采用高分辨显微成像技术从药物制剂结构角度分析盐酸特拉唑嗪片溶出度测定结果

昝孟晴，黄韩韩，张广超，马玲云，许鸣镝，牛剑钊*，刘倩*（中国食品药品检定研究院，国家药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室，北京 100050）

摘要　目的：探究盐酸特拉唑嗪片溶出度测定结果不满足标准限度要求的原因。**方法：**利用高分辨率显微CT技术对盐酸特拉唑嗪片的内部微观结构进行观察分析。**结果：**对二者的内部三维结构进行对比发现，溶出度测定结果不满足标准限度要求的样品与参比制剂相比具有更大的孔隙率。**结论：**推测由于样品孔隙率过大，导致样品在常规溶出杯500 mL介质中产生了堆积效应，在主成分溶解前被辅料覆盖聚集于溶出杯底部，导致溶出度测定结果不满足标准限度要求。

关键词：溶出度；孔隙率；桨法；异形溶出杯；高分辨率显微CT技术

中图分类号：R917　**文献标识码：**A　**文章编号：**1002-7777(2023)02-0187-05
doi:10.16153/j.1002-7777.2023.02.009

Analysis of the Dissolution Test Results of Terazosin Hydrochloride Tablets from the Perspective of Pharmaceutical Preparation Structure by High-resolution Microscopic Imaging Technology

Zan Mengqing, Huang Hanhan, Zhang Guangchao, Ma Lingyun, Xu Mingdi, Niu Jianzhao*, Liu Qian* (National Institutes for Food and Drug Control; Key Laboratory for Research and Evaluation of Chemical Drug Quality, National Medical Products Administration, Beijing 100050, China)

Abstract　Objective: To explore the reasons for the dissolution test results of terazosin hydrochloride tablets failed to meet the standard limit requirements. **Methods:** The internal microstructure of terazosin hydrochloride tablets was observed and analyzed by high-resolution micro-CT technology. **Results:** Comparing the internal three-dimensional structures of the two, it was found that the samples in which dissolution test results did not meet the requirements of the standard limit had larger porosity than that of the reference preparation. **Conclusion:** It is speculated that due to the excessive porosity of the sample, the sample has a stacking effect in the 500 mL medium of the conventional dissolution vessel. The sample is covered by the excipients and aggregated at the bottom of the dissolution vessel before the main component is dissolved, resulting in the dissolution test result not meeting the standard limit requirements.

Keywords: dissolution; porosity; paddle method; special-shaped dissolution vessel; high-resolution micro-CT technology

基金项目：国家重点研发计划——重大疾病治疗药物制剂质量研究评价技术联合研究（编号 2020YFE0201700）
作者简介：昝孟晴 Tel：（010）67095626；E-mail：2964706242@qq.com
通信作者：牛剑钊 Tel：（010）67095456；E-mail：njz@nifdc.org.cn
刘倩 Tel：（010）67095626；E-mail：liuqian@nifdc.org.cn

盐酸特拉唑嗪是一种选择性α1受体抑制剂，对突触后α1受体有选择性抑制作用，临床用于治疗轻度或中度高血压，还能用于良性前列腺增生引起的症状治疗[1]。我国是仿制药大国，仿制药占据化学药品批准文号总量的90%以上，对仿制药开展一致性评价有助于提升我国仿制药整体质量水平[2]，而溶出度试验作为体内生物等效性研究的体外代替方法，在仿制药质量及疗效一致性评价中占据重要地位[3-5]。溶出度是指活性药物从片剂、胶囊剂或颗粒剂等普通制剂在规定条件下溶出的速率和程度，在缓释制剂、控释制剂、肠溶制剂及透皮制剂中的溶出速率和程度，也称释放度[6-7]。通常采用高效液相色谱法或紫外-可见光光度法来测定制剂在规定时间内溶出或释放的药物量[8]，而盐酸特拉唑嗪片的溶出量在2020年版《中国药典》中规定采用紫外-可见光光度法在246 nm波长处测定其吸收度[9]，进而计算其溶出量。

药物制剂的结构影响药物疗效的产生，相同的活性药物成分、剂型不同，其疗效很可能也不相同。此外，制剂结构会影响药物的释放行为和体内药代动力学行为，因此制剂结构在药物制剂设计及质量评价中占据重要地位[10-12]。为了评价药物制剂的质量，需要对其结构进行可视化。高分辨X射线显微成像技术（High-resolution Micro-CT Technology）利用X射线的强穿透能力对样品进行扫描，探测器采集到的信号经计算机相关软件分析处理可达到定量表征样品内部三维结构的目的[12-13]。该技术分辨率高、不需复杂的样品制备过程、不破坏样品、所需样品用量少，已成为研究固体物质微观结构的重要工具[14-15]。

本研究通过更换常规溶出杯为异形杯、采用高分辨X射线显微成像技术对药物制剂进行扫描来探究某厂家盐酸特拉唑嗪片按照法定检验标准进行溶出度检查时，溶出量不满足法定标准限度要求的可能原因。

1 材料与方法

1.1 主要试药和仪器

试药：仿制盐酸特拉唑嗪片（批号01120004，厂家A；批号210101，厂家B；批号2101015，厂家C；批号20030314，厂家D；批号20201001，厂家E；批号A201140，厂家F；批号201042204，厂家G）、盐酸特拉唑嗪片参比制剂（批号217385U，上海雅培制药有限公司）、盐酸特拉唑嗪对照品（批号100375-201904，纯度91.90%，购于中国食品药品检定研究院）。

仪器：UV-2700紫外-可见光光度计（岛津公司）；Agilent 850-DS溶出度仪（安捷伦公司）；SkyScan1272 High Resolution Micro-CT（Bruker公司）。

1.2 方法

1.2.1 按照法定检验标准进行溶出度试验

以0.1 mol·L^{-1}盐酸500 mL为溶出介质，采用桨法，转速为50 r·min^{-1}，经30 min取样，取溶出液滤过，弃去初滤液，取续滤液作为供试品溶液；取盐酸特拉唑嗪对照品适量，加溶出介质定量稀释制备对照品溶液；取供试品溶液与对照品溶液适量，按照紫外-可见分光光度法（2020年版《中国药典》通则0401），在246 nm波长处分别测定2种溶液的吸收度，并计算每片溶出量，限度为85%。

1.2.2 采用异形溶出杯进行溶出度试验

采用异形溶出杯（型号Agilent TruAlign，见图1），将溶出度不合格样品按照“1.2.1”项下方法进行溶出度试验。

1.2.3 高分辨三维X射线结构分析的探索性研究

采用BRUKER公司的SKYSCAN 1272高分辨台式Micro CT，启动设备，光管老化15 min，待仪器稳定后，取盐酸特拉唑嗪片，将其固定在样品托上，再将样品托固定在旋转样品台上，保持片剂中心和样品台中心一致。根据该片剂的大小及分析目标，选择适合该片剂的滤光片为AL 0.25 mm，电压和电流将随着滤光片的变化而改变为60 kV，66 μA。将样品移出视野，禁用平场校正，更新明场和暗场数据，启动平场校正。对图像质量进行评估，确保分析部位全都在扫描区域内，且整个图像中不同部位的对比度清晰，最终调整样品到光源的距离为56.80700 mm，探测器到光源的距离为274.76120 mm，旋转步长为0.1°， 180° 扫描，图像分辨率为2.999949 μm，然后开始对固体药物制剂进行扫描。

对采集的二维透射投影图像，利用重构软件对所得二维图像进行降噪、优化、分割、提取等处理后，采用分析软件进行定量分析，得到如孔隙率、局部孔径大小等定量表征盐酸特拉唑嗪片内部三维结构的结构参数，依此对比原研厂家和仿制厂

家的盐酸特拉唑嗪片的结构差异。

2 结果与讨论

2.1 法定检验中盐酸特拉唑嗪片的溶出情况

按照2020年版《中国药典》盐酸特拉唑嗪片溶出度检查项下规定，进行溶出度试验，试验结果显示其中厂家A有5片的溶出量均小于标示量的85%，6片平均溶出量为标示量的81%，见表1，判定该批样品为溶出度检查不合格。与其他厂家样品相比，目测可观察到该批次样品在溶出杯底有明显的堆积现象。

表 1 法定检验中盐酸特拉唑嗪片的溶出情况 %

来源	片剂编号					
	1	2	3	4	5	6
参比制剂	97.94	96.35	91.76	98.82	100.76	99.0
厂家 A	77.37	78.80	78.44	85.97	83.46	80.77
厂家 B	96.66	96.66	96.31	96.48	99.07	97.69
厂家 C	98.99	88.85	100.46	91.98	101.93	100.09
厂家 D	94.56	97.82	98.16	97.48	90.44	91.13
厂家 E	90.04	89.71	92.56	90.04	90.55	89.88
厂家 F	90.38	92.56	91.56	93.90	91.05	88.54
厂家 G	101.79	103.35	105.68	101.21	101.99	105.49

2.2 采用异形杯后盐酸特拉唑嗪片的溶出情况

将普通溶出杯更换为异形杯，按照2020年版《中国药典》对盐酸特拉唑嗪片溶出度检验的要求再次进行试验。目测观察，采用异形杯可明显改善样品（批号01120004，厂家A）的堆积现象，溶出度结果显示，6片溶出量均达到标示量的85%以上，均满足限值要求，见表2。推测该批样品在常规溶出杯中产生了堆积效应，片剂快速崩解，在主成分溶解前辅料已经聚集于溶出杯底部，见图1，而样品堆积部位由于桨的搅拌力减弱，未能在溶出介质中均匀分散[16]。

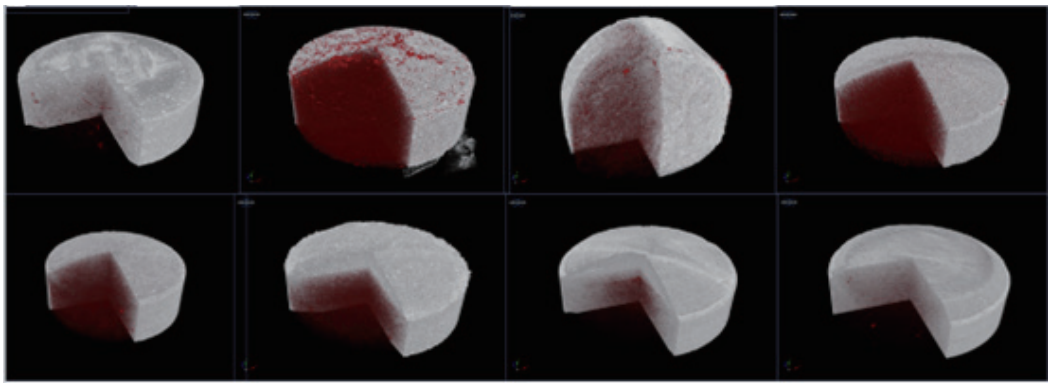
表 2 采用异形杯后盐酸特拉唑嗪片的溶出情况 %

溶出杯号	1	2	3	4	5	6
每片溶出量	102.86	100.52	97.47	96.21	103.40	91.53

图 1 异形杯示意图及桨法的水流动力学分布图

2.3 SkyScan1272 高分辨率显微CT（High-resolution Micro-CT）对盐酸特拉唑嗪片的结构分析

通过重构软件和分析软件得到8个厂家共8个样品的三维结构图，见图2。将溶出度不合格样品和参比制剂的结构进行对比分析，二者局部孔径大小分布见图3。由图可知，二者的局部孔径尺寸大多数都分布在10～20 μm，平均孔径大小分布没有较大差别。但通过分析制剂的孔隙率（片剂表观体积中，除原辅料外，内部的孔隙占总体积的比例），发现溶出不合格样品的孔隙率远大于参比制剂，分别为 32.851%（仿制制剂）和6.545%（参比制剂），见图4（图4中白色部分代表主药和辅料，红色部分代表孔隙）。从结构对比结果推测，溶出度不合格样品可能是由于孔隙率偏大，因而能迅速吸收大量水分，由于重力作用而沉积在普通溶出杯底部。



注：第一排从左向右依次为参比制剂、厂家 A、B、C; 第二排从左向右依次为厂家 D、E、F、G。

图 2 8 个厂家盐酸特拉唑嗪片的三维结构图

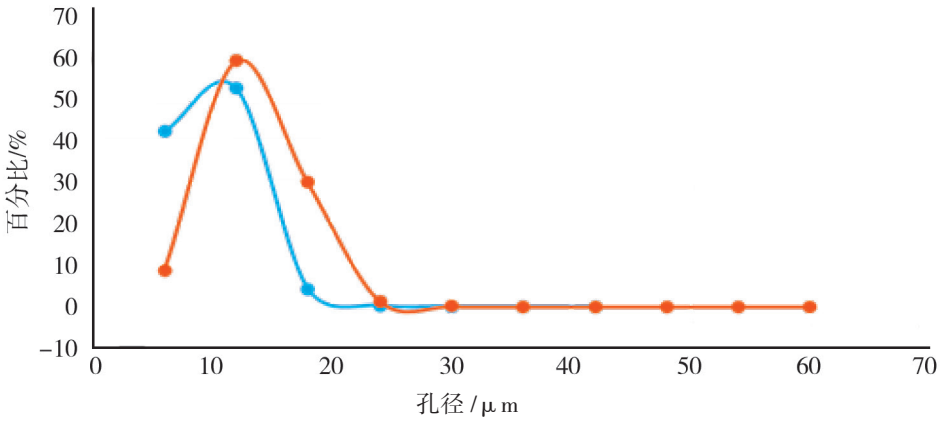


图 3 参比制剂样品（蓝色）和溶出度不合格样品（橘色）的局部孔径大小分布

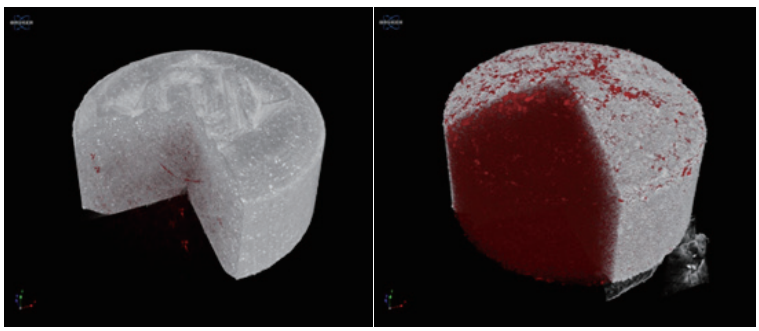


图 4 参比制剂（左图）和溶出度不合格样品（批号 01120004）（右图）的三维结构图

3 结论

本研究是在发现厂家A生产的某一批次盐酸特拉唑嗪片按照法定检验标准进行溶出度检查时，溶出量低于标准限度要求这一现象的基础上进行的。通过更换常规溶出杯为异形杯，结果发现30 min后，该批样品在溶出杯底部堆积的体积减少，该批次样品的溶出度满足标准要求。采用高分辨X射线显微成像技术对参比制剂和7个仿制制剂进行同等条件下扫描，发现相同的活性药物成分、处方不同、制备工艺不同，其制剂内部三维结构存在很大差异，观察到溶出度不合格的厂家其片剂的孔隙率明显大于参比制剂。因而推测不合格样品因孔隙率偏大，在短时间内吸收大量溶出介质而质量增大，由于重力作用沉积于溶出杯底部，产生堆积现象。采用桨法在常规溶出杯中进行溶出度试验时，由于桨的水流动力学分布不均匀，搅拌力在溶出杯底部减弱，这可能会导致沉积在溶出杯底部的样品无法在溶出介质中均匀分散，从而导致样品溶出度不满足限度要求[16]。

本研究在现有检验检测手段的基础上，将高分辨X射线显微成像技术应用于药品结构分析，从制剂静态三维结构出发，探究了常规片剂溶出度不合格的可能原因，为评价不同厂家生产的相同产品的质量提供了新的技术手段，为药品研发、审评、生产、质控和上市后监管服务提供了新的研究思路和理论依据。

参考文献：

[1] Zou Hongyan, Wu Hailong, OuYang Liun, et al. Fluorescent Quantification of Terazosin Hydrochloride Content in Human Plasma and Tablets Using Second-Order Calibration Based on Both Parallel Factor Analysis and Alternating Penalty Trilinear Decomposition[J]. Analytica Chimica Acta，2009，650：143-149.

[2] 许明哲，陈敬，翟琛琛，等. 我国仿制药品质量差异研究[J]. 中国新药杂志，2020，29（18）：2148-2152.

[3] 胡昌勤，潘瑞雪. 溶出度试验评价/预测固体口服制剂生物等效性的研究进展[J]. 中国新药杂志，2014，23（1）：44-51.

[4] Nickerson Beverly, Kong Angela, Gerst Paul, et al. Correlation of Dissolution and Disintegration Results for an Immediate-Release Tablet[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis，2018，150：333-340.

[5] 王丽葵，陈中亚，王威，等. 国内外溶出度测定即评价方法的异同点[J]. 中国医药工业杂志，2015，46（5）：519-524.

[6] Kaur Navpreet, Narang Ajit, Bansal Arvind Kumar. Use of Biorelevant Dissolution and PBPK Modeling to Predict Oral Drug Absorption[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics，2018，129：222-246.

[7] 张晓凤. 溶出度在药物质量评价中的应用[J]. 哈尔滨医药，2016，36（S1）：112-113.

[8] SardharaRusha, Chaturvedi Kaushalendra, Shah Harsh S, et al. Predictive Performance Comparison of Computed Linear and Quadratic Multivariate Models for In-Situ UV Fiber Optics Tablet Dissolution Testing[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences，2021，161：105806.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：1088.

[10] 张继稳，孟凡月，肖体乔. 从结构出发的制剂一致性研究策略[J]. 药学学报，2017，52（5）：659-666.

[11] 孙娴. 微粒制剂结构与体内分布研究[D]. 上海：中国科学院大学（中国科学院上海药物研究所），2020.

[12] 杨婷，李哲，冯道明，等. 结构药剂学与中药制剂结构研究进展[J]. 药学学报，2021，56（8）：2070-2085.

[13] 陈洁. 高分辨率X射线成像技术与应用研究[D]. 合肥：中国科学技术大学，2010.

[14] Du GH，Cheng RC，Xie HL，et al. The Micro-tomography in Synchrotron Radiation[J]. Prog Biomed Eng（生物医学工程学进展），2009，30：226-231.

[15] 杨硕，殷宪振，李海燕，等. 同步辐射显微CT研究药物制剂结构的进展[J]. 生命科学，2013，25（8）：794-802.

[16] Higuchi Mizuki, Yoshihashi Yasuo, Tarada Katsuhide, et al. Minimum Rotation Speed to Prevent Coning Phenomena in Compendium Paddle Dissolution Apparatus[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences，2014，65：74-78.

（收稿日期 2022年3月17日 编辑 肖妍）