

全因子实验设计筛选米诺膦酸片处方及其混合均匀性考察

陈丽萍, 金鑫*, 倪牡丹, 范珊珊, 林琳(浙江金华康恩贝生物制药有限公司, 浙江 金华 321016)

摘要: 目的 筛选米诺膦酸片的最优处方, 并确认其混合均匀性。方法 根据原研制剂的处方组成, 使用 Minitab 19 软件对各辅料的处方用量进行优化, 以溶出度和含量均匀性为考察指标, 进行全因子实验设计和分析。依据 ASTM E2709/E2810 对本品进行分层取样, 统计分析其颗粒的混合均匀性和成品的含量均匀性。结果 筛选得到原料粒径 D(90) 范围为 11~15 μm , 淀粉占比 9%, 乳糖占比 79.5%, 羟丙基纤维素占比 10% 组成最优处方。小中放批样品总混工序混合均匀性取样样品和压片过程中分层取样样品经统计学分析混合均匀性可被接受。结论 筛选的米诺膦酸片处方合理、工艺可行, 能确保该小规格片剂的溶出度和含量均匀性。

关键词: 米诺膦酸片; 全因子实验设计; ASTM E2709/E2810; 分层取样; 混合均匀性

中图分类号: R944.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)09-1192-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.09.010

引用本文: 陈丽萍, 金鑫, 倪牡丹, 等. 全因子实验设计筛选米诺膦酸片处方及其混合均匀性考察[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1192-1196.

Screening the Formulation of Minodronic Acid Tablets by Full Factorial Experimental Design and Investigation on Its Blend Uniformity

CHEN Liping, JIN Xin*, NI Mudan, FAN Shanshan, LIN Lin(Zhejiang Jinhua Conba Bio-pharm Co., Ltd., Jinhua 321016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To screen the optimal formulation of minodronic acid tablets and confirm its blend uniformity. **METHODS** According to the formulation of the innovator products, Minitab 19 software was used to design and analyze the optimization experiment of the formulation dosage of each excipient, taking the dissolution and content uniformity as inspection indicators, the full factorial experimental design and analysis were carried out. According to ASTM E2709/E2810, stratified sampling was used, and the blend and content uniformity was statistically analyzed. **RESULTS** After screening, the optimal particle size distribution of active pharmaceutical ingredient was D90(11 to 15 μm), the optimal proportion of starch, lactose and hydroxypropyl cellulose was 9%, 79.5% and 10% respectively. The statistical analysis results of small and pilot production batches showed that uniformity of samples from blending process and from tableting process were acceptable. **CONCLUSION** The screened formulation and process of minodronic acid tablets are feasible and can guarantee the dissolution and content uniformity of the tablets with small strength.

KEYWORDS: minodronic acid tablets; full factorial experimental design; ASTM E2709/E2810; stratified sampling; blend uniformity

近年来, 随着中国人口老龄化进程加速, 人群中骨组织量减少, 骨代谢功能降低, 骨质疏松、骨脆性增加的患者数量逐年攀升。2018 年国家卫生健康委员会首次发布的中国骨质疏松流行病学调查结果显示, 骨质疏松已成为中国>50 岁人群的重要健康问题。骨质疏松症已成为中国面临的公共健康问题。

双膦酸盐类药物化合物可以抑制破骨细胞活性, 降低骨转换, 增加骨密度, 是治疗骨质疏松应用最为广泛的药物之一。米诺膦酸是一种新型杂环双膦酸盐类化合物, 为第 3 代含氮杂环双膦酸盐化合物, 相比第 3 代二膦酸盐阿仑膦酸, 米

诺膦酸具有相似的疗效, 但使用剂量则明显下降。动物实验显示米诺膦酸抑制骨吸收的活性分别是阿仑膦酸钠和帕米膦酸的 10 倍和 100 倍^[1-2]。米诺膦酸片由日本 Astellas 制药公司研制, 并和小野药品工业株式会社共同进行市场开发, 于 2009 年 1 月获批上市, 规格为 1 mg, 目前尚未进口到中国。米诺膦酸片为低剂量口服固体制剂, 几乎不溶于水, 本研究依据文献调研获得原研处方, 通过全因子实验设计, 筛选原料的粒径和各辅料的用量, 以含量均匀性和溶出度为考察指标, 优化处方组成, 采用统计分析的方法考察样品的混合均匀性。

作者简介: 陈丽萍, 女, 硕士, 工程师
jinxin@conbagroup.com

E-mail: chenlp4@conbagroup.com

*通信作者: 金鑫, 男, 高级工程师

E-mail:

1 仪器与试剂

1.1 仪器

HLSH2-6 湿法制粒机(北京航空制造工程研究所); DHG-9420A 电热恒温鼓风干燥箱(上海风棱实验设备有限公司); SYH 实验室三维运动混合机(常州市轩宇干燥设备有限公司); ZPS8 旋转式压片机(上海天祥健台制药机械有限公司); BGB 实验型包衣机(宜春万申制药机械有限公司); PL60001-S 电子天平(梅特勒-托利多); SNT 型智能药物溶出仪(日本岛津科技); Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

1.2 药品与试剂

米诺膦酸(浙江金华康恩贝生物制药有限公司, 批号: 1801002); 米诺膦酸对照品(南京华威医药科技集团有限公司, 批号: 09HW0334-DZP+1; 含量: 99.9%); 乳糖(德国美剂乐沃斯堡牛奶房两合公司, 批号: L101854217A545); 淀粉(安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 171003); 羟丙基纤维素(信越化学工业株式会社, 批号: 0031110); 薄膜包衣剂(上海卡乐康包衣技术有限公司, 批号: SH603602); 硬脂酸镁(湖州展望药业有限公司, 批号: 20180514)。

2 米诺膦酸片处方

根据原研说明书中记载, 米诺膦酸片规格为 1 mg, 所含的辅料有乳糖水合物、玉米淀粉、羟丙基纤维素、硬脂酸镁、羟丙甲纤维素、聚乙二醇 6000、滑石粉和钛白粉^[3], 其中, 羟丙甲纤维素、聚乙二醇 6000、滑石粉和钛白粉为包衣材料。根据原研制剂的处方组成, 在常规用量范围内对辅料的用量进行以下处方筛选。

2.1 2^3 全因子实验设计研究原料药粒径和内加辅料用量

该实验的目的是选择淀粉/乳糖比和羟丙基纤维素用量, 并确定这些变量与原料药粒度大小是否存在交互作用。该实验采用 3 中心点的 2^3 全因子实验设计用于研究这 3 个处方因素对表 1 中所列响应变量的影响。

硬脂酸镁是胶囊剂和片剂生产中常用的润滑剂之一, 使用浓度为 0.25%~5.0%^[4], 本处方中外加用量暂定为 0.5%。

2.1.1 全因子实验设计 米诺膦酸片的规格为 1 mg, 片重约 100 mg, 规格小, 原料占比低, 产品的溶出度和含量均匀性对药效影响大, 故选择溶出度和含量均匀性作为本品处方筛选的响应因子。 2^3 全因子实验设计见表 1。

表 1 2^3 全因子实验的因素水平表

Tab. 1 Factor level table of 2^3 full factor experimental design

因素(处方变量)	水平		
	-1	0	1
A 原料药粒径(D90)/ μm	10.0	12.5	15.0
B 淀粉/乳糖组合中淀粉的占比/%	10	20	30
C 羟丙基纤维素用量/%	5.0	7.5	10.0
响应	目标		可接受范围
Y1 溶出度/%	最大化		≥ 80
Y2 含量均匀性 RSD/%	最小化		≤ 2.0

2.1.2 模型拟合及分析 利用 Minitab 19 软件设计实验并按运行序安排实验, 结果见表 2。

表 2 2^3 全因子实验的结果

Tab. 2 Results of 2^3 full factor experimental design

序号	原料药粒径(D90)/ μm	淀粉/乳糖组合中淀粉的占比/%	羟丙基纤维素用量/%	溶出度/%	含量均匀性 RSD/%
1	10.0	10	10.0	98.0	1.9
2	12.5	20	7.5	92.7	2.0
3	12.5	20	7.5	90.2	1.8
4	15.0	30	5.0	76.9	1.5
5	15.0	10	10.0	86.4	1.5
6	15.0	30	10.0	95.8	1.9
7	15.0	10	7.5	79.6	1.2
8	10.0	10	5.0	99.8	2.3
9	12.5	20	7.5	93.5	2.0
10	10.0	30	5.0	98.2	2.5
11	10.0	30	10.0	99.4	2.9

实验数据通过软件分析: 模型对溶出度影响的方差分析结果见表 3, 标准化效应的正态图见图 1, 模型分析结果显示原料药粒径(A)、羟丙基纤维素用量(C)、原料药粒径和羟丙基纤维素用量的交互作用(A×C)对溶出度有显著影响。模型对含量均匀性影响的方差分析结果见表 4, 标准化效应的正态图见图 2, 模型分析结果显示原料药粒径(A)和淀粉/乳糖组合中淀粉的占比(B)对含量均匀性有显著影响。

以上结果可知: ①原料药粒径对米诺膦酸片的溶出度和含量均匀性均有显著影响。原料药粒径较小可提高溶出度, 但它对片子的含量均匀性产生消极影响。②淀粉的占比显示对米诺膦酸片的含量均匀性有显著影响。淀粉的占比较小时含量均匀性更优。③羟丙基纤维素的用量对米诺膦酸片的溶出度显著影响, 并与原料药的粒径有交互作用。当原料药的粒径较大时羟丙基纤维素用量对溶出度有较大的影响。

以上使用无重叠项的全因子实验设计确定了主效应和交互效应, 使用全因子实验设计模型进一步建立处方变量的可接受范围。因淀粉的占比

表 3 模型对溶出度影响的方差分析结果

Tab. 3 ANOVA results of the model influence on dissolution

来源	自由度	Adj SS	Adj MS	F 值	P 值	备注
模型	6	606.808	101.135	24.40	0.004	有意义
线性	3	485.894	161.965	39.08	0.002	
原料药粒径(D90)/ μm	1	401.861	401.861	96.96	0.001	有意义
淀粉/乳糖组合中淀粉的占比/%	1	5.281	5.281	1.27	0.322	无意义
羟丙基纤维素用量/%	1	78.751	78.751	19.00	0.012	有意义
2 因子交互作用	3	120.914	40.305	9.72	0.026	
原料药粒径(D90) $\times$ 淀粉/乳糖组合中淀粉的占比	1	5.951	5.951	1.44	0.297	无意义
原料药粒径(D90) $\times$ 羟丙基纤维素用量	1	86.461	86.461	20.86	0.010	有意义
淀粉/乳糖组合中淀粉的占比 $\times$ 羟丙基纤维素用量	1	28.501	28.501	6.88	0.059	无意义
误差	4	16.578	4.144			
弯曲	1	0.300	0.300	0.06	0.829	无意义
失拟	1	10.351	10.351	3.49	0.203	无意义
纯误差	2	5.927	2.963			
合计	10	623.385				

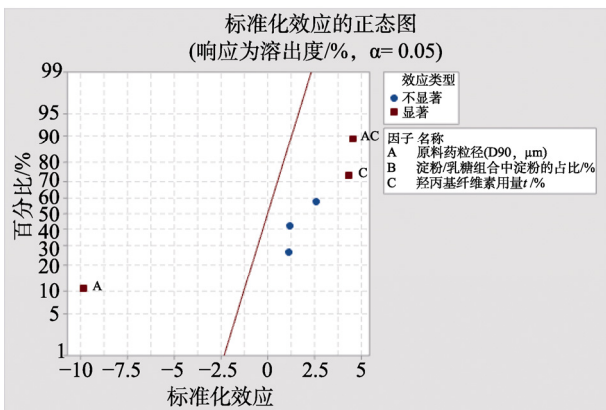


图 1 处方变量对溶出度影响

Fig. 1 Influence of prescription variables on dissolution

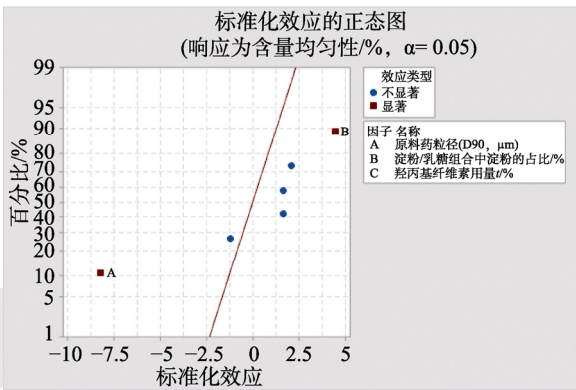


图 2 处方变量对含量均匀性影响的标准化效应正态图

Fig. 2 Normalized effects normal plot of the influence of prescription variables on content uniformity

表 4 模型对含量均匀性影响的方差分析结果

Tab. 4 ANOVA results of the model influence on content uniformity

来源	自由度	Adj SS	Adj MS	F 值	P 值	备注
模型	6	2.237 50	0.372 92	16.62	0.008	有意义
线性	3	2.043 75	0.681 25	30.35	0.003	
原料药粒径(D90)/ μm	1	1.531 25	1.531 25	68.23	0.001	有意义
淀粉/乳糖组合中淀粉的占比/%	1	0.451 25	0.451 25	20.11	0.011	有意义
羟丙基纤维素用量/%	1	0.061 25	0.061 25	2.73	0.174	无意义
2 因子交互作用	3	0.193 75	0.064 58	2.88	0.167	
原料药粒径(D90) $\times$ 淀粉/乳糖组合中淀粉的占比	1	0.031 25	0.031 25	1.39	0.303	无意义
原料药粒径(D90) $\times$ 羟丙基纤维素用量	1	0.061 25	0.061 25	2.73	0.174	无意义
淀粉/乳糖组合中淀粉的占比 $\times$ 羟丙基纤维素用量	1	0.101 25	0.101 25	4.51	0.101	无意义
误差	4	0.089 77	0.022 44			
弯曲	1	0.001 86	0.001 86	0.06	0.818	无意义
失拟	1	0.061 25	0.061 25	4.59	0.165	无意义
纯误差	2	0.026 67	0.013 33			
合计	10	2.327 27				

仅对含量均匀性影响显著，并呈负相关，故将淀粉在填充剂中的占比设定为最低值 10%。2 个响应的等值线叠加图见图 3，白区表示所有响应都能同时实现的范围。

基于原料药的粉碎工艺，为容纳可能最大的原料药粒径并避免在溶出可能不合格的限度边缘，选择 10%羟丙基纤维素用于处方，此条件下原料药 D(90)的可接受范围定为 11~15 μm 。

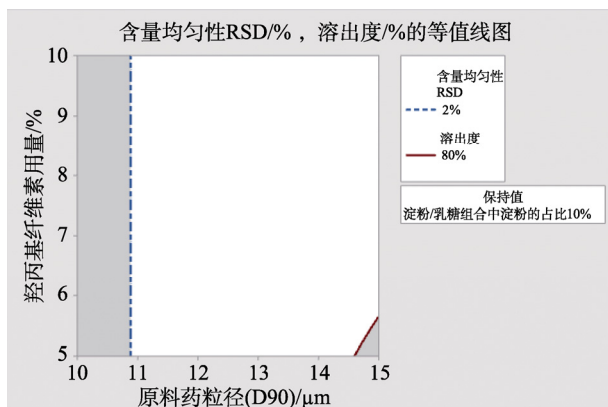


图3 处方变量对响应影响的叠加图

Fig. 3 Overlay diagram of the influence of prescription variables on responses

2.2 硬脂酸镁用量的筛选

硬脂酸镁为常用润滑剂，黏附性能强、润滑性好^[5]，在片剂中应用广泛，常用量为0.25%~5.0%^[4]。因有报道称硬脂酸镁过度润滑对产品溶出有影响^[6]，故实验选用0.25%，0.5%和1.0% 3个较低浓度开展，以颗粒流动性、片子性状和溶出度为考察指标，结果见表5。

表5 硬脂酸镁用量筛选的试验结果

Tab. 5 Result of dosage screening of magnesium stearate

硬脂酸镁用量/%	颗粒休止角/(°)	性状	溶出度/%
0.25	42	黏冲、麻面	/
0.5	34	片面光洁	99.2
1.0	32	片面光洁	98.7

因含0.25%用量硬脂酸镁的颗粒流动性一般、压片时黏冲严重，该样品没有检测溶出度。0.5%和1.0%用量硬脂酸镁的颗粒流动性好、溶出度高且相近，故最终选定的硬脂酸镁用量为0.5%。

2.3 包衣剂用量的确定

根据“2.1~2.2”项确定米诺膦酸片片芯的最优处方为每片含米诺膦酸1 mg、淀粉9 mg、乳糖79.5 mg、羟丙基纤维素10 mg、硬脂酸镁0.5 mg。

原研片剥除包衣层后质量减轻约为2%~3%，故包衣粉用量设计为素片质量的3%。

包剂粉选用85G68918-CN型欧巴代系列胃溶型包衣剂，包衣后成品检测溶出度为98.8%，与素片无明显差异，确定包衣粉处方用量为素片质量的3%。

2.4 优化后处方的验证

精密称取米诺膦酸、淀粉和乳糖，混合均匀，加入羟丙基纤维素溶液制软材，过18目筛，设定干燥温度60℃，干燥3~3.5 h至水分<2.0%，过18目筛整粒。将制好的颗粒与处方量的硬脂酸镁总混，压片，片子的硬度控制在35~70 N。配制

85G68918-CN型欧巴代系列胃溶型包衣溶液，包衣。平行试验3次，制得3批样品，3批样品溶出度分别为98.6%，99.3%和97.3%，在水介质中15 min的溶出度均>85%，为快速溶出，与日本步美制药株式会社上市的米诺膦酸片研发申报资料概述(IF文件)中报道的溶出情况^[7]相似，溶出曲线见图4。且3批样品的含量均匀性RSD分别为1.2%，1.5%，1.3%，均处于较优水平，表明确定的最终处方可行。

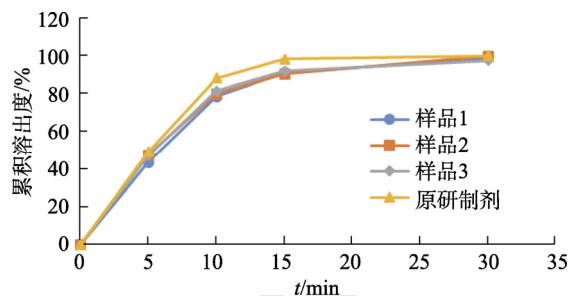


图4 样品在水介质中的溶出曲线

Fig. 4 Dissolution curves of samples in aqueous media

3 米诺膦酸片混合均匀性考察

中国药典2020年版四部通则规定，规格<25 mg的固体制剂需要进行含量均匀度检测；而对于规格≤1 mg的低剂量固体制剂来说，含量均匀度是最重要的质量属性之一^[8]。通常而言，最终制剂的含量均匀度很大程度上取决于混合机内粉体的均匀性，然而对于存在潜在分层风险的物料而言，混合器内的均匀性则很难确保最终制剂的含量均匀性。

美国FDA所属CDER办公室于2003年10月发布了“混合均匀性取样和评价指南”，帮助指导企业满足21CFR211.110对于混合均匀性的要求。2013年8月，FDA撤回了该指南，认为指南提供的基于美国药典<905>制剂单位含量均匀度的流程和接受标准不足以对整批产品符合恰当的质量标准提供充分的统计学保证。2014年，国际制药工程协会(ISPE)在03版指导原则的基础上修订产生了

“Recommendations for the Assessment of Blend and Content Uniformity: Modifications to Withdrawn FDA Draft Stratified Sampling Guidance”^[9]，优化了混合期内样品混合均匀性可接受标准，并初步提出基于混合器内物料混合均匀性、过程分层取样均匀性以及终产品含量均匀度三者数据之间的关联性。伴随统计学在制药领域的不断应用以及过程分析技术的不断推广，粉体混合均匀性判断也迎来了属于它的统计分析时代，ASTM推出ASTM E2709 “Standard Practice for Demonstrating Capability to Comply with an Acceptance Procedure”和ASTM E2810 “Standard Practice for Demonstrating

Capability to Comply with the Test for Uniformity of Dosage Units”来统计分析分层取样的取样点内和取样点间的均匀性^[10]。

米诺膦酸片规格为 1 mg, 是低剂量口服固体制剂, 为进一步确认处方的可行性并保障产品的混合均匀性, 开展了一批批量为 2 万片的小中放试验。

依据 ISPE 的指导建议进行取样, 在总混工序中于 10 个取样点取样, 每个取样点重复取样 3 份, 每个取样点检测 1 个样品, 结果见表 6。

表 6 米诺膦酸片颗粒混合均匀性结果

Tab. 6 Blend uniformity of minodronic acid granules

样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
含量/mg·g ⁻¹	9.74	9.90	10.23	10.02	9.54	10.12	9.63	10.21	10.17	9.35
SD/%	0.98									

米诺膦酸片颗粒理论含量为 10 mg·g⁻¹, 10 个样品含量检测结果相对于理论含量的 SD 为 0.98%, <3.0%。依据 ISPE 的指导建议, 第 1 阶段混合均匀性可被接受。

在压片工序中于 40 个取样点连续均匀取样, 每个取样点取 3 个样品。测定其中 20 个取样点的样品含量, 每个取样点 3 个样品。结果显示: 所有样品中, 未根据片重进行校正的含量最高值为 109.5%, 最低值为 93.1%, 平均为 102.31%; 根据片重进行校正的含量最高值为 109.4%, 最低值为 92.5%, 平均为 102.24%。依据 ASTM E2709/E2810 对结果进行统计分析, 压片工序样品检测结果用“Blend-astm-final-dosage-units-calculations-version-10-14-16”中的表格 CU 20 × 3(<http://ispe.org/samplingtables>)分析, 结果显示, 未根据片重进行校正的含量数据分析得取样点内样品的标准差为 3.60%, 取样点间样品的标准差为 2.46%, 对应的基于 90%的置信度和 95%的覆盖率统计学分析可接受的平均含量范围为 96.8%~103.2%, 样品的平均含量(102.31%)在该范围内; 根据片重进行校正的含量数据分析得取样点内样品的标准差为 3.65%, 取样点间样品的标准差为 2.35%, 对应的基于 90%的置信度和 95%的覆盖率统计学分析可接受的平均含量范围为 96.7%~103.3%, 样品的平均含量(102.24%)在该范围内。由分析结果得出结论混合物的混合均匀性可被接受, 不需要再检测剩余 20 个取样点的样品含量。

如上所述, 以米诺膦酸片确定的处方制备的样品混合均匀性良好, 基于 90%的置信度和 95%的覆盖率经统计学分析, 能符合 FDA 对混合均匀性的要求。

4 讨论

米诺膦酸片规格为 1 mg, 药物体内活性强, 片重约 100 mg, 辅料/药物比例大, 终产品的含量均匀性和溶出度要求高。本实验重点针对原料药粒径和辅料的占比筛选设计了全因子实验, 选择米诺膦酸片的 2 个关键质量指标含量均匀性和溶出度为响应, 综合分析了主效应及所有的各阶交互效应对响应的影响, 确定了最优处方。

全因子实验设计中需要考虑的一个重要问题是重复实验, 本研究在“中心点”处设置了 3 次重复实验, 一方面可以充分估算实验误差; 另一方面, 由于增加了实验水平, 提升了对响应变量可能存在的弯曲趋势估计的能力, 这是简单全面重复每个实验所不能达到的效果^[11]。

基于米诺膦酸片的特点, 重点就该产品的混合均匀性进行了进一步的确认, 依据 ISPE 的指导原则和 ASTM E2709/E2810 进行了系统的混合均匀性取样、检测和统计分析, 充分评估了优化后处方的混合均匀性, 为终产品含量均匀、药效稳定提供了有效的保障。

REFERENCES

- [1] 袁淑杰. 新型杂环双膦酸类化合物米诺膦酸的合成新工艺研究[J]. 中国医药指南, 2015, 13(5): 291-292.
- [2] DIAB D L, WATTS N B. Bisphosphonates in the treatment of osteoporosis[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2012, 41(3): 487-506.
- [3] 米诺膦酸片说明书[EB/OL]. [2009-04]. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/800126_3999026F1026_1_19.
- [4] RAYMOND C R, PAUL J S, SIAN C O. Handbook of Pharmaceutical Excipients[M]. Fourth Edition. London: Pharmaceutical Press, 2003.
- [5] QIN Y N. Study on productive technology of medicinal magnesium stearate[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 1991, 8(3): 18-19, 30.
- [6] LV J Y, YANG L N, BAI Q Q. The effects of excessive lubrication of magnesium stearate on vildagliptin tablets[J]. Chin J Pharmaceut(中国药理学杂志), 2020, 18(4): 218-223.
- [7] 米诺膦酸片日本步美制药株式会社(あゆみ製薬株式会社)研发申报资料概述(IF文件)[DB/OL]. <https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuSearch/>.
- [8] ZHANG J L, HE W. Critical consideration of quality control in low-dose solid pharmaceutical preparation[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2016, 47(12): 1604-1608.
- [9] GARCIA T, BERGUM J, PRESCOTT J, et al. Recommendations for the assessment of blend and content uniformity: Modifications to withdrawn FDA draft stratified sampling guidance[J]. J Pharm Innov, 2015, 10(1): 76-83.
- [10] BERGUM J, PARKS T, PRESCOTT J, et al. Assessment of blend and content uniformity. technical discussion of sampling plans and application of ASTM E2709/E2810[J]. J Pharm Innov, 2015, 10(1): 84-97.
- [11] 马林, 何桢. 六西格玛管理[M]. 2 版. 北京: 中国人民大学出版社, 2007.

收稿日期: 2021-02-09

(本文责编: 李艳芳)