

# 格列齐特缓释片的制备与人体生物等效性研究

王桂平;汪玲

(湖北省新华医院药学部, 武汉 430015)

[摘要] 目的制备格列齐特缓释片, 并测定其体外释放度与人体生物等效性。方法以正交设计确定格列齐特缓释片最优处方。缓释片释放度按《中华人民共和国药典》规定进行, 双周期自身对照交叉试验设计研究生物等效性。选择 20 例健康志愿者单剂量自身交叉口服实验制剂和参比制剂各 30 mg, 采用高效液相色谱-紫外法测定血药浓度。DAS 软件处理血药浓度数据并计算参数。结果选择 HPMC K4M 和 K15M 为骨架材料, 可制成稳定释药的缓释片。单剂量口服格列齐特试验制剂和参比制剂 30 mg,  $AUC_{0 \rightarrow 48}$  分别为  $(15.4 \pm 4.1)$  和  $(14.2 \pm 3.7)$   $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  分别为  $(16.3 \pm 3.1)$  和  $(15.1 \pm 3.9)$   $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $C_{\text{max}}$  分别为  $(0.87 \pm 0.32)$  和  $(0.72 \pm 0.21)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $t_{\text{max}}$  分别为 8.7 和 7.2 h。以  $AUC_{0 \rightarrow 120}$  计算, 20 例健康志愿者单剂量口服试验制剂格列齐特缓释片的相对生物利用度为  $(109.57 \pm 23.10)\%$ 。结论该实验优选处方制备的格列齐特缓释片具有缓释特性, 两种制剂生物等效。[关键词] 格列齐特;缓释片;生物等效性 [中图分类号] R977.1; R969 [文献标识码] A [文章编号] 1004-0781 (2006) 11- 1132-03

格列齐特属磺酰脲类降糖药, 为第 2 代磺脲类降糖药, 能够增加胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素的能力, 改善胰岛素的延迟分泌, 降低餐后血糖高峰, 临床用于治疗 2 型糖尿病。法国 Servier 公司已成功设计开发了低剂量 (30 mg) 格列齐特缓释片并已上市。笔者在本实验中以羟丙甲基纤维素 (HPMC) 为缓释片的骨架材料, 以淀粉和乳糖为添加剂, 制备格列齐特缓释片 [1], 并考察格列齐特缓释片的缓释特性与健康人体药动学和生物利用度, 现报道如下。

## 1 仪器与试药

1.1 仪器 UV 260 分光光度计(日本岛津), ZRS 4 智能药物溶出仪(天津大学无线电厂), ZDY 8 型单冲异形压片机(上海远东制药机械总厂), WATERS 高效液相色谱仪 [2487 紫外检测器, Hypersil C18 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 10  $\mu\text{m}$ )。]

1.2 试药格列齐特对照品(天津新新药业, 含量: 99.85%, 批号: 040427), 自制格列齐特缓释片样品(批号:20040411, 20040416, 20040418), 参比制剂格列齐特缓释片(法国 Servier 公司生产, 规格: 每片 30 mg, 批号: A 0452004)。羟丙甲基纤维素 (HPMC K4M, HPMC K15M; 英国卡乐康公司生产); 聚维酮 (PVP K30, 中国医药集团上海化学试剂公司); 乳糖 (上海试剂二厂); 无水乙醇 (上海振兴化工一厂); 淀粉、硬脂酸镁 (湖北科益药业有限公司提供)。所用试剂均为分析纯。

[收稿日期] 2006 04 17 [修回日期] 2006 05 20 [作者简介] 王桂平 (1967—), 男, 湖北云梦人, 硕士, 副主任药师, 主要从事药学及科研管理工作。电话: 027-65600885, E-mail:wkwgp121@yahoo.com.cn。

## 2 方法与结果

2.1 格列齐特缓释片的制备称取处方量的 HPMC、硬脂酸、乳糖、淀粉与格列齐特原料药, 充分混匀, 过筛孔内径  $(180.0 \pm 7.6)$   $\mu\text{m}$  [80 目筛] 2 次, 用 10% 聚乙烯吡咯烷酮的乙醇溶液作黏和剂, 筛孔内径  $(850 \pm 29)$   $\mu\text{m}$  (24 目筛) 湿法制粒, 60  $^{\circ}\text{C}$  鼓风烘干约 30 min, 取出用内径为  $(850 \pm 49)$   $\mu\text{m}$  筛 (24 目筛) 整粒, 测定颗粒含量, 加入硬脂酸镁混匀后, 压制成型片, 片重约 180 mg, 压力 8~10 G。

## 2.2 体外释放度测定

2.2.1 检测波长精密称取格列齐特对照品 30 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 用水稀释并定容。精密移取 5.0 mL 置于 100 mL 容量瓶中, 用纯化水稀释至刻度, 配成约 15  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的

格列齐特溶液，同时配制辅料溶液，滤过后，在紫外分光光度计上于 200 ~400 nm 波长范围内扫描，结果格列齐特对照品在 227 nm 波长处有最大吸收，且辅料无干扰。

2.2.2 方法学研究取格列齐特对照品约 30 mg，精密称定，置于 100 mL 容量瓶中，加磷酸盐缓冲液(pH 值=8.6)适量，超声处理使溶解，并加磷酸盐缓冲液(pH 值=8.6)至刻度，摇匀，精密量取 10 mL，置于 100 mL 容量瓶中，加磷酸盐缓冲液(pH 值=8.6)稀释至刻度，精密吸此溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 置于 10 mL 容量瓶中，加磷酸盐缓冲液(pH 值=8.6)稀释至刻度，摇匀，在 227 nm 波长处测定吸光度，并以浓度 (C, mg · L<sup>-1</sup>) 为横坐标，吸光度(A) 为纵坐标，进行线性回归，得  $A=4.80 \times 10^{-3} + 4.01 \times 10^{-2} C$ ,  $r=0.9998$ ，线性范围为 3.16~18.17 μg · mL<sup>-1</sup>。日内和日间 RSD 均 <4%。方法回收率在 99.06 %~101.07%。取释放度测定项下的供试品溶液，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 测定吸光度，结果显示，本品在磷酸盐缓冲液(pH 值=8.6)中 12 h 内稳定。

2.2.3 样品测定取格列齐特缓释片，照释放度测定法(《中华人民共和国药典》(2005 年版)二部附录 XD 第一法)，采用溶出度测定法第一法装置，以磷酸缓冲溶液 (pH 值=8.6) 1 000 mL 为释放递质，转速为 150 r · min<sup>-1</sup>，依法操作，分别于 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 和 12.0 h 分别取样 8 mL (同时补充同温等量递质)，过滤。取续滤液用磷酸缓冲溶液 (pH 值=8.6) 适当稀释后于 227 nm 波长处测定吸光度。续滤液作为供试品溶液，分别照释放度测定法项下的方法，测定每片在上述各时间点的释放量。结果如图 1。骨架缓释片的体外释放规律一般用 Higuchi 方程进行描述，即认为累积溶出度与时间的平方根存在线性关系 [2]，本实验优选处方缓释片体外释放度结果用 Higuchi 方程 (以 t<sup>1/2</sup> 为横坐标，Q 平均值为纵坐标作图) 描述如下： $Q=39.625t^{1/2}-25.997$ ,  $r=0.9854$ 。

图 1 优选处方体外释放度结果 (n=6)

### 2.3 人体药动学试验

2.3.1 色谱条件固定相: Hypersil C18 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 10 μm); 流动相: 乙腈枸橼酸溶液 (取枸橼酸钠 1.5 g 加水至 500 mL, 用枸橼酸调节 pH 值至 3.0) (60: 40); 检测波长: 227 nm; 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30℃; 进样量: 20 μL, 能将格列齐特与血浆样品分开。

2.3.2 血样的处理与测定精密吸取血浆样品 1 mL, 置于 10 mL 具塞离心试管中, 加二氯甲烷 6 mL, 混匀, 离心。有机相于 45 °C 水浴中氮气吹干, 残渣用流动相 50 μL 溶解, 取 20 μL 进样。在上述色谱条件下分离测定, 记录色谱图。测得的空白血浆、对照品及血浆样品的色谱图。血浆中物质不影响格列齐特的分离测定。血浆格列齐特保留时间约为 6.9 min。

2.3.3 标准曲线的绘制精密吸取空白血浆 0.9 mL, 分别加入一系列不同浓度格列齐特标准溶液 0.1 mL, 混匀, 使血浆格列齐特浓度分别为 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 1.00, 2.00 mg · L<sup>-1</sup>, 按照血浆样品处理与测定方法项下, 从“置于 10 mL 具塞离心试管中”起开始操作, 依法绘制标准曲线。以峰面积值 (Y) 为纵坐标, 格列齐特浓度(C, mg · L<sup>-1</sup>) 为横坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程: $C=4 \times 10^{-6} A - 0.0064$  ( $r=0.9995$ )。结果表明, 血浆中格列齐特浓度在 0.05~2.00 mg · L<sup>-1</sup> 范围内, 浓度与峰面积比有良好的线性关系, 最低检测限 0.05 mg · L<sup>-1</sup>。

2.3.4 方法学研究精密吸取空白血浆 0.9 mL, 按标准曲线绘制方法, 配制含格列齐特 0.1, 0.4, 1.5 mg · L<sup>-1</sup> 3 种不同浓度的血浆样品, 按血浆样品的处理与测定方法, 从“置于 10 mL 具塞离心试管中”开始操作, 依法测定回收率。3 种不同浓度的样品回收率分别为 87.3%, 105.0% 和 97.5%。同时取 1 d 内 5 次测定结果计算日内相对标准差, 以 10 d 内 5 次测定结果计算日间相对标准差。3 种浓度的日内相对标准差 ≤2.6%, 日间相对标准差 ≤3.6%。结果见表 1。

表 1 血浆中格列齐特精密测定结果 n=5,  $\bar{x} \pm s$  理论浓度/

(mg · L<sup>-1</sup>)批内精密度实测值 RSD/

%批间精密度实测值 RSD/

%方法回收率实测值 RSD/

%0.100.10 ± 0.0112.000.10 ± 0.021599.15 ± 8.296.240.400.40 ± 0.023.500.40 ± 0.043.2100.54 ± 4.385.321.501.50 ± 0.322.101.50 ± 0.413.1101.25 ± 4.233.722.3.5 血药浓度的测定 20 例健康男性志愿者, 平均年龄 (23.2 ± 2.2) 岁(21~31 岁), 平均体重 (59.6 ± 3.6) kg(56~65 kg), 受试者无药物致变态反应史及变态反应性疾病史, 无肝肾功能及心脏功能异常, 近两周内未使用过任何药物。于试验前进行肝、肾功能及心电图检查, 均正常。试验中禁服其他药物, 受试期间禁烟、酒、茶及果汁, 统一饮食。试验得到同济医学院伦理审查委员会审批准。受试者均签署知情同意书。受试者采用单剂量交叉试验, 服用剂量为 30 mg。清洗期为 1 周。受试制剂和参比制剂分别为自制格列齐特缓释片和 Seviar 公司生产的缓释片。受试者服药前 24 h 及采血期间禁烟、酒、咖啡类及其他含药品的饮料, 服药后禁止剧烈体育运动, 亦不得长时间卧床。试验前 12 h 进清淡晚餐后禁食, 于次日清晨 7: 00 按随机分组的安排分别服用试验药 (T) 或参比药 (R) 各 30 mg, 200 mL 温开水送服。服药 2 h 后方可再饮水, 4 h 后进统一低脂清淡饮食; 服药及采血期间均留在 I 期临床试验室观察 [3]。服药前取空白血, 服药后分别于 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36, 48 h 取静脉血 4 mL, 放入肝素化的试管, 3 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取血浆, 40℃ 保存备测。血药浓度测定按“2.3.2”项方法进行。结果见图 2。由图可见, 受试制剂与参比制剂在体内的血药浓度变化基本相同。图 2 两种格列齐特缓释片在健康志愿者体内的药时曲线

2.3.6 药动学分析每位受试者的血药浓度-时间数据用 DAS2.0 程序处理。分别用单室、双室模型拟合, 结果表明格列齐特的体内过程用单室模型描述较适宜。药动学参数见表 2。将所得药动学参数用 DAS 软件进行统计学计算。AUC 和 C<sub>max</sub> 采用方差分析、双单侧 t 检验和置信区间估计; t<sub>max</sub> 采用非参数法检验 (Wilcoxon 秩和检验), 对两种制剂做出生物等效性评价。结果试验制剂与参比制剂的相对生物利用度为 (109.57 ± 23.1) %。试验制剂 AUC<sub>0→48</sub>、AUC<sub>0→∞</sub> 的 90% 可信区间均落在参比的 80 %~125% 范围内, 试验制剂 C<sub>max</sub> 90% 的可信区间落在对照药 70%~143% 范围内。t<sub>max</sub> 在两制剂间差异无显著性 (P>0.05), 说明试验制剂与参比制剂生物等效。

表 2 格列齐特药动学参数药物 t<sub>max</sub>/

hC<sub>max</sub>/

(mg · L<sup>-1</sup>) t<sub>1/2</sub>/

hAUC<sub>0~48</sub>/

(mg · h<sup>-1</sup> · L<sup>-1</sup>) AUC<sub>0~∞</sub>/

(mg · h<sup>-1</sup> · L<sup>-1</sup>) 试验药 8.70.87 ± 0.3212.3 ± 1.915.4 ± 4.116.3 ± 3.1 对照药 7.20.72 ± 0.2112.8 ± 1.614.2 ± 3.715.1 ± 3.93 讨论笔者在文献 [4, 5] 的基础上建立了测定血浆格列齐特浓度的高效液相色谱法, 采用二氯甲烷提取的方法, 可以提高提取回收率。用不同规格的固定相, 并对流动相加以修改可以对血浆格列齐特浓度进行测定, 并能够达到所需的分离度和灵敏度。将本实验中格列齐特主要药动学参数与文献 [4, 5] 结果进行比较, 健康志愿者服用格列齐特后主要药动学参数基本相同, 说明测定方法可行, 试验制剂与参比制剂生物等效。

[参考文献]

[1] 宗莉, 王柏, 张宁. 双氯芬酸钾缓释片的研制及释药特性的探讨 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32 (3): 206-208.

[2] 王建. 盐酸地尔硫控释胶囊人体内外相关性 [J]. 中国临床药理学杂志, 1999, 3(8): 146.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [Z]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 附

录 193—197.

- [4] 刘宝林. 格列齐特缓释片的制备与释放度测定 [J]. 江苏药学与临床研究, 2004, 12 (3):27—28.
- [5] 卢骏, 吴涛, 胡建平. 格列齐特缓释片的制备及体外释放度 [J]. 中国医药工业杂志, 2004, 35(7):410—412.