

5.001.001



Y1779563

## 目 录

中文摘要.....	1
英文摘要.....	5
研究论文 CA药固体分散体缓释胶囊的研制	
引言.....	10
第一部分 CA 药固体分散体缓释胶囊的制备	
前言.....	11
材料和方法.....	11
结果.....	17
附图.....	21
附表.....	24
讨论.....	28
小结.....	29
参考文献.....	29
第二部分 CA 药固体分散缓释胶囊质量评价和稳定性研究	
前言.....	31
材料和方法.....	31
结果.....	36
附图.....	41
附表.....	47
讨论.....	55
小结.....	55
参考文献.....	56
第三部分 CA 药固体分散体缓释胶囊的药物动力学研究	
前言.....	58
材料和方法.....	58
结果.....	62
附图.....	65
附表.....	70
讨论.....	81

小结.....	82
参考文献.....	82
综述 缓释固体分散体的研究进展.....	84
致谢.....	94
个人简历.....	95

## CA 药固体分散体缓释胶囊的研制

### 摘 要

**目的:** CA 药是一种链霉菌发酵产物中分离出来的大环内酯类抗生素,是一种新型的强效免疫抑制剂。动物实验与临床应用研究发现,CA 药的免疫抑制作用比环孢霉素 A(C<sub>5</sub>A)高 10~100 倍,而毒副反应与环孢霉素 A 比较发生率低,程度也轻。根据 CA 药的处方前研究,CA 药在水中几乎不溶,口服生物利用度低,限制了其在临床的广泛应用。本实验拟将其制成缓释固体分散体,再进一步制成胶囊,既提高 CA 药在水中的溶解度及生物利用度,又降低药物的释放速度,减少服药次数,稳定血药浓度,降低毒副作用,为广泛的临床应用奠定了基础。

#### 方法:

#### 1 CA 药固体分散体缓释胶囊的制备:

在参阅文献和预实验的基础上,确定了 CA 药固体分散体缓释胶囊的制备方法。CA 药缓释固体分散体的制备以释放度和稳定性为指标,对三个处方因素、四个工艺因素进行了单因素考察,确定了搅拌速度、溶剂挥发程度、干燥温度、整粒过筛目数四个工艺因素的具体条件,然后在单因素考察的基础上,以药物与载体的比例为考察因素,以释放度为指标,设计三因素三水平的正交实验,对处方进行优化,对评分结果进行极差分析,确立了 CA 药固体分散体缓释胶囊的最佳处方。按最优处方,制备三批 CA 药固体分散体缓释胶囊,测定药物的释放度,考察制备工艺的稳定性。

#### 2 CA 药固体分散体缓释胶囊的质量评价:

采用差示扫描量热法(DSC)、X-射线衍射法(X-Ray)验证固体分散体的形成。采用高效液相色谱(HPLC)法测定 CA 药的含量和有关物质等。释放度方法采用中国药典 2005 版二部附录 XD(释放度测定法)第一法(小杯浆法),考察 CA 药的释放度,将释放度数据分别用 Higuchi 模型、零级方程和一级方程进行拟合,并与国外对照药进行对比。采用中国药典 2005 版二部附录 XE(含量均匀度检查法),考察 CA 药的含量均匀度。

#### 3 CA 药固体分散体缓释胶囊的稳定性实验:

将最优处方的 CA 药固体分散体缓释胶囊进行影响因素实验,考察高温、高湿和强光对 CA 药固体分散体稳定性的影响,从而确定胶囊的外包装材料及储存环境。对 CA 药缓释胶囊进行 6 个月加速实验,对 CA 药缓释胶囊的稳定性进行考察。

#### 4 CA 药固体分散体缓释胶囊的药物动力学实验:

以家犬为实验动物,以国外生产的 CA 药固体分散体缓释胶囊为对照品,采用两制剂、两周期双交叉自身对照设计,对自制的 CA 药固体分散体胶囊进行药代动力学研究,并与国外对照品进行了生物等效性评价。采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)测定 CA 药的血药浓度,采用 3p87 程序计算药物动力学参数,计算相对生物利用度,经方差分析及双单侧 t 检验评价 CA 药固体分散体缓释胶囊与国外对照品的生物等效性。

#### 结果:

##### 1 CA 药缓释固体分散体的制备:

##### 处方:

CA 药	1.0g
乙基纤维素 (EC 10cp)	0.4g
羟丙甲纤维素 (HPMC2910)	0.3g
乳糖	4.0g

采用溶剂法,将处方量的 CA 药粉末、乙基纤维素(EC 10cp)溶于无水乙醇中,搅拌混匀,按处方量加入羟丙甲基纤维素(HPMC2910),搅拌使呈黏性胶体溶液,加入乳糖,室温下,不断搅拌挥发溶剂至半固体状态,40℃真空减压干燥 36 小时,制成固体分散体,将制备的固体分散体干品粉碎过筛,选取 80~100 目备用。

##### 2 CA 药固体分散体缓释胶囊的制备

制备规格为 1mg/120mg 的胶囊:取制备的固体分散体与润滑剂硬脂酸镁(0.06%W/W)、助流剂微粉硅胶(0.10%W/W)、填充剂直压乳糖按等量递加法均匀混合,灌装于胶囊壳中。

##### 3 CA 药固体分散体缓释胶囊的质量评价:

##### 3.1 固体分散体的验证:

通过 DSC 及 X-Ray, 证明了 CA 药以非晶态分散于载体中, 形成了固体分散体

### 3.2 CA 药固体分散体缓释胶囊的检测:

按最优处方和工艺制备的三批 CA 药固体分散体胶囊, HPLC 测定含量结果为: 三批 CA 药胶囊的含量分别为标示量的 102.8%、102.6%、99.7%, 均在限定的 90~110% 的范围内。

### 3.3 CA 药固体分散体缓释胶囊释放度的检测:

采用相似因子法, 对自制药与对照药释放曲线进行对比,  $f_2$  值为 91.80, 在  $50 \leq f_2 \leq 100$  范围内, 说明自制 CA 药固体分散体缓释胶囊与市售 CA 药胶囊释放曲线相似。

### 4 CA 药固体分散体缓释胶囊的稳定性实验:

CA 药固体分散体缓释胶囊在高温、高湿条件下, 性状没有变化, 释放度和含量下降明显, 故 CA 药固体分散体缓释胶囊对高温、高湿均比较敏感, 需防潮的包装材料。在强光照射条件下, 性状、含量及释放度均无显著性差异, 表明 CA 药固体分散体缓释胶囊对光稳定。加速实验在 CA 药放置 1 月、2 月、3 月、6 月后分别取样检测, 各指标无显著变化, 表明 CA 药固体分散体胶囊在加速六个月实验条件下稳定。

### 5 CA 药固体分散体缓释胶囊的药物动力学实验:

采用 3p87 程序对自制 CA 药胶囊与国外对照药的血药浓度数据进行处理, 依 AIC 法判断其药时曲线符合两室模型, 自制 CA 药胶囊的相对生物利用度分别为  $108.67\% \pm 12.87\%$  和  $113.8\% \pm 10.8\%$ , 经方差分析及双侧 t 检验, 自制生产的 CA 药胶囊的  $AUC_{(0-t)}$  和  $AUC_{(0-\infty)}$  的 90% 可信限分别为 94.6%~112.2% 和 91.4%~121.4%, 均落在国外对照品的 80%~125% 范围内;  $C_{max}$  的 90% 可信限为 99.8%~130.8%, 在国外对照品  $C_{max}$  的 70%~143% 范围内;  $T_{max}$  经非参数检验与国外对照品无显著性差异。因此, 自制生产的 CA 药胶囊与国外生产的 CA 药胶囊生物等效。

**结论:** 以上各项实验证明: CA 药制备成固体分散体缓释胶囊, 能够大大增加原料药溶解度及生物利用度, 降低药物的释放度, 与国外对照品达到生物等效, 从而保证了在临床应用的疗效。制备该药物的固体分散体所采用的制备方法适合工业大生产, 稳定性良好, 具有广阔的应用前景。

## 中文摘要

---

**关键词：**缓释；固体分散体；溶剂法；正交实验；差示扫描量热法；液相色谱-串联质谱法；生物利用度；生物等效性

## Preparation and Study of Drug CA Solid Dispersion sustained-release Capsule

### ABSTRACT

**Objective:** Drug CA is a neural macrolide antibiotic isolated from a kind of streptomycete fermentation in soil, and drug CA is a new powerful immunosuppression. Lots of animal experiments and clinical trials indicate that drug CA has better immunosuppressive action than cyclosporin (10~100 fold), and has less rate of adverse effect and less adverse action. Through the research of preformulation, drug CA is scarcely solved and oral administration bioavailability of drug CA is low, which limits its clinical application. Its delayed release solid dispersion prepared. Then the solid dispersion sustained-release Capsule prepared. The sustained-release solid dispersion could enhance dissolution rate and bioavailability, reduce the release rate of drug, decrease the frequency of drug administration and rate of adverse effect for extensive clinical application.

#### **Methods:**

1 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule preparation:

According to literature and pretest, the factors of solid dispersion capsule's formulation and preparation technique were determined. According to the characters of drug CA and adjuvants, solvent method was selected for preparing drug CA solid dispersion sustained-release capsule. Solubility and stability as indexes, single factor test investigated 3 formulation factors and 4 technique conditions, and stirring speed, drying temperature, degree of solvent volatilizing and mesh level were determined. Basis of the single factor test, the ratio of drug CA and adjuvant as investigation factors, release rate on 0 day, release rate after 3 months and operation process were used as indexes, 3 factors and 3 levels orthogonal experiment was designed for optimizing formulation.

Data analysis was conducted, and the optimal formulation of drug CA



solid dispersion capsule was determined. 3 batches of drug CA solid dispersion sustained-release capsules were prepared with optimal formulation and technique conditions, and release rate were determined to study stability.

## 2 Study of quality evaluation and stability:

It is provide to solid dispersion in differential scanning calorimetry and X-ray diffraction analysis. According to literature and pretest, high performance liquid phase assay was set up to determine content and related substances. Release rate detection experiment was designed according to 1<sup>st</sup> method of appendix XD (dissolution rate detection method), volume two, 《China Pharmacopoeia》 (2005 edition). Determination of Content and Content Uniformity referring to method of appendix XE (Content and Content Uniformity detection method), volume two, 《China Pharmacopoeia》 (2005 edition).

## 3 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule stability test:

Temperature, humidity and light stress test were conducted to see the influence of high temperature, high humidity and strong illumination on drug CA solid dispersion optimal formula capsule stability, so as to determine package. Accelerative test in 6months were conducted to see stability of drug CA solid dispersion capsule.

## 4 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule pharmacokinetic experiment:

Dogs were selected as laboratory animals and divided into two groups in random. One group was given reference drug and the other was given test drug. Crossover experiment was taken after two weeks. A foreign imported drug CA solid dispersion sustained-release capsule was find as referance sample. Bioequiavailability analyse were conducted between self-made capsule and reference sample. Drug content in whole blood was determined by LC-MS/MS, a software 3p87 was used to calculate pharmacokinetic parameter and relative bioavailability, ANOVA and t-test were used to evaluate bioequiavailability of self-made capsule and reference sample.

**Results:**

1 Drug CA solid dispersion sustained-release preparation:

Formulation:

CA drug	1.0g
EC (10cp)	0.4g
HPMC2910	0.3g
Lactose	4.0g

---

Drug CA sustained-release solid dispersion preparation process: solvent method was selected for preparing drug CA sustained-release solid dispersion, EC and HPMC was used as carrier, and ethanol was used as solvent, stirring speed was 300 rpm, drying temperature was 40°C and mesh level was 80~100. According to formulation, drug CA powder and EC were solved in ethanol with continually stirring, then HPMC and lactose were added. Solvent was volatilized by stirring until the mixture changed to semisolid. Drying process was conducted under 40°C and vacuum until the semisolid changed to solid and then the solid was comminuted and sieved.

2 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule preparation:

Capsule was prepared with action ingredients of 1mg /table. The table is 120mg weight. Solid dispersion was mixed with Magnesium Stearate(0.06%W/W), micropowder silica gel (0.10%W/W), After mixed with DC lactose and magnesium stearate, the solid dispersion was put into capsule.

3 Drug CA solid dispersion capsule determination method:

3 batches of drug CA solid dispersion sustained-release capsules, which were prepared according to optimal formulation and conditions, were determined by HPLC, drug contents were 102.8%、102.6%、99.7%, relative to labeled dosage, which were all in the limited range of 90%~110%.

4 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule determination release rate method:

Release profile of test drug was compared with release profile of

---

reference drug in method of resemble factor. Value of  $f_2$  was 91.80, relative to labeled dosage, which were all in the limited range of 50~100. The result indicated that release profile of test drug CA solid dispersion capsule (batch No.090901) and reference sample were coincident.

#### 5 Drug CA solid dispersion capsule stability test:

In high temperature or high humidity conditions, appearance of drug CA solid dispersion sustained-release capsule had on changes, but dissolution rate and drug content decreased significantly. These results indicated that drug CA solid dispersion capsule was sensitive to high temperature and high humidity. So moistureproof package material was advised. In given strong illumination condition, drug CA solid dispersion capsule show no significant difference in appearance, drug content and dissolution rate, that indicated drug CA solid dispersion sustained-release capsule is stable to strong illumination. The results of accelerative test in every index had no significant change in 1 month, 2 month, 3 month, 6month. Results of test indicate that drug CA solid dispersion capsule was stable under the test conditions.

#### 6 Drug CA solid dispersion sustained-release capsule pharmacokinetic experiment:

3p87 was used to analysis drug content data of self-made drug CA solid dispersion capsule and imported control particle in blood of dogs. Compared to  $AUC_{(0-t)}$  and  $AUC_{(0-\infty)}$  of self-made drug CA capsule and imported capsule, Relative bioavailability of self-made drug CA capsule is  $108.67\% \pm 12.87\%$  and  $113.8\% \pm 10.8\%$ . According to AIC method, the concentration-time curve fitted two compartment model. By ANOVA and T-test, The 90% confidence intervals of  $AUC_{(0-t)}$  and  $AUC_{(0-\infty)}$  of self-made drug CA solid dispersion sustained release capsule were  $94.6\% \sim 112.2\%$  and  $91.4\% \sim 121.4\%$ , which were in the interval of imported capsule  $80\% \sim 125\%$ . The 90% confidence intervals of  $C_{max}$  was  $99.8\% \sim 130.8\%$ , which was in the interval of imported capsule  $70\% \sim 143\%$ .  $T_{max}$  had no significant difference with imported control particle by non-parameter test. So drug CA solid dispersion capsule and imported control particle had bioequivalability.

**Conclusion:** All the results indicated that drug CA solid dispersion sustained-release capsule improved solubility of drug CA and bioavailability and decrease dissolution rate and bioavailability. Compared with imported referance sample, self-made drug CA solid dispersion capsule had bioequiavailability. The preparation method of drug CA solid dispersion capsule was suitable for industry production. Drug CA solid dispersion sustained-resease capsule had good stability and wide application future.

**Key words:** sustained release; solid dispersion; solvent method; orthogonal experiment; DSC; X-Ray; LC-MS/MS; bioequiavailability; bioavailability

## CA 药固体分散体缓释胶囊的研制

### 引言

CA药是1979年从日本筑波地区土壤中一种链霉菌发酵产物中分离出来的中性大环内酯类抗生素，是一种新型的强效免疫抑制剂。其主要药理作用在于能有效抑制T淋巴细胞激活，与内源性细胞受体结合，形成一个亲免疫复合物，从而发挥药理作用。大量动物实验及临床应用研究发现，CA药的免疫抑制作用比环孢霉素A(C<sub>s</sub>A)高10~100倍，而毒副反应与环孢霉素A比较发生率低，程度也轻。临床上已被广泛应用于治疗器官移植（肝、肾、骨髓移植等）抗排异反应和自身免疫性疾病；另外CA药局部应用还有抗炎活性，可用于治疗炎症性疾病。

根据CA药的处方前研究，该药在室温下呈白色棱形结晶，溶于甲醇、乙醇、氯仿等非极性溶剂，在水中几乎不溶，溶解度为1~2 $\mu$ g/ml。CA药口服生物利用度很低，狗口服1mg后的最高血药浓度仅为0.4ng/ml。另外，CA药治疗指数低，其使用剂量过大，可引起肝肾功能损害及神经系统障碍，还可强烈抑制自身免疫系统，使患者感染的危险性增大，这些都限制了CA药在临床的广泛应用。

因此拟采用制剂技术，将CA药与适宜载体制备成缓释固体分散体胶囊，使CA药以微晶、无定形态或分子态分散于载体材料中，提高CA药在水中的溶解性及生物利用度，减少药物的使用剂量，降低药物的释放速率，减少服药的次数，降低药物的毒副作用，为广泛的临床应用奠定基础。

将CA药制成缓释固体分散体胶囊，对方剂和制备工艺进行考察，通过单因素实验及正交设计，达到处方和制备工艺的最优组合，使制备方法合理简化，适宜开发转化成大规模生产，为CA药的临床应用和合理化开发生产奠定基础。

## 第一部分

# CA 药固体分散体缓释胶囊的制备

## 前 言

CA 药属于中性大环内酯类药物, 水溶性差, 口服制剂生物利用度低<sup>[1]</sup>, 因此将其制备成 CA 药缓释固体分散体, 提高药物的溶解性, 提高药物的生物利用度, 降低药物的释放速度, 减少患者服药次数, 降低药物毒副作用<sup>[2]</sup>。

本实验在文献资料和预实验的基础上, 确定 CA 药的制备方法, 通过单因素考察, 对方剂条件和工艺条件进行了摸索, 通过正交实验, 进一步优化处方, 筛选出了符合要求的 CA 药缓释固体分散体, 然后对固体分散体粉碎、过筛, 和适宜的辅料混合制成固体分散体缓释胶囊, 并对影响 CA 药固体分散体胶囊释放的一些因素进行了考察。

## 材料与方 法

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器

FA2004 电子分析天平	上海精科仪器厂
ZRS-8G 智能药物溶出仪	天津大学无线电厂
KS-150D 超声波清洗器	宁波科盛仪器厂
HJ-6B 多头磁力加热搅拌器	国华仪器厂
ZK-8Z 电热恒温真空干燥箱	上海市实验仪器总厂
SHB-III A 循环水式多用真空 泵	郑州长城科工贸有限公司
ZJ-50 电热恒温鼓风干燥箱	天津天宇机电有限公司

#### 1.2 药品与试剂

CA 药原料药	华北制药集团批号: 070202
聚乙二醇 (PEG6000)	威尔化工

乙基纤维素 (EC 10cp)	卡乐康公司
羟丙甲纤维素 (HPMC 2910)	卡乐康公司
乳糖	新西兰乳糖有限公司
直压乳糖	德国美剂乐乳糖公司
微粉硅胶	浙江中维药业有限公司
硬脂酸镁	湖州展望药业有限公司
十二烷基硫酸钠 (SDS)	北京欣经科生物技术有限公司
无水乙醇 (分析纯)	北京化工厂

## 2 处方前研究

### 2.1 CA 药的性质

CA 药属于中性大环内酯类抗生素, 为无色棱形结晶, 无嗅, 无味, 遇光稳定。易溶于甲醇、乙醇、氯仿等非极性溶质, 水溶性差, 在水中溶解度仅为 1~2ug/ml。熔点为 134℃~137℃。在 210nm 处有强紫外吸收<sup>[3]</sup>。

### 2.2 CA 药的药理作用

CA 药是一种新型的强效免疫抑制剂, 临床上已被广泛应用于治疗器官移植 (肝、肾、骨髓移植等) 抗排异反应和自身免疫性疾病; 另外 CA 药局部应用还有抗炎活性, 可用于治疗炎症性疾病<sup>[4]</sup>。

### 2.3 产品规格确定

参照国外对照药物 x 药的剂量为成人 1mg/table, 每天服用剂量为一片, 考虑本实验制备工艺, 拟研制 1mg/table 的 CA 药固体分散体缓释胶囊。

## 3 CA 药固体分散体的制备工艺及处方筛选

### 3.1 制备方法的选择

#### 3.1.1 溶剂法

将处方量 CA 药溶于 10ml 无水乙醇中, 然后加入乙基纤维素 (EC), 搅拌至完全溶解, 加入羟丙甲基纤维素 (HPMC), 搅拌至呈黏性胶体溶液, 待搅拌均匀后加入处方量的乳糖, 搅拌挥发溶媒至成粘稠状, 转移至表面皿中, 真空干燥过夜, 研钵研磨过筛, 得固体分散体。

#### 3.1.2 熔融法

将单硬脂酸甘油酯于 80℃ 加热熔化, 在搅拌下加入 CA 药, 搅拌溶

解，再依次加入聚乙二醇（PEG）、乳糖，搅拌并充分混合，将熔融物倾倒在不锈钢板上成薄层，用冷空气使其骤冷成固体，再将此固体在一定温度下放置变脆成易碎物，粉碎、过筛，制备固体分散体。

### 3.1.3 溶剂-熔融法

将 CA 药溶于无水乙醇中，加入聚乙烯二醇（PEG6000），搅拌至完全溶解，将所得溶液加热至 80℃ 备用。将单硬脂酸甘油酯于 80℃ 加热熔化，在搅拌下均匀加入上述制备好的 CA 药溶液，搅拌至混合均匀，最后加入乳糖，将混合溶液倾倒在不锈钢板上成薄层，用冷空气骤冷成固体，再将此固体在一定温度下放置变脆成易碎物，粉碎、过筛，制备固体分散体。

## 3.2 载体材料的选择

在参阅文献及预实验基础上，本实验采用溶剂法制备固体分散体，以水不溶性载体材料乙基纤维素（EC）为阻滞剂，以水溶性载体材料羟丙甲基纤维素（HPMC）为致孔剂，以乳糖为赋形剂，制备缓释固体分散体。基本处方设计如下：

CA 药	0.20g
EC 10cp	适量
HPMC 2910	适量
乳糖	适量

## 3.3 CA 药载体材料用量的考察

### 3.3.1 乙基纤维素(EC)的用量

载体材料中致孔剂 HPMC 0.60g、CA 药原粉 2.00g、赋型剂乳糖 10.0g，加入与 CA 以下比例的阻滞剂 EC，制备固体分散体。考察阻滞剂 EC 用量的影响：

1: 10    2: 10    3: 10    4: 10

操作过程：将处方量的 CA 药粉末、乙基纤维素（EC）依次加入无水乙醇中，均匀搅拌，转速为 300 r/min，待全部溶解后按处方量加入羟丙甲基纤维素（HPMC），搅拌至其呈黏性胶体溶液，加入乳糖，室温下，



不断搅拌挥发溶剂至半固体状态（溶剂剩余 2g），40℃真空减压干燥 36 小时制成固体分散体，将制备的固体分散体干品粉碎过筛，选取 80 ~100 目备用。

### 3.3.2 羟丙甲基纤维素（HPMC）的用量

选取载体材料中阻滞剂 EC 0.60g 与 CA 药原粉 2.00g、赋型剂乳糖 10.0g，加入与 CA 以下比例的致孔剂 HPMC，制备固体分散体。考察致孔剂 HPMC 用量的影响：

2: 10    3: 10    4: 10    5: 10

操作过程：同 3.3.1

### 3.3.3 赋形剂的选择及用量的考察

采用 CA 药与 EC、HPMC 比例为 10: 3: 3，药物与乳糖比例为 1:2、1:3、1:4、1:5、1:6，制备固体分散体，制备方法及操作过程同 3.3.1，从释放度及制备过程难易程度对乳糖含量进行考察。

### 3.4 溶剂的选择

采用处方组成：

CA 药	1.00g
EC	0.40g
HPMC	0.30g
乳糖	4.00g

以无水乙醇、无水乙醇与二氯甲烷的混合溶液为溶剂，制备固体分散体，操作方法如 3.3.1，考察溶剂对药物释放的影响。

## 4 缓释固体分散体的制备工艺考察

### 4.1 搅拌速度的考察

以 3.4 的处方组成制备固体分散体，固定其他条件，调节搅拌速度分别为 200r/min、300 r/min、400 r/min、500 r/min，溶剂法制备 CA 药固体分散体，考察搅拌速度对体外释放的影响。

### 4.2 干燥温度的考察

以 3.4 的处方组成制备固体分散体，操作同 3.3.1，其他条件不变，采用真空干燥箱进行干燥，设定干燥温度为 30℃、40℃、50℃，溶剂法制

备 CA 药固体分散体，考察干燥温度对体外释放及生成相关物质的影响。

### 4.3 真空干燥时间的考察

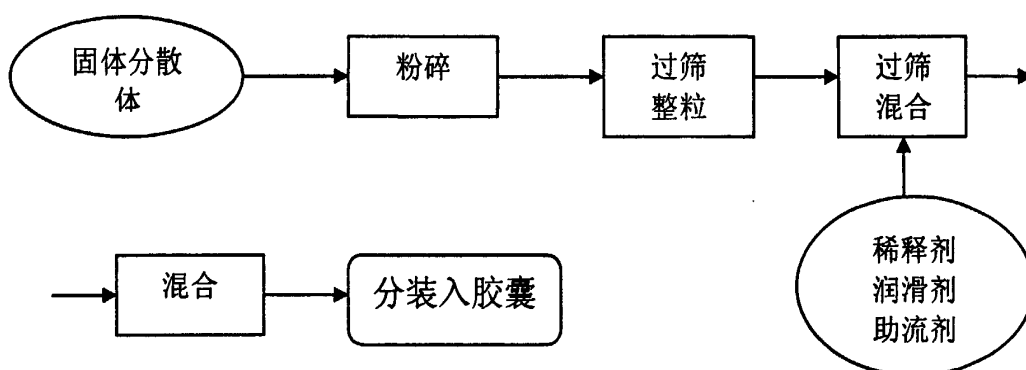
以 3.4 的处方组成制备固体分散体，操作同 3.3.1，真空干燥 12h、24h、36h、48h，考察干燥时间对释放速率的影响。

### 4.4 固体分散体粉碎粒径大小的考察

以 3.4 的处方组成制备固体分散体，操作同 3.3.1，其他条件不变，在粉碎过 60、80、100、150 目筛，选取 60~80、80~100、100~150 目粒径的固体分散体，以释放度为指标对整粒过筛目数进行考察。

## 5 CA 药固体分散体缓释胶囊的制备及处方筛选

### 5.1 CA 药缓释固体分散体胶囊的制备工艺图



### 5.2 辅料的筛选及辅料用量的确定

由于制备的固体分散体体积小、重量轻、不便于分剂量服用，因此需加入稀释剂增加固体分散体的体积和重量。另外为了提高固体分散体和稀释剂混合均匀度，降低静电引起的吸附，考虑加入润滑剂和助流剂<sup>[5]</sup>。

#### 5.2.1 稀释剂的选择

常用的稀释剂有淀粉、糖粉、乳糖、糊精等，其各有优缺点。通过实验及相关文献参考，筛选合适稀释剂，并对稀释剂进行过筛，考察稀释剂粒径大小对胶囊含量均匀度的影响。

#### 5.2.2 润滑剂及助流剂的选择

加入润滑剂及助流剂能更好的增加制剂的流动性，提高药物的混合均匀度，以及方便工艺操作。选用常用的硬脂酸镁做润滑剂，微粉硅胶做助流剂。硬脂酸镁在常用量 0.1%~1%范围筛选用量，微粉硅胶在常用量 0.1%~0.3%范围筛选用量<sup>[6]</sup>。

### 5.3 缓释固体分散体胶囊制备工艺的考察

### 5.3.1 过筛混次数考察

粒径均一的粒子群有利于提高药物含量的均匀度。对粉碎后的固体分散体与稀释剂、润滑剂、助流剂过 100 目的标准筛混合，考察粒子群能全部通过 100 目筛所需的过筛次数。

### 5.3.2 混合时间的考察

过筛混后含量均匀度多未达到要求，再装袋进行混合，直到含量均匀度符合药典要求。装袋混合 20 分、15 分、10 分，考察含量均匀度。

## 6 正交设计优化处方

在单因素考察的基础上，为进一步优化处方，采用正交设计法优化处方，选定了药物与阻滞剂用量的比例 (A)，药物与致孔剂用量的比例 (B)、药物与乳糖用量的比例 (C) 三个因素，每个因素选择三个水平，以 CA 药的释放度为指标，做三因素三水平正交设计，按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交设计表安排实验<sup>[7-9]</sup>。

## 7 验证实验

### 7.1 按最优处方考察 CA 药释放度及工艺稳定性

按最优处方和工艺制备三批 CA 药固体分散体胶囊 (批号: 090901、090902、090903)，按“释放度测定方法”考察药物的释放度，考察 CA 药制备工艺的稳定性。

### 7.2 CA 药释放动力学模拟

对于各种药物释放曲线，可以用有关方程进行拟合，求出符合该曲线的方程。对于缓释制剂，常用零级、一级释放方程及 Higuchi 方程进行拟合<sup>[10]</sup>。

$$\ln(1-M_t/M_\infty) = -kt \text{ (一级方程)}$$

$$M_t/M_\infty = kt \text{ (零级方程)}$$

$$M_t/M_\infty = kt^{1/2} \text{ (Higuchi 方程)}$$

式中:  $M_t$  为  $t$  时间累计释放量,  $M_\infty$  为  $t_\infty$  时的累计释放量。

### 7.3 与市售 CA 药固体分散体缓释胶囊的比较

将按最佳处方工艺制备的 CA 药固体分散体胶囊和市售 CA 药固体分散体胶囊进行释放度比较, 评价 CA 药缓释胶囊的释放性能。

## 结 果

### 1 CA 药固体分散体的制备工艺及处方筛选

#### 1.1 固体分散体制备方法的确定

缓释固体分散体制备方法的确定从实际的制备效果、对实际生产设备的要求程度、操作难易程度、环保、成本控制等几方面加以考虑。采用熔融法、溶剂-熔融法制备缓释固体分散体，方法简便、经济，但由于 CA 药遇高温不稳定易生成有关物质，制的的缓释固体分散体胶囊相关物质含量高、稳定差，故考虑采用其他方法。采用溶剂法制备固体分散体，操作简单，适用于难溶性、对热不稳定的药物<sup>[10]</sup>，故决定选用该方法制备固体分散体。结果见 Table 1

#### 1.2 CA 药固体分散体处方的筛选

##### 1.2.1 药物与载体的比例选择

###### 1.2.1.1 药物与乙基纤维素比例的选择

实验结果表明，随 EC 用量增加，释放度降低，当药物与载体的比例达到 3:10 后，释放度降低不再明显，具体比例有待进一步考察。结果见 Fig.1

###### 1.2.1.2 药物与羟丙甲基纤维素比例的选择

实验结果表明，随 HPMC 用量增加，释放度增大，当药物与载体的比例达到 3:10 后，释放度增大不再明显，具体比例有待进一步考察。结果见 Fig.2

###### 1.2.1.3 乳糖用量的考察

乳糖起到赋型作用，不加乳糖制成的固体分散体硬度较大，较难粉碎，随乳糖量增加，处理更容易，释放度也呈增大趋势，但用量太大，用量大于主药六倍后，又会增加粉碎处理量，且释放度也增长缓慢，结果见 Fig.3，具体用量有待进一步考察。

##### 1.3 溶剂的选择

经考察采用乙醇为溶剂和乙醇与二氯甲烷的混合溶液为溶剂对药物的释放没有明显的影响，因为二氯甲烷对人体有害且对环境造成污染，考虑采用乙醇为溶剂。结果见 Fig.4

#### 1.4 缓释固体分散体的制备工艺

#### 1.4.1 搅拌速度的选择

搅拌速度较高时, 溶剂挥发快, 较快形成半固体状态; 搅拌速度较低时, 溶剂挥发慢, 形成半固体状态时间较长, 制备成固体分散体后药物释放速度较慢且释放不完全。但当转速提高到 400r/min 后药物释放增加不再明显, 考虑实际生产中对设备的要求, 选定搅拌速度为 400r/min, 结果见 Fig.5

#### 1.4.2 干燥温度的选择

50℃以上的高温可引起药物性质的不稳定变化, 生成相关物质过多, 30℃温度较低, 干燥过程太慢, 考虑选定干燥温度为 40℃, 实验结果见 Table 2。

#### 1.4.3 真空干燥时间的确定

经考察, 在干燥 36 小时后干燥时间对药物的释放不再有影响。结果见 Fig.6。

#### 1.4.4 固体分散体粉碎粒径大小的考察

药物与 EC、HPMC 及乳糖的投料比设为 1:0.3:0.3:5 (重量比), 其他条件不变, 制备固体分散体, 在粉碎过 60、80、100、150 筛, 选取 60~80、80~100、100~150 目之间粒径的固体分散体, 以释放度为指标对整粒过筛目数进行考察, 考虑到粒径对释放度的影响程度以及实际生产的难易程度, 决定选用 80~100 目之间粒径的固体分散体。结果见 Fig.7。

### 2 缓释固体分散体胶囊制备工艺及处方考察

#### 2.1 制备方法

固体分散体与稀释剂的体积和重量比相差很多, 故采用等量递加法混合。

#### 2.2 辅料及辅料用量的确定

##### 2.2.1 稀释剂的选择

直压乳糖流动性很好、无吸湿性、价格适中, 能满足实际实验要求, 选用直压乳糖做稀释剂。

对直压乳糖粒径大小对胶囊含量均匀度的影响考察后, 选用过 100 目筛的直压乳糖。结果见表 Table 3。

##### 2.2.2 润滑剂及助流剂的筛选及用量的确定

参照相关文献, 选用常用辅料硬脂酸镁做润滑剂, 微粉硅胶为助流剂。

硬脂酸镁用量 0.6%，微分硅胶用量 1.0%即能达到理想效果。

## 2.3 制备工艺的考察

### 2.3.1 过筛混次数考察

将固体分散体与辅料等量递加混合后过 100 目筛，考察过筛次数直到均能通过 100 目筛。通过考察，过筛混 6 遍粒子能全部通过 100 目筛。

### 2.3.2 混合时间的考察

经考察固体分散体在装袋混合 15min，按中国药典 2005 版二部附录 XE(含量均匀度检查法)考察 CA 药的含量均匀度，达到要求。结果见 Table 4。

## 3 正交实验结果

以  $L_9(3^4)$  进行设计，对药物与阻滞剂的比例 (A)，药物与致孔剂用量的比例 (B)、药物与乳糖用量的比例 (C) 三因素作正交分析。因素水平表见 Table 5，正交试验安排表见 Table 6，实验结果见 Table 7。

利用“缓释区间”的概念，建立本品的区间释放度标准，指定  $Y = (m_1 - 20)(30 - m_1) + (m_2 - 40)(60 - m_2) + (m_3 - 70)(80 - m_3) + (m_4 - 80)(100 - m_4)$  作为释放度指标，即在 2、4、8、12 小时的累积百分释放度应分别控制在 10~30%、40~60%、70~80%、80~100%，当释放度偏离“缓释区间”外时，各时刻对 Y 值的贡献为负，Y 越大，缓释效果越好<sup>[11]</sup>。综合评分结果见 Table 8。由表可知，三因素中对固体分散体影响顺序为：EC > HPMC > Lactose。最佳处方为 A3B1C1，即药物与 EC 的比例为 10:4，药物与 HPMC 用量的比例为 10:3，药物与 Lactose 用量的比例为 1:4。

## 4 验证实验

### 4.1 CA 药释放度及工艺稳定性考察

根据最优处方和工艺制备的三批样品（批号：090901、090902、090903），释放度结果见 Table 9，药物释放具有重现性，说明制备工艺稳定可控。

### 4.2 药物释放曲线的拟合

对 CA 药固体分散体缓释胶囊按零级方程、一级方程、Higuchi 方程进行拟合。按零级方程拟合 r 值为 0.9588，一级方程拟合 r 值为 0.9982，按 Higuchi 方程拟合 r 值为 0.9935，故 CA 药更趋近与一级方程模型释放。

### 4.3 与市售 CA 药固体分散体缓释胶囊的比较

取自制 CA 药胶囊 (090901 批) 与市售 CA 药固体分散体缓释胶囊各 6 粒, 按释放度测定方法, 进行高效液相色谱分析, 数据见 Table 10。

本实验采用相似因子法评价试药与对照品的释放曲线相似性。FDA 在 1999 年的口服固体药品生物利用度和生物等效性研究指南中推荐使用相似因子法评价药物释放曲线<sup>[12]</sup>。相似因子法以生物等效性的基本假设为基础进行体外释放的等效性评价。基本要点是试验药品与对照药品的累积溶出度差的平方和最小, 计算公式如下:

$$f_2 = 50 \log_{10} \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (w_t \times (\bar{R}_t - \bar{T}_t)^2) \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$\bar{T}_t$  和  $\bar{R}_t$  分别代表受试和参比制剂  $t$  时间的平均累积释放度;  $n$  为测试点数, 式中  $w_t$  即为权重系数。 $w_t$  是根据实际需要选择的权重系数(本实验  $w_t=1$ )。

若两条曲线完全相同,  $f_2$  为 100; 随着两条曲线近似程度的降低,  $f_2$  趋近于 0;  $50 \leq f_2 \leq 100$ , 认为两曲线相似。结果见 Table 11。

附图

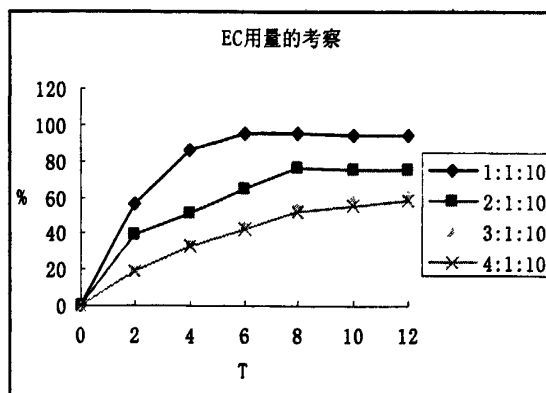


Fig.1 The curves of release rates under different proportion of drug and EC

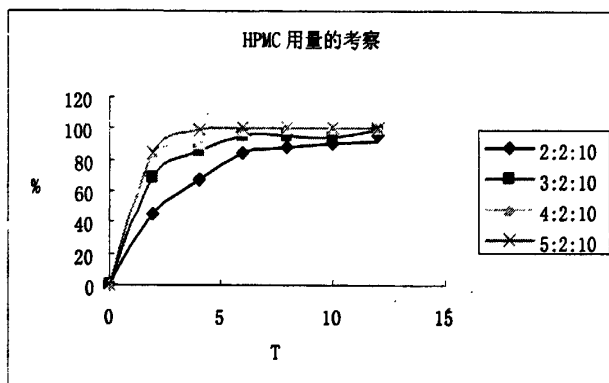


Fig.2 The curves of release rates under different proportion of drug and HPMC



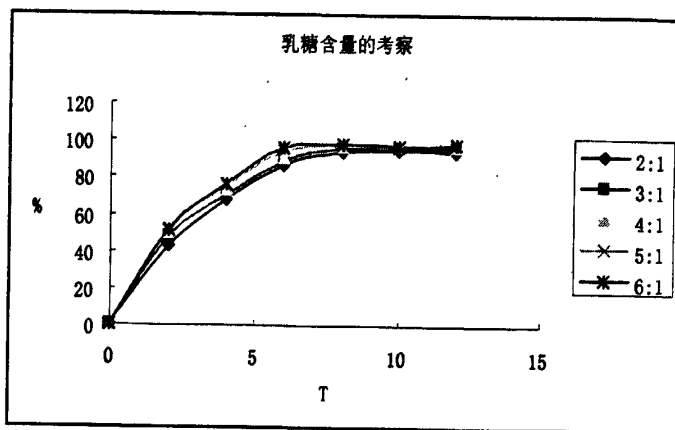


Fig.3 The curves of release rates under different proportion of drug and lactose

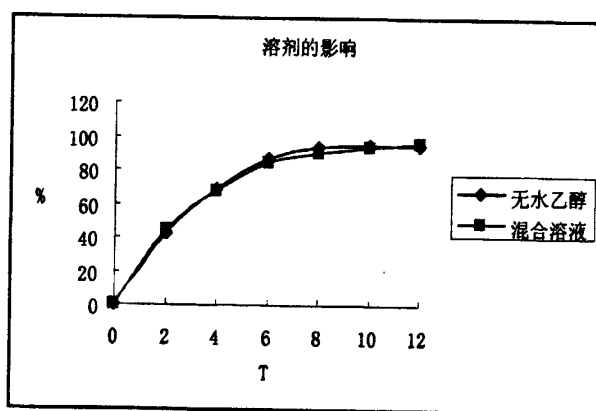


Fig .4 The curves of release rate in different solvents systems

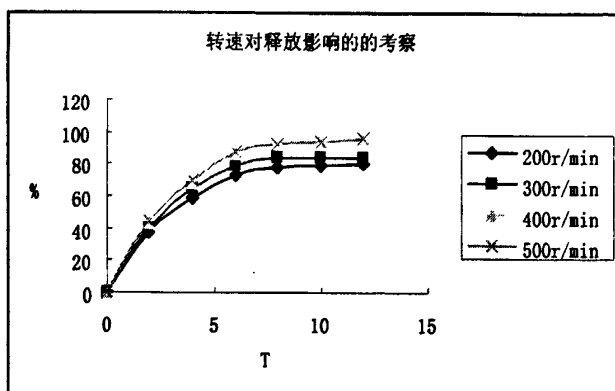


Fig.5 The curves of release rates under different rotary speed

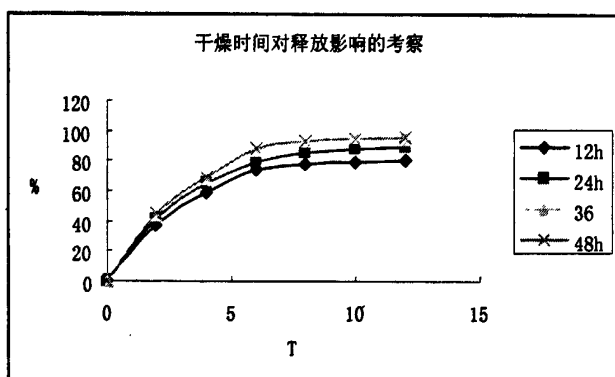


Fig.6 The curves of release rate in different dryness time

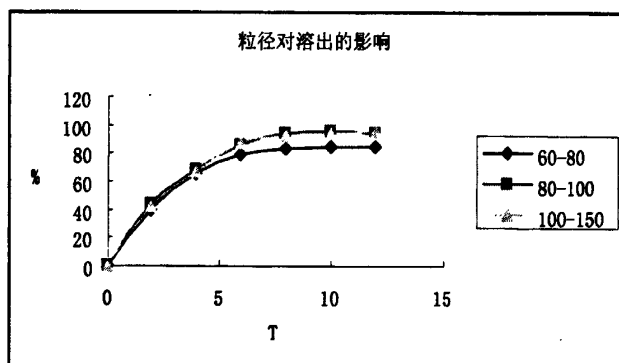


Fig.7 The curves of release rates in different mesh level

附表

Table 1 The results of Isomer in different preparative method

preparative method	solvents method	fusion method	solvents-fusion method
Isomer	0.79%	23.2%	21.5

Table 2 The result of Isomer in different dryness temperature (n=3)

test number	temperature (°C)	isomer
1	30	0.77%
2	35	0.78%
3	40	0.80%
4	45	1.49%
5	50	2.76%

Table 3 The result of Content Uniformity in different mesh level DC lactose (n=10)

test number	tesh	content uniformity
1	80	7.26
2	100	2.42
3	120	6.39

Table 4 The result of Content Uniformity in different admixture time (n=10)

admixture time	content uniformity
10min	17.26
15min	8.42
20min	7.39

Table 5 Factors and levels of orthogonal experiment

Levels	Factors		
	EC	HPMC	Lactose
1	10:2	10:3	1:4
2	10:3	10:4	1:5
3	10:4	10:5	1:6

Table 6 Design of the orthogonal experiment

Tests	A	B	C	D
1	10:02	10:03	1:04	/
2	10:02	10:03	1:04	/
3	10:02	10:03	1:04	/
4	10:02	10:03	1:04	/
5	10:02	10:03	1:04	/
6	10:02	10:03	1:04	/
7	10:02	10:03	1:04	/
8	10:02	10:03	1:04	/
9	10:02	10:03	1:04	/

Table 7 The results of release rate of CA drug

h	NO.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0.00	0	0.00	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	66.10	80.8	83.95	51.8	60.09	66.10	28.36	25.63	36.31
4	83.69	90.2	100.19	75.2	81.97	90.16	48.86	55.80	79.72
6	89.89	99.5	101.10	93.5	97.24	98.21	63.25	80.15	97.33
8	92.10	100.2	102.20	97.7	99.65	98.66	75.97	91.16	98.76
10	92.53	99.9	101.90	96.2	99.09	99.58	82.72	97.59	98.48
12	93.12	99.8	102.20	97.6	98.58	101.53	87.65	97.56	99.48

Table 8 The data of the orthogonal design

Factor	1	2	3	4	Result
	EC	HPMC	Lactose		
Test.1	1	1	1	1	-2876.4
Test.2	1	2	2	2	-5210.8
Test.3	1	3	3	3	-6633.6
Test.4	2	1	2	3	-1676.3
Test.5	2	2	3	1	-2684.5
Test.6	2	3	1	2	-3744.9
Test.7	3	1	3	2	101.1
Test.8	3	2	1	3	-102.6
Test.9	3	3	2	1	-1415.6
Mean 1	-4906.93	-1483.87	-2241.3	-2325.5	
Mean 2	-2701.9	-2665.97	-2767.57	-2951.53	
Mean 3	-472.367	-3931.37	-3072.33	-2804.17	
Range	4434.566	2447.5	831.033	626.033	

Table 9 The results of probation tests (n=6)

T(h)	090901	090902	090903	F(mean)	SD
0	0	0	0	0	0
2	28.36	29.94	31.72	30.01	1.68
4	49.86	50.73	51.62	50.74	0.88
6	64.25	63.92	65.19	64.45	0.66
8	75.97	78.26	76.93	76.45	0.68
10	82.72	83.53	82.08	82.78	0.73
12	87.65	88.86	87.14	87.88	0.88

Table 10 The results of release curve tests compared with foreign reference drug (n=6)

composition	reslease rate (%)					
	2h	4h	6h	8h	10h	12h
self-made sample	30.5	50.2	64.5	76.8	82.1	87.3
foreign reference sample	32.9	52.5	66.8	78.7	84.1	86.7

Table 11 Analog analysis of release curve

preparation	$f_2$
self-made sample foreign reference sample	91.80

讨 论

- 1 CA 药属于中性大环内酯类药物,水溶性差,口服制剂生物利用度低,因此阻碍了其在临床上的应用。本实验通过将 CA 药与适宜的载体制成缓释固体分散物,CA 药以无定型态、胶体分散态或分子分散态分散在载体中,消除了晶格能,大幅提高了分散度,提高了药物的溶解性,促进药物的吸收,提高 CA 药生物利用度,降低 CA 药的释放度,减少患者服药次数,降低药物毒副作用。
- 2 药物制备固体分散体采用的固体分散技术,主要取决于药物性质和载体材料的结构、性质、熔点及溶解性能等。常用的方法有熔融法、溶剂法、溶剂—熔融法等。本实验所用药物 CA 药对热不稳定,不适宜采用熔融法或溶剂—熔融法制备,故选择溶剂法制备 CA 药固体分散体<sup>[8]</sup>。
- 3 固体分散体的缓释制剂通常选用适宜的载体材料(水不溶性聚合物、肠溶性载体材料、脂质材料)做药物释放的阻滞剂,以水溶性载体材料做致空剂,调剂药物释放速度。根据 CA 药的理化性质及大量预实验,本实验以水不溶性载体材料乙基纤维素(EC)做阻滞剂以水溶性载体材料羟丙甲基纤维素(HPMC)做致空剂以乳糖为赋形剂制备固体分散体,进行释放度及理论分析。
- 4 难溶性药物与适宜载体材料制备成固体分散体,固体分散体可以看成是中间体,可以制备成片剂、胶囊剂、颗粒剂等。本实验通过把固体分散体粉碎、过筛、整粒后与稀释剂、助流剂、润滑剂混合均匀,然后装入胶囊制成固体分散体缓释胶囊。
- 5 本实验研制 CA 药固体分散体胶囊,着眼于将来的工业化生产,希望建立一种高质量、安全、环保、可持续进行的生产工艺。以此为目标,本实验在参阅文献和预实验的基础上,通过单因素考察和正交设计,对 CA 药固体分散体处方进行了优化,摸索了适合大生产的制备工艺,使制备方法合理、简化,降低了环境污染,为将来转化为工业生产奠定了良好的基础。

## 小 结

本部分实验通过单因素考察及正交实验,筛选出并优化了 CA 药缓释固体分散体的最佳处方及制备工艺,并将固体分散体过筛、整粒与稀释剂、润滑剂、助流剂均匀混合,装入胶囊制备缓释固体分散体胶囊,对缓释固体分散体胶囊工艺稳定性进行了考察,证明了 CA 药缓释固体分散体胶囊的制备工艺稳定可控。

## 参考文献

- 1 Hamburger SA, Barone FE, Feuerstein GI, et al. Carvedilol (Kredex) reduces infarct size in a canine model of acute myocardial infarction. *Pharmacology*, 1991, 43(3): 1131-1138
- 2 崔福德. 药剂学. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 375-376
- 3 Kazunari Yamashita et al. Establishment of new preparation method for solid dispersion formulation of tacrolimus. *Int J Pharm*, 2003, 267: 79-91
- 4 Mahalati K, Belitsky P, Kiberd B, et al. Absorption profiling-a novel method for monitoring neoral in kidney transplantation that reduces rejection and nephrotoxicity. *Transplantation*, 2000, 69: 114-116
- 4 崔福德. 药剂学. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 331-332
- 5 平其能, 胡一桥, 周建平, 等. 现代药剂学. 北京: 中国医药工业出版社, 2001, 221-223
- 6 Hassan EE, Parish RC, Gallo JM. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole. *Pharm Res*, 1992, 9: 390-392
- 6 兰传青, 刘正坤. 蛋白微球制备过程中诸影响因素的最佳水平的选择研究. *国外医药合成药、生化药、制剂分册*, 1992, 13: 103-105
- 7 刘定远. 医药数理统计方法. 北京: 人民卫生出版社, 1990, 25: 41-43
- 8 Ritger PL, Peppas NA. A simple equation for description of solute release II Fickian and anomalous expression form swellable devices. *J Control Rel*,



1987, 37: 42-45

- 9 梁文权. 生物药剂学与药物动力学. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2005, 35: 36-38
- 10 Center for Drug Evaluation and Research, FDA. Guidance for industry bioavailability and bioequivalences studies for orally administered drug products: General considerations. 1999, 10: 14-16

## 第二部分

# CA 药固体分散体缓释胶囊的质量评价和稳定性研究

## 前 言

CA 药做为抑制免疫排斥的药物,临床上需长期服用,其质量好坏直接关系到用药的安全性及有效性。本部分实验的主要目的是对 CA 药固体分散体缓释胶囊进行质量评价及稳定性研究,包括 CA 药固体分散体的鉴定、HPLC 含量测定方法学的建立、CA 药固体分散体缓释胶囊质量标准的初步建立以及稳定性实验、加速实验,对 CA 药固体分散体缓释胶囊进行稳定性研究等。

## 材料与amp;方法

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

FA2004电子分析天平	上海精科仪器厂
ZRS-8G智能药物溶出仪	天津大学无线电厂
滤器 微孔滤膜0.45um	上海医工院
KS-150D超声波清洗器	宁波科盛仪器厂
SHB-IIIA循环水式多用真空泵	郑州长城科工贸有限公司
ZJ-50电热恒温鼓风干燥箱	天津天宇机电有限公司
3913型恒温恒湿仪	美国Forma Scientific公司
高效液相色谱仪(Waters2690色谱系统、2487紫外检测器、Millium32色谱管理系统)	美国Waters公司

#### 1.2 药品与试剂

CA 药固体分散体胶囊 规格:1.0mg	自制批号: 090901, 090902, 090903
CA 药标准品 (99.5%)	华北制药集团
磷酸 (色谱纯)	石家庄市化工厂
乙腈 (色谱纯)	北京化工厂
十二烷基硫酸钠 (SDS)	北京欣经科生物技术有限公司

## 2 CA药固体分散体的鉴定

### 2.1 差示扫描量热法(DSC)<sup>[1-4]</sup>

将CA药原料药和载体乙基纤维素 (EC) 分别研细, 过100目筛备用; 将CA药与载体EC (重量比1:2)混合均匀, 制成物理混合物备用; 将CA药与载体EC (重量比1:2)不加其他辅料, 溶剂法制成固体分散体, 研细, 过100目筛备用, 进行DSC分析。

测试条件:以空铝钳锅为参比物, 另一铝锅中放入约5mg样品, 升温速率:10°C/Min, 扫描范围50~200°C。绘制CA药原料药、载体、药物-载体 (1:2) 物理混合物和固体分散体的DSC曲线图。

### 2.2 X-射线衍射法 (XRD) <sup>[5-7]</sup>

将CA药原粉和载体乙基纤维素 (EC) 分别研细, 过100目筛备用; 将CA药与载体EC (重量比1:2)混合均匀, 制成物理混合物备用; 将CA药与载体EC (重量比1:2)按溶剂法制成固体分散体, 研细, 过100目筛备用, 进行XRD分析。

测试条件:靶:铜靶;单色器:石墨单色器;电流:30mA;电压:35KV;步长:0.02/步;扫描速度:10°C/min。绘制 CA 药原粉、载体、药物—载体 (1:2) 物理混合物和固体分散体的 XRD 曲线图。

## 3 CA 药固体分散体胶囊的质量评价

### 3.1 外观

肉眼观察三批(批号: 090901, 090902, 090903)自制固体分散体胶囊, 内容物均为白色粉末。

### 3.2 CA 药固体分散体缓释胶囊的含量测定

本部分实验采用 HPLC 法测定 CA 药固体分散体缓释胶囊中的药物含量, 方法简便, 峰型较好, 保留时间适中。

#### 3.2.1 测定波长的选择

称取 CA 药标准品适量, 用乙腈溶解并稀释成浓度为 10 $\mu$ g/ml 的溶液,

照分光光度法(中国药典 2005 年版二部附录IVA), 在 200~400 nm 波长范围内进行紫外扫描, 以确定检测波长。

### 3.2.2 色谱条件的确立

色谱柱: Agilent™ C18(4.6 mm×250 mm,5 μm)

保护柱: C18

流动相: A: 乙腈: 四氢呋喃: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>=727: 273: 0.25

B: 水: 四氢呋喃: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>=820: 180: 0.25

A: B=45: 55。

检测波长: 210 nm

柱温: 40℃

流速: 1.0 ml/min

### 3.2.3 专属性实验

取空白制剂适量, 研细, 置 10ml 容量瓶中, 乙腈稀释至刻度, 超声提取 15min, 摇匀, 滤过, 进行高效液相色谱分析, 以确定辅料对测定是否有干扰。

### 3.2.4 溶液稳定性

取 CA 药胶囊内容物适量, 用乙腈配制成浓度为 2 mg/ml 溶液, 滤过, 滤液室温放置, 每隔一定时间进样分析, 考察溶液的稳定性。

### 3.2.5 标准曲线绘制

精密称取 CA 药标准品 100 mg 于 25ml 容量瓶中, 用乙腈溶解, 超声 15 分钟、定容, 配制成 4.0mg/ml 的储备液。精密吸取储备液 0.25, 1.25, 5.00, 7.50, 10.0ml 于 10ml 容量瓶中, 乙腈定容, 配制成 0.10、0.50、2.0、3.0、4.0 mg/ml 溶液, 用 0.45μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液 100μl 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 每个浓度进样 3 次, 记录色谱图, 以 CA 药峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归, 求回归方程。

### 3.2.6 回收率的测定

精密称取 CA 药标准品适量, 置于 25ml 容量瓶中, 乙腈定容, 平行配制成浓度为测定浓度 (1mg/ml) 80%、100%、120%的溶液各三份, 用 0.45μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液 100μl 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 测定吸收值, 计算回收率。

### 3.2.7 精密度实验

配制低、中、高三个浓度的样品,按上述色谱条件进样,记录色谱图,计算测定值。各浓度样品每日测定 5 次,计算相对标准偏差 RSD,得日内精密度;连续测定 5 天,计算相对标准偏差 RSD,得日间精密度。

### 3.2.8 灵敏度实验

取 CA 药固体分散体胶囊内容物,按含量测定中的溶液制备方法配置不同浓度的溶液,进行实验,按信噪比 ( $S/N \geq 3$ ),计算最低检测限;按信噪比 ( $S/N \geq 10$ ),计算最低定量限。

### 3.2.9 样品含量测定

按照优化处方制备的三批 CA 药缓释固体分散体胶囊,每批各抽取 20 粒,混合均匀,精密称取适量(约相当于 CA 药原粉 5mg),加乙腈超声使 CA 药溶解并稀释成 1.0mg/ml 的溶液,滤过,精密量取续滤液 100 $\mu$ l,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,将峰面积代入标准曲线计算含量。

### 3.2.10 含量均匀度测定

按照优化处方制备的三批 CA 药缓释固体分散体胶囊,每批各抽取 10 粒,分别转移入容量瓶中,然后其操作与 3.2.9 同。计算出每粒以标示量为 100 的相对含量 X,求其均值和标准差 S、标示量与均值之差的绝对值 A ( $A = |100 - \text{mean}|$ ) 以及  $A + 1.80S$ ,考察胶囊的含量均匀度。

## 3.3 CA 药固体分散体的释放度检查

### 3.3.1 释放介质的选择<sup>[8-9]</sup>

分别采用水、人工胃液 (0.1MHCL)、人工肠液 (pH6.8 磷酸盐缓冲溶液)、0.1%十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液为释放介质,释放介质的量为 100ml,转速为 100rpm,测定自制 CA 药胶囊的释放度。

### 3.3.2 检测波长的确定

取 CA 药固体分散体缓释胶囊适量,用 0.1%的 SDS 水溶液制成浓度为 10 $\mu$ g/ml 的溶液,按分光光度法 (中国药典 2005 年版二部附录 IVA),在 200~400 nm 波长范围内进行紫外扫描,以确定检测波长。

### 3.3.3 检测方法的选择

对于检测方法,为了简单、快速测定,应首选紫外法,但对于本品主药的量小,浓度低,用紫外法无法准确测定,因此选择了液相色谱法,该法不但准确灵敏,而且特异性强。

### 3.3.4 色谱条件选择:

### 同 3.2.2

#### 3.3.5 专属性实验

取空白制剂胶囊及含药胶囊各 1 粒, 进行释放度实验, 于 60 分钟取样, 进行高效液相色谱分析, 以确定辅料对测定是否有干扰。

#### 3.3.6 溶液稳定性

取自制 CA 药缓释胶囊 1 粒, 按上述释放度测定方法进行实验, 经 60 分钟时取溶液适量, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 将供试品溶液在室温下放置不同时间, 进行液相色谱分析, 并与零小时测定值比较, 考察其变化情况。

#### 3.3.7 标准曲线绘制

精密称取 CA 药标准品 10.1mg, 相当于纯品 10.0mg 于 100ml 容量瓶中, 用少量乙腈溶解, 0.1%SDS 水溶液定容, 配制成 100 $\mu$ g/ml 的储备液。精密吸取储备液 0.20、0.30、0.50、1.00、1.50、2.50ml 于 10ml 容量瓶中, 以 0.1%SDS 水溶液定容, 配制成 2.00、3.00、5.00、10.0、15.0、25.0 $\mu$ g/ml 的溶液, 每个浓度进样 3 次, 各取 100 $\mu$ l 注入液相色谱仪, 色谱条件同上, 记录色谱图。

#### 3.3.8 回收率的测定

精密称取 CA 药标准品适量, 按处方比例加入辅料, 用 0.1%SDS 溶液配制成测定浓度的 60%、80%、100%的溶液, 按含量测定项下样品处理方法处理样品, 并进行液相色谱分析, 计算回收率。

#### 3.3.9 精密度实验

配制低、中、高三个浓度的样品, 按上述色谱条件进样, 记录色谱图, 计算测定值。各浓度样品每日测定 5 次, 计算相对标准偏差 RSD, 为日内变异值; 连续测定 5 天, 计算相对标准偏差 RSD, 为日间变异值。

#### 3.3.10 灵敏度实验

取不同浓度样品实验, 当信噪比 (S/N)=3 时, 为最低检测限; S/N=10 时, 为最低定量限。

#### 3.3.11 释放度测定方法

取自制 CA 药胶囊, 照释放度测定法 (《中国药典》2005 年版二部附录 XD 第一法), 以新鲜煮沸的蒸馏水配制 100ml 0.1%十二烷基硫酸钠溶液 (SDS) 溶液为释放介质, 温度为 (37 $\pm$ 0.5)  $^{\circ}$ C。转速为每分钟 100 转,

依法操作, 经 1h、2h、4h、6h、8h、10h、12h、取样 5ml, 用 0.45 $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 弃初滤液, 取续滤液 100 $\mu$ l, 随即补充等温等体积的空白释放介质, 将续滤液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 代入标准曲线计算释放量。

#### 4 CA 药固体分散体胶囊的稳定性实验<sup>[11-15]</sup>

##### 4.1 影响因素实验

###### 4.1.1 高温实验

将自制的 CA 药固体分散体缓释胶囊除去外包装, 放于开口适宜的洁净容器中, 置于电热恒温培养箱中, 分别保持温度 40 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C, 并在 0 天、5 天、10 天取样, 按稳定性重点考察项目进行检测, 同时准确称量实验前后供试品的重量, 以考察供试品风化失重的情况。

###### 4.1.2 高湿实验

将自制的 CA 药固体分散体缓释胶囊除去外包装, 放于开口适宜的洁净容器中, 置于生化培养箱中, 在 25 $^{\circ}$ C 条件下, 相对湿度分别为 75% (饱和 NaCl 溶液)、92.5% (饱和 KNO<sub>3</sub> 溶液) 的条件下放置 10 天, 分别于 0 天、5 天、10 天取样, 按稳定性重点考察项目进行检测, 同时准确称量实验前后供试品的重量, 以考察供试品的吸湿潮解性能。

###### 4.1.3 强光照射实验

将自制的 CA 药固体分散体缓释胶囊置于玻璃容器内, 在 4500Lx 的光照强度下放置, 保证样品充分接受光照, 持续 10 天, 分别在 0 天、5 天、10 天取样, 按稳定性重点考察项目进行检测, 特别要注意供试品的外观变化。

##### 4.2 加速实验

将自制的 CA 药固体分散体缓释胶囊拟上市包装, 置于温度 40 $^{\circ}$ C, 相对湿度 75% 的环境中, 连续维持六个月, 分别在第 0、1、2、3、6 月取样, 按稳定性重点考察项目进行检测, 检测样品稳定性。

## 结 果

### 1 差示扫描量热法(DSC)

由 DSC 测定 CA 药原料药、载体、药物-载体 (1:2) 物理混合物和

药物-载体固体分散体, 结果见 Fig.1。其中 CA 药原料药、药物-载体物理混合物在 130℃左右出现药物峰, 药物-载体固体分散体在 130℃未出药物峰, 峰型和载体峰型一致, 说明药物与载体形成了固体分散体。

## 2 X-射线衍射法 (XRD)

由 XRD 测定 CA 药原料药、载体、药物-载体 (1:2) 物理混合物和药物-载体固体分散体, 结果见 Fig.2。其中 CA 原料药的结晶衍射峰明显, 物理混合物也出现药物衍射峰, 而固体分散体不具有结晶衍射峰, 峰型和载体峰型一致, 说明药物形成了固体分散体。

## 3 CA 药固体分散体的含量测定

### 3.1 测定波长的选择

紫外扫描图谱结果见 Fig.3, 显示其最大吸收为末端吸收, 当选择的波长小于 210nm 时, 虽然灵敏度较高, 但信号的稳定性不好, 考虑到检测的稳定性和灵敏性, 选择 210nm 作为检测波长。

### 3.2 专属性实验

取空白制剂适量, 置 10ml 容量瓶中, 乙腈稀释至刻度, 超声提取 15min, 摇匀, 滤过, 进行高效液相色谱分析, 结果见 Fig.4、Fig.5 表明空白制剂中的辅料不干扰 CA 药的测定。

### 3.3 溶液稳定性

结果见 Table 1, 结果表明: 在室温情况下 (20~30℃), 溶液放置 11 小时稳定。

### 3.4 标准曲线绘制

结果见 Fig.6, 以峰面积对浓度拟合, 拟合方程为:  $Y=20110498.21x+343374.74$ ,  $r=0.9999$  (线性范围 0.10-4.0mg/ml)。CA 药在 0.10~4.0mg/ml 范围内, 峰面积与浓度呈现良好的线性关系。

### 3.5 回收率的测定

测定量浓度 60%、80%、100%的 CA 药溶液的回收率为 99.11% (RSD1.71%)、100.4% (RSD0.97%)、100.3% (RSD1.38%), 测定结果见 Table 2。

### 3.6 方法精密度

日内精密度结果见 Table 3。低、中、高三种浓度的 RSD 分别为 1.9%、1.1%、2.2%。日间精密度结果见 Table 4, 低、中、高三种浓度的 RSD 分



别为 2.2%、1.7%、2.2%。精密度符合《中国药典》2005 版二部附录 XI X B 规定的一般 RSD 应小于 15% 的要求。

### 3.7 灵敏度实验

最低检测限为  $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ ，最低定量限为  $4\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

### 3.8 样品含量测定

含量测定结果见 Table 5，结果表明：三批 CA 药胶囊的含量均为标示量的 90~110%。

### 3.9 含量均匀度测定

三批样品的含量均匀度测定结果分别为标示量的  $(101.0\pm 1.55)\%$ 、 $(101.8\pm 1.40)\%$ 、 $(101.0\pm 1.40)\%$  ( $n=10$ )，三批样品的  $A+1.80S$  分别为 4.91、5.04、4.28。均小于 15.0，含量均匀度符合药典规定，结果见 table 6。

## 4 释放度检查

### 4.1 释放介质的选择

分别采用水、人工胃液 ( $0.1\text{M HCl}$ )、人工肠液 ( $\text{pH}6.8$  缓冲盐溶液)、0.1% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液为释放介质，释放介质的量为 100ml，转速为 100rpm，测定自制 CA 药缓释胶囊的释放度。结果见 Table 7。由上述结果可知，对照品在水、人工胃液、人工肠液中释放情况类似，均很低 ( $<50\%$ )，这是由于 CA 药在水中的溶解度极低造成的；在 0.1% SDS 水溶液中释放比较完全，选择 0.1% SDS 水溶液作为释放介质。

### 4.2 测定波长的选择

测定结果同 3.1，结果见 Fig.7。

### 4.3 专属性实验

空白和含药胶囊的含量测定色谱图见 Fig.8、Fig.9。图谱显示空白辅料对 CA 药的测定没有干扰。

### 4.4 溶液稳定性

结果见 Table 8，结果表明：在室温情况下 ( $20^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ )，溶液放置 11 小时稳定。

### 4.5 标准曲线的绘制

测得的数据经线性回归，得到标准曲线方程： $A=59441C-10715$   $r=0.9995$  结果见 Fig.10、Table 9，结果表明 CA 药在  $2\sim 25\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内，液相色谱峰面积与浓度呈现良好的线性关系。

#### 4.6 回收率测定

CA 药的浓度的 60%、80%、100% 的溶液平均回收率为 101.8% (RSD 0.67%)、99.65% (RSD 0.90%)、100.6% (RSD 2.17%)，测定结果见 Table 10。

#### 4.7 方法精密度

日内精密度结果见 Table 11。低、中、高三种浓度的 RSD 分别为 1.6%、1.8%、2.2%。日间精密度的结果见 Table 12，低、中、高三种浓度的 RSD 分别为 1.5%、1.9%、2.1%。精密度符合《中国药典》2005 版二部附录 XI X B 规定的一般 RSD 应小于 15% 的要求。

#### 4.8 灵敏度实验

最低检测限  $1\mu\text{g} / \text{ml}$ ；最低定量限为  $4\mu\text{g} / \text{ml}$ 。

#### 4.9 释放度测定方法

取最优化处方工艺制备的三批(090901 批、090902 批、090903 批) CA 药固体分散体胶囊，照释放度测定法（《中国药典》2005 年版二部附录 XD 第一法），以新鲜煮沸的蒸馏水配制 100ml 0.1% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液为释放介质，温度为  $(37\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。转速为每分钟 100 转，依法操作，经 1h、2h、4h、6h、8h、10h、12h、取样 5ml，用  $0.45\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过，取续滤液  $100\mu\text{l}$ ，随即补充等温等体积的空白释放介质，将续滤液注入液相色谱仪，记录色谱图，代入标准曲线计算释放量。

### 5 稳定性实验

#### 5.1 高温实验

本品在温度  $40^\circ\text{C}$ 、 $60^\circ\text{C}$  下放置 10 天，在 0 天、5 天、10 天取样，考察样品稳定性。实验结果见 Fig.11、Table 13。结果显示，本品暴露在高温下，性状没有变化，重量没有明显变化，释放度和含量下降明显，有关物质明显增多，故本品对高温比较敏感。

#### 5.2 高湿实验

本品在  $25^\circ\text{C}$  条件下，相对湿度分别为 75% (饱和 NaCl 溶液)、92.5% (饱和  $\text{KNO}_3$  溶液) 的条件下放置 10 天，分别于 0 天、5 天、10 天取样，检测样品稳定性。实验结果见 Fig.12、Table 14。结果显示，本品在高湿下，性状没有变化，重量没有明显变化，释放度和含量下降明显，有关物质增加明显。在生产及贮存过程中，应严格避光保存，应用遮光的材料进

行包装，且储存在阴凉和干燥处。

### 5.3 强光照射实验

将本品置于玻璃容器内，在 4500Lx 的光照强度下放置 10 天，使本品充分接受光照，分别在 0 天、5 天、10 天取样，考察样品稳定性。实验结果见 Fig.13、Table 15。结果显示，本品暴露在强光下，性状没有变化，重量没有明显变化，释放度、含量、有关物质含量变化不明显。故本品对强光较稳定。

### 5.4 加速实验

本品在温度  $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度  $75\%\pm 5\%$  的条件下放置 6 个月，分别在第 0、1、2、3、6 月取样，检测样品稳定性。实验结果见 Fig.14、Table 16。结果表明，本品在加速实验 6 个月内，性状、重量、释放度、含量、有关物质均无明显变化，本品在加速实验条件下稳定。

附图

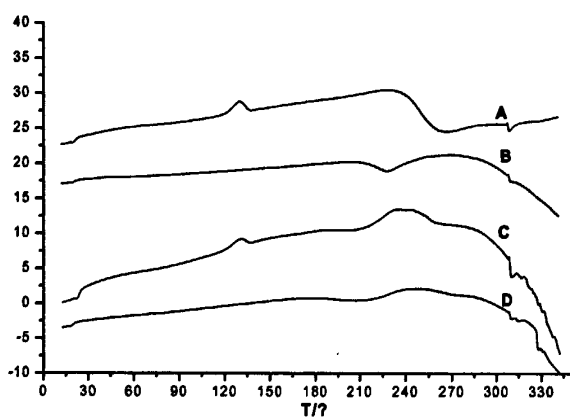


Fig.1 DSC curves

A-drug; B-carrier; C-physical mixture of drug and carrier; D-solid dispersion

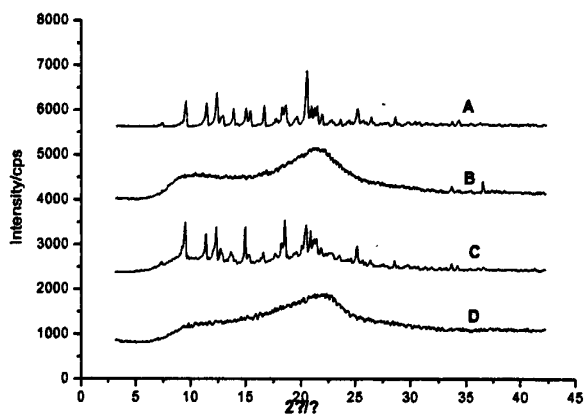


Fig.2 XRD curves

A-drug; B-carrier; C-physical mixture of drug and carrier; D-solid dispersion

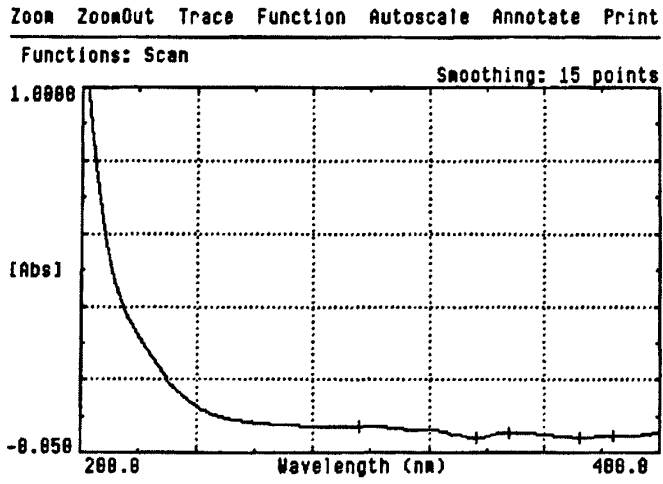


Fig.3 UV spectrum of drug CA in acetonitrile solution

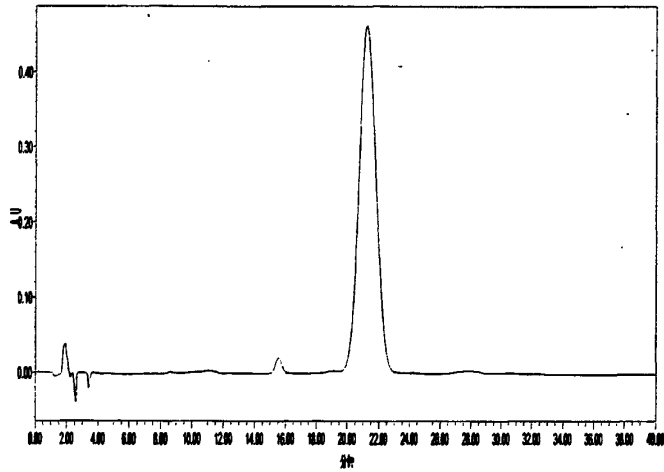


Fig.4 Chromatography of drug CA in acetonitrile solution

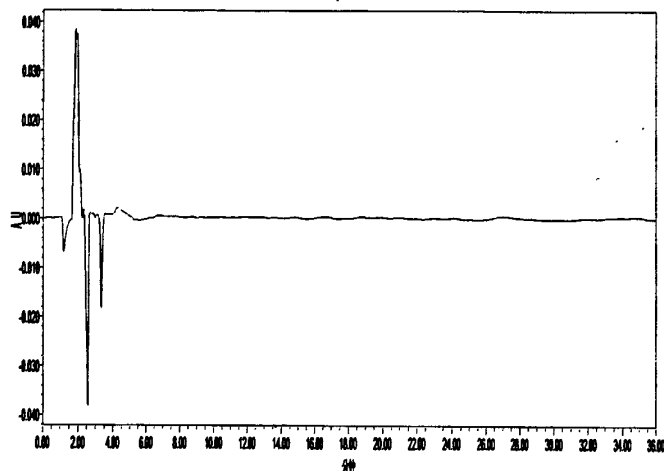


Fig.5 Chromatography of adjuvant in acetonitrile solution

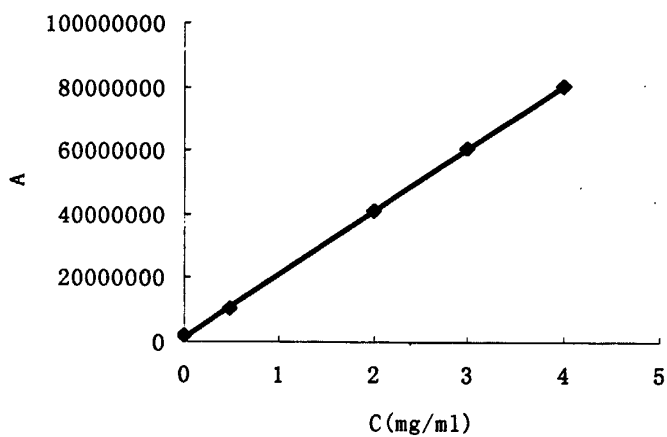


Fig.6 Standard curve of drug CA in acetonitrile solution

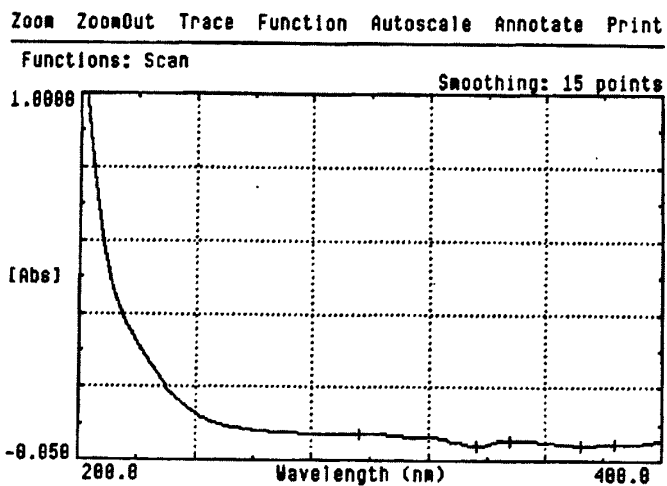


Fig.7 UV spectrum of drug CA in dissolution medium

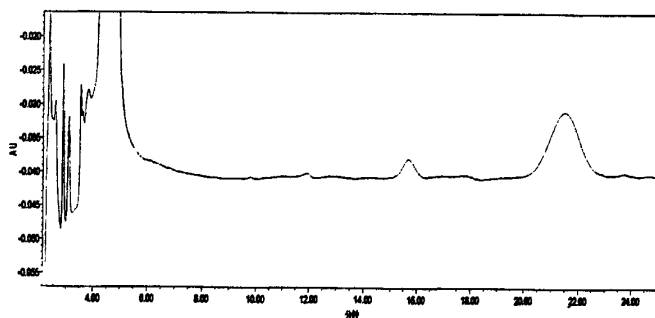


Fig.8 Chromatography of drug CA in release medium

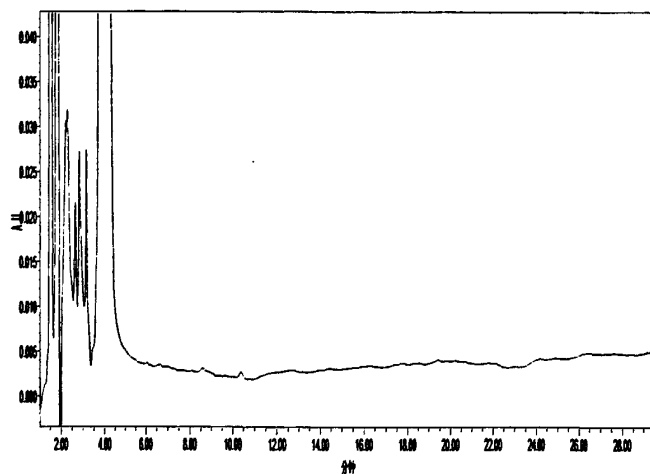


Fig.9 Chromatography of adjuvant in release medium

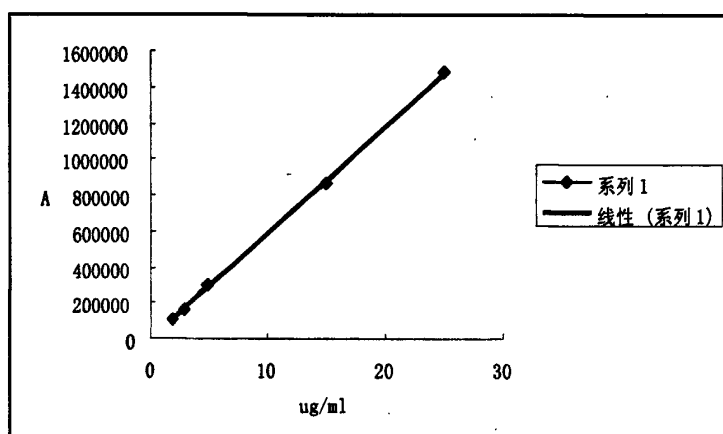


Fig.10 Standard curve of release rate of drug CA

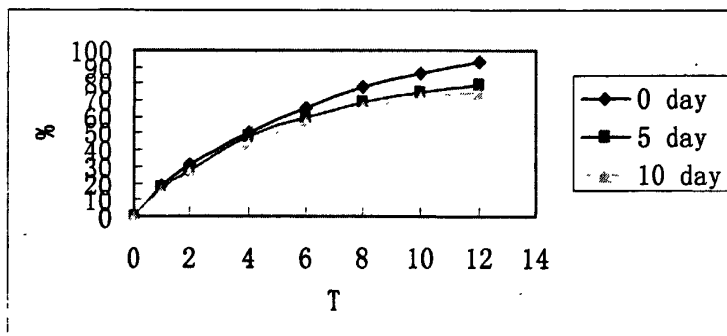


Fig.11 Influential experiment—high temperature(60°C)



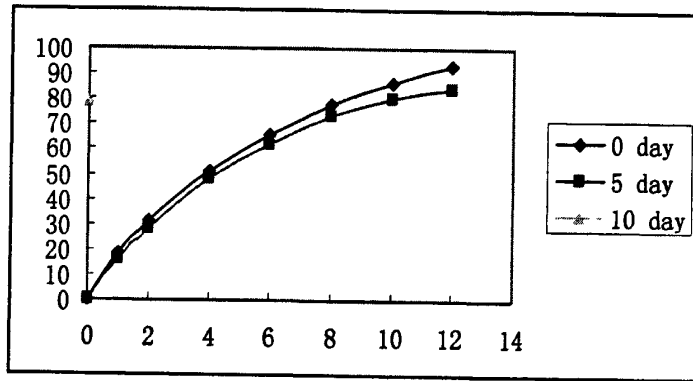


Fig.12 Influential experiment—high humidity(60°C)

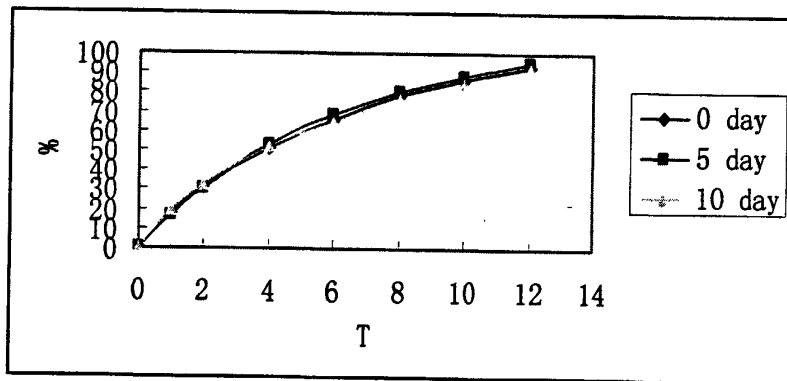


Fig.13 Influential experiment—strong illumination  
(4500 ± 500lx)

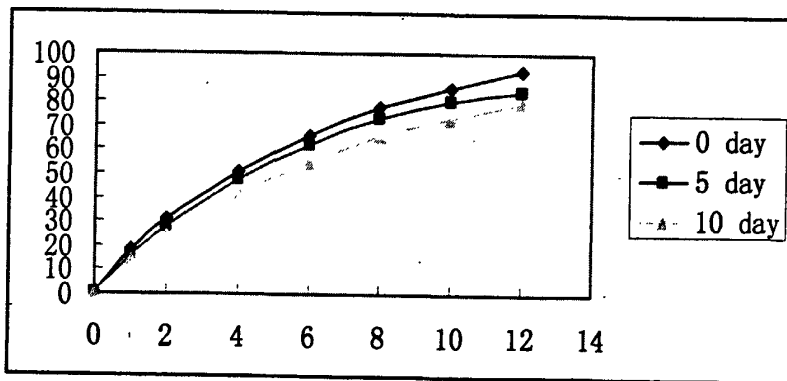


Fig.14 The results of experiment under accelerated experiment

附表

Table 1 The results of stability test of drug CA solution

Placing time (hr)	Peak area
0	14497743
1	14410323
3	14551450
6	14840236
7	14760889
8	14766106
9	14616491
10	14754783
11	14705380
Mean	14655933
RSD%	0.9863

Table 2 The results of recovery rate and accuracy test of content

Determination					
Addition (mg)	Measured value (mg)	Recovery rate (%)	Average recovery rate (%)	RSD (%)	
80%	20.95	20.42	97.47	99.11	1.71
	20.76		99.61		
	20.23		99.36		
	20.31		101.6		
	20.58		97.52		
100%	25.10	25.52	101.7	100.4	0.97
	25.87		99.23		
	25.51		99.88		
	25.21		101.0		
	25.76		100.2		
120%	30.83	30.61	99.06	100.3	1.38
	30.23		102.6		
	30.24		99.34		
	30.16		100.2		
	30.78	30.99	100.7		

Table 3 The result of with-day precision (n=5)

Amount Added(ug/ml)	Amount Founded(ug/ml)	RSD (%)
0.80	0.81±1.6	2.0
1.00	1.07±1.2	1.1
1.20	1.13±2.6	2.3

Table 4 The result of between-day precision (n=5)

Amount Added(mg/ml)	Amount Founded(ug/ml)	RSD (%)
0.80	0.82±1.8	2.2
1.00	1.00±1.8	1.8
1.20	1.10±2.2	2.0

Table 5 The results of content determination of drug CA Capsules (1.0mg)

Samlpe	Area	Mean	Signal value (%)
090901	17230179	17257653	102.8
	17270838		
090902	17455481	17475800	102.6
	17496314		
090903	17299976	17321303	99.7
	17316608		

Table 6 The content uniformity of the three batches optimum Formulations (n=10)

Capsule number	Batch number		
	20090901	20090902	20090903
1	101.2	99.05	100.5
2	102.1	103.1	97.89
3	99.74	103.4	102.9
4	98.07	99.47	99.67
5	98.92	100.9	102.1
6	103.9	104.5	103.2
7	98.62	100.6	99.96
8	104.2	103.2	102.6
9	100.7	101.6	100.6
10	102.5	99.58	99.75
Mean	101.0	101.8	101.0
SD	2.17	1.80	1.82
A+1.8S	4.91	5.04	4.28

Table 7 Release rate of drug CA in different Dissolution mediator (n=6)

Dissolution mediator T	water	Artificial gastric juice	Artificial intestinal juice	SDS (0.2%)
2	14.56	10.62	15.62	24.69
4	23.78	21.42	25.52	37.74
6	32.43	29.86	33.03	55.26
8	38.94	35.97	39.48	77.93
10	42.34	40.59	43.73	87.97
12	45.71	42.96	45.14	94.19

Table 8 The results of stability of dissolution fluid

No.	Time	Peak area
1	0 hr	544984
2	1 hr	552512
3	2 hr	548676
4	3 hr	546898
5	6 hr	554689
6	7 hr	549742
7	8 hr	548815
8	9 hr	539188
9	10 hr	542967
10	11 hr	529121
Mean		545845.3
RSD(%)		1.35

Table 9 The results of test of standard curve and its linear range

Item	Value				
Concentration (µg/ml)	2	3	5	15	25
Pear area	110078	162646	299185.5	862012	1484528.5
Standard curve	Y=59441X-10715      r=0.9995 Y—峰面积    X—浓度				
Linear range	2 µg/ml ~ 25 µg/ml				
Correlation coefficient	r = 0.9998				

Table 10 The results of recovery rate determination of durg CA (n=5)

	Concentration		
	60%	80%	100%
Recovery rate (%)	100.9	98.98	102.6
	101.3	99.56	101.6
	99.63	99.75	98.69
	100.9	101.1	97.93
	101.2	98.85	102.4
Mean	101.8	99.65	100.6
RSD(%)	0.67	0.90	2.17

Table 11 The result of with-day precision (n=5)

Amount Added(ug/ml)	Amount Founded(ug/ml)	RSD (%)
0.60	0.60±1.2	1.6
0.80	0.79±1.4	1.8
1.00	1.00±2.1	2.2

Table 12 The result of between-day precision (n=5)

Amount Added(ug/ml)	Amount Founded(ug/ml)	RSD (%)
0.60	0.61±1.6	1.5
0.80	0.79±1.0	1.9
1.00	1.00±2.1	2.1

Table 13 The results of high temperature tests of drug CA SDF

Influential factor	Test items	Tests results		
		0 day	5 days	10 days
High temp (40°C)	Character Related substance (%)	white powder 0.05	white powder 2.27	white powder 5.06
	Contents (%)	103.4	100.1	97.90
	Character Related substance (%)	white powder 0.05	white powder 5.21	white powder 7.19
High temp (60°C)	Contents (%)	103.4	97.81	95.75

Table 14 The results of high humidity tests of Drug CA SDF

Influential factor	Test items	Tests results		
		0 day	5 days	10 days
High humidity (75%)	Character	white powder	white powder	white powder
	Related substance (%)	0.05	3.50	6.68
	Contents (%)	103.4	99.00	96.80
High humidity (92.5%)	Character	white powder	white powder	white powder
	Related substance (%)	0.05	6.70	9.87
	Contents (%)	103.4	96.80	93.50

Table 15 The results of illumination tests of Drug CA SDF

Influential factor	Test items	Tests results		
		0 day	5 days	10 days
Illumination	Character	white powder	white powder	white powder
	Related substance (%)	0.05	1.60	3.68
	Contents (%)	103.4	101.8	99.72



Table 16 The results of accelerated stability test of Drug CA SDF

Test items	Batch No.	Tests results				
		0month	1month	2months	3months	6months
Character	090901	white	white	white	white	white
		powder	powder	powder	powder	powder
	090902	white	white	white	white	white
		powder	powder	powder	powder	powder
	090903	White	white	white	white	white
		powder	powder	powder	powder	powder
Related substance (%)	090901	0.05	0.05	1.08	1.96	2.98
	090902	0.07	0.10	0.79	1.32	2.26
	090903	0.04	0.08	0.99	1.89	3.02
Contents (%)	090901	103.4	103.4	102.3	101.2	100.1
	090902	102.3	101.2	101.2	100.1	99.0
	090903	101.2	99.0	101.2	100.1	96.8

讨 论

- 1 将 CA 药制成固体分散物后, CA 药在载体中的存在状态是决定制剂能否达到预期效果的关键。如 CA 药以分子、胶态、微晶、或无定形态高度分散于载体材料中, 即可大幅提高药物的分散性又可消除 CA 药的晶格能, 提高 CA 药在水中的溶解度及生物利用度。差示扫描量热法 (DSC)、X-射线衍射法(X-Ray)主要测试是否有药物晶体的吸收峰, 或测试其吸收峰面积的大小并与物理混合物比较, 可考察药物在载体中的分散状态和分散程度。固体分散体中药物分散状态有呈分子状态、胶体状态、微晶或无定形状态, 与原药相比, 其差示扫描量热法图谱变化明显, 对于共沉淀法制备的固体分散体, 药物的熔融峰完全消失。若固体分散体中有药物晶体存在, 则有吸热峰存在, 药物晶体存在越多, 吸热峰总面积越大, 故用差示扫描量热法 (DSC)、X-射线衍射法(X-Ray)可鉴别固体分散体是否形成并可了解药物在固体分散体中的分散状态。
- 2 固体分散体的制备方法, 无论是熔融法还是溶剂法都转变了药物的物理结构, 通常成为无定形、部分无定形或药物的过饱和固态溶液, 从热力学上讲, 这些状态都是不稳定的, 有转化为稳定状态结晶的趋势。药剂学上将固体分散体长时间贮存后, 出现硬度变大, 析出结晶或结晶粗化, 药物释放度降低的现象称作老化<sup>[15]</sup>。这种老化现象比较常见, 是固体分散体的一个显著的缺点, 大大制约了它的应用。目前, 对老化机制尚无统一认识, 但老化与药物浓度、贮存条件及载体材料的性质有关。在仔细筛选处方、选择载体材料的基础上, 本实验还采用铝箔袋防潮包装, 内加干燥剂, 密封保存于阴凉干燥处, 避免了较高的温度与湿度, 可以防止或延缓老化, 较好地保持了固体分散体的稳定性。

小 结

本部分实验采用了高效液相 (HPLC) 方法测定 CA 药固体分散体缓释胶囊的含量及释放度。测定方法简单方便, 专属性强、灵敏度高、结果准确。

CA 药固体分散体对光稳定, 对热、湿不稳定。所以 CA 药固体分散体缓释胶囊应密封保存于阴凉处, 可在包装内加入干燥剂。

参考文献

- 1 刘晓晴, 张罗红, 李波. 热分析技术在药物分析中的应用进展[R]. 上海: 药物分析杂志编辑部, 2003. 1-3
- 2 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 127-128
- 3 Wesley Wm Wendlandt. Thermal Analysis [M]. Third Edition. New York: Wiley, 1986
- 4 李余增. 热分析[M]. 北京: 清华大学出版社, 1987, 78-80
- 5 Cheng F, Liu WQ, Wang GL, et al. Analytical on talc powder intraditional Chinese medicine materials by X-ray diffraction. Chin Pharm J, 2001, 36(1): 18-21
- 6 Wang SC, Gong NB, Cheng HM, et al. Powder X-ray diffraction analysis of Cornu Cervi Pantotrichum. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2001, 32(12): 1123-1124
- 7 Lu Y, Zheng QT, Wu N, et al. Studies of X-ray diffraction pattern of traditional Chinese medical materials1. Acta Pharm Sin, 1997, 32(3): 193-198
- 8 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 1136-1137
- 9 沈岚, 朱卫丰, 蔡贞贞, 等. 不同基质丹参凝胶剂的释放比较实验研究中成药, 2000, 22 (2):118
- 10 Serajuddin AT. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early

promises, subsequent problems and recent breakthroughs. *J Pharm Sci*, 1999, 88(10): 1058-1066

- 11 Weuts I, Kempen D, Six K, et al. Evaluation of different calorimetric methods to determine the glass transition temperature and molecular mobility below T<sub>g</sub> for amorphous Drugs. *Int J Pharm*, 2003, 259(1/2): 17-25
- 12 Aso Y, Yoshioka S, Kojima S. Molecular mobility-based estimation of the crystallization rates of amorphous nifedipine and phenobarbital in poly (vinylpyrrolidone) solid dispersions. *J Pharm Sci*, 2004, 93(2): 384-391
- 13 Suzuki H, Sunada H. Some factors influencing the dissolution of solid dispersions with nicotinamide and hydroxypropylmethylcellulose as combined carriers. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1998, 46: 1015-1020
- 14 Guillaume F. Elaboration and physical study of an oxodipine solid dispersion in order to formulate tablets. *Drug Dev Ind Pharm*, 1992, 18: 811-827
- 15 Zhao QL, Gao YL. Research progress in drug release mechanism and stability of solid dispersion. *Foreign MedSci SecPham*, 2005, 32(1): 52-56

### 第三部分

## CA 药固体分散体缓释胶囊的药物动力学研究

### 前 言

本部分进行了 CA 药固体分散体缓释胶囊的动物药物动力学研究, 并与同品种的国外对照品进行了生物等效性研究。文献报道有 HPLC 法、GC 法、GC/MS 法和 LC-MS/MS 法测定该药血药浓度<sup>[1~3]</sup>。本实验采用尼莫地平(nimodipine, NIM)为内标, 建立了狗全血中 CA 浓度的 LC-MS/MS 测定方法, 根据 SFDA 关于生物样品分析方法验证的相关规定, 对该方法进行了严格的方法学验证, 并采用建立的方法测定了口服 CA 药固体分散体缓释胶囊后狗全血中 CA 药的浓度。由于 NIM 对光不稳定<sup>[4]</sup>, 因此实验避光操作。

### 材料与amp;方法

#### 1 仪器与试药

##### 1.1 试药

CA药胶囊, 1mg/粒	自制, 批号 060901
CA药胶囊对照品, 1mg/粒	F Ireland ltd, 批号 1C5837A
尼莫地平对照品	中国药品生物制品检定所 (100270-200002)
乙腈(色谱纯)	Fisher化学公司(Fair Lawn, New Jersey, USA)
乙醚(分析纯)	天津市光复精细化工研究所
甲酸(色谱纯)	迪马公司
乙酸铵(色谱纯)	迪马公司
水	超纯水

##### 1.2 仪器

质谱仪: 3200 QTRAP 型串联四极杆线性离子阱质谱仪, 配有 Turbo V 离子源(美国 AB 公司)

液相色谱仪: Agilent 1200 系统, 配有四元泵、在线脱气机、自

自动进样器 (美国Agilent公司)

液相色谱仪: Agilent 1200系统, 配有四元泵、在线脱气机、自动进样器 (美国Agilent公司)

数据系统: Analyst1.4.2 (美国AB公司)

分析天平: BP211D (北京赛多利斯仪器有限公司)

台式离心机: LDZ4-0.8 (北京医用离心机厂)

台式离心机: TDL-5 (北京雷勃尔离心机有限公司)

漩涡混合器: XW80A 型 (上海医大仪器厂)

超纯水仪: PWVF 型 (力康生物医疗科技控股有限公司, 上海)

氮吹浓缩装置: MTN-2800D 型 (天津奥特赛斯仪器有限公司)

### 1.3 实验动物

体重为 15kg±1kg 雄性家犬, 雌雄各半, 年龄为 10~12 个月, 白求恩国际和平医院动物中心提供。实验前禁食 12h, 饮水不限。

## 2 CA 药血药浓度测定方法的建立

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub>, 5μm, 150 × 4.6 mm

流动相: 乙腈 (含 2mM 乙酸铵) - 水 (含 2mM 乙酸铵) 梯度洗脱, 梯度洗脱程序见下表, 每次进样前预平衡 5min。

时间 (min)	乙腈 (%)	水 (%)
0.00	40	60
1.50	70	30
2.00	98	22
6.50	98	2
7.00	40	60

流速: 1000μl/min

进样量: 20μl

柱温: 40 °C

### 2.2 质谱条件

离子源为电喷雾离子化源 (ESI); 源喷射电压 (IS) 为 5500V; 雾化温度为 650°C; 雾化气 (GS1, N<sub>2</sub>) 压力为 65 psi; 辅助气 (GS2, N<sub>2</sub>) 压力为 65 psi; 气帘气 (N<sub>2</sub>) 压力为 30 psi; 正离子方式检测; 扫描方式为多反应监测 (MRM); 用于定量分析的离子反应分别为: m/z 821.8 → m/z 768.7 (CA 药), 解簇电压 (DP) 为 40 V, 碰撞能量 (CE) 31 eV; m/z 419.4

→  $m/z$  343.2 (内标, 尼莫地平), 解簇电压 (DP) 为 25 V, 碰撞能量 (CE) 15 eV; 驻留时间均为 200ms。

## 2.2 对照品溶液的制备

取 CA 对照品 5.01mg, 精密称定, 置 10 ml 量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 501 $\mu$ g/ml 的对照品储备液。分别精密量取储备液适量, 用乙腈稀释制成 2.004, 5.01, 10.02, 50.1, 100.2, 200.4, 501, 1002ng/ml 的 CA 系列标准溶液, 于冰箱 4 $^{\circ}$ C 保存, 备用。

## 2.4 内标溶液的制备

取尼莫地平对照品 4.26mg, 精密称定。置 10ml 量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 426 $\mu$ g/ml 的尼莫地平储备液。精密量取尼莫地平储备液适量, 用乙腈稀释制成内标溶液 (85.2ng/ml), 于冰箱 4 $^{\circ}$ C 保存, 备用。

## 2.5 全血样品预处理与测定

精密移取 200 $\mu$ l 全血样品于 1.5 ml EP 管中, 加入 200 $\mu$ l 乙腈沉淀剂、20 $\mu$ l 乙酸铵, 50 $\mu$ l 尼莫地平内标溶液, 涡流混匀 2min; 离心 10min (12 000 r·min<sup>-1</sup>), 取上清液进样 20 $\mu$ l, 进行 LC-MS/MS 定量分析。

## 2.6 方法专属性

依照 2.5 项下操作, 分别制备空白全血样品、空白全血样品外加对照药, 依照 2.1 项中的色谱条件进行分析, 记录色谱图。

## 2.7 标准曲线与定量下限

取空白全血 1ml 置离心试管中, 加入 50  $\mu$ l 含 CA 药系列标准溶液, 配制成相当于 CA 浓度为 0.05, 0.12, 0.25, 0.50, 2.55, 5.10, 10.25, 25.50, 50.10ng/ml 的标准全血样品。其余按 2.4 “全血样品预处理与测定”项下依法操作, 以全血中 CA 浓度为横坐标, 以 CA 与内标的峰面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法 (权重系数为  $1/C^2$ ) 进行回归计算, 求得直线回归方程, 建立标准曲线。

## 2.8 方法准确度和精密度

按 2.7 进行操作, 制备 CA 药低、中、高三个浓度 (分别为 1.0, 10.0, 50.0ng/ml) 的质量控制 (QC) 样品, 每个浓度 6 个样本, 连续测定 3 天。根据当日的工作曲线, 计算 QC 样品的测得浓度, 将 QC 样品的结果进行方差分析, 求算方法的精密度 RSD (QC 样品测得值的相对标准偏差) 与准

准确度 RE (QC 样品测量均值对真值的相对偏差), 计算方法的准确度与精密度。

## 2.9 方法提取回收率与基质效应

取 200 $\mu$ l 空白全血, 按 2.7 进行操作, 制备低、中、高三个浓度的质控样品, 每个浓度 3 个样本。同时另取 200 $\mu$ l 空白全血, 加入 200 $\mu$ l 乙腈沉淀剂, 涡流混匀 1 min, 离心 10 min(10 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ ), 向获得的上清液中加入相应浓度的 100 $\mu$ l 标准溶液, 涡流混匀, 进样 20 $\mu$ l 进行 LC-MS/MS 分析。获得相应峰面积, 以每一浓度两种处理方法的峰面积比值计算提取回收率。以纯净水代替空白全血制备质控样品并与实际质控样本峰面积结果进行比较考察基质效应。

## 2.10 稳定性

取空白全血 1ml, 按 2.7 项下的方法制备低、中、高三个浓度 (浓度分别为 1.0、10.0、40.0ng/ml) 的质控样品 (QC), 每一浓度进行 6 样本分析, 考察 CA 药在全血中室温放置 12h 的稳定性。

取空白全血 1ml, 按 2.7 项下的方法制备低、中、高三个浓度 (浓度分别为 1.0、10.0、40.0ng/ml) 的质量控制样品 (QC), 每一浓度进行 6 样本分析, 考察 CA 药全血样品预处理后室温放置 12h 的稳定性。

取空白全血 1ml, 按 2.7 项下的方法制备低、中、高三个浓度 (浓度分别为 1.0、10.0、40.0ng/ml) 的质控样品 (QC), 每一浓度进行 6 样本分析, 考察 CA 药固体分散体缓释胶囊在全血中经三次冷冻-解冻循环的稳定性。

取空白全血 1ml, 按 2.7 项下的方法制备低、中、高三个浓度 (浓度分别为 1.0、10.0、40.0ng/ml) 的质控样品 (QC), 每一浓度进行 6 样本分析, 考察 CA 药全血样品在-80 $^{\circ}$ C 冷冻贮存的长期稳定性 (7 天, 14 天, 21 天)。

## 2.11 计算

以 CA 药与内标的峰面积比进行计算。用加权 ( $W=1/C^2$ ) 最小二乘法进行回归计算, 求得直线回归方程, 将比值带入方程后计算 CA 药的药物浓度。

## 3 药物动力学实验

### 3.1 实验设计<sup>[6~10]</sup>



本实验采用两制剂、两周期双交叉自身对照设计,拟完成实验药 CA 药胶囊和对照药 CA 药胶囊 6 例的动物药物动力学研究。六只狗随机分成两组,每组三只,每只狗按双交叉设计表口服给予实验药 10mg 或对照药 10mg,给药前禁食 12 小时,给药后 2 小时方可饮水,4 小时后统一喂食。2 周后交叉给予下一次药物。分别于给药前与给药后 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、14、24、36 小时从狗前腿取静脉血 4.0ml,EDTA 抗凝,-20℃冷冻保存至测定。

### 3.2 样品测定

按 CA 药血药浓度测定项下方法进行,记录实验结果,代入 CA 药血药浓度标准曲线方程,计算相应的血药浓度值。

### 3.3 药物动力学参数计算及生物等效性统计学分析<sup>[11~15]</sup>

将每只狗全血浓度—时间数据用 3p97 药代动力学程序进行处理,根据 AIC 法综合判断 CA 药的药代动力学特征,求算各项药代动力学参数,计算相对生物利用度,进行生物等效性统计学分析。

## 结 果

### 1 CA 药血药浓度测定方法的建立

#### 1.1 质谱分析

将 CA 药和内标尼莫地平储备液用乙腈稀释至一定浓度,采用蠕动泵进样模式,进行碎片离子分析,相应的二级全扫描质谱图。结果见 Fig.1

#### 1.2 方法专属性

结果见 Fig.2、Fig.3、Fig.4。

#### 1.3 标准曲线与定量下限

以全血中待测物浓度为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标,用加权( $W=1/X^2$ )最小二乘法进行回归运算,求得直线回归方程,典型的回归方程为  $Y=59401X-5169.7(r=0.9999)$ 。根据工作曲线,CA 的线性范围为 0.5~50.0ng/ml,定量下限为 0.1ng/ml ( $S/N>10$ ),线性关系良好,最低检测限为 0.05ng/ml ( $S/N>3$ )。结果见 Fig.5。

#### 1.4 方法准确度和精密度

日内精密度:低、中、高三种浓度的 RSD 分别为 3.74%、3.18%、2.76%。

日内准确度:低、中、高三种浓度的 RE 分别为 99.89%、99.94%、99.96%。

日间精密度:低、中、高三种浓度的 RSD 分别为 5.84%、4.58%、4.27%。

日间准确度:低、中、高三种浓度的 RE 分别为 99.41%、99.58%、99.89%。

结果见 Table 1。

### 1.5 方法提取回收率与基质效应

CA 药的提取回收率 =  $A_{QC}/A_b \times 100\%$ , 低、中、高三浓度的提取回收率分别为 88.1%, 88.1% 和 82.7% (n=6)。

CA 药的基质效应 =  $A_b/A_a \times 100\%$ , 低、中、高三浓度的基质效应分别为 98.4%, 106.3% 和 105.0% (n=6)。

内标溶液经同法提取处理, 其提取回收率为 83.7% (n=18), 见表。其基质效应为 102.5% (n=18)。结果见 Table 2、Table 3。

### 1.6 稳定性考察

经考察 CA 药在全血中室温放置 12h 稳定, 结果见 Table 4。

CA 药全血样品预处理后室温放置 12h 稳定, 结果见 Table 5。

CA 药固体分散体缓释胶囊在全血中经三次冷冻-解冻循环的稳定性, 结果见 Table 6。

CA 药全血样品在 -80℃ 冷冻贮存的长期稳定性 (7 天、14 天、21 天), 结果见 Table 7。

## 2 血药浓度数据

6 只狗分别单次给予 CA 药固体分散体胶囊实验药和 CA 药固体分散体胶囊对照药 5mg 后, 血药浓度-时间数据见 Fig.6 和 Table 8、Table 9。

## 3 药代动力学参数计算

两种制剂血药浓度数据采用 3p87 程序进行拟合, 依 AIC 法判断 CA 药的药动学特征, 结果表明其药时曲线符合两室模型, 各种药动学参数结果见 Table 10。

## 4 生物利用度计算

以国外生产的 CA 药胶囊为对照品, 计算自制的 CA 药胶囊的相对生物利用度,  $F = AUC_{(0-t)} \text{实验药} / AUC_{(0-t)} \text{对照药} \times 100\%$ ,  $F = AUC_{(0-\infty)} \text{实验药} / AUC_{(0-\infty)} \text{对照药} \times 100\%$ , 自制的 CA 药胶囊的相对生物利用度平均分别为 103.21% ± 5.28% 和 101.05% ± 5.32%, 结果见 Table 11。

## 5 生物等效性统计学分析

经方差分析及双单侧  $t$  检验, 实验药 CA 药的  $AUC_{(0-t)}$  和  $AUC_{(0-\infty)}$  的 90% 可信限分别为 94.6%~112.2% 和 91.4%~121.4%, 均落在国外对照品的 80%~125% 范围内;  $C_{max}$  的 90% 可信限为 99.8%~130.8%, 在国外对照品  $C_{max}$  的 70%~143% 范围内;  $T_{max}$  经非参数检验与国外对照品无显著性差异。因此, 自制的 CA 药胶囊与 F Ireland ltd 药品有限公司生产的 CA 药胶囊生物等效, 结果见 Table 12、Table 13、Table 14、Table 15。

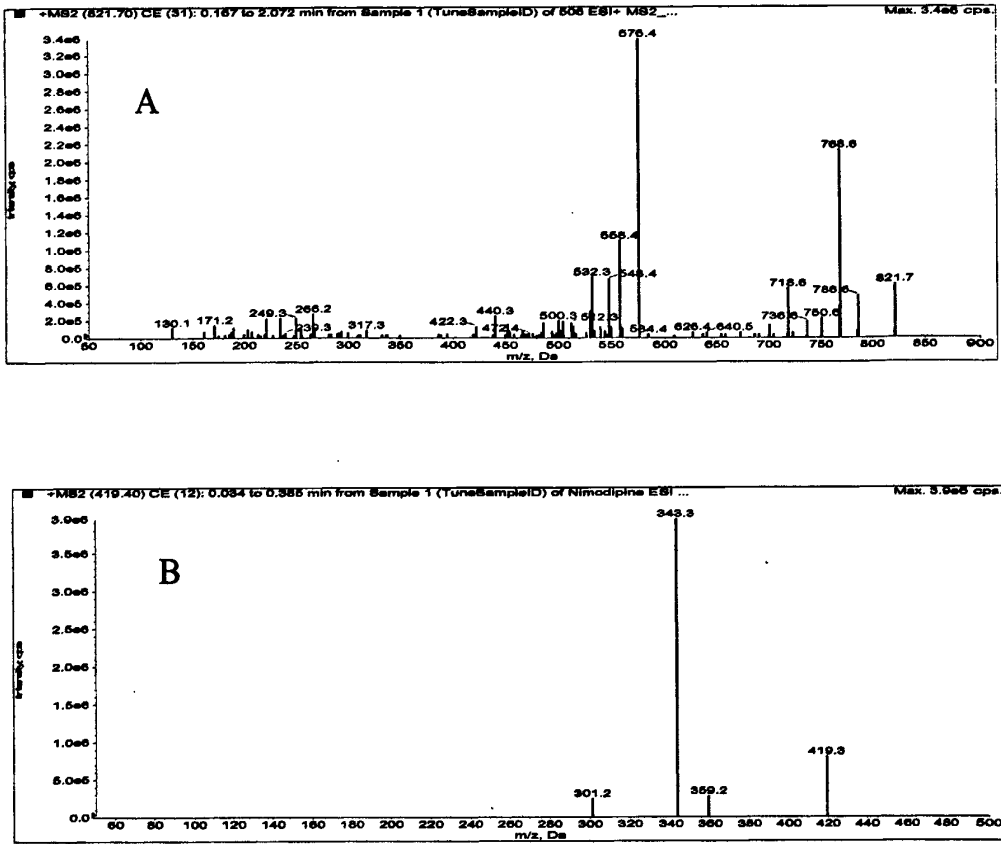


Fig.1 A-Full-scan production spectra of  $[M+H]^+$  for CA; B- Full-scan production spectra of  $[M+H]^+$  for NIM

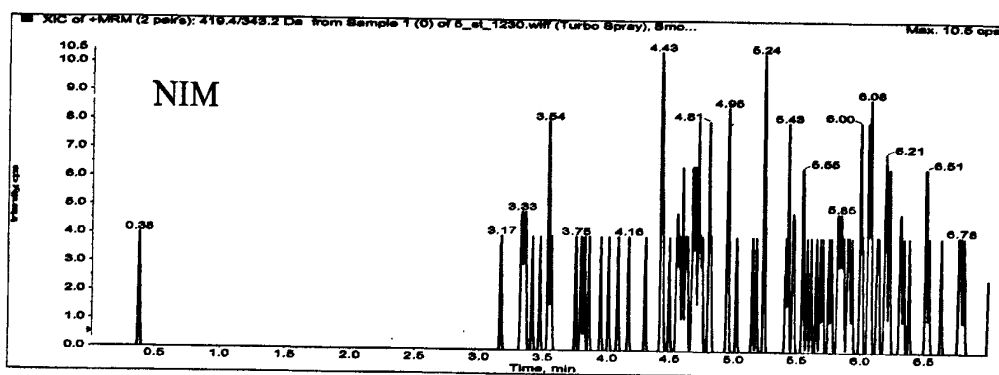
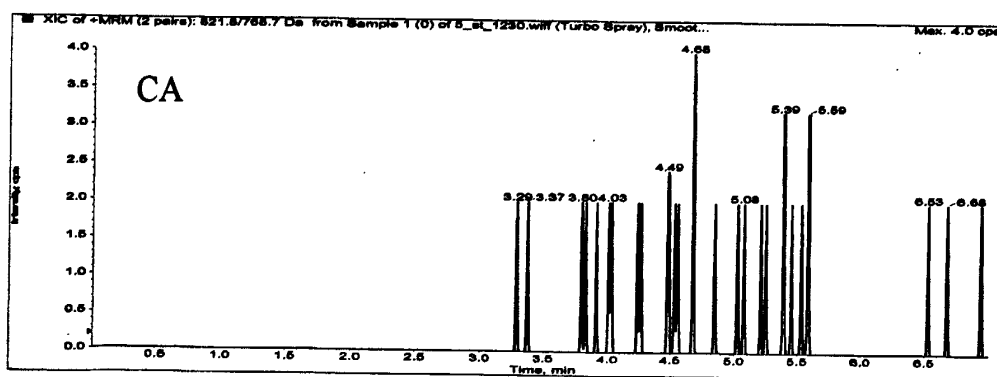


Fig.2 Representative LC-MS/MS multiple reaction monitoring chromatograms for CA drug and NIM in blank whole blood

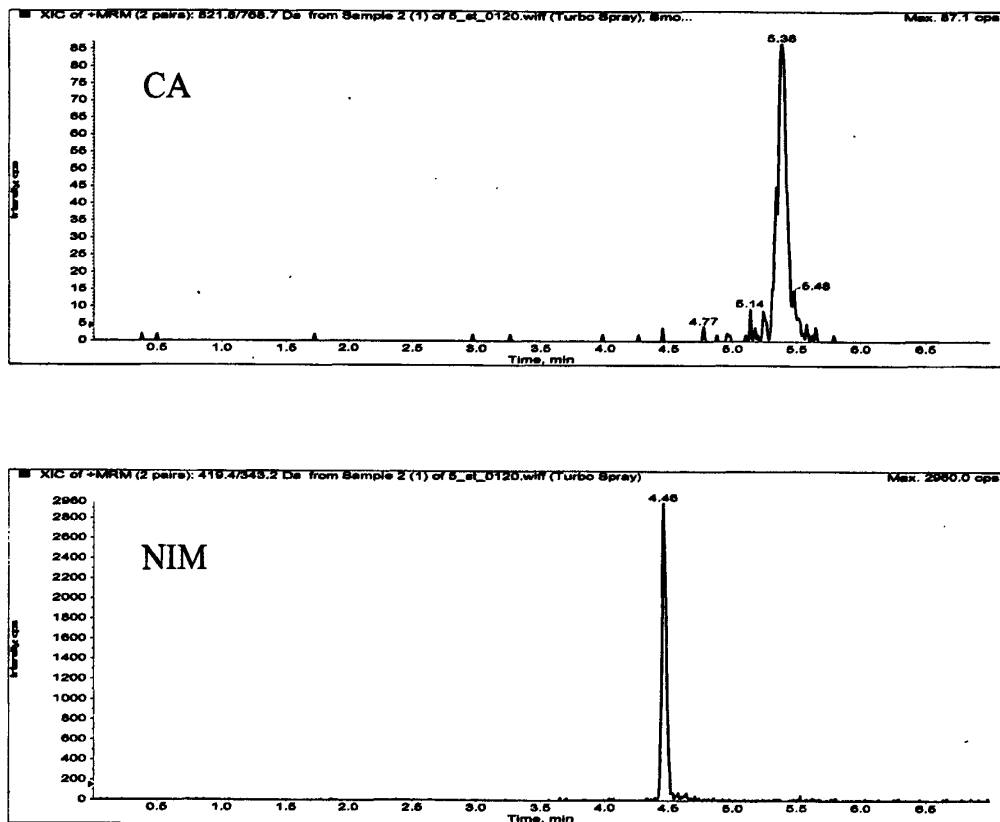


Fig.3 Representative LC-MS/MS multiple reaction monitoring chromatograms for CA drug and NIM-----blank whole blood spiked with 0.05 ng/ml CA (LLQQ) and 85.2 ng/ml NIM

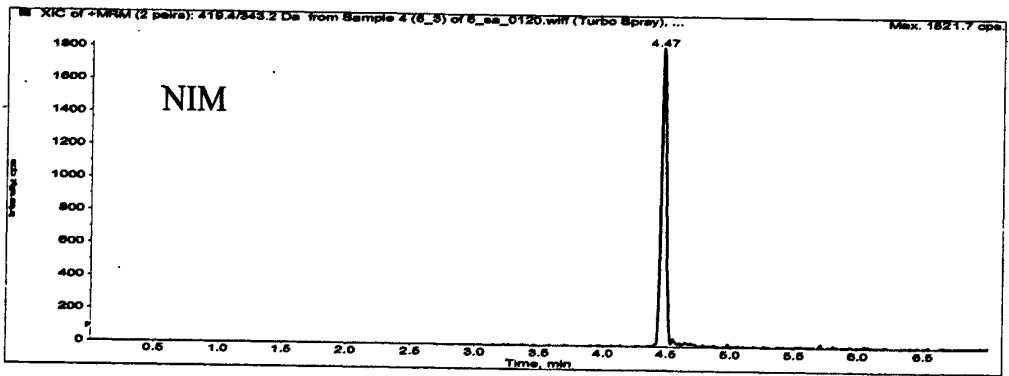
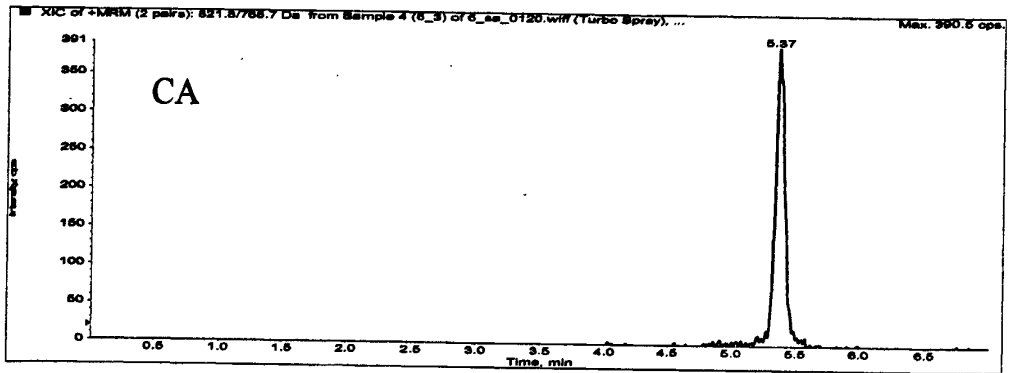


Fig.4 Representative LC-MS/MS multiple reaction monitoring chromatograms for CA drug and NIM -----oral administration 5mg CA drug in 1.5 hour

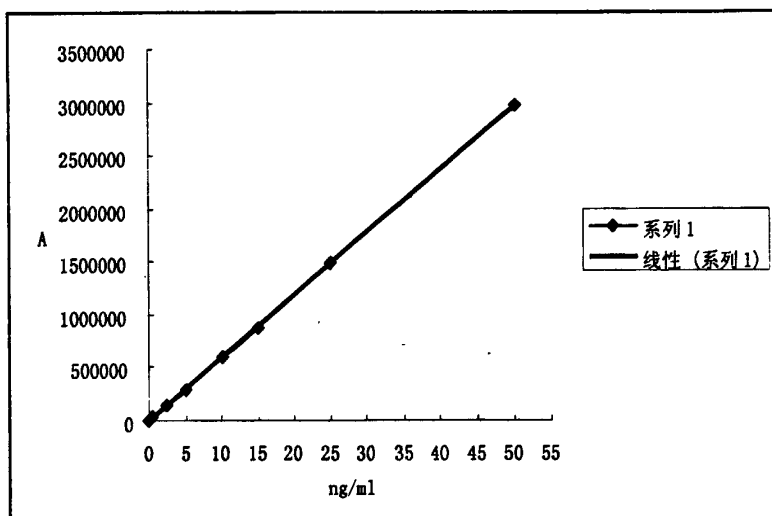


Fig.5 The standard curve of drug CA in blank blood

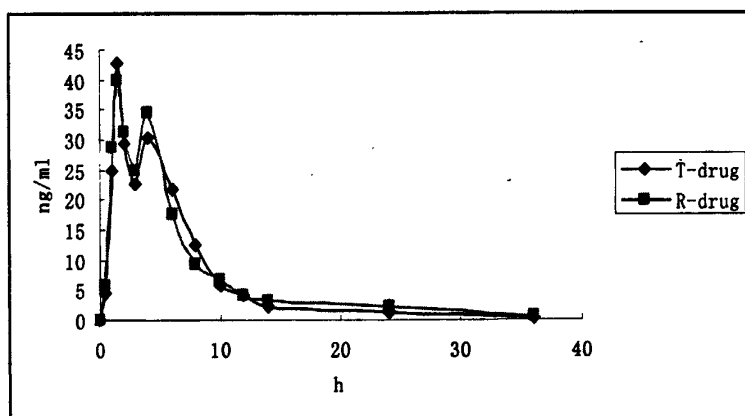


Fig.6 Average blood drug concentration of 6 dogs after the Administration of test and reference drug by 5 mg each dog



附表

Table 1 Results of precision and accuracy of blood drug concentration

Run	LLOQ		added / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	0.1004	0.2508	5.02	40.10
2010-3-15	0.103	0.263	5.29	45.2
	0.106	0.255	4.63	36.6
	0.105	0.236	5.50	40.3
	0.103	0.237	5.50	40.2
	0.103	0.218	5.21	34.8
	0.0963	0.225	4.48	42.8
2010-3-16		0.231	5.15	39.2
		0.254	5.47	36.7
		0.249	5.34	35.4
		0.246	5.40	37.2
		0.238	5.55	37.8
		0.239	5.45	37.9
2010-3-17		0.266	5.48	43.5
		0.262	5.33	34.8
		0.220	5.45	40.4
		0.261	5.67	38.5
	0.252	5.59	35.6	
	0.254	5.52	38.7	
n	6	18	18	18
Mean ( $\mu\text{ng/ml}$ )	0.103	0.245	5.33	38.4
SD	0.0033	0.015	0.31	3.01
RE (%)	2.5	-2.3	6.3	-3.8
Inter-day RSD (%)	3.2	6.0	5.8	7.5
Intra-day RSD (%)		6.1	9.7	7.7

Table 2 Result of Extraction recovery rate in blood drug

Density (ng/ml)	Area (blank blood)	Area (QC Sample)	Recover rate (%)			
0.2505	1725800	16138.8	89.5			
	1896400	19267.2	106.9			
	1786200	16358.4	90.7			
	2243500	14239.2	79.0			
	2256400	13938.0	77.3			
	1872800	15328.8	85.0			
Mean	1930183	15878.4	88.1			
RSD (%)	12.8	12.1	12.1			
5.01	297636	273960	91.8			
	313452	292668	98.0			
	272628	301044	100.8			
	292548	232656	77.9			
	328272	234336	78.5			
	286656	243024	81.4			
Mean	298532	262948	88.1			
RSD (%)	6.6	11.5	11.5			
40.08	2070960	2210040	95.4			
	2035680	2160960	93.3			
	2143440	1634160	70.6			
	2692200	2023920	87.4			
	2707680	1768200	76.3			
	2247360	1694160	73.1			
Mean	2316219.9	1915240	82.7			
RSD (%)	13.2	13.0	13.0			
Internal standard	93910.8	75614.4	64795.2	54392.4	103.92	87.24
	79720.8	81142.8	77198.4	58741.2	123.84	94.2
	75577.2	65641.2	76101.6	58368	122.04	93.6
	74845.2	64530	67254	65928	107.88	105.72
	75565.2	64581.6	57555.6	65878.8	92.28	105.72
	71006.4	63385.2	70071.6	52414.8	112.44	84.12
	75535.2	76304.4	63357.6	63259.2	101.64	101.52
	81262.8	88648.8	65766	51228	105.48	82.2
	68768.4	70423.2	63873.6	50175.6	102.48	80.52
Mean	74803.6	62575.6			100.4	
RSD (%)	11.1	12.4			12.4	

Table 3 Result of matrix effect in determination of blood concentration

Density (ng/ml)	Area (blank plasma)	Area (Water)	matrix effect (%)			
0.2505	15304	14769	100.3			
	17212	15731	112.8			
	15321	18156	100.4			
	12403	13884	81.2			
	16820	13493	110.2			
	13089	15559	85.7			
Mean	15024.8	15265.3	98.4			
RSD (%)	12.9	10.9	12.9			
5.01	248030	248320	106.0			
	261210	216240	111.6			
	227190	237650	97.1			
	243790	204460	104.2			
	273560	254910	116.9			
	238880	242870	102.1			
Mean	248776.7	234075.0	106.3			
RSD (%)	6.6	8.4	6.6			
40.08	1725800	1612700	93.9			
	1696400	1923400	92.3			
	1786200	1775600	97.2			
	2243500	1781600	122.0			
	2256400	2058600	122.7			
	1872800	1877900	101.9			
Mean	1930183.3	1838300.0	105.0			
RSD (%)	13.2	8.3	13.2			
Internal standard	78259	63012	62567	47442	128.7	103.7
	66434	67619	70961	64344	109.3	111.2
	62981	54701	79891	62018	103.6	90.0
	62371	53775	61739	42387	102.6	88.5
	62971	53818	56755	61294	103.6	88.5
	59172	52821	66492	57997	97.3	86.9
	62946	63587	65141	57244	103.5	104.6
	67719	73874	55699	60075	111.4	121.5
	57307	58686	62432	59760	94.3	96.5
	Mean	62336.3	60791.0			102.5
RSD (%)	11.1	13.4			11.1	

Table 4 Room temperature stability of CA in whole blood

	Blood drug level of CA (ng/ml)			
	0.2505		40.08	
	0	12	0	12
Concentration	0.230	0.258	39.1	41.5
	0.258	0.266	36.6	38.2
	0.250	0.259	35.3	42.5
	0.244	0.265	37.1	38.5
	0.239	0.270	37.9	36.0
	0.235	0.266	37.7	41.9
Mean (ng/ml l)	0.243	0.264	37.3	39.8
RD(%)	-3.1	5.4	-7.0	-0.8
RSD(%)	4.2	1.7	3.5	6.5

Table 5 Preprocessing stability of CA in whole blood

Time (h)	Blood drug level of CA (ng/ml)			
	0.2505		40.08	
	0	12	0	12
Concentration	0.230	0.257	39.1	39.5
	0.258	0.259	36.6	37.2
	0.250	0.248	35.3	40.7
	0.244	0.273	37.1	40.0
	0.239	0.282	37.9	36.5
	0.235	0.262	37.7	36.1
Mean (ng/ml)	0.243	0.264	37.3	38.3
RD(%)	-3.1	5.2	-7.0	-4.4
RSD(%)	4.2	4.6	3.5	5.1

Table 6 Frozen-melt stability of CA in whole blood

Times	Blood drug level of CA (ng/ml)			
	0.2505		40.08	
	0	3	0	3
Concentration	0.262	0.232	44.9	35.7
	0.252	0.239	36.7	35.5
	0.238	0.229	40.3	36.3
	0.238	0.222	39.3	35.6
	0.219	0.224	34.7	37.4
	0.223	0.227	42.4	38.5
Mean (ng/ml l)	0.239	0.229	39.7	36.5
RD(%)	-4.7	-8.6	-0.9	-8.9
RSD(%)	6.9	2.7	9.3	3.3

Table 7 Long-time stability of CA in whole blood

Time	Blood drug level of CA (ng/ml)							
	0.2505				40.08			
	0	7	14	21	0	7	14	21
content	0.262	0.256	0.221	0.239	44.9	37.0	41.8	42.3
	0.252	0.260	0.239	0.242	36.7	37.6	38.6	39.6
	0.238	0.247	0.231	0.235	40.3	36.1	43.6	37.6
	0.238	0.226	0.267	0.250	39.3	39.0	43.0	37.8
	0.219	0.228	0.229	0.219	34.7	37.7	43.8	36.2
	0.223	0.220	0.249	0.263	42.4	25.4	44.8	35.4
Mean (ng/ml)	0.239	0.240	0.239	0.241	39.7	35.5	42.6	38.2
RD (%)	-4.7	-4.4	-4.5	-3.7	-0.9	-11.5	6.3	-4.8
RSD (%)	6.9	7.1	6.9	6.1	9.3	14.2	5.2	6.5

Table 8 Blood drug level of 6 dogs after a dose oral single administration of test drug CA caps by 5 mg (ng/ml)

Time(h)	1	2	3	4	5	6	Mean	SD
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	8.87	2.4	8.46	2.95	6.18	5.04	5.65	2.71
1	35.96	21.8	37.94	19.6	28.47	28.97	28.79	7.33
1.5	46.86	37.8	30.24	37.76	42.26	43.52	39.74	5.82
2	35.29	29.8	21.97	30.6	34.9	34.7	31.21	5.10
3	32.9	22.6	15.26	20.3	29.46	28.28	24.8	6.57
4	31.29	37.8	30.21	37.34	36.9	32.56	34.35	3.38
6	22.69	16.8	14.5	18.29	15.18	18.2	17.61	2.93
8	10.88	8.7	5.17	10.32	9.89	10.96	9.32	2.19
10	7.9	6.22	5.01	6.87	6.94	7.56	6.75	1.03
12	4.78	3.48	5.34	3.98	3.89	3.97	4.24	0.68
14	4.5	2.38	4.52	1.86	3.08	2.86	3.2	1.10
24	3.54	1.86	2.98	0.96	2.18	1.68	2.2	0.93
36	1.48	0	1.08	0.2	0.52	0.32	0.6	0.57

Table 9 Blood drug level of 6 dogs after a dose oral single administration of market drug CA caps by 5 mg (ng/ml)

Time(h)	1	2	3	4	5	6	Mean	SD
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	1.89	8.72	2.4	6.46	2.24	5.65	4.56	2.75
1	24.05	27.34	21.6	26.41	25.8	23.6	28.08	2.49
1.5	44.43	42.56	37.8	45.94	43.31	42.46	43.77	2.53
2	32.98	30.26	21.97	34.9	26.89	28.32	30.34	4.69
3	28.53	22.6	15.26	26.56	19.94	23.91	22.43	4.38
4	27.82	34.26	28.48	32.37	29.91	29.26	33.31	2.41
6	22.73	23.29	18.18	24.45	21.09	19.98	22.37	2.48
8	13.35	12.96	8.97	13.9	12.51	12.23	12.59	1.67
10	6.74	5.16	4.94	6.92	5.14	5.6	6.72	1.32
12	7.3	3.26	3.08	4.26	3.56	3.98	4.24	1.48
14	4.77	1.49	1.07	2.28	1.47	2.12	2.20	1.26
24	2.76	0.64	0.57	1.27	0.88	1.14	1.11	0.82
36	0.2	0	0	0.5	0	0.5	0.20	0.22

Table 10 Main pharmacokinetics parameters of 6 dogs after administration of test drug CA caps and market drug CA caps

Parameters	test drug	market drug
	average	average
$K_a$	1.180	0.632
lagtime	0.409	0.391
$t_{1/2\alpha}$	2.079	1.672
$t_{1/2\beta}$	15.533	6.622
$t_{1/2ka}$	0.588	1.097
$K_{21}$	0.071	0.137
$K_{10}$	0.211	0.317
$K_{12}$	0.097	0.065
$T_{max}$	1.975	2.445
$C_{max}$	34.654	32.296
$AUC_{(0-t)}$	276.556	253.505
$AUC_{(0-\infty)}$	288.072	251.805



Table 11 Relative bioavailability (%) of 6 dogs after oral Administration of test drug CA caps

No.	F-AUC <sub>(0-t)</sub>	F-AUC <sub>(0-∞)</sub>
1	104.20	100.63
2	107.35	106.71
3	102.14	98.17
4	96.86	95.24
5	110.57	108.32
6	98.15	97.23
Mean	103.21	101.05
SD	5.28	5.32
RSD(%)	5.11	5.27

Table 12 Biologically equivalent ANOVA results and T-test results of C<sub>max</sub> (logarithmic transformed)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: log

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.020 <sup>a</sup>	7	.003	2.535	.193
Intercept	36.726	1	36.726	33079.534	.000
dog	.019	5	.004	3.423	.128
drug	9.42E-007	1	9.42E-007	.001	.978
stage	.001	1	.001	.627	.473
Error	.004	4	.001		
Total	36.751	12			
Corrected Total	.024	11			

a. R Squared = .816 (Adjusted R Squared = .494)

ABE of C<sub>max</sub> : t-test

t <sub>0.05(4)</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>
2.132	7.582	4.593
Conclusion	t <sub>1</sub> > t <sub>0.05(4)</sub>	t <sub>2</sub> > t <sub>0.05(4)</sub>

ABE of C<sub>max</sub> : [1-2α] fiducial interval range

	Value	Conclusion
Relative bioavailability	114.3%	
Fiducial interval range	99.8%~130.8%	Qualified

Table 13 Biologically equivalent ANOVA results and T-test results of AUC<sub>(0-t)</sub> (logarithmic transformed)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: log

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.008 <sup>a</sup>	7	.001	3.009	.152
Intercept	77.416	1	77.416	192088.3	.000
dog	.008	5	.002	4.079	.099
drug	.000	1	.000	.612	.478
stage	2.21E-005	1	2.21E-005	.055	.826
Error	.002	4	.000		
Total	77.426	12			
Corrected Total	.010	11			

a. R Squared = .840 (Adjusted R Squared = .561)

ABE of AUC<sub>(0-t)</sub>: t-test

$t_{0.05(4)}$	$t_1$	$t_2$
2.132	10.252	8.804
Conclusion	$t_1 > t_{0.05(4)}$	$t_2 > t_{0.05(4)}$

ABE of AUC<sub>(0-t)</sub> : [1-2 $\alpha$ ] fiducial interval range

	Value	Conclusion
Relative bioavailability	110.2%	
Fiducial interval range	98.6%~123.2%	Qualified

Table 14 Biologically equivalent ANOVA results and T-test results of AUC<sub>(0-∞)</sub> (logarithmic transformed)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: log

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.010 <sup>a</sup>	7	.001	2.974	.154
Intercept	78.613	1	78.613	157428.7	.000
dog	.010	5	.002	3.925	.105
drug	.000	1	.000	.968	.381
stage	.000	1	.000	.227	.658
Error	.002	4	.000		
Total	78.626	12			
Corrected Total	.012	11			

a. R Squared = .839 (Adjusted R Squared = .557)

c. ABE of AUC<sub>(0-∞)</sub>: two-way one-side t-test

	$t_{0.05(4)}$	$t_1$	$t_2$
	2.132	10.550	9.363
Conclusion		$t_1 > t_{0.05(4)}$	$t_2 > t_{0.05(4)}$

d. ABE of AUC<sub>(0-∞)</sub> : [1-2α] fiducial interval range

	Value	Conclusion
Relative bioavailability	98.6%	
Fiducial interval range	84.4%~115.0%	Qualified

Table 15 Non-parametric test of Tmax (paired Wilcoxon)

	Reference group	Test group	p	Conclusion
Mean±SD	6.91±1.22	6.56±1.29	> 0.05	Qualified
Max-Min	8.38-5.23	8.41-5.32		
Median	6.83	6.14		

讨 论

- 1 目前测定全血 CA 药浓度的方法有五种：受体结合法、生物测定法、液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS)、微粒子酶免疫分析法 (MEIA 法)、酶联免疫吸附法 (ELISA 法)。不同的方法提取的过程不同，对代谢物的识别也不一样，因此所得的结果也不相同，不应相互比较。受体结合法虽然可用于其他免疫抑制剂的测定，但还未见有用于该药的测定<sup>[3]</sup>。有报告认为该法对 CA 药的代谢产物有更高的选择性；因此主要是用于药物的研究。生物测定法过程较为复杂，不适用于临床的规律反复测定。MEIA 法、ELISA 法对体内代谢产物产生交叉免疫反应，实际测得结果为 CA 药和其体内代谢产物之和。有文献报道<sup>[15]</sup>用 MEIA 法测定心、肺、肝、肾移植患者血中 CA 药的浓度分别比用 LC-MS/MS 高出 9.9% 13.2% 13.1% 18.2%，并且由于 CA 药人体药动学的个体差异较大，使得这种偏差很难控制在一定范围之内，因此降低了检测结果的可信度。LC-MS/MS 法测定结果为 CA 原型药物浓度，不会对 CA 药体内代谢产物产生交叉反应，使得测量值更准确可信，能更准确地说明 CA 原型药物在体内的药代动力学特征<sup>[16]</sup>。另外，LC-MS/MS 法可以同时检测 CA 药及其代谢产物<sup>[3]</sup>。
- 2 用 LC-MS/MS 法对家养杂种狗进行生物等效性研究，选用 MRM 模式定量 CA 原型药物浓度，与 ELISA 法和 MEIA 法消除了代谢产物交叉免疫反应影响，具有选择性好、灵敏度高等特点，本研究定量下限为 0.1ng/ml，分别是 MEIA 的 1/15 和 ELISA 的 1/5。
- 3 CA 药在全血与血浆的分布依赖于以下几个因素，如红细胞压积，血浆分离时的温度，药物浓度及血浆蛋白的浓度等，CA 药全血浓度与血浆浓度的比率平均是 35(变动范围 12~67)，因此，本研究选用全血作为分析测试对象。
- 4 本试验在不影响灵敏度的前提下，全血样本的前处理采用了极其简便的沉淀蛋白法，与液-液萃取法、固相萃取法、在线柱萃取等方法比较，节省了大量的前处理时间，提高了工作效率<sup>[3]</sup>。
- 5 流动相中加入醋酸铵可以提高质谱离子化效率，从而提高信噪比。由于本试验定量限和检测限较低，研究初期进行等度洗脱时很难达到目

标定量限, 为了提高信噪比, 使用梯度是较为理想的选择。

- 6 对于 CA 药全血样品而言, 最为关注的是稳定性问题, 试验中进行了多种稳定性考察, 发现全血样品在冷冻和冷藏条件下均较为稳定, 但 CA 药在纯水或甲醇环境中易发生结构转化, 因此, 试验过程中应尽量避免此类情况。

## 小 结

本部分实验以健康雄性家犬为实验动物, 以国外生产的 CA 缓释药缓释胶囊为对照品, 对自制的 CA 药缓释胶囊进行了生物利用度和生物等效性研究, 从药物吸收程度和吸收速度两方面进行评价。结果表明, 自制生产的 CA 药缓释固体分散体胶囊的  $AUC_{(0-t)}$  和  $AUC_{(0-\infty)}$  的 90% 可信限分别为 98.6%~123.2% 和 84.4%~115.0%, 均落在国外对照品的 80%~125% 范围内;  $C_{max}$  的 90% 可信限为 99.8%~130.8%, 在国外对照品  $C_{max}$  的 70%~143% 范围内;  $T_{max}$  经非参数检验与国外对照品无显著性差异。因此, 自制生产的 CA 药固体分散体缓释胶囊与国外生产的 CA 药固体分散体缓释胶囊生物等效。

## 参考文献

- 1 CHOW Shein-Chung, LiuJen-Pei. Current issues in bioequivalence trials. Drug Information J, 1995, 29: 795-804
- 2 Chinchilli VM. The Assessment of Individual and Population bioequivalence. J Biopharmaceutical Statistics, 1996, 6: 1-14
- 3 LI Peng-fei, LIU Li-hong, MA Ping, et al. LC-MS/MS Method Monitoring Tacrolimus in Human Whole Blood for Therapeutic Drug Monitoring[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2008, 5: 137-138
- 4 封淑华, 杜增辉, 李力更. 尼莫地平注射液对光稳定性的研究. 中国医院药学杂志, 1997, 17(3): 124-125
- 5 Rockville MD. Guidance on statistical procedures for bioequivalence

- studies using standard two-treatment crossover design. The Division of Bioequivalence, Office of Genetic Drugs, US FDA, 1992, 1-3
- 6 Jones B, Kenward MG. Design and analysis of crossover trials. Chapman Hall, 1989, 1-20
  - 7 CHOW Shein-Chung, LIU Jen-Pei. Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies. New York: Marcel Dekker, 1992, 25-35
  - 8 Ratkowsky DA, Evans MA, Alldredge JR. Crossover experiments design, analysis and application, Marcel Dekker Inc. New York, 1993, 125
  - 9 Toutenburg H. Experimental Design and Model Choice, Physica-Verlag, A Springer-Verlag Company, 1995, 150
  - 10 Bekersky I, Dressler D, Mekki Q, et al. Effect of time of meal consumption on bioavailability of a single oral 5 mg tacrolimus dose. Clin Pharmacol, 2001, 41: 289-290
  - 11 黄圣凯, 韩可勤. 生物等效性评价的几种统计方法. 中国床药理学杂志, 1993, 9(1): 43-45
  - 12 韩可勤, 黄胜凯. 生物等效性评价中常用统计方法的功效与样本容量. 中国临床药理学杂志, 1995, 11: 111-115
  - 13 韩可勤, 黄胜凯. 生物等效性评价中数据对数变换后的一些统计问题. 中国临床药理学杂志, 1994, 10: 123-128
  - 14 韩可勤. 双单侧检验方法的功效计算问题. 数理医药学杂志, 1995, 8: 17-18
  - 15 Westley IS, Taylor PJ, Salm P, et al. Cloned enzyme donor immunoassay tacrolimus assay compared with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and microparticle enzyme immunoassay in liver and renal transplant recipients. Ther Drug Monit, 2007, 29(5): 584-589
  - 16 Borrows R, Chusney G, Loucaidou M, et al. Clinical outcomes of renal transplantation using liquid chromatographic monitoring of tacrolimus. Ther Drug Monit, 2006, 28(2): 269-272

## 综述

### 缓释固体分散体的研究进展

固体分散体 (solid dispersion), 又称固体分散物, 是固体药物分散在固体载体中制成的高度分散体系。通常是一种药物以分子、胶态、微晶或无定形状态, 分散在另一种水溶性或难溶性、肠溶性载体材料中形成的固体分散物。固体分散技术是将难溶性药物高度分散在固体载体材料中, 形成固体分散体的新技术。

固体分散技术应用药物研究的历史可追溯至 1933 年, 当时丹麦 Ferrossam 制药公司首次应用氢化植物油为分散载体, 以乙醇为溶剂制备了维生素 AD 滴丸<sup>[1]</sup>。1956 年 Bjornsson 等用聚乙烯醇-4000 (PEG 4000) 为分散载体制备了苯巴比妥滴丸<sup>[2]</sup>。我国方冠华等人也于 1958 年首次制备了酒石酸锑钾滴丸<sup>[3]</sup>。固体分散体的概念是 1961 年由 Sekiguchi 首先提出的, 他以尿素为材料, 用熔融法制备磺胺噻唑固体分散体, 口服后吸收及排泄均比口服磺胺噻唑明显加快<sup>[4]</sup>。

经过国内外学者多年的研究, 对固体分散体的认识越来越深入, 对固体分散技术的研究及应用领域不断拓展。近年来, 由于临床的需要, 又有国内外学者用水不溶性聚合物、肠溶性聚合物、脂质材料等为载体制备缓释固体分散体, 从而使固体分散体的研究应用进入了新的发展阶段, 为缓释制剂的制备开辟了一条新途径。

#### 1 缓释固体分散体的释药原理

根据 Noyes—Whitney 方程, 药物的溶出速率随其分散度的增加而提高, 因而通过减小药物的颗粒大小, 增大比表面积能很好的提高难溶性药物的溶出速率。将难溶性药物与适宜的载体形成的固体分散体, 药物以微晶态、无定型态、胶体分散态或分子分散态存在于载体中, 有效降低了药物粒子的大小, 增加了药物粒子的分散度, 减小或消除了药物晶体的晶格能, 药物与胃肠液接触后溶出速度加快, 可以促进药物的吸收, 提高生物利用度。

药物采用疏水性或脂质类载体材料制成的固体分散体均具有缓释作

用。其缓释原理是载体材料形成网状骨架结构，药物以分子或微晶状态分散于骨架内，药物的溶出必须首先通过载体材料的网状骨架扩散，此分散体系可以看作溶解扩散或骨架扩散体系，释放机制与相应的缓释制剂和控释制剂相同，有一级过程，Higuchi过程和零级过程。肠溶性载体材料也具有缓释作用，同时由于药物在载体材料中的高度分散性，可大大提高生物利用度。

## 2 固体分散体的作用特点

### 2.1 增加难溶性药物的溶解度和溶出速率

难溶性药物制成固体分散体后，药物以分子、无定形、胶体或微晶状态分散于载体材料中，比表面积增大，晶格能降低或消失，溶出速率加快。如：以PEG2000为载体制备的阿司匹林-PEG2000（1：9）固体分散体，其药物溶出速率显著高于原料药及物理混合物<sup>[5]</sup>。实验表明，阿司匹林-PEG2000固体分散体可提高阿司匹林的体外溶出度。

### 2.2 提高难溶性药物的生物利用度

难溶性药物由于其在水中溶解性很差，限制了药物在体内的吸收，因此服用后其生物利用度很低，在临床应用中受到限制。采用固体分散剂技术，可是其达到高度分散状态，从而保证所制成的制剂的吸收与利用。例如双炔失碳酯-PVP共沉淀物片的有效剂量小于市售普通片的一半，说明生物利用度大大提高<sup>[6]</sup>。

### 2.3 延缓药物释放速度

近年来，固体分散技术被广泛应用于缓控释制剂的产品开发。药物与适宜的载体材料（水不溶性载体、脂质类载体、肠溶性载体）及致空剂以一定配比制备固体分散体获得理想释药速度的缓释固体分散体。如以水不溶性聚合物乙基纤维素（EC）为载体，用溶剂法制备的酮洛芬缓释固体分散体其体外释放行为符合Higuchi方程<sup>[7]</sup>。以肠溶性载体材料聚丙烯酸树脂RS100为载体，用溶剂法制备的硝苯吡啶固体分散体具有较好的缓释作用<sup>[8]</sup>。

### 2.4 降低药物的毒副作用

利用固体分散技术可明显提高药物的生物利用度，使用药剂量降低，降低药物的毒副作用。吲哚美辛-PEG6000固体分散体丸的剂量小于市售普通片的一半时药效相同，而对大鼠胃的刺激性明显降低<sup>[9]</sup>。



## 2.5 提高药物的稳定性

一些对PH值、水、温度、光等敏感的药物制成固体分散体后其稳定性明显增加,便于实际生产,制剂的质量容易控制,且降低成本。米索前列醇在室温时不稳定,对PH和温度都很敏感,有微量水时,酸或碱均可引发11位—OH脱水形成A型前列腺素,Chen D.等制成的米索前列醇-Eudragit RS及RL固体分散体,稳定性明显增高<sup>[10]</sup>。Pignatello R.等将水杨酸类非甾体抗炎药、具有光敏毒性的二氟尼柳制成二氟尼柳-Eudragit RS100固体分散体,大大降低了二氟尼柳对细胞膜的光敏毒性<sup>[11]</sup>。

## 3 固体分散体的类型

固体分散体按分散状态主要分为三大类:低共熔混合物(eutectic mixture)、固体溶液(solid solutions)、和共沉淀物(coprecipitates)。

### 3.1 低共熔混合物

药物与载体以适当的比例,在较低的温度下熔融(有时还借助于少量液体如水),得到完全混溶的液体,搅匀、速冷固化而成。在低共熔混合物中,药物以超细结晶状态分散于载体中,为物理混合物。当药物与载体以低共熔组成,从熔融体冷却而达到低共熔温度时,药物与载体同时生成晶核,并在形成晶核过程中,二者的分子向各自的晶核扩散,以使晶核长大,但又相互抑制不易长大,而均以微晶析出。如以20%氯霉素与80%尿素制成的固体分散体为低共熔混合物,比氯霉素溶解速率快4倍<sup>[12]</sup>。

### 3.2 固体溶液

固体溶液为药物溶解于熔融的载体中而成,溶质均匀分散于固体载体中,成为一均相系统。固体溶液按药物与载体的互溶情况,可分为完全互溶的固体溶液和部分互溶的固体溶液两类。按晶体结构,可分为置换型固体溶液和填充型固体溶液两类。

(1)完全互溶的固体溶液药物与载体可以任何比例互溶。形成这类固体溶液必须是药物与载体的分子大小相近,二者的晶格相似。

(2)部分互溶的固体溶液药物与载体可以完全互溶但又比例相差悬殊时,又形成低共熔混合物。目前研究的固态溶液大多属于此类,如水杨酸与PEG 6000即可组成部分互溶的固态溶液。当PEG6000含量较多时,可形成水杨酸溶解于其中的 $\alpha$ 固态溶液,当水杨酸的含量较多时形成PEG6000溶解于水杨酸的 $\beta$ 固态溶液,这两种固态溶液在42℃以下又可形成低共熔

混合物<sup>[13]</sup>。

(3)置换型固体溶液, 药物分子置换了载体晶格中的载体分子, 这类固体溶液中药物和载体分子大小和形状应该相近. 由于只是溶剂分子被大小和形状相近的溶质分子置换, 所以晶格的形状晶格内的分子数目保持不变, 但其密度可以改变, 环状和可塑性化合物适合于这类固体溶液的载体, 因为其晶格能和张力较低, 药物分子易置换其晶格中的分子。

(4)填充型固体溶液药物分子填充在载体分子的空隙内, 药物分子的体积小于载体分子体积的 20%。一般有机药物的相对分子质量(Mr)大多在 1000 以下, 而水溶性晶体高分子 Mr 很大, 所以适宜作为难溶性药物的载体, 并且这些载体的毒性小, 在胃肠道内不被吸收, PEG 4000、PEG 6000 和 PVP 常用作这类固体溶液载体, PEG 的每一个晶体由两列平行的螺旋状链所组成, 可充填相当数量的药物分子。这样, 药物的溶出速率可成倍增大, 同时, 此载体固化时粘度大能阻止药物分子聚集结晶, 成为无定形的亚稳态, 利于增大溶出速率。当药物浓度很大时, 在迅速固化状态下, 这种无定形的亚稳态也则药物可成为超微晶或胶态分散, 晶核也难以长大。它的溶出速率也较原药溶出速率大。

### 3.3 共沉淀物

共沉淀物是固体药物与载体(常为PVP等多羟基化合物)以恰当比例而形成的非结晶性无定形物, Simonellis 等人认为应称之为共蒸发物(coevaporations)。如磺胺噻唑(ST)与PVP (1:2)共沉淀物中ST分子进入PVP分子的网状骨架中, 药物结晶受到PVP的抑制而形成非结晶性无定形物<sup>[14]</sup>。

除以上三种类外, 其它的固体分散体尚有药物与载体按一定比例缔合生成分子化合物、络合物或包晶体(peritectic interations) 等, 使溶出速率增加。

上述药物在载体中的分散状态类型, 在一般情况下并不单独存在. 一种固体分散体往往是多种类型的混合物。如氢氯噻嗪和尿素形成的固体分散体, 根据药物和载体的组成比例不同, 可形成不同种类的混合物。若5%氢氯噻嗪和95%尿素固体分散体, 则形成共沉淀物和固溶体的混合物, 而32%氢氯噻嗪和68%的尿素的固体分散体, 则是共沉淀物和分子化合物的混合物<sup>[15]</sup>。同时, 制法不同, 得到的固体分散体中药物的分散状态也不同,

即药物分散类型也不同。

#### 4 固体分散体的常用制备方法

采用固体分散技术制备固体分散体,常用的制备方法有熔融法、溶剂法、溶剂-熔融法、溶剂-喷雾(冷冻)干燥法、研磨法等。通常应根据药物的理化性质和载体的结构、性质、熔点及溶剂性能选择适宜的制备方法。

**4.1 熔融法:**将药物与载体材料混匀,加热熔融后,在搅拌的情况下将熔融物迅速冷却成固体,或将熔融物倾倒在冷却的不锈钢板上,使成薄层,钢板下可吹冷空气或用冰骤冷,使之迅速冷却固化,形成低共熔固体分散物。该方法的关键在于熔融物必须迅速冷却固化,熔融物的骤然冷却可阻止药物晶核的形成,并可使药物在载体中达到过饱和状态,得到高度分散的固体分散物。本法的特点是操作简单,成本低,但仅适用于热稳定固体分散体系。熔融法还可直接制成滴丸,将熔融物滴入液状石蜡等冷凝液中,使之迅速冷却,凝固成丸。制得的滴丸药物释放加快,生物利用度提高。

**4.2 溶剂法:**也称为共沉淀法。是指将药物和载体溶解于溶媒后,蒸发除去溶媒后,药物与载体同时析出干燥后即得到的药物的共沉淀物固体分散物,常用的溶剂有氯仿、乙醇、丙酮等。本法适用于对热不稳定或易挥发的药物。本法由于使用使用有机溶剂,故成本较高,且有时难以除净溶剂。残存的有机溶剂不仅对人体有害,而且可能引起药物重结晶。

**4.3 溶剂-熔融法:**对能溶于水又能溶于多种有机溶剂及熔点低、对热稳定的载体,不仅可用熔融法,也可用溶剂法。先将药物用少量有机溶媒溶解后,与熔化了载体混合均匀,蒸去有机溶媒,冷却固化即得。该法适用于对热稳定的液态药物(如鱼肝油、维生素A、D、E等),也可用于剂量小于50mg的小剂量药物。

**4.4 溶剂-喷雾(冷冻)干燥法:**将药物与载体共溶于溶剂中,然后喷雾干燥(或冷冻干燥),除尽溶剂,即得。喷雾干燥法生产效率高,可连续生产。冷冻干燥法制得的固体分散体尤适用于对热敏感的药物,稳定性好,但工艺费时,成本高。

**4.5 研磨法:**将药物与较大比例的载体混合后,强力持久地研磨一定时间,借助机械力降低药物粒度,使药物与载体以氢键结合,形成固体分散体。本法劳动强度大,费时费力,仅适用于小剂量的药物。

**4.6 双螺旋挤压法:**将药物与载体材料置于双螺旋挤压机内,经混合、捏

制而成固体分散体,无须有机溶剂,同时可用两种以上的载体材料,制备温度可低于药物的熔点和载体材料的软化点,因此药物不易破坏,制得的固体分散体也稳定。

### 5 缓释固体分散体的载体材料选择

固体分散体中药物的分散程度和溶出速率在很大程度上取决于所应用载体的特性。载体材料应符合以下条件:无毒、无致癌性、不与药物发生化学反应、不影响主药的化学稳定性、不影响药物的药效与含量测定、能使药物得到最佳分散状态、价廉易得。常用的缓释固体分散体的载体材料分为水溶性、难溶性、肠溶性三大类。可根据要求选择适宜的载体,可单独选用一种载体,也可几种载体材料联合应用,以一种或几种难溶性载体做阻滞剂,以水溶性载体做致空剂,调节药物的释放,以达到要求的释药速率。

#### 1) 乙基纤维素(EC)

EC不溶于水,但能溶于有机溶剂中,含有羟基能与药物形成氢键,有较大的粘性,载药量高,稳定性好,不易老化,广泛地应用于制备缓释固体分散物。以EC为载体可制备消炎镇痛药酮洛芬缓释固体分散体,实验结果表明药物体外释药行为符合Higuchi方程,缓释效果与EC用量、粘度和固体分散体的粒径有主要关系。随着EC粘度的增加,药物释放速度降低。在EC中加入PVP、HPMC、PEG等做为致空剂,能很好的调剂药物的释放速率,达到理想的释放效果。王署宾和黄兰芷用EC、HPMC为载体制备葛根素固体分散体达到了理想的释放效果<sup>[16]</sup>。

#### 2) 聚丙烯酸树脂(Eduragiti)

含季铵基的聚丙烯酸树脂Eduragiti,包括胃溶性Eu E、胃肠不溶性Eu RL、Eu RS等。其中RL型和RS型在胃肠液中不溶,不被吸收,对人体无害,广泛用于制备具有缓释性的固体分散体。Eduragiti聚合物的种类和用量影响药物释放速度,选择适宜的Eduragiti,确定适宜的比例、用量是控制释药速度的关键。不同类型的Eduragiti有不同的阻滞作用,为了调节释放速率,可配合使用两种不同阻滞作用的Eduragiti,也可适当加入水溶性载体材料,如PEG或PVP等。ELMOhsen等研究萘普生-Eduragiti RS、Eduragiti RL固体分散体释药发现,Eduragiti RS使萘普生释药缓慢,符合Higuchi方程,加入Eduragiti RL可调节释药动力学,且释药速率常

数的对数值与 RL 所占比值呈线性关系<sup>[17]</sup>。

### 3) 聚乙二醇类 (PEG)

这类固体分散体为常用的水溶性载体, 熔点好, 毒性小, 亦能溶于多种有机溶剂, 使药物以分子状态分散, 且在溶剂蒸发过程中粘度增大, 可阻止药物聚集。目前已有将 PEG 与其它载体配合应用于缓释制剂的研究。如上述的盐酸尼卡地平肠溶缓释固体分散体就是以肠溶材料与 PEG-6000 为混合载体制备的<sup>[18]</sup>。当药物为油类时, 宜用 PEG12000 或 20000 的混合物。采用滴制法成丸时, 可用硬脂酸调整其熔点。

### 4) 羟丙甲纤维素(HPMC)

羟丙甲基纤维素(HPMC)为白色至乳白色、无臭无味、纤维状或颗粒状易流动的粉末, 在水中溶解形成澄明至乳白色具有粘性的胶体溶液, 一定浓度的溶液可因温度变化出现溶胶-凝胶互变现象。不溶于乙醇、氯仿和乙醚, 可溶于甲醇和二氯甲烷的混合溶剂中。HPMC通常做为孔道剂与缓释载体联用制备固体分散体, 调节药物的释放速率。

### 5) 肠溶材料缓释固体分散体

这类固体分散体具有较好的化学物理稳定性。其缓释作用主要靠给药后的延迟吸收来实现, 而药物吸收延迟决定于制剂通过胃肠道的转运时间。Haseguwal 通过将硝苯吡啶和肠包衣剂 HP-55 或 Eduragiti 溶于乙醇和二氯甲烷的混合溶剂中制得含硝苯吡啶 7%的肠包衣固体分散体的颗粒剂。该颗粒剂在胃内不溶解, 因而延缓了吸收, 能维持有效血药浓度达 8h 以上, 是一种具有较高生物利用度的缓释剂型<sup>[8]</sup>。又如: 以 II 号丙烯酸树脂和 PEG-6000 为混合载体、用溶剂法制备的盐酸尼卡地平肠溶缓释固体分散体, 其差热分析和 X 射线粉末衍射证实药物以分子状态分散于载体中, 该肠溶缓释固体分散体性质稳定, 可显著提高药物在人工肠液中的溶出速度。

### 6) 脂质缓释固体分散体及其它

以胆固醇、棕榈酸甘油酯等为载体、用熔融法制备的脂质固体分散物, 可以延缓药物的释放, 它常与去氧胆酸钠等表面活性剂及乳糖、PVP 等水溶性物质合用, 以提高药物的释放速度。此外, Florence 等用聚-DL-天冬氨酸及聚甲基丙烯酸甲酯 PMMA 两种聚合物为载体, 利用溶剂-熔融法制备了三氟拉嗪固体分散物。溶出实验结果表明, 这种固体分散物也具有

较好的缓释作用<sup>[19]</sup>。

## 6 固体分散体的特点

6.1 固体分散体是指药物高度分散于载体中，形成一种以固体形式存在的分散系统。固体分散体在药剂上的应用有如下优点：

(1) 利用强亲水性高分子为载体，可增加难溶性药物的溶出速度和溶解度，提高药物的生物利用度，为实现药物的高效速效的有效途径之一；利用难溶性载体可延缓或控制药物释放，使药物长效化；利用肠溶性载体可控制药物于小肠中靶向释放。

(2) 减少给药剂量，降低不良反应。

(3) 有利于药物加工成其它剂型，如片剂、胶囊、丸剂、注射剂等。

(4) 小剂量药物均匀分散于载体中，使分剂量准确，便于给药。

(5) 可使液体药物固体化(如滴丸)，方便储运和服用。

(6) 药物被非水性载体包埋，可避免水解和氧化，可掩盖药物的不良气味和刺激性。

6.2 药物的固体分散物也有如下缺点：

(1) 做成制剂后体积较以前大。

(2) 药物的分散状态稳定性不够高，受潮久贮易老化。

制备工艺不同，药物在载体中的分散状态就不同，固体分散体的物理化学特性不同，其稳定性就不同。固体分散体在贮存中有老化现象也是限制其广泛应用的一个因素。近年来 ritonavir (Norvir, Abbott) 胶囊在市场上禁止使用就是因为药物在固体分散体中呈过饱和状态，久贮析出结晶，影响药物的疗效<sup>[20]</sup>。故研制出稳定的处方是固体分散体面临的一个重要课题。

## 7 结语

应用固体分散技术能提高难溶性药物的生物利用度，延缓药物释放速度，降低药物的毒副作用，提高药物的稳定性等优点。对于水溶性药物及难溶性药物均可用固体分散法制备缓释固体分散物，特别是对于水难溶性药物的缓释制剂产品开发，固体分散技术可作为一种值得考虑的方法。

由于固体分散体的制备所用的载体量大，只适用于小剂量的药物。另外，如果制备方法不当或贮存条件不理想时，固体分散体易发生老化现象。因此，虽然目前研究的固体分散物的品种不少，但能够进行工业化生产的

品种还为数不多。随着对固体分散体研究的不断深入,新技术的不断发展,新载体和混合载体的联合应用,利用固体分散技术制备缓控释制剂的研究将有更大的发展。

### 参考文献

- 1 Yalkowsky SH. Techniques of Solubilization of Drugs. New York: Marcel Dekker Inc, 1981, 62-66
- 2 Bjornsson S, Sjobqvist Eva, et al. Production of Water-soluble or Dispersible Pills by the Drop Method. J Amer Pharm Assoc, 1956, 45: 61-64
- 3 方冠华, 等. 用滴丸法制备酒石酸锑钾丸的研究. 药学学报, 1958, 6: 380-382
- 4 Sekiguchi K, et al. Studies on Absorption of Eutectic Mixture. I. A Comparison of the Behavior of Eutectic Mixture of Sulfathiazole and that of ordinary Sulfathiazole in man. Chems Pharm Bull, 1961, 9: 866-868
- 5 肖玉秀, 耿灏, 张凯. 阿司匹林固体分散物的研究. 中国现代应用药学杂志, 1999, 16(5): 20-25
- 6 陆彬, 张留, 李莲华, 等. 双炔失碳酯滴丸的初步研制. 中国医药工业杂志, 1990, 25(7): 402-407
- 7 程紫骅, 庄洪波, 武华丽, 等. 用乙基纤维素制备酮洛芬缓释固体分散体的研究. 中国药科大学学报, 1990, 30(3): 192-198
- 8 孙淑英, 等. 硝苯啶—水溶性材料—肠溶性材料固体分散体的研究. 沈阳药学院学报, 1992, 9(14): 244-250
- 9 Khanfar M S, Salem MS, Najib NM, et al. Dissolution behaviour of sustained release formulations of indomethacin with Eudragit RS. Acta Pharm Hung, 1997, 67(6): 235-239.
- 10 Chen D, T say R, Lin H, et al. Stabilization and sustained release effect of misoprostol with methacrylate copolymer. Int J Pharm, 2000, 203(2): 141-148.
- 11 Rosario Pignatello, Marinella Ferro, Giovanni Puglisi, et al. Preparation of

- solid dispersions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with acrylic polymers and studies on mechanisms of drug-polymer interactions. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2001, 12(2): 35-45
- 9 孙淑英, 等. 硝苯啶-水溶性材料-肠溶性材料固体分散体的研究. *沈阳药学院学报*, 1992, 9(14): 244-250
- 10 Abu TM, Serajuddin A. Improved Dissolution of a Poorly Water-soluble Drug from Solid Dispersions in Polyethylene Glycol: Polysorbate 80 Mixtures. *J Pharm Sci*, 1990, 79(5): 463-471
- 11 Sjokvist Eva, et al. Physicochemical Aspects of Drug Release. XIII. The Effect of Sodium Dodecyl Sulphate Additions on the Structure and Dissolution of a Drug in Solid Dispersions. *Int J Pharm*, 1991, 69: 53-63
- 12 Law SL, et al. Dissolution and Absorption of Nifedipine in Polyethylene Glycol Solid Dispersion Containing P hosphatidylcholine. *Int J Pharm*, 1992, 94: 161-169
- 13 Najib N, et al. The Kinetics of Drug release from Ethylcellulose Solid Dispersions. *Drug Dev Ind Pharm*, 1985, 11(12): 2169-2170
- 14 Oth MP, Moes AJ. Sustained Release Solid Dispersions of Indomethacin with Eudragit RS and RL. *Int J Pharm*, 1989, 55: 157-161
- 15 王署宾, 黄兰芷, 等. 葛根素固体分散体的分散状态及其体外评价. *中草药*, 2007, 11(38): 1632-1634
- 16 Sjokvist Eva, et al. Physicochemical Aspects of Drug Release. XIII. The Effect of Sodium Dodecyl Sulphate Additions on the Structure and Dissolution of a Drug in Solid Dispersions. *Int J Pharm*, 1991, 69: 53-64
- 17 刘善奎, 钟延强, 孙其荣, 等. 盐酸尼卡地平缓释固体分散体的研究. *中国医药工业杂志*, 2000, 31(3): 107-110
- 18 Florence AT, Hago ME, Loveless AH. Coprecipitates of Trifluoperazine embonate and polymers duration of action by intramuscular route *Pharmacol*. 1976, 28: 601-606
- 19 Zhao QL, Gao YL. Research progress in drug release mechanism of solid dispersions. *Foreign Med Sci Sec Pharm*, 2005, 32(1): 52-56
- 20 Florence AT, Hago ME, Loveless AH. Coprecipitates of Trifluoperazine



embonate and polymers duration of action by intramuscular route  
Pharmacol. 1976, 28: 601-606

致 谢

---

## 致 谢

本论文是在导师贺建功教授的悉心指导下完成的。三年来，导师在思想、工作、学习及生活上给了我无微不至的关怀，在此谨对导师表示衷心的感谢和深深的敬意！三年来，导师渊博的知识、严谨的治学态度、清晰敏锐的思维、务实高效的工作作风、严谨的治学态度、将使我终身受益。

特别感谢张莉老师、张丽霞老师、王会娟老师在论文开题、实验中及论文撰写过程中一直给予的巨大帮助和悉心指导。感谢华北制药集团新药开发中心制剂研究所的老师给予我的帮助与支持。

衷心感谢本实验室周立明、范彦令、范娜同学对我的帮助。

感谢华北制药集团新药开发中心药理研究所、理化分析所对我的帮助。

感谢曹德英老师和学校药剂教研室的各位老师、同学的帮助。

另外，我要特别感谢我的父母，衷心感谢他们在我背后的大力支持和默默的奉献，使我能专心于学业，认真完成毕业课题。

最后向对我论文提供帮助的各位老师、同学致以诚挚的谢意！

## 个人简历

### 一、一般情况

姓名 薛刚强      性别 男      民族 汉  
出身年月 1980年3月21日      籍贯 河北藁城市

### 二、个人经历

2001年9月-2005年7月就读于河北科技大学；  
2005年7月-2007年8月在石家庄制药集团工作；  
2007年9月至今就读于河北医科大学研究生学院。

### 三、发表论文

薛刚强, 贺建功, 张莉. CA 药固体分散体缓释胶囊的研制. (待发表)

### 四、承担或主研课题情况

主研课题为: CA 药固体分散体缓释胶囊的制备及其质量评价、稳定性研究以及药物动力学研究。