

# 石杉碱甲渗透泵控释微丸的制备及其药动学研究

尹丽娜<sup>1</sup>, 张雅雯<sup>1</sup>, 陈晓晓<sup>2</sup>, 周云琍<sup>2</sup>, 陈燕<sup>2</sup>, 郑高利<sup>1\*</sup> (1. 浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

**摘要:**目的 制备石杉碱甲渗透泵控释微丸,并探讨其在 Beagle 犬内的药动学特性。方法 采用挤出滚圆法制备渗透泵含药丸芯,以乙基纤维素和 PEG400 用量为考察因素结合星点设计效应面法优选包衣液处方,通过流化床包衣工艺制备石杉碱甲渗透泵控释微丸。按最优处方制备 3 批微丸并以累积释放度与时间进行零级、一级、Higuchi 方程拟合考察其释药特性。以市售的石杉碱甲普通片为参比制剂,考察自制石杉碱甲渗透泵控释微丸的体内药动学特点,并比较两制剂的生物等效性。结果 微丸最优处方为 PEG400 用量 10.5%,乙基纤维素用量 61.5%,所制备的石杉碱甲渗透泵控释微丸 24 h 内释药具有零级释放特征,释放动力以渗透压为主。自制石杉碱甲渗透泵控释微丸的  $t_{\max}$  与  $\rho_{\max}$  明显低于参比制剂,其  $t_{1/2}$  比参比制剂延长约 1 倍,相对生物利用度为 95.8%。结论 Hup-A 渗透泵控释微丸在 Beagle 犬中有较好的缓释效果,体内相关性良好。

**关键词:**石杉碱甲;渗透泵控释微丸;星点设计效应面;零级释放;渗透压;累积释放度;药动学

doi:10.11669/cpj.2019.09.009 中图分类号:R944 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)09-0720-06

## Preparation and Pharmacokinetics of Huperzine A Micro-porous Osmotic Pump Pellets

YIN Li-na<sup>1</sup>, ZHANG Ya-wen<sup>1</sup>, CHEN Xiao-xiao<sup>2</sup>, ZHOU Yun-li<sup>2</sup>, CHEN Yan<sup>2</sup>, ZHENG Gao-li<sup>1\*</sup> (1. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2. Department of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To prepare huperzine A micro-porous osmotic pump pellets and to investigate the pharmacokinetic properties in Beagle dogs. **METHODS** The extrusion-spheronisation method was used to prepare the core of huperzine A pellets which then coated by fluid-bed coating technology. Central composite design-response surface method was used to optimize the prescription of coating layer. Then Zero-order, First-order and Higuchi equation of cumulative release with time were fitted to study its release characteristics. The commercially available huperzine A tablets were used as reference preparations to investigate the *in vivo* pharmacokinetics of huperzine A micro-porous osmotic pump pellets, and the bioequivalence of the two preparations were compared. **RESULTS** The formula of coating was optimized as follows: EC of 61.5%, PEG400 of 10.5%. Zero-order kinetics existed in the release of the pellets in 24 h. Moreover, the osmotic pressure-controlled delivery was greatly responsible for drug release. *In vivo* study showed that  $t_{\max}$  and  $\rho_{\max}$  of huperzine A micro-porous osmotic pump pellets were significantly lower than that of the reference preparation, and its  $t_{1/2}$  was significantly prolonged compared with the reference preparation, the relative bioavailability was 95.8%. **CONCLUSION** Huperzine A micro-porous osmotic pump pellets had a better sustained release effect in the Beagle dog and have a good correlation *in vivo*.

**KEY WORDS:** huperzine A; micro-porous osmotic pump pellets; central composite design-response surface method; Zero-order release; osmotic pressure; *in vitro* accumulation release; pharmacokinetics

石杉碱甲(huperzine A, Hup-A)是由中国科学家首先发现的药物之一,是临床治疗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)比较有前途的新一代乙酰胆碱酯酶抑制剂。与其他开发用于治疗药物相比,Hup-A 的化学结构独特,具有口服生物利用度高、易通过血脑屏障、多靶点作用,而且多次给药不会产生耐受性等特点<sup>[1-2]</sup>。但 Hup-A 的药动学数据

显示,其半衰期短,仅为 4 h<sup>[3]</sup>,目前上市的 Hup-A 口服制剂每日需给药 2~3 次,容易造成血药浓度波动出现“峰谷”现象而导致不良反应。

微孔型渗透泵(controlled porosity osmotic pump, CPOP)是近年来发展的新型渗透泵制剂,释药速率一般不受释放介质 pH 值、搅拌速度以及胃肠蠕动、食物等因素的影响,体内外相关性较好,可避免普通

**基金项目:**浙江省神经精神疾病药物研究重点实验室资助项目(2019E10021);浙江省医药卫生科技计划项目资助(2018KY349);浙江省自然科学基金资助(LQY18H300002)

**作者简介:**尹丽娜,女,助理研究员,硕士研究生 研究方向:创新性给药系统研究 \*通讯作者:郑高利,男,博士,研究员 研究方向:药理学应用基础研究、新药筛选和新药有效性评价 Tel: (0571)88215620 E-mail: gaoli-z@163.com

口服制剂造成的血药浓度波动较大的现象,极大的提高药物安全性和有效性<sup>[4]</sup>。不同于传统渗透泵制剂,该类制剂无需激光或其他机械设备在衣膜上打孔,主要依靠在衣膜中的水溶性致孔剂遇水形成通道增加衣膜的通透性,且药物通过致孔剂形成的微孔释放出来。微孔渗透泵制剂的制备工艺简单,可以降低或避免由于单一释药孔释药造成的局部药物浓度过高产生的副作用和释药孔堵塞造成的药物无法释放,因此微孔渗透泵制剂具有较好的应用前景<sup>[5]</sup>。已有大量微孔渗透泵片的研究报道<sup>[6-10]</sup>,随着制剂技术的发展,一批新型微孔型缓控释制剂相继出现,如微孔型渗透泵微丸、微孔型渗透泵颗粒和微孔型渗透泵胶囊。其中微孔型渗透泵微丸作为多单元给药系统,不仅具有渗透泵片剂的优点,同时还具有局部刺激小以及单个个别微丸的质量破损不影响其整体释药及治疗效果的优点,已经成为当今口服缓释固体制剂研究与开发的一个重要方向。目前,国内外针对 Hup-A 微孔渗透泵控释微丸制剂研究工作尚未开展。

本实验采用挤出-滚圆法结合流化床制备得到石杉碱甲渗透泵控释微丸并进一步考察在 Beagle 犬体内的药动学特点,为其进一步开发和应用奠定基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

多功能流化床(DPL-Ⅱ,重庆精工制药机械有限责任公司);智能溶出试验仪(ZRS-8G,天津大学无线电厂);挤出滚圆机(自制);高效液相色谱仪(LC-10AT VP, Shimadzu 公司, Japan);紫外检测器(SPD-10AVP, Shimadzu 公司, Japan);水分测定仪(MA35,赛多利斯);电子天平(AL104,梅特勒公司);恒温磁力搅拌器(85-2,郑州长城科工贸有限公司);LC-MS/MS 液相色谱质谱联用仪(API, Agilent 1100 series, 美国安捷伦公司);台式离心机(TGL-16C, TGL-60C, Anke 公司);涡旋混合器(ZH-2, BLENDER, 天津药典标准仪器厂);氮吹仪(UGG-12T, 北京优晟联合科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

Hup-A(纯度 99.0%, 浙江万邦药业, 批号: SSJJ130704);乳糖(REAK, 批号: 20140808);蔗糖(安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 20150712);氯化钠(西安悦来医药科技有限公司,

批号: 20150921);乙基纤维素(45~55 mPa·s, 阿拉丁公司, 批号: J1416012);聚乙二醇 400(PEG400, 上海士峰生物科技有限公司, 批号: 25322-68-3);邻苯二甲酸二丁酯(成都市科龙化工试剂厂, 批号: 2014031201);受试制剂(渗透泵丸, 规格 100 μg: 将含药微丸套于 4 号硬丸中, 即得);参比制剂(市售 Hup-A 片, 规格 50 μg, 河南太龙药业股份有限公司);Hup-A 对照品(纯度 98.4%, 中国食品药品检定研究院, 批号: 100243-201202);石杉碱乙(Hup-B)(纯度为 99.0%, 浙江万邦药业, 浙江省药检所标化);乙腈、甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

Beagle 犬, 体重为(12±2) kg, 雄性(浙江嘉安实验动物有限公司), 给药禁食 12 h, 自由饮水。

## 2 方法和结果

### 2.1 渗透泵控释微丸含量测定

**2.1.1 色谱条件<sup>[11]</sup>** 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾缓冲液(pH 2.5)=14:86;流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温: 30℃;检测波长: 310 nm;进样量: 20 μL。方法专属性和精密度良好。

**2.1.2 样品含量测定** 取渗透泵控释微丸适量, 充分研细, 精密称定(约含 Hup-A 50 μg), 至 10 mL 量瓶, 加 2 mL 无水乙醇, 超声 20 min, 再加 0.01 mol·L<sup>-1</sup> HCl 至近刻度, 超声 10 min, 补加 0.01 mol·L<sup>-1</sup> HCl 至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取 20 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 即得。

### 2.2 释放度的测定

按溶出度和释放度测定法(《中国药典》2015 年版四部通则 931 第一法)的装置。取待测渗透泵控释微丸置转篮中, 各释放介质体积为 500 mL, 转速为 100 r·min<sup>-1</sup>, 温度为(37±0.5)℃, 分别在 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、10、12、20、24 h 定时取样 5 mL, 并补加 37℃ 同体积相应释放介质。样品经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。取续滤液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 计算不同时间释放度。

### 2.3 渗透泵丸芯的制备

采用挤出滚圆法制备含药丸芯, 具体处方工艺如下: 将 Hup-A 50 mg, 乳糖 100 g 和氯化钠 10 g 混合均匀。加入 80% 蔗糖溶液 25 mL 制软材, 将软材经挤出机挤出, 并立即转移至滚圆机中, 以 40 r·min<sup>-1</sup> 的频率滚圆 30 min, 并于 55℃ 下干燥 3 h, 过

筛收集 24 ~ 30 目之间的微丸即得。

## 2.4 渗透泵控释微丸的制备

**2.4.1 包衣工艺的确定** 取含药丸芯 100 g, 置流化床中, 采用底喷工艺对含药丸芯进行控释层的包衣。底喷工艺参数: 风机频率为 30 ~ 35 Hz、雾化压力为 0.15 MPa、包衣温度范围为 30 ~ 35 °C、喷液速度从  $2 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  缓慢增至  $40 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。包衣结束后, 流化床干燥 1 h。

**2.4.2 微丸控释包衣处方筛选** 包衣材料乙基纤维素用量对药物释放的影响: 本实验选用乙基纤维素 (EC) 为膜材, PEG400 作为致孔剂, 邻苯二甲基二丁酯为增塑剂, 考察乙基纤维素用量为含药丸芯的 50%、60% 及 70% 对微丸释放行为的影响, 其中致孔剂用量为乙基纤维素的 10%, 增塑剂用量为乙基纤维素的 20%。结果见图 1。图 1 结果显示, 随着包衣膜用量的增加, 释药孔道变得曲折, 药物释放速率减慢。当包衣膜中 EC 含量为 50% 时, 药物释放过快, 6 h 已释放了 70%; 当包衣膜中 EC 含量为 70% 时, 24 h 药物累积释放度仅为 86%。说明通过调节包衣膜的用量可达到适合的释药曲线, 为进一步的处方优化提供可行的依据。

致孔剂 PEG400 用量对药物释放的影响: 保持乙基纤维素用量为 60%, 增塑剂用量为乙基纤维素的 20%, 考察致孔剂 PEG400 用量为 EC 的 5%、10% 及 15% 时对 Hup-A 释放的影响 (图 2)。由图 2 可知, 药物的释放随着致孔剂用量的增加而加快。当包衣膜中 PEG400 含量为 15% 时, 药物释放过快, 6 h 已释放了 70%; 当包衣膜中 PEG400 含量为 5% 时, 药物释放 20 h 后, 药物累积释放度仅 83%。因此, 致孔剂用量的改变对药物释放速率影响较大, 通过调节包衣膜中 PEG400 的用量可获得恒定的释药速率。

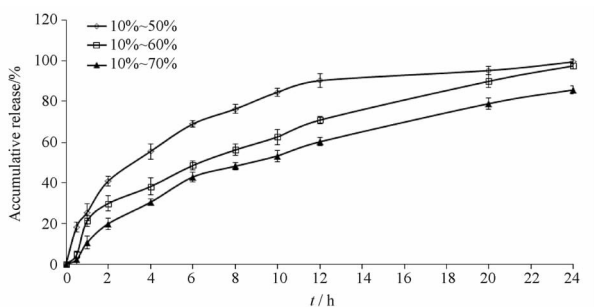


图 1 EC 用量对释药的影响.  $n=3, \bar{x} \pm s$

**Fig. 1** Effect of EC content on release of Hup-A micro-porous osmotic pump pellets.  $n=3, \bar{x} \pm s$

## 2.5 释药机制的研究

### 2.5.1 不同渗透压的释放介质对药物释放影响

以不同浓度 NaCl 溶液 (0.5、1.0、1.5 和  $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 为释放介质, 考察 Hup-A 渗透泵控释微丸的药物释放行为 (图 3)。

由图 3 可得, 随着氯化钠浓度提高, 释放介质的渗透压也随之提高, 药物体外释放累积度降低。提示其释药速率与渗透压相关。

**2.5.2 释放介质 pH 值对药物释放的影响** 分别以蒸馏水、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl、pH 4.0 乙酸盐缓冲液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液为释放介质, 模拟胃肠道的 pH 值变化, 考察 Hup-A 渗透泵控释微丸释放是否受体内释药环境影响 (图 4)。

由图 4 可得, 药物在不同 pH 值释放介质中的释放基本一致, 提示释放介质 pH 值对 Hup-A 渗透泵控释微丸的释药行为影响较小。

**2.5.3 释药模型拟合** 分别采用零级模型、一级模型、Higuchi 模型对 Hup-A 渗透泵控释微丸的体外释药曲线进行拟合, 探讨 Hup-A 渗透泵控释微丸的释药机制。结果显示 (表 1), 释放曲线经零级方程拟合相关性最好。说明以 EC/PEG400 为膜材制得的微丸其释药机制是一种渗透泵控释的零级释放,

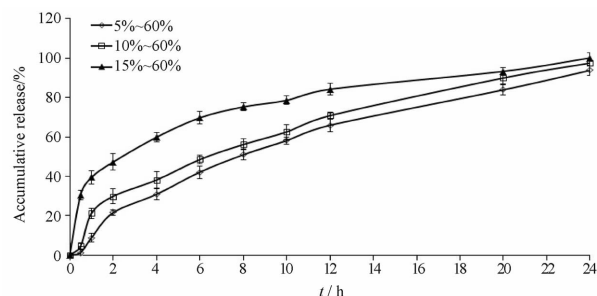


图 2 PEG400 用量对释药的影响.  $n=3, \bar{x} \pm s$

**Fig. 2** Effect of PEG400 content on release of Hup-A micro-porous osmotic pump pellets.  $n=3, \bar{x} \pm s$

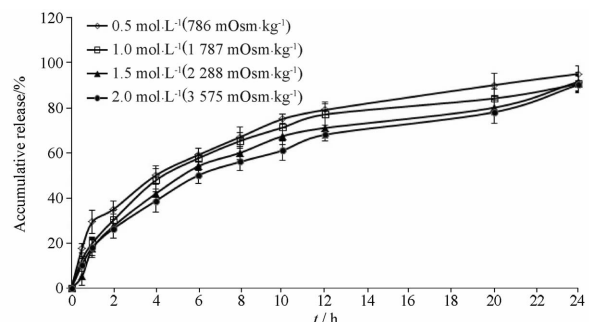


图 3 不同渗透压环境下药物释放曲线.  $n=3, \bar{x} \pm s$

**Fig. 3** Effect of the content of the NaCl on release of Hup-A micro-porous osmotic pump pellets.  $n=3, \bar{x} \pm s$

微丸中的致孔剂以极细小微粒分布于衣膜中,通过胃肠道时,衣膜与水接触后,致孔剂溶解于水,衣膜上形成无数微孔,水由微孔渗入内部,进入丸芯,使药物溶解为饱和溶液。因此在释药初期,药物释放以扩散为主;当微丸包衣膜孔道基本全部打开,微丸膜内侧的药物浓度也处于饱和状态,药物的释放不受孔道的影响,故在较长时间内药物的释放基本达到恒定释放速率。

## 2.6 Beagle 犬体内药动学评价

**2.6.1 血药浓度测定条件** 色谱条件:色谱柱:岛津 C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1% 甲酸水溶液 = 85:15 (V/V);流速为 0.5 mL · min<sup>-1</sup>;柱温为 25 °C;进样量为 5 μL。

质谱条件:离子源:Turbo Ionspray 源;扫描方式:选择性多离子监测(MRM),正离子方式;监测离子对:Hup-A *m/z* 243.2/210.1;Hup-B *m/z* 257.2/198.2;离子源温度 400 °C;雾化气 8 kPa;气帘气 9 kPa;碰撞气 5 kPa;电离电压 5 000 V;聚焦电压 400 V;入口电压 12 V;撞池出口电压 11 V。

**2.6.2 血样处理** 精密移取犬血浆 0.5 mL,加入 1 mol · L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 100 μL,涡旋,再加入 6 mL 二氯甲烷溶液,涡旋后离心 (5 500 r · min<sup>-1</sup>, 10 min),取上清液,氮气吹干。残留物加 100 μL 甲醇复溶,样品离心 (10 000 r · min<sup>-1</sup>, 5 min),取上清液,按“2.6.1”项下 LC-MS/MS 条件测定。

**2.6.3 方法学研究** 精密称取 Hup-A 对照品适量,加甲醇溶解并定容至质量浓度为 40 μg · mL<sup>-1</sup>,

进一步稀释至 0.025 μg · mL<sup>-1</sup> 作为标准溶液;精密称取石杉碱乙 (Hup-B) 对照品适量,用甲醇溶解并稀释至质量浓度为 0.1 μg · mL<sup>-1</sup> 的溶液作为内标储备液;精密量取受试比格犬空白血浆 0.5 mL 分别置于 15 mL 塑料管中,用 Hup-A 标准溶液及内标储备液配制药物质量浓度为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 ng · mL<sup>-1</sup> 的血浆样品溶液,按“2.6.2”项下方法处理后进样分析。以 Hup-A 血药浓度 (ρ, ng · mL<sup>-1</sup>) 为横坐标,峰面积 (Y) 为纵坐标 (Y = Hup-A 的峰面积 A<sub>i</sub>/内标峰面积 A<sub>s</sub>) 进行线性回归,得标准曲线方程为 Y = 0.103 9ρ + 0.158 9, r = 0.999 5。结果表明,在 0.2 ~ 8.0 ng · mL<sup>-1</sup> 内,线性关系良好;方法的定量下限 (LLOQ) 是 0.2 ng · mL<sup>-1</sup> (RSD = 12.45%, n = 5)。

计算得质量浓度为 1.0, 2.0, 4.0 ng · mL<sup>-1</sup> 样品方法回收率在 101.5% ~ 105.6%,提取回收率在 65.6% ~ 85.6%,内标的提取回收率为 75% 左右,日内、日间精密度均小于 15% (n = 5)。

**2.6.4 试验方案** 取健康的 Beagle 犬 4 只,编号 1、2、3、4,给药前禁食 12 h,不禁水;首先分别口服剂量为 200 μg 的 Hup-A 渗透泵控释微丸,会咽部给药,用导管经食道灌水 30 mL 送服。经一周清洗期后,4 只同样健康 Beagle 犬口服参比制剂 200 μg,分别于给药后的 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、10、12、16、24 h,在 Beagle 犬前腿静脉处采血 2 mL,置肝素化试管,离心 (5 000 r · min<sup>-1</sup>, 10 min),血浆样品按“2.6.2”项下方法处理,通过标准曲线,计算各时刻的血药浓度。

**2.6.5 药动学数据分析** 利用药物统计软件 PK-Solver V2.0 计算药动学参数,峰浓度 (ρ<sub>max</sub>) 和达峰时间 (t<sub>max</sub>) 为实测值;以不同时间点的血药浓度药物动力学参数,用梯形法计算 AUC<sub>0-t</sub> 和 AUC<sub>0-∞</sub>,以半对数作图法计算 K<sub>e</sub>,末相消除半衰期 (t<sub>1/2</sub>) 以 0.693 除以 K<sub>e</sub> 计算。

**2.6.6 Hup-A 渗透泵控释微丸药动学结果** Beagle 犬口服自制 Hup-A 渗透泵控释微丸及参比制剂后血药浓度-时间曲线见图 5,药物动力学参数见表 2。结果表明,Hup-A 渗透泵控释微丸的 t<sub>max</sub> 与 ρ<sub>max</sub> 明显低于参比制剂,其 t<sub>1/2</sub> 延长约 1 倍,表明 Hup-A 渗透泵控释微丸在 Beagle 犬中控释效果较好,血药浓度较为平稳。

**2.6.7 生物等效性评价** 利用药物统计软件 (DAS 2.0) 对药动学参数 AUC<sub>0-t</sub>、ρ<sub>max</sub> 经对数转换后进行方差分析及双向单侧 t 检验,受试制剂和参比制剂的

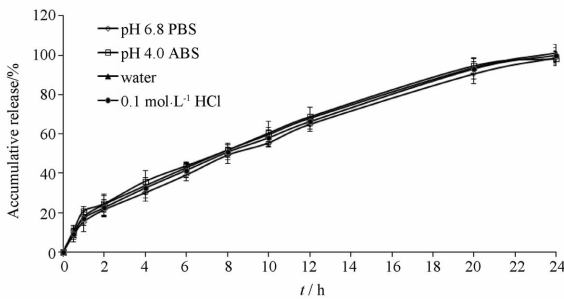


图 4 释放介质对药物体外释放的影响.  $n=3, \bar{x} \pm s$

Fig. 4 Effect of different medium on release of Hup-A micro-porous osmotic pump pellets.  $n=3, \bar{x} \pm s$

表 1 Hup-A 渗透泵控释微丸释放度模型拟合

Tab. 1 Results of equations and fitted model

Drug release model	Fitting equation	r <sup>2</sup>
First-order	$\ln(1-Q) = 0.002t + 0.1212$	0.9593
Zero-order	$Q = 0.00006t + 0.1873$	0.9958
Higuchi	$Q = 0.0257t^{1/2} - 0.0784$	0.9926

$t_{\max}$  采用非参检验结果,结果显示  $P = 0.019 < 0.05$ ,说明两种制剂存在显著性差异。以  $AUC_{0-t}$  计算,受试制剂的生物利用度为 95.8%,将参比制剂和受试制剂的  $AUC_{0-t}$  对数转换后,方差分析的结果  $P = 0.714 > 0.05$ ,无统计学意义。 $AUC$  转换后的双向单侧  $t$  检验结果表明,受试制剂生物利用度在参比制剂的  $[1-2\alpha]$  置信区间 82.8%~111.0% 内,符合等效范围(表 3)。另外,结果表明,参比制剂和受试制剂的  $\rho_{\max}$  经对数转换后检验,其方差分析结果表明,药剂间  $P = 0.000 < 0.05$ ,具有显著性差异; $\rho_{\max}$  的  $[1-2\alpha]$  置信区间为 31.2%~54.3%,超出了参比制剂 70%~143% 的范围(表 4)。结果表明,2 种制剂  $\rho_{\max}$  不符合生物等效性的要求,渗透泵控释微丸的峰浓度显著降低, $AUC_{0-t}$  生物等效,符合控释制剂的基本要求。

**2.6.8 体内外试验相关性评价** 为考察药物体内外相关性,比较体内吸收分数( $F_a$ )和体外累计释放百分率( $F$ )。通过 Wagner-Nelson 方程计算服药后不同时间点的  $F_a$  [12]。公式如下:

$$F_a = \frac{\rho_t + K_e * AUC_{0-t}}{K_e * AUC_{0-\infty}} \quad (1)$$

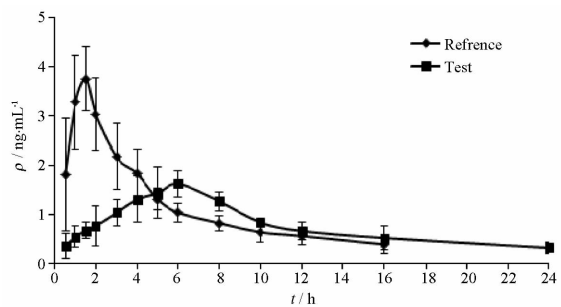


图 5 参比制剂和 Hup-A 渗透泵控释微丸在 Beagle 犬内的血药浓度与时间曲线。  $n = 4, \bar{x} \pm s$

Fig. 5 The plasma concentration after oral administration of Hup-A formulations to Beagle dogs.  $n = 4, \bar{x} \pm s$

表 2 Hup-A 渗透泵控释微丸和参比制剂 Beagle 犬体内的药动学参数。  $n = 4, \bar{x} \pm s$

Tab. 2 The pharmacokinetic parameters of test capsules and reference tablets.  $n = 4, \bar{x} \pm s$

Parameter	Test	Reference
$t_{\max}/h$	$6.0 \pm 0.0$	$1.3 \pm 0.3$
$\rho_{\max}/ng \cdot mL^{-1}$	$1.7 \pm 0.2$	$4.0 \pm 0.5$
$K_e/h^{-1}$	$0.2 \pm 0.1$	$0.7 \pm 0.3$
$t_{1/2}/h$	$9.6 \pm 2.2$	$4.9 \pm 2.1$
$MRT_{0-\infty}/h$	$14.8 \pm 2.1$	$7.0 \pm 2.1$
$AUC_{0-t}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$18.3 \pm 0.8$	$19.1 \pm 1.9$
$AUC_{0-\infty}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$22.5 \pm 1.9$	$21.4 \pm 0.4$

表 3 口服参比制剂和受试制剂后的  $AUC_{0-t}$  生物等效性分析结果

Tab. 3 The outcome of bioequivalence in different formulations

ANOVA	SS	DF	MS	F	P
Total variation	0.029	7	0.004		
Pharmacy	0.004	1	0.004	0.714	0.374
Period	0.000	1	0.000	0.000	0.374
Individual	0.015	3	0.005	0.991	0.001
Total error	0.010	2	0.005		

Average bioequivalence (ABE) : confidence region method (A : R)

Relative bioavailability (F%)	Value	Conclusion
	0.958	
Equivalence margin	80.0% - 125.0%	
$[1-2\alpha]$ confidence region	82.8% - 111.0%	Qualification

表 4 口服参比制剂和受试制剂后的  $\rho_{\max}$  生物等效性分析结果

Tab. 4 The outcome of bioequivalence in different formulations

ANOVA	SS	DF	MS	F	P
Total variation	1.614	7	0.234		
Pharmacy	1.575	1	1.575	87.793	0.000
Period	0.030	1	0.030	1.654	0.208
Individual	0.000	3	0.000	0.007	0.989
Total error	0.036	2	0.018		

Average bioequivalence (ABE) : confidence region method (A : R)

Relative bioavailability (F%)	Value	Conclusion
	0.412	
Equivalence margin	70.0% - 143.0%	
$[1-2\alpha]$ confidence region	31.2% - 54.3%	Disqualification

式中  $\rho_t$  为  $t$  时间的血药浓度;  $K_e$  为消除速率常数。对 0~24 h 的体外释放百分率( $F$ )与体内吸收分数( $F_a$ )进行线性回归,计算相关系数数据,其回归方程为:  $F_a = 0.9511 + 3.8406F$ ,  $r = 0.963$ ; 当自由度为 5,  $\alpha = 0.01$  时,  $r_{0.01(5)} = 0.874 < 0.963$ ,因此在置信区间为 99%,体外释放与体内吸收之间具有良好的相关性。

### 3 讨论与分析

**3.1** 目前挤出滚圆制备素丸辅料主要为微晶纤维素(MCC)、乳糖等,但 MCC 存在表面易吸附药物、释药不完全等局限性。而乳糖具有促渗透作用,能够快速崩解、迅速释放药物,且不会像非崩解性 MCC 素丸形成骨架型药物释放。因此,本实验将以乳糖为材料制备素丸。

本实验分别以粒径和粒径分布、堆密度、休止角和脆碎度为指标对黏合剂蔗糖溶液的用量进行了考察,当黏合剂的用量为 25 mL 时,24~30 目间素丸的圆整度和收率都到相对较优的水平。

**3.2** 在制备渗透泵含药丸芯时,通过加入渗透压促

进剂,协助药物产生渗透压来维持药物的释放。当水分渗入包衣膜后溶解渗透压促进剂,产生具有很高渗透压的溶液,使药物溶解于其中,从释药孔中释放出来。氯化钠为离子型促渗剂,较非离子型促渗剂可更快的释放药物<sup>[13]</sup>。本实验选择氯化钠作为渗透压促进剂制备丸芯。

**3.3** 以挤出滚圆法制备 Hup-A 渗透泵丸芯,影响滚圆过程的参数主要是滚圆时间和滚圆速度。以粒径分布、堆密度、休止角和脆碎度为指标对滚圆时间和速度进行了考察,最终确定滚圆速度为  $40 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,滚圆时间为 30 min。

**3.4** 本实验在单因素试验的基础上,采用星点设计效应面法,以 EC 用量和致孔剂用量为考察因素,以微丸在 2、6、12、24 h 的累积释放度为评价指标对方进行优化。得到微丸最优处方为 PEG400 用量 10.5%,EC 用量 61.5%。按此处方制备 3 批渗透泵控释微丸验证结果显示,各效应值的预测相对误差小于 5%,采用相似因子法对 3 个批次间渗透泵控释微丸的释放进行相似性判定,其两两之间的  $f_2$  值均大于 80,即 3 个批次间渗透泵控释微丸的制备工艺重现性良好。

**3.5** 建立色谱-质谱联用技术检测比格犬中微量 Hup-A,方法简便灵敏,专属性好、精密度高,可用于本品的体内药动学研究测定。采用二氯甲烷、甲基叔丁基醚和乙酸乙酯为有机相进行液液萃取,结果显示,药物提取率二氯甲烷 > 乙酸乙酯 > 甲基叔丁基醚。故血浆中药物的萃取工艺为以二氯甲烷为有机相,涡旋萃取 10 min。

**3.6** 采用双周期试验设计,对健康 Beagle 犬喂食自制 Hup-A 渗透泵控释微丸和市售参比片剂后的药动学研究。药动学结果表明,受试制剂较参比制剂, Hup-A 达峰时间、消除半衰期明显延长,血药浓度平稳且维持时间长;经  $\text{AUC}_{0-t}$  的方差分析及双单侧  $t$  检验表明 2 种制剂生物等效。

**3.7** 在 0~24 h 内对体外累积释放度( $F$ )与体内吸收分数( $F_a$ ),在进行点对点线性回归。经计算,相

关系数  $r=0.963$ ,相关性显著。说明 Hup-A 渗透泵的体内相关性良好,体外释放度检测可以控制制剂的质量。

## REFERENCES

- [1] XU H B, WANG X P, LIU B L. Pharmacological studies and clinical application of huperzine A[J]. *World Clin Drugs* (世界临床药物), 2014, 35(1):60-63.
- [2] WANG R, YAN H, TANG X C. Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2006, 27(1):1-26.
- [3] CHEN X Q, JIN Y Y, TANG G, et al. *Handbook of New Pharmacology* (新编药理学) Vol. 17[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011:318.
- [4] WANG W P, XIE X Q, YANG D J, et al. Osmotically controlled oral drug delivery systems: an update review[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 5(33):598-602.
- [5] MA L. Progress in osmotic pump drug delivery system[J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2014, 45(6):726-730.
- [6] LIU H, ZHANG J, XU S. Formulation screening and *in vitro* dissolution model fitting of bupropion hydrochloride microporous osmotic pump tablets [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2011, 46(15):1179-1183.
- [7] XU X H, LIAO L Y, JIANG T. Release mechanism of PNS microporous membrane osmotic pump tablets [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18(8):12-14.
- [8] FANG Y, XIANG B, PAN Z H, et al. Preparation and dissolution test *in vitro* of matrine controlled porosity osmotic pump tablet[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2010, 32(5):750-753.
- [9] JIN L Y, ZHANG Z, HAN F. Effects of coating on the *in vitro* release character of venlafaxine hydrochloride microporous membrane osmotic pump tablets[J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2008, 25(8):593-597.
- [10] WU X J, LIU W N, WANG J, et al. Preparation of nefopamrosity osmotic pump by hydrochloride controlled pocentral composite design[J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2009, 26(11):863-867.
- [11] *Ch. P* (2015) Vol II (中国药典 2015 年版, 二部) [S]. 2015: 163.
- [12] RAHMAN M A, AHUJA A, BABOOTA S, et al. Recent advances in pelletization technique for oral delivery: a review[J]. *Curr Drug Deliv*, 2009, 6(1):122-129.
- [13] CHEBOYINA S, WYANDT C M. Wax-based sustained release matrix pellets prepared by a novel freeze pelletization technique II: *in vitro* drug release studies and release mechanisms[J]. *Int J Pharm*, 2008, 359 (1/2):167-173.

(收稿日期:2018-09-18)