

可形成过饱和胶束的环孢素 A 渗透泵片的研究

宋 莎^{1,2}, 俞洪珍², 朱春柳², 段年秀^{1,2}, 俞淼荣², 凌云^{1*}, 甘 勇^{2*}

(1. 南昌大学药学院, 江西 南昌 330066; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 环孢素 A (cyclosporine A, CsA) 水溶性差, 制约了其口服吸收。本文制备了 CsA/Soluplus/SDS 复合物, 其水化后可形成 CsA/Soluplus/SDS 过饱和胶束 (CsA/Soluplus/SDS supersaturated micelles, CSS-SM); 并进一步制备了 CSS-SM 渗透泵片 (CSS-SM-T)。CSS-SM 粒径为 156 nm, CsA 包封率和载药量分别为 89.0% 和 17.5%。CSS-SM-T 在体外具有零级释药特征。Beagle 犬药动学实验 (动物实验均按照中国科学院上海药物研究所实验动物管理和使用委员会的相关要求进行) 表明: CsA 普通渗透泵片口服几乎无吸收; 与市售制剂新山地明软胶囊相比, CSS-SM-T 口服生物利用度虽略有下降 [相对生物利用度为 $(85.1 \pm 47.4)\%$], 但血药浓度波动小, 在体内呈明显缓释特征, 预示毒性更低。因此, CSS-SM-T 为难溶性药物口服缓控释制剂的设计开发提供了一种新的研究思路。

关键词: 环孢素 A; 过饱和胶束; 渗透泵片; 药动学; 缓释和控释

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)01-0022-07

Cyclosporin A osmotic pump tablets which can form supersaturated micelles

SONG Sha^{1,2}, YU Hong-zhen², ZHU Chun-liu², DUAN Nian-xiu^{1,2},
YU Miao-rong², LING Yun^{1*}, GAN Yong^{2*}

(1. Pharmacy College of Nanchang University, Nanchang 330066, China; 2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: The poor solubility of cyclosporine A (CsA) in water limits its oral absorption. We prepared CsA/Soluplus/SDS complex, which can form CsA/Soluplus/SDS supersaturated micelles (CSS-SM) after hydration. Then, We further prepared CSS-SM osmotic pump tablets (CSS-SM-T). CSS-SM had a particle size of 156 nm, where in encapsulation efficiency and drug loading efficiency of CsA were 89.0% and 17.5%, respectively. CSS-SM-T achieved zero-level drug release *in vitro*. Pharmacokinetic data from Beagle dogs (all animal experiments were conducted under the guidelines approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences) indicated that CsA in the ordinary osmotic pump tablets was hardly absorbed after orally administered; despite slightly lower bioavailability [relative bioavailability: $(85.1 \pm 47.4)\%$] than that of Sandimmun Neoral, CSS-SM-T displayed lower fluctuations in CsA plasma concentration and obvious sustained-release characteristics *in vivo*, implying lower toxicity. Therefore, CSS-SM-T provides a new research idea for the design and development of oral sustained- and controlled-release preparations of poorly water-soluble drugs.

Key words: cyclosporine A; supersaturated micelle; osmotic pump tablet; pharmacokinetics; sustained- and controlled-release

收稿日期: 2018-10-16; 修回日期: 2018-12-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573378, 81773651); 中国科学院战略性先导科技专项 (XDA12050307).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-791-86361839, E-mail: lyly803@163.com;

Tel: 86-21-20231000-1423, Fax: 86-21-20231000-1424, E-mail: ygan@simm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0939

目前约 60% 候选药物存在水溶性差^[1]、口服生物利用度低的问题^[2,3]。选用适宜的制剂技术改善难溶性药物的口服吸收及体内药代动力学行为,是目前药剂学领域的一项重要研究内容。

渗透泵制剂是一种具零级释药特征的口服缓控释系统^[4,5],可有效减少血药浓度波动。渗透泵片一般在胃肠道下段如结肠吸收^[6],但这些部位含水量低,且缺乏磷脂、胆盐等增溶物质^[7],从而导致从渗透泵片释出的难溶性药物混悬液易于沉淀。将药物增溶技术与渗透泵控释技术相结合,有可能提高从片芯释出的难溶性药物的溶解和溶出,改善药物吸收。然而,一些传统的增溶技术如固体分散体或包合物依然存在药物易于在消化道内沉淀,或辅料用量大等问题^[8,9]。过饱和和增溶体系仅使用少量辅料,通过在胃肠液中创造一个亚稳定的过饱和状态,并暂时抑制药物沉淀,可有效提高药物跨膜转运的效率^[10,11],近年来得到广泛关注^[12,13]。

环孢素 A (cyclosporine A, CsA) 是一种含 11 个氨基酸的脂溶性环肽药物,在水中几乎不溶^[14,15](图 1),其市售制剂一新山地明软胶囊 (Sandimmune Neoral) 虽然有效提高了 CsA 口服吸收,但制剂中大量的表面活性剂及极高的血药浓度峰值,常带来严重的不良反应^[16]。因此,推测将过饱和和增溶体系与渗透泵技术相结合,有可能避免 CsA 市售制剂的不足。

Soluplus (聚乙烯己内酰胺-聚醋酸乙烯酯-聚乙二醇共聚物) 是一种两亲性三嵌段表面活性剂类聚合物 (图 1),其临界胶束浓度极低 ($7.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),对难溶性药物具有显著的增溶作用。在前期研究中,作者考察了 CsA/Soluplus/SDS 过饱和和胶束的促吸收效果^[17,18]。为了进一步改善 CsA 在肠道的溶解和溶出,

在本研究中,将 CsA/Soluplus/SDS 过饱和和胶束 (CsA/Soluplus/SDS supersaturated micelles, CSS-SM) 与渗透泵技术结合,制备了 CSS-SM 渗透泵片 (CSS-SM osmotic pump tablets, CSS-SM-T),并考察了其体外释药特性及体内药动学行为。

材料与方法

仪器 Symphony 7100 药物溶出仪 (美国 Distek 公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 [安捷伦科技 (中国) 有限公司]; Process 11 热熔挤出机 (美国赛默飞世尔科技公司); TDP 型单冲压片机 (上海华懋制药机械有限公司); BY300A 型小型包衣机 (上海黄海药检仪器厂); MCGS 激光打孔机 (南京瑞驰电子技术工程实业有限公司); Bruker D8 Advance X-射线衍射仪 (德国布鲁克公司); 差示扫描量热分析仪 (瑞士梅特勒-托利多公司); Zetasizer Nano ZS 粒度测定仪 (英国马尔文仪器有限公司); JEM-2100F 型透射电镜 (日本 JEOL 公司)。

药品与试剂 CsA 原料药、CsA 对照品 (纯度 99.7%) 和环孢素 D (福建科瑞药业有限公司); Soluplus、聚维酮 (PVP K30) (德国巴斯夫公司); 新山地明软胶囊 (德国诺华制药有限公司); 十二烷基磺酸钠 (SDS, 药用级, 安徽山河药用辅料有限公司); 羟丙甲基纤维素 (HPMC E5、K4M, 上海卡乐康包衣技术有限公司); 聚氧乙烯 (PEO WSR303、N80, 陶氏化学公司); 聚乙二醇 (PEG 4000, 天津天成制药有限公司); 醋酸纤维素 (CA 398, 美国 Eastman 公司); 红氧化铁 (上海氧化铁颜料厂); Avicel® PH102 (美国富美实公司); 叔丁基甲醚、正己烷、乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国 Tedia 公司);

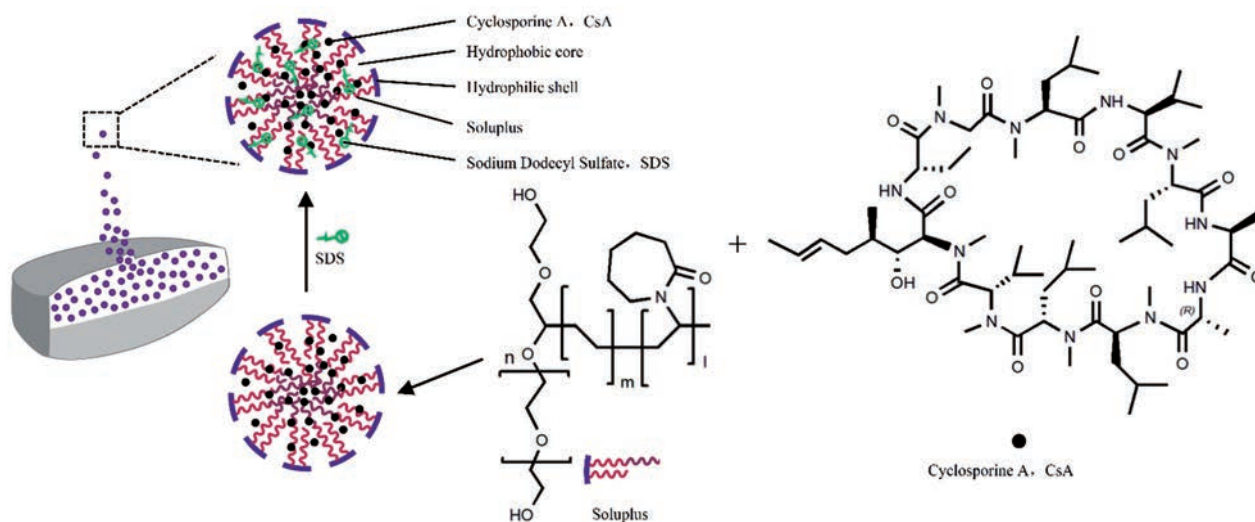


Figure 1 Schematic diagram of the structure and composition of CsA/Soluplus/SDS supersaturated micellar osmotic pump tablet (CSS-SM-T)

其他试剂均为药用或分析纯。

动物 健康雄性 Beagle 犬 9 只 (合格证号: 11400600012457; 购自北京玛斯生物技术有限公司), 年龄 7~8 个月, 体重 9~10 kg。所有动物实验均按照中国科学院上海药物研究所实验动物管理和使用委员会的相关要求进行。

CSS-SM 的制备 按处方量 (CsA: Soluplus: SDS = 1:4:0.4, w/w) 称取药物和辅料。将 CsA 与 Soluplus 充分混合均匀, 在 160 °C, 30 r·min⁻¹ 的条件下进行热熔挤出, 并在室温下冷却固化, 研磨粉碎, 过 80 目筛, 即得 CsA/Soluplus 热熔挤出物^[18]。将处方量的 SDS 加入 CsA/Soluplus 热熔挤出物, 混匀, 即得 CsA/Soluplus/SDS 过饱和胶束 (CSS-SM)。

CSS-SM 的表征

CsA 含量测定 称取一定量 CsA/Soluplus 热熔挤出物于 20 mL 量瓶中, 加入甲醇-水 (1:1, v/v) 混合溶剂, 超声溶解, 稀释至刻度。取 20 μL 含药溶液注入 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 记录峰面积, 计算 CsA 含量。

色谱条件 Agilent 1100 高效液相色谱仪; 色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (90:10, v/v); 柱温: 60 °C; 检测波长: 210 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。

过饱和度测定 药物在溶液中的过饱和度 (supersaturation, *S*) 可定义为制剂药物浓度与相应聚合物溶液中药物平衡溶解度之比。取 20 mg CsA/Soluplus 热熔挤出物加入 10 mL 纯水 (预热至 37 °C) 中, 恒温 37 °C, 快速磁力搅拌约 2 h, 直至分散均匀。将样品溶液用 0.8 μm 滤器过滤, 弃去 1 mL 初滤液, 取续滤液测定制剂药物浓度。在前期研究^[17]中测得, 在 37 °C 时, Soluplus 对 CsA 的增溶方程为 $y = 359.4x + 13.4$, 其中 *x* 为制剂中 Soluplus 浓度, *y* 为 CsA 在 Soluplus 溶液中的平衡溶解度。根据公式: $S = C/y$, 计算药物在溶液中的过饱和度。其中, *C* 为制剂中 CsA 浓度。

差示扫描量热 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 取 CsA 的原料药粉末、CsA/Soluplus 物理混合物 (physical mixture, PM) 和热熔挤出物 (hot melt extrudate, HME) 进行 DSC 分析, 程序升温速率为 5 °C·min⁻¹, 温度范围为 30~160 °C。

粉末 X-射线衍射 粉末 X-射线衍射^[19] (powder X-ray diffraction, PXRD) 是进行化合物晶体表征的重要检测手段, 通过特异的衍射线分布位置 (2θ) 和强度 (I/I_0), 以区分不同的晶体空间形态。测试条件: 管流强度为 40 mA, 高压强度为 40 kV, 扫描范围 3~50° (2θ), 步长为 0.02°, 扫描速度为 10°·s⁻¹。按上述条件对

CsA、CsA/Soluplus 的 PM 和 HME 进行 PXRD 分析。

粒径及分布 取 CSS-SM 20 mg, 加入纯水 10 mL, 在 37 °C 下快速磁力搅拌约 2 h, 直至分散均匀。采用一次性针式过滤器过滤样品溶液, 弃去 1 mL 初滤液, 取续滤液在 25 °C 和 37 °C 下通过动态光散射法 (dynamic light scattering, DLS) 测定粒径。

形态表征 将空白胶束及 CSS-SM 分别稀释至 Soluplus 质量浓度为 0.4 和 1.2 mg·mL⁻¹。将稀释液与 2% 磷酸钨酸溶液等体积混合均匀, 进行负染。并在透射电子显微镜下观察胶束的形态, 加速电压为 80 kV。

载药量和包封率 精密称取一定量 CSS-SM 粉末, 置于 20 mL 量瓶中, 加甲醇-水 (1:1, v/v) 混合溶剂, 超声溶解, 并稀释至刻度。取药液 20 μL 注入色谱仪, 记录峰面积, 计算 CsA 含量。分别计算 CSS-SM 中 CsA 的载药量 (drug loading, DL) 和包封率 (encapsulation efficiency, EE), 公式如下: $DL = m_1/m_c \times 100\%$, $EE = m_1/m_{total} \times 100\%$ 。其中, m_1 为 CSS-SM 粉末中 CsA 含量, m_c 为 CSS-SM 粉末总质量, m_{total} 为总的 CsA 投料量。

CsA 渗透泵片的制备 在固定片芯重量的基础上, 通过一系列的处方筛选和优化, 最终优选制备 3 种处方的双层渗透泵片。如表 1、2 所示, 分别为: 含 CsA/PVP-1/4 普通渗透泵片 (PVP-T); 含 CsA/Soluplus-1/4 过饱和胶束渗透泵片 (CS-SM-T); 含 CsA/Soluplus/SDS-1/4/0.4 过饱和胶束渗透泵片 (CSS-SM-T)。渗透泵片规格均为 25 mg CsA/片, 具体制备方法如下: 采用等量递加法将处方量的药物与辅料 (表 1) 过筛并混合均匀, 制得含药层, 备用; 将过筛后 PEO ESR、NaCl、红氧化铁、HPMC K4M 和 PVP K30 按处方量 (表 2) 混合均匀, 加入适量 97.5% 乙醇液制软材, 20 目筛制粒, 45 °C 干燥 2 h, 18 目筛整粒, 再加入硬脂酸镁混合均匀, 制得助推层; 将含药层与助推层压制双层片芯。

将处方量 (表 2) 的 HPMC E5、PEG 4000 溶于 95% 乙醇/水的混合溶剂中, 即得隔离衣包衣液。在包衣锅

Table 1 Formulations of drug-containing layers of three osmotic pump tablets. PVP-T: CsA/PVP-1/4 ordinary osmotic pump tablets; CS-SM-T: CsA/Soluplus-1/4 supersaturated micellar osmotic pump tablets; CSS-SM-T: CsA/Soluplus/SDS-1/4/0.4 supersaturated micellar osmotic pump tablets; CsA: Cyclosporine A; PVP K30: Povidone K30; SDS: Sodium dodecyl sulfate; PEO WSR N80: Polyethylene oxide WSR N80

Composition	PVP-T	CS-SM-T	CSS-SM-T
CsA/mg	25	25	25
Soluplus/mg	-	100	100
PVP K30/mg	100	-	-
Microsilica gel/mg	1	1	1
SDS/mg	-	-	10
PEO WSR N80/mg	126	126	116

Table 2 Formulations of the booster layer, the isolation coating solution and the controlled-release coating solution for the three osmotic pump tablets. PEO WSR 303: Polyethylene oxide WSR 303; HPMC K4M: Hydroxypropylmethylcellulose K4M; PEG 4000: Polyethylene glycol 4000; CA 398: Cellulose acetate 398

Booster layer		Isolation coating solution		Controlled release coating liquid	
PEO WSR 303/mg	90	HPMC E5/mg	5	CA 398/mg	7
NaCl/mg	14	PEG 4000/mg	0.5	PEG4000/mg	1
Magnesium stearate/mg	1	95% Ethanol	Solvent used in the process	Acetone	Solvent used in the process
Red iron oxide/mg	1	Water	and finally removed	Water	and finally removed
HPMC K4M/mg	5.5	-	-	-	-
PVP K30/mg	14.5	-	-	-	-

转速 20~25 r·min⁻¹, 包衣液流速约 6 mL·min⁻¹ 条件下进行包衣。之后, 将包衣片置 45 °C 烘干 2 h, 干燥后, 隔离衣膜包衣增重为片芯重量的 2%。将处方量 (表 2) 的 CA 398、PEG 4000 分别溶解于丙酮和水中, 混合均匀, 即得控释衣包衣液 (固含量为 5%)。在包衣锅转速 25~30 r·min⁻¹, 包衣液流速约 6 r·min⁻¹ 条件下进行包衣。采用激光打孔的方式, 在控释片含药层一侧用激光打孔机打两个小孔, 孔径 0.7 mm, 打孔的深度以穿透控释衣膜为宜。

体外释放实验 分别在漏槽条件 (以 0.2% SDS 为释放介质) 和非漏槽条件 (以纯水为释放介质) 下考察表 1 中 3 种渗透泵片的释放度。取 3 种渗透泵片各 6 片, 按照《中国药典》2015 年版释放度测定法, 以 0.2% SDS 水溶液或纯水 500 mL 为释放介质, 转速为 50 r·min⁻¹, 水浴温度 37 °C。分别在 2、4、6、8 和 10 h 取溶液 5 mL, 同时补充等体积同温度释放介质, 于 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液 20 μL 注入色谱仪, 记录色谱图, 测得各峰面积代入标准曲线求得各时间点的释放量, 经校正后即得累积释放百分率。

Beagle 犬体内药动学研究 采用三交叉自身对照实验方法, 取健康雄性 Beagle 犬 9 只, 随机分为 3 组, 禁食过夜。按表 3 所示顺序给药, 每只 Beagle 犬单剂量给予 CsA 渗透泵片 4 片 (规格: 25 mg/片) 或新山地明软胶囊 4 粒 (规格: 25 mg/粒), 给药后灌胃给予纯水 100 mL, 给药 4 h 后允许 Beagle 犬自由进食。

Table 3 Three-crossed dosing regimen in Beagles. A: PVP-T; B: CSS-SM-T; R: Sandimmum Neoral

Test cycle	Group 1	Group 2	Group 3
First cycle 0 day	A	B	R
Second cycle 6 days	B	R	A
Third cycle 12 days	R	A	B

血样采集与检测 自制控释片 (PVP-T 和 CSS-SM-T) 于给药前 5 min, 给药后 2、4、6、8、10、12、16、20、24 和 32 h; 市售软胶囊于给药前 5 min, 给药后 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 和 32 h, 分别从犬前肢静脉处采血 1.5

mL 至肝素化试管中, 置 -20 °C 冰箱中冷冻保存, 备用。

全血样品的处理方法 取全血样品 0.4 mL 至玻璃离心管中, 加乙腈及内标液 (50 μg·mL⁻¹ 环孢素 D 的乙腈溶液) 各 20 μL, 涡旋; 加氟化钠 25 mg, 45 °C 水浴 10 min; 加叔丁基甲醚 2 mL, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 有机层移取至 5 mL 离心管中, 氮气吹干; 加入乙腈-磷酸水溶液 (pH 1.9) (60:40) 的混合液 100 μL, 复溶, 涡旋; 加入正己烷 800 μL, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取下层溶液 20 μL 注入色谱仪, 记录峰面积。

色谱条件 Agilent 1100 高效液相色谱仪; 色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-磷酸水溶液 [磷酸-水 (43.5:0.1), pH 1.9]-叔丁基甲醚 (47:48:5); 检测波长: 210 nm; 柱温: 70 °C; 流速: 1.5 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。

标准曲线的绘制 取空白全血 0.4 mL 若干份, 配制成 CsA 质量浓度分别为 100、200、400、800、1 200、1 600、2 400 和 3 200 ng·mL⁻¹ 的全血样品, 按上述全血样品的处理方法和色谱条件进行色谱分析。以 CsA 峰面积和环孢素 D 峰面积的比值 (y) 对全血中 CsA 浓度 (x) 进行线性回归。

药动学参数的计算 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, C_{\max} 和 t_{\max} 为实测值, AUC_{0-t} 由梯形法计算, 相对生物利用度 (F_r) 按公式计算: $F_r = (AUC_{0-t} \text{自制片}) / (AUC_{0-t} \text{市售胶囊}) \times 100\%$ 。应用 DRUG AND STATISTICS 软件 (DAS, 版本 2.1.1) 采用非隔室模型进行药动学参数计算。

统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多样本均数间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为显著性差异。

结果

1 CSS-SM 的表征

1.1 CsA 含量测定 在制备过程中, 对 CsA/Soluplus 热熔挤出物的含药量进行了检测, 测得 CsA 的含量为 (21.9 ± 0.9) %, 表明成功制备了 CsA/Soluplus 比例为 (1:4, w/w) 的热熔挤出物。

1.2 过饱和度测定 CsA/Soluplus 热熔挤出物, 呈完全透明的外观, 水化后能够形成过饱和药物溶液。制剂中 CsA 质量浓度为 $(1\ 658.8 \pm 76.8) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其在 Soluplus 溶液中的平衡溶解度为 $294.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 因此, 其过饱和度为 5.6。

1.3 DSC 分析 CsA、CsA/Soluplus (1/4, w/w) 的 PM 和 HME 的 DSC 图谱如图 2 所示。无定形 CsA 在 126 °C 处 (a) 显示一吸热峰, 这可能是由于在温度高于 120 °C 时, 无定形药物开始熔融。PM 和 HME 在 70 °C 附近出现吸热峰, 说明 Soluplus 熔融。PM 在 124 °C 处 (b) 显示一吸热峰, 而 HME (c) 在这一位置未出现峰, 推测 CsA 是以分子形式分散于 Soluplus 中。

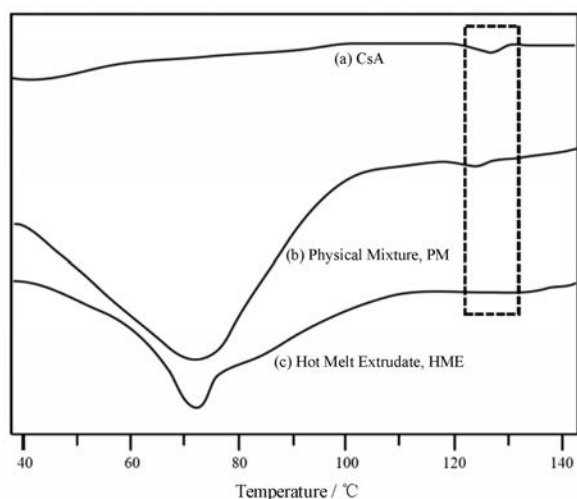


Figure 2 Differential scanning calorimetry analysis of CsA samples

1.4 粉末 X-射线衍射分析 Soluplus、CsA 及 CsA/Soluplus 的 PM 及 HME 的 PXRD 图谱如图 3 所示。以丙酮为溶剂, 采用冷却结晶法在实验室制得结晶型 CsA, 其在 $2\theta = 6.8^\circ, 7.8^\circ, 9.2^\circ, 9.5^\circ, 10.8^\circ, 14.7^\circ, 15.2^\circ, 15.9^\circ, 16.9^\circ$ 和 22.3° 等位置出现特征衍射峰 (a)。用于制备热熔挤出物的 CsA 原料药图谱中未出现明显衍射峰 (b), 表明 CsA 原料药以无定形存在。在 CsA/Soluplus 的 PM 及 HME 中, 均未出现 CsA 的特征峰 (c、d), 表明 CsA 在热熔挤出过程中仍保持无定形态。

1.5 CSS-SM 的粒径与形态 将 SDS 引入 CsA/Soluplus 热熔挤出物, 制得 CSS-SM。如图 4 所示, 空白胶束粒径为 62 nm; 载 CsA 后, CSS-SM 粒径为 156 nm。如透射电镜图所示, 空白胶束及 CSS-SM 的形态均呈圆球状, 粒径分布均一; 空白胶束及 CSS-SM 粒径, 均略小于 DLS 测得的流体力学直径, 这可能是透射电镜制样干燥过程中胶束聚合物层的皱缩造成的。CsA 包封率为 89.0%, 此时, CsA 载药量高达 17.5%。表明

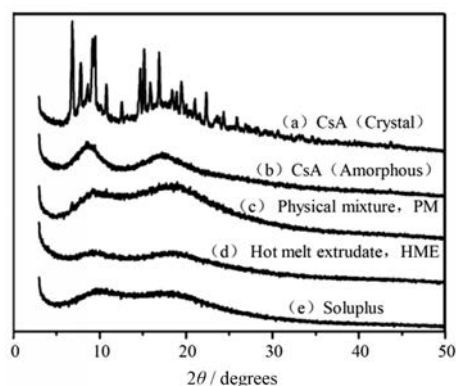


Figure 3 Powder X-ray diffraction analysis of Soluplus and CsA samples

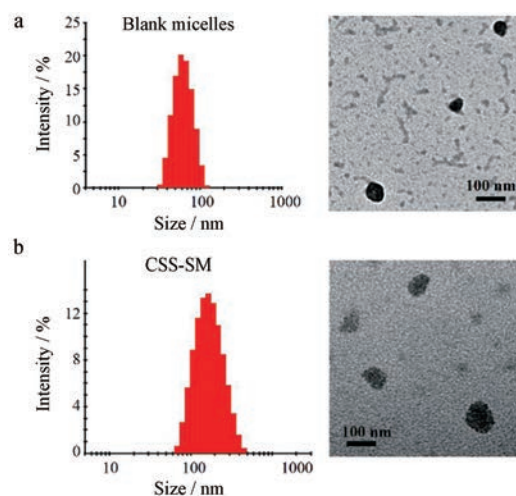


Figure 4 Particle size and morphology of blank micelles (a) or CsA-loaded CSS-SM (b)

CSS-SM 对 CsA 具有较好的包载效果, 在实际使用中可有效减少辅料用量。

2 体外释放研究

比较 3 种渗透泵片在 0.2% SDS 溶液和纯水中的释药行为 (在沉降条件下, $n = 6$)。如图 5 所示, 在体外漏槽条件下 (0.2% SDS 溶液), 3 种渗透泵片有相似的释药曲线; 在非漏槽条件下 (纯水), 与 PVP-T 相比, CSS-SM-T 的累计释放仅略微提高了约 0.5 倍, 而 CSS-SM-T 的累计释放提高了约 4 倍。由此可知, 在渗透泵片的主要吸收部位——肠道下段如结肠, 肠液中缺乏磷脂、胆盐等增溶物质, 含 SDS 的 CSS-SM-T 渗透泵片将可显著提高 CsA 的溶解和溶出。

3 Beagle 犬体内药动学研究

方法学验证结果显示, CsA 犬全血样品测定标准曲线 $y = 0.000\ 403\ 23x - 0.010\ 37$, $r^2 = 0.996\ 7$, 在 $50 \sim 1\ 000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。本实验检测了 PVP-T 普通渗透泵片、CSS-SM-T 和市售新山地明软胶囊各

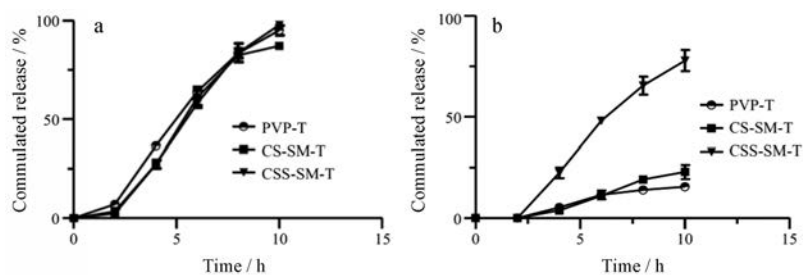


Figure 5 Release curve of three osmotic pump tablets in 0.2% SDS aqueous solution (a) and pure water (b). $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

时间点的血药浓度^[20], 并绘制了药物浓度-时间曲线(图6)。由图可知, CSS-SM-T的血药浓度在任一时间段都远高于PVP-T; 与市售新山地明软胶囊相比, CSS-SM-T具有更低的血药浓度峰值及波动。

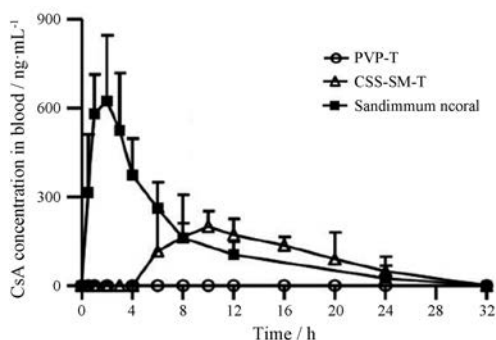


Figure 6 The curve of CsA concentration in blood vs time in Beagles after oral administration of the two osmotic pump tablets and commercially available soft capsules of CsA. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

进一步通过 DAS 2.1.1 软件采用非隔室模型计算了药动学参数。如表4所示, PVP-T口服后血药浓度低于检测限, 意味着其在胃肠道几乎无吸收。由此可知, 对于难溶性药物CsA, 开发其普通渗透泵控释制剂是不可行的。与新山地明软胶囊相比, 尽管CSS-SM-T生物利用度略低[相对生物利用度(85.1 ± 47.4)%], 但其显著降低 C_{max} 及延长了 MRT_{0-t} ($P < 0.05$), 减缓了血药浓度波动, 呈明显的缓释特征。此外, 药动学曲线显示CsA吸收在4~6 h才开始, 而渗透泵片在人体胃肠道中大约转运4 h即可到达结肠部位^[21], 表明CSS-

Table 4 Pharmacokinetic parameters of the two osmotic pump tablets and commercially available soft capsules of CsA after orally administered in Beagles. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$ vs Sandimmum Neoral

Parameter	PVP-T	CSS-SM-T	Sandimmum neoral
$AUC_{0-t}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	0	$2\ 848.4 \pm 297.4$	$3\ 979.3 \pm 1\ 874.5$
MRT_{0-t}/h	-	$12.2 \pm 3.1^*$	5.2 ± 1.6
$t_{1/2}/h$	-	11.2 ± 9.7	4.1 ± 0.6
t_{max}/h	-	12.0 ± 7.2	1.7 ± 0.6
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	0	$231.2 \pm 45.7^*$	656.1 ± 167.5

SM-T可以显著改善药物在胃肠道特别是结肠部位的溶出和溶解问题, 有助于实现药物的缓慢释放及逐渐吸收。

讨论

水溶性差, 溶出不佳, 是CsA生物利用度低的主要原因^[22,23]。基于微乳化技术的市售新山地明软胶囊, 虽可以提高CsA生物利用度, 但往往因血药浓度波动大及表面活性剂用量高而产生不良反应。

本文考察了不同类型渗透泵片的体外释药行为。在充分漏槽条件下, 10 h后, 不同处方渗透泵片的药物基本从片芯完全释放, 释药曲线几乎一致; 而在非漏槽条件下, 10 h后, PVP-T及CS-SM-T渗透泵片只释放少量药物, 而CSS-SM-T却释放出大量的药物, 处方间呈现出显著差异(图5)。这可能因为CSS-SM-T渗透泵片释药后, 内容物水化可形成过饱和胶束溶液; 少量阴离子表面活性剂SDS的加入, 与Soluplus发生相互作用形成复合物胶束, 抑制了沉淀生成^[18], 从而可形成具有适宜过饱和度的稳定体系。

药动学结果表明, 犬口服普通CsA渗透泵片后, 血药浓度低于最低检测限, 提示药物在肠道吸收极少。这可能是由于渗透泵片主要在结肠释药, 而该部位肠液水容量极低, 且缺乏磷脂、胆盐等增溶物质, 因此导致CsA溶出极为缓慢, 吸收差。由此可见, 对于CsA这类溶解度极低的药物, 采用常规渗透泵片难以获得良好的生物利用度。与新山地明软胶囊相比, CSS-SM-T生物利用度略有降低, 但 C_{max} 及血药浓度波动显著降低, 药动曲线呈缓释特征。说明CSS-SM-T新型渗透泵控释片可以显著改善药物在胃肠道特别是结肠的溶出和溶解, 从而实现药物的缓慢释放及逐渐吸收。

与新山地明软胶囊相比, 本研究设计的CSS-SM-T具有表面活性剂用量少, 血药浓度波动小的优势, 但相对生物利用度仍有待进一步提高。这可能是由于双层渗透泵片的释药行为具有特殊性^[24], 前期存在大约4 h的“时滞”, 大部分药物在胃肠道下段——结肠释放, 导致在肠道上段药物吸收量较低, 影响了药物的生

物利用度。后续有待进一步改进处方, 缩短“时滞”, 以获得药动特征更理想的渗透泵控释制剂。

References

- [1] Wang K, Qi JP, Weng TF, et al. Enhancement of oral bioavailability of cyclosporine A: comparison of various nanoscale drug-delivery systems [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 4991-4999.
- [2] Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications [J]. *Int J Pharm*, 2011, 420: 1-10.
- [3] Gaucher G, Satturwar P, Jones MC, et al. Polymeric micelles for oral drug delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76: 147-158.
- [4] Huang YP, Zhang SS, Shen HF, et al. Controlled release of the nimodipine-loaded self-microemulsion osmotic pump capsules: development and characterization [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2018, 19: 1308-1319.
- [5] Zhang JW, Meng FY, Xiao TQ. Structure-based strategy for consistency evaluation of dosage forms [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 659-666.
- [6] Wilding I. Site-specific drug delivery in the gastrointestinal tract [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2000, 17: 557-620.
- [7] Wen H, Park K. Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice [M]. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [8] Imai M, Hashizaki K, Yanagi A, et al. Skin permeation of testosterone from viscoelastic lecithin reverse wormlike micellar solution [J]. *Biol Pharm Bull*, 2016, 39: 532-539.
- [9] Sajeesh S, Bouchemal K, Marsaud V, et al. Cyclodextrin complexed insulin encapsulated hydrogel microparticles: an oral delivery system for insulin [J]. *J Control Release*, 2010, 147: 377-384.
- [10] Gong S, Zhu CL, Ding JS, et al. Absorption-enhancing mechanisms and advances of polymer-based supersaturated drug delivery system [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1310-1317.
- [11] Abu-Diak OA, Jones DS, Andrews GP. An investigation into the dissolution properties of celecoxib melt extrudates: understanding the role of polymer type and concentration in stabilizing supersaturated drug concentrations [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8: 1362-1371.
- [12] Franca MT, Nicolay RP, Riekens MK, et al. Investigation of novel supersaturating drug delivery systems of chlorthalidone: the use of polymer-surfactant complex as an effective carrier in solid dispersions [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 111: 142-152.
- [13] Taylor LS, Zhang GGZ. Physical chemistry of supersaturated solutions and implications for oral absorption [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 101: 122-142.
- [14] Ismailos G, Reppas C, Dressman JB, et al. Unusual solubility behaviour of cyclosporin A in aqueous media [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1991, 43: 287-289.
- [15] Zhang X, Yi YN, Qi JP, et al. Controlled release of cyclosporine A self-nanoemulsifying systems from osmotic pump tablets: near zero-order release and pharmacokinetics in dogs [J]. *Int J Pharm*, 2013, 452: 233-240.
- [16] Guada M, Belouqui A, Kumar MNVR, et al. Reformulating cyclosporine A (CsA): more than just a life cycle management strategy [J]. *J Control Release*, 2016, 225: 269-282.
- [17] Yu HZ, Xia DN, Zhu QL, et al. Supersaturated polymeric micelles for oral cyclosporine A delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85: 1325-1336.
- [18] Xia DN, Yu HZ, Tao JS, et al. Supersaturated polymeric micelles for oral cyclosporine A delivery: the role of Soluplus-sodium dodecyl sulfate complex [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 141: 301-310.
- [19] Xiao L, Yi T. Mechanisms of hydroxypropyl methylcellulose for the precipitation inhibitor of supersaturatable self-emulsifying drug delivery systems [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2013, 48: 767-772.
- [20] Yu HZ. Design of Supersaturated Drug Delivery System and the Development of Osmotic Pump Controlled Release Formulation of Cyclosporin A (环孢素 A 过饱和和给药系统的设计及其渗透泵控释制剂的研究) [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014.
- [21] Rouge N, Buri P, Doelker E. Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery [J]. *Int J Pharm*, 1996, 136: 117-139.
- [22] Dai WB, Guo YL, Zhang H, et al. Sylysia 350/Eudragit S100 solid nanomatrix as a promising system for oral delivery of cyclosporine A [J]. *Int J Pharm*, 2015, 478: 718-725.
- [23] Atiq F, Hameli E, Broers AEC, et al. Converting cyclosporine A from intravenous to oral administration in hematopoietic stem cell transplant recipients and the role of azole antifungals [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2018, 74: 767-773.
- [24] Hamoudi MC, Bourasset F, Domergue-Dupont V, et al. Formulations based on alpha cyclodextrin and soybean oil: an approach to modulate the oral release of lipophilic drugs [J]. *J Control Release*, 2012, 161: 861-867.