

星点设计-效应面法优化硝酸布康唑缓释乳膏的制备

吴小涛¹, 刘雷^{2*}, 霍立茹¹, 李纬¹, 李战¹(1.南京长澳医药科技有限公司, 南京 210038; 2.江苏大学药学院药剂学, 江苏 镇江 212013)

摘要: 目的 采用星点设计-效应面法对硝酸布康唑缓释乳膏的处方进行优化。方法 以液体石蜡用量(X_1)、乳化剂用量(X_2)、助乳化剂占乳化剂比例(X_3)为考察因素, 以 24, 48, 72 h 的累积释放度为考察指标, 分别用多元线性模型、二次多项式模型描述考察指标和 3 个考察因素之间的数学关系, 根据模型绘制效应面图和等高线图, 通过重叠等高线图确定优化处方, 最后进行验证。结果 二次多项式模型比多元线性模型置信度高; 根据二次多项式模型, 发现 3 个考察因素和 3 个考察指标之间存在可信的定量关系; 优化处方各设定指标的预测值和实际值非常接近。结论 星点设计-效应面法可用于硝酸布康唑缓释乳膏的处方优化, 所建模型具有良好的预测能力。

关键词: 硝酸布康唑; 缓释乳膏; 星点设计; 效应面法

中图分类号: R944.21

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)13-1337-04

Optimized Preparation of Butoconazole Nitrate Sustained-release Cream by Central Composite Design and Response Surface Method

WU Xiaotao¹, LIU Lei^{2*}, HUO Liru¹, LI Wei¹, LI Zhan¹(1.Nanjing C&O Pharmaceutical Technology Limited, Nanjing 210038, China; 2.Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the formulation of butoconazole nitrate sustained-release cream by the central composite design-response surface method (CCD-RSM). **METHODS** In the formulation design using CCD-RSM, independent

作者简介: 吴小涛, 男, 硕士, 工程师 Tel: (025)86912162
13645173991 E-mail: dugurenlei123@163.com

E-mail: wuxiaotao2006@126.com *通信作者: 刘雷, 男, 硕士 Tel:

variables were the amounts of liquid paraffin and emulsifier, the ratio of auxiliary emulsifier in the emulsifiers. The percentages of *in vitro* cumulative releases at 24, 48, 72 h were dependent variables. Multilinear and quadratic models were used to estimate the relationship between the dependent and the independent variables, and to delineate RSM and overlay contour plots in order to select the optimal formulations. **RESULTS** Quadratic model showed better prediction capability than multilinear model. The quantitative relationships between three factors and three evaluation indexes were characterized. Moreover, *in vitro* release test of one selected optimal formulation indicated that were high approximation between the observed and estimated values. **CONCLUSION** The CCD-RSM can be applied to optimize the formulation of butoconazole nitrate sustained-release cream and the established model is of satisfactory predictive value.

KEY WORDS: butoconazole nitrate; sustained-release cream; central composite design; response surface methodology

星点设计-效应面法(central composite design and response surface method, CCD-RSM)是近年来常用的实验优化方法,具有简便、试验次数少、可采用三维效应面进行数据处理与拟合、预测性好等优点^[1]。硝酸布康唑(butoconazole nitrate)是治疗女性外阴阴道念珠菌病的特效药物,其缓释乳膏是在普通乳膏的基础上采用了缓释系统,3 d 给药 1 次,其用量和用药次数明显降低,药物释放缓慢、均匀,对局部黏膜刺激小、不污染衣物,克服了传统阴道给药系统(如凝胶剂、片剂等)中药物泄漏等缺点,且制备方法简单,适于工业化生产^[2]。本试验采用 CCD-RSM 对硝酸布康唑缓释乳膏的处方进行优化。

1 仪器与试药

Waters 2695-2489 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); YB-P6 智能透皮试验仪(天津市鑫洲科技有限公司); JJ-1 型增力电动搅拌机(江苏金坛市医疗仪器厂); HHS-2 型电热恒温水浴锅(上海天平仪器厂)。硝酸布康唑(南京长澳制药有限公司,批号: 20091226, 纯度: 98.6%); 液体石蜡(中国石化集团杭州炼油厂, 药用级); 单异硬脂酸甘油酯(法国迪博公司, 实验级); PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯(法国迪博公司, 实验级); 其余试剂均为分析纯。小鼠(南京长澳制药有限公司药理室, 清洁 II 级)。小鼠实验动物合格证号: SYXK(苏)2007-000。

2 方法

2.1 硝酸布康唑缓释乳膏的制备

处方中乳化剂为 PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯和单异硬脂酸甘油酯,其中单异硬脂酸甘油酯为助乳化剂。采用油水分相法制备硝酸布康唑的缓释乳膏。称取处方量的纯化水、山梨醇、依地酸二钠、丙二醇和硝酸布康唑作为水相,另取处方量液体石蜡、PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯、单异硬脂酸甘油酯、尼泊金乙酯为油相,将二者分别置于适宜容器中,加热熔化或溶解,并保持温度 80 ℃

左右,将水相缓缓加入油相中,以转速为 1 000 r·min⁻¹ 搅拌 30 min 后,取出置室温中,将转速调为 500 r·min⁻¹ 搅拌至冷却,即得。

2.2 体外累积释放度的测定

2.2.1 离体鼠皮的制备 将体重为 20~25 g 的健康小鼠断颈处死,剥离皮肤,用硫化钠脱毛,去除皮下脂肪,用水洗净,再用生理盐水浸泡 30 min,备用。

2.2.2 接收液的配置 取醋酸钠 18 g,加冰醋酸 9.8 mL,再加水稀释至 1 000 mL,即得。

2.2.3 色谱条件^[3] 色谱柱: Agilent-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 醋酸钾缓冲液(取醋酸钾 1.6 g,加水溶解并稀释成 1 000 mL,用冰醋酸调节 pH 值至 4.3)-甲醇(27:73); 流速: 1.1 mL·min⁻¹; 检测波长: 225 nm; 理论板数按硝酸布康唑峰计算不低于 5 000; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。

2.2.4 标准曲线的制备 精密称取硝酸布康唑原料药 10.0 mg 置于 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容,再精密量取此贮备液 0.25, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 25.0 mL 至 50 mL 量瓶,用甲醇定容,摇匀,得浓度分别为 0.5, 2.0, 10.0, 20.0, 50.0 μg·mL⁻¹ 的标准系列溶液,按“2.2.3”项下色谱条件,分别进样,记录色谱图,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标作图,以最小二乘法的硝酸布康唑的线性回归方程: $Y=56\ 776.0X-2\ 337.0(r=0.999\ 8)$ 。

2.2.5 体外释放度^[4] 采用体外智能透皮实验仪,将备用鼠皮固定在扩散池的供应室和扩散池之间,使角质面向供应室,精密称取 0.1 g 样品置于供给室中,涂匀,并于皮肤密切接触。接收室内注入 17 mL 接收液,使与真皮层密切接触,恒温于(37±0.2)℃,100 r·min⁻¹ 恒速磁力搅拌,分别于 24, 48, 72 h 取样 1.0 mL 同时补充等体积接收液。样品用 0.22 μm 的混合纤维素膜过滤后,取 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定其含量。并按如

下公式计算累积释放量 Q 。

$$Q = C_{n校} V_r / A; C_{n校} = C_{n测} + V_s / V_r C_p$$

其中： $C_{n校}$ 为校正后的接受液中药物浓度； $C_{n测}$ 为第 n 次取样实际测得的接受液中药物浓度； C_p 为该取样点前各点的测定浓度之和； V_s 为取样体积； V_r 为接受室中接受液体积； A 为渗透面积； n 为取样序数。

2.3 实验设计

在预实验的基础上，选择对硝酸布康唑缓释乳膏释放度影响较显著的 3 个因素作为考察对象，即液体石蜡用量(X_1)、乳化剂用量(X_2)、助乳化剂占乳化剂比例(X_3)。根据预实验结果及在最高或最低水平时制备硝酸布康唑缓释乳膏的可行性，综合选择各因素的水平，见表 1，以硝酸布康唑缓释乳膏在 24, 48, 72 h 的累积释放度(分别用 Q_{24h} 、 Q_{48h} 、 Q_{72h} 表示)为考察指标，进行试验，对试验结果进行拟合分析，结果见表 2。

表 1 因素水平表

因素	水平				
	-1.414(星点)	-1(析因)	0(中心点)	1(析因)	1.414(星点)
$X_1/\%$	1.51	4.00	10.00	16.00	18.49
$X_2/\%$	1.02	2.70	6.75	10.80	12.48
$X_3/\%$	21.72	30.00	50.00	70.00	78.28

表 2 试验设计与结果

试验次数	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$Q_{24h}/\%$	$Q_{48h}/\%$	$Q_{72h}/\%$
1	16	10.8	30	17	29	54
2	18.49	6.75	50	12	25	46
3	16	2.7	70	45	84	100
4	1.51	6.75	50	74	87	99
5	10	6.75	21.72	23	54	89
6	10	6.75	50	32	58	96
7	10	6.75	78.28	35	62	98
8	10	6.75	50	29	64	95
9	4	2.7	30	76	89	100
10	10	6.75	50	31	61	98
11	10	1.02	50	63	84	95
12	4	10.8	70	43	74	98
13	10	12.48	50	21	52	93

2.4 模型拟合

应用 Design-Expert 8.0.3 软件，以评价指标(因变量)分别对各因素(自变量)进行多元线性回归和

二项式方程拟合。对二项式方程中的各项式系数进行 t 检验，删除 $P>0.2$ 的项，以达到精简模型的目的。

所得多元线性回归方程如下： $Q_{24h}=38.54-18.09X_1-15.05X_2+1.50X_3$ ($r=0.8484$, $0.05<P<0.01$)； $Q_{48h}=63.31-17.21X_1-14.41X_2+6.41X_3$ ($r=0.8570$, $P<0.01$)； $Q_{72h}=89.31-14.87X_1-6.35X_2+7.09X_3$ ($r=0.6572$, $P<0.01$)。

所得二项式方程如下： $Q_{24h}=29.82-21.92X_1-14.85X_2+4.24X_3+5.49X_1X_2-7.67X_2X_3+7.22X_1^2+6.72X_2^2$ ($r=0.9957$, $P<0.0001$)； $Q_{48h}=59.00-21.92X_1-11.31X_2+2.83X_3-9.42X_2X_3+6.00X_2^2$ ($r=0.9764$, $P<0.001$)； $Q_{72h}=95.61-18.74X_1-7.82X_1X_2+11.29X_1X_3-7.74X_2X_3-10.10X_1^2$ ($r=0.9846$, $P<0.001$)。

从相关系数可见，3 个指标均采用二项式方程拟合较好，二项式方程拟合的置信度明显优于多元线性方程。3 个因素对各项指标均有较大影响。

2.5 效应面优化与估测

根据二项式拟合方程，应用 Design-Expert 8.0.3 软件分别绘制各指标与影响因素的三维效应面，见图 1~3。

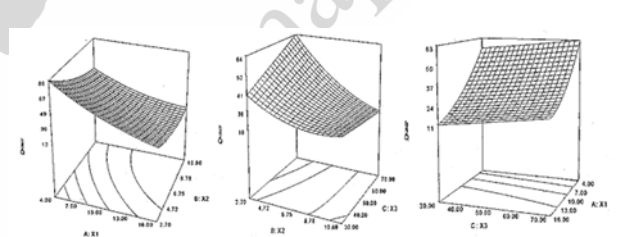


图 1 Q_{24h} 与 X_1 、 X_2 、 X_3 的三维效应面和二维等高图

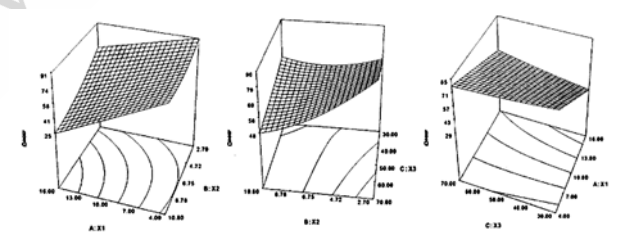


图 2 Q_{48h} 与 X_1 、 X_2 、 X_3 的三维效应面和二维等高图

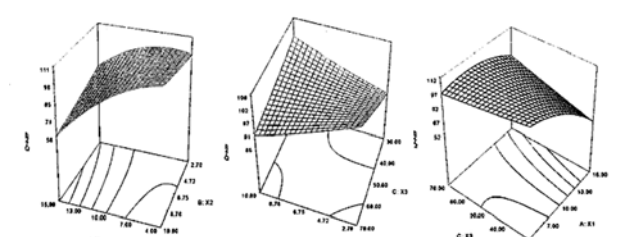


图 3 Q_{72h} 与 X_1 、 X_2 、 X_3 的三维效应面和二维等高图

从图 1~3 可见,在一定范围内,随 X_1 、 X_2 的增大, $Q_{24\text{ h}}$ 、 $Q_{48\text{ h}}$ 、 $Q_{72\text{ h}}$ 均呈下降趋势;随着 X_3 的增大, $Q_{24\text{ h}}$ 、 $Q_{48\text{ h}}$ 呈上升趋势,而 $Q_{72\text{ h}}$ 则显示平缓下降的趋势。本研究预期目标为研制 72 h 给药一次的硝酸布康唑缓释乳膏,要求制剂释药缓慢、均匀。如假定缓释乳膏的目标值为 $Q_{24\text{ h}}$ 为 20%~40%, $Q_{48\text{ h}}$ 为 50%~70%, $Q_{72\text{ h}}$ 为 90%~100%。通过所绘制的效应面图,得到同时满足上述条件的区域,二项式模型得到各因素的优化区域为:液体石蜡用量 8.0%~11.0%;乳化剂用量 6.0%~10.0%;助乳化剂用量 50%~65%。

2.6 优化处方验证

根据上述综合分析结果,得最佳处方参数为 $X_1=8.5\%$, $X_2=8.6\%$, $X_3=59.8\%$ 。照此处方制备样品,按“2.2”项下方法测定样品的体外累积释放度,各指标预测值与实际值结果,见表 3。

表 3 预测值与实际值比较

指标	预测值	实际值	偏差 ¹⁾ /%
$Q_{24\text{ h}}/\%$	30	31	-3.34
$Q_{48\text{ h}}/\%$	60	61	-1.67
$Q_{72\text{ h}}/\%$	98	97	1.02

注: ¹⁾偏差=(预测值-实际值)/预测值×100%

由表 3 可见,偏差的绝对值均<5%,说明本实验得到的拟合方程可较好地描述因素与指标的关系。

3 讨论

硝酸布康唑缓释乳膏为“高内相乳剂”,内相体积占总体积的 70%~90%,药物被均匀分散在内相中。如此高的内相比对于一般乳膏来说是不稳定的,但是本处方中采用法国迪博公司的超级油包水乳化剂——PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯和单硬脂酸甘油酯。PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯具有极佳的热稳定性,使用量为 1%时即可包裹 90%以上的内相。但是 PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯使用量越大,所得乳膏的黏性越大,和助乳化剂单硬脂酸甘油酯连用可较好地解决这一问题。

硝酸布康唑缓释乳膏释放的快慢取决于液体石蜡(油相)的用量和乳滴表面膜的牢固程度。液体石蜡和乳化剂用量越高,油相所占比例越高,形成的乳滴表面膜越牢固,则药物释放越缓慢。

PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯是一种 A-B-A 型嵌段共聚物,其分子量约为 5 000,这一分子量保证了其向乳液的水油界面的快速扩散。另外,结构中两个固定的大体积的长链在乳液的界面形成了一个特殊的不易转动的立体空间结构,由于这种聚合型表面活性剂不可逆转地吸附在水油界面,形成牢固的乳化膜,因此可得到一个十分稳定的油包水型乳膏。另外,实践证明,使用混合乳化剂的乳状液比使用单一乳化剂的更稳定,这是由于使用适当的混合乳化剂有可能形成更致密的“界面复合膜”,甚至形成带电膜,从而增加乳滴表面膜的牢固程度,使得药物的释放速度减慢。

本试验在预实验的基础上,采用 80 ℃乳化 30 min,搅拌速度 1 000 r·min⁻¹,待乳化完全后,取出,调节转速为 500 r·min⁻¹,防止由于转速过快时乳滴破裂,同时冷却使乳滴的乳化膜固化,从而形成稳定的乳化膜。

4 结论

本试验通过星点设计-效应面法设计安排实验并对结果进行拟合分析,以减少试验次数,建立了液体石蜡用量、乳化剂用量、助乳化剂占乳化剂比例和硝酸布康唑缓释乳膏在体外 24, 48, 72 h 的累积释放度之间的多元线性模型和二次多项式模型,所得的二项式方程拟合的置信度明显优于多元线性方程,所以描绘其效应面图和等高线图,所得优化处方的体外累积释放度预测值与实际值的偏差绝对值<5%,说明星点设计-效应面法可用于硝酸布康唑缓释乳膏的处方优化,所建模型具有良好的预测能力。

参考文献

- [1] 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, 2007, 24(6): 455-457.
- [2] MILAN R, HENZL. Properties of sustained-release single-dose formulations for vulvovaginal candidiasis [J]. Am J Drug Deliv, 2005, 3(4): 227-237.
- [3] 黄剑英, 年涵, 黄丽, 等. HPLC 法测定硝酸布康唑阴道乳膏中硝酸布康唑的含量[J]. 中国临床药学杂志, 2007, 16(3): 185-186.
- [4] 刘文静, 魏玉辉, 宋玉琴. 尼古丁缓释贴剂的制备及体外透皮释药评价[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(8): 755-758.

收稿日期: 2010-10-08