

# 星点设计-响应面法优化盐酸氮萘斯汀温敏型原位凝胶滴鼻剂处方

王宏丽<sup>1\*</sup>, 别海燕<sup>1#</sup>, 司传平<sup>2</sup>, 王英婷<sup>1</sup>(1.济宁市第一人民医院, 山东 济宁 272100; 2.济宁医学院, 山东 济宁 272000)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0098-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.32

**摘要** 目的:优化盐酸氮萘斯汀(AH)温敏型原位凝胶滴鼻剂处方。方法:以泊洛沙姆407(P407)、泊洛沙姆188(P188)为辅料,采用冷溶法制备AH温敏型原位凝胶。以P407、P188处方中的用量(g/100 ml)为因素,以相变温度为指标,采用星点设计-响应面法优化处方,进行二项式拟合,同时分析预测值和实测值偏差。结果:二项式拟合复相关系数 $R^2=0.9865$ ;最优处方为P407占20.4144%、P188占5.0354%;3次验证试验的相变温度实测值为 $(30.81 \pm 0.02)^\circ\text{C}$ ,预测值为 $31^\circ\text{C}$ ,偏差为0.61%。结论:星点设计-响应面法可用于优化AH温敏型原位凝胶滴鼻剂处方。

**关键词** 盐酸氮萘斯汀;温敏型原位凝胶;滴鼻剂;星点设计-响应面法

## Optimization of the Formulation of Azelastine Hydrochloride Thermosensitive In-situ Gel Nasal Drops by Central Composite Design-Response Surface Methodology

WANG Hongli<sup>1</sup>, BIE Haiyan<sup>1</sup>, SI Chuanping<sup>2</sup>, WANG Yingting<sup>1</sup>(1.Jining First People's Hospital, Shandong Jining 272100, China; 2.Jining Medical University, Shandong Jining 272000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize Azelastine hydrochloride (AH) thermosensitive in-situ gel nasal drops formulation. METHODS: Using poloxamer 407 (P407) and poloxamer 188 (P188) as excipients, AH thermosensitive in-situ gel was prepared by cold solution method. The formulation was optimized by central composite design-response surface methodology using the amount of P407 and P188 (g/100 ml) as factors and phase-transition temperature as index. Binomial expression was fitted, and predicted and measured values were compared. RESULTS: The correlation coefficient  $R^2$  fitted by binomial expression was equal to 0.986 5. The optimal formulation was as follows as P407 for 20.414 4%, P188 for 5.035 4%, measured value of  $(30.81 \pm 0.02)^\circ\text{C}$ , predicted values of  $31^\circ\text{C}$ , deviation of 0.61%. CONCLUSIONS: AH thermosensitive in-situ gel nasal drops formulation is optimized by central composite design-response surface methodology.

**KEYWORDS** Azelastine hydrochloride; Thermosensitive in-situ gel; Nasal drops; Central composite design-response surface methodology

盐酸氮萘斯汀(Azelastine hydrochloride, AH)属于2,3-二氮杂萘酮的衍生物,具有 $H_1$ 受体拮抗特点,可阻止过敏反应中某些化学介质的合成和释放,并能够阻止细胞间黏附分子1(ICAM-1)上调和嗜酸性细胞移行,发挥广泛的抗炎作用<sup>[1]</sup>。美国FDA于2009年9月批准Meda制药公司的AH鼻喷剂上市。国家食品药品监督管理局已批准上海恒瑞医药有限公司和贵州云峰药业有限公司生产其鼻喷雾剂,规格为10 ml:10 mg,进口AH鼻喷剂仅由Meda Pharma GmbH & Co. KG注册,商品名为爱赛平(10 ml:10 mg)。

温敏型原位凝胶常温下呈液态,给药后可立即在用药部位转变为非化学交联半固体凝胶,延长药物的作用时间<sup>[2]</sup>。非离子表面活性剂泊洛沙姆为聚氧乙烯和聚氧丙烯组成的ABA型嵌段共聚物,是制备温敏型原位凝胶的高分子药用辅料,其水溶液具有受热反向胶凝的性质,冷藏温度下是自由流动的液体,而体温时形成澄明的凝胶<sup>[3]</sup>。为了改善常规鼻喷剂易进入上呼吸道和滴鼻剂易流出鼻腔的缺点,本研究以温敏材料

泊洛沙姆407(P407)和泊洛沙姆188(P188)为辅料,制备了AH温敏型原位凝胶滴鼻剂。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ME204分析天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司);BCD-173GHS冰箱(中国海尔公司);Vortex-Genie旋涡振荡器(美国赛默飞公司);HH-4数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);Bohlin CVO旋转流变仪(英国马尔文公司)。

### 1.2 药品与试剂

AH对照品(贵州云峰药业有限公司,批号:201412036,纯度:99.5%);P407、P188(南京威尔化工有限公司,批号:20150313、20150132);生理盐水(辰欣药业股份有限公司,批号:201503238)。

## 2 方法与结果

### 2.1 温敏型原位凝胶的制备

参考AH鼻喷剂,采用冷溶法制备AH温敏型原位凝胶滴鼻剂,规格为10 ml:10 mg。称取适量P407和P188,置于生理盐水中,于 $4^\circ\text{C}$ 冰箱放置24 h,使其充分溶胀,得到澄清、分散均匀的空白凝胶基质;再称取AH对照品0.10 g,加到空白凝胶基质100 ml中,旋涡振荡至AH完全溶解,即得AH温敏型原位

\* 药师。研究方向:缓释制剂。电话:0537-2253972。E-mail:34397494@qq.com

# 通信作者:主管药师。研究方向:缓释制剂。电话:0537-2253972。E-mail:187372180@qq.com

凝胶。

## 2.2 胶凝温度的测定

采用试管倒转法<sup>[4-5]</sup>。取原位凝胶2 ml,置于10 ml玻璃试管中,密封,置于循环水浴中,缓慢加热水浴,每升高0.1 ℃,将试管倾斜90°,直至液面不再流动。将精密温度计水银球与试管中的凝胶基质处于同一水平面,此时精密温度计显示温度即为胶凝温度(Gelation temperature, GT),保留1位估计值,测3次取平均值。

## 2.3 相变温度的测定

采用旋转流变仪法<sup>[6]</sup>。取原位凝胶1 ml,置于旋转流变仪测试盘,调整振荡频率为1.0 Hz,应变率为1.0%,升温范围为20.0~45.0 ℃,温度分辨率为0.01 ℃,温度稳定性优于±0.1 ℃(水浴浸泡系统),升温速率为1 ℃/min。以复数模量( $G'$ )和复数黏度( $\eta'$ )为指标,当 $\eta'=G'$ 时,所对应的显示温度为相变温度(Sol-gel transition temperature,  $T_{sg}$ ),测3次取平均值。

## 2.4 P407和P188对GT的影响

在预试验的基础上,选择P407的处方用量(g/100 ml)为16%、18%、20%、22%、24%,P188的处方用量(g/100 ml)为0、1%、2%、4%、6%、8%,依据“2.1”项下方法制备AH温敏型原位凝胶,测定其GT。结果显示,AH温敏型原位凝胶的GT与P407用量之间呈负相关,即GT随P407用量的升高而降低;GT与P188用量之间呈正相关,即GT随P188用量的升高而增加。当P407≤16%、P188≥1%时GT均在40 ℃以上,已经高于人正常体温;当P407≥24%、P188≤4%时GT在平均室温(25 ℃)以下,故上述区域的处方在优化时不再研究。

## 2.5 星点设计-响应面法优化处方

以P407、P188的用量为因素,以 $T_{sg}$ 为指标,即P407处方用量为 $X$ ,P188处方用量为 $Y$ ,综合考虑取值范围 $X$ 为16%~22%、 $Y$ 为0~8%。2个因素的水平代码值和实际操作值由星点设计原理确定, $F=2k$ , $k=2$ , $\alpha=(F)/4=1.414$ ,水平数为±1.414、±1和0。因素与水平取值见表1,星点设计及响应值见表2。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

因素	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
$X, \%$	17	17.585 6	19	20.414 4	21
$Y, \%$	0	1.171 1	4	6.828 9	8

表2 星点设计及响应值( $n=3$ )

Tab 2 Composite design and response value( $n=3$ )

编号	$X$	$Y$	$T_{sg}, \text{℃}$			$\bar{x} \pm s$
			测得值1	测得值2	测得值3	
1	1	1	34.23	34.22	34.16	34.20±0.04
2	0	0	31.37	31.42	31.45	31.41±0.04
3	1.414	0	29.37	29.41	29.43	29.40±0.03
4	0	1.414	39.57	39.60	39.65	39.61±0.04
5	0	-1.414	24.45	24.37	24.40	24.41±0.04
6	-1.414	0	41.79	41.83	41.80	41.81±0.02
7	-1	1	44.76	44.67	44.69	44.71±0.05
8	0	0	33.46	33.38	33.38	33.41±0.05
9	0	0	31.37	31.42	31.45	31.41±0.04
10	0	0	31.37	31.42	31.45	31.41±0.04
11	-1	-1	34.65	34.73	34.75	34.71±0.05
12	1	-1	24.44	24.39	24.39	24.41±0.03
13	0	0	31.37	31.42	31.45	31.41±0.04

采用Design-Expert 8.0.6软件,以 $X$ 和 $Y$ 对 $T_{sg}$ 进行二元多项式回归。软件拟合的方程为 $T_{sg}=31.81-4.79X+5.16Y-0.05XY+2.07X^2+0.27Y^2$ ( $R^2=0.986 5$ 、 $P<0.000 1$ )。各项方差分析结果见表3,Design-Expert 8.0.6软件生成的二维等高线图见图1、三维响应面图见图2。

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

变异来源	平方和	自由度	均方	$F$	$P$
模型	426.90	5	85.38	102.02	<0.000 1
$X$	183.94	1	183.94	219.28	<0.000 1
$Y$	213.07	1	213.07	254.00	<0.000 1
$XY$	0.01	1	0.01	0.01	0.911 9
$X^2$	29.88	1	29.88	35.62	0.000 6
$Y^2$	0.53	1	0.53	0.63	0.454 4
残差	5.87	7	0.84		
失拟项	2.67	3	0.89	1.12	0.439 1
纯误差	3.20	4	0.80		
总差	432.77	12			

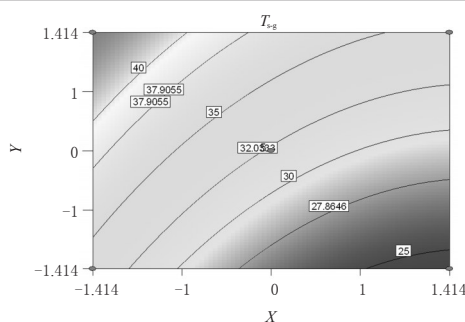


图1 P407、P188用量对 $T_{sg}$ 的等高线图

Fig 1 Contour map of the amount of P407 and P188 to  $T_{sg}$

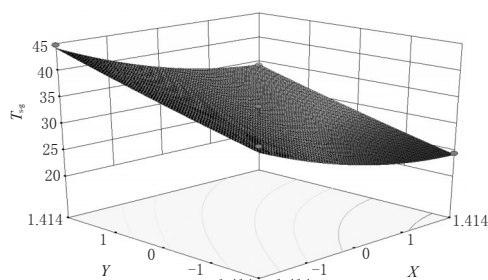


图2 P407、P188用量对 $T_{sg}$ 的三维响应面图

Fig 2 Three-dimensional response surface of the amount of P407 and P188 to  $T_{sg}$

## 2.6 优选处方与验证试验

依据鼻腔的生理温度为32~35 ℃, $T_{sg}$ 以略低于鼻腔生理温度为宜,确定 $T_{sg}$ 为30、31、32 ℃3个目标温度,由Design-Expert 8.0.6软件系统生成优选处方。转成P407-P188用量之比为20.414 4% : 4.497 9%、20.414 4% : 5.035 4%、20.414 4% : 5.564 4%,优选处方重复3次。将预测值与实测值进行比较并计算偏差[偏差=(预测值-实测值)/预测值×100%]。偏差结果显示,拟合模型较为可靠,最后选择P407为20.414 4%、P188为5.035 4%时为最优处方。处方优选与验证试验结果见表4。

按最优处方制备的3批次AH温敏型原位凝胶中AH的含量占标示量的百分比分别为97.95%、99.20%、98.98%,RSD为0.68%( $n=3$ )。

表4 处方优选与验证试验结果(n=3)

Tab 4 Results of formulation optimization and verification test(n=3)

X, %	Y, %	T <sub>sg</sub> 预测值, °C	T <sub>sg</sub> 实测值( $\bar{x} \pm s$ ), °C	偏差, %
20.414 4	4.497 9	30	30.21 ± 0.02	-0.70
20.414 4	5.035 4	31	30.81 ± 0.02	0.61
20.414 4	5.564 4	32	32.32 ± 0.03	-1.00

### 3 讨论

#### 3.1 原位凝胶

原位凝胶是一种新型的以非离子表面活性剂泊洛沙姆为主的药物传递系统,在使用前是可流动的液体,当环境变化时可迅速发生相转变,形成半固体状态凝胶,有利于局部给药和延缓药物释放<sup>[7]</sup>。温敏型原位凝胶是依据温度变化而发生相转变的一种原位凝胶,在储藏条件下是自由流动的液体,温度升高可在局部形成凝胶<sup>[3,8]</sup>。

鼻腔为生理性呼吸道,喷雾剂容易导致部分药物进入上呼吸道,影响鼻腔局部用药的药物浓度及药效;常规滴鼻剂容易流出鼻腔,同样会影响鼻腔局部用药的药物浓度及药效。同时,鼻纤毛摆动具有一定的清除作用,会影响某些药物在鼻腔中的滞留时间,影响药物生物利用度<sup>[9-10]</sup>。原位凝胶滴鼻剂可黏附于鼻黏膜表面,增加药物与鼻黏膜的亲合力,延长药物在鼻腔中的作用时间,减少药物流失,提高生物利用度<sup>[11]</sup>。

#### 3.2 GT和T<sub>sg</sub>

GT是凝胶体系中胶束聚集,已形成半固体状凝胶时的温度<sup>[6]</sup>。GT的测定方法主要有搅拌子法、黏度法、试管倒转法等。搅拌子法以磁力搅拌子完全停止转动的温度为GT<sup>[12]</sup>;黏度法是以黏度变化产生突跃时的温度为GT<sup>[13]</sup>;试管倒转法是以液体不发生流动时的温度为GT<sup>[4-5]</sup>。3种方法均有文献报道,各有优缺点。试管倒转法最为简单易行、使用较早,本研究以其对处方的GT进行测定,并通过控制升温速度、精确控温、增加倒转观察次数以追求更客观的结果。试验证实,GT和T<sub>sg</sub>并不完全吻合。

T<sub>sg</sub>是形成凝胶的起始温度<sup>[6]</sup>。主要检测方法为旋转流变仪法,该法仅需要将1 ml凝胶加入旋转流变仪测试盘,就能够准确测出G和η相等时的相转变温度值。该法精确、检测结果重复性好。结果表明,T<sub>sg</sub>低于GT。

AH温敏型原位凝胶滴鼻剂需要在鼻腔内较快展开成薄膜,选择T<sub>sg</sub>为指标更为合适。

#### 3.3 星点设计-响应面法优化处方

星点设计是一种较好的试验设计方法,由2水平析因设计加轴点及中心点组成,是一种多因素5水平的试验设计。在统计学中,响应面法探讨了几个解释变量与1个或多个效应变量之间的关系<sup>[14]</sup>。星点设计-响应面法最早用于普通剂型处方的筛选,近年来在新型给药系统处方筛选、工艺优化、探索配方和论证方法方面应用较多,可对诸多影响因素及水平作出比

较,以考察各种不同试验条件对结果的影响,并对结果进行优化,从而得到最优结果<sup>[15-16]</sup>。本研究的优选过程、拟合方程和验证结果显示,星点设计-响应面法模型精度高、预测性良好,可用于AH温敏型原位凝胶滴鼻剂处方的优化。

### 参考文献

- [1] Ni HL, Yue WJ, Feng HM, et al. Clinical efficacy of azelastine nasal spray for allergic rhinitis[J]. *Health Medicine Research and Practice*, 2014, 11(4):45.
- [2] 贾伟,高文远.药物控释新剂型[M].北京:化学工业出版社,2005:292-294.
- [3] 李欣宇.泊洛沙姆温敏型原位凝胶的研制[D].重庆:重庆医科大学,2008:25-27.
- [4] Lu C, Liu M, Fu H, et al. Novel thermosensitive in situ gel based on poloxamer for uterus delivery[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, doi:10.1016/j.ejps.2015.05.014.
- [5] 李曼,张恩娟.星点设计-效应面法优化托吡卡胺温敏型原位凝胶处方[J]. *中国药房*, 2013, 24(45):4 273.
- [6] 王玉柱,职瑞娜,兰梦宁,等.尼非韦罗微乳热敏原位凝胶相变性和体外释药行为[J]. *中国药理学杂志*, 2014, 12(4):131.
- [7] 魏刚,徐晖,郑俊民.原位凝胶的形成机制及在药物控制释放领域的应用[J]. *中国药理学杂志*, 2003, 38(8):564.
- [8] 赵宇,王晓波,张治然,等.温敏凝胶的研究与应用进展[J]. *中国药房*, 2015, 26(1):132.
- [9] 张罗,韩德民,王琪.鼻腔黏液纤毛传输系统功能的评估[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2006, 13(7):507.
- [10] 李玲,马海忠,廖明琪.鼻腔给药系统类型及临床应用进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(17):1 615.
- [11] 肖春雷,朱家壁,孙超.氢溴酸高乌甲素鼻用原位凝胶剂的制备及其处方评价[J]. *药学研究*, 2009, 33(9):416.
- [12] 丁维明,李眉,李桂玲,等.盐酸博安霉素注射用温度敏感原位凝胶的研究[J]. *药学学报*, 2011, 46(6):727.
- [13] 陈燕军,刘华凤,金日显,等.可注射硫酸延胡索总碱温度敏感型原位凝胶的制备及其体外释药评析[J]. *中国新药杂志*, 2010, 19(23):2 132.
- [14] 吴伟,崔光华.星点设计-效应面优化法及其在药学的应用[J]. *国外医学药学分册*, 2000, 27(5):292.
- [15] 吴琳,彭欣,孙芳,等.星点设计-效应面优化法与中药学实验研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2014, 38(6):582.
- [16] 彭艺飞,黄华,王慧,等.星点设计-效应面法优化制备酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶[J]. *中国药房*, 2014, 25(45):4 279.

(收稿日期:2015-06-04 修回日期:2015-09-17)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,欢迎投稿、订阅