

# 伊拉地平单室渗透泵控释片的制备及在犬体内的生物等效性研究

严明志<sup>1\*</sup>, 梅勇<sup>2#</sup>(1.遂宁市中医院, 四川 遂宁 629000; 2.重庆医科大学, 重庆 400016)

中图分类号 R965;R972<sup>·4</sup> 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3876-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.13

**摘要** 目的:制备伊拉地平单室渗透泵控释片,考察其在Beagle犬体内的药动学特征。方法:以伊拉地平为模型药物制备单室渗透泵控释片,并考察其体外释放度。以国外市售伊拉地平控释片为参比制剂,选用8只Beagle犬,采用双周期交叉给药灌服参比制剂或受试制剂(自制伊拉地平单室渗透泵控释片)5 mg,给药后0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、12.0、24.0、36.0、48.0、60.0 h取前肢静脉血2.0 ml,采用超高效液相色谱-串联质谱法测定伊拉地平的血液浓度,以DAS 3.2.2计算药动学参数,分析生物等效性。结果:成功制备了伊拉地平单室渗透泵控释片,其体外可持续释放24 h。受试制剂和参比制剂的药动学参数 $t_{1/2}$ 分别为(5.2±2.6)、(6.1±2.5) h, $c_{max}$ 分别为(8.40±4.25)、(8.47±4.54) ng/ml, $AUC_{0-\infty}$ 分别为(92.1±53.4)、(96.2±56.3) ng·h/ml,其中 $c_{max}$ 和 $AUC_{0-\infty}$ 的90%可信区间均在80%~125%内,受试制剂对参比制剂的相对生物利用度为95.74%。结论:制备的伊拉地平单室渗透泵控释片实现了24 h释药,具有缓释效果,且与参比制剂生物等效。

**关键词** 伊拉地平;单室渗透泵控释片;体外释放度;Beagle犬;生物等效性

## Preparation of Isradipine Single-chamber Osmotic-pump Controlled-release Tablets and the Pharmacokinetics in Dogs

YAN Ming-zhi<sup>1</sup>, MEI Yong<sup>2</sup>(1.Suining Municipal Hospital of TCM, Sichuan Suining 629000, China; 2.Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Isradipine single-chamber osmotic-pump controlled-release tablets (SCOPCRT), and to investigate the pharmacokinetic characteristics in Beagle dogs. METHODS: Single-chamber osmotic-pump controlled-release tablet was prepared using isradipine as model, and *in vitro* release rate of it was investigated. Taking abroad Isradipine controlled-release tablet as reference preparation, 8 Beagle dogs were given biperiodic cross-over infusion of reference preparation or test preparation (self-made Isradipine SCOPCRT) 5 mg. Forelimb venous blood 2.0 ml were collected 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0, 60.0 h after medication. The blood concentration of isradipine was determined by UPLC-MS method. Pharmacokinetic parameters of isradipine were calculated using DAS 3.2.2, and the bioequivalence of it was analyzed. RESULTS: Isradipine SCOPCRT was prepared successfully, continuously releasing for 24 h *in vitro*. The pharmacokinetic parameters of test preparation and reference preparation were as follows:  $t_{1/2}$  were (5.2±2.6) h and (6.1±2.5) h;  $c_{max}$  were (8.40±4.25) ng/ml and (8.47±4.54) ng/ml;  $AUC_{0-\infty}$  were (92.1±53.4) ng·h/ml and (96.2±56.3) ng·h/ml. 90% CI of  $c_{max}$  and  $AUC_{0-\infty}$  were 80%-125%. Relative bioavailability of test preparation to reference preparation was 95.74%. CONCLUSIONS: Isradipine SCOPCRT can achieve constant drug release for 24 h with good sustained drug release. It and reference preparation are bioequivalent.

**KEY WORDS** Isradipine; Single-chamber osmotic-pump controlled-release tablets; Release rate *in vitro*; Beagle dogs; Bioequivalent

伊拉地平是一种新型的二氢吡啶类钙通道阻滞药,如其他二氢吡啶类药物一样,通过阻滞跨膜钙离子内流,有效地选择性抑制去极化引起的收缩,主要在心肌和血管平滑肌上发挥作用。本品具有较强的血管扩张作用,几乎不引起反射性心动过速,具有明显的降压作用和抗动脉粥样硬化作用,通过维持或恢复左心室内皮下的血流,防止局部缺血性损害,改善心绞痛及充血性心力衰竭患者的运动量,在治疗高血压的同时,对心脏有保护作用。另外伊拉地平还能增加钠离子和水

的排泄,有利尿作用,能扩张肾输出动脉,减少肾毛细血管压,对肾有保护作用<sup>[1]</sup>。陈崇焱<sup>[2]</sup>对伊拉地平的临床应用评估研究也表明,伊拉地平可有效地扩张血管,减少外周阻抗,降低血压。刘惠亮等<sup>[3]</sup>对伊拉地平缓释胶囊治疗原发性高血压的临床观察结果表明伊拉地平具有良好的降压效果。伊拉地平半衰期为1.5~2 h,将伊拉地平制成每日1次的渗透泵控释剂,可避免药物释放受胃肠道蠕动、pH值和食物等因素的影响,良好的恒速释药特征可保证平稳的血药浓度,降低心血管副作用的发生<sup>[4]</sup>。目前国内还没有伊拉地平的各剂型上市。为了满足国内患者的需求,本研究以伊拉地平为模型药物制备伊拉地平单室渗透泵控释片,对其体外释放度进行了考察,并考察了伊拉地平控释片在Beagle犬体内的药动学行为。

\* 主管药师。研究方向:临床药理学。电话:0825-2243548。E-mail:312708706@qq.com

# 通信作者:高级工程师。研究方向:药理学。电话:023-67463998。E-mail:631760046@qq.com

## 1 材料

### 1.1 仪器

制剂生产和检测设备: ZP-37 双色压片机(上海天峰制药机械有限公司); ZRS-8G 型智能溶出仪(天津天发无线电设备厂); AX205 电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司); BY-300A 型包衣锅、片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器厂); RC-YW-30 控释药物实验室激光打孔机(南京瑞驰电子技术工程实业有限公司); LC-20AT、SPD-20A 高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公司)。

生物等效性检测仪器: 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)仪(美国 Agilent 公司); API 4000 三重四极杆串联质谱仪, 配备电喷雾离子源(TIS 源)以及 Analyst 1.5.1 数据采集软件(美国 AB 公司); TDL-4A 型高速离心机(离心半径: 13.5 cm, 上海菲恰尔分析仪器有限公司); XK96-A 涡旋混合器(姜堰市新康医疗器械有限公司); EL-104 型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 药品与试剂

伊拉地平对照品(重庆康刻尔制药有限公司, 批号: 110301, 纯度: 99.82%); 伊拉地平单室渗透泵控释片(英国葛兰素史克公司, 批号: 110111A, 规格: 每片 5 mg); 甲基睾酮(成都科龙试剂厂, 批号: 110201); 微晶纤维素 101、羟丙甲纤维素 E50、阿拉伯胶、十八醇、乙基纤维素和聚乙二醇 4000 均为药用级, 均由四川瀚华药用辅料有限公司提供; 硬脂酸镁(湖州展望药业有限公司, 药用级); 氯化钠、无水乙醇均为分析纯; 正己烷、二氯甲烷、异丙醇、甲醇和四氢呋喃均为色谱级。

### 1.3 动物

Beagle 犬, 8 只, ♀ ♂ 各半, 体质量(10.05 ± 1.12) kg, 沈阳康平实验动物研究所提供, 使用许可证号: SYXK(辽)2009-0005。

## 2 方法与结果

### 2.1 伊拉地平单室渗透泵控释片的制备

2.1.1 颗粒的制备。按处方量称取伊拉地平 5 mg、羟丙甲纤维素 E50 20 mg、微晶纤维素 101 55 mg、氯化钠 5 mg 和阿拉伯胶 5 mg, 按等量递加法混合, 过 80 目筛 5 次使原辅料充分混合均匀, 加入适量无水乙醇润湿制备软材, 用 20 目筛制粒, 于 40 °C 的烘箱中通风干燥 2.5 h, 干燥后用 20 目筛整粒, 加入硬脂酸镁 1 mg, 混匀, 备用。

2.1.2 压片。采用 ZP-37 型压片机, 7 mm 的浅凹圆冲压片, 调节片子质量为每片 5 mg, 硬度控制在 5~6 kg/cm<sup>3</sup>。

2.1.3 包衣。将处方量的乙基纤维素、十八醇与聚乙二醇 4000(90:6:4, m/m/m) 混合物溶于无水乙醇中, 配制成质量分数为 5% 的溶液, 即得包衣溶液。将片心置包衣锅内, 转速 20 r/min, 片心温度 35~50 °C, 控制包衣增质量 6%。包衣完毕后在 45 °C 干燥 2 h, 干燥完毕的包衣片用激光打孔机在药片的一侧打直径为 0.8~1.0 mm 的孔径, 即得伊拉地平单室渗透泵控释片。根据伊拉地平的用法用量(英国葛兰素史克公司研制的伊拉地平控释片药品说明书推荐初始剂量为 5 mg, 每日 1 次作为单一疗法或与噻嗪类利尿剂联合应用), 将规格定为每片

含主药 5 mg, 规定批号为 110501、110502、110503。

### 2.2 体外释放度考察

2.2.1 空白溶液的配制。精密称取空白辅料适量(与伊拉地平约 10 mg 相当比例的空白辅料), 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇适量超声 30 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为空白溶液。

2.2.2 对照品溶液的配制。取伊拉地平对照品 10 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇适量超声 30 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的配制。取伊拉地平单室渗透泵控释片 20 片, 研细, 精密称取细粉适量(约相当于伊拉地平 10 mg), 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇适量超声 30 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 色谱条件与专属性考察。采用 HPLC 法, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 色谱柱为 Thermo Hypersil BDS (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-甲醇-四氢呋喃(60:20:20), 流速为 1.5 ml/min, 检测波长为 330 nm, 进样量为 20 μl。分别取空白溶液、对照品溶液和供试品溶液 20 μl, 注入 HPLC 仪进样测定, 记录色谱图, 见图 1。

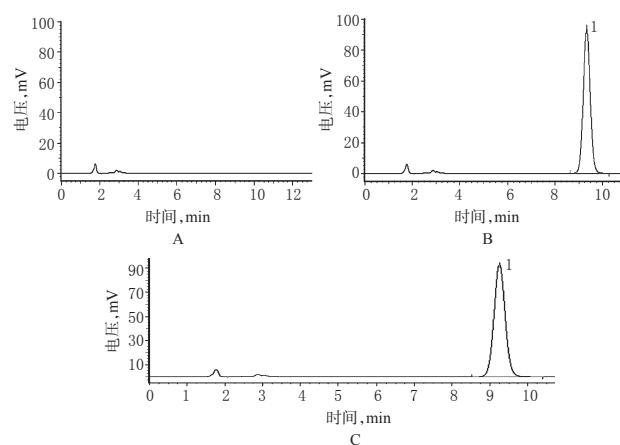


图 1 高效液相色谱图

A. 空白溶液; B. 对照品溶液; C. 供试品溶液; 1. 伊拉地平

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank solution; B. control solution; C. test sample solution; 1. isradipine

由图 1 结果表明, 本方法专属性好, 空白溶液不干扰主成分的测定。

2.2.5 标准曲线的制备。精密称取 105 °C 干燥至恒质量的伊拉地平对照品约 10 mg, 置于 100 ml 量瓶中, 以流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为标准贮备液。精密吸取标准贮备液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 ml, 分别置于 100 ml 量瓶中, 以流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为系列标准液。以流动相为空白溶液, 在 330 nm 波长处分别测定系列标准液的峰面积, 以进样量(x)对峰面积(y)进行线性回归, 得回归方程为  $y = 26\ 890x + 1\ 055$  ( $r = 0.999\ 9$ ), 伊拉地平进样量的线性范围为 20~240 ng。

2.2.6 溶液稳定性。取“2.2.5”项下的 6 μg/ml 标准液, 分别放置 0、2、4、6、8、12、16、24、32 h 后进样测定, 记录峰面积。结果标准液峰面积的 RSD 为 1.2%, 表明伊拉地平在 32 h 内基本稳定。

2.2.7 体外释放度测定。根据2010年版《中国药典》控释制剂释放度的测定方法(浆法)<sup>[6]</sup>,释放介质为0.2%十二烷基二甲基氧化氮溶液500 ml,介质温度(37±0.5)℃,转速100 r/min,分别于2、4、8、12、16、24 h吸取溶出液5 ml,4 000 r/min离心,取上清液20 μl进样测定峰面积,计算释放度。结果伊拉地平单室渗透泵控释片基本能恒速释放,释放度结果见表1。

表1 3批样品的体外释放度结果(%)

时间, h	批号		
	110501	110502	110503
2	8	10	7
4	23	21	24
8	45	48	41
12	63	62	59
16	81	85	83
24	103	101	98

### 2.3 药动学研究

2.3.1 分组与给药。取Beagle犬8只,随机分成2组,每组♂各半,实验期间自由进食与饮水。采用双周期交叉给药方式,犬禁食12 h后,第1周期第1组犬灌服受试制剂1片,第2组犬灌服参比制剂1片;第2周期第1组犬灌服参比制剂1片,第2组犬灌服受试制剂1片。两周期间的清洗期为10 d。

2.3.2 样品采集与处理。各组犬于给药前(0 h)以及给药后0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、12.0、24.0、36.0、48.0、60.0 h取前肢静脉血2.0 ml,置于肝素化试管中,4 000 r/min离心10 min,分离血浆, -70℃下保存。

2.3.3 色谱条件与质谱条件。色谱柱:Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:乙腈-水-甲酸(80:20:0.3, V/V/V),流速:0.2 ml/min;进样量:5 μl;柱温:室温。离子源:TIS源;检测方式:正离子检测;扫描方式:多反应监测(MRM);源电压:5 000 V;雾化气(N<sub>2</sub>):50 psi;辅助气(N<sub>2</sub>):20 psi;反吹气(N<sub>2</sub>):10 psi;碰撞气(N<sub>2</sub>):6 psi;温度:500℃;检测离子:质荷比(*m/z*) 372.4→312.2(伊拉地平,待测物), *m/z* 303.1→*m/z* 97.2(甲基睾酮,内标)。

2.3.4 血浆样品处理。取犬血浆400 μl,置于10 ml玻璃管中,依次加入内标工作溶液40 μl, 1 mol/L氢氧化钠溶液100 μl以及萃取溶剂[正己烷-二氯甲烷-异丙醇=2:1:0.1(V/V/V)]3 ml,涡旋1 min后振荡10 min, 4 000 r/min离心5 min,取上清液于40℃空气流下吹干,残渣溶于100 μl流动相中,取5 μl进样测定。

2.3.5 方法学研究。血浆样品中伊拉地平检测质量浓度的线性范围为0.10~40.0 ng/ml,定量限准确度为98.4%;低、中、高质量浓度伊拉地平的回收率为96.5%~98.0%,日内和日间精密RSD均小于14.0%(*n*=5)。表明该分析方法适用于伊拉地平在犬体内的药动学研究。

2.3.6 药动学参数计算。将“2.3.2”项下各时间点的血浆,按“2.3.4”项下方法处理后,进样测定峰面积。采用DAS 3.2.2软件,采用梯形法计算药动学参数,并进行方差分析、双单侧*t*检验和(1-2α)置信区间法评价。2种制剂在犬体内的药-时曲

线图2,药动学参数见表2。

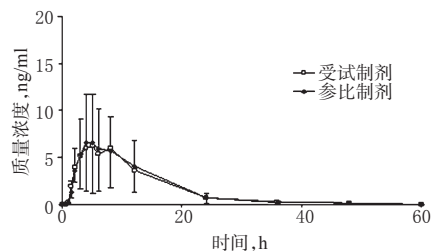


图2 2种制剂在Beagle犬体内的药-时曲线

Fig 2 Blood concentration-time curves of 2 kinds of preparations in Beagle dogs

表2 2种制剂在Beagle犬体内的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab 2 Pharmacokinetics parameters of 2 kinds of preparations in Beagle dogs ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

制剂	<i>t</i> <sub>1/2</sub> , h	<i>t</i> <sub>max</sub> , h	<i>c</i> <sub>max</sub> , ng/ml	AUC <sub>0-60h</sub> , ng·h/ml	AUC <sub>0-∞</sub> , ng·h/ml
受试制剂	5.2±2.6*	4.8±2.3*	8.40±4.25	90.9±53.1	92.1±53.4
参比制剂	6.1±2.5	5.0±2.2	8.47±4.54	94.4±54.5	96.2±56.3

与参比制剂比较: \**P*<0.05

vs. reference preparation: \**P*<0.05

由表1结果表明,受试制剂的*c*<sub>max</sub>和AUC<sub>0-∞</sub>的90%可信区间均在参比制剂的80%~125%内,受试制剂对参比制剂的相对生物利用度为95.74%。

## 3 讨论

### 3.1 体外释放度的影响因素

笔者在研究过程中,充分考虑了制剂因素对释放度的影响,研究结果表明处方中羟丙甲纤维素型号及用量配比、渗透压调节剂氯化钠的用量、包衣膜中甲基纤维素和致孔剂(聚乙二醇4000)用量配比、包衣增质量以及激光粒度打孔的大小对释放速度有很大的影响。笔者经系统试验,筛选出具有匀速释药特征的伊拉地平单室渗透泵控释片处方和工艺。

### 3.2 体内外相关性

当体内外相关性良好时,体外释放度测定可以在一定程度上反映药物在体内的吸收情况。笔者另外以体内吸收百分率对体外累积释放度作图,考察伊拉地平单室渗透泵控释片的体内外相关性,结果*r*=0.998 5,表明制备的伊拉地平单室渗透泵控释片体内外相关性良好。

## 参考文献

- [1] 朱世真,张凌,陈玉嵩.伊拉地平的药理作用与临床应用[J].数理医药学杂志,2005,18(2):150.
- [2] 陈崇羔.伊拉地平临床应用评估[J].药学情报通讯,1993,11(1):8.
- [3] 刘惠亮,汪琪,罗建平,等.依拉地平缓释胶囊治疗原发性高血压的临床观察[J].武警医学,1995,5(3):137.
- [4] 陈志鹏,朱家璧.口服渗透泵制剂的研究进展[J].国外医学药学分册,2005,32(2):87.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录22.

(收稿日期:2013-05-20 修回日期:2013-08-05)