

星点设计-效应面法优化复方葛黄微孔渗透泵片的处方组成

周昌妮, 冯青云, 徐如冰, 陈书慧, 贾永艳*

(河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州 450046)

[摘要] 目的:优化复方葛黄微孔渗透泵片的处方组成,为中药有效组分的口服渗透泵控释制剂提供研究模式,促进新技术、新工艺在中药领域中的应用。方法:采用紫外分光光度法在346 nm处测定吸光度,计算黄连总生物碱含量,以黄连总生物碱的累积释药率为指标,在单因素试验考察基础上,采用星点设计-效应面法对聚氧乙烯用量、致孔剂聚乙二醇400用量和包衣增重进行考察。结果:最佳处方组成为黄连提取物75 mg,葛根提取物75 mg,氯化钠72 mg,聚氧乙烯78 mg,微晶纤维素15 mg,十二烷基硫酸钠9 mg;包衣液中乙酸纤维素、聚乙二醇400及邻苯二甲酸二丁酯的质量浓度分别为30,82,9 g·L⁻¹,包衣增重8.2%;12 h内累计释放率达81.9%。结论:制备的微孔渗透泵片释放曲线符合要求,零级方程拟合度达0.990 9,优选的处方工艺稳定可行,可推广于复方葛黄微孔渗透泵片的工业化生产。

[关键词] 渗透泵片;相似因子;体外释放度;总生物碱;聚氧乙烯

[中图分类号] R283.6;R944.2;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0020-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016100020

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160331.1436.008.html>

[网络出版时间] 2016-03-31 14:36

Optimization of Prescription of Compound Gehuang Microporous Osmotic Pump Tablets by Central Composite Design-response Surface Methodology

ZHOU Chang-ni, FENG Qing-yun, XU Ru-bing, CHEN Shu-hui, JIA Yong-yan*

(Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize composition of compound Gehuang microporous osmotic pump tablets for providing a research model of microporous osmotic pump tablets of Chinese medicine effective components. **Method:** The content of total alkaloids in *Coptidis Rhizoma* was determined by ultraviolet spectrophotometry at 346 nm. Taking accumulative release rate of total alkaloids in *Coptidis Rhizoma* as index, based on single factor tests, central composite design-response surface methodology was adopted to optimize prescription with polyoxyethylene content and polyethylene glycol 400 content and coating weight as factors. **Result:** The best prescription were: *Coptidis Rhizoma* extract of 75 mg, *Puerariae Lobatae Radix* extract of 75 mg, NaCl of 72 mg, polyoxyethylene of 78 mg, microcrystalline cellulose of 15 mg, sodium dodecyl sulfate of 9 mg. In coating solution, concentrations of cellulose acetate, polyethylene glycol and dibutyl phthalate were 30, 82, 9 g·L⁻¹, coating weight was 8.2%. Accumulative release rate in 12 h of total alkaloids was 81.9%. **Conclusion:** Release profile of compound Gehuang microporous osmotic pump tablets meets requirements, its zero order equation fitting degree reaches 0.990 9. This optimized preparation processes is stable and reasonable.

[Key words] osmotic pump tablets; similarity factor; *in vitro* release; total alkaloids; polyoxyethylene

[收稿日期] 20150721(011)

[基金项目] 河南省教育厅重点项目(15A360047)

[第一作者] 周昌妮,在读硕士,从事药物制剂新技术研究,E-mail:2359808243@qq.com

[通讯作者] *贾永艳,教授,硕士生导师,从事药物制剂新技术与新剂型研究,E-mail:hnzjyy@126.com

糖尿病是由遗传因素、免疫功能紊乱等各种致病因子作用于机体导致胰岛素功能减退、胰岛素抵抗等而引发的一系列代谢紊乱综合征^[1],且发病率有逐年增高的趋势,其与癌症、心血管疾病一同被视为世界性三大疾病^[2]。目前糖尿病的治疗除了注射胰岛素外,还有人工合成的一些口服降血糖药,常用的有磺酰脲类、双胍类和 α -葡萄糖苷酶抑制剂等,但作用慢而弱,不良反应较多^[3]。中医药防治糖尿病(即消渴病)有着悠久的历史,经过几千年的实践,积累了大量宝贵的经验,并逐渐形成了独特的学术体系。糖尿病为终身性疾病,需长期服药,且中药的成分较为复杂,复方的服用剂量较大,服药次数较多,给患者带来诸多不便,为此研发具有中医药特色的治疗糖尿病的长效制剂成为亟待解决的问题。

复方葛黄渗透泵片来自于临床验方,由葛根和黄连组成。葛根可解肌热、清肠热,还可升胃肠津液,《名医别录》^[4]记载葛根能“疗消渴”,现代研究证实葛根具有降低血糖的作用。黄连味苦,性寒,具有泻火解毒、清热燥湿等功效,《名医别录》记载有黄连可止消渴^[5],与葛根配伍后可增强其清热燥湿之功,是治疗糖尿病的临床验方。本实验选择黄连-葛根组成的复方为模型药物,以氯化钠为渗透泵压活性物质,黄连总生物碱的累积释药率为评价指标,在单因素试验基础上,采用星点设计-效应面法优化复方葛黄渗透泵片的处方,为中药有效组分的口服渗透泵控释制剂提供研究模式,以促进新技术、新工艺在中药领域中的应用。

1 材料

BYG-A 型温控包衣机(上海铭翔药检仪器有限公司),ZRS-8C 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂),TU-1800PC 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),BSA224S-CW 型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),DHG-9246A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),DP30A 型单冲压片机(北京国药龙立科技有限公司)。黄连提取物(黄连总生物碱质量分数 90%)和葛根提取物(葛根素质量分数 77%)均为实验室自制,盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110713-20091),乳糖(上海精诚化工有限公司),甘露醇(天津恒兴化学试剂制造有限公司),聚氧乙烯(PEO,广州力国贸有限公司),微晶纤维素(MCC,天津市红岩化学试剂厂);邻苯二甲酸二丁酯(DBP),聚乙二醇 400(PEG-400),乙酸纤维素(CA)和十二烷基硫酸钠(SDS)均购自国药集团化

学试剂有限公司。试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 复方葛黄微孔渗透泵片的制备 称取处方量的药物与辅料,充分混合,加 95% 乙醇适量制软材,过 24 目筛制粒,50 ℃ 干燥 2 h,整粒,加适量硬脂酸镁混匀,压片,包衣,40 ℃ 熟化 12 h,得微孔渗透泵片。包衣工艺参数为包衣锅直径 20 cm,包衣锅转速 45 r·min⁻¹,垂直倾角 30 度,片床温度约 40 ℃,包衣液输入速度 10 g·L⁻¹,压力 607.8 ~ 810.4 kPa,直至片芯外包衣膜增重达到预定要求为止。片芯处方为黄连提取物 75 mg,葛根提取物 75 mg,渗透压活性物质 50 ~ 100 mg,高分子膨胀剂 50 ~ 100 mg, MCC 15 mg, SDS 3 ~ 9 mg, 95% 乙醇适量,硬脂酸镁适量;包衣液为 30 g·L⁻¹ CA, 45 ~ 135 g·L⁻¹ PEG-400, 9 g·L⁻¹ DBP, 丙酮-水(95:5)。

2.2 黄连总生物碱的含量测定

2.2.1 吸收波长的选择 取待测片芯 2 片,研细,精密称取适量粉末至 250 mL 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,过滤,弃去初滤液,取续滤液适量,得供试品溶液;按照处方量称取除黄连提取物外的各种辅料,用溶出介质溶解,配成一定浓度的阴性样品溶液;取盐酸小檗碱对照品适量,同法制得对照品溶液。在 200 ~ 500 nm 扫描,确定最大吸收波长 346 nm。

2.2.2 线性关系考察 精密称取盐酸小檗碱对照品 2.5 mg 置于 25 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中,加水定容,得系列质量浓度的对照品溶液,分别于 346 nm 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 $A = 0.0601C - 0.0062$ ($R^2 = 0.9994$), 线性范围 2.0 ~ 10.0 mg·L⁻¹。

2.3 释放度测定^[6] 取复方葛黄微孔渗透泵片,按《中国药典》2010 年版二部附录 X C 第二法转篮法测定,以 900 mL 水为溶出介质,转速 100 r·min⁻¹,温度 (37 ± 0.5) ℃。分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 后取样 10 mL, 取出后迅速补加等量的新鲜介质,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,按 2.2 项下方法测定黄连总生物碱的含量,计算累积释放率。

2.4 复方葛黄微孔渗透泵片的处方优化^[7-9] 在固定包衣工艺参数的条件下,分别考察了片芯处方和衣膜处方对复方葛黄微孔渗透泵片释药行为的影响。单因素试验结果发现氯化钠和甘露醇的释药曲线相似性较高,累积释放率均高于乳糖,且当以甘露

醇为渗透压活性物质进行片芯压制时,较易发生黏冲现象,故选择氯化钠为渗透压活性物质。相对分子质量 3×10^5 Da 与 100×10^5 Da 的聚氧乙烯释放曲线相似性较低,当选择 100×10^5 Da 聚氧乙烯时,释药前 4 h 出现突释现象,且 12 h 累积释放率比 3×10^5 Da 聚氧乙烯时反而更低,这可能是由于相对分子质量高的聚氧乙烯的水溶性较差,会吸附药物,影响释放。6 mg 和 9 mg 的 SDS 之间相似性较高,12 h 累积释放率约 60%,3 mg 的 SDS 药物累积释放率较低,仅 48%。这可能是由于 6 mg 和 9 mg 的 SDS 对药物的增溶作用以达饱和,而 3 mg 的 SDS 未能使药物溶解完全。因方中有难溶性药物,为了使之溶解完全并释放,故确定方中 SDS 用量为 9 mg。选择 PEO 用量,PEG-400 用量,包衣增重率为考察因素,以渗透泵片 12 h 累积释放率和累计释放率对时间进行线性拟合的相关系数 (R^2) 为评价指标,根据星点设计原理,每个因素设置 5 个水平,按处方量称取样品,平行 3 份,试验安排及结果见表 1。

表 1 复方葛黄微孔渗透泵片处方工艺星点试验分析
Table 1 Central composite design of formulation process of compound Gehuang microporous osmotic pump tablets

No.	X_1 PEO 用量 /mg	X_2 PEG-400 质量浓度 /g·L ⁻¹	X_3 包衣 增重率 /%	12 h 累积 释放率 (Y_1)/%	释放曲线 相关系数 (Y_2)
1	60.00	90.00	8.00	59.75	0.974 7
2	66.34	107.32	6.85	74.61	0.940 5
3	75.00	90.00	6.00	82.44	0.942 2
4	75.00	90.00	8.00	80.55	0.988 1
5	75.00	90.00	8.00	80.92	0.989 0
6	66.34	72.68	6.85	72.14	0.974 5
7	90.00	90.00	8.00	84.27	0.913 4
8	83.66	72.68	6.85	81.68	0.956 0
9	83.66	107.32	6.85	83.25	0.911 2
10	83.66	72.68	9.15	80.76	0.976 1
11	66.34	107.32	9.15	73.17	0.980 2
12	66.34	72.68	9.15	70.92	0.967 7
13	75.00	90.00	8.00	79.88	0.990 5
14	75.00	90.00	10.00	78.32	0.988 5
15	75.00	60.00	8.00	72.24	0.993 2
16	75.00	90.00	8.00	80.97	0.990 0
17	75.00	90.00	8.00	80.62	0.989 1
18	83.66	107.32	9.15	81.76	0.904 8
19	75.00	90.00	8.00	79.45	0.985 4
20	75.00	120.00	8.00	84.28	0.871 1

使用 Design-Expert 软件对数据进行分析处理,发现最佳拟合模型为二次多项拟合,拟合方程为 $Y_1 = 80.40 + 5.65X_1 + 2.01X_2 - 0.87X_3 - 0.27X_1X_2 + 0.031X_1X_3 - 0.099X_2X_3 - 2.72X_1^2 - 0.64X_2^2 + 0.071X_3^2$ ($R^2 = 0.930 5$), $Y_2 = 0.99 - 0.016X_1 - 0.025X_2 + 9.057 \times 10^{-3}X_3 - 0.012X_1X_2 - 2.4 \times 10^{-3}X_1X_3 + 2.5 \times 10^{-3}X_2X_3 - 0.014X_1^2 - 0.018X_2^2 - 6.979 \times 10^{-3}X_3^2$ ($R^2 = 0.913 5$),对二次多项拟合模型进行方差分析,结果见表 2。描绘各因素对评价指标的效应面,见图 1,2。

表 2 二次多项拟合方程的方差分析
Table 2 Variance analysis of quadratic fitting equation

方差来源	Y_1		Y_2	
	F	P	F	P
模型	14.87	0.000 1	11.74	0.000 3
X_1	94.08	<0.000 1	16.67	0.002 2
X_2	11.92	0.006 2	41.59	<0.000 1
X_3	2.24	0.165 2	5.49	0.041 2
X_1X_2	0.12	0.734 4	5.35	0.043 4
X_1X_3	0.002	0.968 4	0.22	0.649 0
X_2X_3	0.02	0.900 5	0.24	0.635 5
X_1^2	24.53	0.000 6	14.92	0.003 1
X_2^2	1.34	0.273 6	24.51	0.000 6
X_3^2	0.017	0.900 2	3.67	0.084 6

由图 1 可知, Y_1 随着 PEO 和 PEG-400 用量的增大而加大,而包衣增重的变化对 Y_1 的影响较小。这是由于 PEO 在片芯中起助悬和膨胀的作用,能有效地促进片芯中的难溶性药物的释放,但由于高分子材料 PEO 对药物难溶性药物产生了吸附作用,致使 Y_1 最高仅 84.28%;PEG-400 用量的增加可增加半透膜上的微孔数量,从而促进了药物的释放;包衣增重的变化对 Y_1 影响不明显或是因为 PEO 与 PEG-400 的对药物释放的影响较强,掩盖了包衣膜厚度的影响。由图 2 可知, Y_2 随着 PEO 和 PEG-400 用量的增大而减小,随着包衣增重的增大而增大。这是由于 PEO 和 PEG-400 用量在一定范围内对 Y_2 影响不大,但当超出某个值时 (PEO 80 mg, PEG-400 92 g·L⁻¹),会导致药物在初始阶段释放过多,从而导致 Y_2 下降;包衣膜厚度越厚时,药物释放的 Y_2 越大,药物释放速率越稳定。在将 Y_1 趋于最大化和 Y_2 趋于 1 的基础上优化处方,通过满意度函数来预

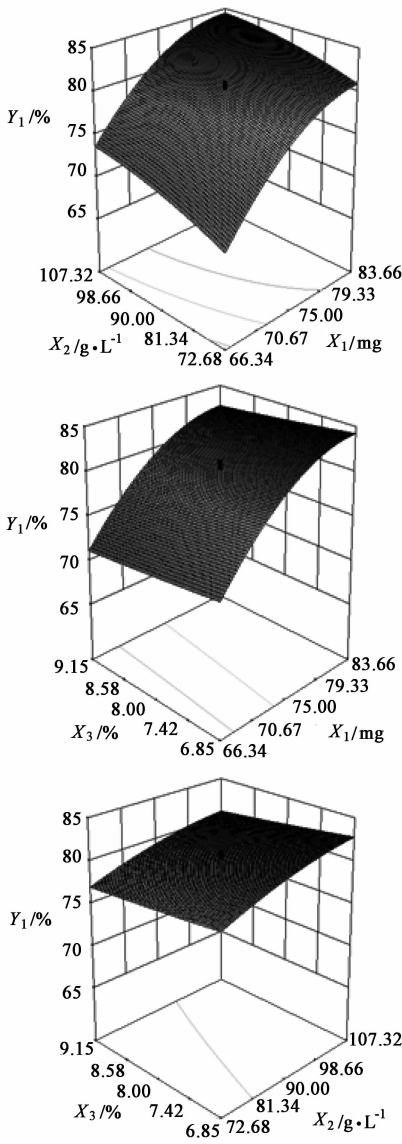


图 1 PEO 用量,PEG-400 用量,包衣增重率对复方葛黄微孔渗透泵片 12 h 累积释放率影响的效应曲面

Fig.1 Response surfaces of effect of coating weight, amounts of polyoxyethylene and polyethylene glycol 400 on accumulative release rate in 12 h

测最优处方,得最优处方 PEO 78 mg, PEG-400 82 g·L⁻¹,包衣增重 8.2%。

2.5 验证试验 最佳处方组成为黄连提取物 75 mg,葛根提取物 75 mg,氯化钠 72 mg,PEO 78 mg, MCC 15 mg,SDS 9 mg;包衣液中,CA,致孔剂 PEG-400 及增塑剂 DBP 的质量浓度分别为 30,82,9 g·L⁻¹,包衣增重 8.2%,按此条件制备 3 批样品,结果各样品的体外释放曲线线性关系良好($R^2 = 0.9909$),12 h 累积释放率 81.9%。 Y_1 和 Y_2 实测值与预测值偏差分别为 -1.8% 和 -0.3%,说明建立的数学模型具有良好的预测效果。

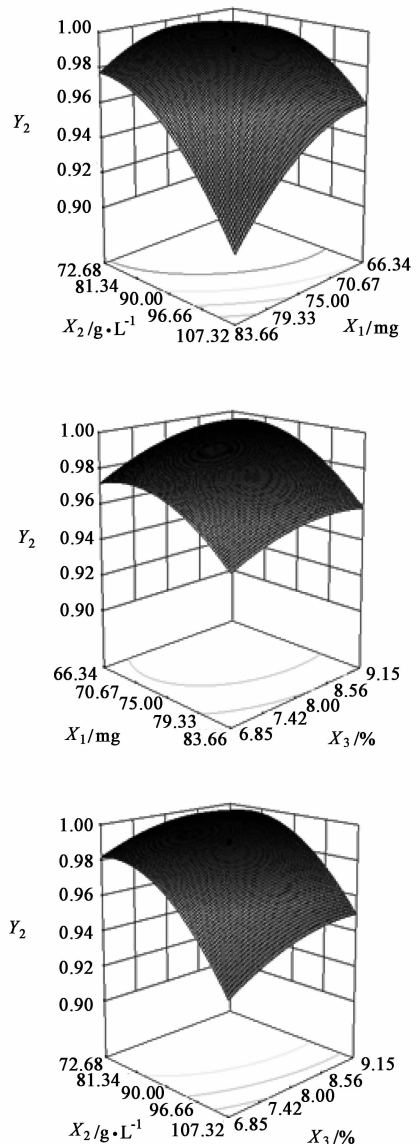


图 2 PEO 用量,PEG-400 用量,包衣增重率对复方葛黄微孔渗透泵片 R^2 影响的效应曲面

Fig.2 Response surfaces of effect of coating weight, amounts of polyoxyethylene and polyethylene glycol 400 on R^2 of compound Gehuang microporous osmotic pump tablets

3 讨论

黄连总生物碱为方中主要有效成分,因其在水中的溶解性较差,处方中仅加入渗透压活性物质无法满足释放要求,12 h 累积释放率仅 30%,达不到释药要求,查阅文献[10-13]及预试验结果表明,选择加入高分子材料 PEO。PEO 在片剂溶出过程中,一方面可以将难溶性药物黄连总生物碱与水形成混悬液,从而间接增大药物的溶解性;另一方面,PEO 吸水会发生膨胀,其产生的推动力又可将药物沿着致孔剂留下的孔径推出包衣膜,但是 PEO 在膜内无法完全溶解,这就导致了其会吸附一定的药物,使药

物无法完全释放,即使这样,PEO 加入后,药物 12 h 累积释放率也达到了 70% ~ 80%。在采用 Design-Expert 软件作图时,根据得到的 12 h 累积释放率和释放曲线相关系数对坐标轴进行优化,去掉偏离最大的点,使得到的三维效应面图呈现更好的趋势。

在进行复方葛黄微孔渗透泵片的处方工艺研究初期,首先考虑了对单独片芯的筛选。分别选用了氯化钠和乳糖为渗透压活性物质,对二者的单独应用和联合应用均进行了考察,结果发现在未包衣的情况下,氯化钠为渗透压活性物质时,片芯的溶出率很低,未能达到想要的结果,可能是由于氯化钠为晶体结构,而片芯中除药物外并未添加其他填充剂,致使片芯压制后,硬度较大,颜色较重,疑为氯化钠与药物形成了晶状结构,阻碍了药物的溶解和溶出。而当选用乳糖为渗透压活性物质时,片芯虽能达到释放要求,但经过包衣后,片剂整体的释放不能够达标,累积释放率太低(<50%),故舍弃片芯单独筛选的方法,改为经过包衣后进行处方筛选。本文采用星点设计-效应面法进行处方优化及验证,结果实测值与预测值基本一致且制备复方葛黄渗透泵片可延长稳定血药浓度维持时间,减少患者服药次数,提高了药物的生物利用度。

[参考文献]

[1] 刘仁涌,王桂清.抗糖尿病合成药物研究进展[J].沈阳药科大学学报,1996,13(2):148-153.
[2] 刘顺,单淇,周渭渭,等.翻白草糖尿病防治物质基础研究近况与展望[J].世界科学技术—中医药现代化,2010,12(2)165-171.

[3] 黎明.世界抗糖尿病药发展前景看好[N].中国中医药报,2002-06-26(3).
[4] 程京艳.基于葛根功能主治的药效组分研究[D].北京:北京中医药大学,2011.
[5] 刘继林,孟宪丽,刘咏松.古代中医用黄连治疗消渴的方药探讨[J].四川中医,2010,28(4):41-43.
[6] 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 X C.
[7] 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):455-457.
[8] 陈海亭,尹蓉莉,陈金玉,等.星点设计-效应面法优化山楂叶总黄酮微孔渗透泵控释片处方[J].中成药,2011,33(10):1688-1692.
[9] 杨泗兴,王柏.星点设计-效应面法优化单硝酸异山梨酯微孔渗透泵片处方[J].药学与临床研究,2008,16(3):175-178.
[10] 刘龙孝,徐清,姜吉善,等.单层芯渗透泵片用于水不溶性药物的控制释放[J].药学学报,2003,38(12):966-967.
[11] 吴衢,杨星钢,张志宏,等.大剂量难溶性药物苯扎贝特渗透泵片的研制[J].中国药学杂志,2008,43(20):1574-1578.
[12] 李杰,尹蓉莉,李东芬,等.星点设计-效应面法优化夏天无总生物碱微孔渗透泵片处方[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(16):49-53.
[13] 陈军,王晓翠,刘龙孝.难溶性药物阿替洛尔单层芯渗透泵片的制备[J].中国药学杂志,2008,43(9):680-683.

[责任编辑 刘德文]