文章编号：1001-8689(2019)06-0697-04

分析质控与制剂

甲硝唑口颊片的释放度测定及不同测定方法的结果比较

谢莉 张亿 朱蓉 熊玲 陈红*
(成都市食品药品检验研究院，成都 610045)

摘要：建立测定甲硝唑口颊片释放度的方法，并对不同装置不同厂家测定的释放曲线进行比较。分别采用新建立的流通池法、篮法以及原标准的小杯法考察甲硝唑口颊片的体外释放特性，在规定时间点取样后采用 HPLC 测定。对测定结果进行释药曲线的相似性分析和威布尔参数的统计学分析。甲硝唑在 3.012~50.20μg/mL 内线性关系良好 (r=0.9999)，样品溶液在 24h 内稳定。相同装置下，不同厂家释放曲线不相似。经 Weibull 方程拟合后，A 厂样品在篮法和流通池法下，得到的特征溶出参数不存在显著性差异 (P>0.05)，B 厂样品在不同装置下得到的特征溶出参数存在显著性差异 (P<0.01)。不同厂家甲硝唑口颊片的释放特性存在明显差异，本研究所建流通池法和篮法均可用于甲硝唑口颊片的释放度检查，对完善甲硝唑口颊片的质量控制有指导意义。

关键词：甲硝唑；口颊片；流通池法；篮法；释放度；释放曲线；威布尔参数

中图分类号：R978.1　　**文献标志码**：A

Determination of the release rate of metronidazole buccal tablets and the comparison of different methods

Xie Li, Zhang Yi, Zhu Rong, Xiong Ling and Chen Hong
(Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045)

Abstract To establish a method for determination of the release rate of metronidazole buccal tablets, and compare the release curves among different test methods and among different manufacturers. The newly established flow-through cell method, the basket method and the original small vessel method were employed to investigate the dissolution characteristics of all the samples, and the concentrations of each sampling point were determined by HPLC. The dissolution data were used to analyze the similarity of the release curves and statistical significance of Weibull parameters. The linear correlation of metronidazole was observed in the range of 3.012~50.20μg/mL (r=0.9999), and the sample solution was stable in 24h. With the same device, the drug release curves of different companies were not similar. The results of these methods were analyzed by the Weibull equation, and there was no significant difference in the characteristic dissolution parameters of samples from A manufacturer with the basket method and the flow-through method (P>0.05), but there was significant difference in the parameters of samples from B manufacturer (P<0.01). There was significant difference in dissolution parameters among the metronidazole buccal tablets from different manufacturers. These methods including the flow-through cell method and the basket method could both be used to determine the release of metronidazole buccal tablets. This study is of guiding significance to improve the quality control of metronidazole buccal tablets.

Key words Metronidazole; Buccal tablet; Flow-through cell method; Basket method; Release rate; Release curve; Weibull parameter

收稿日期：2018-06-12

作者简介：谢莉，女，生于 1989 年，主管药师，主要研究方向为药品质量控制，E-mail: 715614831@qq.com
* 通讯作者，E-mail: 184217019@qq.com

甲硝唑是临床使用历史较久的一种广谱抗厌氧菌药和抗滴虫药，其不同给药途径分别发挥着全身作用和局部作用。当其发挥全身作用时，由于较多副作用的产生，已逐渐被替硝唑、奥硝唑等硝基咪唑类衍生物替代。当其制成栓剂、凝胶等剂型局部给药时，发挥着良好的疗效，并且副作用少。甲硝唑口颊片可用于牙龈炎、牙周炎、冠周炎及口腔溃疡，一般将其置于牙龈和龈颊沟间含服，用于口腔溃疡时黏贴于黏膜患处。目前该品种有两个生产厂家。中国药典以及其他国家药典均未收载该品种。两厂家样品的执行标准分别为 YBH03122014[1] 以及 WS_{1}-(X-523)-2003Z[2]，两标准进行的释放度检查采用的装置均为小杯法，溶出介质均为 0.1mol/L 的盐酸溶液，测定方法分别为 HPLC 法和 UV 吸收系数法。但由于唾液的 pH 值为 6.0~7.5[3]，原释放度检查方法采用的溶出介质酸度太高，不能模拟药物溶出的真实生理环境，介质选择不合理。且美国 FDA 溶出方法数据库中公布的口腔用药膜或药物贴片的溶出介质多为磷酸盐缓冲液 [4]，本研究采用磷酸盐缓冲液 (pH6.6) 作为溶出介质。

小杯法是我国特有的溶出度检查方法，最早收载于 1995 年版中国药典。该方法被收载的主要原因是 20 多年前，仪器的检测灵敏度低，小剂量固体制剂在篮法和桨法装置下的样品溶液浓度低于仪器检测灵敏度，小杯法通过使用较少的溶出介质，提高了样品溶液的浓度，使得小剂量固体制剂的溶出度有法可控，得以全面控制该类固体制剂的质量。而现阶段仪器的检测灵敏度普遍较高，用桨法检查小剂量固体制剂也能找到与之相适的高灵敏度检测方式，保留小杯法的现实意义值得重新考虑。

流通池法是一种较新的释放度检查方法，有闭环和开环两种系统，以满足不同药品的需求。其中，闭环式流通池法将样品置于样品架或者玻璃珠上，在恒流泵的作用下，溶出介质经过恒温装置由流通池下端进入，通过样品表面后，经过流通池上端的过滤装置流出，回到介质瓶，溶出介质循环使用，样品溶液从介质瓶进行采集。开环式流通池法为新鲜介质经过样品的溶出介质后不回到介质瓶，滤过后进入样品收集器。流通池法的流体力学与传统溶出度检查法完全不同，且可以用于微量药物制剂、药物支架、缓控释制剂、透皮贴剂、速释制剂等，能解决制剂漂浮的问题，并且在体内外相关性上有更好的发展空间 [5]。目前，流通池法被国际广泛认可，被收载于美国药典 (USP)、欧洲药典 (EP)、英国药典 (BP) 及日本药局方 (JP)，中国药典尚未收载该方法，由于仪器昂贵，目前国内针对该方法的研究报道也较少 [6-11]，国外使用该方法进行溶出度测定的品种也极少。

考虑到小杯法被收入中国药典的历史局限性，且其他国家药典均未收载小杯法，为与国际接轨，本研究采用 USP 四法流通池法和中国药典一法篮法分别对甲硝唑口颊片释放度进行检查，并与原标准的小杯法进行比较。

1　仪器与试药

CE7 smart 溶出度仪 (瑞士 Sotax 公司)，SotaxAT7 smart 溶出度仪 (瑞士 Sotax 公司)，Sotax AT xtend 溶出度仪 (瑞士 Sotax 公司)，MPS 溶媒制备仪 (瑞士 Sotax 公司)，1260 高效液相色谱仪 (美国 Aglilent 公司)，BP211D 电子天平 (Sartorius 公司)，Whatman GF/F 玻璃纤维滤膜，Whatman GF/D 玻璃纤维滤膜。

甲硝唑对照品 (批号：100191-201507，中国食品药品检定研究院)，甲硝唑口腔黏贴片 (规格：3mg；A 厂，批号 170103；B 厂，批号：170904)，甲醇为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

2　方法与结果

2.1　释放度试验方法

2.1.1　流通池法

采用 USP 溶出度四法流通池法的闭合系统装置，将本品放入片夹，置于锥形部装满玻璃珠 (直径 1mm) 的流通池内，以磷酸盐缓冲液 (pH6.6)100mL 为溶出介质，温度为 37℃，流速为 4mL/min，于 20、50、90、120、180、240 和 300min 取已在线滤过的样品溶液 1mL，作为供试品溶液。

2.1.2　篮法

采用中国药典溶出度一法篮法装置，以磷酸盐缓冲液 (pH6.6)500mL 为溶出介质，转速为 50r/min，温度为 37 ℃，于 20、50、90、120、180、240 和 300min 取已在线滤过的样品溶液 1mL，作为供试品溶液。

2.2　HPLC 方法

以 SPOLAR C_{18}(150mm×4.6mm, 5μm) 为色谱柱；以甲醇 - 水 (20:80) 为流动相，流速为 1.0mL/min，柱温为 35℃；检测波长为 320nm。取甲硝唑对照品适量，精密称定，加溶出介质溶解并定量稀释制成分别约含 0.006、0.015 和 0.03mg/mL 的溶液，作为相应方法

的对照品溶液。分别精密量取供试品溶液和浓度对照品溶液各 20μL，注入液相色谱仪，记录色谱图，按外标法以峰面积计算。

2.3 方法学验证

甲硝唑在 3.012~50.20μg/mL 范围内线性良好 (r=0.9999)，线性方程为：Y=62.99X-5.561。分别取浓度为 6.024、15.06 和 30.12μg/mL 的对照品溶液，分别重复测定 6 次，RSD 均小于 0.1%。精密量取各方法下 300min 时间点供试品溶液适量，分别加入相当于甲硝唑已知浓度 30%、50% 和 100% 的对照品溶液依法进行测定，结果回收率为 99.0%~99.8%。供试品溶液在 24h 内稳定。

2.4 释放度结果

采用所建流通池法和篮法与 YBH03122014 中采用的小杯法共 3 种方法分别对两个厂家的甲硝唑口颊片的释放度进行测定，计算累积释放百分率，结果见表 1。

2.5 释放度数据分析

采用相似因子法对相同装置不同厂家的 f_2 因子进行比较，结果采用新建立的流通池法和篮法测得两厂家样品的释放曲线的 f_2 因子分别为 27 和 29，原标准采用的小杯法测得两厂家的释放曲线的 f_2 因子为 45，在 3 种方法下，两厂家的样品均不相似。

采用多个模型对数据进行拟合，最终采用拟合效果最优的 Weibull 模型 (r>0.999) 得到溶出参数，比较达到重要溶出率所需要的时间 T_{25}、T_{50}、T_d 和 T_{80}(药物溶出 25%、50%、63.2% 和 80% 所需的时间)，结果见表 2。在不同方法下，分别将两厂家样品的各特征溶出参数进行统计学分析，结果 A 厂样品在篮法和流通池法下所得的溶出参数无显著性差异 (P>0.05)，B 厂样品在 3 种方法下，两两方法间的溶出参数均存在显著性差异 (P<0.01)。

3 讨论

3.1 释放度条件优化

本研究对药品的放置方式进行考察，分别采用平放在玻璃珠面上和使用片夹两种方式进行试验，结果两种放置方式结果无差异。在进行 B 厂样品的研究过程中，曾采用孔径为 0.7μm 的 Whatman GF/F 玻璃纤维滤膜置于在线的过滤器，结果因为过滤器处压力过高，流通池法有明显漏液，篮法第一个时间点未取到供试品溶液。换成 2.7μm 的 Whatman GF/D 玻璃纤维滤膜，两问题均得到解决。A 厂样品因其未崩散，未发现上述问题。

3.2 释药状态与处方分析

本研究在试验过程中发现，A 厂样品在 3 种装置下，药片均渐渐溶胀，释放试验结束时药片呈半

表 1 两厂家样品不同溶出方法下的累积释放百分率 (%, n=6)

Tab. 1 Cumulative release percentages of samples from two manufacturers with different test methods (%, n=6)

厂家	装置	溶出介质	取样时间 /min						
			20	50	90	120	180	240	300
A	小杯法	0.1mol/L 盐酸溶液	28.27	45.42	62.50	73.57	88.05	96.59	97.85
A	篮法	磷缓 (pH6.6)	28.74	49.62	67.17	76.95	90.56	98.67	99.66
A	流通池法	磷缓 (pH6.6)	28.56	50.18	67.71	77.39	91.26	99.76	103.22
B	小杯法	0.1mol/L 盐酸溶液	26.79	58.50	82.92	89.08	90.00	90.26	90.25
B	篮法	磷缓 (pH6.6)	42.58	84.72	91.29	91.37	91.33	91.52	91.62
B	流通池法	磷缓 (pH6.6)	52.86	88.10	90.62	90.66	90.96	90.80	93.98

表 2 各厂家样品不同方法的威布尔参数计算结果

Tab. 2 Weibull parameters of metronidazolebuccal tablets

厂家	参数	小杯法	篮法	流通池法
A	T_{25}	18.535	17.065	16.667
A	T_{50}	56.076	50.082	49.883
A	T_d	116.450	95.053	106.688
A	T_{80}	147.045	130.431	128.390
B	T_{25}	19.545	12.971	10.150
B	T_{50}	39.416	23.235	18.854
B	T_d	46.771	27.007	22.111
B	T_{80}	83.908	43.199	36.448

透明的溶胀状态；B 厂样品在各装置下，药片约 1h 全部崩解。将两厂家样品的辅料进行对比，A 厂使用的辅料中有羟丙甲纤维素，其在冷水中溶胀成澄清或微浑浊的胶体溶液，该辅料的加入可能与该厂家样品最终呈半透明的溶胀状态有关。在 3 种不同释放度检查方法下，A 厂样品所得的到释放数据极其相似，而 B 厂样品所得数据则差异较大，这可能与两厂家的处方不同有关，是否还与两厂家的工艺有关，还需要进一步的研究。另外，甲硝唑口颊片治疗口腔疾病发挥的是局部作用，如果药品迅速崩解，其停留在口腔的时间将会缩短，不利于其局部作用的发挥，且笔者曾研究市售两厂家的甲硝唑口腔黏贴片 (因规格和名称不同，处方差异大，未在本文中进行对比)，实验结束仍保持半透明的溶胀状态，建议 B 厂对其产品的处方和工艺进行优化。

3.3　本品种下流通池法与篮法比较

新建立的流通池法和篮法测得两厂家样品的释放曲线的 f_2 因子非常接近 (分别为 27 和 29，释放曲线均不相似)，两方法均可用于甲硝唑口颊片的释放度检查。释放度实验结束后，两厂药品呈现不同的状态，A 厂药品不崩散，B 厂药品崩散，在篮法和流通池法下所得的释放参数中，A 厂药品无显著性差异，B 厂药品存在显著性差异。由此可初步得出，篮法和流通池法均可用于 A 厂样品的释放度检查，是否可适用于所有不崩散的药品，还需要对不崩散的不同品种药品进行进一步研究。由于流通池法溶出度仪的价格昂贵 (是普通溶出仪的几倍甚至10倍)，如果能得出对某一类制剂 (如非崩散型制剂) 进行释放度检查，流通池法与传统方法 (如篮法) 能得出相似溶出参数的推论，可节约资源，降低厂家的生产成本。

3.4　关于甲硝唑口腔贴片的建议

中国药典 2015 年版四部制剂通则中对口腔贴片的描述是黏贴于口腔，经黏膜吸收后起局部或全身作用的片剂 [12]。而我国批准的以甲硝唑为单一原料药局部用于牙龈炎、牙周炎、冠周炎及口腔溃疡的片剂通用名为甲硝唑口腔黏贴片 (有甲、乙两个公司药品) 和甲硝唑口颊片 (有 A、B 两个厂家药品)。其中甲硝唑口腔黏贴片的药品特征为规格 5mg，药片小而薄 (片重约 0.04g)，药片释放度实验结束后不崩散，甲硝唑口颊片的药品特征为规格 3mg，药片大而厚 (片重约 0.5g)，药片释放度实验结束后 A 厂药品不崩散，B 厂药品崩散。两通用名下相应药品的处方差异大，主要是辅料种类和用量差别大，释放行为差异大 (主要是甲硝唑口颊片两厂家产品间的差异)，但二者均为甲硝唑口腔贴片，适应症与用法均相同。建议相关部门规范该类药品的通用名，建议统一为甲硝唑口腔贴片，与药典制剂通则一致，有助于研究者对该类药品的质量标准进行优化，同时节约了药品流通及管理过程的资源。同时建议药品的生产厂家及时对药品的处方和工艺进行优化，找出影响产品质量的关键参数，进行深入研究，提升自身药品的质量，确保药品质量的可靠性和稳定性，以提升药品质量来增加产品的市场竞争力。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会 . 国家食品药品监督管理局药品标准 [S]. 2014.
[2] 国家药典委员会 . 新药转正标准 [S]. 第 48 册 : 130.
[3] 皮昕 . 口腔解剖生理学 [M]. 第 4 版 . 北京 : 人民卫生出版社 , 2000: 219.
[4] FDA. Center for drug evaluation and research. Dissolution methods[DB/OL]. [2015-11-19]. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/index.cfm.
[5] 候鹏高 , 吕长淮 . 流通池溶出度检查方法在我国的应用研究进展 [J]. 中国医药药学杂志 , 2013, 33(23): 1971-1974.
[6] 郇新丽 , 陈阳 , 李健华 , 等 . 流通池法测定复方酮康唑乳膏释放度的方法研究 [J]. 药物分析杂志 , 2007, 27(9): 1424-1427.
[7] 郇新丽 , 李健华 , 陈阳 , 等 . 不同厂家复方酮康唑乳膏释放度的比较 [J]. 中国药事 , 2009, 23(5): 474-476.
[8] 孙悦 , 唐素芳 , 高立勤 . 流通池法测定马来酸依那普利片溶出度及对其体内外相关性的考察 [J]. 药物分析杂志 , 2009, 29(4): 560-563.
[9] 孙悦 , 唐素芳 . 流通池法测定尼古丁缓释贴剂的释放度 [J]. 中国药房 , 2012, 23(33): 3133-3135.
[10] 李茜茜 , 邹玲玲 , 黄雪丽 , 等 . 流通池法测定替硝唑阴道泡腾片的溶出度 [J]. 中国药房 , 2014, 25(32): 3059-3063.
[11] 潘瑞雪 , 高源 , 陈万里 , 等 . 溶出度实验结合计算机模拟技术评价国产阿莫西林胶囊的生物等效性 [J]. 药学学报 ,