

Box-Behnken 效应面法优选罗布麻叶缓释滴丸制备工艺

郭慧玲¹, 郭三保¹, 赵晓娟¹, 胡律江^{1*}, 胡志方², 江蕾¹, 王进诚¹

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000)

[摘要] 目的: 优选罗布麻叶缓释滴丸制备工艺, 为该制剂的工业化生产提供参考。方法: 采用固体分散体技术制备缓释滴丸, 在单因素试验基础上, 选择基质与药物的用量比、聚乙二醇 6000 (PEG6000) 与硬脂酸的用量比和料液温度为自变量, 丸重差异、外观质量与总黄酮体外释放度为因变量, 通过 Box-behnken 效应面法优选罗布麻叶缓释滴丸的制备工艺。结果: 最佳制备工艺为基质-药物 (6.77:1), PEG6000-硬脂酸 (4.87:1), 料液温度 66 °C。罗布麻叶缓释滴丸各评价指标的实测值与预测值偏差的绝对值均 < 3.0%。结论: Box-behnken 效应面法适用于优化罗布麻叶缓释滴丸的制备工艺, 建立的模型具有良好的预测性。制得的滴丸外观质量好、丸重差异小, 具有缓释效果。

[关键词] 罗布麻叶; 缓释滴丸; Box-behnken 效应面法; 体外释放度; 金丝桃苷

[中图分类号] R283.6; R284.1; R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)10-0019-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015100019

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150401.0922.006.html>

[网络出版时间] 2015-04-01 9:22

Optimization of Prepration Process of Apocyni Veneti Folium Sustained-release Dropping Pills by Box-Behnken Design-response Surface Methodology GUO Hui-ling¹, GUO San-bao¹, ZHAO Xiao-juan¹, HU Lyu-jiang^{1*}, HU Zhi-fang², JIANG Lei¹, WANG Jin-cheng¹ (1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China; 2. Jiangxi College of TCM, Fuzhou 344000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation process of Apocyni Veneti Folium sustained-release dropping pills for providing a reference for industrial production of this preparation. **Method:** Sustained-release dropping pills were prepared by solid dispersion method. On the basis of single factor tests, taking ratio of substrate to drug, ratio of polyethylene glycol 6000 (PEG6000) to stearic acid and material temperature as dependent variables, Box-Behnken design was conducted to optimize prepration process with appearance quality, pill weight difference and *in vitro* release as indexes. **Result:** Optimal preparation process was as follows: substrate-drug (6.77:1), PEG6000-stearic acid (4.87:1), material temperature of 66 °C. Bias between the observed value and the predicted value were less than 3.0%. **Conclusion:** Box-Behnken surface response design is suitable for optimizing prepration process of Apocyni Veneti Folium sustained-release dropping pills with good predictability. These prepared dropping pills have good appearance quality, small weight difference and sustained-release effect.

[Key words] Apocyni Veneti Folium; sustained-release dropping pills; Box-Behnken surface response design; *in vitro* release; hyperin

罗布麻叶总黄酮对防治高血压和高血脂有良好的效果, 还具有良好的抗抑郁作用^[1]。目前我国已开发了复合罗布麻叶胶囊、罗布麻叶片等系列产品, 但尚无罗布麻叶缓释滴丸的报道。与传统滴丸剂比较, 缓释滴丸具有生物利用度高、毒副作用低、避免

了血药浓度峰谷现象等优点, 临床应用广泛。药物制备工艺常采用均匀试验或正交设计优选, 存在精密度不够高、不能灵敏考察因素间的交互作用等问题。本实验采用 Box-behnken 效应面法考察基质与药物的用量比、聚乙二醇 6000 与硬脂酸的用量比、

[收稿日期] 20140805(006)

[基金项目] 江西省卫生计生厅中医药科研计划项目(2012A016); 江西中医药大学重点项目(zycs001)

[第一作者] 郭慧玲, 教授, 从事中药制剂新技术与新剂型研究, Tel: 0791-87118645, E-mail: ghl6262@126.com

[通讯作者] * 胡律江, 博士, 讲师, 从事中药制剂新剂型与新技术研究, Tel: 0791-86363831, E-mail: 380085581@qq.com

料液温度对制备工艺的影响,为罗布麻叶缓释滴丸的开发提供参考。

1 材料

RCZ-8A型智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂),AB204-N型精密分析天平(上海衡器有限公司),BT25S型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),UV759型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),滴丸机(自制)。罗布麻叶(购于江西省南昌市会好康大药房,产地天津,经江西中医药大学大学生药教研室邓可众副教授鉴定为夹竹桃科植物罗布麻 *Apocynum venetum* 的干燥叶),金丝桃苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111521-201205),罗布麻叶总黄酮原料药(自制),聚乙二醇6000(PEG6000)、硬脂酸和液体石蜡均购自天津福晨化学试剂厂,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 罗布麻叶缓释滴丸的制备 选择 PEG6000 和硬脂酸为药物载体,采用熔融法制备固体分散体。准确称量 PEG6000 倒入蒸发皿中,于水浴 70 °C 熔融后少量多次加入罗布麻叶总黄酮原料药(过 8 号筛),边加边搅拌,使之熔融,混匀后加入硬脂酸,水浴使其熔融并搅匀,以液体石蜡为冷凝剂,按一定条件滴制,收集滴丸,晾于滤纸上,擦去表面的冷凝液,置干燥器内保存。

2.2 总黄酮的含量测定 精密称取经五氧化二磷干燥的金丝桃苷对照品 10.7 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,得 0.214 g·L⁻¹ 对照品

溶液。精密量取该对照品溶液 0.0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加水至 6 mL,加入 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加 4% 氢氧化钠溶液 10 mL,摇匀,用甲醇补足体积至刻度,摇匀,放置 15 min,以相应试剂作空白对照,于 507 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 16.077C - 0.0026$ ($r = 0.9999$)。本方法精密度、稳定性和重复性试验的 RSD 分别为 1.6%,3.4%,2.0%,平均加样回收率 99.76%,RSD 2.0%。

2.3 体外释放度的测定^[2] 取罗布麻叶缓释滴丸 6 份,每份 40 粒,分别于 2,6,12 h 取样 6 mL,随即补充等温等体积水,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.2 项下方法于 507 nm 处测定总黄酮含量。

2.4 Box-Behnken 效应面试验^[2-6] 以外观质量和丸重差异为评价指标,通过单因素试验考察冷凝液的种类、冷凝液温度、滴速及滴距等因素,结果表明以液体石蜡为冷凝液,冷凝液温度 60 ~ 25 °C (冷凝液上部温度 60 °C,底部 25 °C,误差 < 5%),滴速 35 d·min⁻¹,滴距 7 cm 滴制的滴丸外观质量好且丸重差异小。根据 Box-Behnken 试验设计原理,选择基质与药物的用量比、料液温度和 PEG6000 与硬脂酸的用量比为考察因素,每个因素设置 3 个水平,分别编码为 -1,0,1。以丸重差异、外观质量和 2,6,12 h 的累计释放度(Q_{2h} , Q_{6h} , Q_{12h})为考察指标,试验安排及结果见表 1。

表 1 罗布麻叶缓释滴丸制备工艺 Box-Behnken 效应面试验分析

Table 1 Box-Behnken response surface test analysis of preparation process of Apocyni Veneti Folium sustained-release dropping pills

No.	A 基质-药物	B PEG6000-硬脂酸	C 料液温度/°C	丸重差异 (R_1)/%	外观质量 (R_2)/分	2 h 累计释放度 (Q_{2h})/%	6 h 累计释放度 (Q_{6h})/%	12 h 累计释放度 (Q_{12h})/%
1	7:1	4.5:1	80	6.2	2.3	47.29	66.4	85.85
2	5:1	3:1	70	5.8	2.6	32.64	49.76	63.86
3	6:1	4.5:1	70	4.3	2.5	41.66	60.28	72.85
4	6:1	4.5:1	70	4.4	2.4	42.45	59.54	70.52
5	6:1	3:1	80	6.0	3.4	39.13	58.71	69.01
6	6:1	6:1	80	6.7	3.6	44.64	64.78	72.84
7	6:1	6:1	60	4.6	2.6	43.70	61.54	75.81
8	7:1	4.5:1	60	4.9	2.7	45.32	64.40	76.21
9	5:1	4.5:1	80	6.6	2.5	38.62	57.02	68.51
10	7:1	3:1	70	5.5	3.0	43.54	64.68	76.64
11	5:1	6:1	70	5.2	2.8	43.35	60.17	71.38
12	7:1	6:1	70	4.9	2.6	49.51	68.81	95.59
13	5:1	4.5:1	60	5.9	2.1	37.96	56.30	67.32
14	6:1	4.5:1	70	4.2	2.6	42.24	58.79	68.81
15	6:1	3:1	60	5.0	3.2	36.32	52.23	66.35

注:外观质量以滴丸圆整度、表面光洁度、硬度、黏连、拖尾为综合指标进行评分,外观质量最好为 1 分,最差为 5 分。

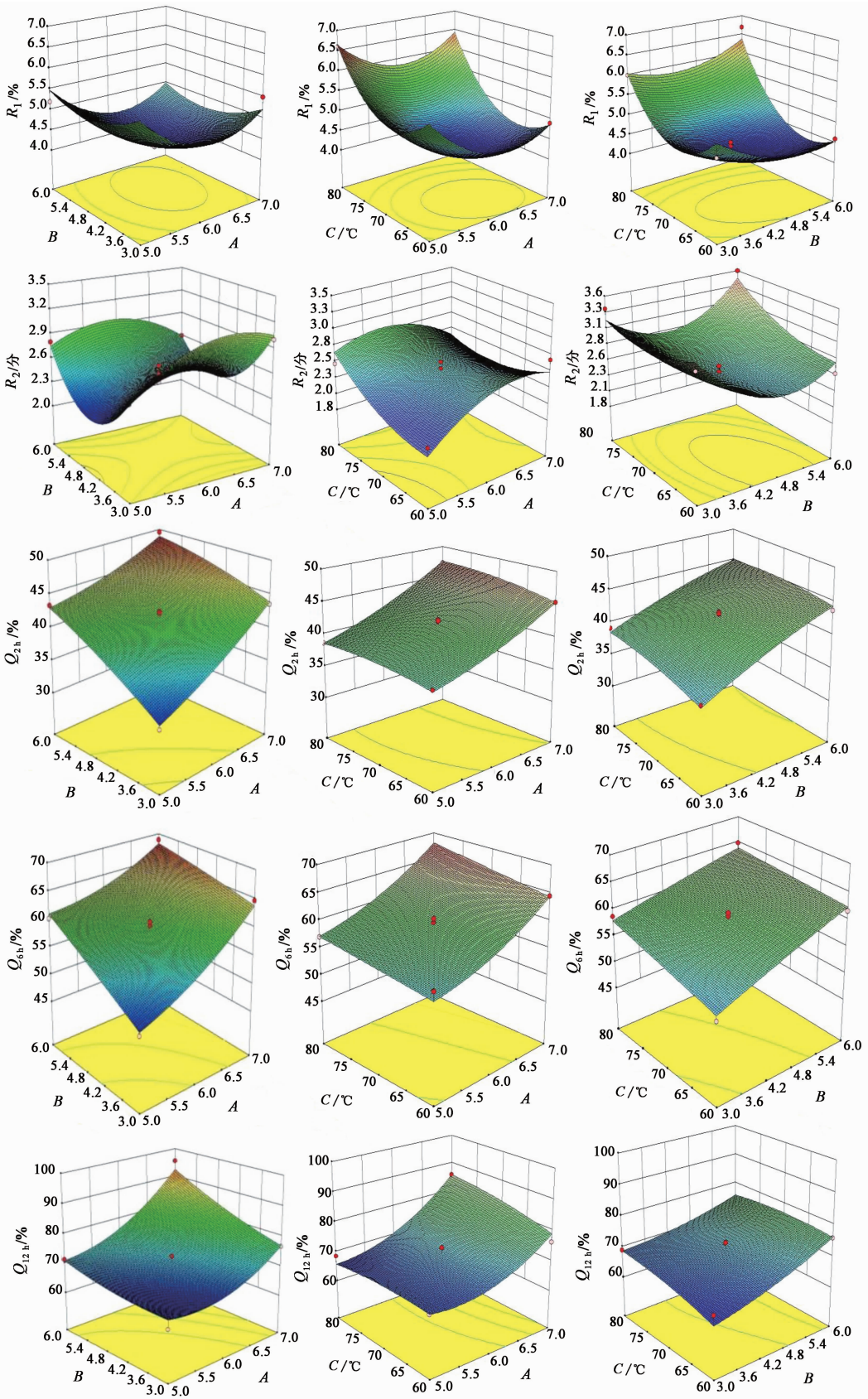


图 1 基质-药物,PEG6000-硬脂酸及料液温度对罗布麻叶缓释滴丸制备工艺影响的三维效应曲面

Fig. 1 Response surface of substrate-drug,PEG6000-stearic acid and material temperature for preparation process of Apocyni Veneti Folium sustained-release dropping pills

采用 Design Expert 8.0.6 设计软件对表 1 中试验数据进行回归分析,得二次多元回归模型的拟合方程分别为 $R_1 = 4.3 - 0.25A - 0.11B + 0.64C + 0.15AC + 0.28BC + 0.69A^2 + 0.36B^2 + 0.91C^2$ ($R^2 = 0.9439$), $R_2 = 2.5 + 0.075A - 0.075B + 0.15C - 0.15AB - 0.2AC + 0.2BC - 0.28A^2 + 0.53B^2 + 0.17C^2$ ($R^2 = 0.9114$), $Q_{2h} = 42.12 + 4.14A + 3.7B + 0.8C - 1.19AB + 0.33AC - 0.47BC + 0.75A^2 - 0.6B^2 - 0.57C^2$ ($R^2 = 0.9909$), $Q_{6h} = 59.54 + 5.13A + 3.74B + 1.56C - 1.57AB + 0.32AC - 0.81BC + 1.52A^2 - 0.2B^2 - 0.023C^2$ ($R^2 = 0.9682$), $Q_{12h} = 70.73 + 7.9A + 4.97B + 1.32C + 2.86AB + 2.11AC - 1.41BC + 4.81A^2 + 1.34B^2 - 1.06C^2$ ($R^2 = 0.9353$), 方差分析见表 2。结果显示这些模型均具有显著性差异,而失拟项则均无显著性影响,且采用二次多项式方程拟合的决定系数 (R^2) 均 > 0.9 , 说明可采用二次多项式方程建立数学模型并利用该模型预测罗布麻叶缓释滴丸的最佳制备工艺。

表 2 二元多次回归方程方差分析

Table 2 ANOVA for square multiple regression equation

响应值	方差来源	SS	f	MS	F	P
R_1	模型	8.96	9	1.00	9.35	0.0120
	误差	0.53	5	0.11		
	失拟项	0.51	3	0.17	17.08	0.0558
	纯误差	0.02	2	0.01		
	总和	9.50	14			
R_2	模型	2.16	9	0.24	5.71	0.0347
	误差	0.21	5	0.04		
	失拟项	0.19	3	0.06	6.33	0.1394
	纯误差	0.02	2	0.01		
	总和	2.37	14			
Q_{2h}	模型	263.09	9	29.23	60.40	0.0001
	误差	2.42	5	0.48		
	失拟项	2.08	3	0.69	4.15	0.2002
	纯误差	0.33	2	0.17		
	总和	265.51	14			
Q_{6h}	模型	363.59	9	40.40	16.91	0.0031
	误差	11.94	5	2.39		
	失拟项	10.83	3	3.61	6.51	0.1361
	纯误差	1.11	2	0.56		
	总和	375.53	14			
Q_{12h}	模型	866.58	9	96.29	8.03	0.0168
	误差	59.92	5	11.98		
	失拟项	51.70	3	17.23	4.19	0.1986
	纯误差	8.22	2	4.11		
	总和	926.50	14			

采用 Design Expert 8.0.6 设计软件进行拟合,得三维效应曲面图,见图 1。为确定罗布麻叶缓释滴丸制备工艺模型的最佳取值区域,对 5 个响应值设定目标值区间,其中 R_1 和 R_2 越小越好, Q_{2h} , Q_{6h} , Q_{12h} 的目标值分别设为 45%, 65%, $> 80%$, 经 Design Expert 8.0.6 设计软件计算,得最佳制备工艺 $A = 6.77:1$, $B = 4.87:1$, $C = 66^\circ\text{C}$ 。按此处方制备 3 批滴丸,根据公式偏差 = (实测值 - 预测值) / 预测值 $\times 100\%$ 计算,与模型预测值 ($R_1 = 4.3\%$, $R_2 = 2.4$ 分, $Q_{2h} = 45.88\%$, $Q_{6h} = 64.30\%$, $Q_{12h} = 80.18\%$) 进行比较,3 批滴丸的平均实测值 $R_1 = (4.33 \pm 0.21)\%$, $R_2 = (2.37 \pm 0.12)$ 分, $Q_{2h} = (44.98 \pm 1.27)\%$, $Q_{6h} = (65.75 \pm 1.08)\%$, $Q_{12h} = (82.45 \pm 0.80)\%$, 与预测值的偏差分别为 0.7%, -1.3%, -2.0%, 2.3%, 2.83%, 说明建立的模型预测性良好。

3 讨论

缓释滴丸的释放度主要取决于基质与药物、速释基质与缓释基质的用量比,外观质量和丸重差异主要取决于料液温度、冷凝液、冷凝液温度、滴距及滴速。由于实验影响因素多,若采用 Box-Behnken 效应面法考察全部因素,则难以在规定时间内完成。因此,为了既能保证滴丸的质量又能减少工作量,预试验对一些较重要的工艺因素如冷凝液的选择、冷凝液温度、滴速及滴距进行单因素考察,再采用 Box-Behnken 效应面法考察基质与药物比、速释基质与缓释基质比和料液温度对罗布麻叶缓释滴丸制备工艺的影响,结果制得的滴丸外观质量好、丸重差异小,并能达到缓释的目的。

[参考文献]

- [1] 翟丽莉,吕建华. 罗布麻的现代药理研究及临床应用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(6): 187-189.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 85-87.
- [3] 刘玲, 李小芳, 文怡静, 等. 星点设计-效应面法优选穿心莲提取物- β -环糊精包合物制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 22-25.
- [4] 孙洪梅, 周长征. 盐酸川芎嗪缓释滴丸制备工艺的研究[J]. 食品与药品, 2012, 14(2): 99-102.
- [5] Karacan F, Ozden U, Karacan S. Optimization of manufacturing conditions for activated carbon from Turkish lignite by chemical activation using response surface methodology[J]. Appl Therm Eng, 2007, 27(7): 1212-1218.
- [6] 符少莲, 冯翠娟, 李沙. 星点设计-效应面法优化脂溶性丹参提取物速释滴丸处方工艺[J]. 中成药, 2013, 35(4): 690-695.

[责任编辑 刘德文]