

文章编号 1006-8147(2014)04-0323-05

论 著

星点设计-效应面法优化硝苯地平分散片处方

隋洪飞^{1,2}, 王姿婧³, 刘青³, 杨金荣³, 房志仲³, 朱立勤²

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津医科大学一中心临床学院药学部,天津 300192;3.天津医科大学药学院,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070)

摘要 目的:以硝苯地平为模型药物,应用星点设计-效应面法优化其分散片处方。方法:采用固体分散技术,以提高硝苯地平的溶解度。以处方中聚乙二醇 4000(PEG4000)、交联聚维酮(PVPP)以及交联羧甲基纤维素钠(CCNa)的含量为考察因素,以分散均匀性和 10 min 累积溶出百分率为评价指标,根据星点设计原理进行试验,并用多元线性回归和二次多项式方程拟合指标与影响因素之间的数学模型,经效应面法预测最佳处方。结果:采用二次多项式拟合的相关系数优于线性方程,具有较高的可信度。综合效应面优化和评估结果,最佳处方为固体分散体中硝苯地平:PEG4000=1:4, PVPP 占处方的 15%, CCNa 占处方的 8%。结论:通过星点设计-效应面法所建立的模型可以用于硝苯地平分散片处方的优化。

关键词 硝苯地平分散片;星点设计-效应面法;处方筛选;分散均匀性;累积溶出百分率

中图分类号 R9

文献标志码 A

Optimizing the formation of nifedipine dispersible tablets by central composite design – response surface methodology

SUI Hong-fei^{1,2}, WANG Zi-jing³, LIU Qing³, YANG Jin-rong³, FANG Zhi-zhong³, ZHU Li-qin²

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacy, The First Center Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China; 3. 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 formulation of dispersible tablets using nifedipine as a model drug by central composite design–response surface methodology. **Methods:** Solid dispersion method was applied to improve the solubility of nifedipine. The proportion of PEG4000, PVPP and CCNa were studied based on the theory of central composite design using dispersible uniformity and 10 min cumulative dissolution as evaluation indexes. The correlation between evaluation indexes and formulation were simulated using multi-linear equation and second-order polynomial equation. The possible optimal formulation was predicted by response surface method. **Results:** Second-order fitting models were superior to first-order models with better regression coefficients and higher reliability. The optimized formulation was NFP:PEG4000=1:4 in solid dispersion; the dosage of PVPP and CCNa accounted for 15% and 8% in formulation, respectively. **Conclusion:** The established model based on the theory of central composite design is suitable for the optimization of nifedipine dispersible tablets.

Key words nifedipine dispersible tablets; central composite design–response surface methodology; prescription screening; dispersible uniformity; cumulative dissolution

硝苯地平属于第一代钙离子拮抗剂,临床上广泛用于高血压、心绞痛、心律失常的治疗。在临床上硝苯地平普通片有舌下含服的报道,目前国内外常见的是硝苯地平缓释片和控释片,本试验采用新辅料制备了可快速崩解的硝苯地平分散片,旨在加快其起效速度,并采用星点设计(central composite design, CCD)-效应面法(response surface methodology)优化分散片的处方。

1 材料与方法

1.1 试药 硝苯地平(湖北远成药业有限公司,批

作者简介 隋洪飞(1982-),男,主管药师,硕士在读,研究方向:临床药理学;通信作者:房志仲, E-mail:fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

号:120101);对照制剂(天津太平洋制药有限公司,批号:120212);聚乙二醇 4000(PEG 4000,天津市光复精细化工研究所,批号:20120211);交联聚维酮(PVPP, XL-10, 美国 ISP 特品公司,批号:03800215 292);交联羧甲基纤维素钠(CCNa, 德国 JRS 公司,批号:3201012039);微晶纤维素(山东聊城阿华制药有限公司,批号:20100602);羧甲基淀粉钠(湖州展望化学药业有限公司,批号:20101014);低取代羟丙基纤维素(L-HPC, 山东聊城阿华制药有限公司,批号:20060804);滑石粉(广西龙胜华美滑石开发有限公司);其它试剂均为市售分析纯;重蒸水:自制。

1.2 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 智能溶出试验仪(天津市鑫州科技有限公司);电热鼓风干燥箱(天津市天宇实验仪器机械厂);电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司,HH·SY11-Ni);KQ-200KDB 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ALC-210.4 型电子分析天平(北京赛多利斯系统仪器有限公司);秒表。

1.3 试验方法

1.3.1 固体分散体的制备^[1-2] 以 PEG4000 为载体,按硝苯地平-PEG4000-滑石粉的不同比例(10:30:10、10:34:10、10:40:10、10:46:10、10:50:10)制备固体分散体。分别称取适量的硝苯地平、PEG4000 和滑石粉。超声并加热使适量的硝苯地平分散于 10 倍质量体积的 75%乙醇中,将 PEG4000 置 80℃水浴中加热至熔融,在快速搅拌下将硝苯地平乙醇溶液倒入已熔融的 PEG4000 中,使充分混匀;然后置 90℃水浴中搅拌挥去乙醇,迅速移至冰水浴中,搅拌至固化,待完全固化后,置 40℃烘箱中干燥 12 h,然后粉碎,过 80 目筛备用。由于硝苯地平遇光不稳定,所以本试验在操作过程中均要求避光操作。

1.3.2 分散片的制备^[3-4] 称取处方量的固体分散体及各辅料,过 60 目筛使之混合均匀,以 30%乙醇作为润湿剂制软材,用 30 目筛制粒,在 40℃烘箱干燥 1 h,用 30 目筛整粒,外加处方量的 L-HPC 和 PVPP,压片,控制硬度在 2.5~3.0 kg。

1.3.3 分散均匀性 按照《中国药典》2010 版(二部)附录 I A 下的分散均匀性规定进行试验。

1.3.4 溶出度试验 按照《中国药典》2010 版(二部)附录 X C 溶出度测定方法,采用桨法进行对照制剂和试验制剂的溶出试验,试验条件按照《中国药典》2010 版(二部)硝苯地平片的溶出条件:0.25%十二烷基硫酸钠溶液 900 mL,转速为 120 r/min,温度为 37℃±0.5℃,分别于 5、10、15、20、30、45、60 min 取样 10 mL,同时补加等量同温介质,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液按照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2010 版(二部)附录 IV A)测定,在 237 nm 的波长处测定吸光度。计算累积溶出百分率。

1.3.5 星点设计-效应面法优化处方^[5-11] 根据前期单因素试验结果,以影响分散片崩解和溶出度的主要因素 PEG4000 的量(X1)、PVPP 的百分含量(X2)和 CCNa 的百分含量(X3)为影响因素,以分散均匀性和 10 min 累积溶出百分率作为评价指标。采用三因素五水平的星点设计对硝苯地平分散片的处方

进行优化。因素水平设计见表 1,根据预试验结果,选定硝苯地平与 PEG4000 质量比范围为 1:3~1:5,模型药物的规格为 10 mg,则 PEG4000 质量的取值范围为 30~50 mg(X1),PVPP 的加入量占总处方的 10%~20%(X2),CCNa 的加入量占总处方的 4%~12%(X3),以各处方分散均匀性和 10 min 累积溶出百分率作为评价指标,进行星点设计-效应面优化法优化制剂处方,本方案设计 20 个试验,试验安排及结果见表 2,其中试验号 15~20 是重复试验。按照下列方程进行线性和非线性的拟合。

表 1 3 个考察因素的代码水平及对应物理量

Tab 1 Independent variables and their correspondent values in coded and physical form

因素	水平				
	-1.732	-1	0	1	1.732
X1	30	34.2	40	45.8	50
X2	10	12	15	18	20
X3	4	5.7	8	10.3	12

表 2 试验设计及各指标测定结果

Tab 2 Experiment design and results of the indexes

试验号	X1/mg	X2/%	X3/%
1	-1	-1	-1
2	-1	1	-1
3	-1	1	1
4	-1	-1	1
5	1	1	1
6	1	-1	1
7	1	-1	-1
8	1	1	-1
9	-1.732	0	0
10	1.732	0	0
11	0	-1.732	0
12	0	1.732	0
13	0	0	-1.732
14	0	0	1.732
15~20	0	0	0

多元线性方程: $D = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3$

二次多项式方程: $D = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_{12} + b_5X_{22} + b_6X_{32} + b_7X_1X_2 + b_8X_1X_3 + b_9X_2X_3$

2 结果

2.1 分散均匀性试验 按照《中国药典》2010 版(二部)附录 I A 的规定,取供试品 6 片,置于(20±1)℃的 100 mL 水中,振摇 3 min,供试品全部崩解并通过 2 号筛。

2.2 溶出度试验 硝苯地平分散片与市售硝苯地平片的溶出曲线计算累积溶出百分率,结果见图 1。

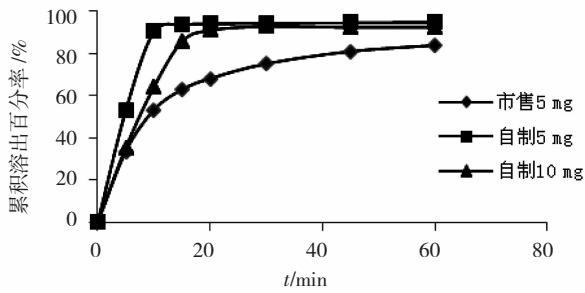


图1 硝苯地平分散片与市售硝苯地平片的溶出曲线

Fig 1 The dissolution profile of nifedipine dispersible tablets and control agents

2.3 星点设计-效应面法优化试验 根据试验安排表进行试验,试验结果见表3,采用 SPSS 17.0 软件,分别以崩解时间/硬度和 10 min 累积溶出百分率的值对所选的 3 个因素分别进行多元线性回归和多元非线性拟合。采用 Microcal Origin 6.0 软件分别绘制各指标与 3 个因素的三维效应面图和等高线图。结果见图 2、图 3。

表3 星点设计试验结果

Tab 3 Result of CCD

试验号	X_1/mg	$X_2/\%$	$X_3/\%$	分散均匀性		10 min 累积溶出百分率 $Y_{10}/\%$
				崩解时间/硬度 $K/(\text{s} \cdot \text{kg}^{-1})$	是否通过二号筛	
1	34.2	12	5.7	18.4	是	84.23
2	34.2	18	5.7	12.8	是	84.05
3	34.2	18	10.3	12.4	是	83.96
4	34.2	12	10.3	16.8	是	83.78
5	45.8	15	10.3	29.4	是	89.35
6	45.8	12	10.3	28.2	是	89.57
7	45.8	12	5.7	30.2	是	89.72
8	45.8	18	5.7	29.8	是	89.23
9	30	15	8	12	是	77.89
10	50	15	8	42.4	是	90.21
11	40	10	8	24.4	是	87.95
12	40	20	8	21.6	是	87.67
13	40	15	4	25.2	是	87.99
14	40	15	12	23.2	是	87.46
15~20	40	15	8	23.6	是	88.02±0.06

崩解时间/硬度 K 的多元线性、多元非线性回归方程及其复相关系数:

$$K = -23.783 + 1.355 \cdot X_1 - 0.341 \cdot X_2 - 0.244 \cdot X_3 \quad (R=0.964, R^2=0.930)$$

$$K = 34.209 - 1.342 \cdot X_1 - 1.036 \cdot X_2 + 0.166 \cdot X_3 + 0.020 \cdot X_{12} - 0.094 \cdot X_{22} - 0.064 \cdot X_{32} + 0.078 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.004 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0.051 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (R=0.983, R^2=0.967)$$

多元线性回归拟合方程的复相关系数较二项

式拟合的复相关系数低,自变量与因变量之间线性关系稍差,故选非线性模型进行优化分析。多元非线性方差分析的总模型具有显著意义, $F=16.279$, $P<0.005$ 。拒绝 P 值较大的 b_2, b_3, b_6, b_8 , 重新拟合, 得方程: $K = 29.877 - 1.508 \cdot X_1 + 0.023 \cdot X_{12} - 0.095 \cdot X_{22} + 0.066 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.015 \cdot X_2 \cdot X_3$ ($R=0.982, R^2=0.963$), 简化后的方程,复相关系数未有显著下降,表明删除的项对模型未造成较大影响,简化后模型仍有较高的可信度。

根据效应面优选的 3 个因素较佳处方范围为: $X_1: 30\% \sim 45\%$; $X_2: 15\% \sim 21\%$; $X_3: 8\% \sim 12\%$ 。由效应面图和三维等高线图中可以看出, X_1, X_2, X_3 这 3 个因素对崩解时间/硬度的影响都较大; 随着 X_1 含量的增大, 崩解时间/硬度的值增大, 这主要是因为 PEG4000 本身的黏性所致, PEG4000 的量越多, 遇水变粘的能力越强, 崩解时间越长; X_2, X_3 是两种超级崩解剂, 具有毛细管作用, 遇水能迅速使水进入片剂中, 促使网络结构膨胀而产生崩解作用, 随着 X_2, X_3 的比例增大, 崩解时间变短。同时应该注意的是, 在处方中, X_1, X_2, X_3 比例变化的同时, 由于片剂重量不变, 使得 MCC 的比例也有变化, 而 MCC 具

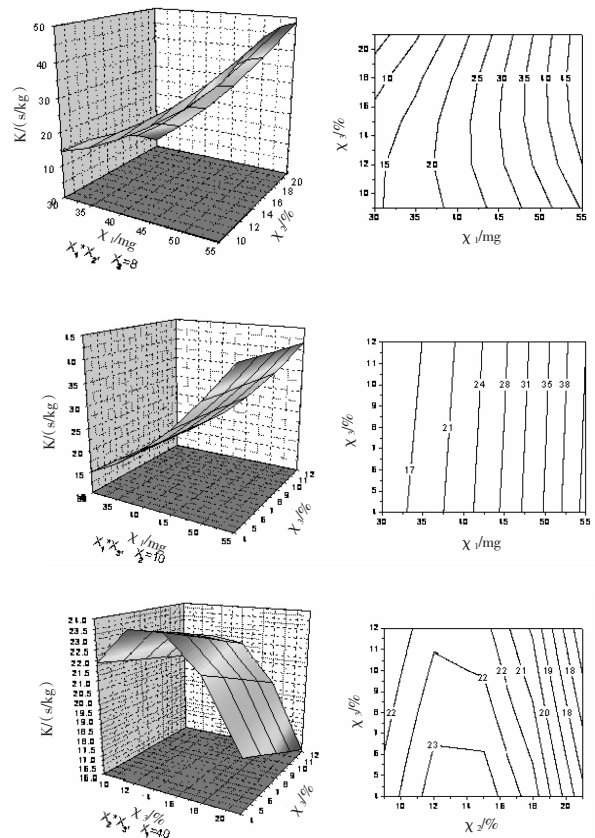


图2 崩解时间/硬度的效应面图及等高线图

Fig 2 Response surface and contour plots of disintegration time/hardness

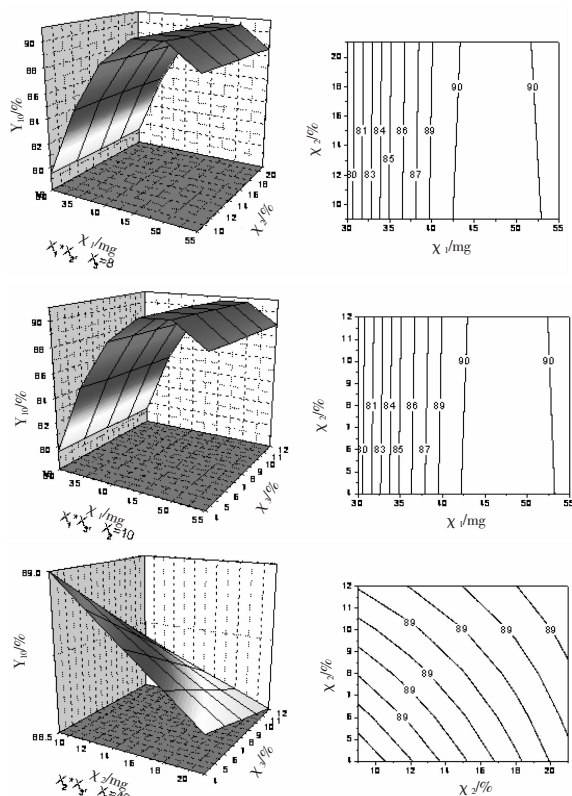


图3 10 min 累积溶出百分率的效应面图及等高线图

Fig 3 Response surface and contour plots of 10 minutes cumulative dissolution

有海绵状的多孔冠状结构,受压时其多孔结构由杂乱无章变为线性排列,使水分子容易进入片剂内部,片剂崩解后颗粒较大,增加了片剂的膨胀性。所以不能简单地认为 X_1 、 X_2 、 X_3 对崩解时间有很大的影响,应综合考虑整个处方的变化,来分析各辅料对处方的贡献性。

10 min 累积溶出百分率(Y_{10})的多元线性和非线性回归方程及其复相关系数:

$$Y_{10} = 66.231 + 0.533 \cdot X_1 - 0.029 \cdot X_2 - 0.046 \cdot X_3 \quad (R = 0.924, R^2 = 0.853)$$

$$Y_{10} = 5.031 + 3.631 \cdot X_1 + 0.151 \cdot X_2 - 0.257 \cdot X_3 - 0.038 \cdot X_{12} - 0.002 \cdot X_{22} - 0.009 \cdot X_{32} - 0.005 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0.005 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0.011 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (R = 0.992, R^2 = 0.983)$$

多元线性回归拟合方程的复相关系数较低,自变量与因变量之间线性关系较差,故不宜使用线性模型进行优化分析。多元非线性方差分析的总模型具有显著意义, $F=32.763$, $P<0.001$ 。拒绝 P 值较大的 b_2, b_5, b_6 , 重新拟合, 得方程: $Y_{10} = 7.191 + 3.538 \cdot X_1 - 0.056 \cdot X_3 - 0.037 \cdot X_{12} - 0.001 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0.002 \cdot X_2 \cdot X_3$ ($R = 0.991, R^2 = 0.982$), 简化后的方程, 复相关系数未有显著下降, 表明删除的项对模型未造成较大影响, 简化后模型仍有较高的可信度。

根据效应面优选的3个因素较佳处方范围为:

X_1 : 40%~45%; X_2 : 9%~15%; X_3 : 6%~8%。由效应面图和三维等高线图中均可以看出, 10 min 累积溶出百分率受 X_1 的影响较大, 随着它的含量增大, 10 min 累积溶出百分率增大; 随着 X_1 在处方中的比例增大, 由于片剂重量不变, 使得填充剂 MCC 的量减少, 片剂崩解延缓, 累积溶出百分率有所下降。随着 X_2 、 X_3 两种超级崩解剂的量增大, 10 min 累积溶出百分率下降, 是因为崩解过快, 崩解的微粒被取样取出, 未彻底溶出, 故而在 10 min 时溶出百分率下降。

3 讨论

星点设计是多因素五水平的实验设计, 是在二水平析因设计的基础上加上极值点和中心点构成的。星点设计具有试验次数少, 试验精度高, 预测性好等特点, 从效应面上可以直观地找到自变量取不同值时的效应值, 反过来在效应面上选取一定效应值亦可以找出相对应的自变量取值, 即在效应面上选定较佳效应值范围后可对应求出较佳试验条件。星点设计-效应面优化法已广泛应用到制剂工艺优化的各个领域^[12]。

由于硝苯地平难溶于水, 为了增大其溶解度, 本研究采用了固体分散技术, 分别以聚乙二醇 6000 (PEG6000)、PEG4000、泊洛沙姆 188 (Poloxamer F68) 为载体, 采用溶剂-熔融法制备固体分散体, 根据预试验结果和参考文献, 以 PEG4000 为载体时, 分散片的体外溶出率较佳。

在制备工艺和处方筛选中, 通常需兼顾多个指标。本试验所选取的指标中, 其中崩解时间/硬度越小越好, 降低崩解时间可以提高崩解剂的量而降低固体分散体载体的量; 制粒过程中所制得的颗粒越小, 越容易通过二号筛, 根据预试验结果, 选择用 30 目筛制粒及整粒; 要提高 10 min 累积溶出百分率, 首先要考虑的是固体分散体的载体量, 根据预试验结果, NFP:PEG4000=1:6 时, 硝苯地平累积溶出百分率较大, 但综合考虑片重和崩解时间, 选择 NFP:PEG4000=1:4。为了缩短崩解时间, 在制备固体分散体时分别加入了滑石粉和微粉硅胶来降低其黏度, 根据预试验结果, 选择加入滑石粉时崩解效果较好, 然后以滑石粉不同的质量 (10 mg, 15 mg, 18 mg, 20 mg) 进行预试验, 结果发现, 以 NFP:PEG4000:滑石粉=1:4:1 时, 崩解时间较短。

参考文献:

- [1] 黄好武, 罗玉鸿, 梁飞华. 硝苯地平固体分散体制备工艺的研究[J]. 今日药学, 2011, 21(1): 20
- [2] 刘少梅, 张蜀, 姚俏云, 等. 硝苯地平固体分散体的制备和溶出速率研究[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(2): 148
- [3] 陈趋源, 刘振香. 分散片处方研究与制备[J]. 齐鲁药事, 2007, 26

- (26):39
- [4] 王玉玲.分散片中的崩解剂[J].食品与药品,2005,7(3):51
- [5] 白慧东,蒋玉凤,曹丽蒙.几种分散片崩解剂的性能与应用现状[J].新疆医学,2007,37:163
- [6] 吴伟,阙俐,陈建,等.星点设计-效应面优化苯甲酸利扎曲普坦的处方[J].复旦学报(医学版),2003,30(4):381
- [7] 刘嘉,刘韵,唐歆,等.星点设计-效应面法优化格列喹酮双层渗透泵片处方[J].中国药理学杂志,2011,9(5):84
- [8] 钱泽升,刘焕奇,姜萍,等.星点设计-效应面法优化硫氰酸红霉素肺靶向明胶微球的配方[J].动物医学进展,2012,33(9):84
- [9] 伍勇,贺福元,曹燕,等.星点设计-效应面优化法对四物汤醇沉工艺的研究[J].中国医药导报,2009,6(3):17
- [10] 施明毅,李监理,谢燕,等.星点设计-效应面法优选冠心病康胶囊挥发油提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(19):47
- [11] 刘逊,陈俭清,李明雁,等.星点设计-效应面法优化连翘颗粒剂的制备工艺研究[J].东北农业大学学报,2012,43(6):130
- [12] 吴伟,崔光华.星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J].国外医学药学分册,2000,27(5):292
- (2014-01-02 收稿)

文章编号 1006-8147(2014)04-0327-02

经验交流

肝癌介入治疗前后 $\alpha 2$ -抗纤溶酶、抗凝血酶Ⅲ、凝血因子Ⅷ检测的临床意义

陈 环

(天津医科大学肿瘤医院检验科,国家临床医学研究中心检验科,天津市肿瘤防治重点实验室,天津300060)

关键词 肝癌;介入治疗; $\alpha 2$ -抗纤溶酶;抗凝血酶Ⅲ;凝血因子Ⅷ
中图分类号 R446 文献标志码 B

原发性肝癌是我国最常见恶性肿瘤之一,在我国发病率很高,90%的患者就诊时已失去手术机会,其恶性程度高、进展快、疗效差^[1]。肝脏能够合成几乎所有的凝血因子及多种抗凝因子,肝脏还是多种因子主要的灭活器官。严重肝病时产生的复杂的出血及止血功能紊乱,是最常见而重要的临床表现。随着介入放射学的迅速发展,原发性肝癌经肝动脉插管栓塞化疗(TACE)成为主要治疗手段之一。因此我们尝试通过对肝癌患者介入治疗前、后 $\alpha 2$ -抗纤溶酶($\alpha 2$ -AP)、抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)、凝血因子Ⅷ(FⅧ)的检测,探讨其对肝病介入治疗的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 正常对照组100例,平均年龄54岁,系本院健康查体者。对照组采血前2周均未输血或者使用血液制品,未服用影响凝血机制的药物。均无造血系统疾病、肺心病、糖尿病等。肝癌组为本院2012年收治的肝癌患者100例,均进行了介入治疗,男65例,女35例,年龄平均56岁。按照临床诊断为肝癌时是否伴有肝硬化分为两组:伴肝硬化组(68例)和不伴肝硬化组(32例)。均根据血

清甲胎蛋白升高、影像学或病理学确诊为原发性肝癌患者,符合肝动脉化疗栓塞治疗条件。所有病例入院前4周内均未使用抗凝药,无近期感染,且所有患者均未接受过化疗和放疗。肝癌组患者介入治疗前1d、介入治疗后1周抽取静脉血。

1.2 方法 所有患者及正常对照组抽取空腹静脉血5 mL,用枸橼酸钠1:9混匀抗凝,3 000 r/min离心10 min,取出部分分离出的血浆,用日本sysmexCA-7000型血凝仪及配套试剂,进行 $\alpha 2$ -AP、AT-Ⅲ、FⅧ检测,AT-Ⅲ活性和 $\alpha 2$ -AP用发色底物法检测,FⅧ用凝固法检测。

1.3 统计学处理 用SPSS13.0软件进行统计分析,对数据采用两个独立样本 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

与对照组比较,肝癌组介入治疗前、后 $\alpha 2$ -AP、AT-Ⅲ活性均明显降低($P<0.01$),FⅧ明显升高($P<0.01$),见表1;伴肝硬化肝癌组与介入治疗前比较,介入治疗后 $\alpha 2$ -AP、AT-Ⅲ活性均升高($P<0.05$),FⅧ降低($P<0.05$),见表2;不伴肝硬化肝癌组与介入治疗前比较,介入治疗后 $\alpha 2$ -AP、AT-Ⅲ活性均明显升高($P<0.01$),FⅧ降低($P<0.05$),见表3。

作者简介 陈环(1978-),女,主管技师,学士,研究方向:肿瘤检验学诊断技术的应用研究;E-mail:yuzhi04@126.com。