

星点设计-效应面法优化广金钱草总黄酮固体分散体微孔渗透泵控释片处方

赵俊霞, 孙彩霞, 苏建春, 史玉荣, 王浩, 尹蓉莉*

成都中医药大学, 四川 成都 611130

摘要: 目的 应用星点设计-效应面法优化广金钱草总黄酮(TFDS)固体分散体微孔渗透泵控释片处方。方法 以促渗剂用量、致孔剂用量、包衣增重为考察因素, 2、6、12 h TFDS 的累积释放度及线性相关系数为综合评价指标, 采用 Design-expert 软件对实验数据进行多元线性模型和二次多项式模型拟合, 得出最佳数学模型, 绘制效应图, 通过数值优化法得到最优处方并进行验证。结果 二次多项式模型优于多元线性模型, 为最终拟合模型; 最佳处方的各时间点累积释放度的实际值和预测值接近, 相对偏差绝对值小于 5%。结论 通过星点设计-效应面法建立的模型预测性良好, 可用于对 TFDS 固体分散体微孔渗透泵控释片处方的优化。

关键词: 广金钱草总黄酮; 固体分散体; 微孔渗透泵控释片; 星点设计-效应面法; 数值优化法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)21-3081-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.21.009

Optimization on formulation of microporosity osmotic pump controlled release tablet of solid dispersion for total flavonoids from *Desmodium styracifolium* by central composite design-response surface methodology

ZHAO Jun-xia, SUN Cai-xia, SU Jian-chun, SHI Yu-rong, WANG Hao, YIN Rong-li

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

Abstract: Objective To optimize the formulations of microporosity osmotic pump controlled release tablet of solid dispersion for total flavonoids from *Desmodium styracifolium* (TFDS) by central composite design-response surface methodology. **Methods** The independent variables comprised of the amount of lactose, pore-forming agent, and coating weight gain, and the dependent variables involved the cumulative release after 2, 6, and 12 h, and the linear correlation coefficient of cumulative release curve. Design-expert software was used to fit multivariate linear models and quadratic multinomial models for experimental data. Response surface was delineated according to best-fit mathematic models and the optimum formulation was selected by Numerical Optimization. **Results** The correlation coefficients of quadratic multinomial models were better than those of multivariate linear models. There was close agreement between the observed and predicted values for the cumulative release, and bias were all less than 5%. **Conclusion** The model established by Design-expert Software is better to predict and could be used to optimize the formulations of microporosity osmotic pump controlled release tablets of solid dispersion for TFDS.

Key words: solid dispersion for total flavonoids from *Desmodium styracifolium*; microporosity osmotic pump controlled release tablet; central composite design-response surface methodology; Numerical Optimization

广金钱草 *Desmodii Styracifolii Herba* 为豆科植物广金钱草 *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. 的干燥地上部分, 具有清热利湿、通淋排石之功效, 广泛用于热淋、砂淋、石淋、小便涩痛、尿路结石等, 为中药排石方中的核心药物。

广金钱草总黄酮(total flavonoids of *Desmodium styracifolium*, TFDS) 为广金钱草提取物的主要活

性组分^[1], 具有预防草酸钙结石形成及复发、促进输尿管蠕动和增加尿量、保护肾功能、抗炎、镇痛及增加冠脉血流量的作用^[2-3], 目前已有广金钱草中成制剂上市, 但其有效成分溶解度小而影响吸收, 使大多数 TFDS 普通制剂生物利用度低。

本实验在前期利用固体分散技术改善难溶性 TFDS 的体外溶出行为的基础上^[4], 进而将其制备成

收稿日期: 2014-05-23

作者简介: 赵俊霞, 女, 硕士在读, 主要从事中药药剂新剂型研究。Tel: 18380127918 E-mail: 528769712@qq.com

*通信作者 尹蓉莉, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药剂新剂型研究。Tel: 13689056666 E-mail: yinronglili@163.com

微孔渗透泵控释片,以期减少服用次数,提高其生物利用度,达到作用持久、增加患者顺应性的目的,同时为难溶性中药有效组分渗透泵控释给药系统的研究提供一定的参考依据。

星点设计(central composite designs, CCD)是近年来国内外常用的实验设计方法,该方法具有可采用非线性数学模型拟合、简便、实验精度高等特点^[5],并广泛用于优化处方或制剂工艺^[6-7]。本实验采用 CCD 结合效应面分析法优化 TFDS 微孔渗透泵控释片的处方。

1 材料与仪器

UV—1102 型紫外-可见分光光度计,上海天美科学仪器有限公司;ZRS—8G 智能溶出试验仪,天津天大天发科技有限公司;TDP—I 型单冲压片机,上海中药机械厂;BY—300A 型小型包衣机,上海黄海药检仪器厂;BP211D 型电子分析天平、BF—200S—WEI 型电子天平,德国 Sartorius 公司;BUG25—12 型超声波清洗器,必能信超声上海有限公司;DGG—9240 电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司。

芦丁对照品,中国食品药品检定研究院,批号 100080-200707,质量分数 $\geq 98\%$;TFDS 提取物,以芦丁计 UV 法测得质量分数 $\geq 90\%$,南京泽朗医药科技有限公司;聚乙烯吡咯烷酮 K30(PVP-K30)、氯化钠、甘露醇、滑石粉(药用)、聚乙二醇 400(PEG 400)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、丙酮、无水乙醇等均购于成都市科龙化工试剂厂;二醋酸纤维素(CA),国药集团化学试剂有限公司;水为蒸馏水(脱气);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TFDS 固体分散体的制备^[4,8]

前期实验表明,以 PVP-K30 为载体,总黄酮-载体比例为 1:2,溶剂法制备的固体分散体以无定型态存在,90 min 内累积溶出率达 90%以上,为 TFDS 固体分散体最佳处方,具体工艺如下:精密称取 TFDS 提取物适量,用无水乙醇溶解,再称取 2 倍量的 PVP-K30 粉末,无水乙醇溶解,将提取物溶液与 PVP-K30 溶液进行混合,超声 5 min 使混合均匀,于旋转蒸发仪中 60℃恒温挥去乙醇,将所得产物置 60℃干燥箱中干燥 12 h,置装有变色硅胶的干燥器中平衡 48 h,粉碎,过 80 目筛备用。

2.2 TFDS 固体分散体微孔渗透泵片的制备工艺

2.2.1 片芯工艺 TFDS 固体分散体(药物-载体比

1:2)、氯化钠、甘露醇等辅料过 80 目筛,按处方量投料,加入适量的滑石粉,混合均匀后直接压片,制得含药量 60 mg/片,片质量 310 mg 的黄色单层片芯。

2.2.2 包衣液的配制 将处方量的 CA、PEG 400、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)以丙酮-无水乙醇(9:1)溶解使呈澄清溶液,控制 CA 质量分数为 2.0%,即得包衣液。

2.2.3 包衣工艺 将片芯置于包衣锅内,吹入热空气,待片芯温度为 35~40℃时,进行包衣。包衣锅转速为 40 r/min,包衣液体积流量为 8 mL/min,至包衣膜的厚度达到预定标准时为止,继续吹入热空气 20 min,然后将包衣片在 40℃烘箱中干燥 8 h,即得 TFDS 固体分散体微孔渗透泵片。

2.3 标准曲线的绘制^[9]

精密称取干燥至恒定质量的芦丁对照品 10.21 mg,置 50 mL 量瓶中,加 50%乙醇适量,超声使溶解,定容至刻度,摇匀即得对照品储备液。精密量取对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 50 mL 量瓶中,加入 0.1 mol/L AlCl_3 溶液 1.0 mL,醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.5) 1.0 mL,以 50%乙醇稀释至刻度,摇匀。以溶剂按同法显色作为空白,分光光度法在 272 nm 处测定吸光度(A)值,以质量浓度为横坐标(X),A 值为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程为 $Y=35.921X+0.0089$, $r=0.9999$,表明芦丁在 4.08~20.42 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.4 体外溶出度测定

按照《中国药典》2010 年版二部附录 X C 溶出度测定第二法(桨法),以 900 mL 蒸馏水(脱气)为溶出介质,温度 37℃,转速 50 r/min 进行测定。取 TFDS 微孔渗透泵控释片置于溶出杯中,并开始计时,分别于 2、4、6、8、10、12 h 时取样 5 mL(并及时补加 5 mL 等温蒸馏水),经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密吸取续滤液 2 mL 置 10 mL 量瓶中,按“2.3”项下方法操作,定容至刻度,在 272 nm 处测定 A 值,计算药物累积释放率,绘制溶出曲线。

2.5 CCD 实验方法

预试验表明,促渗剂(NaCl)用量、致孔剂(PEG 400)用量、包衣增重率是影响渗透泵控释片释放的主要因素。促渗剂用量为 X_1 (g),致孔剂用量为 X_2 (%),以致孔剂与 CA 的质量分数表示,包衣增重率为 X_3 (%),以片剂增重占片芯质量的百分比表示。选择 X_1 、 X_2 、 X_3 为考察的处方变量,以渗透

泵片于 2、6、12 h 的累积释放度 Y_2 、 Y_6 、 Y_{12} 及 0~12 h 累积释放度曲线的线性相关系数 (r) 为综合评价指标作 3 因素 5 水平 ($-\alpha$ 、 -1 、 0 、 1 、 α , $\alpha=1.682$) 的 CCD。因素水平及代码见表 1, 实验安排及结果见表 1。

2.6 模型拟合

根据实验结果, 应用 Design-experts 7.0.0 软件, 以 Y_2 、 Y_6 、 Y_{12} 、 r 为评价指标分别对各考察因素进行多元线性回归和二项式拟合, 建立数学模型, 并以方差分析检验模型的可靠性, 结果见表 2。

表 1 CCD 实验安排及结果
Table 1 Arrangement and results of CCD

试验号	X_1 / g	X_2 / %	X_3 / %	Y_2 / %	Y_6 / %	Y_{12} / %	r
1	48.24 (-1)	102.16 (-1)	2.61 (-1)	17.75	50.74	75.37	0.990 7
2	101.76 (1)	102.16	2.61	18.87	53.84	88.53	0.992 1
3	48.24	137.84	2.61	23.72	58.76	93.34	0.990 4
4	101.76	137.84	2.61	25.33	62.89	97.58	0.982 6
5	48.24	102.16	4.39 (1)	13.87	42.17	71.15	0.997 6
6	101.76	102.16	4.39	19.84	52.17	89.18	0.994 6
7	48.24	137.84 (1)	4.39	17.08	47.18	78.57	0.998 2
8	101.76	137.84	4.39	19.36	55.12	87.25	0.991 3
9	30.00 ($-\alpha$)	120.00 (0)	3.50 (0)	18.76	44.25	74.92	0.997 5
10	120.00 (α)	120.00	3.50	21.72	56.45	94.12	0.987 5
11	75.00 (0)	90.00 ($-\alpha$)	3.50	14.25	50.75	75.25	0.994 9
12	75.00	150.00 (α)	3.50	20.36	57.35	90.60	0.989 5
13	75.00	120.00	2.00 ($-\alpha$)	26.95	64.86	95.23	0.980 4
14	75.00	120.00	5.00 (α)	16.26	46.93	73.84	0.997 1
15	75.00	120.00	3.50	20.81	51.46	88.02	0.996 8
16	75.00	120.00	3.50	21.12	52.12	90.77	0.997 3
17	75.00	120.00	3.50	19.93	51.93	89.93	0.994 7
18	75.00	120.00	3.50	19.68	52.26	90.96	0.996 2
19	75.00	120.00	3.50	20.36	51.23	90.73	0.995 7
20	75.00	120.00	3.50	20.27	51.46	91.02	0.995 4

表 2 二项式拟合模型系数显著性检验
Table 2 Significance of coefficients in quadratic polynomial model equation

方差来源	Y_2		Y_6		Y_{12}		r	
	F	P	F	P	F	P	F	P
模型	21.53	<0.000 1	36.20	<0.000 1	33.68	<0.000 1	18.84	<0.000 1
X_1	19.32	0.001 3	86.76	<0.000 1	105.72	<0.000 1	30.32	0.000 3
X_2	49.08	<0.000 1	54.25	<0.000 1	62.62	<0.000 1	12.88	0.004 9
X_3	85.13	<0.000 1	148.35	<0.000 1	75.69	<0.000 1	80.57	<0.000 1
X_1X_2	1.33	0.276 3	0.08	0.789 4	10.32	0.009 3	8.10	0.017 4
X_1X_3	3.95	0.075 1	8.14	0.017 2	2.68	0.132 7	0.58	0.464 6
X_2X_3	12.19	0.005 8	5.89	0.035 7	14.33	0.003 6	2.38	0.154 0
X_1^2	0.11	0.748 7	3.30	0.099 3	10.35	0.009 2	5.04	0.048 7
X_2^2	18.83	0.001 5	3.71	0.083 2	18.33	0.001 6	6.21	0.031 9
X_3^2	2.36	0.155 7	14.37	0.003 5	10.28	0.009 4	28.48	0.000 3

二项式拟合方程: $Y_2 = -63.1397 + 0.0609 X_1 + 1.2809 X_2 + 0.7299 X_3 - 8.3805 \times 10^{-4} X_1 X_2 + 0.0289 X_1 X_3 - 0.0762 X_2 X_3 - 1.1904 \times 10^{-4} X_1^2 - 3.5290 \times 10^{-3} X_2^2 + 0.4995 X_3^2$ ($R^2 = 0.9509$); $Y_6 = 69.8706 + 0.09413 X_1 - 0.08857 X_2 - 12.1854 X_3 - 2.6975 \times 10^{-4} X_1 X_2 + 0.05609 X_1 X_3 - 0.07157 X_2 X_3 - 8.8712 \times 10^{-4} X_1^2 + 2.1151 \times 10^{-3} X_2^2 + 1.6660 X_3^2$ ($R^2 = 0.9702$); $Y_{12} = -179.1197 + 0.9695 X_1 + 2.9007 X_2 + 26.2801 X_3 - 4.7848 \times 10^{-3} X_1 X_2 + 0.0488 X_1 X_3 - 0.1692 X_2 X_3 - 2.3797 \times 10^{-3} X_1^2 - 7.1267 \times 10^{-3} X_2^2 - 2.1351 X_3^2$ ($R^2 = 0.9681$); $r = 0.8945 + 5.8680 \times 10^{-4} X_1 + 7.7914 \times 10^{-4} X_2 + 0.0192 X_3 - 3.4308 \times 10^{-6} X_1 X_2 - 1.8332 \times 10^{-5} X_1 X_3 + 5.5783 \times 10^{-5} X_2 X_3 - 1.3438 \times 10^{-6} X_1^2 - 3.3569 \times 10^{-6} X_2^2 - 2.8761 \times 10^{-3} X_3^2$ ($R^2 = 0.9443$).

多元线性回归拟合方程: $Y_2 = 13.6354 + 0.0437 X_1 + 0.1044 X_2 - 2.7501 X_3$ ($R^2 = 0.7536$); $Y_6 = 42.6889 + 0.1250 X_1 + 0.1483 X_2 - 4.9049 X_3$ ($R^2 = 0.8617$); $Y_{12} = 60.4817 + 0.2091 X_1 + 0.2394 X_2 - 5.3071 X_3$ ($R^2 = 0.7762$); $r = 0.9949 - 9.0630 \times 10^{-5} X_1 - 8.8590 \times 10^{-5} X_2 + 4.4321 \times 10^{-3} X_3$ ($R^2 = 0.6891$).

由以上拟合方程可知,多元线性回归方程的 R^2 明显低于二项式拟合方程的 R^2 。因此选用二项式拟合模型对 TFDS 微孔渗透泵控释片的处方进行预测和分析。

二项式拟合模型的方差分析结果表明,总模型方程显著 ($P < 0.0001$),表明二项式拟合方程的代表性较好,模型的拟合情况良好,能准确地预测实际情况。促渗剂用量、致孔剂用量及包衣增重率对药物释放均有显著性影响,从因素交互作用来看, $X_2 X_3$ 对 Y_2 的交互影响在统计学上具有显著性意义, $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 对 Y_6 交互影响在统计学上具有显著性意义, $X_1 X_2$ 、 $X_2 X_3$ 对 Y_{12} 的交互影响在统计学上具有显著性意义, $X_1 X_2$ 对 r 的交互影响在统计学上具有显著性意义。

2.7 效应面分析及预测

三维效应图只能表达 2 个因素和指标的函数关系,所以固定其中 1 个因素并设为中间值,对 Y_2 、 Y_6 、 Y_{12} 、 r 做三维效应图,见图 1。

从图 1 可见,三维效应图均为曲面,说明 X_1 、 X_2 及 X_3 与各评价指标之间存在非线性关系, Y_2 、 Y_6 、 Y_{12} 均随着 X_1 、 X_2 的增大而增大, X_3 的增大而减小;

r 则随着 X_1 、 X_2 的增大而减小, X_3 的增大而增大。从三维效应面图(图 1)上亦可看出各因素之间的交互作用^[10], $X_2 X_3$ 2 因素效应曲线较陡, $X_1 X_2$ 效应曲线次之, $X_1 X_3$ 的最平缓,其效应曲线较陡说明 2 因素的交互作用较强,较平缓则相反,因此, $X_1 X_2$ 与 $X_1 X_3$ 对 Y_2 的交互作用较显著;同理可知, $X_1 X_3$ 与 $X_2 X_3$ 对 Y_6 的交互作用较显著; $X_1 X_2$ 与 $X_2 X_3$ 对 Y_{12} 的交互作用较显著; $X_1 X_2$ 对 r 的交互作用较显著;表 3 中方程的交互项 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 的 P 值进一步说明了效应面分析的正确性。

根据微孔渗透泵控释制剂零级释放的特点,在设定 TFDS 微孔渗透泵控释片的 Y_2 的范围为 15%~20%, Y_6 范围为 50%~55%, Y_{12} 与 r 最大化的基础上利用 Numerical Optimization 进行预测分析,结果获得最优处方: NaCl 用量为 87.38 mg, PEG 400 用量占 CA 用量百分比为 115.74%,包衣增重率为 3.72%。考虑到实际操作的可性,将其处方条件在理论值的基础上修正为 NaCl 用量为 88 mg, PEG 400 用量占 CA 用量百分比为 116%,包衣增重率为 3.7%。

2.8 优化工艺验证

经综合评价确定最终处方为片芯: TFDS 固体分散体 180 mg,氯化钠 88 mg,甘露醇及少量滑石粉补充片质量;包衣: CA 用量为 2.0%, PEG 400 用量占 CA 用量的 116%, DBP 用量占 CA 用量的 30%;包衣增重率为 3.7%。按此条件制备 3 批渗透泵片,测定其体外溶出度,绘制累积溶出曲线,见图 2,并对预测结果进行验证。结果控释片的实验值 $Y_2 = (19.83 \pm 0.31)\%$, $Y_6 = (51.74 \pm 0.46)\%$, $Y_{12} = (90.67 \pm 0.80)\%$ ($n = 3$),预测值为 $Y_2 = 20.08\%$, $Y_6 = 51.98\%$, $Y_{12} = 90.78\%$,预测值与实际值之间偏差较小,说明二项式拟合模型进行 Numerical Optimization 所得到的优化处方符合设计目标,实验设计和数学模型具有可靠性和重现性。

3 讨论

本实验中 TFDS 的定量测定方法参考文献中方法^[11],将 TFDS 供试品溶液与芦丁对照品溶液按照文献方法显色后在 200~800 nm 进行扫描,发现均在 272 nm 附近有最大吸收峰,固选用芦丁为对照品,通过紫外分光光度法对广金钱草中总黄酮的量进行测定。

影响微孔渗透泵控释制剂释药的主要因素有药物溶解度、包衣膜内外的渗透压差、膜通透系数和

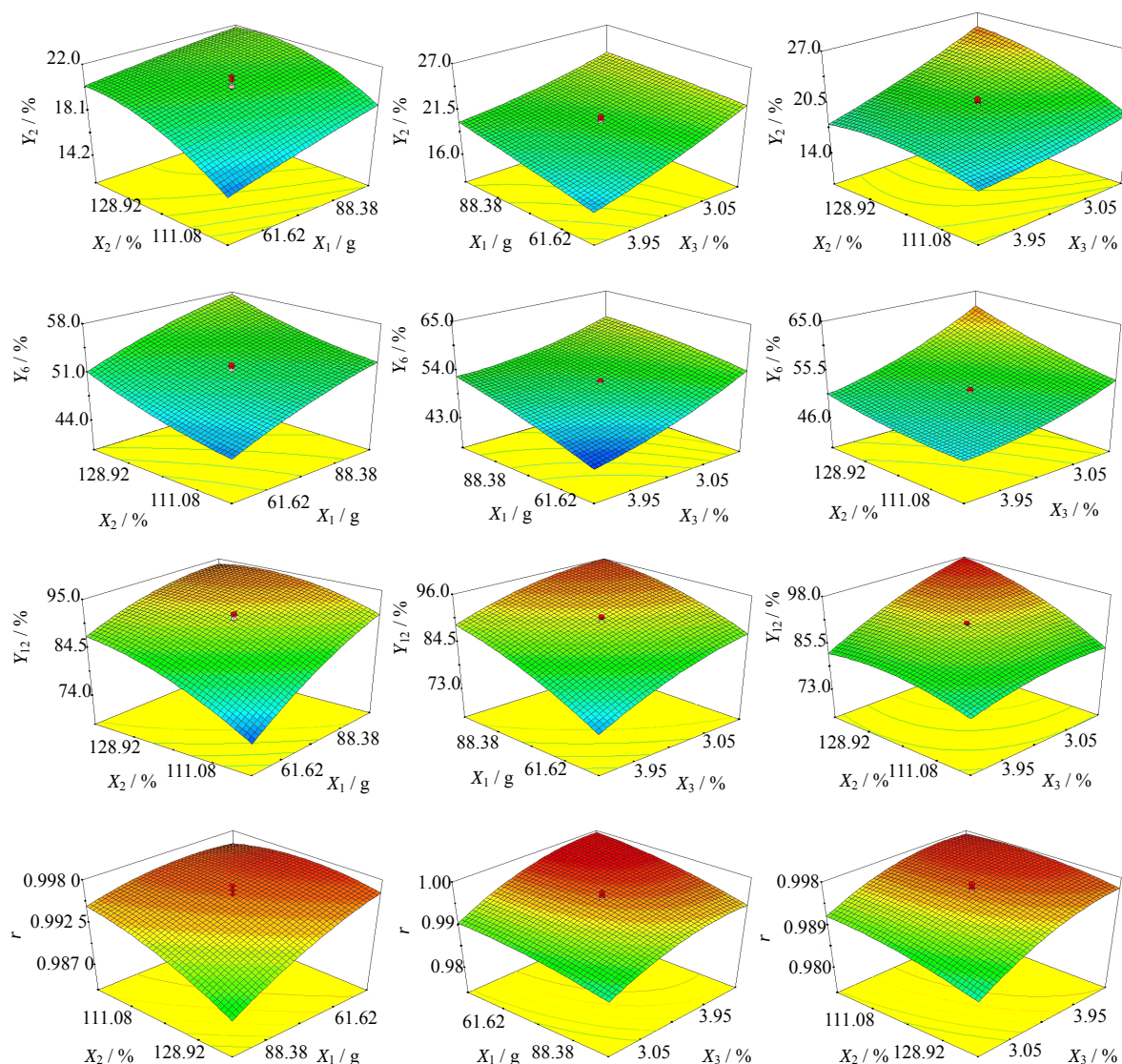


图1 Y_2 、 Y_6 、 Y_{12} 和 r 的效应面图

Fig. 1 Predicted response surface of Y_2 , Y_6 , Y_{12} , and r

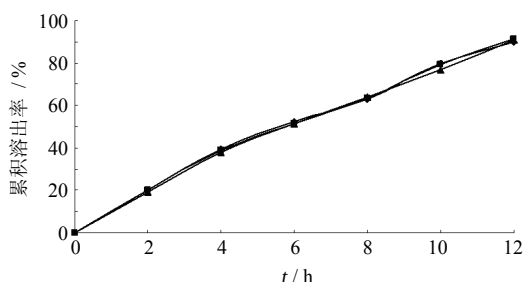


图2 3批样品的体外释放曲线

Fig. 2 *In vitro* drug release profiles of three batches of samples

膜厚度等^[12]。针对难溶性药物,因其溶解度较小,释药程度不完全,成为制备微孔渗透泵制剂的主要限制因素。TFDS 在水中溶解度小,难以满足渗透泵制剂稳定完全释放药物的渗透压差。为此,本实

验采用以 PVP-K30 为载体材料,以固体分散技术制备的水溶性中间体进行投料,进而采用 CCD-效应面法优化微孔渗透泵控释片的最佳处方。结果表明,以 PVP-K30 为载体制备的固体分散体,能够显著提高 TFDS 的体外溶出度,从而满足了微孔渗透泵控释片对药物溶解度的要求。

促渗剂和致孔剂的用量以及包衣增重对药物的释放均有具有显著的影响。促渗剂产生的渗透压是药物释放的主要动力,本研究发现,促渗剂用量对药物释放具有显著性的影响,且随着其用量增加,其释药速度加快;此外通过调节致孔剂用量,进而调节药物释放速率,对药物释放也具有显著性影响。从模型方程方差分析及三维效应面分析亦可得知,不仅促渗剂用量、致孔剂用量及包衣增重率各单因

素对药物释放具有显著影响,三因素两两之间的交互作用对药物释放也具有显著影响,从而进一步证明选用 CCD-效应面法优化渗透泵处方的可行性。

参考文献

- [1] 李晓亮,汪豪,刘戈,等.广金钱草的化学成分研究[J].中药材,2007,30(7):802-805.
- [2] 王萍,沈玉华,谢安建,等.金钱草提取液对尿液中草酸钙晶体生长的影响[J].安徽大学学报:自然科学版,2006,30(1):80-84.
- [3] 邹志辉.广金钱草黄酮类化合物对草酸钙结石防治机制探讨[J].国际泌尿系统杂志,2008,28(4):502-504.
- [4] 赵俊霞,尹蓉莉,孙彩霞,等.广金钱草总黄酮-PVP K30 固体分散体的制备和体外特征[J].中成药,2014,36(10):59-63.
- [5] Wu W, Cui G H. Central composite design-response surface methodology and its application in pharmaceutical science [J]. *Foreign Med Sci (Sect Pharm)*, 2000, 27(5): 291.
- [6] 张瑜,白颖.星点设计-效应面法优化盐酸青藤碱脉冲片处方的研究[J].中草药,2010,41(7):1088-1091.
- [7] 王博,任晓文,李洪起,等.星点设计-效应面法优化银杏酮酯包合物的制备工艺[J].中草药,2011,42(2):262-265.
- [8] 孙彩霞,尹蓉莉,赵俊霞,等.水蜈蚣总黄酮固体分散体的制备及其性质研究[J].中草药,2014,45(14):2018-2021.
- [9] 张蕾,韩坚,冯志强,等.大孔吸附树脂富集纯化广金钱草总黄酮的工艺研究[J].中草药,2011,42(12):2442-2446.
- [10] 何弥尔,王伟,吴立生,等.星点设计-效应面法优选灯盏花乙素超声提取工艺[J].中药材,2010,33(6):984-988.
- [11] 席先荣,张晓蓉,张红萍,等.石淋通片中黄酮类化合物的含量测定[J].贵阳中医学院学报,1995,17(3):59-60.
- [12] 徐良娟,王柏.难溶性药物渗透泵控释制剂的研究现状[J].药学进展,2012,36(9):406-412.