

文章编号 1006-8147(2017)05-0469-06

论著

复方阿托伐他汀钙与依折麦布胶囊剂的处方优化研究

吕玥^{1,2}, 李继彬³, 邢正英³, 房志仲³

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津市南开医院药剂科,天津 300100;3.天津医科大学药学院药剂学教研室,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070)

摘要 目的:星点设计-效应面优化法设计复方阿托伐他汀钙依折麦布胶囊的最佳处方及工艺。方法:对复方制剂采取分开制粒的方式,首先利用单因素考察方法大致确定处方中部分辅料的种类与用量,然后分别采用正交设计和星点设计,主要以药物在PBS 4.5和水两种介质中的溶出度为评价指标,进行筛选优化,以期得到最佳的处方与工艺。结果:经处方筛选确定最终处方为:依折麦布部分:依折麦布 10 mg;十二烷基硫酸钠(SDS) 10 mg;聚维酮(PVP) 40 mg;微晶纤维素(MCC) 70 mg;羧甲基淀粉钠(CMS-Na) 50 mg。阿托伐他汀钙部分:阿托伐他汀钙 10 mg;NaHCO₃ 10 mg;羟丙基纤维素(HPC) 50 mg;MCC 28.2 mg;一水乳糖 80 mg。硬脂酸镁外加 1.8 mg。结论:按照最终确定的复方阿托伐他汀钙依折麦布胶囊的处方与工艺所制得制剂性状良好,含量均匀,与对照制剂相比,溶出行为相似。

关键词 阿托伐他汀钙;依折麦布;复方胶囊;星点设计-效应面优化

中图分类号 R94

文献标志码 A

Study on prescription optimization of the compound atorvastatin calcium and ezetimibe capsule

LÜ Yue^{1,2}, LI Ji-bin³, XING Zheng-ying³, FANG Zhi-zhong³

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacy, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China; 3. Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To optimize the prescription and technology of atorvastatin calcium and ezetimibe of capsule compound by central composite design and response surface. **Methods:** The two medicines were granulated individually. Single factor method was applied to determine types and approximate amounts of some materials used in the prescription at first, then orthogonal experimental design and central composite design-response surface methodology were used to screen and optimize the prescription and the preparation process by the evaluation criteria of dissolutions in medium of sodium acetate 4.5 and aqueous. **Results:** The ultimate prescription was determined as follows. The part of ezetimibe consisted of ezetimibe 10 mg; SDS 10 mg; PVP 40 mg; MCC 70 mg; CMS-Na 50 mg. The part of atorvastatin calcium was composed by atorvastatin calcium 10 mg; NaHCO₃ 10 mg; HPC 50 mg; MCC 28.2 mg and lactose monohydrate 80 mg. Besides, 1.8 mg magnesium stearate was mixed out of above two parts. **Conclusion:** Preparations with the optimized prescription of the compound capsules of ezetimibe and atorvastatin calcium show good traits and uniform content. Compared with the control formulation, its dissolution behavior is similar.

Key words atorvastatin calcium; ezetimibe; compound capsules; central composite design-response surface methodology

阿托伐他汀(atorvastatin, ATV)是一种羟甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂,通过抑制体内胆固醇合成达到调脂效果;选择性的胆固醇吸收抑制剂依折麦布(ezetimibe, EZ)则通过拮抗食物中胆固醇的吸收达到降脂作用,二者联合应用,可分别从胆固醇的内、外两方面来源对机体血脂水平进行调节,产生强大的协同作用,能够达到最佳的治疗效果^[1-2]。本课题以已上市药品 Liptruzet[®]为仿制对象,旨在筛选出适宜的处方与工艺,制备复方胶囊,并以溶出度方法验证与原研药的体外一致性。

作者简介 吕玥(1988-),女,药师,硕士在读,研究方向:临床药学;
通信作者:房志仲, E-mail:fangzhizhong@tmu.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 TDP型单冲压片机(上海第一制药机械厂);ZB-IB型智能崩解仪(天津大学精密仪器厂);RCZ-8A智能药物溶出仪(天津市鑫洲科技有限公司);针头式微孔滤膜过滤器($\phi=13$ mm, 0.45 μ m, 天津市双吉色谱仪器经营部);ALC-210.4电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);电热真空干燥箱 DZG-403(天津市天宇实验仪器有限公司制造);KQ-100B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);酸度计 PHS-25(数显)pH计(上海精密科学仪器有限公司);S-400 0# 胶囊填充板。

1.1.2 试剂 阿托伐他汀钙原料药(AVAIAMJ02A, 印度卡迪拉公司, 批号:20121103); 依折麦布原料药(武汉远成医药科技有限公司, 批号:20140821); 对照制剂:Liptruzet® (ezetimibe and atorvastatin 10 mg/10 mg, Merck Sharp&Dohme Corp, 批号:LOT 346380); 空心胶囊(山东希尔康泰药业有限公司, 批号:20141006N); 聚维酮 K30(美国 ISP 特品公司, 批号:052299107); 交联羧甲基纤维素钠(德国 JRS 公司, 批号:3201022054); 硬脂酸镁(湖州展望药业有限公司, 批号:20140110); 羟丙基纤维素 EXF(美国 Aqualon 公司, 批号:39129); 微晶纤维素 PH101(山东聊城阿华制药有限公司, 批号:20130804); 一水乳糖(美国 Foremost 公司, 批号:851308184); 其它试剂均为市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 胶囊剂的制备

1.2.1.1 依折麦布部分^[3]:

(1) 固体分散体的制备: 载体的选择: 分别以 PEG 4000、PEG 6000、PVP、泊洛沙姆为载体, 采取载体: 主药=2:1 的比例, 溶剂法制备 SD, 填充剂为相同量的 MCC, 过 20 目筛制备 EZ 颗粒, 测定各颗粒在水中 10 min 的溶出度^[4]以确定适宜的载体。

(2) 崩解剂的选择^[5]: 分别以相同量的低取代羟丙基纤维素(L-HPC)、交联聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、羧甲基淀粉钠(CMS-Na)和交联羧甲基纤维素钠(CCNa)为崩解剂制备 EZ 的 SD 颗粒, 载体为相同量 PVP, 填充剂为相同量 MCC, 测定所制不同颗粒在水中 10 min 的溶出度以确定适宜的崩解剂。

(3) 正交试验设计^[6-7]: 见表 1、2。处方中影响崩解、溶出的主要因素有 PVP、CCNa、MCC, 采用三因素三水平对其进行处方筛选, 正交试验设计表选用 L9(3⁴), 评价标准以依折麦布在水和 PBS 4.5 两种介质中 10 min 时的累积溶出百分率(M、N)为指标, 因为原研制剂在两种介质中 10 min 时累积溶出率均在 80%左右, 因此将 $O = |M + N - 160|$ 即自制制剂与原研制剂在 10 min 时的累积溶出率的相近程度作为综合评分指标^[4]。

表 1 试验因素水平设计表

Tab 1 Experimental factor levels

水平		PVP/mg	CCNa/mg	MCC/mg
1	A	20	40	50
2	B	40	50	70
3	C	60	60	90

表 2 正交试验设计

Tab 2 The orthogonal experimental results

试验号	1	2	3	4	累积溶出率/%		综合评分
	A	B	C		M	N	
1	1	1	1	1			
2	1	2	2	2			
3	1	3	3	3			
4	2	1	3	3			
5	2	2	2	1			
6	2	3	1	2			
7	3	1	3	2			
8	3	2	1	3			
9	3	3	2	1			

1.2.1.2 阿托伐他汀钙部分:

(1) 制备工艺: 在少量水中加入部分 HPC, 搅拌使分散均匀, 再加入已过 60 目筛混合的阿托伐他汀钙与 NaHCO₃, 继续搅拌至均匀, 静置一段时间待 HPC 黏性充分诱发, 再加入部分一水乳糖混合, 烘干之后粉碎, 与余下 HPC、MCC、一水乳糖过 60 目筛混匀, 适量乙醇溶液为润湿剂, 高速搅拌制粒法过 20 目筛制粒, 烘干, 20 目筛整粒即得。

(2) 碳酸氢钠加入量考察^[8]: 阿托伐他汀钙在碱性环境下溶解度较大, 处方中加入 NaHCO₃ 可以增加药物溶出, 因此考察不同 NaHCO₃ 加入量对溶出结果的影响。以 5% HPC 的水溶液为黏合剂, MCC 为填充剂, 加入不同量的 NaHCO₃, 分别制备阿托伐他汀钙颗粒, 测定不同颗粒在水中 60 min 内的累积溶出百分率^[4]。

(3) 黏合剂的研究: 按照阿托伐他汀钙处方部分的 HPC 全部一次加入、不同比例分开加入制得胶囊, 分别进行含量均匀度测定^[4], 计算 $A + 1.80 S$ 。

(4) 制粒方法的选择: 高速搅拌制粒装置的特点是混合、捏合、制粒过程在同一容器中进行, 颗粒粒度分布均匀、可压性强、流动性好, 制粒过程工序少、黏合剂用量可以减少 20%~25%。该过程通过试验条件摸索, 可以确定最佳的工艺参数, 以保证不同批次的颗粒质量的稳定、一致^[9]。对挤出制粒法和高速搅拌制粒法所得颗粒的含量均匀度进行测定^[4], 计算 $A + 1.80 S$ 。

(5) 星点设计-效应面优化试验: 依照设计好的试验安排进行试验, 结果见表 3。采用 SPSS 17.0 软件, 分别以供试品和原研制剂阿托伐他汀在水中 f_2 因子(Y1)和在 PBS 4.5 中 f_2 因子(Y2)对所选 3 个考察因素进行线性与非线性的拟合, 并采用 OriginPro 8 绘制效应面图与等高线图。

表 3 星点设计试验结果

Tab 3 The results of the CCD

序号	X1(%)	X2(%)	X3(%)	Y1(%)	Y2(%)
1	14.23	10.54	38.45	48.87	41.16
2	14.23	17.46	38.45	49.90	52.37
3	25.77	10.54	38.45	52.58	46.65
4	25.77	17.46	38.45	40.46	44.48
5	14.23	10.54	61.55	64.25	62.70
6	14.23	17.46	61.55	52.41	53.51
7	25.77	10.54	61.55	53.57	52.98
8	25.77	17.46	61.55	51.76	62.50
9	20	14	30	52.23	50.24
10	20	14	70	55.90	56.57
11	10	14	50	57.88	40.08
12	30	14	50	48.31	63.34
13	20	8	50	50.02	45.89
14	20	20	50	48.78	64.60
15	20	14	50	66.47	67.77
16	20	14	50	65.98	66.18
17	20	14	50	67.23	65.29
18	20	14	50	65.74	67.30
19	20	14	50	66.89	66.76
20	20	14	50	65.40	67.24

(6) 其它辅料的研究:对于填充剂的选择,首选微晶纤维素(MCC)与乳糖配合使用,MCC用量增加可以提高药物的溶出速率,乳糖增加则会延缓药物的溶出,二者合用,通过调节不同的配比,可以达到调节溶出速率的目的^[10]。

1.2.2 溶出度试验 根据《中国药典》2015版(四部)0931溶出度与释放度测定法^[11],采用浆法在50 r/min的转速与(37±0.5)℃的温度下进行测定,胶囊装入沉降篮中以避免上浮,溶出条件为PBS 4.5(0.45% SDS)、水(0.45% SDS)、PBS 6.8(0.45% SDS)、0.1 mol/L HCL (0.45% SDS),4种介质均为900 mL,分别于10、15、20、30、45、60 min 取样10 mL,同时补加等量同温介质,样品经0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,采用高效液相色谱法进行测定并计算其累积溶出百分率^[4]。

1.2.3 星点设计-效应面法^[12-14] 以影响崩解、溶出的3个主要因素——水乳糖加入量(X1)、HPC总加入量(X2)、外加HPC量(X3)为考察因素,将供试品与原研制剂阿托伐他汀在水与PBS 4.5两种介质中的 f_2 因子作为评价指标,应用三因素五水平的星点设计对方剂进行筛选。依照预试验结果,设定一水乳糖加入量占总处方比例为10%~30%(X1)、HPC总加入量占总处方比例为8%~20%(X2)、外加HPC占HPC总加入量的比例为30%~70%(X3),以两种介质中 f_2

因子的值作为评价指标,根据星点设计-效应面法设计20个试验,试验安排见下表,其中15-20号试验为重复试验。按照以下方程进行多元线性与多元非线性的拟合,见表4~5。

$$Y=b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3$$

$$Y =b_0 +b_1X_1 +b_2X_2 +b_3X_3 +b_4X_{12} +b_5X_{22} +b_6X_{32}+b_7X_1X_2+b_8X_1X_3+b_9X_2X_3$$

表 4 考察因素的代码水平和相对物理量

Tab 4 The code levels and corresponding values of study factors

因素	水平				
	-1.732	-1	0	1	1.732
X1(%)	10	14.23	20	25.77	30
X2(%)	8	10.54	14	17.46	20
X3(%)	30	38.45	50	61.55	70

表 5 星点试验设计

Tab 5 The experimental results of CCD

序号	X1(%)	X2(%)	X3(%)
1	14.23	10.54	38.45
2	14.23	17.46	38.45
3	25.77	10.54	38.45
4	25.77	17.46	38.45
5	14.23	10.54	61.55
6	14.23	17.46	61.55
7	25.77	10.54	61.55
8	25.77	17.46	61.55
9	20	14	30
10	20	14	70
11	10	14	50
12	30	14	50
13	20	8	50
14	20	20	50
15-20	20	14	50

2 结果

2.1 依折麦布

2.1.1 载体的选择 PVP作为载体,提高难溶主药溶解度和溶出的效果最为明显,因此载体选用PVP较为适宜,具体用量需要下一步的筛选,结果见表6。

表 6 不同载体的颗粒在水中10 min 溶出度

Tab 6 Granules' dissolution at 10 min in the medium of aqueous by different carriers

	PEG4000	PEG6000	PVP	泊洛沙姆
溶出度/%	52.54	54.89	61.22	55.13

2.1.2 制备工艺 先将EZ与PVP、SDS过60目筛混匀,加入适量浓度乙醇,水浴加热并不停搅拌使混合均匀,再加入过60目筛混匀的MCC与CCNa,继续不断搅拌使各物料充分混匀,过20目筛制粒,

60 ℃烘干后 20 目筛整粒,灌装胶囊即得。

2.1.3 正交试验设计 正交试验结果见表 7。

表 7 正交试验设计结果

Tab 7 The results of the orthogonal experimental design

试验号					累积溶出百分率/%		综合评分
	A	B	C	M	N	O	
1	1	1	1	1	46.77	48.15	65.08
2	1	2	2	2	52.28	53.66	54.06
3	1	3	3	3	62.14	60.34	37.52
4	2	1	3	3	72.65	74.43	12.92
5	2	2	2	1	81.78	80.29	2.07
6	2	3	1	2	89.86	86.23	16.09
7	3	1	3	2	82.29	83.55	5.84
8	3	2	1	3	84.37	86.10	10.47
9	3	3	2	1	88.74	87.21	15.95
K1	52.22	27.95	30.55	27.70			
K2	10.36	22.20	24.03	25.33			
K3	10.75	23.19	18.76	20.30			
R	41.86	5.75	11.79	7.40			

根据直观分析比较各因素极差, A 因素极差最大, 即 PVP 用量对试验结果影响最大, 其次依次是 MCC、CCNa, 继续进行方差分析, 结果见表 8。

表 8 方差分析表

Tab 8 Analysis of variance

	SS	df	F	P
A	3 471.90	2	37.41	<0.05
B	56.65	2	0.61	>0.05
C	209.17	2	2.25	>0.05
E	278.37	6	46.4	
T	4 016.09	8		

根据 F 分布临界值表, $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。A 因素 F 值 >19.00 , B、C 因素 F 值小于 19.00, 说明三因素对评价指标的影响程度为 $A>C>B$, 且 A 起到显著作用。根据综合评分, 倾向于选择评分较低者, 即两种介质中供试品与原研制剂 EZ 10 min 时累积溶出率相似者, 筛选出最优处方条件为 A2B2C2, 即 PVP 用量为 40 mg, CCNa 用量为 50 mg, MCC 用量为 70 mg。

2.2 阿托伐他汀钙部分

2.2.1 碳酸氢钠加入量的研究

阿托伐他汀钙在碱性环境下溶解度较大, 处方中加入 NaHCO_3 可以增加药物溶出, 因此考察不同 NaHCO_3 加入量对溶出结果的影响。以 5% HPC 的水溶液为黏合剂, MCC 为填充剂, 加入不同量的 NaHCO_3 , 分别制备阿托伐他汀钙颗粒, 测定不同颗粒在水中 60 min 内的累积溶出百分率, 结果见表 9。相比未加碳酸氢钠的颗粒, 加入碳酸氢钠的颗粒溶出度明显要高, 然而随着碳酸氢钠加入量的增加, 溶出度并没有明显增

加, 证明 10 mg 加入量已经可以达到增加溶出的效果。

表 9 不同碳酸氢钠加入量的颗粒的累积溶出百分率

Tab 9 Granules' cumulative dissolution percentage by different adding amounts of NaHCO_3

时间/min	加入量/Mg*			
	0	10	20	30
5	10.80	45.27	43.74	46.53
10	20.33	75.88	80.91	76.96
15	46.52	80.23	81.26	79.81
20	63.11	82.19	82.93	82.20
30	65.82	84.90	85.15	85.56
60	73.24	85.54	87.28	86.67

* 此处加入量指每 10 mg 阿托伐他汀钙加入的碳酸氢钠的量

2.2.2 黏合剂的研究

按照阿托伐他汀钙处方部分的 HPC 全部一次加入、不同比例分开加入制得胶囊, 分别进行含量均匀度测定, 计算 $A+1.80 S$, 结果见图 1。

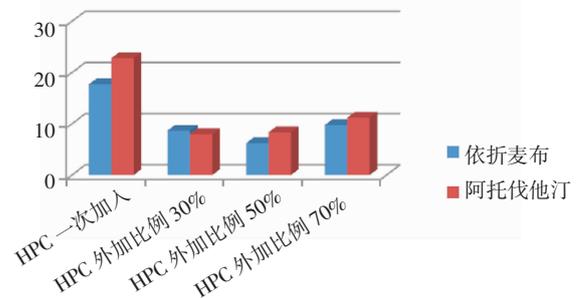


图 1 含量均匀度

Fig 1 The content uniformity

图中可见, 较大黏性的 HPC 直接一次加入会导致制剂含量均匀度不合要求, 为解决这一问题, 采取分两次加入的方式, 根据上图可以初步判断, 当两次的加入量相近时, 含量均匀度最好。但具体的加入量需要进一步的考察筛选。

2.2.3 制粒方法的选择

对挤出制粒法和高速搅拌制粒法所得颗粒的含量均匀度进行测定, 计算 $A+1.80 S$, 结果见图 2~3。

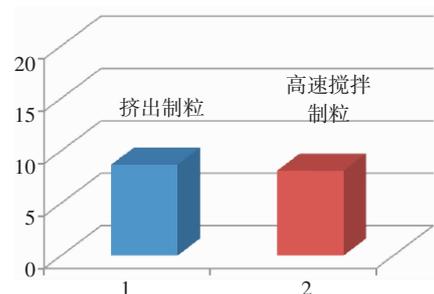


图 2 制备 50 粒胶囊时阿托伐他汀钙含量均匀度

Fig 2 ATV's content uniformity of 50 capsules made at a time

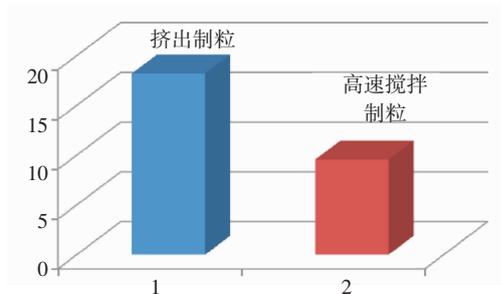


图 3 制备 200 粒胶囊时阿托伐他汀钙含量均匀度
Fig 3 ATV's content uniformity of 200 capsules made at a time

图中可以看出在小试时,两种方法的主药含量均匀度没有显著差别,但是随着制粒规模的增大,挤出制粒法的含量均匀度明显变差,而高速搅拌制粒法与小试时相比,变化并不明显,在规定范围内可以接受,因此最终决定采用高速搅拌制粒法进行制粒。

2.2.4 星点设计-效应面优化试验 依照设计好的试验安排进行试验,试验结果见表 10。采用 SPSS 17.0 软件,分别以供试品和原研制剂阿托伐他汀在水中 f_2 因子(Y1)和在 PBS 4.5 中 f_2 因子(Y2)对所选 3 个考察因素进行线性与非线性的拟合,并采用 OriginPro 8 绘制效应面图与等高线图。

表 10 星点设计试验结果
Tab 10 The results of the CCD

序号	X1(%)	X2(%)	X3(%)	Y1(%)	Y2(%)
1	14.23	10.54	38.45	48.87	41.16
2	14.23	17.46	38.45	49.90	52.37
3	25.77	10.54	38.45	52.58	46.65
4	25.77	17.46	38.45	40.46	44.48
5	14.23	10.54	61.55	64.25	62.70
6	14.23	17.46	61.55	52.41	53.51
7	25.77	10.54	61.55	53.57	52.98
8	25.77	17.46	61.55	51.76	62.50
9	20	14	30	52.23	50.24
10	20	14	70	55.90	56.57
11	10	14	50	57.88	40.08
12	30	14	50	48.31	63.34
13	20	8	50	50.02	45.89
14	20	20	50	48.78	64.60
15	20	14	50	66.47	67.77
16	20	14	50	65.98	66.18
17	20	14	50	67.23	65.29
18	20	14	50	65.74	67.30
19	20	14	50	66.89	66.76
20	20	14	50	65.40	67.24

Y1 对各考察指标拟合的多元线性方程及复相关系数为:

$$Y1=61.022-0.416X1-0.555X2+0.226X3, R=0.427$$

Y1 对各考察指标拟合的多元非线性方程及复相关系数为:

$$Y1=-175.854+5.768X1+13.581X2+3.672X3-0.135X1^2-0.477X2^2-0.031X3^2-0.02X1X2-0.011X1X3-0.008X2X3, R=0.950$$

可以看出多元非线性方程的复相关系数较线性方程要高,并且其总模型具有显著意义, $F=8.713, P<0.001$,因此选用多元非线性模型进行拟合。

3 个考察因素对水中 f_2 因子都存在一定影响,在某一范围内可以提高 f_2 因子,但低于或高于该范围则会使 f_2 因子降低,根据效应面选择 3 因素最佳范围为 $X1:17\% \sim 26\%; X2:12\% \sim 19\%; X3:45\% \sim 67.5\%$ 。

Y2 对各考察指标拟合的多元线性方程及复相关系数为: $Y2=17.671+0.46X1+0.862X2+0.359X3, R=0.514$

Y2 对各考察指标拟合的多元非线性方程及复相关系数为:

$$Y2=-198.104+6.18X1+11.141X2+4.219X3-0.159X1^2-0.342X2^2-0.035X3^2+0.033X1X2+0.003X1X3-0.027X2X3, R=0.869$$

可以看出多元非线性方程的复相关系数较线性方程要高,并且其总模型具有显著意义, $F=8.984, P<0.001$,因此选用多元非线性模型进行拟合。

同样从计算结果中可以分析出 3 个考察因素对 PBS 4.5 中 f_2 因子都存在一定影响,在某一范围内可以提高 f_2 因子,但低于或高于该范围则会使 f_2 因子降低,根据效应面选择 3 因素最佳范围为 $X1:15\% \sim 22\%; X2:11\% \sim 16\%; X3:46\% \sim 62.5\%$ 。

综合两次筛选的 3 个考察因素的最佳范围,可以同时满足在两种介质中 f_2 因子 >50 的最佳处方条件为:一水乳糖加入量占总处方比例($X1$): $17\% \sim 22\%$, HPC 总加入量占总处方比例 ($X2$): $12\% \sim 16\%$, 外加 HPC 占 HPC 总加入量的比例($X3$): $46\% \sim 62.5\%$ 。

2.3 处方与工艺的确定 根据 EZ 部分的正交试验结果与 ATV 部分星点设计试验结果,确定最佳处方(表 11)。

表 11 最佳处方
Tab 11 The optimal prescription

	名称	用量/mg
EZ 部分	依折麦布	10
	SDS	10
	PVP	40
	MCC	70
	CCNa	50
合计		180
	阿托伐他汀钙	10
ATV 部分	NaHCO ₃	10
	HPC	50
	MCC	28.2
	一水乳糖	80
合计		178.2
外加	硬脂酸镁	1.8
总重		360

完整工艺: EZ 部分: 先将 EZ 与 PVP、SDS 过 60 目筛混匀, 加入适量浓度乙醇, 水浴加热并不停搅拌使混合均匀, 再加入过 60 目筛混匀的 MCC 与 CCNa, 继续不断搅拌使各物料充分混匀, 过 20 目筛制粒, 60 °C 烘干后 20 目筛整粒即得; ATV 部分: 少量水中加入部分 HPC, 搅拌使分散均匀, 再加入已过 60 目筛混合的阿托伐他汀钙与 NaHCO₃, 继续搅拌至均匀, 静置一段时间待 HPC 黏性充分诱发, 再加入部分一水乳糖混合, 烘干之后粉碎, 与余下 HPC、MCC、一水乳糖过 60 目筛混匀, 适量乙醇溶液为润湿剂, 高速搅拌制粒法过 20 目筛制粒, 烘干, 20 目筛整粒即得。将制得两部分颗粒混合, 加入硬脂酸镁, 过 20 目筛混合均匀, 灌入 0# 胶囊, 即得。

2.4 溶出度考察 以最优的处方与工艺, 在工厂进行放大试制, 将对照制剂及自制制剂在 4 种不同溶出介质中的溶出行为进行测定, 绘制累积溶出曲线并计算相似因子 f_2 值。在水 (0.45% SDS) 为溶出介质的溶出曲线见图 6~7, 另外 3 种介质中溶出行为相似。相似因子 f_2 的计算结果见表 12。

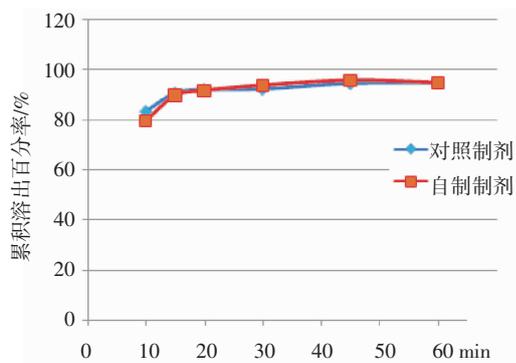


图 6 依折麦布在水 (0.45% SDS) 中的溶出曲线

Fig 6 The dissolution curve of ezetimibe in the medium of aqueous (0.45% SDS)

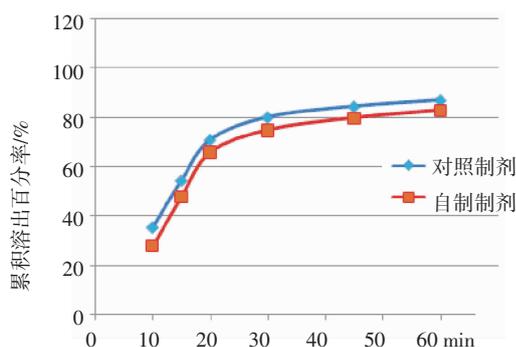


图 7 阿托伐他汀钙在水 (0.45% SDS) 中的溶出曲线

Fig 7 The dissolution curve of atorvastatin calcium in the medium of aqueous (0.45% SDS)

表 12 不同溶出介质中的相似因子 f_2

Tab 12 The comparison of f_2 value in different dissolution media

	PBS 4.5	PBS 6.8	水	0.1 mol/L 盐酸
依折麦布	76	79	83	72
阿托伐他汀钙	81	66	58	-*

* 阿托伐他汀钙在该溶出介质中很不稳定, 迅速降解

从上述图表中可以看出, 4 种介质中的相似因子 f_2 值均大于 50, 说明自制制剂和对照制剂的溶出行为相似, 符合标准, 可进行其它方面的考察。

3 讨论

3.1 实验设计的评价指标的选择 在对自制制剂进行溶出度测定时, 发现同一处方工艺条件下制得的样品在不同介质中溶出行为差别较大, 具体表现在 PBS 4.5 与 0.1 mol/L 盐酸中溶出行为相似—囊壳破裂后, 颗粒较短时间内可均匀扩散至溶出杯各部; 水与 PBS 6.8 中溶出行为相似—囊壳破裂后颗粒不易扩散。这种情况的发生, 考虑可能是 HPC 在不同 pH 条件下诱发黏性程度不同造成的结果, 因此在进行星点设计与正交设计时, 主要以样品在水与 PBS 4.5 两种代表性的介质中的累积溶出率为评价指标。

3.2 烘干温度的选择 采用 60 °C 烘干颗粒时, 阿托伐他汀钙的颗粒会有变黄现象, 推测为碳酸氢钠和乳糖在高温下发生反应造成, 但药物的含量没有发生变化, 采用 40 °C 烘干颗粒时则变黄现象不会发生, 因此将烘干温度控制在 40 °C 左右。

3.3 溶出介质 在测定原研制剂溶出度时, 由于 EZ 在单纯水介质中难溶, 60 min 时累积溶出百分率仅为 10% 左右, 难以达到漏槽条件, 因此在对原研制剂与自制制剂进行溶出度测定时, 各溶出介质中均加入 0.45% SDS 以达到 EZ 的漏槽条件。

3.4 小结 对复方制剂采取分开进行湿法制粒的方式以满足溶出行为的要求, 分别采用正交设计和星点设计, 主要以药物在 PBS 4.5 和水两种介质中的溶出度为评价指标, 对两部分的处方进行了筛选与优化, 得到最终的处方与工艺, 所制得胶囊剂的体外溶出符合标准。

参考文献:

- [1] Robinson J G, Nedergaard B S, Rogers W J, et al. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia: the LAPLACE-2 randomized clinical trial[J]. JAMA, 2014, 311 (18): 1870
- [2] Cannon C P, Investigators I I. IMPROVE-IT trial: a comparison of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin monotherapy on cardiovas-

运行缓冲液的 pH 值对电渗流和溶质的电泳迁移有重要的影响^[1]。本试验研究了不同的 pH 值在缓冲液浓度相同的情况下对尿液样本分离的影响。结果显示,随着 pH 值的增加,尿样中 mALB 的迁移时间会逐渐增加,这是由于 pH 改变了溶液的离子强度和电渗流。然而,较低的 pH 值在电泳的分辨率、稳定性以及电泳图的波型上却不能得到良好的结果,这意味着较高和较低 pH 值均不能获得良好的试验结果。运行缓冲液的浓度同样能影响电泳分离性和电渗强度,进而导致尿样的电泳现象发生改变。为了得到电泳分离的最佳浓度值,本试验对一系列不同的浓度值在相同的 pH(9.25)下进行尿样分离。结果显示,随着硼酸盐缓冲液浓度的增加,电渗逐渐增加导致 mALB 迁移时间减少。但同时,更高的缓冲液的浓度又将产生大量的焦耳热从而导致较差的分离度、分辨率和试验重复性。很有必要在迁移时间和焦耳热之间做一个折中,因此,选择缓冲液浓度为 10 mmol/L 作为电泳分离条件。为了解决电泳分离过程中出现的蛋白质吸附管壁而造成的电泳峰的拖带和复合峰的问题,通过向运行缓冲液中加入 70 mmol/L SDS,成功地减少了尿液蛋白在毛细管壁的吸附程度。

综上所述,将毛细管电泳技术作为定量检测人体尿液中 mALB 含量的新方法,能够得到令人满意的试验结果。该方法具有灵敏度高、样品用量少、操作简单、自动化程度高等优点,可以作为临床检测 mALB 方法的一种补充。

参考文献:

- [1] Mima A. Diabetic nephropathy: protective factors and a new therapeutic paradigm[J]. *Diabetes Complications*, 2013,27(5):526
- [2] Haneda M, Utsunomiya K, Koya D, et al. A new classification of Diabetic Nephropathy 2014: A report from Joint Committee on Diabetic Nephropathy[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015,19(1):1
- [3] Hoste E, Damen J, Vanholder R, et al. Assessment of renal function in recently admitted critically ill patients with normal serum creatinine[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2005,20(4):747
- [4] Tuttle K R, Bakris G L, Bilous R W, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA consensus conference[J]. *Am J Kidney Dis*, 2014, 64(4): 510
- [5] Worthley D L, Harvey N T, Hill N L, et al. Urinary transferrin and albumin concentrations in patients with type 1 diabetes and normal controls: the search for the first protein lost[J]. *Clin Biochem*, 2001, 34(1):83
- [6] Müller R, Hiller K, Schmalz G, et al. Chemiluminescence-based detection and comparison of protein amounts adsorbed on differently modified silica surfaces[J]. *Anal Biochem*, 2006,359(2):194
- [7] Prasad P, Chaube S, Panchal M, et al. Molecular dissection of an hCG-β epitope using single-step solid phase radioimmunoassay[J]. *Clin Chim Acta*, 2007,376(1/2):52
- [8] Christians S, van Treel N D, Bieniara G, et al. Evaluation of capillary zone electrophoresis for the determination of protein composition in therapeutic immunoglobulins and human albumins[J]. *Biologicals*, 2016, 44(4):234
- [9] Tian Y, Li Y, Mei J, et al. Simultaneous separation of acidic and basic proteins using gemini pyrrolidinium surfactants and hexafluoroisopropanol as dynamic coating additives in capillary electrophoresis[J]. *Chromatogr A*, 2015,1412(18):151
- [10] Desiderio C, Rossetti D, Iavarone F, et al. Capillary electrophoresis-mass spectrometry: recent trends in clinical proteomics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010,53(5):1161
- [11] Wang W, Zhou L, Wang S, et al. Rapid and simple determination of adenine and guanine in DNA extract by micellar electrokinetic chromatography with indirect laser-induced fluorescence detection[J]. *Talanta*, 2008, 74(4): 1050

(2016-12-16 收稿)

(上接第 474 页)

- cular outcomes after acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2014, 130(23):2109
- [3] 刘娱姗,高署,柯学,等.难溶性药物固体分散体研究新进展[J].*药学进展*,2013,37(4):166
- [4] 李晗,李继斌,邢正英,等.复方阿托伐他汀依折麦布胶囊的质量控制[J].*天津医科大学学报*,2016,22(1):76
- [5] 敖玲玲,张晨芳,徐凯敏,等.几种常用崩解剂的理化性能和应用效果[J].*中国医药指南*,2015,13(16):20
- [6] 郭迎新,李非,赵倩倩,等.正交设计法优选银杏黄酮凝胶骨架片处方工艺[J].*中国中药杂志*,2013, 38(11): 1325
- [7] 戈文兰,高盼,苗燕飞,等.多条溶出曲线评价氨氯地平阿托伐他汀钙分散片的质量[J].*中国生化药物杂志*,2012,33(6):811
- [8] 王洁,孙杨,金刚,等.碱性调节剂对缬沙坦固体分散体体外溶出度的影响[J].*吉林化工学院学报*, 2015, 32(11): 30
- [9] 李晓君,郭朕,赵勤富,等.高速剪切制粒中吡拉西坦含量均匀

性的控制[J]. *沈阳药科大学学报*, 2013, 30(6): 415

- [10] 钟益玮,胡翔,陆阳.利伐沙班片的制备及处方优化[J].*安徽医药*, 2015, 19(2): 225
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社, 2015:121-122
- [12] 隋洪飞,王姿婧,刘青,等.星点设计-效应面法优化硝苯地平分散片处方[J].*天津医科大学学报*,2014,20(4):323
- [13] Keharom S, Mahachai R, Chanthai S. The optimization study of α-amylase activity based on central composite design-response surface methodology by dinitrosalicylic acid method[J]. *Int Food Res J*, 2016,23(1):10
- [14] Ilaiyaraaja N, Likhith K, Babu G, et al. Optimisation of extraction of bioactive compounds from *Feronia limonia* (wood Apple) fruit using response surface methodology (RSM)[J]. *Food Chemistry*, 2015,173 :348

(2016-11-09 收稿)