

• 制剂与质量 •

中心复合设计法优化秋水仙碱双层片处方的研究

何元田^{1,2}, 刘 文², 刘 姹¹, 杨大坚^{1*}, 周 伟¹

(1. 深圳市中药药学及分子药理学研究重点实验室, 广东 深圳 518057; 2 贵阳医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 制备秋水仙碱双层片, 考察片芯组分对体外释药行为的影响, 对片芯处方进行优化。方法 采用相似因子法评价释药曲线的相似性, 经单因素考察确定影响体外释药行为的主要因素, 利用中心复合设计优化片芯处方。结果 片芯缓释层中 HPMC k15、PEO 700 对秋水仙碱双层片的体外释药行为有显著影响。依据最优处方制备的控释片在 1~12 h 内呈良好的缓释释放特征, 12 h 累积释药率达到 90% 以上。结论 本方法适用于秋水仙碱双层片的处方优选。

关键词:秋水仙碱; 双层片; 相似因子; 中心复合设计

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)05-0710-04

Formulation optimization of colchicines double layer tablet by central composite design

HE Yuan tian^{1,2}, LIU Wen², LIU Cha¹, YANG Da jian¹, ZHOU Wei¹

(1. State Key Laboratory of Chinese Medicine and Molecular Pharmacology & Institute of Modern Chinese Medicine, Hong Kong Polytechnic University, Shenzhen 518057, China; 2 Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

Abstract: Objective To investigate the optimal formulation and drug release profile of colchicine double layer tablets. **Methods** The key influencing factors and optimal formulation were studied based on the cumulative drug release rate at different time points and homogenous factor (f_2) and optimization of the formulation by central composite design. **Results** The drug release profile *in vitro* was influenced by amount of HPMC k15 and PEO700. The optimal *in vitro* drug release profile presented extended release character significantly within 1–12 h, and drug released at 12 h reached more than 90%. **Conclusion** The method is suitable to optimize the formulation of colchicine double layer tablets.

Key words: colchicine; double layer tablet; homogenous factor; central composite design

秋水仙碱(colchicine)于 1763 年应用于治疗痛风, 迄今为止仍是较难替代的临床治疗急性痛风发作期特效药^[1], 其突出优点是秋水仙碱能够迅速有效地平息痛风急性发作时导致的疼痛和关节肿胀, 但对血液中尿酸并无影响。近年临床将其用于家族地中海热、Bechet 氏病、肝硬化、复发性心包炎等疾病也取得了良好疗效^[2]。秋水仙碱在大鼠各肠段均有不同程度吸收^[3], 但秋水仙碱口服治疗指数范围很窄(血药浓度为 0.5~3 ng/mL)^[4], 不良反应发生率高, 因此本实验将其研制成速/缓双层片, 预期能更好地发挥疗效的同时减小血药浓度波动、改善患者用药顺应性, 同时也能为机体提供平衡持久有效

的血药浓度, 减少给药次数。

1 材料与仪器

1.1 材料: 秋水仙碱(云南版纳药业有限责任公司, 批号 060110, 质量分数 98.3%), HPMC (HPMC-Methocel k15M, 美国 Dow 公司), PEO700 (POLYOX WSR303, 美国 Dow 公司), 乳糖(WYNDALE SUPER-TAB, 新西兰乳糖有限公司), 微晶纤维素(Aricel PH102, 上海卡乐康公司), 包衣材料(欧巴代 II85G, 上海卡乐康公司)。其他辅料均为药用级, 乙醇等为分析纯。

1.2 仪器: TDP 单冲压片机(上海天祥健台制药机械有限公司), BY200 型糖衣机(江苏泰州第三制药

①收稿日期: 2009-09-11

基金项目: 深圳市科技计划项目(20090609180044B)

作者简介: 何元田(1976—), 男, 湖南永州人, 硕士研究生, 主要从事药品生产管理与新药研发工作。

Tel: (0755)26737179 E-mail: heyuantian@163.com

* 通讯作者 杨大坚 Tel: (0755)26737136 E-mail: beyangdj@inpolyu.edu.hk

机械), ZRS-8G 型智能溶出仪(天津大学无线电厂), Agilent 高效液相色谱仪(G1322A Degasser, G1311A Quatpump, G1313A ALS, G1316A TCC, G1315B DAD, 美国 Agilent 公司)。

2 方法与结果

2.1 秋水仙碱双层片的制备: 秋水仙碱原料药过 80 目筛, 各辅料过 80 目筛。将 20% 原料药与处方量的淀粉、碳酸钙、羧甲基淀粉钠混合均匀, 用 75% 乙醇制软材, 过 20 目筛制粒, 干燥、整粒后加适量硬脂酸镁, 得速释颗粒。另将 80% 秋水仙碱原料与缓释辅料混合均匀, 用 95% 乙醇制粒, 于 50℃ 烘干, 20 目筛整粒, 加入硬脂酸镁混合均匀, 得缓释颗粒。将缓释颗粒用 7 mm 浅弧型冲预压, 再倒入速释颗粒压制双层片, 压力为 70~90 N, 所得双层片包胃溶型防潮薄膜衣。

2.2 释放度及检测方法的建立

2.2.1 体外释放度的测定: 取本品, 照《中国药典》2005 年版二部附录 XD 第三法测定释放度, 以去离子水 200 mL 为释放介质, 转速为 100 r/min。

2.2.2 色谱条件: 流动相为甲醇-水(47.5:52.5); 检测波长为 245 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30℃。保留时间约为 9.6 min, 分离度 > 1.5。

2.2.3 标准曲线的制备: 精密称取秋水仙碱对照品 10~12 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 用水超声溶解, 加水至刻度, 得贮备液。分别取贮备液 1、2、4、8、20 mL, 至 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀, 测定。以质量浓度对峰面积回归, 得回归方程: $Y = 87.7000X - 3.8800$ ($r = 1.000$)。结果表明秋水仙碱在 1~20 μg/mL 线性关系良好。

2.2.4 回收率试验: 称取对照品与辅料按处方比例混合, 80%、100%、120% 各 3 份。进样分析, 测得值除以加入值。其平均回收率为 98.89%, RSD 为 0.18%。

2.3 秋水仙碱双层片速释层处方筛选: 速释层以片芯的外观、硬度以及片子的崩解度为考察指标。要求片芯表面光洁, 硬度在 60 N 以上, 崩解时限在 1~3 min。在此分别对淀粉、可压性淀粉、糊精、碳酸钙、硫酸钙、微晶纤维素、乳糖、交联 PVP、羧甲基淀粉钠等辅料及其搭配比例进行考察, 结果以 49% 淀粉、49% 碳酸钙、2% 羧甲基淀粉钠用 75% 乙醇制粒最为合适, 辅料经济易得, 所制颗粒均匀, 硬度适宜, 片芯表面光洁, 硬度较好, 崩解在 1.5 min 左右完成。

2.4 缓释层处方因素对释放度的影响: 经预实验, 确定以 HPMCK15 为骨架材料, PEO700 为阻滞剂,

微晶纤维素与乳糖为填充剂。以此作为基本处方进行单因素考察。

考察方法是分别测定各因素中不同水平相应处方片剂在 1、2、4、6、8、10、12 h 的累积释放度, 每两个水平相比较, 计算 f_2 (相似因子值), 旨在确定具有较大影响、需进一步优化的因素。 f_2 计算方法见如下公式。

$$f_2 = 50 \lg \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n w_i (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

n 指溶出的时间点, R_i 和 T_i 分别为参比和供试制剂在 t 时间点的累积溶出度, w_i 为权重系数(本实验中为 1)。

2.4.1 不同骨架材料对释放的影响: 阻滞材料与填充剂不变, 分别以 HPMCK15、CMC-Na、微晶纤维素(EC)、海藻酸钠为骨架材料, 考察各种骨架材料对体外释放的影响。结果 f_2 分别为 49.69、43.70、32.99、33.6 ($n=7$)。由图 1 看出, 除 HPMCK15 外, 其他骨架材料释放过快, 不能满足 12 h 释放要求。

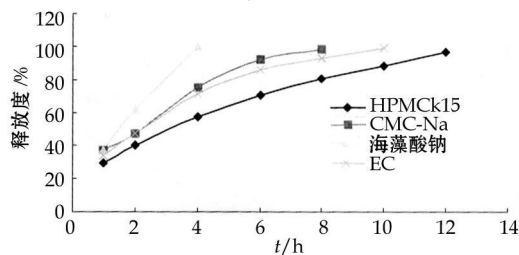


图 1 不同骨架材料对药物释放的影响

Fig 1 Effect of various skeleton materials on drug release

2.4.2 骨架材料用量对释放的影响: 固定处方中阻滞材料与工艺, 变化 HPMCK15 用量, 以填充剂调节处方总量, 以此考察不同用量的 HPMCK15 对释放的影响。结果见图 2, f_2 依次为 50.27、53.82、37.60。表明不同用量的骨架材料对药物释放有较大影响。

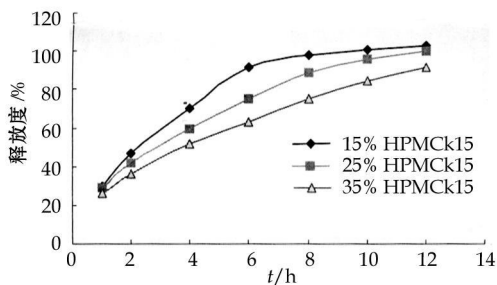


图 2 不同 HPMCK15 用量对药物释放的影响

Fig 2 Effect of various HPMCK15 amount on drug release

2.4.3 阻滞材料用量对释放的影响: 固定各处方主药的量, 固定骨架材料用量, 以乳糖和微晶纤维素为填充剂, 以此考察不同用量的 PEO700 对释放的影响。结果见图 3, f_2 依次为 59.3、53.19、45.70。表

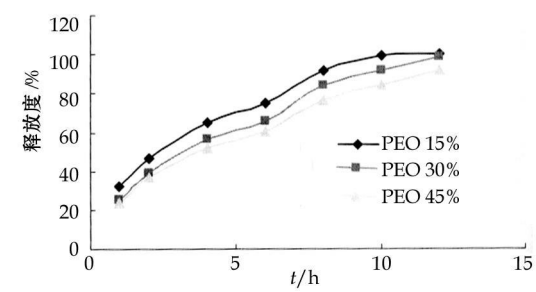


图 3 不同 PEO700 用量对药物释放的影响
Fig 3 Effect of various PEO700 amount on drug release

明不同用量的 PEO 700 对药物释放有一定影响。
2 4 4 填充剂对释放的影响: 固定各处方主药用量, 固定骨架材料及阻滞剂用量。分别以微晶纤维素 30%, 微晶纤维素 15% + 乳糖 15%, 乳糖 30% 进行搭配, 结果见图 4, f_2 依次为 73 15、80 78、66 58。表明乳糖与微晶纤维素不同比例搭配对释放有一点影响, 微晶纤维素比乳糖释放稍快, 但影响非常小。

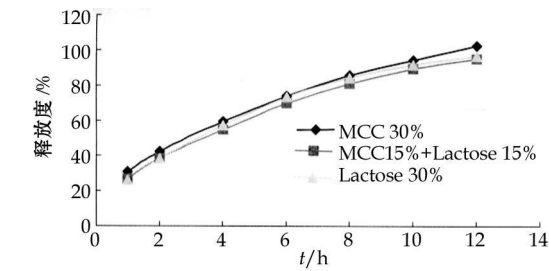


图 4 不同填充剂对药物释放的影响
Fig 4 Effect of various bulking agents on drug release

2 4 5 不同黏合剂对释放的影响: 处方不变, 分别以 4% EC 乙醇液, 95% 乙醇液, 4% PVPK30 乙醇液为黏合剂进行制粒。结果见图 5。其 f_2 分别为 78 52、80 38、76 76。可以看出, 用以上 3 种不同黏合剂对双层片体外释放影响很小。3 条曲线也极为相似。

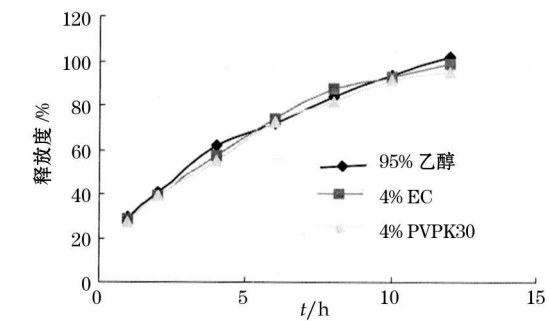


图 5 不同黏合剂对药物释放的影响
Fig 5 Effect of various adhesive on drug release

2 4 6 缓速比例对释放的影响: 固定工艺, 分别制成主药速、缓释层比例为 2: 8 与 3: 7 的双层片, 进行释药曲线考察, 结果见图 6。根据相关文献与动

物体内预试, 确定以速、缓层 2: 8 各时间点释放较为合理。

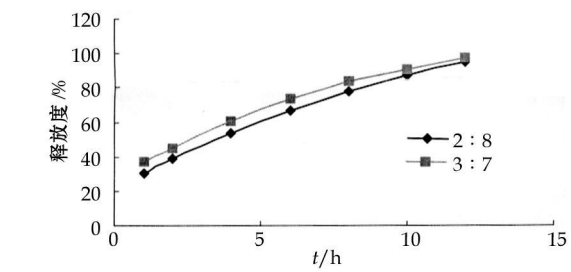


图 6 不同缓、速比例对药物释放的影响
Fig 6 Effect of various delayed and controlled ratios on drug release

2 5 中心复合设计法优化缓释层处方
2 5 1 优化设计与处理: 单因素考察结果表明, 在试验考察的范围内, 片芯中 HPMCK15、PEO700 对秋水仙碱双层片的体外释药行为均有较大影响。将以上两个关键因素分别设置 5 个水平以中心复合设计法对处方进行优化, 共有 13 个组合, 每个组合是一个处方, 按照制备工艺制备双层片, 以中心复合设计排列进行 13 个试验。分别测定 2、6、10 h 有效成分的量。中心复合设计安排及结果见表 1 和 2。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因 素	
	X1(HPMC 用量) / %	X2(PEO700 用量) / %
- a	10	5
- 1	18	10
0	35	25
1	45	42
a	50	50

表 2 试验设计与结果
Table 2 Design and results of test

试验号	X1	X2	Y / %
1	1	1	11.8
2	0	- a	32.5
3	- 1	1	23.8
4	1	- 1	18.9
5	0	0	9.5
6	0	0	8.5
7	- a	0	49.5
8	a	0	14.0
9	0	0	8.0
10	0	a	7.0
11	0	0	7.5
12	- 1	- 1	37.4
13	0	0	9.5

2 5 2 优化评价方法: 缓释制剂的释放方法评价有多种, 本实验参照药典, 结合本药的临床特点及本剂型的特点(含 20% 速释部分) 采用综合评分法评分,

以 2、6、10 h 的累积释放量作为评价指标, 累计释放度标准分别是 35% ~ 50%, 60% ~ 75%, 75% ~ 95%。计算公式为 $Y = |P_2 - 40| + |P_6 - 65| + |P_{10} - 85|$; P_2 、 P_6 、 P_{10} 分别为 2、6、10 h 的累积释放度。综合评分小者为优, 最小时最佳, 理想值为 0。

2.6 结果: 利用 SPSS 软件对实验数据进行处理、拟合得到二元线性回归方程 $y = 50.952 - 0.834x_1 - 0.428x_2$, $R = 0.814$ ($P < 0.05$)。非线性二项式方程 $y = 109.0735 - 3.8387x_1 - 1.710x_2 + 0.0533x_1x_2 + 0.0487x_1^2 + 0.0208x_2^2$, $R = 0.9481$ ($P < 0.05$)。根据上述方程, 可以清楚看出因素 x_1 对整个处方的影响大于因素 x_2 。为了比较直观看出优化效果, 本实验采用 origin 软件绘出了极性等高图, 见图 7。

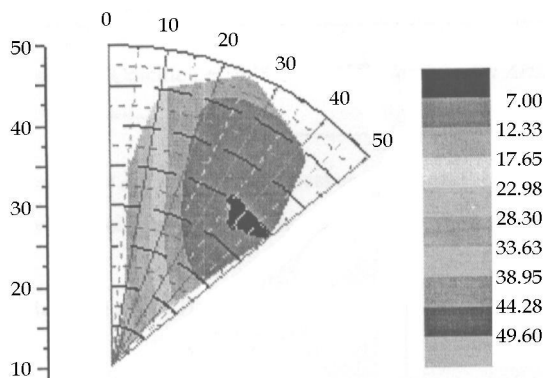


图 7 X_1 、 X_2 对 Y 的极性等高图 ($R: x_1, C: x_2$)

Fig 7 Polar contours graph of X_1 and X_2 to Y

从图 7 很容易看出, 图中黑色部分为 Y (综合评分值) 最小区域, X_1 (HPM Ck15) 的取值范围约在 33% ~ 37%, 而 X_2 (PEO700) 的最优取值范围约在 36% ~ 39%。在此确定其中心值可以得到最优处方, 即 HPM Ck15 为 35%, PEO700 为 45%。

以此优化处方制备 3 批双层缓释片, 缓释片的释放度结果见表 3。

表 3 最优处方实测值与预测值

Table 3 Measured values and predicted values of optimal formulation

批次	释放度 / %			实验值		预测值	偏差
	2 h	6 h	10 h	Y	Y	Y	
1	39.8	66.1	86.2	2.5			
2	40.3	65.8	86.6	2.7	3.3	2.502	0.798
3	39.2	66.6	87.3	4.7			

中心复合设计优化处方的体外释放度研究结果表明, 3 批双层片在 2、6、10 h 的释放度均符合释放标准。综合评分值仅存在很小偏差。

3 讨论

秋水仙碱微溶于水 (37 °C 时在水中溶解度约为 15.4 mg/mL, 在 pH 值为 6.8 缓冲溶液中溶解度约为 13.4 mg/mL), 但由于口服剂量极小 (每次 0.5 mg), 易达到漏槽条件。因此, 本研究着重于解决速释层崩解与释放速度及缓释层各时间点释放度, 释放曲线及 12 h 累积释放量等问题, 制备秋水仙碱双层片。

在优化方面, 国内广泛使用的实验设计方法有正交设计与均匀设计法, 虽然这两种方法次数较少, 但精度不够。因此, 笔者采用中心复合设计法优化, 经多元回归得出模型方程, 并画出极性等高图, 获得了一个优化处方, 该处方的药物释放能很好地符合释放标准, 证明本实验设计与模型功能有较强的预测力。

参考文献:

- [1] Ber Chetrit E, Levy N. Colchicine: 1998 Update [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 1998, 28(1): 48-49
- [2] Cerquaglia C, Diaco M, Nucera G, et al. Pharmacological and clinical basis of treatment of familial mediterranean fever (FMF) with colchicine or analogues: an update [J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, 4: 117-124
- [3] 王文苹, 冯耀龙, 宋浩亮, 等. 秋水仙碱大鼠在体肠吸收特性研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(5): 737-740
- [4] Niel E, Scherrmann J M. Colchicine today [J]. *Joint Bone Spine*, 2006, 73: 672-678