

参考文献:

[1] 杨春艳. 中药治疗冠状动脉粥样硬化心脏病心绞痛的临床观察[J]. 中华中西医杂志 2008 6(6):59.

[2] 施峰,王光忠,刘焱文. 大孔树脂分离纯化红花黄色素的研究[J]. 湖北中医学院院报 2007 9(1):47-48.  
[3] 胡秀峰,冯长根,曾庆轩,等. 大孔树脂在红霉素提取中的应用进展[J]. 国外医药抗生素分册 2004 25(1):17-19.

## 正交试验法优选石杉碱甲胃漂浮片处方的研究

唐宇<sup>1,2</sup>, 贺福元<sup>1,3</sup>, 刘姹<sup>2\*</sup>, 杨大坚<sup>2</sup>

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 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; 3. 中南大学临床药理研究所, 湖南长沙 410007)

关键词: 正交设计; 胃漂浮片; 石杉碱甲

摘要: 目的: 采用正交设计优化石杉碱甲胃漂浮片的制备工艺处方。方法: 以胃漂浮片的漂浮性、体外累积释放度作为考察因素进行正交试验, 采用 3 指标 3 水平的正交设计。结果: 优化所得处方为 HPMCK15M60%、PVPP26%、NAH-CO<sub>3</sub>3% 漂浮性良好。结论: 优选的工艺处方有良好的可操作性。

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2010)04-0594-03

石杉碱甲(Huperzine-A HA)作为一种强效的可逆性胆碱酯酶抑制药为胆碱酯酶抑制剂,对真性胆碱酯酶具有选择性抑制作用,易通过血脑屏障,能显著地改善患者的认知功能、行为和日常生活能力<sup>[1]</sup>,能有效改善老年期痴呆症患者的智能、记忆功能及生活能力,对轻度痴呆患者效果更加明显,其副作用相对较少<sup>[2]</sup>。例如减少给药次数、提高患者用药顺应性、避免过高导致毒性或过低而无效、提高生物利用度等。漂浮片胃内滞留漂浮型缓释片(floating tablet FT)是一类能滞留于胃液中,延长药物的释放时间,改善药物吸收,利于提高生物利用度的片剂。漂浮片是由药物和一种或多种亲水凝胶骨架材料及附加剂制成的漂浮制剂,进入到胃内后遇胃液外层凝胶膨胀而在外层形成一层凝胶屏障防止骨架水化速度过快,维持骨架密度小于胃内容物的密度而漂浮在胃液上,从而达到缓释的效果。对于石杉碱甲这种有毒性药物,我们采用缓释制剂的释药形式,能够有效降低药物的安全性和有效性。

### 1 仪器与材料

HR-120 电子天平(日本岛津); Agilent 高效液相色谱仪(自动进样器,紫外检测器等); 单冲压片机(北京中科科技仪器技术发展有限责任公司); KQ50B 超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 智

能溶出仪(天津大学); 石杉碱甲(中国药品生物制品检定所, 071102); 甲醇(0.22 $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 色谱纯); 羟丙甲纤维素 HPMC(Methocel K15MCR, RK08012N31 美国 DOW 公司); 微晶纤维素 MCC(Avicel PH102 美国 FMC 公司); 交联聚维酮 PVPP(Plasdone XL 03500144909 美国 ISP 公司); 碳酸氢钠 NaHCO<sub>3</sub>(天津红岩化学试剂厂 20070405); 羧甲基淀粉钠 CMSNa(20060320 广州化学试剂二厂, A.R.)。

### 2 方法和结果

#### 2.1 HA-FT 的制备工艺

各辅料过 80 目筛后,按处方量称取石杉碱甲与各辅料采用等量递增法混匀,加入处方量的主药和 Mg-S,采用干法直接压片,硬度范围在 30N 左右之间。

#### 2.2 色谱条件及系统适应性试验

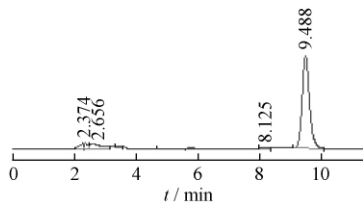
2.2.1 色谱条件<sup>[3]</sup> 在流动相为磷酸二氢钾-乙腈(86:14)检测波长为 310 nm,流速为 1 mL/min,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 20  $\mu$ L 的色谱条件下,样品中的石杉碱甲与其他峰能达到基线分离,辅料对石杉碱甲测定无干扰,满足分离及检测要求,色谱图见图 1。

2.2.2 线性关系考察 取 0.096 mg/mL 的对照品

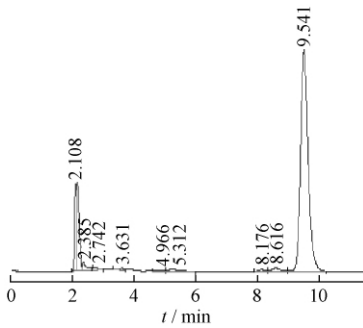
收稿日期:2009-12-15

作者简介:唐宇(1983-)女,硕士研究生,研究方向:新药研究和评价。Tel:(0731)88458279 E-mail:tangyu44@sina.com

\* 通讯作者:刘姹 Tel:(0755)26737459



A. 标准品对照



B. 供试品

图1 标准品和漂浮片峰形图

贮备液<sup>[4]</sup>。分别精密吸取贮备液溶液 1、0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25 mL 对照品液定容在 1 mL 的量瓶中,分别进样 10 μL,以峰面积  $Y$  对浓度  $X$  进行线性回归,回归方程为  $Y = 32\ 361X - 28\ 996.8$ ,  $r = 0.999\ 7$  线性关系良好。

2.2.3 精密度和稳定性试验 取石杉碱甲样品精密称定,按样品溶液制备方法制备得到供试品溶液,在色谱条件下进样 6 次,记录石杉碱甲峰面积 RSD 为 0.76%。取供试品溶液,每隔 2 h 进样一次,考察石杉碱甲的含量变化测定,结果含量的 RSD 为 0.56% ( $n = 6$ )。

2.2.4 回收率试验 处理对照品溶液,往标示量 80%、100%、120% 对照品中加入辅料,配制成 1 μg/mL 的溶液,进样测定。计算得平均回收率为 96.38%,RSD 为 0.9%。

### 2.3 体外溶出释放方法

按照《中华人民共和国药典》的体外溶出释放法为小杯法浆法 0.1 mol/L HCl 人工胃液介质 200 mL,转速为 100 r/min,每隔 2 h 定时取样 2 mL,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,补同体积介质,HPLC 测定,计算胃漂浮片的释放度。

### 2.4 漂浮性能的考察方法

启动智能溶出仪后,用秒表计算将胃漂浮片丢入到溶出小杯内到片剂漂浮到液面上的时间,即为起漂时间  $F$  (flag, 单位 s)。并观察从起漂开始到试验结束时,胃漂浮片持续漂浮的时间,即为持续漂浮时间  $T$  ( $T_f$ , 单位 h)。

## 2.5 处方的筛选

2.5.1 正交设计 我们根据文献资料和单因素实验,确定正交试验的因素为 HPMCK 15M (因素 1),PVPP (因素 2),NaHCO<sub>3</sub> (因素 3),以漂浮性和体外累积释放为评价指标进行 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交试验<sup>[5]</sup>,结果和方差分析如表 1~3。

表1 因素水平

水平	因素		
	A HPMCK 15M/%	B PVPP/%	C NaHCO <sub>3</sub> /%
1	30	4	3
2	45	15	10
3	60	26	17

释放度是要求在一定范围越大越好。而漂浮性则采用起漂时间  $F$ ,  $F$  越短越好。其中释放度采用分值计算方法,根据前期试验和大量文献资料,确定理想胃漂浮片的分值为  $V = 100\% - /T_{0.5} - 15\% / - /T_2 - 30\% / - /T_4 - 48\% / - /T_6 - 60\% / - /T_8 - 70\% / - /T_{12} - 90\% /$ ,  $V$  越大(接近 100%)越好,表明胃漂浮片的释放过程越接近理想片剂。由于此两个指标中一个越大越好,一个越小越好,故需对各个指标进行综合考虑和权衡。释放度的处理方法如下:释放度 = 各释放度 ÷ 9 个数值中最大的数值。漂浮性在起漂时间和持续漂浮时间中,选起漂时间为评价指标。处理如下:在 9 个处方试验中,每个处方虽然起漂时间不一,但均在 0.5 min 内起漂,差别不大。故设定若起漂时间  $F \geq 10$  s,则在释放度的基础上加 0.5 求和得到综合指标;若起漂时间  $< 10$  s,则在释放度的基础上加 1 求和得到综合指标。起漂时间越短越好,则加分越多。

2.5.2 结果分析 根据上表,其中 PVPP (%) 为显著性影响因素,而 HPMCK 15M (%) 和 NaHCO<sub>3</sub> (%) 无显著性差异。影响程度顺序为  $B > A > C$ ,最佳的处方设计为  $A_3B_1C_1$ ,即最佳处方为 HPMCK 15M 为 60%,PVPP 为 4%,NaHCO<sub>3</sub> 为 3%。

### 2.6 验证试验

为了进一步验证上述辅料配比和制备工艺的可行性和稳定性,以此辅料配比制备了 3 批样品,进行验证试验。结果见表 4。

由表 4 可知,优化设计所得的试验结果综合评价基本上优于正交设计中的各次试验,结果令人满意,说明优化成功。

## 3 体外释药机理探讨

将胃漂浮片测得的体外累积释放百分比数据进行拟合,各方程拟合结果如下:

表2  $L_9(3^4)$  正交试验结果

水平	因素				指标		综合指标
	A	B	C	D	1	2	OD
	HPMCK 15M/%	PVPP/%	NaHCO <sub>3</sub> /%		漂浮性 F/s	溶出度 V/%	Y
1	1	1	1	1	21	86.55	1.5
2	1	2	2	2	17	64.83	1.25
3	1	3	3	3	16	15.82	0.68
4	2	1	2	3	9	65.45	1.74
5	2	2	3	1	10	65.54	1.26
6	2	3	1	2	2	16.66	1.10
7	3	1	3	2	7	79.41	1.91
8	3	2	1	3	2	72.59	1.84
9	3	3	2	1	13	46.63	1.03
均值1	1.143	1.717	1.480	1.263		G = 513.48	
均值2	1.367	1.450	1.340	1.420		G <sub>2</sub> = 263 661.74	
均值3	1.593	0.937	1.283	1.420			
极差	0.450	0.780	0.197	0.157			

表3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	0.304	2	6.204	19.000	—
B	0.943	2	19.245	19.000	*
C	0.061	2	1.245	19.000	—
误差	0.05	2	—	—	—

注:  $F_{0.05(2,2)} = 19$ 。

表4 验证试验结果

漂浮性 F/s	分值 V/%	分值 V	RSD/%
1	5	83.24	1.58
2	5	81.46	
3	6	85.04	
均值	5.33	83.58	

胃漂浮片属于骨架片类型中的一种,体外释药机理探讨常见的有一级、零级模型、Higuchi 模型等,用各模型拟合方程预测时间点的累积释放百分率进行拟合求出相应的相关系数,结果得出石杉碱甲胃漂浮片释药符合 Higuchi 方程。另外根据 Ritger-Peppas<sup>[6]</sup>方程  $Q = kt^n$ ,可用时间  $t$  的指数  $n$  用来描述漂浮片的释药机理。得出石杉碱甲胃漂浮片是以扩散和溶蚀双重作用的释药机理的结论,见表5。

表5 HA-FT 释药模型拟合表

Model	Equation	R <sup>2</sup>
一级方程	$\ln(100 - Q) = -0.204 6t + 1.657 5$	R <sup>2</sup> = 0.954 3
零级方程	$Q = 27.67t + 22.877$	R <sup>2</sup> = 0.967 1
Higuchi 方程	$Q = 21.35t^{1/2} - 2.264 7$	R <sup>2</sup> = 0.998 1

#### 4 结论

按照最佳工艺得出的处方,得到片剂组成是 HPM-CK 15M 含 60%, PVPP 含 4%, NaHCO<sub>3</sub> 含 3%, 其中对胃漂浮片的主要影响因素是 PVPP 的百分含量。

#### 5 结论

试验中,关于起漂性之前考察的是起漂时间  $F$  (flag, 单位 s) 和持续漂浮时间  $T$  ( $T_f$ , 单位 h), 但是经过试验发现,正交试验中每个处方的持续漂浮时间均大于 12 h, 持续漂浮的性能较好。而起漂时间根据每个处方的不同而有很大差别。故关于漂浮性能本实验就以起漂时间  $F$  作为指标。

#### 参考文献:

- [1] 张均田. 老年痴呆的发病机理及治疗策略[J]. 药学报, 2003, 35(8): 635-640.
- [2] 王丹娥, 岳希贤, 唐希灿. 石杉碱甲的抗胆碱酯酶作用[J]. 中国药理学报, 1986, 7(2): 110.
- [3] 孙建绪, 翁 骏, 高永良. 高效液相色谱法测定石杉碱甲片的含量[J]. 解放军药学报, 2002, 18(4): 231-233.
- [4] 中国药典[S]. 二部. 2005: 493.
- [5] 张志华, 赵新华, 孟庆军. 正交试验法优选益心酮滴丸制备工艺[J]. 中草药, 2001, 32(1): 28.
- [6] 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.