

奥利司他胶囊有区分力溶出度检测法的建立及溶出曲线相似性评价

王 皖¹, 李 琦¹, 刘雁鸣^{1, 2, 3}, 刘 轶¹, 李昌亮¹

1. 湖南省药品检验检测研究院 (长沙 410001)
2. 湖南省药品质量评价工程技术研究中心 (长沙 410001)
3. 药用辅料工程技术研究重点实验室 (长沙 410001)

【摘要】目的 建立有区分能力的奥利司他胶囊溶出度检测法, 评价国内 6 家企业与进口奥利司他胶囊溶出曲线的相似性。**方法** 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱, 流动相为乙腈-水 (85:15), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 195 nm, 柱温为 30℃, 进样量为 20 μL。考察不同浓度十二烷基硫酸钠、不同浓度氯化钠及不同 pH 溶出介质对溶出曲线的影响, 筛选出最佳溶出条件, 并采用溶出曲线相似因子法评价溶出曲线的相似性。**结果** 奥利司他在 5.989~179.697 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好 ($r=0.9998$), 平均回收率为 100.4%, RSD 为 1.1% ($n=9$)。筛选出的最佳溶出条件如下: 以含 1.0% 十二烷基硫酸钠、0.5% 氯化钠、pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液为溶出介质, 在桨法、75 r·min⁻¹、介质 1 000 mL 的条件下开展溶出试验。国内仅 1 家企业产品与参比制剂的溶出曲线相似, 其余 5 家企业产品与参比制剂相比溶出行为均不一致。**结论** 该法能有效区分不同企业生产的奥利司他胶囊的溶出行为, 对我国开展奥利司他胶囊仿制药质量与疗效一致性评价具有一定的参考意义。

【关键词】 奥利司他胶囊; 高效液相色谱法; 溶出曲线; 溶出曲线相似因子; 一致性评价

Establishment of a discriminatory dissolution method for orlistat capsule and evaluation of the similarity of dissolution curve

Wan WANG¹, Qi LI¹, Yan-Ming LIU^{1,2,3}, Yi LIU¹, Chang-Liang LI¹

1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001, China
2. Hunan Engineering & Technology Research Center for Pharmaceutical Quality Evaluation, Changsha 410001, China
3. Key Laboratory of Engineering and Technology Research of Pharmaceutic Adjuvant, Changsha 410001, China

Corresponding author: Qi LI, Email: liqihn2023@163.com

【Abstract】Objective To establish a discriminative dissolution test method for orlistat capsules and evaluate the similarity of dissolution curves of 6 domestic enterprises and imported orlistat capsules. **Methods** The HPLC method was used, the chromatographic column was Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column, the mobile phase was acetonitrile and

water (85 : 15), the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the detection wavelength was 195 nm, the column temperature was 30°C , and the injection volume was $20 \mu\text{L}$. The effects of different concentrations of sodium dodecyl sulfate, different concentrations of sodium chloride and different pH dissolution media on the dissolution curve were investigated, and the best dissolution conditions were selected. The similarity of the dissolution curve was evaluated using the dissolution curve similarity factor method. **Results** Orlistat had good linear relationship within the range of $5.989\text{--}179.697 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 8$), and its average recovery rate was 100.4%, with an *RSD* of 1.1% ($n=9$). The optimal dissolution conditions selected were as follows: the pH 6.0 phosphate buffer solution containing 1.0% sodium dodecyl sulfate and 0.5% sodium chloride was as dissolution medium; the conduct dissolution tests conducted under conditions of paddle method, $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ and medium 1 000 mL. Only one domestic enterprise had a similar dissolution curve between the product and the reference formulation, while the other five enterprises had inconsistent dissolution behavior between the product and the reference formulation. **Conclusion** This measurement method can effectively distinguish the dissolution behavior of products from different enterprises, and has certain reference significance to evaluate the consistency of the quality and efficacy of orlistat capsules in China.

【Keywords】 Orlistat capsules; High performance liquid chromatography; Dissolution curve; Dissolution curve similarity factor; Consistency evaluation

奥利司他为戊酸十二烷酯类化合物,系胃肠道脂肪酶抑制剂,口服后几乎不被胃肠道吸收,大部分集中在胃肠壁,通过与胃和小肠腔内的胃脂肪酶和胰脂酶的活性部位丝氨酸形成共价键使酶失活,阻断食物中脂肪酶吸收而产生减肥作用^[1-2]。奥利司他胶囊在中国药典 2020 年版二部、英国药典 2020 版、日本药典第 18 版、欧洲药典第 10 版均未收载,120 mg 规格的本品在美国药典第 43 版以及国内各企业的标准中所列溶出度方法均以 3.0% 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)溶液、0.5% 氯化钠溶液、pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液为溶出介质,浆法 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 45 min 取样,用 HPLC 法检测溶出量,限度为 75%,仅溶出体积有差异。奥利司他属生物药剂学系统分类 4 类:低溶解度-低渗透性药物,药物在体内溶出速率的快慢和溶出量对疗效的影响至关重要。

根据国家药品监督管理局仿制药质量一致性评价-溶出试验指导原则,通过试验发现本品在 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和水 4 种溶出介质中 120 min 溶出量小于 10%,而在高浓度 SDS 溶液条件下,各企业之间溶出度行为差异不明显。本研究以原研药物作为参比制剂,摸索出适宜浓度的 SDS 溶液,用以评价国内 6 家制剂产品与原研药物溶出曲线的相似性;并在文献^[3-13]基础上,以产品的处方工

艺为主线,研究了对不同处方工艺有区分力的溶出度检查方法,区分不同工艺产品质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器

RT612-AT 型自动取样溶出仪(深圳市锐拓仪器设备有限公司);XP205 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多);LC-20AD 型高效液相色谱仪,包括 SPD-20A 紫外检测器和 CTO-10AS vp 柱温箱(日本岛津);Prima PM6-2700TD 超声仪。

1.2 试药

奥利司他对照品(中国食品药品检定研究院,批号:520027-202102,纯度 99.5%);SDS、氯化钠和磷酸均为分析纯;试验样品规格均为 120 mg/粒,其余信息见表 1。

表1 样品信息

Table 1. Sample information

生产企业	批号	生产工艺
罗氏	M2391M1 (赛尼克)	未知
A 企业	200801	流化床淀粉丸芯包衣
B 企业	2009101A、201905A	干法
C 企业	01210109	湿法制粒
D 企业	084200703	湿法制粒
E 企业	20100029	湿法制粒(挤出滚圆)
F 企业	200815	干法

2 方法与结果

2.1 HPLC方法学考察

2.1.1 色谱条件

色谱柱为 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱, 流动相为乙腈-水 (85:15), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 195 nm, 柱温为 30℃, 进样量为 20 μL。

2.1.2 溶液的配制

供试品溶液: 取 1 粒胶囊, 加 1.0% SDS 溶液超声 (功率 600 W, 频率 40 kHz) 溶解制成储备液, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL 置 10 mL 量瓶, 加 1.0% SDS 溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

阴性样品溶液: 取 1 粒空白胶囊壳, 按处方取各辅料适量, 并按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

标准曲线溶液: 精密称取奥利司他对照品 12.04 mg, 置 20 mL 量瓶中, 用 50% 乙腈稀释至

刻度, 摇匀, 即得奥利司他对照品储备液; 精密量取奥利司他对照品储备液适量, 分别用 50% 乙腈稀释成 5.989, 11.979, 23.959, 59.899, 95.838, 119.798, 149.747, 179.697 μg · mL⁻¹ 系列浓度的标准曲线溶液。

2.1.3 系统适用性试验

精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图 (图 1), 阴性样品不干扰奥利司他主成分的检测。

2.1.4 线性关系考察

精密吸取“2.1.2”项下系列标准曲线溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 以溶液浓度 (X , μg · mL⁻¹) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得线性回归方程为 $Y=13\,901X+32\,288$, $r=0.999\,8$, 结果表明奥利司他在 5.989~179.697 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

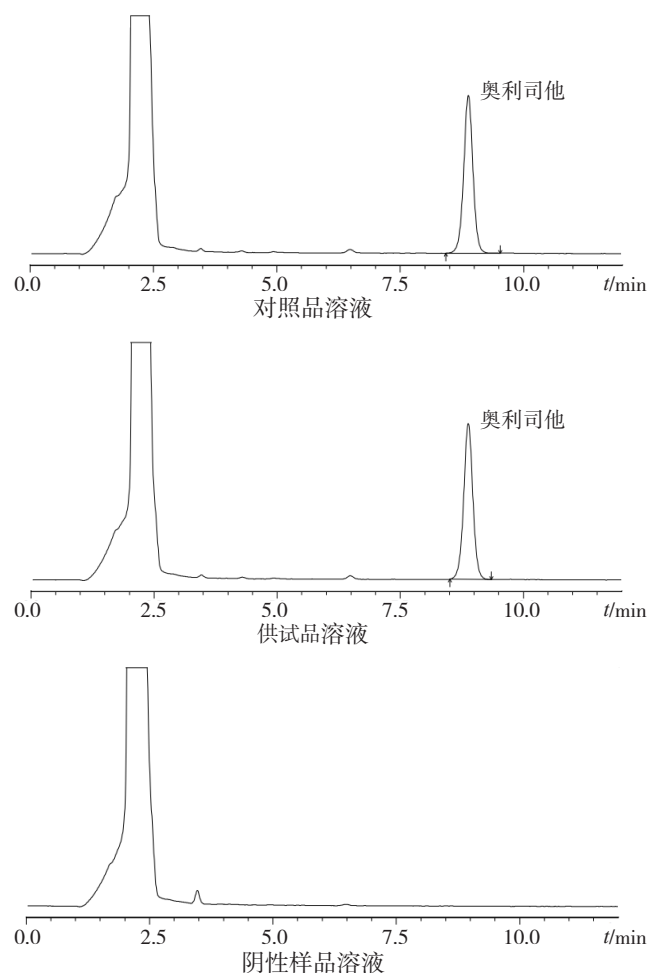


图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatogram

2.1.5 回收率试验

精密量取“2.1.2”项下奥利司他对照品贮备液2, 4, 6 mL分别置于20 mL量瓶中, 各加入空白辅料贮备液续滤液2 mL, 用1.0% SDS溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得50%, 100%, 150% 3个不同水平的回收率供试品溶液, 每个水平平行配制3份, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 计算得奥利司他的平均回收率为100.4%, *RSD*为1.1% ($n=9$)。

2.2 溶出条件的筛选

2.2.1 溶出介质中不同浓度SDS的考察

选取奥利司他胶囊参比制剂为样品, 分别以含SDS 0.5%, 0.8%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%, 3.0%的磷酸盐缓冲溶液(0.5%氯化钠、pH 6.0) 1 000 mL为溶出介质, 采用浆法, 在转速 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、37℃的条件下于5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 60, 90, 120 min分别取样5 mL(同时补充等温、等体积介质), 经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 取续滤液按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 计算奥利司他的累计溶出率, 并绘制溶

出曲线(图2)。结果表明, SDS溶液浓度在1.0%及以上时, 奥利司他在45 min的累积溶出量均可达80%, 故选择1.0% SDS溶液开展试验。

2.2.2 不同pH溶出介质的考察

选取奥利司他胶囊参比制剂为样品, 分别以pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0的磷酸盐缓冲溶液(含0.5%氯化钠、1.0% SDS) 1 000 mL为溶出介质, 其余溶出条件、取样时间点及测定方法同“2.2.1”项, 绘制的溶出曲线见图3。结果表明, pH对奥利司他的溶出基本无影响, 故选择现行标准中pH 6.0开展试验。

2.2.3 溶出介质中不同浓度氯化钠的考察

选取B企业20191005A批次样品, 分别以含氯化钠0.1%, 0.25%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.75%的磷酸盐缓冲溶液(1.0% SDS、pH 6.0) 1 000 mL为溶出介质, 其余溶出条件和测定方法同“2.2.1”项, 于10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min测定累积溶出度, 绘制的溶出曲线见图4。结果表明氯化钠浓度由0.1%增至0.75%时, 介质的溶出能力增强, 由于奥利司他在0.5%~0.75%氯化钠

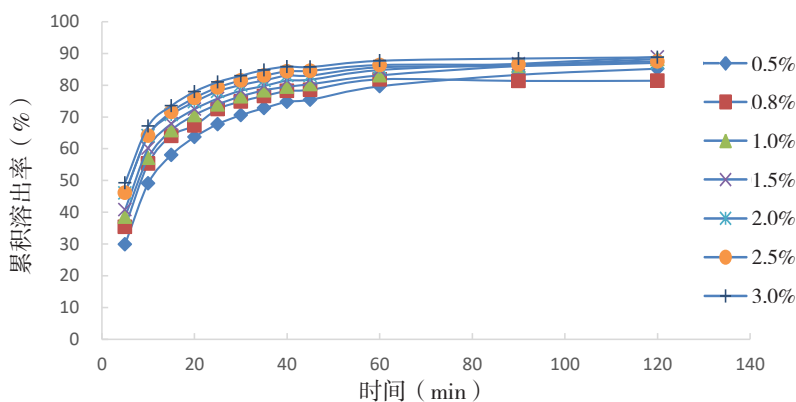


图2 含不同浓度SDS溶出介质的累积溶出曲线 ($n=6$)

Figure 2. Cumulative dissolution curve of dissolution media with different concentrations of SDS ($n=6$)

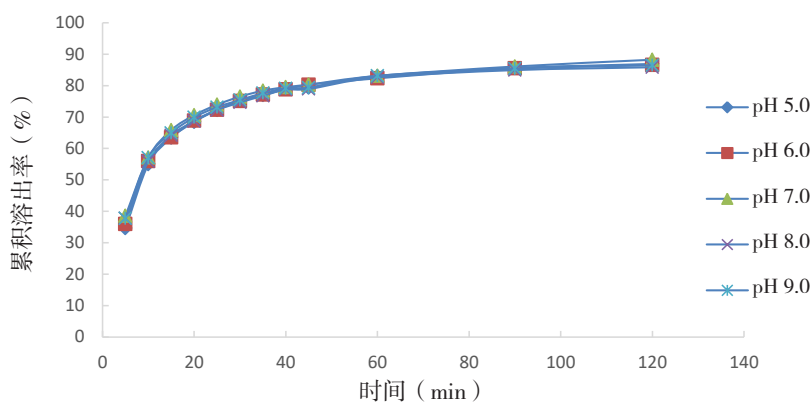


图3 不同pH溶出介质的累积溶出曲线 ($n=6$)

Figure 3. Cumulative dissolution curve of dissolution media with different pH ($n=6$)

浓度介质中的溶出能力差别不大，故选择现行标准中使用的 0.5% 氯化钠开展试验。

2.3 不同企业溶出曲线测定与参比制剂溶出曲线相似因子测定

以含 1.0% SDS、0.5% 氯化钠、pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液为溶出介质，在桨法、75 r · min⁻¹、

介质 1 000 mL 的条件下开展溶出试验，分别于 10, 20, 30, 45, 60 min 取样，对 6 家企业奥利司他胶囊的累积溶出度进行测定，并绘制溶出曲线（图 5），计算与参比制剂的溶出曲线相似因子（表 2）。结果仅 B 企业的溶出曲线相似因子大于 50。

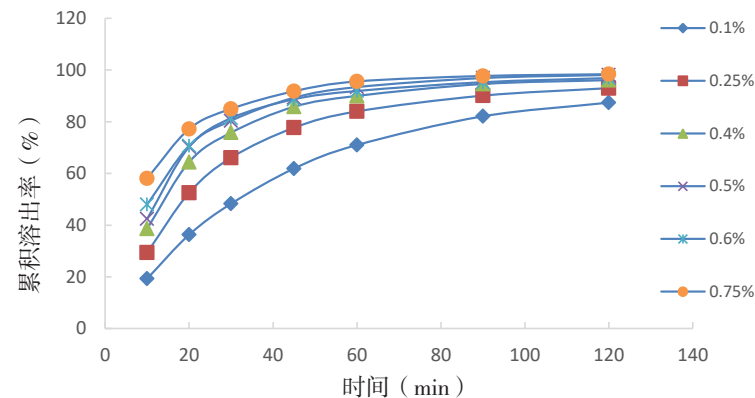


图4 含不同浓度氯化钠溶出介质的累积溶出曲线（n=6）

Figure 4. Cumulative dissolution curve of dissolution media with different concentrations of sodium chloride (n=6)

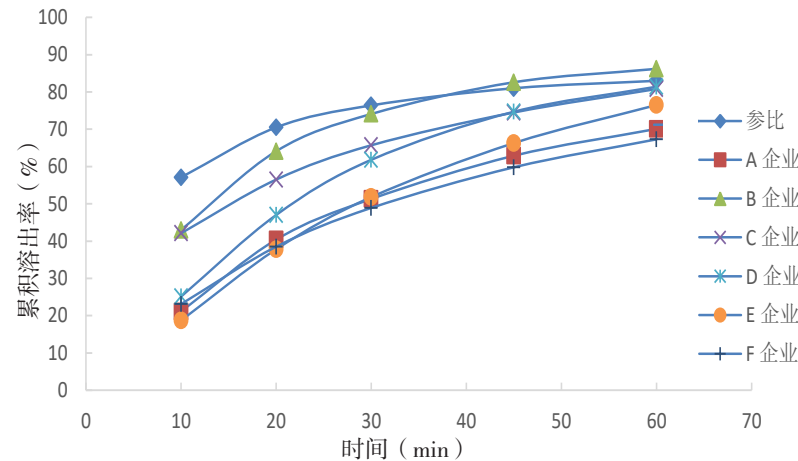


图5 参比制剂与不同企业奥利司他胶囊的累积溶出曲线（n=6）

Figure 5. Cumulative dissolution curve of reference preparation and orlistat capsules from different enterprises (n=6)

表2 参比制剂与不同企业奥利司他胶囊在45 min和120 min的累积溶出曲线及溶出曲线相似因子

Table 2. Cumulative dissolution curve and f2 factor of the reference preparations and different enterprise orlistat capsules at 45 and 120 min

生产单位	45 min累积溶出(%)	120 min最大溶出(%)	溶出曲线相似因子
参比	81	88	/
A 企业	63	86	29
B 企业	83	92	57
C 企业	74	90	48
D 企业	75	90	36
E 企业	66	93	29
F 企业	60	85	28

3 讨论

通过 HPLC 法色谱条件的摸索, 流动相乙腈-水比例为 85:15、流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、检测波长为 195 nm、进样量为 $20\text{ }\mu\text{L}$, 能避开 6 家企业辅料对主成分检测的干扰; 采用以 1.0% SDS、0.5% 氯化钠、pH 6.0 的磷酸盐缓冲液 1 000 mL 为溶出介质, 转速 $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的溶出条件开展累计溶出试验, 能有效区分 6 家企业的奥利司他胶囊与原研产品的溶出行为。

因本品在生物药剂学上分类为 4 类, SDS 的浓度为影响制剂溶出速率和溶出总量的主要因素; 溶出介质 pH 在 5.0~9.0 对溶出速率基本无影响; 随氯化钠浓度的增加, 介质的溶出能力增加; 溶出度检测方法方法学表明, 该检测方法专属性、线性、回收率均良好。

仅 B 企业与原研企业的溶出行为基本相似, A、C、D、E、F 与原研企业的溶出行为差异明显, 表明其处方组成与制备工艺有待进一步改进与提高。本方法的建立, 对我国进行奥利司他胶囊仿制药质量与疗效一致性评价具有一定的参考意义。

本研究仅对奥利司他胶囊的体外溶出行为开展研究, 且使用较高浓度的 SDS, 体内外溶出的行为可能产生差异, 后续还应通过人体生物等效性试验验证本品与参比制剂疗效的一致性。

参考文献

- 覃萌, 谭惠文, 余叶蓉. 减重药物奥利司他临床疗效与安全性的研究新进展 [J]. 华西医学, 2021, 36(9): 1297-1302. [Qin M, Tan HW, Yu YR. New progress in research on the efficacy and safety of weight-loss drug orlistat[J]. West China Medical Journal, 2021, 36(9): 1297-1302.] DOI: 10.7507/1002-0179.202011094.
- 訾梅, 李详霞. 奥利司他的不良反应及安全应用 [J]. 药物不良反应杂志, 2007, 9(3): 182-185. [Zi M, Li XX. Adverse reactions of orlistat and its rational application[J]. Adverse Drug Reactions Journal, 2007, 9(3): 182-185] DOI: 10.3969/j.issn.1008-5734.2007.03.008.
- 杨静, 苗爱东, 徐轶飞, 等. 国产与进口氯沙坦钾片溶出度曲线比较 [J]. 解放军药学报, 2016, 32(5): 414-419. [Yang J, Miao AD, Xu YF, et al. Comparison of dissolution curves of home-made and imported losartan potassium tablets[J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2016, 32(5): 414-419.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-9926.2016.05.010.
- 罗晓茹, 徐江, 李杉, 等. 不同厂家吲达帕胺缓释制剂的体外释放度考察 [J]. 解放军药学报, 2016, 32(5): 406-407. [Luo XR, Xu J, Li S, et al. Dissolution of indapamide sustained-release preparations of different manufacturers[J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2016, 32(5): 406-407.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-9926.2016.05.007.
- 周晓溪, 常俊兰, 付晓丽, 等. 国产与原研盐酸环丙沙星片的溶出曲线比较研究 [J]. 中国药事, 2016, 9(30): 919-922. [Zhou XX, Chang JL, Fu XL, et al. A comparative study on dissolution profiles between generic ciprofloxacin hydrochloride tablets and original tablets[J]. China Pharmaceutical Affairs, 2016, 9(30): 919-922.] DOI: 10.16153/j.1002-7777.2016.09.013.
- 王建, 曾红霞, 李佳妮, 等. 国产与日本西尼地平片溶出曲线相似性评价及溶出度区分力的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(17): 1493-1497. [Wang J, Zeng HX, Li JN, et al. Similarity evaluation of the dissolution curves of domestic and imported cilnidipine tablets and study on dissolution method with discriminatory power[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2016, 51(17): 1493-1497.] DOI: 10.11669/cpj.2016.17.013.
- 崔健, 陈小伟, 郝贵周. 奥利司他片的制备及体外溶出度考察 [J]. 药学研究, 2014, 33(4): 213-218. [Cui J, Chen XW, Hao GZ. Preparation and dissolution comparison of orlistat tablets[J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2014, 33(4): 213-218] DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2014.04.009.
- 韩敏, 姚忠明, 龚益飞. 奥利司他胶囊溶出度检测 [J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(4): 268-270. [Han M, Yao ZM, Gong YF. The dissolution detection of orlistat capsules[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(4): 268-270.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-8689.2013.04.007.
- 张银龙, 袁利兵, 李巧霞, 等. 帕博西尼胶囊溶出度检测方法的建立及多介质溶出曲线测定 [J]. 中国新药杂志, 2018, 5(27): 574-579. [Zhang YL, Yuan LB, Li QX, et al. Detection method establishment and the dissolution curves of palbociclib capsules in different medium[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2018, 5(27): 574-579.] DOI: CNKI:SUN:ZXYZ.0.2018-05-016.

- 10 朱荣, 黄丽丽, 朱健萍. 国产盐酸地芬尼多片与原研制剂的溶出曲线和有关物质对比研究 [J]. 药物分析杂志, 2021, 3(41): 501–507. [Zhu R, Huang LL, Zhu JP. Study on *in vitro* consistency evaluation of domestic difenidol hydrochloride tablets by the determination of related substances and dissolution curves[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2021, 3(41): 501–507.] DOI: 10.16155/j.0254–1793.2021.03.16.
- 11 刘鑫洋, 秦杰琛, 刘杰琛, 等. 非布司他片有区分力溶出度检测法的建立及溶出曲线相似性评价 [J]. 中国医药工业杂志, 2022, 1(53): 119–124. [Liu XY, Qin JC, Dong YP, et al. Establishment of a discriminatory dissolution method for febuxostat tablets and evaluation of the similarity of dissolution curves[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2022, 1(53): 119–124.] DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2022.01.014.
- 12 张娜, 刘茜英, 许俊博. 硝苯地平缓释片溶出曲线对比研究 [J]. 中国药师, 2021, 24(1): 176–180. [Zhang N, Liu QY, Xu JB. Comparative study on the dissolution curves of nifedipine sustained-release tablets[J]. China Pharmacist, 2021, 24(1): 176–180.] DOI: 10.3969/j.issn.1008–049X.2021.01.037.
- 13 黄丽丽, 朱荣, 奉艳花. 盐酸地芬尼多片溶出度测定一致性评价及体内外相关性研究 [J]. 中国药师, 2020, 23(11): 2138–2141. [Huang LL, Zhu R, Feng YH. Consistency evaluation of the dissolution of difenidol hydrochloride tablets and study of *in vivo*–*in vitro* correlation[J]. China Pharmacist, 2020, 23(11): 2138–2141.] DOI: 10.3969/j.issn.1008–049X.2020.11.012.

收稿日期: 2022 年 07 月 01 日 修回日期: 2023 年 09 月 19 日
本文编辑: 钟巧妮 周璐敏