

汉防己甲素滴丸的制备工艺优化及溶出度考察

果秋婷¹, 张小飞^{2*}

1. 咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712100

2. 陕西中医药大学药学院 陕西省中药制药重点学科, 陕西 咸阳 712046

摘要: **目的** 优化汉防己甲素滴丸的制备工艺, 并考察其溶出速率。**方法** 首先以基质配比、基质与药物配比、滴制温度、滴速、滴距、冷凝温度作为考察因素, 使用 Plackett-Burman 实验设计筛选出对汉防己甲素滴丸的成型率影响较为显著的关键因素; 再以汉防己甲素滴丸成型率、滴丸质量差异作为评价指标, 通过 Box-Behnken 效应面法优化其制备工艺参数; 并通过转篮法比较了汉防己甲素滴丸与片剂的体外溶出速率。**结果** Plackett-Burman 实验设计分析表明, 基质配比、滴制温度、冷凝温度对汉防己甲素滴丸的成型率影响较为显著; 经 Box-Behnken 效应面法优化得到汉防己甲素滴丸的最佳制备工艺参数为基质配比为 2.6 : 1、滴制温度为 82.4 °C、冷凝温度 7.5 °C, 制备的汉防己甲素滴丸成型率高、圆整度好、重量稳定、药物溶出速率较快。**结论** 通过实验设计法优化制备的汉防己甲素滴丸质量符合要求, 可以进一步放大研究。

关键词: 汉防己甲素; 滴丸; Plackett-Burman 实验设计; Box-Behnken; 体外溶出速率

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2018)05 - 1056 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.05.010

Optimization of preparation process and dissolution test of tetrandrine dropping pills

GUO Qiu-ting¹, ZHANG Xiao-fei²

1. Xianyang Vocational Technical College, Xianyang 712100, China

2. The Key Discipline of Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: **Objective** To optimize the preparation process of tetrandrine dropping pills (TDP) and investigate the *in vitro* dissolution rate. **Methods** Plackett-Burman experimental design was used to screen the critical factors in the preparation process of TDP from the ratio of matrix, ratio of matrix to drug, dropping temperature, dropping rate, dropping distance, and condensate temperature. The forming rate and weight variation of TDP were used as the evaluation index, the parameters in the preparation process of TDP were optimized by using the Box-Behnken response surface method. Moreover, the *in vitro* dissolution rate of TDP was compared with tetrandrine tablets by rotating basket method. **Results** The Plackett-Burman experimental design results showed that the ratio of matrix, dropping temperature and condensate temperature had a significant effect on the forming rate of TDP. The optimum preparation parameters by Box-Behnken response surface method were as follows: the ratio of matrix was 2.6 : 1, dropping temperature was 82.4 °C and condensation temperature was 7.5 °C with high forming rate, good roundness, stable weight, and fast drug dissolution rate of TDP. **Conclusion** The quality of TDP by experimental design method can meet the requirements and can be further amplified.

Key words: tetrandrine; dropping pills; Plackett-Burman experimental design; Box-Behnken; *in vitro* dissolution rate

汉防己甲素 (tetrandrine, Tet) 是从防己科千金藤属植物汉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 干燥块根中提取的一种双苄基异喹啉类生物碱类药物, 近年来临床研究表明汉防己甲素具有抗癌、消

炎、镇痛、抗矽肺、抗纤维化等药理活性^[1]。目前, 临床上汉防己甲素片主要用于治疗风湿性关节炎、神经痛、肺癌, 以及 I、II、III 期矽肺病。由于汉防己甲素属于双苄基异喹啉衍生物, 其溶解度呈 pH

收稿日期: 2017-10-17

基金项目: 陕西省科技厅项目 (2015SF203); 陕西省中药制药重点学科资助项目 (1008)

*通信作者 张小飞 (1982—), 男, 内蒙古赤峰人, 博士, 讲师, 研究方向为中药新技术与新剂型研究。

Tel: (029)38185175 E-mail: zhangxiaofei830@163.com

依赖性,在 $\text{pH}>6.0$ 的介质中溶解度迅速降低^[2]。汉防己甲素的溶解度较低,汉防己甲素片口服后体内吸收不完全,并且存在肝首关效应,因此生物利用度较低^[3-4],临床疗效不稳定。为了改善汉防己甲素溶出速度和口服生物利用度,国内外研究人员做了大量的研究工作,希望解决该难题,包括将汉防己甲素制备成脂质体^[4]、固体脂质纳米粒^[5]、干粉吸入剂^[6]、乳剂^[7]等新型给药系统。滴丸是将药物分散到熔融液态基质中,滴入不相混溶的冷凝液中收缩、凝固而形成的一种制剂。与其他传统口服给药剂型相比,滴丸具有患者用药方便、药物溶出快、吸收好、生物利用度高、制备工艺成熟、生产成本低等优势^[8-9],目前,已有多种中药滴丸产品用于临床^[10-11]。因此,本研究将汉防己甲素制备成滴丸,并通过实验设计法优化汉防己甲素滴丸的制备工艺参数^[12-14],为进一步生产放大奠定实验基础。

1 仪器与材料

DW J-2000S-D 型滴丸试验机,烟台百药泰中药科技发展有限公司;Agilent-1200 高效液相色谱系统,安捷伦科技有限公司;BP211D 电子天平,德国赛多利斯集团公司;RC-806 溶出试验仪,天津天大天发科技有限公司。

汉防己甲素,石药集团江西金芙蓉药业股份有限公司,批号 161025,质量分数 98.6%;汉防己甲素片,20 mg,浙江金华康恩贝生物制药股份有限公司,批号 20170120;聚乙二醇 4000 (PEG4000)、聚乙二醇 6000 (PEG6000),南京威尔化工有限公司;二甲硅油,山东大易化工有限公司。

2 方法与结果

2.1 汉防己甲素滴丸的制备工艺

汉防己甲素经高速粉碎机粉碎,过 200 目筛,备用。按照一定比例将 PEG4000 和 PEG6000 加入到 DW J-2000S-D 型滴丸试验机中,在一定的温度下加热熔融,搅拌均匀;保持温度恒定,向上述混

合基质中加入处方量汉防己甲素,持续搅拌 30 min,调节滴定距离,以一定的速度进行滴丸(滴丸试验机滴口外径为 4.0 mm,内径为 2.5 mm),冷凝溶剂为二甲硅油(冷凝温度根据实验设计确定),收集汉防己甲素滴丸,擦干,即得。

2.2 汉防己甲素滴丸质量评价

2.2.1 滴丸成型率 每组实验滴制约 500 粒滴丸并收集,挑选出圆整光滑的滴丸,其数量与全部成品数量相比,即得滴丸成型率。

2.2.2 滴丸质量差异 每组实验挑选外观圆整光滑滴丸 20 粒,放入到称量瓶中,精密称定,计算滴丸平均丸质量($\bar{W}$)。依次称量已称定的 20 粒滴丸的质量(W_i),滴丸质量差异(V)计算公式为 $V = [(W_1 - \bar{W})/\bar{W} + (W_2 - \bar{W})/\bar{W} + \dots + (W_{20} - \bar{W})/\bar{W}]/20$ 。

2.3 Plackett-Burman 设计(PBD)试验筛选

根据之前的知识和经验以及结合前期预试验考察结果,本研究以基质(PEG6000-PEG4000)配比(质量比, X_1)、药物与基质配比(质量比, X_2)、滴制温度(X_3)、滴速(X_4)、滴距(X_5)和冷凝温度(X_6)作为考察因素,以滴丸成型率(Y)作为评价指标,使用 PBD 试验筛选出对汉防己甲素滴丸的成型率影响较为显著的因素。因素水平、试验安排及结果见表 1。

由标准化效应半正态图(图 1)结果可知,基质配比、滴制温度、冷凝温度对汉防己甲素滴丸的成型率影响较为显著,而药物与基质配比、滴速、滴距对滴丸成型率无显著影响,因此,本研究固定药物与基质配比(3:1)、滴速(30 滴/min)、滴距(10 cm)3 个工艺参数,应用 Box-Behnken 设计-效应面法(BBD-RSM)进一步优化基质配比、滴制温度、冷凝温度 3 个工艺参数。

2.4 BBD-RSM 优化滴丸工艺参数

2.4.1 试验设计 对汉防己甲素滴丸成型率影响较

表 1 PBD 试验设计与结果

Table 1 PBD experimental design and results

编号	X_1	X_2	$X_3/^{\circ}\text{C}$	$X_4/(\text{滴}\cdot\text{min}^{-1})$	X_5/cm	$X_6/^{\circ}\text{C}$	$Y/\%$	编号	X_1	X_2	$X_3/^{\circ}\text{C}$	$X_4/(\text{滴}\cdot\text{min}^{-1})$	X_5/cm	$X_6/^{\circ}\text{C}$	$Y/\%$
1	4:1(+1)	4:1(+1)	90(+1)	20(-1)	12(+1)	10(+1)	91.8	7	1:1	2:1	70	20	6	5	77.9
2	1:1(-1)	4:1	90	20	10	5(-1)	84.2	8	1:1	4:1	90	50	6	10	75.4
3	4:1	2:1	90	20	6(-1)	5	95.3	9	4:1	2:1	90	50	6	10	94.8
4	1:1	4:1	70(-1)	20	6	10	65.6	10	4:1	4:1	70	50	12	5	86.3
5	1:1	2:1(-1)	70	50(+1)	12	5	82.9	11	4:1	2:1	70	20	12	10	80.2
6	1:1	2:1	70	50	12	10	62.6	12	4:1	4:1	70	50	6	5	88.9

显著的 3 个工艺参数进行优化,以基质配比 (X_1)、滴制温度 (X_3)、冷凝温度 (X_6) 作为考察对象,以

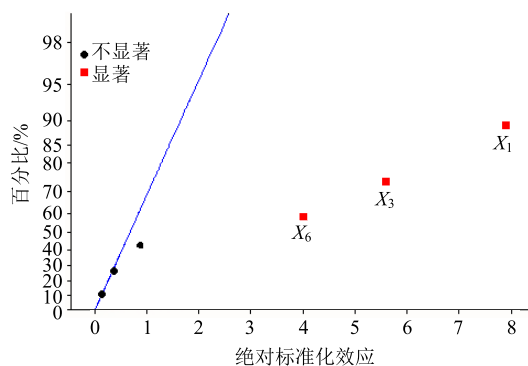


图 1 滴丸工艺参数对成型率影响的半正态图

Fig. 1 Half-normal graph of effect of dropping pills process parameters on the forming rate

汉防己甲素滴丸成型率 (Y_1)、滴丸质量差异 (Y_2) 作为评价指标,利用 BBD-RSM 优化滴丸制备工艺参数。因素水平、试验安排及结果见表 2。

2.4.2 数据处理及方差分析 采用“Design expert”实验软件对结果进行方差分析,分析结果见表 3。绘制基质配比、滴制温度、冷凝温度对滴丸成型率、滴丸质量差异的效应面图,以便直观分析滴丸制备工艺参数及其相互作用对滴丸成型率、滴丸质量差异的影响 (图 2)。

通过方差分析结果可知,基质配比 (X_1)、滴制温度 (X_3)、冷凝温度 (X_6) 的 P 值均小于 0.05,表明基质配比、滴制温度、冷凝温度对滴丸成型率影响显著;由效应面图可知,滴丸成型率随着基质配比的增加而增大,随着滴制温度的升高而增大;随

表 2 PBD-RSM 优化滴丸工艺参数试验安排与结果

Table 2 Experimental arrangement and results of PBD-RSM of optimized dropping process parameters

编号	X_1	$X_3/^{\circ}\text{C}$	$X_6/^{\circ}\text{C}$	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	编号	X_1	$X_3/^{\circ}\text{C}$	$X_6/^{\circ}\text{C}$	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$
1	2.5 : 1 (0)	70 (-1)	10	77.5	9.6	9	1 : 1	80	10	70.8	4.4
2	1 : 1 (-1)	80 (0)	5 (-1)	85.7	4.7	10	2.5 : 1	70	5	88.3	10.6
3	2.5 : 1	90 (+1)	10 (+1)	89.6	8.6	11	4 : 1	90	7.5	92.6	5.1
4	4 : 1 (+1)	70	7.5 (0)	82.9	12.9	12	2.5 : 1	90	5	90.7	6.5
5	2.5 : 1	80	7.5	90.9	5.0	13	4 : 1	80	5	88.9	3.2
6	2.5 : 1	80	7.5	91.6	3.5	14	1 : 1	70	7.5	68.7	8.7
7	2.5 : 1	80	7.5	91.3	4.7	15	1 : 1	90	7.5	71.2	6.1
8	4 : 1	80	10	83.7	6.4						

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of ANOVA

来源	Y_1				Y_2			
	平方和	平均值	F 值	P 值	平方和	平均值	F 值	P 值
模型	911.85	101.32	8.91	0.013 4	105.29	11.70	9.61	0.011 3
X_1	334.11	334.11	29.39	0.002 9	1.71	1.71	1.41	0.289 1
X_3	89.11	89.11	7.84	0.038 0	30.03	30.03	24.67	0.004 2
X_6	128.00	128.00	11.26	0.020 2	2.00	2.00	1.64	0.256 2
X_1X_3	12.96	12.96	1.14	0.334 5	6.76	6.76	5.55	0.065 0
X_1X_6	23.52	23.52	2.07	0.209 8	3.06	3.06	2.52	0.173 6
X_3X_6	23.52	23.52	2.07	0.209 8	2.40	2.40	1.97	0.219 1
X_1^2	256.41	256.41	22.55	0.005 1	0.11	0.11	0.09	0.772 8
X_3^2	61.56	61.56	5.42	0.067 5	58.34	58.34	47.92	0.001 0
X_6^2	1.60	1.60	0.14	0.722 9	0.75	0.75	0.61	0.468 7
残差	56.84	11.37			6.09	1.22		
失拟项	56.60	18.87	12.97	0.653 2	4.83	1.61	2.55	0.293 8
纯误差	0.25	0.12			1.26	0.63		
总和	968.69				111.37			

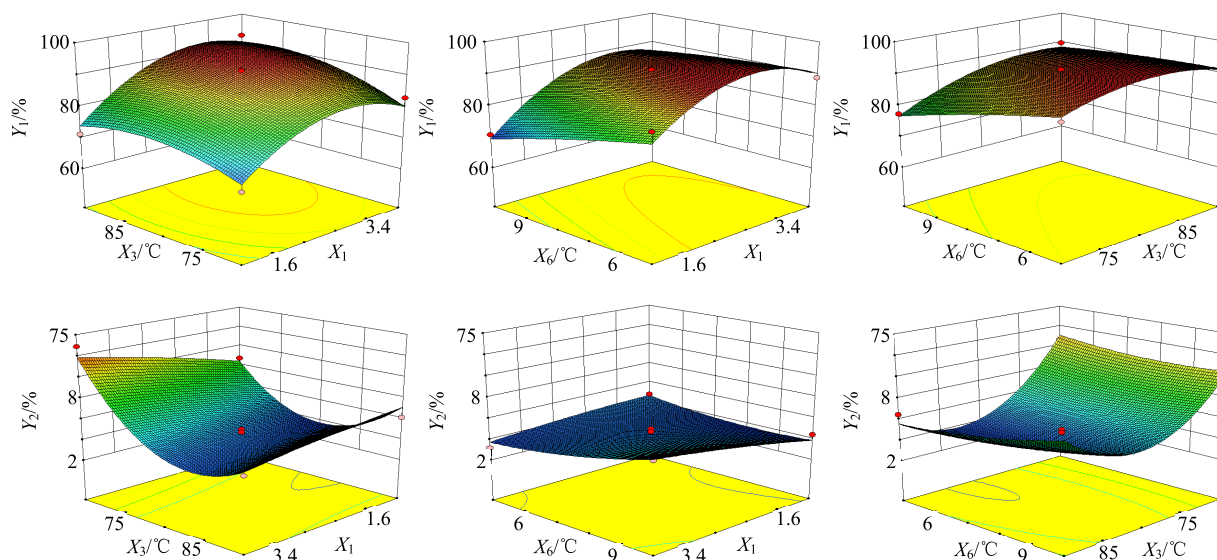


图 2 X_1 、 X_3 、 X_6 对 Y_1 和 Y_2 的效应面图

Fig. 2 Response surface graph of X_1 , X_3 and X_6 on Y_1 and Y_2

着冷凝温度的升高而降低。

通过方差分析结果可知，滴制温度 (X_3) 的 P 值小于 0.05，滴制温度对滴丸质量差异影响显著，而基质配比和冷凝温度对滴丸质量差异影响不显著；由效应面图可知，滴丸质量差异随着滴制温度的升高先降低后增大。

2.4.3 优化工艺参数与验证实验 根据基质配比、滴制温度、冷凝温度与滴丸成型率和滴丸质量差异之间的联系，将成型率设定为“最大值”，滴丸质量差异设定为“最小值”进行优化。图 3 显示基质配比、滴制温度、冷凝温度对滴丸成型率、滴丸质量

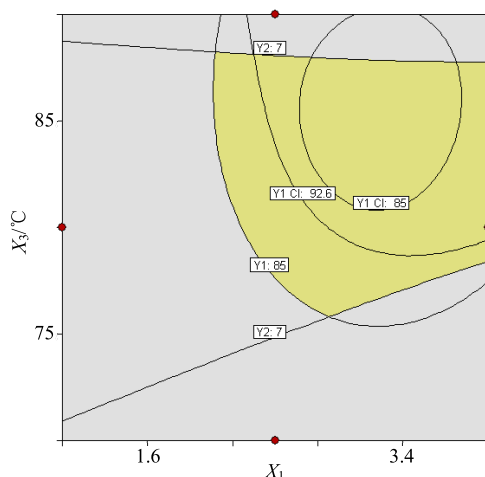


图 3 基质配比 (X_1)、滴制温度 (X_3) 对滴丸成型率、滴丸质量差异的综合评价叠加图

Fig. 3 Overlay plot of comprehensive evaluation of ratio of matrix (X_1) and dropping temperature (X_3) on drop forming rate and weight variation of dropping pills

表 4 汉防己甲素滴丸各指标预测值和观察值 ($n=3$)

Table 4 Predicted value and observed value of tetrandrine dropping pills ($n=3$)

因变量	观测值/%	预测值/%	预测偏差/%
Y_1	87.9 ± 1.1	89.2	-2.2
Y_2	5.2 ± 0.3	5.0	4.0

差异的叠加图 (本图中图中冷凝温度取值为 7.5°C)。实验软件处理得到最优制备工艺参数为基质配比为 2.6:1、滴制温度为 82.4°C 、冷凝温度 7.5°C ，预测得到滴丸成型率为 89.2%、滴丸质量差异为 5.0%。

按照最优工艺参数制备 3 批汉防己甲素滴丸，实验观察值和模型预测值比较接近，预测偏差 [预测偏差=(观测值-预测值)/预测值] 均在 5% 以内，说明使用 BBD-RSM 优化汉防己甲素滴丸制备工艺参数准确、可靠。

2.5 溶出度测定

2.5.1 色谱条件^[2] 色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-水 (含 0.16% 磷酸、0.6% 三乙胺) (83:17)；检测波长 282 nm；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30°C ；进样量 20 μL 。

2.5.2 溶出度测定 按照《中国药典》2015 年版附录 XC 溶出度测定法第一法 (转篮法) 比较汉防己甲素滴丸 (规格: 20 mg) 和汉防己甲素片的药物溶出速率。溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸水溶液，介质体积 900 mL，介质温度 (37.0 ± 0.5) $^\circ\text{C}$ ，转速 (100 ± 1) r/min，分别在 10、20、30、45、60 min

取溶出介质 5 mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 按照“2.5.1”项色谱条件进样检测, 并计算汉防己甲素的累积溶出率, 比较汉防己甲素滴丸和汉防己甲素片的药物溶出曲线。结果见图 4。

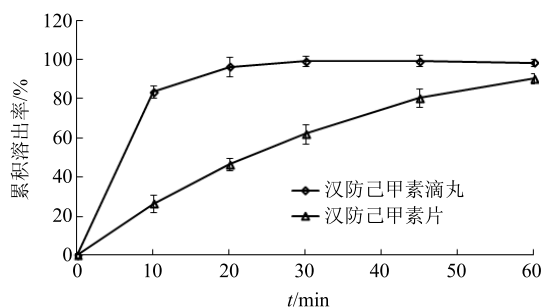


图4 汉防己甲素滴丸与汉防己甲素片的累积溶出曲线 ($n=6$)
Fig. 4 *In vitro* dissolution curve of tetrandrine dropping pills and tetrandrine tablets ($n=6$)

自制汉防己甲素滴丸在 10 min 内药物累积溶出率达到 83.5%, 在 20 min 内药物已完全溶出, 而市售汉防己甲素片在 10 min 内药物累积溶出率仅达到 26.2%, 在 60 min 内药物累积溶出率才达到 90.4%。分别对汉防己甲素滴丸与汉防己甲素片的溶出数据与时间进行威布尔函数拟合^[15], 得到汉防己甲素滴丸的 t_{50} 为 5.4 min, 而汉防己甲素片的 t_{50} 为 24.6 min, 说明汉防己甲素在滴丸中溶出速率远远大于片剂, 将汉防己甲素制备成滴丸可显著提高药物溶出速率, 达到速效目的。

3 讨论

滴丸在滴到冷凝液中成型的过程中, 滴丸成型性的好坏也取决于冷凝液表面张力, 冷凝液的表面张力越小, 滴丸的成型性越好, 文献报道^[16-17]中通常采用二甲硅油和(或)液体石蜡作为冷凝液制备滴丸。在前期预试验过程中滴制的滴丸呈扁型, 经分析可能是由于冷凝液(液体石蜡)选择不当, 另外也可能是由于滴速太快所致, 通过选择二甲硅油作为冷凝剂并调整滴速, 最终可以得到成型率高、圆整度好的滴丸。因此, 本研究所有实验均采用二甲硅油作为冷凝液制备汉防己甲素滴丸。

影响滴丸成型率和质量差异的因素较多, 如基质配比、基质与药物配比、滴制温度、滴速、滴距、冷凝温度等。本研究首先通过 PBD 实验筛选出对汉防己甲素滴丸的成型率影响较为关键的 3 个因素(基质配比、滴制温度、冷凝温度), 然后通过 BBD-RSM 优化得到汉防己甲素滴丸最优制备工艺

参数。本研究制备的汉防己甲素滴丸成型率高、质量稳定, 药物溶出速率较快, 可以达到快速起效的目的。

参考文献

- [1] 蔡晓辉, 王 帅, 陈宝安. 汉防己甲素药理作用的研究进展 [J]. 中国天然药物, 2011, 9(6): 473-480.
- [2] 张 颖, 姜 倩, 张 焱, 等. 汉防己甲素的表现溶解度、油水分配系数和解离常数的测定 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(5): 501-503.
- [3] 傅德皓, 郑思维, 陈春生, 等. 溴化双十二烷基二甲基铵修饰的载汉防己甲素聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒制备及体外评价 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2556-2562.
- [4] 王艳丽. 汉防己甲素脂质体的研制 [D]. 开封: 河南大学, 2008.
- [5] 厉英超, 董 蕾, 贾 皓, 等. 两种方法制备汉防己甲素固体脂质纳米粒的比较 [J]. 中药材, 2006, 29(5): 483-485.
- [6] 樊 婷. 汉防己甲素干粉吸入剂的药学研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [7] 何佳奇, 张洪瑶, 杨 岚, 等. 汉防己甲素注射乳剂的制备及评价 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(22): 1734-1739.
- [8] 张娟娟, 孙 巍, 王 萍, 等. 基于分析方法质量源于设计 (AQbD) 的复方丹参滴丸皂苷指纹图谱开发方法初步研究 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 3992-3997.
- [9] 王丽萍, 李春花, 宋晓宇, 等. 中药滴丸剂的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 24(7): 864-865.
- [10] 叶盛英, 高文远, 杜 欣. 中药滴丸剂的研究进展 [J]. 天津药学, 2007, 19(3): 55-57.
- [11] 戴德雄, 刘根才, 朱 婷, 等. 银黄滴丸 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4370-4373.
- [12] 李 颖, 纪 莎, 倪立坚, 等. 星点设计-效应面法优化鱼腥草挥发油滴丸的制备工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 14-19.
- [13] 张 婷, 解军波, 张彦青, 等. 星点设计-效应面法优化酸枣仁黄酮滴丸的制备工艺 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(2): 123-128.
- [14] 陈 琼, 李 娟, 李 阳, 等. 猫爪草滴丸的制备工艺优化 [J]. 中国药房, 2015, 26(22): 3122-3124.
- [15] 宋凤兰, 潘育方, 侯冬枝, 等. 葛根总黄酮滴丸的制备与溶出度研究 [J]. 中草药, 2014, 45(9): 1252-1256.
- [16] 王月花, 范小琴, 侯立新. 姜黄素滴丸的成型工艺优选及质量评价 [J]. 中国药房, 2013, 24(31): 2929-2931.
- [17] 段晓颖. 美洛昔康滴丸成型工艺研究 [J]. 中国现代应用药学, 2009, 26(1): 50-52.