

## 星点设计优化长春瑞滨静脉注射乳剂的处方

谷丽艳<sup>1</sup>, 李学涛<sup>2\*</sup>, 唐凌<sup>3</sup>

(1. 辽宁省朝阳市喀左县外贸局, 辽宁 朝阳 122300; 2. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600;  
3. 大连医科大学, 辽宁 大连 116044)

[摘要] 目的: 星点设计优化长春瑞滨静脉注射乳剂的处方。方法: 以注射用油、大豆磷脂和泊洛沙姆的用量为考察因素, 以乳剂的稳定性参数和乳剂平均粒径为指标, 采用多元线性方程和非线性二次多项式方程描述考察指标和影响因素之间的数学关系, 根据最佳数学模型描绘效应面, 选择最佳处方, 并进行预测分析。结果: 用非线性二次多项式方程描述, 稳定性参数和乳剂平均粒径的相关系数分别为 0.987 6 和 0.983 7, 具有较高的可信度。优化后的处方为注射用油的用量为 9.0%、大豆磷脂的用量为 2.2%、泊洛沙姆的用量为 1.51%, 加注射用水至全量。结论: 所建立的模型预测性良好。

[关键词] 长春瑞滨; 星点设计; 静脉注射乳剂

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0021-04

## Optimized Formulation of Vinorelbine Intravenous Emulsion by a Central Composite Design Methodology

GU Li-Yan<sup>1</sup>, LI Xue-tao<sup>2\*</sup>, TANG Ling<sup>3</sup>

(1. Foreign Trade Bureau of Kazuo, Chaoyang 122300, China; 2. The Medicine Institute of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China; 3. Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

**[Abstract] Objective:** To optimize the formulations of vinorelbine intravenous emulsion by a central composite design methodology. **Method:** Independent variables were investigated which included the oil concentration, the soybean phospholipid concentration and the content of poloxamer with the parameter of stability and mean particle size. Linear or nonlinear mathematic models were used to estimate the relationship between independent and dependent variables. Response surfaces were delineated according to best-fit mathematic models, and optimum formulations were selected. Prediction was carried out through comparing the observed and predicted values. **Result:** Regression coefficients of the parameter of stability and mean particle size were as high as 0.987 6 and 0.983 7 respectively in nonlinear mathematic models. Optimum formulation was proposed to contain oil 9.0%, soybean phospholipid 2.2% and poloxamer 1.51%. **Conclusion:** The optimum mathematic model established was highly predictive.

**[Key words]** vinorelbine; central composite design; intravenous emulsion

星点设计(central composite design) 是国外近年常用的试验优化方法<sup>[1]</sup>。目前, 国内常用均匀设计和正交设计进行优化, 该 2 种方法虽然试验次数较

少, 但试验精度不够、结果预测性较差。很难得出最佳的处方和制备工艺。与上述传统方法相比, 星点设计可采用线性方程或非线性方程进行拟合, 其结果可采用集数学和统计学方法于一体的效应面法进行优化, 最终优化结果具有预测性好、重现性高等特点。长春瑞滨(vinorelbine) 是一个半合成的长春花生生物碱, 化学名称为 3, 4 -二脱氢-4-脱氧-C-去甲长春花碱。长春瑞滨通过作用于肿瘤细胞微管蛋白而干扰肿瘤细胞代谢, 临床主要用于治疗急性淋巴细

[收稿日期] 20100506(001)

[第一作者] 谷丽艳, 在读硕士, 新药研究与开发, Tel: 15942305712,  
E-mail: sygulian@yahoo.com.cn

[通讯作者] \* 李学涛, 讲师, 新型给药系统的研究. Tel: 0411-87586010, E-mail: lixuetao1979@yahoo.cn

胞白血病、何杰金及非何杰金淋巴瘤,也用于乳腺癌、支气管肺癌、软组织肉瘤及神经母细胞瘤等<sup>[2]</sup>。本研究采用星点设计优化长春瑞滨静脉注射乳剂的处方。

### 1 仪器与试药

HORIBA 动态光散射粒度分布分析仪 LB-550 (1~6 000 nm, 日本 HORIBA 公司); 高压乳匀机 (JM60 JM, 美国 Mfic 公司); UV-2100 紫外分光光度计 (天津市港东科技发展有限公司); JY92-II 超声波细胞粉碎机 (宁波新芝科技股份有限公司)。

长春瑞滨 (海南国栋药业有限公司, 批号 20060512); 注射用大豆卵磷脂 (上海太伟磷脂有限公司, 批号 20060126); 注射用大豆油 (铁岭北亚药业油有限公司, 批号 20060831); 泊洛沙姆 F68 (南京市化工厂, 批号 20060514); 注射用水 (自制); 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 长春瑞滨静脉注射乳剂的制备** 按照预定的处方比例 (处方总量为 10 g), 精密称取长春瑞滨溶于注射用大豆油中, 超声使其溶解完全, 水浴加热至 60 作为油相; 取大豆磷脂、泊洛沙姆 F68 溶于注射用水中, 水浴加热至 60 作为水相。将油相缓慢加入水相中, 经过超声波细胞粉碎机, 超声 (50 kHz) 30 min 得到初乳。初乳转入高压乳匀机中循环通过 3 次, 设定初乳第一次通过高压乳匀机时的压力为 20 MPa, 以后两次均为 40 MPa, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

#### 2.2 考察指标的测定

**2.2.1 乳剂稳定性参数 ( $K_E$ ) 的测定** 精密吸取乳剂 0.1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 以蒸馏水为空白测定其在 265 nm 处的吸光度  $A_0$ 。取适量乳剂于离心管中, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后, 精密吸取下层溶液 0.1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 以蒸馏水为空白测定其在 265 nm 处的吸光度  $A^{[3]}$ 。

$$K_E = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

**2.2.2 乳剂粒径及粒径分布的测定** 取乳剂样品 2.0 mL 置动态光散射粒度分布分析仪中测定, 并用动态光散射处理软件处理, 测量其粒径并绘制粒径分布图。

**2.3 试验设计** 在预试验的基础上, 选择对长春瑞滨静脉注射乳剂的制备影响较显著的 3 个因素作为

考察因素, 即注射用油的用量 ( $X_1$ )、大豆磷脂用量 ( $X_2$ )、泊洛沙姆用量 ( $X_3$ ), 并确定其用量范围为:  $X_1$ : 5% ~ 30%,  $X_2$ : 0.5% ~ 3.0%,  $X_3$ : 0.5% ~ 4.0%。采用 3 因素星点设计, 以稳定性参数 ( $Y_1$ ) 和平均粒径 ( $Y_2$ ) 为指标。因素和水平见表 1, 试验安排及结果见表 2。

表 1 长春瑞滨静脉注射乳剂处方优选因素和水平

因素	$X_1$	$X_2$	$X_3$
- 1.732	5.00	0.50	0.50
- 1	10.28	1.24	1.03
0	17.5	2.25	1.75
1	24.72	3.26	2.47
1.732	30.00	4.00	3.00

**2.4 模型拟合及预测** 采用 Statistica 6.0 统计软件以  $Y_1$ 、 $Y_2$  为因变量, 分别对各因素进行多元线性回归和二次多项式拟合。结果如下:

多元线性回归方程为:

$$Y_1 = 34.37 + 1.59X_1 - 3.16X_2 - 9.81X_3 \quad (r=0.9087, P<0.01)$$

$$Y_2 = 141.67 + 13.11X_1 + 3.89X_2 - 91.30X_3 \quad (r=0.9462, P<0.01)$$

二次多项式拟合方程为:

$$Y_1 = 68.02 + 1.10X_1 + 0.06X_1^2 - 27.24X_2 + 6.70X_2^2 - 25.09X_3 + 4.21X_3^2 - 0.51X_1X_2 - 0.18X_1X_3 + 1.64X_2X_3 \quad (r=0.9876, P<0.01)$$

$$Y_2 = 486.58 - 13.01X_1 + 0.73X_1^2 - 11.69X_2 + 3.33X_2^2 - 274.04X_3 + 46.16X_3^2 - 0.31X_1X_2 + 0.77X_1X_3 + 3.44X_2X_3 \quad (r=0.9837, P<0.01)$$

由上述方程的  $r$  可知: 因变量对各因素的二次多项式拟合方程的  $r$  均大于多元线性回归, 所以选择二次多项式拟合方程作为因变量与对各因素间的数学模型。以各因素对稳定性参数和平均粒径进行相关性分析, 相关系数见表 3。

由各项相关系数可知,  $X_2$  的相关系数最小, 表明  $X_2$  对  $Y_1$  和  $Y_2$  影响最小, 因此, 确定  $X_2 = 2.25\%$ , 带入上述二次多项式回归方程得:

$$Y_1 = 40.65 - 0.048X_1 + 0.06X_1^2 - 21.4X_3 + 4.21X_3^2 - 0.18X_1X_3$$

$$Y_2 = 477.14 - 13.71X_1 + 0.73X_1^2 - 266.30X_3 + 46.16X_3^2 + 0.77X_1X_3$$

根据上述方程, 绘制  $X_1$  与  $X_3$  对  $Y_1$  和  $Y_2$  影响的效应面图, 见图 1。

表 2 长春瑞滨静脉注射乳剂处方优选试验设计及结果

No	代码值			实际值 / %			试验结果	
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$K_E$	$MS$
1	- 1	- 1	- 1	10. 28	1. 24	1. 03	31. 21	202
2	1	- 1	- 1	24. 72	1. 24	1. 03	68. 63	379
3	- 1	1	- 1	10. 28	3. 26	1. 03	30. 64	194
4	1	1	- 1	24. 72	3. 26	1. 03	47. 83	369
5	- 1	- 1	1	10. 28	1. 24	2. 47	21. 28	83
6	1	- 1	1	24. 72	1. 24	2. 47	49. 64	283
7	- 1	1	1	10. 28	3. 26	2. 47	20. 16	92
8	1	1	1	24. 72	3. 26	2. 47	38. 95	276
9	- 1. 732	0	0	5. 00	2. 25	1. 75	18. 74	89
10	1. 732	0	0	30. 00	2. 25	1. 75	52. 87	429
11	0	- 1. 732	0	17. 50	0. 50	1. 75	50. 86	135
12	0	1. 732	0	17. 50	4. 00	1. 75	44. 25	176
13	0	0	- 1. 732	17. 50	2. 25	0. 50	48. 26	365
14	0	0	1. 732	17. 50	2. 25	3. 00	18. 97	70
15	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	27. 42	163
16	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	28. 83	157
17	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	26. 35	153
18	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	25. 76	155
19	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	27. 82	165
20	0	0	0	17. 50	2. 25	1. 75	24. 61	163

表 3 处方优选各因素的相关系数

Effect	$X_1$	$X_1^2$	$X_2$	$X_2^2$	$X_3$	$X_3^2$	$X_1 X_2$	$X_1 X_3$	$X_2 X_3$
$R(K_E)$	0. 75	0. 73	- 0. 21	- 0. 14	- 0. 46	- 0. 47	0. 31	0. 19	- 0. 44
$R(MS)$	0. 78	0. 80	0. 03	- 0. 01	- 0. 54	- 0. 52	0. 53	0. 17	- 0. 33

结合上述效应面图, 确定  $X_1$  优化范围为 5% ~ 15%, 设定步长为 0. 5;  $X_3$  优化范围为 1. 2% ~ 2. 5%, 设定步长为 0. 05。寻求此取值范围内稳定性参数最小值, 并将确定的  $X_1$  与  $X_3$  用量带入平均粒径的二项式回归方程:  $Y_2 = 477. 14 - 13. 71X_1 + 0. 73X_1^2 - 266. 30X_3 + 46. 16X_3^2 + 0. 77X_1X_3$  使平均粒径满足在 100 ~ 200 nm。结果当  $X_1$  用量为 9. 0%,  $X_3$  用量为 1. 51% 时, 具有较小的稳定性参数, 其值为 19. 92%, 平均粒径为 126. 48 nm。

**2.5 优化处方的验证** 按优化处方比例制备 3 批乳剂, 分别测定乳剂的稳定性参数和平均粒径。结果见表 4, 乳剂的平均稳定性参数为 18. 80%, 平均粒径为 141. 3 nm, 与理论预测值接近, 表明建立的回归方程预测性良好。优化处方为注射用油的用量为 9. 0%、大豆磷脂用量为 2. 2%、泊洛沙姆用量为

1. 51%, 加注射用水加至全量。按照优化后的处方制备乳剂的粒径分布见图 2。

表 4 处方验证结果 (n=3)

处方	稳定性参数 / %			粒径		
	$K_E$	平均值	RSD	$MS/nm$	平均值 / nm	RSD / %
1	19. 06			145		
2	18. 81	18. 80	1. 44	140	141. 3	2. 27
3	18. 52			139		

### 3 讨论

长春瑞滨静脉注射乳剂处方的优选如果采用均匀设计法设计本次试验, 6 水平 3 因素共需 6 次试验。因为试验次数过少而很难得到比较准确的结果。星点设计法作为一种因素水平优化法既较好地保证试验精度, 同时试验次数也增加不多。本试验

结果表明:采用星点设计法优选处方的理论值和预测值相近,说明所建立的数学模型的预测性较好<sup>[4]</sup>。

静脉注射乳剂的粒径太大容易阻塞毛细血管,为了安全起见,静脉注射乳剂的粒子的粒径应控制在 1  $\mu\text{m}$  左右,但是静脉注射乳剂的粒子的粒径越小,粒子的表面积越大,粒子相互碰撞的机会越大,制剂的物理稳定性会随之降低,试验表明:静脉注射乳剂的粒子的粒径在 100 ~200 nm 的范围内稳定性效果较好。

星点设计的试验安排中,试验 15 ~20 的各因素的水平相同,所以在结果处理过程中采用了试验 15 ~20 的结果平均值作为指标进行数据分析。

### [参考文献]

- [1] Yang Xiong, Dan Guo. Development of nobiliside A loaded liposomal formulation using response surface methodology [J]. Inter J Pharmaceutics, 2009: 197.
- [2] 祖元刚, 罗猛. 长春花生物碱成分及其药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 325.
- [3] 韩继洪. 抗癌药物 FT-207 脂肪乳剂物理性质的研究[J]. 沈阳药学院学报, 1991, 8(1): 14.
- [4] 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.

[责任编辑 仝燕]

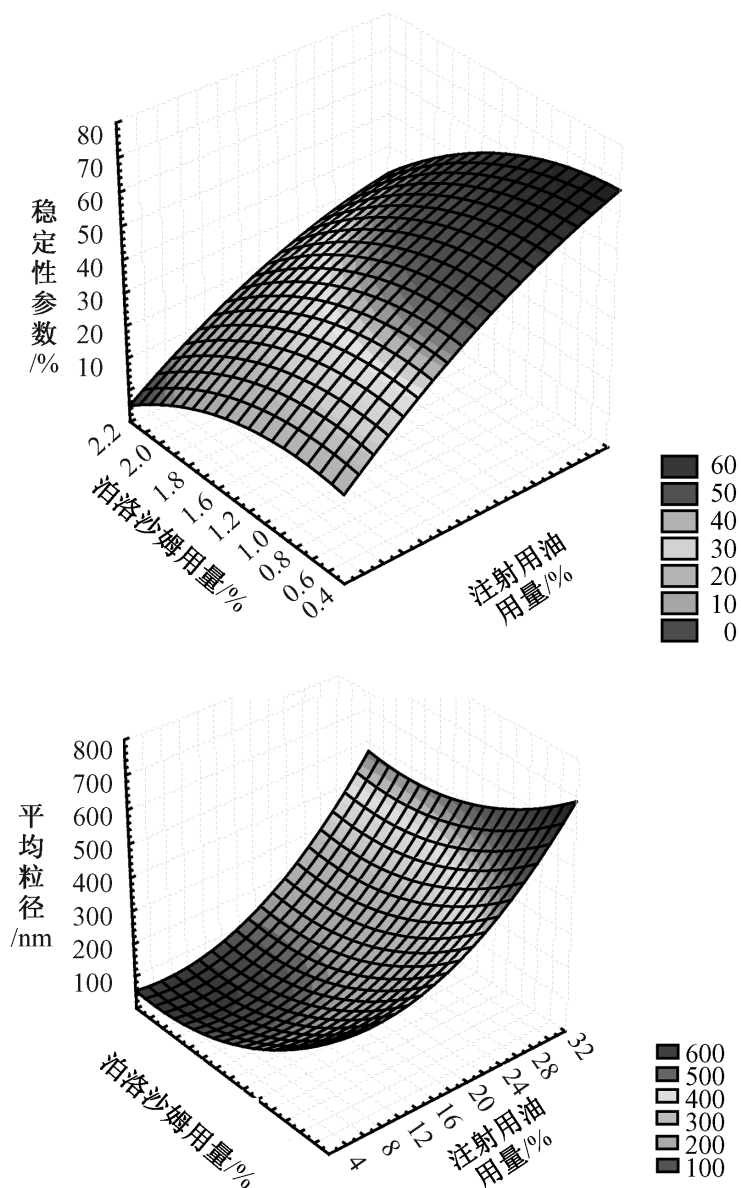


图 1  $X_1$  与  $X_3$  对  $Y_1$  和  $Y_2$  影响的效应面图

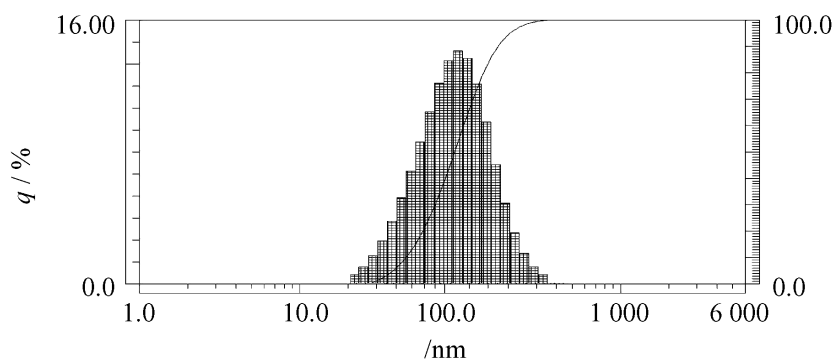


图 2 优化后处方制备乳剂的粒径分布