够的。因此,本研究不仅考察了自研制剂与参比制剂在4种溶出介质中的溶出行为,而且对两种制剂的亲水凝胶的形态和强度进行比较,以充分评价自研制剂与参比制剂的体外释放行为的一致性,为体内生物等效性试验提供重要依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

沙格列汀二甲双胍缓释片(参比制剂:英国阿斯利康制药有限公司,批号:LF 2578,规格:5 mg/1 000 mg);沙格列汀二甲双胍缓释片(自制剂:合肥合源药业有限公司,批号:20201201,规格:5 mg/1 000 mg);沙格列汀对照品(合肥合源药业有限公司,批号:20191018,纯度:94.22%);盐酸二甲双胍对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100664-201805,纯度:99.9%);庚烷磺酸钠和乙腈为色谱纯,其余试剂均为市售分析纯,水为纯化水。

1.2 仪器

RC1207DP溶出仪(天津天大天发科技有限公司);LC-20AD高效液相色谱仪(日本岛津公司);XS105电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);ZQ990质构仪(东莞市智取精密仪器有限公司);DHG-9240A鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司);Min1424高速离心机(珠海黑马医学仪器有限公司);PE-20 pH计(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

2.1.1 沙格列汀检测条件 Welch Ultimate[®] XB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:水-乙腈-三氟乙酸(80:20:0.1);检测波长:215 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:40 °C;进样量:50 μL。

2.1.2 盐酸二甲双胍检测条件 Phenomenex[®] Kromasil 5u 100A C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:0.05%庚烷磺酸钠与0.05%氯化钠缓冲液(pH 3.85)-乙腈(90:10);检测波长:218 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 沙格列汀对照品溶液 精密称取沙格列汀对照品25 mg,至100 mL量瓶中,分别加pH 1.0盐酸溶液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、纯化水稀释至刻度,移取2 mL至100 mL量瓶中,分别加pH 1.0盐酸溶液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、纯化水稀释为每毫升中约含沙格列汀5 μg作为对照品溶液。

2.2.2 盐酸二甲双胍对照品溶液 精密称取盐酸二甲双胍对照品25 mg,至50 mL量瓶中,分别加pH 1.0盐酸溶液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、纯化水稀释至刻度,移取100 μL至离心管中,分别加pH 1.0盐酸溶液、pH 4.5醋酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、纯化水稀释为每毫升中约含盐酸二甲双胍50 μg作为对照品溶液。

2.2.3 沙格列汀供试品溶液 在不同时间点,每次取样5 mL(同时补充同温新鲜介质5 mL),经0.45 μm微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

2.2.4 盐酸二甲双胍供试品溶液 在不同时间点,每次取样5 mL(同时补充同温新鲜介质5 mL),

以 12 000 r/min 转速离心 5 min 后, 移取上清液 100 μL 至离心管中, 分别加 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、纯化水 900 μL 稀释后作为供试品溶液。

2.3 溶出度的测定及相似性评价

溶出介质: pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、纯化水; 溶出介质体积: 1 000 mL; 采用方法: 篮法; 搅拌速度: 100 r/min; 温度: $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$; 取样方式: 自动取样。沙格列汀取样时间点(min)为: 5、10、15、30、60, 每次取样 5 mL, 补液 5 mL; 盐酸二甲双胍取样时间点(h)为: 1、3、6、10、16, 每次取样 5 mL, 补液 5 mL。

溶出曲线的相似性一般采用 f_2 相似因子法进行评价, f_2 大于 50 时, 表明两条溶出曲线相似, f_2 越大两条曲线相似性越大, 当受试制剂和参比制剂在 15 min 内的溶出量不小于 85% 时, 可以认为两者溶出行为相似, 无需进行 f_2 的比较^[7]。

2.4 凝胶形态学的测定

将初始缓释片称重(W_0)并测量长度(a_0)、宽度(b_0)和厚度(h_0), 按溶出度测定方法, 以 pH 1.0 盐酸溶液为溶出介质, 将缓释片投入转篮并统一位

置, 取样时间点(h)为: 1、3、6、10、16, 取样后称重(W_t)并测量长度(a_t)、宽度(b_t)和厚度(h_t), 并拍照记录不同时间点的骨架片纵切面的凝胶形态变化, 观察其凝胶层、浸润层和玻璃态部分的变化, 最后将缓释片置于烘箱中, 60 $^\circ\text{C}$ 干燥至恒重, 称重(W_e)。计算体积膨胀率($V\%$)、吸水增重率($I\%$)、溶蚀率($E\%$)和误差 $\Delta V\%$ 、 $\Delta I\%$ 、 $\Delta E\%$ ^[8], 并绘制体积膨胀率-时间($V-t$)曲线、吸水增重率-时间($I-t$)曲线、溶蚀率-时间($E-t$)曲线。

2.5 凝胶强度的测定

按溶出度测定方法, 以 pH 1.0 盐酸溶液为溶出介质, 将缓释片投入转篮并统一位置, 取样时间点为 1、3、6、10、16 h, 取样后将缓释片样品放于质构仪柱形探头的正下方, 然后用柱形探头对缓释片样品进行测定^[9], 并绘制阻力-距离(load-distance)曲线。

3 结果

3.1 溶出度

自研制剂和参比制剂中沙格列汀在 4 种溶出介质中的溶出曲线见图 1, 盐酸二甲双胍的溶出曲

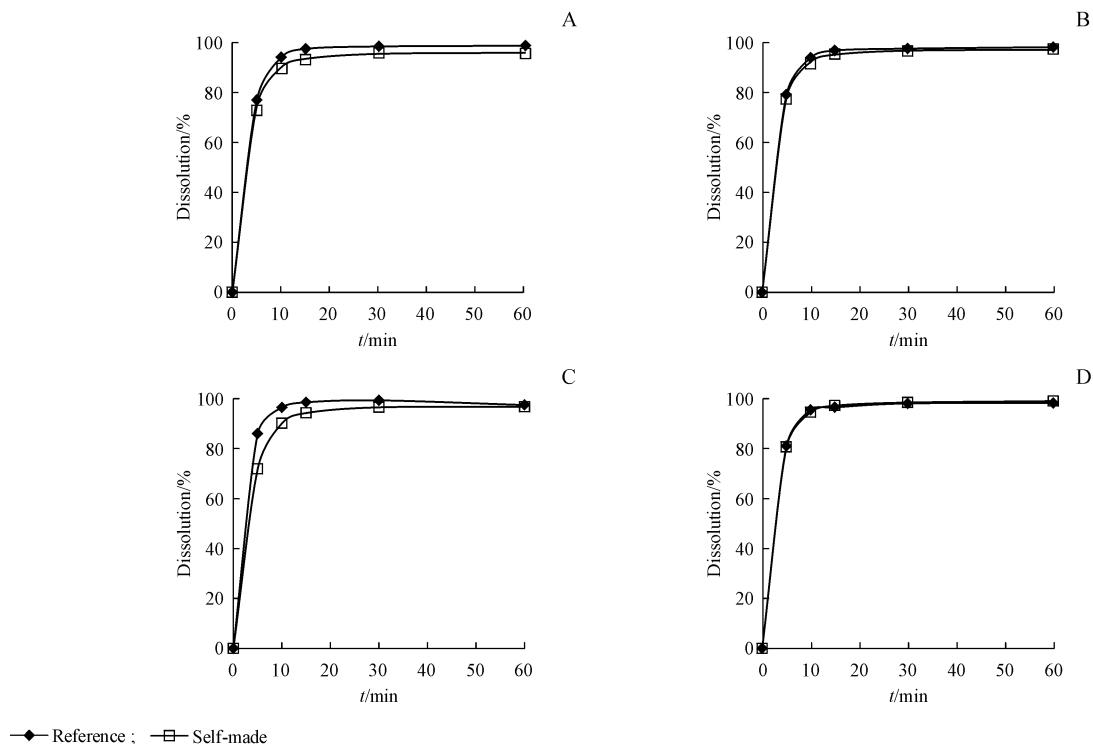
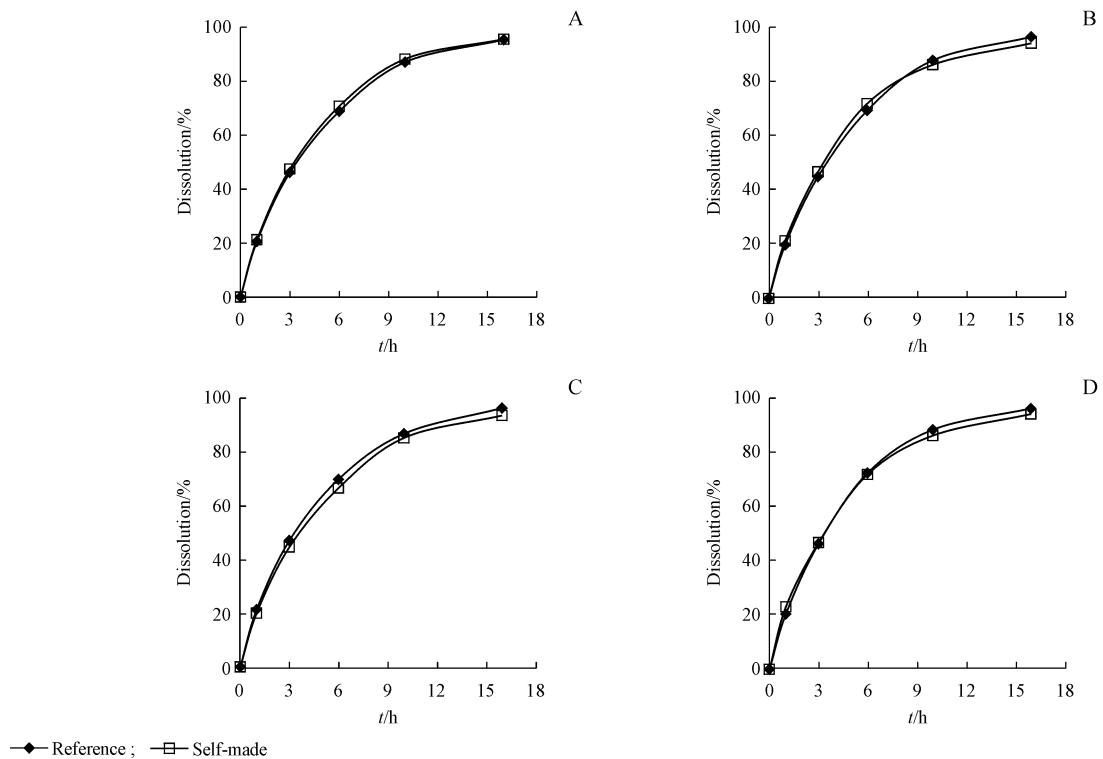


Figure 1 Dissolution curves of saxagliptin in self-made and reference preparations of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets in four dissolution media ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: HCl(pH 1.0); B: Acetate buffer saline(pH 4.5); C: Phosphate buffer saline (pH 6.8); D: Pure water

线见图2。在4种溶出介质中,自研制剂和参比制剂中沙格列汀在15 min就已经基本溶出完全,与后2个时间点测定的溶出度之间的差均小于5%,

达到溶出曲线的平台期;盐酸二甲双胍在4种溶出介质中的溶出曲线相似因子 f_2 分别为89,83,80,85,均大于50。



◆—Reference; □—Self-made

Figure 2 Dissolution curves of metformin hydrochloride in self-made and reference preparations of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets in four dissolution media ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: HCl (pH 1.0); B: Acetate buffer saline (pH 4.5); C: Phosphate buffer saline (pH 6.8); D: Pure water

3.2 凝胶形态学

自研制剂与参比制剂在pH 1.0的盐酸溶出介质中,其纵切面的凝胶形成变化过程见如图3所示。随着释放时间的延长,释放介质不断渗入,自

研制剂和参比制剂的骨架均整体膨胀,长宽高均比初始有所增加,其中高度增加更为明显。此外,片子表面凝胶层在不断增厚,内部干燥片芯在逐渐减小,当释放时间达到10 h,已观察不到干燥的

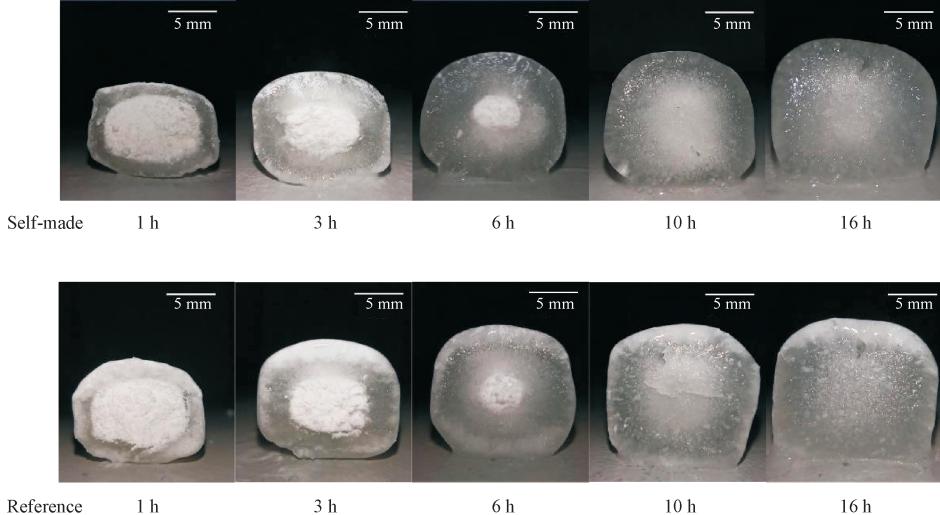


Figure 3 Longitudinal section of self-made and reference preparations of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets

片芯, 只能看到白色的浸润层, 当释放时间达到 16 h, 只剩下部分浸润层。在每个取样时间点, 自研制剂与参比制剂的凝胶层厚度和干燥片芯大小无明显差异。

体积膨胀率、吸水增重率和溶蚀率随时间变

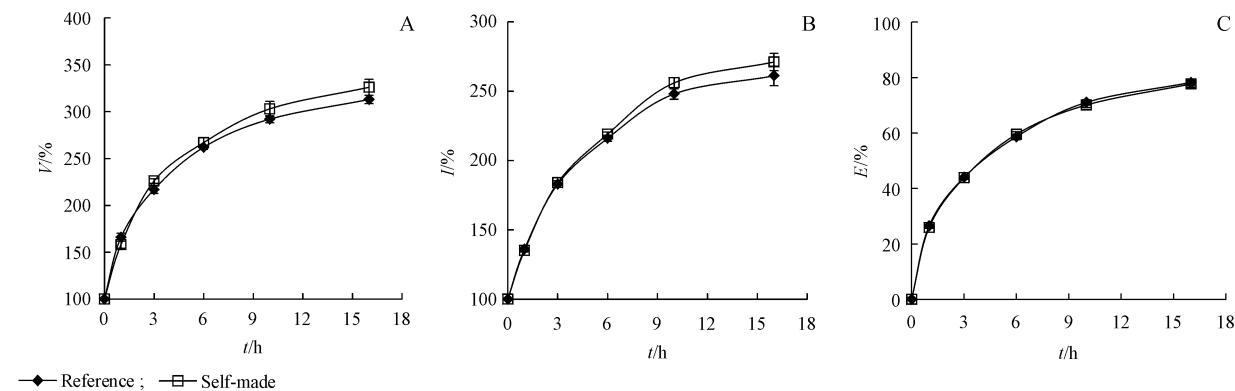


Figure 4 Variant with time of self-made and reference preparations of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Volume expansion; B: Water absorption; C: Erosion

Table 1 Difference of volume expansion rate, water absorption rate and erosion rate between self-made preparations and reference preparations of saxagliptin and metformin hydrochloride sustained-release tablets ($n = 3$)

Difference	t/h				
	1	3	6	10	16
$\Delta V/\%$	4.82	-4.15	-1.91	-3.77	-4.15
$\Delta I/\%$	-0.74	-0.55	1.39	3.23	3.83
$\Delta E/\%$	-2.26	-0.41	1.54	-1.35	-0.70

3.3 凝胶强度

凝胶强度结果如图 5 所示, 阻力代表凝胶的强度, 距离代表凝胶层的厚度, 部分曲线后段呈直线上升是因为质构仪的探头触碰到了内部干燥的片芯, 阻力急剧增大。可以看出, 随着时间的延长,

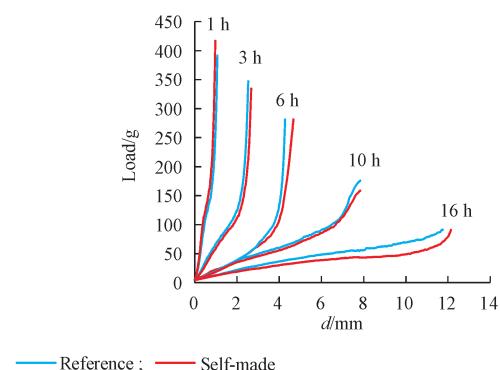


Figure 5 Load-distance curves of self-made and reference preparations after hydration

化曲线如图 4 所示, 表 1 为自研制剂与参比制剂体积膨胀率、吸水增重率和溶蚀率的误差。在每个取样时间点, 自研制剂的体积膨胀率、吸水增重率和溶蚀率和参比制剂的误差都在 $\pm 5\%$ 以内, 差异很小。

自研制剂和参比制剂的凝胶强度都在不断减弱, 凝胶层厚度在不断增加, 但在每个取样时间点, 自研制剂和参比制剂的阻力-位移曲线无明显差异。

4 结果与讨论

自研制剂和参比制剂中沙格列汀在 4 种溶出介质中 15 min 就基本溶出完全, 可以认为两种制剂的溶出行为相似。自研制剂和参比制剂中盐酸二甲双胍在 4 种溶出介质中溶出曲线 f_2 相似因子均大于 50, 证明两种制剂具有相似的体外溶出行为。

凝胶体积是由骨架的溶胀和溶蚀同时决定的^[10], 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盐酸二甲双胍扩散的情况。结果显示自研制剂的形成过程和溶蚀过程都与参比制剂一致, 这保证了亲水凝胶能有相同的凝胶层厚度和相同的体积, 使亲水凝胶在胃中的形态以及从胃进入肠道的时间能够一致, 自研制剂中盐酸二甲双胍的释放以及吸收能够与参比制剂保持一致。

体外溶出试验一般使用篮法或者浆法, 基于搅拌或旋转强制介质产生对流, 使药物在介质中溶出^[11], 但人体胃肠道是一个动态的环境, 对于亲水凝胶骨架片, 需要考虑到胃肠的蠕动以及与食

物之间的碰撞,若凝胶层形变或者溶蚀加快,将会导致药物释放过快,这时一定的凝胶强度能够使凝胶在胃肠中保持完整的形态,所以自研制剂和参比制剂各个取样时间点的凝胶强度的一致,使盐酸二甲双胍在胃中能够良好且稳定的释放。

综上所述,自研的沙格列汀二甲双胍缓释片与参比制剂相比,沙格列汀和盐酸二甲双胍在4种溶出介质中的溶出曲线相似,在pH 1.0盐酸溶液中凝胶的形成过程和溶蚀过程一致,凝胶的强度一致,所以可认为自研制剂和参比制剂的体外释放行为一致,这为生物等效性试验提供了良好的保障。

References

[1] Huang JQ, Wang GC. Research progress in application of dipeptidyl peptidase-IV inhibitors combined with metformin [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2012, 21(23):2753-2757.

[2] Lu JM. Review on clinical application of saxagliptin and metformin extended-release (XR) fix-dose combination tablet in type 2 diabetes [J]. *Chin J Diabetes*(中国糖尿病杂志), 2017, 25(1):91-94.

[3] Tang Y, Luo JY, Wang WP, et al. Advance in pharmaceutical studies of expandable gastroretentive dosage forms [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2009, 18(14):1304-1307, 1311.

[4] Li J, Fan M, Zhuang W. Development on oral intestinal absorption mechanism for metformin hydrochloride and its formulation optimizations of gel-matrix tablets [J]. *Pharm Clin Res*(药学与临床研究), 2009, 17(3):215-220.

[5] Varma MVS, Kaushal AM, Garg A, et al. Factors affecting mechanism and kinetics of drug release from matrix-based oral controlled drug delivery systems [J]. *Am J Drug Deliv*, 2004, 2:43-57.

[6] Ford JL, Rubinstein MH, Hogan JE. Dissolution of a poorly water soluble drug, indomethacin, from hydroxylpropylmethyl cellulose controlled release tablets [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1985, 37(S12):33.

[7] Xie MF. Evaluation methods of comparability of dissolution curve [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2009, 40(4):308-311.

[8] Huang ZY, Meng C, Li SZ, et al. A comparative study on related characteristics of domestic and imported hydroxypropyl methyl cellulose used as sustained release matrix material [J]. *Drug Eval Res*(药物评价研究), 2016, 39(2):237-241.

[9] Wang B, Zhuang LH, Li YX, et al. Progress on evaluation methods for release mechanism of hydrophobic gel matrix sustained-release tablets [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2009, 40(10):782-786.

[10] Xu DY, Tu XD. Advances in study of hydrogel matrix tablets for oral administration [J]. *Prog Pharm Sci*(药学进展), 2002, 26(1):10-15.

[11] Hu CQ, Pan RX. Progress in evaluation /prediction of bioequivalence of solid oral preparations by dissolution test [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2014, 23(1):44-51.