

文章编号：(2009)04-0242-09

中心复合设计-效应面法优化阿魏酸哌嗪缓释片处方

李颖, 王悦, 邹梅娟, 薛晓柏, 程刚

(沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要:目的 制备阿魏酸哌嗪缓释片。方法 以羟丙甲纤维素(HPMC)联合羧甲基纤维素钠(CMC-Na)为骨架材料制备阿魏酸哌嗪缓释片,并对影响药物释放的因素进行考察。在此基础上运用中心复合设计-效应面法(central composite design-response surface methodology, CCD-RSM)对方剂进行优化。结果 HPMC K15M及CMC-Na用量是影响药物释放的主要因素,当HPMC K15M与CMC-Na各占片质量分数的20.5%和18.6%时所得缓释片各时间点累计释放率接近合格标准,即25%(2 h)、60%(6 h)、90%(12 h)。结论 HPMC K15M与CMC-Na以一定比例联合使用可以抑制水溶性药物的前期突释,优化处方制备的阿魏酸哌嗪缓释片体外累积释放度符合要求,拟合方程预测性良好。

关键词 药剂学;缓释片;中心复合设计-效应面优化法;阿魏酸哌嗪;羟丙甲纤维素;羧甲基纤维素钠

中图分类号: R94 **文献标志码:** A

阿魏酸哌嗪(piperazine ferulate, PF)是由中药当归、川芎分离得到的阿魏酸经结构修饰后人工全合成制得^[1],因其具有能够显著增加冠状动脉和肾脏的血流量,抑制血小板聚集,改善微循环的作用,临床用于心脑血管疾病及各类伴有镜下血尿和高凝状态的肾小球疾病的治疗^[2]。临床常用的剂型有普通片剂、胶囊及分散片,因其半衰期短,口服普通片剂吸收血药峰时间为29 min,分布相半衰期($t_{1/2}$)为27 min,消除相半衰期($t_{1/2}$)为5.5 h,频繁给药导致血药浓度波动大,对疗效及用药安全带来一定隐患,缓释剂型能保持血药浓度的相对稳定,更好的发挥治疗作用,同时减少服药次数,增加患者的顺应性。目前无阿魏酸缓释片批准上市,但有一项专利授权^[3],该专利采用羟丙甲纤维素(hypromellose, HPMC)、乙基纤维素(ethylcellulose, EC)、聚丙烯酸树脂(eudragit)及聚羧乙烯(carbomer)为骨架材料或进行包衣,制备了阿魏酸哌嗪缓释片或缓释胶囊。针对市售阿魏酸哌嗪片半衰期短,给药频繁(200~400 mg/次,3次/d)的问题,本文作者将普通片剂每天的最小剂量:200 mg/次,3次/d,按照300 mg/次,2次/d的剂量,采用羟丙甲纤维素(HPMC)与羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na)联用作为骨架材料制备了规格为150 mg的阿魏酸哌嗪12 h缓释片,解决了水溶性药物阿魏酸哌嗪前期突释的问题,并对影响其释放的因素进行了考察,在此基础上运用中心复合设计-效应面法(central composite design-response surface methodology, CCD-RSM)优化处方。

中心复合设计-效应面法是近年来应用较多的一种优化方法。传统的正交和均匀设计法精度不够,建立的数学模型预测性较差。实验设计采用中心复合设计法,能考察各因素间的相互作用,进行较少次数的实验便可获得大量的信息。效应面法是将效应值对影响因素作曲面图,从而直接读取最佳因素区域的方法,具有直观、精密的优点。二者联用集数学和统计学方法于一体使结果更加科学可靠,在国外已经很成熟^[4]。

1 仪器与试药

TDP-120型单冲压片机(东港市制药设备厂),DGN-A型多功能药物测定仪(上海铭翔药检仪器有限公司),ZRD-6B型药物溶出仪(上海黄海药检仪器厂),UV-2000紫外-可见分光光度计

收稿日期:2009-03-26

作者简介:李颖(1983-),女(汉族),内蒙古赤峰人,硕士研究生, Tel.024-23986326, E-mail lynn0476@sohu.com;程刚(1963-),男(汉族),辽宁康平人,教授,博士,博士生导师,主要从事药剂学研究, Tel.024-23986326, E-mail chenggang63@hotmail.com。

(美国 Unico 仪器有限公司), 标准分样筛(河北安平县分样筛总厂), BS-110 型精密分析天平(德国 Sartorius 仪器公司), SUNG-150 型电子天平(厦门恒协电子衡器有限公司)。

阿魏酸哌嗪(湖南千金湘江药业有限公司惠赠, 批号 080514), 羟丙甲纤维素(HPMC K4M、K15M、K100M, 上海卡乐康公司), 羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 300-800mPa·s, 国药集团化学试剂有限公司), 乳糖(FlowLac100, 德国 Meggle 集团), 超细滑石粉(广西龙胜华美滑石开发有限公司)。

2 方法与结果

2.1 阿魏酸哌嗪缓释片的制备

基本处方：

w[阿魏酸哌嗪(PF)]	50%
w[羟丙甲纤维素(HPMC)]	20%
w[羧甲基纤维素钠(CMC-Na)]	20%
w[滑石粉]	3%
w[乳糖]	7%

原、辅料分别过 180 μm 筛, 按处方比例等量递加混匀粉末直接压片使片质量为 300 mg。

2.2 释放度测定方法

取供试品, 照《中华人民共和国药典》2005 年版附录 XD 释放度测定法第一法, 采用《中华人民共和国药典》2005 年版附录 XC 溶出度测定法第二法的装置, 将自制缓释片装入沉降篮中以水 900 mL 为释放介质, 转速 50 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度 37 $^{\circ}\text{C}$, 定时取样 5 mL, 过 0.8 μm 微孔滤膜, 同时补加等温释放介质 5 mL, 续滤液稀释后在 310 nm 波长处测定吸光度, 代入当天标准曲线求算浓度并计算累积释放度。

为评价自制缓释片的体外释放行为, 拟定 2 h 累积释放度为 20%~30%、6 h 累积释放度为 50%~70%、12 h 累积释放度不低于 90%为合格标准。

2.3 药物释放的影响因素

2.3.1 HPMC 规格对药物释放的影响

HPMC 规格的不同代表了黏度的不同, HPMC K 系列为常用的骨架材料。保持药物含量为片质量的 50%, 分别用 HPMC K100M、K15M、K4M 单独使用作为骨架材料使其占片质量的 20%, 加入片质量 3% 的滑石粉作为润滑剂, 并以乳糖调节片质量为 300 mg 制备缓释片, 测定释放度, 考察 HPMC 规格对药物释放的影响, 结果见图 1。

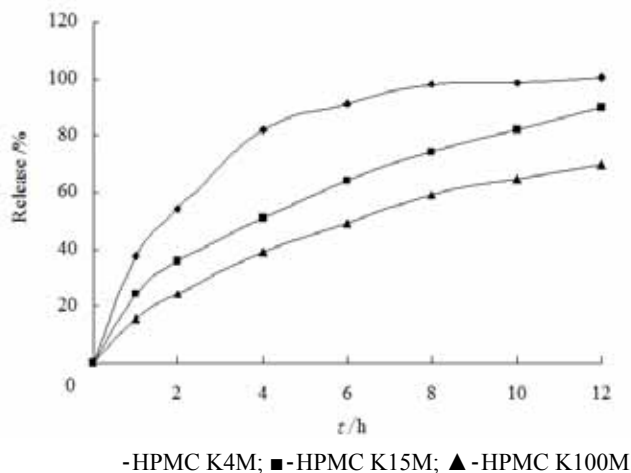


Fig1. Effects of the viscosity of HPMC on the *in vitro* drug release

由图 1 可知, HPMC 规格不同对药物的释放影响显著, 黏度过大时药物后期释放不完全, 黏度小时药物前期有突释现象, 所以选择 HPMC K15M 为基本骨架材料。

2.3.2 HPMC K15M 用量对药物释放的影响

使 HPMC K15M 分别占片质量的 10%、20%、30%、40%, 以乳糖为填充剂调节片质量至 300 mg 制备缓释片, 测定释放度, 结果见图 2。

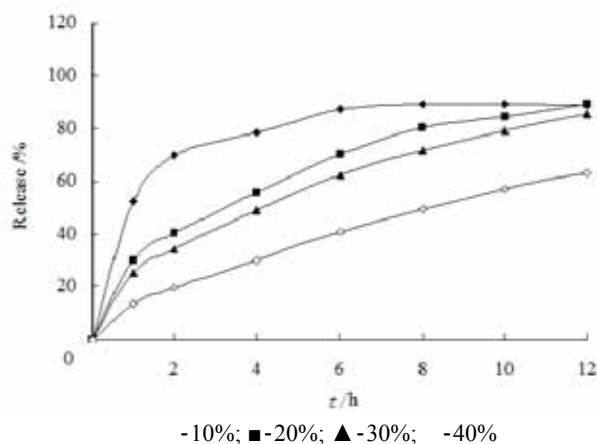


Fig.2 Effects of the content of HPMC on the *in vitro* drug release

由图 2 可知, 当 HPMC K15M 用量少于片质量的 10% 时存在明显的突释现象, 随 HPMC K15M 用量增加, 药物释放速度减慢, 当用量增大到片质量的 40% 时后期药物释放不完全。当 HPMC K15M 占片质量的 20-30% 时对药物释放具有缓释作用, 本文作者选择质量分数为 20% 的 HPMC K15M 作为基本骨架材料。

2.3.3 CMC-Na 用量对药物释放的影响

单独使用 HPMC K15M 作为骨架材料制备的缓释片存在前期突释的问题。文献报道, 加入 CMC-Na 可以起到调节释放的作用^[5]。以质量分数为 20% 的 HPMC K15M 为基本骨架材料, 向处方中加入 CMC-Na 使其占片质量的 0%、5%、10%、20%、30%, 以乳糖调节片质量至 300 mg 制备缓释片, 测定释放度, 结果见图 3。

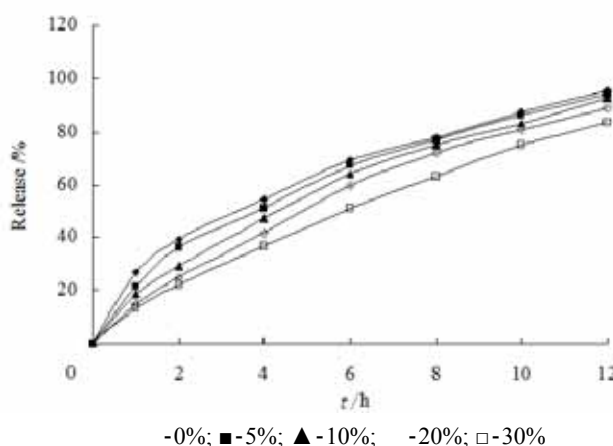


Fig.3 Effects of the content of CMC-Na on the *in vitro* drug release

由图 3 可知, CMC-Na 用量对药物的释放有明显影响, 随 CMC-Na 用量增加, 药物释放减慢, 且前期突释现象得到抑制。

2.3.4 填充剂种类对药物释放的影响

保持处方中药物、HPMC K15M、CMC-Na、滑石粉含量分别为片质量的 50%、20%、20%、3%，分别用微晶纤维素（microcrystalline cellulose, MCC）、乳糖（lactose）、可压性淀粉（pregelatinized starch）作为填充剂使片质量为 300 mg 制备缓释片，测定释放度结果见图 4。

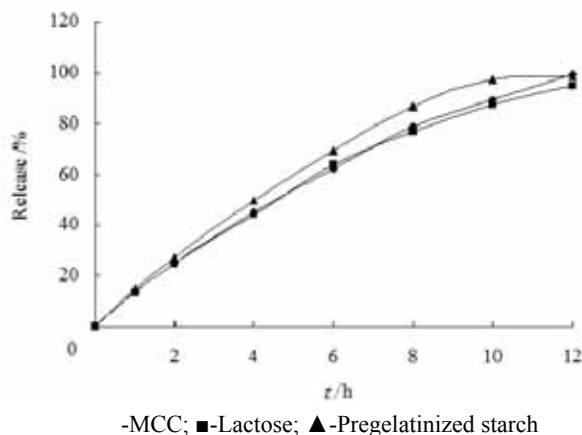


Fig.4 Effects of the type of fillers on the *in vitro* drug release

由图 4 可知，可压性淀粉、微晶纤维素与乳糖均具有促进后期释放的作用，可压性淀粉能显著增加后期释放，这可能与淀粉的吸水膨胀特性有关。微晶纤维素与乳糖作填充剂制得的缓释片药物释放更加平稳，且由于乳糖良好的流动性，压制的缓释片表面光滑美观，本文选择乳糖为填充剂。

2.3.5 润滑剂种类及用量对药物释放的影响

保持处方中药物、HPMC K15M、CMC-Na 含量分别为片质量的 50%、20%、20%，考察不同用量的滑石粉（talc）及微粉硅胶（aerosil）对药物释放的影响，其中滑石粉用量分别为片质量的 0%、1%、3%，微粉硅胶用量分别为片质量的 0%、0.1%、0.3%，乳糖调节片质量至 300 mg 制备缓释片，测定释放度结果如图 5。

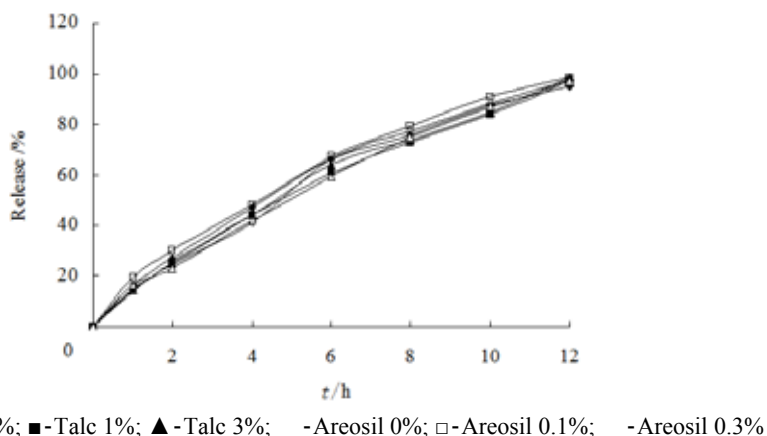


Fig.5 Effects of the content and type of the lubricants on the *in vitro* drug release

由图 5 可知，润滑剂种类及用量对药物释放无影响，但用质量分数为 3% 的滑石粉作为润滑剂时压片阻力较小，不发生黏冲现象，制得的缓释片表面光滑，本文选择质量分数为 3% 的滑石粉为润滑剂。

2.3.6 压片压力对药物释放的影响

对同一处方采用不同压力制备缓释片，测定缓释片的硬度，控制硬度分别为 5.0~6.0、7.0~8.0 $\text{kg}\cdot\text{mm}^{-2}$ ，测定制得缓释片的释放度结果见图 6。

由图 6 可知，在测定范围内压片压力对药物的释放影响较小，当压力为 7.0~8.0 $\text{kg}\cdot\text{mm}^{-2}$ 时缓释

片的释放更平稳, 本文作者选择压片压力为 $7.0 \sim 8.0 \text{ kg}\cdot\text{mm}^{-2}$ 。

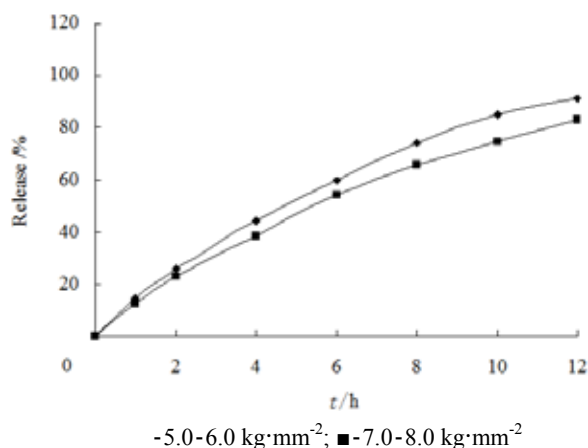


Fig.6 Effects of the compression pressure on the *in vitro* drug release

2.4 中心复合设计-效应面法优化缓释片的处方

2.4.1 中心复合设计-效应面法

在单因素考察的基础上, 采用中心复合设计-效应面法对影响药物释放的主要因素, 即 HPMC K15M 用量 (X_1) 和 CMC-Na 用量 (X_2) 进行 2 因素 5 水平优化, 共 13 种处方组合, 各处方中保持药物、滑石粉含量分别为片质量的 50% 和 3%, 并以乳糖调节片质量至 300 mg 制备缓释片, 照“释放度测定方法”测定各处方在 2、6、12 h 的累积释放度。中心复合设计的因素和水平见表 1, 试验安排见表 2。

Table 1 Factors and levels of the central composite design

Level	w(HPMC K15M) /%(X_1)	w(CMC-Na) /%(X_2)
-1.414	6.9	0.9
-1	10.0	5.0
0	17.5	15.0
1	25.0	25.0
1.414	28.1	29.1

Table 2 The design points of the central composite design

Run	w (code of HPMC K15M) /%(X_1)	w (code of CMC-Na) /%(X_2)
1	-1	-1
2	-1	1
3	1	-1
4	1	1
5	-1.414	0
6	1.414	0
7	0	-1.414
8	0	1.414
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0

为控制前、中、后期的释放度, 本文作者采用综合评分法, 选取各处方在 2、6、12 h 共 3 个点的累积释放度作为评价指标, 释放度标准分别为 2 h: 20%~30%、6 h: 50%~70%、12 h: 不低于 90%, 以对应点释放度的实测值与标准值的差值的和为效应值进行综合评分, 各时间点的权重因子

为 1。综合评分值 (Y) 计算公式为：

$$Y = P_2 - 25 + P_6 - 60 + P_{12} - 90。$$

式中, P_2 、 P_6 、 P_{12} 分别为 2、6、12 h 的累积释放度 (%), 综合评分值小者为优, 最小时最佳。试验结果见表 3。

Table 3 Results of the test

Run	w(HPMC K15M)/%(X_1)/	w(CMC-Na)/%(X_2)/	Y
1	10.0	5.0	58.7
2	10.0	25.0	22.7
3	25.0	5.0	29.7
4	25.0	25.0	15.2
5	6.9	15.0	58.0
6	28.1	15.0	13.3
7	17.5	0.9	45.0
8	17.5	29.1	20.2
9	17.5	15.0	7.8
10	17.5	15.0	8.2
11	17.5	15.0	7.0
12	17.5	15.0	7.9
13	17.5	15.0	8.0

2.4.2 模型拟合

将表 3 中的数据用 SAS 软件进行处理, 以综合评分值为指标对 HPMC K15M 用量及 CMC-Na 用量的各水平进行多元线性回归, 拟合方程为：

$$Y = 170.61 - 11.01X_1 - 5.86X_2 + 0.24X_1^2 + 0.07X_1X_2 + 0.12X_2^2 \quad r = 0.9735。$$

统计分析结果见表 4。

Table 4 The statistics results

Response	Independent variable		Interaction item	Quadratic item	
	X_1	X_2	X_1X_2	X_1^2	X_2^2
Coefficient	-12.46	-10.70	5.38	13.30	11.78
P	0.000 1	0.000 2	0.043 0	0.000 1	0.000 2
	(< 0.01)	(< 0.01)	(< 0.05)	(< 0.01)	(< 0.01)

P -Probability level

由表 4 可知, X_1 和 X_2 的系数均为负数, 说明 HPMC K15M 用量 (X_1) 和 CMC-Na 用量 (X_2) 对释放度的影响是同向的, 且当二者用量增加时综合评分值减小, 即各点的实测值与标准值相差最小, 其中 HPMC K15M 用量 (X_1) 的影响大于 CMC-Na 用量 (X_2) 的影响。方差分析结果显示, 因素 X_1 (HPMC K15M 用量) 及因素 X_2 (CMC-Na 用量) 的 $P < 0.01$, 说明这两个因素对释放度有极显著影响; 二者交互项 X_1X_2 的 $P < 0.05$, 说明两个因素的交互变化对释放度有显著影响。

运用 STAT 软件绘制 HPMC K15M 用量和 CMC-Na 用量对理论释放度综合评分值所作的预测效应面图和等高线图, 见图 7、图 8。

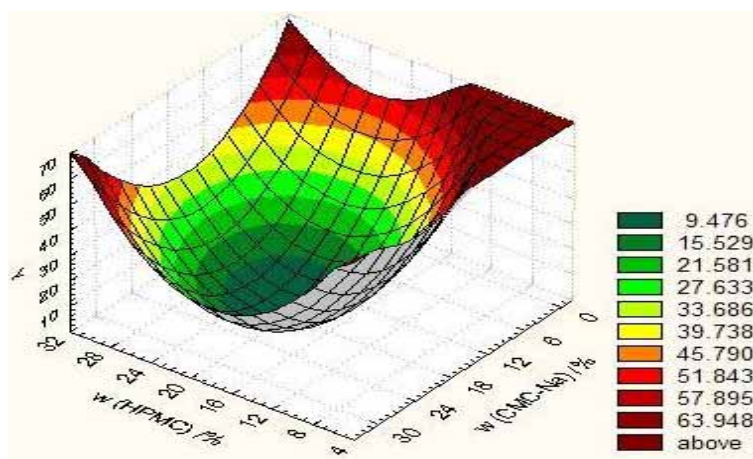


Fig.7 The response surface plot

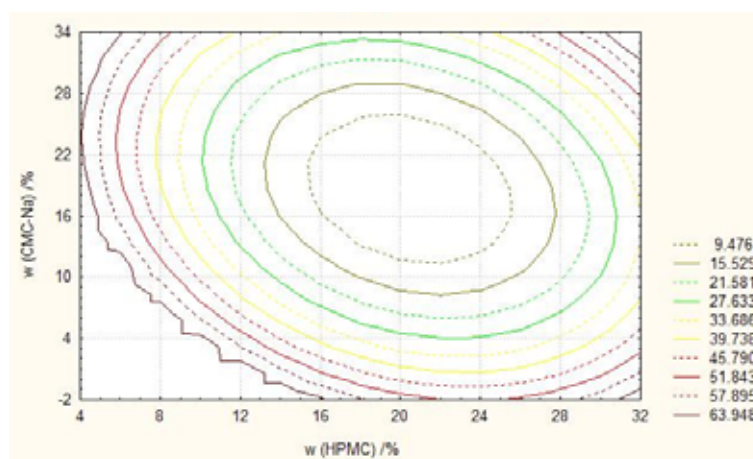


Fig.8 The response contour plot

2.4.3 预测性验证

根据拟合方程预测,当 HPMC K15M 用量 (X_1) 质量分数为 20.5%、CMC-Na 用量 (X_2) 质量分数为 18.6%时,综合评分值有最小值 3.37。

对拟合方程进行预测性验证,在最优区域内选取一点进行实测。根据拟合方程,当 HPMC K15M 理论用量质量分数为 20%, CMC-Na 理论用量质量分数为 20%时综合评分值 Y 为 3.59,按该处方制备 3 批缓释片测定释放度结果见表 5。

Table 5 The statistics results

Lot	Cumulative release /%			Test value		Predictive value Y	SD/%
	2 h	6 h	12 h	Y	\bar{Y}		
1	25.2	61.9	92.0	4.03			
2	24.3	61.0	92.2	3.91	3.94	3.59	8.90
3	25.2	60.7	93.0	3.88			

结果表明,按照中心复合设计法优化的处方制备的缓释片在 2、6、12 h 的释放度符合标准,该拟合方程预测性良好。由图 8 可知,优选处方区域为 HPMC K15M 质量分数:15.4%~25.5%、CMC-Na 质量分数:11.4%~25.8%,当 HPMC K15M 和 CMC-Na 分别占片质量的 20.5%、18.6%时为最佳处方。

3 讨论

HPMC 是制备骨架型缓释片的常用材料，而水溶性药物与水难溶性药物制备缓释片释放机理不同，所以辅料性质对其释放的影响也不同。阿魏酸哌嗪的溶解度较大，其释放以在溶胀层内的扩散为主。为抑制药物突释需使凝胶屏障层快速形成，在足以形成凝胶层的情况下，骨架片逐渐水化形成凝胶层，HPMC 黏度增加使形成的凝胶层黏度增加，药物在其中的扩散系数减小，释放减慢^[6]。而药物扩散的速度和程度取决于溶胀层中扩散孔道的数量和弯曲程度^[7]。本文研究显示，随 HPMC 用量的增加，药物的释放减慢，这可能是由于凝胶骨架片遇水迅速水化溶胀成近似球体，HPMC 用量增加则形成的孔道长度增加，水分的渗入和药物的渗出减慢，导致药物的释放减慢^[8]。本文研究显示，当 HPMC 增大到一定量之后才能对药物的释放起到缓释作用，但是用量过大会造成后期药物释放不完全，为改善药物的释放，向处方中加入一定量的 CMC-Na。文献报道 CMC-Na 水化速度大，溶胀性强，与 HPMC 合用可使阻滞释放的凝胶层迅速形成，同时 CMC-Na 溶蚀性强，使扩散前沿和溶蚀前沿同步向片心移动，从而使药物释放完全^[5]。预实验结果显示，CMC-Na 加入到一定量之后才能起到抑制突释的作用，为确定最佳处方，本文采用中心复合设计-效应面法对这两个因素即 HPMC K15M 与 CMC-Na 用量进行了优化。

实验设计优化法应能正确描述指标与各考察因素的关系，即建立合理的数学模型。以往的模型拟合多为线性拟合，但多数情况下各因素对结果的影响并非线性的，选用多项式拟合才能尽量符合实际情况^[9]。中心复合设计-效应面法是通过合理的实验设计，用收集到的数据描绘效应对考察因素的效应面，从效应面上选择较佳的效应区，从而回推出自变量最佳取值范围的方法，所得的效应面多是曲面，即采用二项式或多项式进行数学模型的拟合，量化地给出各因素之间的相互影响。该方法与传统的正交、均匀设计法相比具有直观、合理、精密、预测性好的特点^[4,10]。在数据处理过程中需引入综合评分值将缓释片前、中、后期不同时间点的释放度数据进行整合成为一个效应指标，将数学与统计学结合起来，为处方优化提供可靠的基础，便于统计分析评价^[9,11]。

参考文献：

- [1] 唐刚华, 姜国辉, 王世真, 等. 阿魏酸盐的合成及药理作用研究[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(10): 698-700.
- [2] 孙珉丹, 邹洪斌, 纪林. 阿魏酸哌嗪治疗肾小球疾病的临床疗效[J]. 长春中医学院学报, 2000, 16(2): 26-27.
- [3] 靳明安, 唐胜英, 陆斌. 阿魏酸哌嗪缓释制剂: CN, 1273091[P]. 2000-11-15. <http://search.sipo.gov.cn/>.
- [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]. Foreign Medical Sciences Section on Pharmacy, 2000, 27(5): 292-298.
- [5] 林晓, 陈济民. 水溶性药物骨架片释放达零级的几种方法[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(3): 192-195.
- [6] 林晓, 陈济民. 辅料用量和性质对不同类型骨架片释放的影响[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(6): 442-445.
- [7] 郑峰, 史丽颖, 王辉. 羟丙基甲基纤维素凝胶骨架片体外释药的影响因素[J]. 宝鸡文理学院学报(自然科学版), 2002, 22(3): 197-199.
- [8] 董志超, 蒋雪涛. 羟丙基甲基纤维素在凝胶骨架中的含量与水溶性药物释放机制的关系[J]. 药学学报, 1996, 31(1): 43-47.
- [9] 吴伟, 崔光华, 陆斌. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 530-533.
- [10] 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): 554-754.
- [11] 刘国良, 文力奇, 郝秀华, 等. 中心复合设计法优化盐酸氨溴索缓释片处方[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(6): 321-323.

Formulation optimization of piperazine ferulate sustained-release tablets by central composite design-response surface methodology

LI Ying, Wang Yue, ZOU Mei-juan, Xue Xiao-bai, CHENG Gang

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To prepare piperazine ferulate (PF) sustained-release tablets. **Methods** The PF sustained-release tablets were prepared by employing the mixture of HPMC K15M and CMC-Na as the basic matrix materials. Factors that affected drug release were investigated. Thereafter, a central composite design-response surface methodology (CCD-RSM) was applied to optimize the formulation of the PF sustained-release tablets. **Results** The content of HPMC K15M and CMC-Na were the main factors that affected the drug release. The optimized formulation contained 20.5% of HPMC K15M and 18.6% of CMC-Na of the total weight and the accumulative release percentages at 2 h, 6 h, 12 h were consistent with the criterion, that is 25%、60%、90% ,respectively. **Conclusions** The initial burst release of water-soluble drugs from matrix sustained-release tablets could be restrained by using HPMC combined with a certain proportion of CMC-Na. The optimized PF sustained-release tablets have an ideal cumulative release profile and the fitting equation has a good predictability.

Key words: pharmaceuticals; sustained-release tablet; central composite design-response surface methodology; piperazine ferulate; HPMC; CMC-Na

(责任编辑 曹霞)