

## 分析质控与制剂

## 阿莫西林胶囊仿制药与原研药溶出行为研究及有区分力溶出方法的建立

周璟明 陈秀明 林斌 陈有钟 王海龙 郑孝贤 徐兰 方东升\*

(福建省微生物研究所, 福建省新药(微生物)筛选重点实验室, 福州 350007)

**摘要:** **目的** 建立阿莫西林胶囊有区分力的溶出曲线测定方法。 **方法** 考察不同搅拌装置、不同搅拌速度、不同溶出介质对阿莫西林胶囊(250mg)溶出行为的影响, 采用HPLC法对溶出样品进行测定并计算累积溶出度, 通过溶出曲线及 $f_2$ 相似因子对各厂家阿莫西林胶囊溶出行为进行比较。 **结果** 采用桨法(沉降篮)、转速100r/min、37℃、水为溶出介质对阿莫西林胶囊(250mg)进行溶出实验, 可以简便、有效的区分出各个厂家阿莫西林胶囊的溶出行为。 **结论** 该方法为阿莫西林胶囊仿制药质量一致性评价工作提供了参考。

**关键词:** 阿莫西林胶囊; 有区分力; 溶出方法**中图分类号:** R944.5 **文献标志码:** A

## Study on the dissolution behaviors of generic and original preparation and establishment of discriminative dissolution method for amoxicillin capsules

Zhou Jing-ming, Chen Xiu-ming, Lin Bin, Chen You-zhong, Wang Hai-long, Zheng Xiao-xian, Xu Lan and Fang Dong-sheng  
(Fujian Institute of Microbiology, Fujian Key Laboratory of Screening for Novel Microbial Products, Fuzhou 350007)

**Abstract Objective** To establish a discriminative method for the dissolution curve of amoxicillin capsules. **Methods** The effects of different stirring device, different stirring speeds, different dissolution media on the dissolution behavior of different manufacturers' amoxicillin capsules (250mg) were investigated by dissolution profile and  $f_2$  similarity factor. **Results** The dissolution test of amoxicillin capsules (250 mg) was carried out by a paddle method (with sinker) with the rotation speed of 100 r/min, temperature of 37 °C, and water as dissolution medium, which could easily and effectively distinguish the dissolution behavior of amoxicillin capsules from various manufacturers. **Conclusion** This method provides a reference for the further quality consistency evaluation of amoxicillin capsules.

**Key words** Amoxicillin capsules; Discriminative; Dissolution method

阿莫西林口服制剂有多种剂型, 其中胶囊剂占比70%以上, 在国内有236个批件, 250mg规格141个批件, 为临床首选规格。阿莫西林胶囊(250mg)的原研厂家为Glaxo Smith Kline(UK), 但并未在我国上市; 国内在售进口厂家两家。本研究参考国内外标准, 选取原研、进口仿制药3家、国产仿制药3家药

厂的阿莫西林胶囊(250mg), 对上述7家阿莫西林胶囊的溶出行为进行系统的研究, 考察不同搅拌方式(篮、桨法, 是否使用沉降篮)、不同搅拌速度、不同溶出介质等因素对阿莫西林胶囊溶出行为的影响, 通过溶出曲线及 $f_2$ 相似因子进行比较, 建立最具区分力的溶出方法, 可在一定程度上比较出仿制药与原

收稿日期: 2019-10-09

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项(No. 2017R1009-17)

作者简介: 周璟明, 女, 生于1981年, 硕士, 助理研究员, 从事药物分析检测工作, E-mail: 15752437@qq.com

\*通讯作者, E-mail: fds609@126.com

研制剂的差别,评价药品的质量<sup>[1-2]</sup>。

## 1 仪器与试药

溶出仪708+850DS(Agilent); 高效液相色谱仪2695-2995(Waters); 真空脱气仪ZKT-18F(天大天发); 甲醇(色谱纯, Merck); 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。对照品阿莫西林(中国食品药品检定研究院, 含量以 $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ 计为86.9%, 批号: 130409-201512), Amoxil阿莫西林胶囊(GSK, 250mg, 批号: lot136), 阿莫西林胶囊(进口A厂家, 250mg, 批号: lot35434889B), 阿莫西林胶囊(进口B厂家, 250mg, 批号: 6161593), 阿莫西林胶囊(进口C厂家, 250mg, 批号: 20927), 阿莫西林胶囊(国产D厂家, 250mg, 批号: 80500215), 阿莫西林胶囊(国产E厂家, 250mg, 批号: 4170143), 阿莫西林胶囊(国产F厂家, 250mg, 批号: 171103)。

## 2 方法与结果

### 2.1 检测方法的建立

参考《日本橙皮书》, 经摸索, HPLC检测条件为: 色谱柱Inertsil ODS-SP, 4.6mm×250mm, 5 $\mu$ m; 流动相0.1361%醋酸钠溶液(用醋酸调节pH为4.5)-甲醇(947:53); 流速1mL/min; 检测波长230nm; 设定柱温为35℃; 进样体积10 $\mu$ L; 检测时间10min。阿莫西林对照品溶液、胶囊溶出液的HPLC色谱图见图1。

#### 2.1.1 线性关系考察

精密称定阿莫西林对照品适量, 置于容量瓶中, 用水溶解并稀释, 制成分别含有28.43、56.86、113.72、227.44、284.3、341.16和426.45 $\mu$ g/mL的溶液。精密量取上述溶液10 $\mu$ L注入高效液相色谱仪检测, 以阿莫西林峰面积( $Y$ )对浓度( $X$ ,  $\mu$ g/mL)线性回

归, 得到回归方程为 $Y=14658X+14926$ ,  $r=0.9999$ , 表明阿莫西林浓度在28.43~426.45 $\mu$ g/mL范围内线性关系良好。

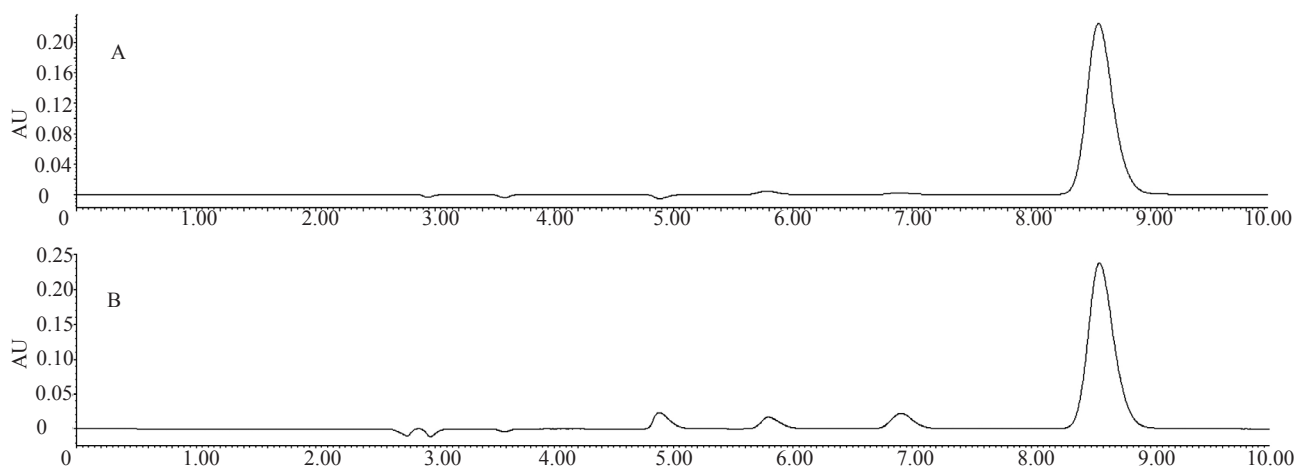
#### 2.1.2 稳定性试验

取不同溶出介质下溶出样品溶液(国产D厂家、批号80500215)分别于0、4、8、12、16、20和24h进样10 $\mu$ L, 计算阿莫西林峰面积RSD值。阿莫西林胶囊在pH4.0、pH6.8和水3种介质中的RSD分别为0.89%、1.58%和0.40%, 表明上述3种介质的阿莫西林胶囊溶出液在24h内稳定。阿莫西林在pH1.2环境下不稳定, 24h降解率达到50%(RSD为26.90%,  $n=7$ ), 在溶出实验及等待HPLC批量测定的过程中均会发生降解, 造成溶出度检测结果偏低。本实验采用在取样管中预加1:1( $V/V$ )0.2mol/L醋酸钠对pH1.2的溶出液进行及时中和后, 24h内RSD为1.26%( $n=7$ ), 稳定性明显增大, 有效的避免了因等待HPLC检测时间较长导致的降解。

#### 2.1.3 回收率试验

对照品液的制备: 精密称取阿莫西林对照品适量, 以水为溶剂配置成阿莫西林浓度约为138.9(50%)、222.2(80%)、277.8(100%)和333.4 $\mu$ g/mL(120%)的溶液, 每种浓度平行配制3份。考察pH1.2介质回收率时, 须将对照品稀释一倍。

样品溶液的制备: 将阿莫西林胶囊(D厂, 250mg, 批号80500215)分别完全溶于900mL的pH1.2、pH4.0、pH6.8、水介质中, 搅拌90min使胶囊完全溶解, 取适量(pH1.2介质的溶出液需加入1:1( $V/V$ )0.2mol/L醋酸钠进行中和后)过0.45 $\mu$ m的微孔滤膜, 作为样品溶液。



A: 阿莫西林对照品溶液; B: 阿莫西林胶囊溶出液

图1 阿莫西林高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of amoxicillin

样品加标溶液的配制：精密称定阿莫西林对照品适量，按照50%、80%、100%和120%加入到不同介质的样品溶液(约277.8 $\mu$ g/mL)中，每种溶液平行配制3份。考察pH1.2介质回收率时，须将对照品加入量减半。

取上述溶液进行HPLC测定，计算回收率。pH1.2、pH4.0、pH6.8和水中4个浓度级别的平均回收率分别为99.84%(RSD=1.42%， $n=12$ )、100.21%(RSD=0.80%， $n=12$ )、100.02%(RSD=0.73%， $n=12$ )和100.13%(RSD=0.18%， $n=12$ )。

## 2.2 溶出方法的建立

### 2.2.1 沉降篮的影响

分别采用桨法(无沉降篮)和桨法(沉降篮)以水为溶出介质，在100、75和50r/min转速下对阿莫西林胶囊(进口A厂家，250mg，批号：lot35434889B)进行溶出实验，取样时间分别为5、10、15、30、45、60、90、120和150min，0.45 $\mu$ m过滤处理后经HPLC检测并计算累积溶出度，结果见表1和图2。

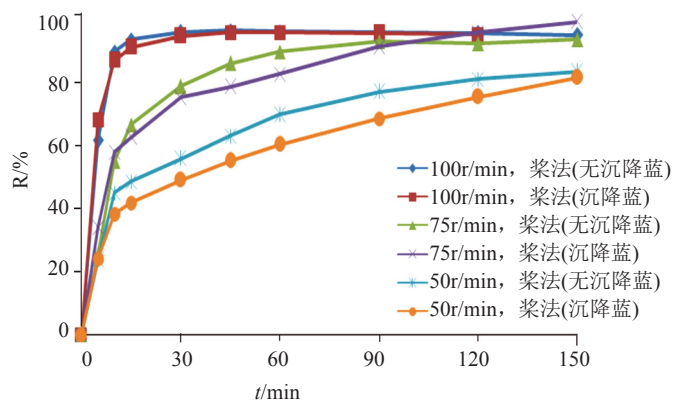
从图2可直观看出，在100r/min时，采用桨法(无沉降篮)与桨法(沉降篮)并没有太大的差异，但在低转速时，桨法(无沉降篮)的溶出速率比桨法(沉降篮)稍快，转速越低，二者之间的差异越明显；这可能是因为采用桨法(沉降篮)时因为沉降篮的作用从一开始胶囊就会沉在溶出杯底部，胶囊破裂后内容物仍然还是聚集在底部，受到的搅拌力度较小，而桨法(无沉降篮)中胶囊壳在没有破裂时是悬浮在溶出介质上的，受搅拌桨带来的离心力的作用力较大，破裂后内容物逐渐旋转沉降至杯的底部，一开始散落范围相对较大，逐渐缓慢向底部中心聚集，整个溶出

过程中总体受力较大，因此溶出也会稍快。由于桨法(无沉降篮)胶囊漂浮旋转的情况各不相同，因此在溶出前期的RSD较大(表1)，后期胶囊壳破裂后粉末沉至底部，RSD减小，与桨法(沉降篮)RSD并无明显差异。综上，为了规范胶囊溶出过程的位置，减少RSD，选择桨法(沉降篮)。

### 2.2.2 溶出装置与转速的选择

分别采取桨法(沉降篮)、篮法以100、75和50r/min转速对不同厂家阿莫西林胶囊(250mg)进行溶出实验，溶出介质均为水，采样时间点为5、10、15、30、45、60、90、120和150min，得到的溶出结果如图3所示。

从图3可以明显看出以下现象：(1)随着转速下降，桨法(沉降篮)及篮法的溶出速率均下降，但桨法(沉降篮)的溶出速率下降得更为明显，当转速为100r/min时，桨法(沉降篮)的溶出速率快于篮法，但



进口A厂家；250mg；批号：lot35434889B；介质：水

图2 不同转速对阿莫西林胶囊溶出度的影响

Fig. 2 Dissolution curve of amoxicillin capsules at different speeds

表1 阿莫西林胶囊在不同转速下溶出度情况

Tab. 1 Dissolution of amoxicillin capsules at different speeds

转速/(r/min)	溶出时间/min	5	10	15	30	45	60	90	120	150
100	无沉降篮	62.11	90.39	94.22	96.66	97.15	96.90	96.64	96.34	95.72
	RSD(%， $n=6$ )	9.33	2.76	1.82	1.16	0.57	0.59	0.61	0.60	0.85
	沉降篮	68.75	87.57	91.81	95.47	96.59	96.52	96.34	95.90	-
	RSD(%， $n=6$ )	8.55	2.58	2.72	2.08	1.34	1.36	1.34	1.13	-
75	无沉降篮	25.67	55.39	67.06	79.30	86.71	90.44	93.67	93.04	94.33
	RSD(%， $n=6$ )	12.21	6.73	4.78	3.78	3.79	2.71	1.15	1.35	0.95
	沉降篮	34.38	58.36	63.08	75.85	79.25	83.28	92.04	96.56	100.00
	RSD(%， $n=6$ )	9.83	3.82	2.31	5.36	3.13	2.87	3.67	3.43	2.99
50	无沉降篮	23.72	45.39	48.90	56.20	63.46	70.23	77.59	81.61	84.13
	RSD(%， $n=6$ )	8.44	6.50	7.03	6.90	6.38	5.96	4.80	3.70	2.99
	沉降篮	24.28	38.62	42.12	49.45	55.48	60.71	69.06	76.03	82.08
	RSD(%， $n=6$ )	4.47	1.21	0.66	1.28	1.44	3.16	4.16	3.59	2.68

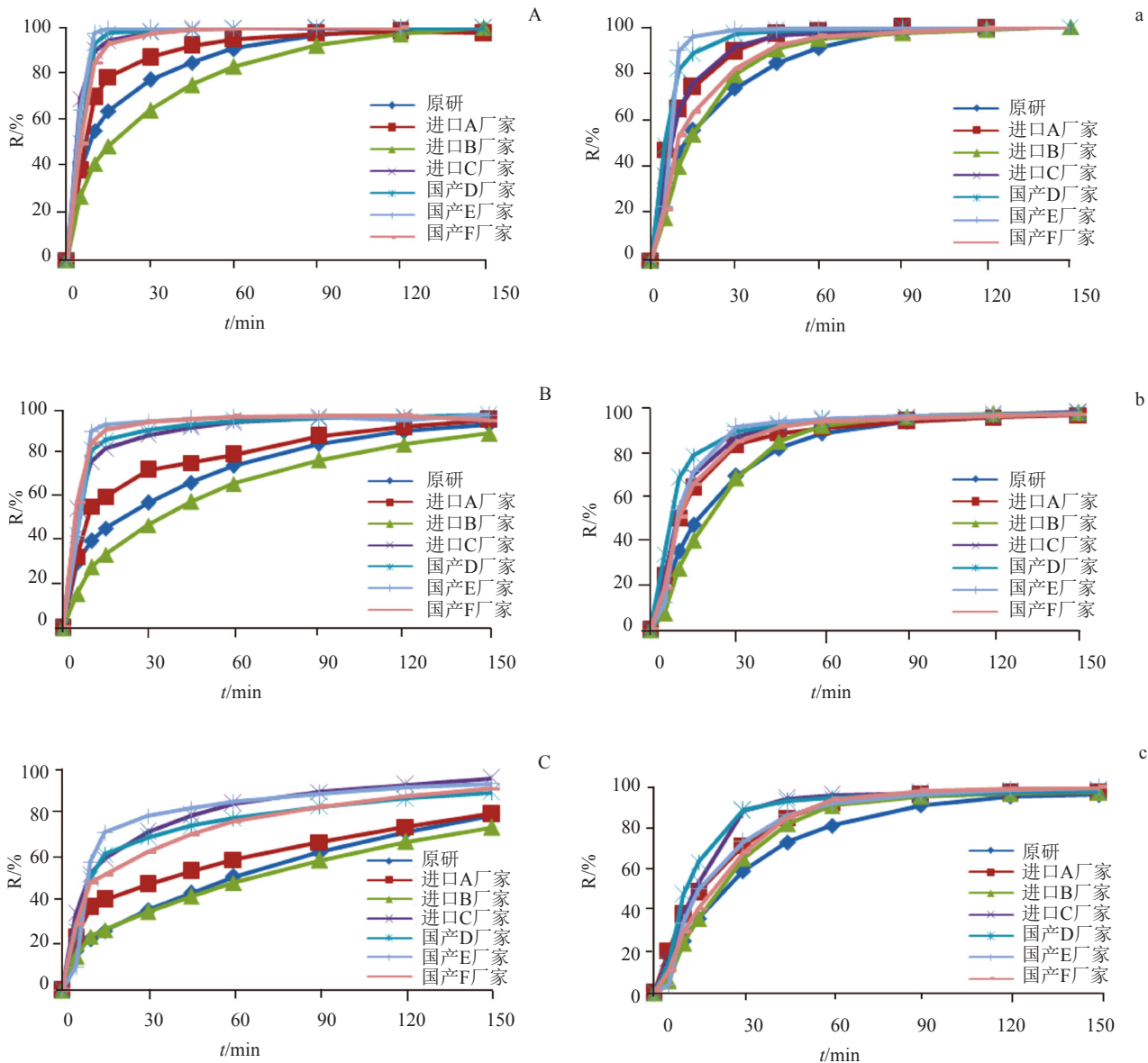
注：进口A厂家，250mg，批号lot35434889B，桨法，水

当转速为50r/min时，篮法的溶出速率则快于浆法(沉降篮)；(2)篮法对7种阿莫西林(250mg)区分力整体不如浆法(沉降篮)，浆法(沉降篮)可以明显的区分原研厂家、进口A厂家、进口B厂家与国产制剂的溶出曲线，进口制剂溶出曲线较慢，而国产制剂的溶出曲线普遍偏快，相互之间重叠严重、难以区分；(3)在使用浆法(沉降篮)法时，随着转速的下降，虽然溶出速率变慢，但是对7种阿莫西林胶囊(250mg)的溶出曲线区分力并没有明显增加，达到完全溶出所需要的实验时间却大大增加；使用篮法时，也有相同的规律，但相较而言，100r/min时篮法的区分力要高于

75和50r/min。

浆法(沉降篮)的溶出速率对转速的变化更敏感，这可能是由于胶囊随着沉降篮从一开始就处在整个溶出杯最底部，此处受到的搅拌力度最弱；而篮法中胶囊一开始处于溶出杯中心位置，随着胶囊壳的破裂，内容物粉末逐渐从转篮孔隙落入溶出杯底部，一开始散落范围较大，后逐渐向中心聚拢，篮法中胶囊粉末受到的搅拌力度总体较大，因此对转速的变化反而不太敏感。

综合考虑区分力、溶出时间、实验效率等因素，选择浆法(沉降篮、100r/min)作为最适合考察阿



介质：水；A：浆法(沉降篮)，100r/min；a：篮法，100r/min；B：浆法(沉降篮)，75r/min；b：篮法，75r/min；C：浆法(沉降篮)，50r/min；c：篮法，50r/min

图3 不同厂家阿莫西林胶囊(250mg)的溶出曲线  
Fig. 3 Dissolution curve of different manufacturers' amoxicillin capsules (250mg)



莫西林胶囊的溶出方法。

### 2.2.3 溶出介质的影响

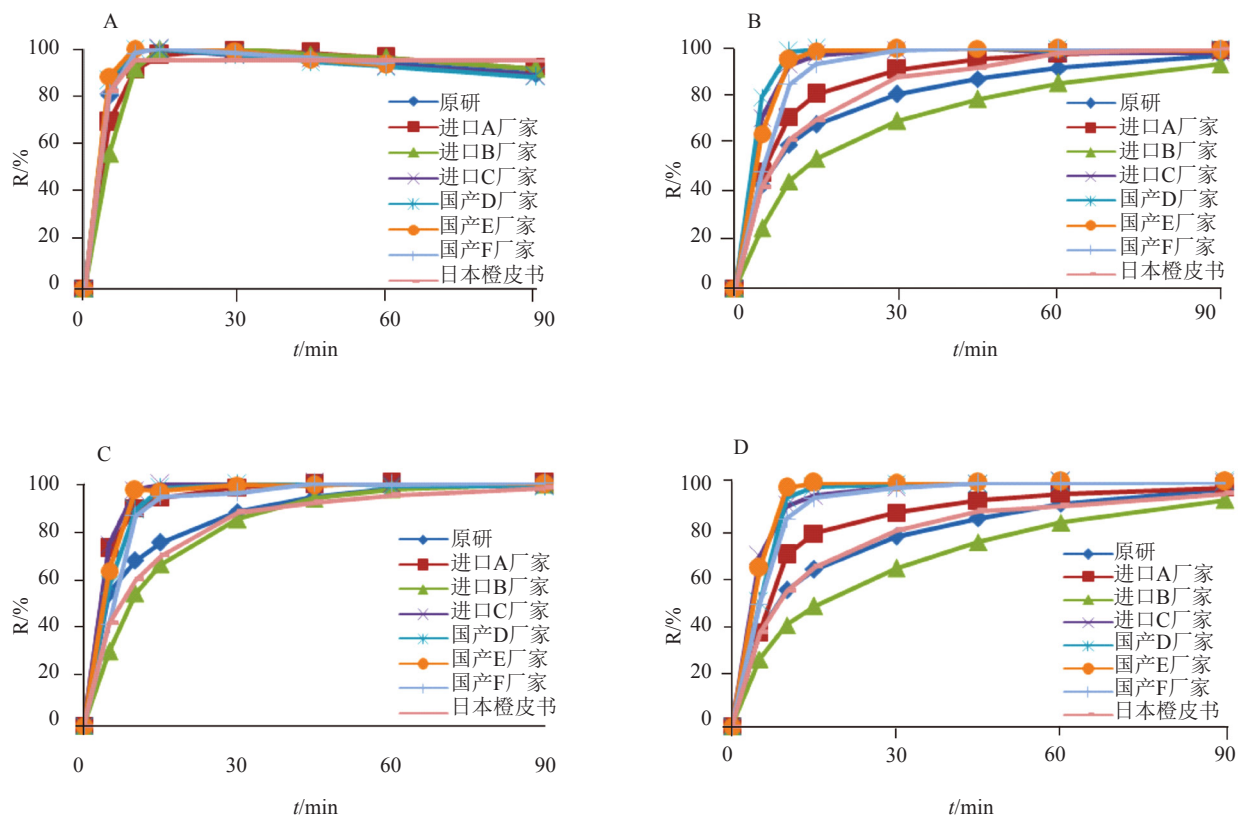
取不同厂家阿莫西林胶囊(250mg)6粒,采用桨法(沉降篮),转速100r/min,温度37℃,分别以pH1.2盐酸水溶液, pH4.0醋酸-醋酸钠缓冲溶液、pH6.8磷酸二氢钾-氢氧化钠缓冲溶液、水为溶出介质,于5、10、15、30、45、60、90、120和150min(pH1.2溶出介质取样至90min即可停止),取样5mL(pH1.2溶出介质下取样体积为2mL,与预先加在收集管中的2mL的0.2mol/L醋酸钠水溶液中和,摇匀后),过0.45 $\mu$ m微孔滤膜进行HPLC测定。计算出表观溶出度后,再通过公式校正算得累积溶出度,绘制溶出曲线(图4),并采用 $f_2$ 相似因子评价仿制药和原研药体外溶出曲线的相似性(表2)。

以原研制剂的溶出数据为参比,计算不同厂家阿莫西林胶囊的 $f_2$ 相似因子。pH1.2介质中,所有溶出曲线都在15min时 $R>85\%$ ,可以直接认为两者的溶出行为相似<sup>[4]</sup>,无需进行 $f_2$ 比较。由于 $f_2$ 因子计算值易受溶出取样点数目 $n$ 的影响<sup>[4]</sup>,因此相同溶出介质各个厂家阿莫西林胶囊参与计算的 $n$ 值相同,以原研制剂溶出度大于85%的点不超过1个为原则进行设置<sup>[2]</sup>。

从图4可以看出pH1.2介质中溶出最快,且不稳定,在溶出过程中已经发生降解,溶出曲线在达到完全溶出后呈现下降趋势,各厂家阿莫西林胶囊之间几乎没有区分力; pH4.0、水介质对阿莫西林胶囊的区分力相似,优于pH6.8介质,其中水介质无需配制,操作上更为简便;在4种介质中,国产的阿莫西林胶囊的溶出速率普遍比进口的阿莫西林胶囊偏快且相互之间区分度不大,而进口制剂中溶出速率进口A厂家> 原研> 进口B厂家; 原研的阿莫西林胶囊溶出曲线与《日本橙皮书》公布的溶出曲线最为接近。

从表2数据可以看出各个厂家的阿莫西林胶囊与原研曲线的吻合程度, $f_2$ 数值越接近100,两条曲线越接近, $f_2$ 值 $\geq 50$ ,认为两条曲线具有相似性,受试制剂与原研制剂具有等效性;日本橙皮书与原研的 $f_2$ 因子数值均较大,说明日本橙皮书公布的溶出曲线与原研非常接近;不同溶出介质下 $f_2$ 因子的平均值越大说明了各条溶出曲线与原研接近的总体水平越高;RSD越大,说明该介质下各条溶出曲线之间离散程度越高,一定程度上反映了各条溶出曲线之间的区分程度。

结合图4、表2可得到相同的结论,图表相互印



桨法,沉降篮,100r/min, A: pH1.2; B: pH4.0; C: pH6.8; D: 水

图4 不同厂家阿莫西林胶囊(250mg)的溶出曲线

Fig. 4 Dissolution curve of different manufacturers' amoxicillin capsules (250mg)

表2 不同厂家阿莫西林胶囊(250mg)与原研阿莫西林胶囊(250mg)的 $f_2$ 相似因子(桨法, 沉降篮, 100r/min)  
Tab. 2 The  $f_2$  values of generic a and original amoxicillin capsules (250mg) under different conditions (paddle with sinker, 100r/min)

溶出介质	日本 橙皮书	进口A	进口B	进口C	国产D	国产E	国产F	平均值(日本橙 皮书不参与计算)	RSD/%
pH4.0( $n=6$ )	70.94	51.79	44.92	31.71	28.35	31.93	38.04	37.79	23.88
pH6.8( $n=5$ )	56.91	40.16	44.17	35.21	41.73	38.17	43.38	40.47	8.32
水( $n=7$ )	85.95	51.76	47.62	31.76	32.81	29.81	36.15	38.32	23.85

证。溶出曲线图较为直观,  $f_2$ 因子数值则可以量化地反映曲线之间的相似程度, 但无法体现受试曲线与原研曲线相比是偏快还是偏慢, 也无法直观的看出各条溶出曲线的离散程度。

综观不同溶出介质下阿莫西林胶囊的溶出数据并结合实际操作, 认为采用水作为溶出介质具有操作简便、区分力较好的优点, 可以较为明显的区分出国产制剂与进口制剂, 因此认为桨法(沉降篮)、100r/min、水为介质的溶出方法为最适合考察阿莫西林胶囊溶出行为差异的溶出方法。

3 讨论

从本次溶出实验的数据来看, 所有厂家的阿莫西林胶囊(250mg)均符合中、美、日三国药典的溶出限度(表3), 但各个厂家溶出速率差异显著, 原研GSK、进口A厂家、进口B厂家这3家国外的阿莫西林胶囊溶出均较为缓慢, 结合美国、日本药典对阿莫西林胶囊溶出限度的规定以及日本橙皮书中公布

的溶出曲线, 说明国外的阿莫西林胶囊普遍开发成缓慢溶出的剂型, 相反, 国内的阿莫西林胶囊则溶出较快, 说明国产阿莫西林胶囊质量与原研的质量有差距, 还需要从原料药的晶型<sup>[5]</sup>、粒径<sup>[6]</sup>、辅料、胶囊壳<sup>[7]</sup>等方面进行系统剖析。

阿莫西林在BCS分类中属于IV类—低溶解低渗透性, 在体内的吸收不仅取决于溶出速率, 还取决于药物透过生物膜的速率, 这类药物的体内、外释放的相关性较差, 尽管如此, 体外溶出实验仍然是评价口服固体制剂内在质量、反映生产工艺差别的重要手段, 因此寻找有区分力、能灵敏地反映出制剂差异的溶出方法仍然非常必要。本项目通过实验发现采用水作为溶出介质、桨法(沉降篮)、100r/min对阿莫西林胶囊(250mg)进行溶出实验, 可以简便、有效地区分出各个厂家阿莫西林胶囊的溶出行为, 对不同工艺有良好的区分, 可适用于工艺筛选、产品质控, 为阿莫西林胶囊仿制药质量一致性评价工作的进一步开展提供了参考。

表3 各国药典对阿莫西林胶囊(250mg)溶出限度规定  
Tab. 3 National Pharmacopoeia regulations for dissolution limit of amoxicillin capsules (250mg)

	$t/\text{min}$	方法	溶出介质	溶出体积/mL	转速/(r/min)	检测方法	限度
日本药典	60	桨法	水	900	100	HPLC	>75%
中国药典	45	篮法	水	900	100	UV	>80%
美国药典	60	篮法	水	900	100	UV	>80%

参考文献

[1] 张启明, 谢沐风, 宁保明, 等. 采用多条溶出曲线评价口服固体制剂的内在质量[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(12): 946-950.

[2] 国家食品药品监督管理总局. 普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[EB/OL]. [20160318]. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0087/147583.html>

[3] 张宁. 普通口服固体制剂溶出度试验研究中需关注的问题[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(22): 2607-2610

[4] 熊亚群, 李兰, 刘雁鸣. 阿莫西林胶囊溶出曲线相似性评

价[J]. 中国药物评价, 2015, 32(2): 65-68.

[5] 陈格, 余琼娥. 不同晶型阿莫西林原料对制剂溶出行为的影响[J]. 中外医学研究, 2013, 11(13): 136-137

[6] 李锦璐, 黄健. 不同粒径的原料对阿莫西林胶囊溶出曲线的影响[J]. 北方药学, 2019, 16(2): 11-12.

[7] 潘丽, 黄健, 王南进. 不同厂家胶囊壳对阿莫西林胶囊溶出曲线的影响[J]. 北方药学, 2018, 15(2): 2-3.

[8] 彭国维, 高春花, 宋珊珊, 等. 采用有区分力的溶出曲线来评价难溶性头孢菌素类仿制药制剂的质量[J]. 广州药科大学学报, 2018, 34(1): 15-20.