

文章编号 1006-8147(2017)01-0074-05

论 著

星点设计-效应面法优化枸橼酸西地那非分散片处方

邢正英,李继彬,李 晗,杨金荣,房志仲

(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:以枸橼酸西地那非为模型药物,采用星点设计-效应面法优化分散片的处方。方法:在筛选优化分散片处方时采用星点设计-效应面优化法结合单因素考察的方法。在预试验的基础上,以处方中内加交联羧甲基纤维素钠(CCNa)、外加CCNa以及羟丙甲基纤维素(HPMC)的含量为考察因素,以分散均匀性和15 min累积溶出百分率为评价指标,根据星点设计的原理进行试验,并采用多元线性回归和多元非线性回归拟合两个评价指标与影响因素之间的数学模型,经效应面法预测得到最佳处方。鉴于本分散片在15 min的累积溶出百分率大于85%,可不与原研制剂进行 f_2 因子的比较。结果:数据表明,多元非线性拟合的相关系数高于线性拟合,具有较高的可信度。综合效应面优化和评估结果,最佳处方确定为内加CCNa为30 mg,外加CCNa为40 mg,HPMC为0 mg。结论:通过星点设计-效应面法所建立的模型可以用于枸橼酸西地那非分散片处方的优化。

关键词 枸橼酸西地那非分散片;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 sildenafil citrate dispersible tablets by central composite design-response surface methodology

XING Zheng-ying, LI Ji-bin, LI Han, YANG Jin-rong, FANG Zhi-zhong

(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 sildenafil citrate as a model drug by central composite design-response surface methodology. **Methods:** In this study, the central composite design-response surface methodology with single factor method was applied to screen and optimize prescription. On the basis of preliminary experiments, the proportion of CCNa (inside and outside the particles) and HPMC were set up as study factors, and dispersible uniformity and 15 min cumulative dissolution were set up as evaluation indexes. According to the theory of central composite design, the correlation between evaluation indexes and formulation was simulated using multi-linear equation and multi-nonlinear equation. The possible optimal formulation was predicted by response surface method. Due to the fact that the 15 min cumulative dissolution of the dispersible tablets was higher than 85%, there was no need to compare the f_2 factors with original development agents. **Results:** The data shown that multi-nonlinear equation models were superior to multi-linear equation models with better regression coefficients and higher reliability. It was determined that the dosage of CCNa (inside and outside the particles) and HPMC were 30 mg, 40 mg and 0 mg in the optimized formulation, respectively. **Conclusion:** The established model based on the central composite design-response surface methodology may be suitable for the optimization of sildenafil citrate dispersible tablets.

Key words sildenafil citrate dispersible tablets; central composite design-response surface methodology; prescription screening; dispersible uniformity; cumulative dissolution

肺动脉高压是以肺小动脉的血管痉挛、内膜增生、重构为主要特征的一种疾病,肺小动脉的血管增生、重构导致肺血管阻力进行性增加,最终导致右心衰竭和死亡^[1]。随着社会的进步,对肺动脉高压的治疗从过去非特异性血管扩张药物发展到现在的靶向药物,从单一药物治疗发展到多药物联合以及综合治疗,极大地改善了患者的症状及预后^[2-3]。西地那非(sildenafil,商品名为万艾可®)最初只

是被批准用于治疗勃起功能障碍^[4-6],2005年基于SUPER-1试验^[7]结果而被FDA批准用于治疗肺动脉高压。它是一种磷酸二酯酶-5抑制剂,通过抑制环磷酸鸟苷(cGMP)的降解,使肺动脉血管舒张,并改善其重构,从而明显提高肺动脉高压患者的活动耐力和心功能分级,改善血流动力学指标^[8]。目前,国内外常见的是枸橼酸西地那非薄膜衣片和注射剂,本试验旨在制备枸橼酸西地那非的分散片,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)

作者简介 邢正英(1994-),女,硕士在读,研究方向:药物制剂与质量控制;通信作者:房志仲, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

优化分散片的处方。

1 材料与方法

1.1 试药 枸橼酸西地那非原料药(武汉远成共创科技有限公司,批号:20140918);万艾可® 100 mg(辉瑞制药有限公司,批号:J85283);金戈® 50 mg(广州白云山制药股份有限公司,批号:1150001);交联羧甲基纤维素钠(CCNa)(德国 JRS 公司,批号:3211062065);羟丙甲基纤维素(HPMC)(山东聊城阿华制药有限公司,批号:20091206);微晶纤维素(MCC)(德国 JRS 公司,批号:5610243013);磷酸氢钙($\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)(湖州展望药业有限公司,批号:20140123);一水乳糖(荷兰 DFE 公司,批号:687085);硬脂酸镁(辽宁奥达制药有限公司,批号:20120206);其他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);KQ-200KDB 型高功率数控超声波清洗仪(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 分散片的制备^[9] 将原辅料均过 80 目筛,按处方量称取原辅料,过 60 目筛混合均匀,以 2% HPMC 水溶液作为黏合剂制软材,用 30 目筛制颗粒,在 60℃烘箱干燥 20 min,压片,控制片剂硬度在 6.0~7.0 kg。

1.3.2 分散均匀性试验^[10] 按照《中国药典》2015 版(二部)附录 IA 项下的分散均匀性要求进行试验。

1.3.3 溶出度试验^[11] 取本分散片 6 片,按照溶出度测定法(《中国药典》2015 版(二部)附录 XC 第一法),分别以 0.01 mol/L 盐酸溶液、 H_2O 、PBS6.8、PBS4.5 4 种溶液各 900 mL 为溶出介质,转速为 100 r/min,温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,依法操作,经 3、5、10、15、30、45、60 min 取样 10 mL,补加等量同温的溶出介质,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,在 290 nm 的波长处测定吸光度,计算累积溶出百分率。

1.3.4 星点设计-效应面法优化处方 星点设计(CCD)是一种多因素五水平的实验设计,由两水平的析因设计与极值点、中心点联合构成一种新型的试验设计方法,常用来进行效应面的处方优化^[12]。通常情况下,效应指标与考察因素之间的关系可能是线性的或非线性的,表现在效应面上,线性的为平面,非线性的为曲面。在整个效应范围内,越接近较

佳区域,非线性关系居多,面的曲面性较强^[13]。其具有精密度高、预测性好、简便等优点,逐渐替代了均匀设计和正交设计在处方优化中的应用^[14]。

本试验中,以内加 CCNa 的百分含量(X_1)、外加 CCNa 的百分含量(X_2)、HPMC 的百分含量(X_3)为影响因素,以分散均匀性和 15 min 累积溶出百分率作为评价指标,采用 3 因素五水平的星点设计对枸橼酸西地那非分散片的处方进行优化^[13]。因素水平设计见表 1,根据预试验的结果,3 个影响因素的用量范围分别限定为 20~40 mg(X_1)、30~50 mg(X_2)和 0~15 mg(X_3),结合 2 个评价指标,进行星点设计-效应面法来优化制剂的处方,试验安排见表 2。按照下列方程进行线性和非线性的拟合。

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

多元非线性方程: $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1^2 + b_5X_2^2 + b_6X_3^2 + b_7X_1X_2 + b_8X_1X_3 + b_9X_2X_3$

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
X_1	20	24.2	30	35.8	40
X_2	30	34.2	40	45.8	50
X_3	0	3.2	7.5	11.8	15

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	X_1/mg	X_2/mg	X_3/mg
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

2 结果

2.1 分散均匀性试验结果 取分散片 6 片,置于 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的 100 mL 水中,振摇 3 min,供试品全部

崩解并通过 2 号筛。

2.2 溶出度试验结果 绘制枸橼酸西地那非分散片与市售枸橼酸西地那非片剂(万艾可® 100 mg 和金戈® :50 mg) 在 4 种溶出介质中的溶出曲线计算累积溶出百分率,结果见图 1、2、3 和 4。

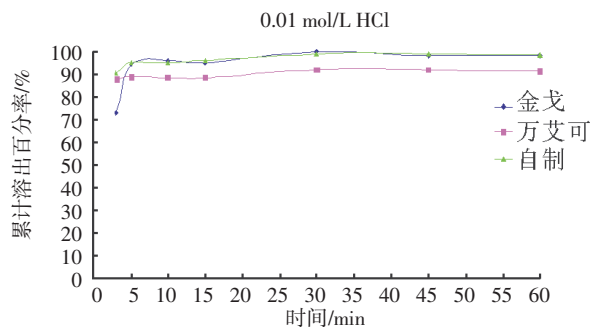


图 1 自制枸橼酸西地那非分散片与市售枸橼酸西地那非片剂在 0.01 mol/L HCl 中的溶出曲线

Fig 1 The dissolution profile of sildenafil citrate dispersible tablets and control agents in 0.01 mol/L HCl

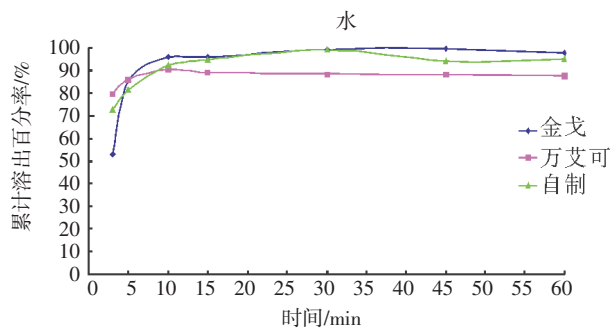


图 2 自制枸橼酸西地那非分散片与市售枸橼酸西地那非片剂在水中的溶出曲线

Fig 2 The dissolution profile of sildenafil citrate dispersible tablets and control agents in H₂O

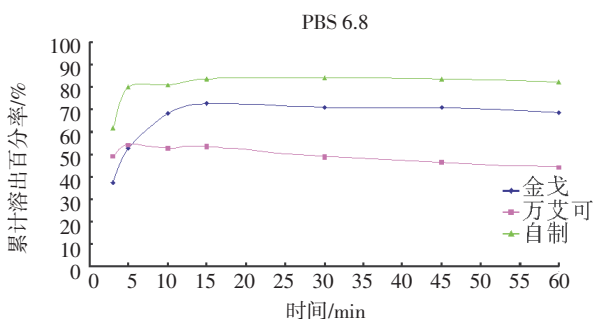


图 3 自制枸橼酸西地那非分散片与市售枸橼酸西地那非片剂在 PBS6.8 中的溶出曲线

Fig 3 The dissolution profile of sildenafil citrate dispersible tablets and control agents in PBS6.8

虽然自制的分散片与万艾可®、金戈® 在 PBS6.8 中的累积溶出率的 $f_{(2)}$ 因子拟合值均小于 50,但由上图可知,自制分散片在 PBS6.8 中的溶出特性明显优于万艾可® 和金戈®。

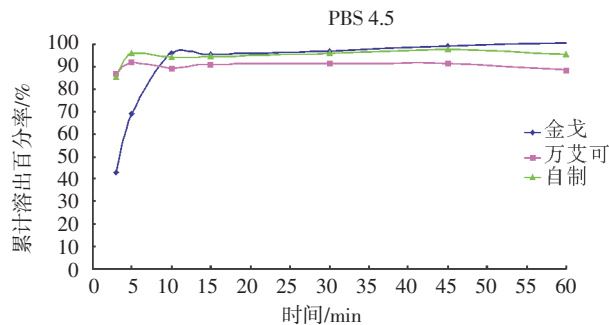


图 4 自制枸橼酸西地那非分散片与市售枸橼酸西地那非片剂在 PBS4.5 中的溶出曲线

Fig 4 The dissolution profile of sildenafil citrate dispersible tablets and control agents in PBS4.5

2.3 星点设计-效应面法优化试验 根据“1.3.4”项下的表 2 进行试验,试验结果见表 3,并绘制 3 因素的三维效应面图和等高线图。

表 3 星点设计试验结果

Tab 3 Results of CCD

试验号	X_1/mg	X_2/mg	X_3/mg	分散均匀性		
				崩解时间/硬度 度 $\text{K}/(\text{s} \cdot \text{kg}^{-1})$	是否通过 15 min 2 号筛	累积溶 出百分率 $Y_{15\%}$
1	24.2	34.2	3.2	32.9	是	94.29
2	24.2	45.8	3.2	32.5	是	94.91
3	24.2	45.8	11.8	41.7	是	89.17
4	24.2	34.2	11.8	45	是	87.62
5	35.8	45.8	11.8	40	是	89.95
6	35.8	34.2	11.8	43	是	88.78
7	35.8	34.2	3.2	33.3	是	93.7
8	35.8	45.8	3.2	31.7	是	95.2
9	20	40	7.5	38.3	是	90.12
10	40	40	7.5	37.5	是	90.95
11	30	30	7.5	36.5	是	92.45
12	30	50	7.5	36.7	是	92.22
13	30	40	0	25	是	97.13
14	30	40	15	48	是	85.65
15~20	30	40	7.5	35	是	93.44

崩解时间/硬度 $\text{K}/(\text{s} \cdot \text{kg}^{-1})$ 对 3 因素的多元线性、非线性回归拟合的方程及其复相关系数如下:

$$Y_1 = 32.737 - 0.068 \cdot X_1 - 0.098 \cdot X_2 + 1.311 \cdot X_3 \quad (R^2 = 0.912)$$

$$Y_2 = 77.704 - 1.725 \cdot X_1 - 1.35 \cdot X_2 + 2.194 \cdot X_3 + 0.032 \cdot X_1^2 + 0.019 \cdot X_2^2 + 0.032 \cdot X_3^2 - 0.003 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.017 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0.022 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (R^2 = 0.969)$$

由结果可见,多元线性回归模型进行拟合优化的复相关系数较低,不宜采用,宜应用多元非线性回归拟合进行优化。采用 Microcal Origin 8.0 软件绘制崩解时间/硬度 $\text{K}/(\text{s} \cdot \text{kg}^{-1})$ 的三维效应面图和等高

线图,见图5。

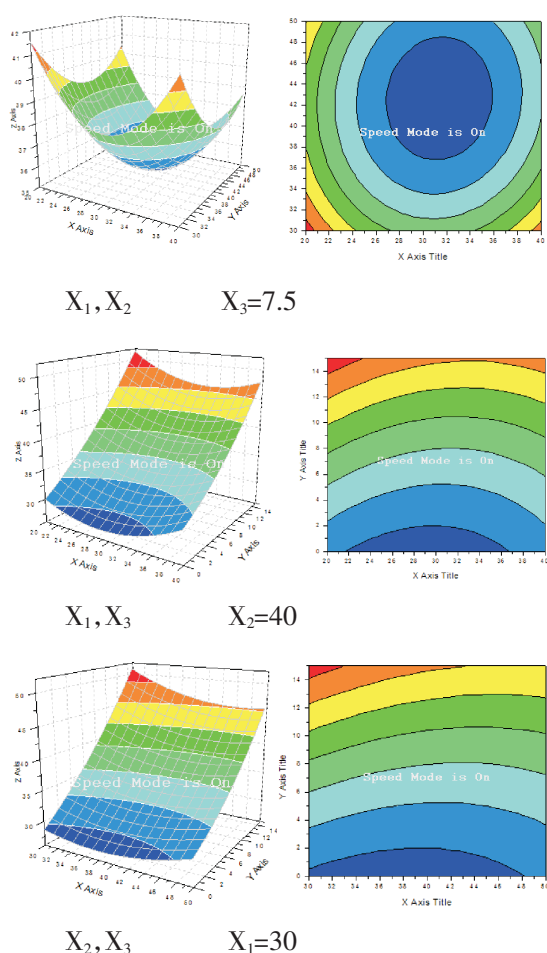


图5 崩解时间/硬度的效应面图以及等高线图

Fig 5 Response surface and contour plots of disintegration time/hardness

由图5可以看出 X_1 、 X_2 、 X_3 对该分散片的崩解时间/硬度 $K/(s \cdot kg^{-1})$ 均有一定的影响。综合分析,最终确定3个因素的最佳用量范围为: X_1 :26~34 mg; X_2 :38~48 mg; X_3 :0~2 mg。

15 min 累积溶出百分率 $Y_{15\%}$ 对3因素的多元线性、非线性回归拟合的方程及其复相关系数如下:

$$Y_1 = 94.078 + 0.038 \cdot X_1 + 0.055 \cdot X_2 - 0.703 \cdot X_3 \quad (R^2=0.861)$$

$$Y_2 = 59.435 + 1.524 \cdot X_1 + 0.729 \cdot X_2 - 0.657 \cdot X_3 - 0.027 \cdot X_1^2 - 0.009 \cdot X_2^2 - 0.034 \cdot X_3^2 + 0.002 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0.011 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0.003 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (R^2=0.982)$$

由结果可见,多元线性回归模型进行拟合优化的复相关系数较低,不宜采用,宜应用多元非线性回归拟合进行优化。采用 Microcal Origin 8.0 软件绘制 15 min 累积溶出百分率 $Y_{15\%}$ 的三维效应面图和等高线图,见图6。

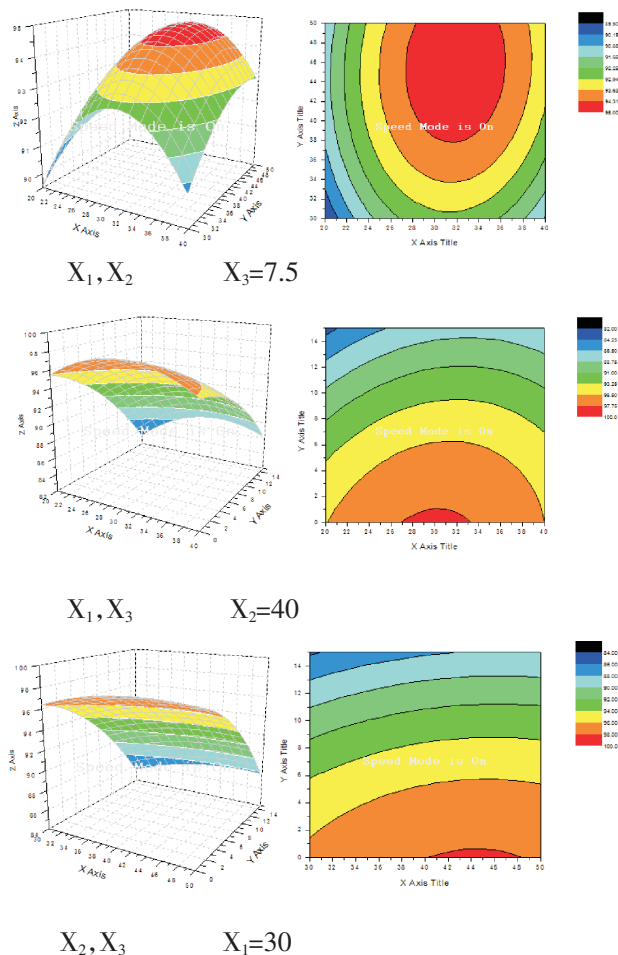


图6 15 min 累积溶出百分率的效应面图及等高线图

Fig 6 Response surface and contour plots of 15 minutes cumulative dissolution

由图6可以看出 X_1 、 X_2 、 X_3 对该分散片的15 min 累积溶出率均有一定的影响。综合分析,最终确定3个因素的最佳用量范围为: X_1 :27~33 mg; X_2 :40~48 mg; X_3 :0~1 mg。

综合以上2个考察指标所优选出的最佳处方范围,取两个范围的交集,得出处方的优化范围。内加CCNa的量(X_1):27~33 mg;外加CCNa的量(X_2):40~48 mg;HPMC的加入量(X_3):0~1 mg。

3 讨论

在药物制剂的工艺研究和处方筛选过程中,常需同时考察多个因素的影响,并对结果进行优化。国内用得较多的方法为均匀设计和正交试验设计方法,基本可以满足一般试验的要求,但它们存在试验精度不够、不够灵敏等一系列问题^[15]。所以,近年来星点设计-效应面优化法在药物制剂研究、制粒和提取等工艺中,应用的越来越成熟,且具有良好的前景^[16]。

自制片为分散片,将用于肺动脉高压的治疗,希望它在各种介质中都有良好的溶出度,以保证其在体内可以有更好的吸收^[17-20],达到预期的生物利用度。本试验通过星点设计-效应面优化法,考察了枸橼酸西地那非分散片的2个指标对3个主要影响因素的变化,最终确定了分散片的处方为:内加CCNa30 mg,外加CCNa40 mg,HPMC 0 mg。

参考文献:

- [1] 朱锋. 肺动脉高压研究进展[J]. 心血管病学进展, 2011,32(2):167
- [2] 苏威,李江. 肺动脉高压药物靶向治疗的展望[J]. 中华临床医师杂志, 2014,8(16):3016
- [3] 罗鹏. 动脉型肺动脉高压靶向药物治疗的中国证据[J]. 中国循环杂志, 2014,29(7):552
- [4] 李宏军. 勃起功能障碍的诊治进展与共识[J]. 中国性科学, 2011, 20(1):5
- [5] 张兴源,潘连军. 西地那非和酚妥拉明治疗勃起功能障碍的临床疗效比较[J]. 现代药物与临床, 2014,29(12):1386
- [6] 赵良运,耿瑞明,张志兴,等. 长期小剂量西地那非治疗勃起功能障碍 58 例[J]. 湖北民族学院学报, 2011,28(2):4
- [7] Galie N, Ghofrani H A, Torbicki A, et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension[J]. N Engl J Med, 2005,253:2148
- [8] 闫芳,夏宇,李威,等. 西地那非治疗肺动脉高压的疗效及安全性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2014,30(10):877
- [9] 孔翠萍,时文祥. 美洛昔康分散片处方筛选研究[J]. 江苏科技信息, 2015,2:46
- [10] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京:中国医药科技出版社, 2015:附录 1A
- [11] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京:中国医药科技出版社, 2015:附录 XC
- [12] 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
- [13] 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
- [14] 陈飞,邢雪飞,白雪,等. 星点设计-效应面法优选欣宁泡腾片提取工艺[J]. 中草药, 2014,45(11):1566
- [15] 施昶,沈诗德,黄海飞,等. 星点设计-效应面优化法在处方筛选和优化中的应用[J]. 中国制药装备, 2014, 32:41
- [16] 刘艳杰,项荣武. 星点设计效应面法在药学试验设计中的应用[J]. 中国现代应用药学杂志, 2007,24(6):455
- [17] 胡昌勤,潘瑞雪. 溶出度试验评价/预测固体口服制剂生物等效性的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2014,23(1):45
- [18] 靖博宇,王志远,李燕,等. 非洛地平固体分散体的制备和体外溶出度考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(3):186
- [19] 姚永新,林婉婷,廖华卫,等. 中美 6 个布洛芬软胶囊的体外溶出度与生物利用度比较研究[J]. 广东药学院学报, 2015,31(2):146
- [20] 郝海军,张红芹,贾幼智,等. 采用制剂新技术提高中药磷脂复合物的溶出度和生物利用度研究进展[J]. 中草药, 2013,44(17):2476

(2016-02-26 收稿)

文章编号 1006-8147(2017)01-0078-04

论著

HIV 阴性的肺隐球菌病患者 13 例临床分析

杨菊菊,董丽霞,曹洁

(天津医科大学总医院呼吸与危重症学科,天津 300052)

摘要 目的:分析 HIV 阴性肺隐球菌病患者的临床特点,提高对肺隐球菌病的诊断意识。方法:回顾性分析 13 例肺隐球菌病患者的临床资料。结果:13 例肺隐球菌病患者均为 HIV 阴性,其中男 9 例,女 4 例,年龄 25~70 岁,平均年龄(47.2±14.0)岁,发病人数逐年增加;8 例患者行血清荚膜多糖抗原检测,均为阳性;均进行纤维支气管镜或 CT 引导下经皮肺穿病理活检,其中 8 例经病理确诊。氟康唑治疗效果良好。结论:肺隐球菌病近年发病率上升,为减少漏诊,需积极进行抗原检测及有创检查取病理以排查肺隐球菌病。

关键词 肺隐球菌病;抗原;影像学;病理学

中图分类号 R519.4

文献标志码 A

原发性肺隐球菌病(primary pulmonary cryptococcosis)是指没有任何肺原发病和肺结构异常形成的肺隐球菌感染,多由新型隐球菌(cryptococcus neoformans)感染引起。近年来,由于广谱抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂、细胞毒性药物使用的增多、

器官移植的开展及自身免疫缺陷性疾病如艾滋病患者的增多,真菌感染的比例逐年增加,肺隐球菌病亦有逐渐增加趋势^[1]。国外早期研究表明,隐球菌感染率与 HIV 发病率呈正相关^[2]。近 10 年来我国有关隐球菌感染的病例报道逐渐增多^[3-4]。中枢神经系统感染(CNS)是隐球菌感染最常见的临床类型^[5],但是作为隐球菌感染最常见的感染方式,即由呼吸系统吸入致病,HIV 阴性的肺隐球菌感染者并不少见^[6]。

作者简介 杨菊菊(1990-),女,硕士在读,研究方向:呼吸病学研究;
通信作者:董丽霞,E-mail:luckydonglixia@163.com;曹洁,E-mail:tjcaojie@sina.com。