

# 正交设计试验优选腺苷钴胺片处方

杨桂英<sup>1\*</sup>, 官晓平<sup>1</sup>, 张彦鹏<sup>2</sup>, 黄立红<sup>2</sup> (1. 张家口市食品药品检验中心, 河北 张家口 075000; 2. 华北制药股份有限公司, 石家庄 050015)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)37-3502-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.37.15

**摘要** 目的: 优化腺苷钴胺片的处方组成。方法: 以辅料中的羧甲基淀粉钠、微粉硅胶、硬脂酸镁用量为因素, 以溶出度为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验优化腺苷钴胺片处方(每片含腺苷钴胺0.25 mg), 对所制腺苷钴胺片进行验证试验(30 min溶出度、羟钴胺素在460 nm与352 nm处吸光度比值、崩解时限和含量), 并考察制剂的加速稳定性。结果: 辅料中影响腺苷钴胺片溶出度的主要因素是羧甲基淀粉钠; 最优处方(10 000片)为羧甲基淀粉钠18 g, 微粉硅胶1.8 g, 硬脂酸镁3 g; 所制片剂的30 min溶出度为97%~99%, 羟钴胺素的吸光度比值均为0.93, 崩解时间为9~10 min, 含量为99.3%~99.7%, 6个月的加速试验结果与0个月时比较无明显变化。结论: 成功制得各项指标符合《中国药典》要求的腺苷钴胺片。

**关键词** 腺苷钴胺片; 处方; 正交设计试验; 溶出度

## Formulation Optimization of Cobamide Tablets by Orthogonal Design

YANG Gui-ying<sup>1</sup>, GONG Xiao-ping<sup>1</sup>, ZHANG Yan-peng<sup>2</sup>, HUANG Li-hong<sup>2</sup> (1. Zhangjiakou Institute for Food and Drug Control, Hebei Zhangjiakou 075000, China; 2. North China Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050015, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the formulation of Cobamide tablets. METHODS: The  $L_9(3^4)$  orthogonal design was performed to optimize the formulation of Cobamide tablets containing cobamide 0.25 mg per tablet with the amount of CMS-Na, silicii doxydum and magnesium stearate as factors using dissolution rate as index. Validation test (30 min dissolution rate, hydroxocobalamine absorbance at 460 nm to at 352 nm, disintegration time limited and content) of formulation was conducted, and the accelerated stability test was also carried out. RESULTS: The experimental result indicated CMS-Na was the chief influential factor of the dissolution rate of Cobamide tablets. The optimal formulation (10 000 tablets) was composed of CMC-Na 18 g, silicii doxydum 1.8 g and magnesium stearate 3 g. The dissolution rate of prepared tablet was 97%-99% within 30 min. The ratio of hydroxocobalamine absorbance was 0.93, disintegration time limited was 9-10 min and content was 99.3%-99.7%. Result of 6 month accelerated test was not significant different from that of 0 month accelerated test. CONCLUSIONS: Cobamide tablets are prepared successfully and up to the requirements of *Chinese Pharmacopoeia*.

**KEYWORDS** Cobamide tablets; Formulation; Orthogonal design experiment; Dissolution rate

腺苷钴胺(Cobamide)片为维生素类药, 是维生素 $B_{12}$ 的活性辅酶形式之一, 用于维生素 $B_{12}$ 缺乏所致的疾病, 如妊娠期贫血、营养不良性贫血, 也可用于神经根炎、多发性神经炎、末梢神经炎等<sup>[1]</sup>, 现收载于2010年版《中国药典》(二部)<sup>[2]</sup>, 为糖衣片。标准中未对溶出度加以规定, 按现行标准进行检验得到的结果不能完全真实地反映药品的质量。溶出度用于表征体外药品的生物利用度, 是口服固体制剂质量评价的重要指标之一<sup>[3-4]</sup>。为制备合格的腺苷钴胺片, 本文以溶出度为主要考察指标, 采用正交设计试验优化腺苷钴胺片处方组成。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 沸腾制粒机(德国格拉特公司); P2020 压片机(德国菲特公司); ML204 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); RC806 智能溶出仪(天津大学无线电厂); LDB-300 包衣机(哈尔滨纳诺医药化工设备有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

腺苷钴胺原料药(华北制药股份有限公司, 批号: 30019913100001, 纯度: 98.5%); 腺苷钴胺标准品(中国食品药

品检定研究院, 批号: 140658-200501, 纯度: 98.5%); 腺苷钴胺片(华北制药股份有限公司, 批号: 131206、131207、131208, 规格: 每片含腺苷钴胺0.25 mg); 羧甲基淀粉钠(批号: 130110)、微粉硅胶(批号: 131103)、硬脂酸镁(批号: 20130412)均来自安徽山河药用辅料股份有限公司; 其余辅料均为药用规格, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 处方初步筛选

根据华北制药股份有限公司多年的片剂生产实践经验, 选择国内常用辅料, 先对腺苷钴胺片辅料进行单因素筛选。羧甲基淀粉钠作为崩解剂具有良好的吸水性和膨胀性, 从而实现片剂的崩解, 促进药物的溶出, 其用量为1%~3%; 微粉硅胶有很好的助流作用, 确保物料的可压性, 其用量为0.1%~0.3%; 硬脂酸镁的润滑作用可以确保压片时片子的脱模性, 确保压片的顺利进行, 其用量为0.5%~1.5%。

### 2.2 溶出度考察

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验<sup>[5]</sup>。色谱柱: YMC C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 为 3.2)-乙腈(85:15), 流速: 1 ml/min; 紫外检测器; 检测波长: 260 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 50 μl。该色谱条件下, 腺苷钴胺与相邻峰的分离度符合要求。

2.2.2 溶液的制备。对照品溶液: 精密称取经 60 °C 减压干燥

\* 高级工程师。研究方向: 药物分析、药品质量标准。电话: 0313-4061038-813。E-mail: ygy5901688@126.com

4 h的腺苷钴胺对照品适量,加水溶解,并用水稀释成每1 ml中约含1.25 μg的溶液,摇匀,即得。溶出溶液:取片剂,照溶出度测定法[2010年版《中国药典》(二部)附录XC小杯法]<sup>[2]</sup>,以水200 ml为溶出介质,转速75 r/min,依法操作。在30 min时,取溶液10 ml,用微孔滤膜(0.45 μm)迅速滤过,取续滤液,即得。以上溶液的制备均避光操作。

2.2.3 溶出度测定。取对照品溶液和溶出溶液各50 μl,注入液相色谱仪,记录色谱。按外标法以峰面积分别计算每片样品在30 min时的溶出度。限度为标示量的70%。

### 2.3 正交设计试验

通过初步筛选处方,确定以淀粉和糊精用一步制粒的生产工艺制作空白颗粒。确定影响腺苷钴胺片质量的因素主要包括崩解剂、助流剂、润滑剂的用量,每个因素分别选定3个水平,以30 min溶出度为主要考察指标,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验表<sup>[6]</sup>,对试验方案进行设计,进一步考察腺苷钴胺片(片质量约0.061 6 g)中羧甲基淀粉钠用量(A)、微粉硅胶用量(B)、硬脂酸镁用量(C)的影响。正交设计试验因素与水平取值见表1。

表1 正交设计试验因素与水平取值(g/10 000片)

Tab 1 Factors and levels of orthogonal design experiment(g/10 000 tablets)

水平	因素		
	A	B	C
1	6	0.6	3
2	12	1.2	6
3	18	1.8	9

### 2.4 腺苷钴胺片的制备

将处方量的腺苷钴胺原料药和制备的空白颗粒等量递加2次,把等量递加后的物料和剩余的空白颗粒按表1处方量羧甲基淀粉钠、微粉硅胶混合30 min,再加入处方量的硬脂酸镁混合5 min,即得腺苷钴胺片的中间体颗粒。按中间体检验标准检测中间体颗粒,确定片质量并压片,然后进行包衣。按相同方法制得另外8组不同的腺苷钴胺片,测定所制片剂的30 min溶出度。正交试验设计与极差分析结果见表2,方差分析结果见表3。

表2 正交设计试验与极差分析结果

Tab 2 Results of orthogonal design experiment and range analysis

序号	因素				溶出度, %
	A	B	C	空列	
1	6	0.6	3	1	26
2	6	1.2	6	2	30
3	6	1.8	9	3	32
4	12	0.6	6	3	95
5	12	1.2	9	1	92
6	12	1.8	3	2	96
7	18	0.6	9	2	97
8	18	1.2	3	3	98
9	18	1.8	6	1	98
K <sub>1</sub>	88	218	223	216	
K <sub>2</sub>	283	223	223	223	
K <sub>3</sub>	296	226	221	228	
R	69.34	2.66	0.66	4	

由表2、表3可知,影响腺苷钴胺片溶出度的主要因素是A,其次为B,C因素无显著影响,即A>B>C。根据溶出度综合平均值结果,结合极差分析,确定最优处方组成为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>。

### 2.5 验证试验

表3 正交设计试验方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis of orthogonal design experiment

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F
A	9 050.89	2	4 525.45	373.69
B	10.89	2	5.45	<1
C	0.89	2	0.45	<1
误差	24.22	2	12.11	

按照“2.3”项下最优处方,制备3批腺苷钴胺片,批号分别为131206、131207、131208,检测3批样品30 min的溶出度,并按《中国药典》中对腺苷钴胺片的质量控制要求,对所制片剂中羧钴胺素在460、352 nm波长处吸光度比值、崩解时限和含量进行检测。结果各项指标均符合标准规定,详见表4。

表4 3批腺苷钴胺片的验证试验结果(n=6)

Tab 4 Results of validation test of 3 batches of Cobamide tablets(n=6)

批号	溶出度, %	羧钴胺素的吸光度比值	崩解时限, min	含量, %
131206	97	0.93	10	99.3
131207	98	0.93	9	99.4
131208	99	0.93	10	99.7

### 2.6 稳定性试验

将“2.4”项下制备的3批样品进行铝塑包装,在加速试验条件[温度(40±2)℃、相对湿度(75±5)%]下放置1、2、3、6个月<sup>[2]</sup>,然后按“2.4”项下指标进行检测。结果各项指标均符合标准规定,详见表5。

表5 稳定性试验结果

Tab 5 Results of stability test

批号	时间, 月	溶出度, %	羧钴胺素的吸光度比值	崩解时限, min	含量, %
131206	1	97	0.93	10	99.3
	2	98	0.92	11	99.5
	3	96	0.92	10	98.7
	6	95	0.91	12	98.3
131207	1	98	0.90	10	99.6
	2	96	0.91	10	99.5
	3	95	0.90	12	99.5
	6	96	0.90	12	98.9
131208	1	98	0.93	11	99.5
	2	96	0.92	12	99.3
	3	97	0.90	12	99.4
	6	94	0.91	13	98.6

## 3 讨论

腺苷钴胺片为糖衣片,原料为暗红色结晶或非结晶性粉末,见光易分解<sup>[7]</sup>,在生产和检验的过程要避光操作。现行标准2010年版《中国药典》(二部)无溶出度检测项,只控制崩解时限。溶出度检测是评价制剂处方、生产工艺、制剂生物利用度的重要指标,目前已成为制药工业必设的一个质量控制项目。关于腺苷钴胺片溶出度方法的建立与研究,笔者已进行过报道<sup>[5]</sup>。

考虑到药物的溶出度与制剂的处方、工艺直接相关,笔者在多年生产实践的基础上,对生产处方进行了正交试验优化。正交试验结果显示,崩解剂羧甲基淀粉钠对腺苷钴胺片的溶出度有显著影响,故在保证产品质量的前提下,应采用适量崩解剂。本研究用正交试验优选出的处方工艺制备的腺苷钴胺片,产品质量稳定,各项指标均符合要求。该制备工艺简单易行,适合工业化大生产,可为药品生产企业研制腺苷钴胺

# 硫酸长春新碱脂质体含量测定及3种包封率测定方法的比较<sup>Δ</sup>

陈颖翀<sup>1\*</sup>,李翔<sup>1,2#</sup>,张婧<sup>3</sup>,刘微<sup>1</sup>,罗晓健<sup>1</sup>,孟拓<sup>4</sup>(1.江西中医药大学/中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,南昌 330006;2.江西本草天工科技有限责任公司,南昌 330006;3.江西中医药大学/现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004;4.中国药科大学药学院,南京 210009)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)37-3504-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.37.16

**摘要** 目的:建立测定硫酸长春新碱脂质体含量的方法,并对其3种包封率测定方法进行比较。方法:采用高效液相色谱法测定药物含量,色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为4.5%二乙胺水溶液(pH 7.0)-甲醇(1:7, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为297 nm;分别采用超速离心法、超滤法、微柱离心法分离游离药物并测定包封率。结果:硫酸长春新碱检测质量浓度线性范围为1~160 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率为(97.8±1.1)%;3种方法测定包封率的方法回收率均符合方法学要求(回收率均≥96.54%),测得样品的包封率分别为96.54%、96.84%、95.29%。结论:本品含量测定方法准确;包封率测定方法中以超滤法操作更简单且快速。建立的含量和包封率测定方法可用于该制剂的质量控制。

**关键词** 硫酸长春新碱脂质体;含量测定;包封率

## Content Determination of Vincristine Sulphate Liposomes and Comparison of 3 Methods for Entrapment Efficiency

CHEN Ying-chong<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing<sup>3</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, LUO Xiao-jian<sup>1</sup>, MENG Tuo<sup>4</sup>(1.Jiangxi University of TCM/National Pharmaceutical Engineering Center for TCM Solid Preparation, Nanchang 330006, China; 2.Jiangxi Herbfine Co., Ltd., Nanchang 330006, China; 3.Jiangxi University of TCM/Key Lab of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Nanchang 330004, China; 4.School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of vincristine sulphate (VS) liposomes, and to compare 3 methods for entrapment efficiency. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 4.5% diethylamine solution (pH 7.0)-methanol (1:7, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 297 nm. The entrapment efficiency was determined by ultracentrifugation, ultrafiltration and microcolumn centrifugation method, respectively. RESULTS: The linear range of VS were 1-160 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ) with an average recovery of (97.8±1.1)%. Method recoveries of 3 methods for entrapment efficiency were in line with the methodology requirements (recoveries≥96.54%), entrapment efficiency were 96.54%, 96.84%, 95.29%. CONCLUSIONS: The method for content determination is accurate; ultracentrifugation method is more simple and rapid among 3 methods. Established methods for content determination and entrapment efficiency can be used for quality control of the preparation.

**KEYWORDS** Vincristine sulphate liposomes; Content determination; Entrapment efficiency

口服固体制剂提供参考和借鉴。

### 参考文献

[1] 王志良,冷健,催红燕.腺苷钴胺的临床应用进展[J].中国药事,2006,20(2):122.

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1 086、附录85、附

Δ 基金项目:江西省青年科学基金资助项目(No.20122BAB215018、20132BAB215022)、江西省科技支撑计划资助项目(No.20123BBG70181)、江西省卫生厅中医药科研计划资助项目(No.2012A157)、江西省教育厅青年科学基金资助项目(No.GJJ12536)

\* 硕士研究生。研究方向:新药及药物新剂型。E-mail: 56581818@qq.com

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:新药及药物新剂型。电话:0791-87119661。E-mail: sterlinghawk@163.com

录199.

[3] 姜建国,张西如,宋更申,等.枸橼酸喷托维林制剂的溶出度试验方法的建立及42厂家样品考察[J].中国药房,2013,24(17):1 593.

[4] 刘春平,陈耀娣,王超,等.国产马来酸依那普利与进口片剂体外溶出度比较[J].中国药房,2013,24(21):1 991.

[5] 杨桂英,董琨,宫晓平,等.腺苷钴胺片溶出度试验方法的建立[J].中国药房,2014,25(25):2 376.

[6] 刘东,陈乃富,陈乃东,等.地拉罗芬分散片的处方筛选研究[J].中国药房,2013,24(45):4 282.

[7] 陈学军,李振东.腺苷钴胺原料药的稳定性研究[J].黑龙江医药,2011,24(1):82.

(收稿日期:2014-04-16 修回日期:2014-08-27)