·实验研究·

拉米地坦片制备及体内外评价

贾俊伟[1],韩建成[2],王　慧[3],王　纯[4],冯　中[1,2,3,4*]

(1 鲁南制药集团股份有限公司/山东省药物国际化工程实验室,临沂 276006; 2 延边大学药学院,延吉 133002; 3 天津中医药大学研究生院,天津 301617; 4 山东中医药大学药学院,济南 250355)

[摘要] **目的**:调研文献并设计自研制剂处方组成,对其处方组成以及制备工艺进行优化,制备拉米地坦片,同时对其体外溶出、药动学进行研究。**方法**:基于湿法制粒制备工艺,通过 Box-Behnken 实验法,以 Reyow®作为参比制剂,筛选出预胶化淀粉、交联羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁最佳辅料配比;通过单因素实验法确定制粒前原料药粒径和压片硬度;进一步研究自研制剂和参比制剂在体外平行人工膜(parallel artificial membrane permeability assay,PAMPA)中相关渗透参数及在 Beagle 犬体内的药动学特征。**结果**:经实验确定原料药的最优粒径为 220 μm,压片硬度为 80 N;预胶化淀粉含量为 8.77%,交联羧甲基钠含量为 4.58%,硬脂酸镁含量为 2.67%。自研制剂与参比制剂的膜渗透性分别为 1.125×10^{-4} 和 1.117×10^{-4} cm·s^{-1},渗透速率分别为 0.846 804 和 0.847 113 μg·min^{-1}·cm^{-2}。体内试验表明,自研制剂和 Reyow® 的 C_{max} 分别为 189 和 188 ng·L^{-1},T_{max} 为 3 h。自研制剂的口服相对生物利用度为 93.32%。**结论**:自研制剂与参比制剂,在体外 PAMPA 渗透和 Beagle 犬体内释放行为基本一致,自研制剂与原研片剂体内生物初步等效,该工艺适用于拉米地坦片的制备。

[关键词] 拉米地坦;处方开发;体内外生物等效性评价;Box-Behnken 实验法;PAMPA 模型

[中图分类号] R94　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2026)14－1527－12

Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of lasmiditan tablets

JIA Jun-wei[1], HAN Jian-cheng[2], WANG Hui[3], WANG Chun[4], FENG Zhong[1,2,3,4*]

(1 *Pharmaceutical Internationalization Engineering Laboratory of Shandong Province, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi* 276006, *China*; 2 *College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji* 133002, *China*; 3 *Graduate School, Tianjin University of traditional Chinese Medicine, Tianjin* 301617, *China*; 4 *School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan* 250355, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To prepare lasmiditan tablets and study the *in vitro* dissolution and pharmacokinetics. **Methods**: Literature and patents were investigated for designing and optimizing the formulation composition and preparation process. Based on the wet granulation preparation process, taking Reyow® as the reference preparation, the optimal excipient ratios of pregelatinized starch, croscarmellose sodium and magnesium stearate were screened out by Box-Behnken experiment. The particle size and tableting hardness of the API before granulation were determined by single factor experiment. The relevant permeation parameters and pharmacokinetic characteristics of the self-developed tablets and reference preparation in the PAMPA (parallel artificial membrane permeability assay) and the pharmacokinetic characteristics in Beagle dogs were further studied. **Results**: The particle size of the API was determined to be 220 μm, and the hardness of the tablet was 80 N. The content of pregelatinized starch was 8.77%, and the content of croscarmelase sodium was 4.58%. The magnesium stearate content was 2.67%. The membrane permeability of the self-developed tablets and the reference preparation were 1.125×10^{-4} and $1.117\times$

[基金项目] 泰山产业领军人才项目(tscx202306086)

[作者简介] 贾俊伟,男,高级工程师,主要从事新药研究和开发。E-mail:jiajunwei98@163.com。

[通讯作者] *冯中,男,正高级工程师,主要从事新药研究与开发。E-mail:fengzhong22@163.com。

[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.14.011

10^{-4} cm·s^{-1}, respectively, and the permeability rates were 0.846 804 and 0.847 113 μg·min^{-1}·cm^{-2}, respectively. The *in vivo* experiments showed that the C_{max} of the self-made tablets and Reyow® were 189 and 188 ng·L^{-1}, the T_{max} was 3 h. The oral relative bioavailability of homemade tablets was 93.32%. **Conclusion**: The PAMPA permeation and release behavior in Beagle dogs were basically the same between the self-developed tablets and the reference tablets. The self-developed preparation is preliminary bioequivalent to the original product. The process is suitable for the preparation of lasmiditan tablets.

[**Key words**] lasmiditan; prescription development; evaluation of bioequivalence *in vivo* and *in vitro*; Box-Behnken experiment; PAMPA model

偏头痛(migraine)属于慢性神经血管性疾病,且伴有一定的原发性血管神经功能障碍综合征[1]。这是一种常见、反复发作的头痛疾病,常伴有恶心、呕吐、声光过敏等症状[2-3]。目前无法根治,多数治疗的目的在于缓解发作症状。

拉米地坦(lasmiditan)于 2019 年 10 月 11 日获美国 FDA 批准上市,商品名为 Reyvow®,是首款获批上市的 5-羟色胺受体 1F(5-HT1F)激动剂[4]。该药物特异性强,可与三叉神经上 5-HT1F 高度结合,减少神经肽释放,抑制疼痛传导通路,以此发挥止痛作用,并且血管收缩功能不会受到影响,安全性较为理想[5],在 2 项关键的Ⅲ期临床试验结果中,与安慰剂相比,拉米地坦片显著缓解了患者头痛、畏光和恶心的症状[6],疗效显著。拉米地坦在治疗偏头痛的药物对比中具有显著优势,具有巨大的市场潜力。本实验成功制备了一款仿制药,并研究其体外、体内释放行为,实现其与原研制剂生物等效。

材料与方法

1 仪器

SYH-2-5-10 型三维运动混合机(常州市永昌制粒干燥有限公司);TMG1/6 型湿法制粒机(德国 Glatt 公司);中国药典筛(30 目,2.0 mm 新乡市克莱德环保设备有限公司);MS8001TS 型电子天平、XS204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);xplorer 型超纯水机(上海沉黄科学仪器有限公司);CPR－188 型冲压片机(意大利 BONAPACE 公司);X 射线衍射仪(荷兰 PANalytical 公司);马尔文激光粒度仪(英国马尔文公司);UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司);easy DISS TX8 型溶出仪(德国 Riggtek 公司);NANOSTAR 7.5 digital 型搅拌桨、RCT basic 磁力搅拌器(德国 IKA 公司);Mini/Midi-Glatt 型流化床(德国 Glatt 公司);μFlux 型药物溶解性与渗透性处方筛选测试仪及体内外相关性评价仪(美国 Pion Inc,AuPROTM 软件);AJM150B 型气流粉碎机(青岛微纳公司)。

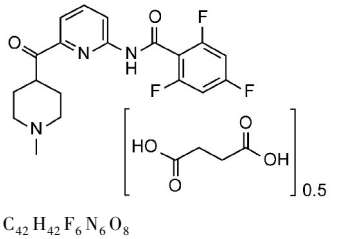
2 试药与试剂

拉米地坦片(原研制剂,美国礼来公司,商品名:Reyow®);拉米地坦原料药(山东新时代药业有限公司);预胶化淀粉药用级(美国卡乐康公司);微晶纤维素 PH102、交联羧甲基纤维素钠(美国杜邦公司);十二烷基硫酸钠(湖南尔康制药股份有限公司);硬脂酸镁(北京凤礼精求医药股份有限公司);乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为市售分析纯,水为纯化水。人工仿生膜、ASB 缓冲液(接收室缓冲液,美国 Pion Inc);Beagle 犬 12 只,普通级,体质量(7.5±0.7) kg[购于北京玛斯生物技术有限公司,动物生产许可证编号:SCXK(京)2017-0007]。动物实验伦理批号:HN-IACUC-2024-002。

3 拉米地坦自研制剂的制备

拉米地坦原料药基本信息见表 1。

表 1 拉米地坦基本信息

项目	基本信息
中文名称	拉米地坦半琥珀酸盐
英文名称	lasmiditan succinate
CAS 登记号	439239-92-6
化学名称	2,4,6-三氟-*N*-[6-[(1-甲基-4-哌啶基)羰基]-2-吡啶基]苯甲酰胺琥珀酸盐
结构式	
分子式	$C_{42}H_{42}F_6N_6O_8$
相对分子质量	436.41
外观性状	白色或类白色结晶性粉末
pKa	4.28、9.04、10.77
吸湿性	未观察到吸湿性
晶型	多晶型
溶解性	甲醇中溶解;在水中略溶;在乙醇中微溶

称取 2.03 g 十二烷基硫酸钠、8.40 g 纯化水，在搅拌状态下将十二烷基硫酸钠加入纯化水中配制制粒浆液。称取微晶纤维素 PH102 61.71 g、拉米地坦半琥珀酸盐 115.65 g、交联羧甲基纤维素钠 9.26 g、预胶化淀粉 17.20 g，将上述原辅料置于湿法制粒机中混合。采用喷雾方式将制粒浆液加入湿法制粒机中，加浆结束后捏合 2 min，将捏合后的湿颗粒过 2.0 mm 筛网，手动进行湿整粒，随后使用流化床进行干燥 30 min，将干燥后的颗粒手动过 30 目筛网，得内颗粒。称取硬脂酸镁 3.50 g、交联羧甲基纤维素 16.76 g 与内颗粒一起加入混合桶中混合 10 min 得终混粉。使用压片机压片得到 100 mg 规格的拉米地坦自研制剂。

采用上述小试相似的制备工艺及相同厂家及型号原辅料，在《药品生产质量管理规范》(GMP)车间严格按照 GMP 要求完成 14 万片·批$^{-1}$的中试放大生产，并使用小试和中试放大的样品进行后续相关研究。

4 药物含量的测定

4.1 色谱条件

色谱柱：Ultimate LP-C_{18}柱(150 mm × 4.6 mm，5 μm)；流动相：0.1% 磷酸水-乙腈(40∶60)；检测波长：270 nm；流速：1.0 mL·min^{-1}；柱温：35 ℃；进样量：10 μL；稀释液：40% 乙腈。

4.2 方法学验证

4.2.1 专属性与系统适用性　空白溶液：取稀释液适量，按照“**4.1**”项下色谱条件进行测定，由结果可知，空白溶剂在主峰出峰位置无干扰。

对照品溶液：精密称定拉米地坦 23 mg，置于 200 mL 量瓶中，用稀释液溶解并稀释至刻度。按照“**4.1**”项下色谱条件连续进样 5 次，统计主峰峰面积，并计算峰面积的 RSD(%)。结果：拉米地坦峰峰面积的 RSD 为 0.27%，符合要求。

供试品溶液：取拉米地坦片 5 片，置于 500 mL 量瓶中，加入适量稀释液，超声使片崩散后，继续超声 30 min，用稀释液稀释至刻度，摇匀，作为储备液。精密量取储备液 5 mL，置于 50 mL 量瓶中，用稀释液稀释至刻度，摇匀，过膜，取续滤液，依法测定，统计供试品溶液中拉米地坦峰的峰纯度。结果：供试品溶液中拉米地坦峰的峰纯度均为 1 000，即峰内所有点的光谱图高度一致，表明该峰是单一、纯净的化合物，没有其他物质在其中共洗脱，符合要求。

4.2.2 线性曲线　对照品储备液：精密称定拉米地坦 58 mg，置于 50 mL 量瓶中，用稀释液溶解并稀释至刻度，摇匀。

线性溶液配置：取对照品储备液适量，用稀释液逐级稀释至不同体积，得到不同浓度溶液。

取上述不同浓度溶液，按照“**4.1**”项下色谱条件进行检测。以对照品储备液峰面积为纵坐标(Y)，浓度为横坐标(X)，通过线性回归计算，得到回归方程为 $y = 34.931x + 14.897$，$R^2 = 1$。见图 1。

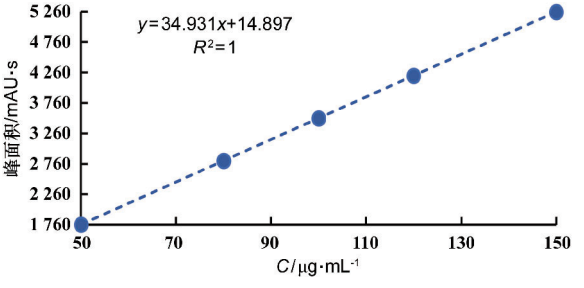


图 1　线性曲线 1

结果：拉米地坦在 50 ~ 150 μg·mL^{-1}浓度范围内线性良好，$R^2 = 1$，符合要求。

4.2.3 准确度　对照品储备液：同“**4.2.2**”项下对照品储备液。

分别精密量取对照品储备液 1、2、3 mL 置于 20 mL 量瓶中，用稀释液稀释至刻度，摇匀，过膜，取续滤液，每种溶液平行制备 3 份，得到低、中、高 3 种浓度准确度溶液。按照“**4.1**”项下色谱条件进样检测，按外标法以峰面积计算准确度溶液中拉米地坦的回收率。结果：准确度溶液回收率单个均值均在 95.0% ~ 105.0%，回收率的 RSD 为 0.45%，符合要求。

4.3 溶出曲线测定

取自研制剂和参比制剂各 6 片，桨法，溶出介质为 0.1 mol·L^{-1} HCl 溶液，转速为 50 r·min^{-1}，体积 500 mL，依法操作，于 5、10、15、20、30、45、60 min 取溶出液 5 mL，过膜，取续滤液，按照“**4.1**”项色谱条件测定，外标法计算累积溶出度，绘制溶出曲线。

5 处方工艺的筛选

5.1 药物活性成分(API)粒径的筛选

药物的粒度会影响片剂的溶出度以及混合均匀度等，在制剂生产中，控制原料药的粒径在合适的范围内可以提高药品的质量并且节约成本。拉米地坦原料药略溶于水，其粒径大小是否会影响该片剂的溶出效果有待研究，故实验将粒径大小对溶出度的影响作为重要的考察内容。将拉米地坦半琥珀酸盐

在 GMP 车间使用气流粉碎机按照不同参数制备成不同粒径大小的样品,测得粒径的 D90 分别为 80、100、220 μm。本试验照“**3**”项下操作制备 API 粒径不同的速释片,分别考察 3 种不同粒径的 API 的溶出行为以及混合均匀度,以参比制剂作为对照,绘制溶出曲线,并将三者进行对比。

5.2 Box-Behnken(BBD)实验设计

参考美国 FDA 公布的原研制剂专利,根据原研药品 Reyow®,确定了拉米地坦片的处方组成,并利用该处方进行了处方变量优化研究,优化了崩解剂(交联羧甲基纤维素钠)、黏合剂(预胶化淀粉 Starch 1500R)、润湿剂(十二烷基硫酸钠)、润滑剂(硬脂酸镁)和薄膜包衣预混剂(胃溶型)的用量范围。本实验采用 BBD 法[7]考察处方中各种辅料的最优用量。在湿法制粒工艺中,加入适量的预胶化淀粉更易制粒,预胶化淀粉为黏合剂,其化学性质稳定,适用于绝大多数口服固体剂型的活性成分并且具备良好的流动性和可压性,成粒性和可压性好,制得的片子硬度增大,脆碎度降低,表面光滑,因此确定其用量为因素 A[8]。原辅料相容性研究结果显示交联羧甲基纤维素钠与原料药相容性较好,交联羧甲基纤维素钠作为崩解剂,具有吸水溶胀能力强、崩解速度快、提升溶出度的优点,直接影响着自研制剂的溶出速率,含量过高时不能达到理想的崩解效果,需作为因素 B 考察。预胶化淀粉有自润滑作用,与其他辅料合用时需加入硬脂酸镁做润滑剂,硬脂酸镁由于其呈疏水性并能阻滞药物从固体剂型中溶出,因此在处方中应尽量使其浓度降低。尤其在直接压片处方中,硬脂酸镁的使用量不宜过高,否则会使片剂产生软化效应,故将硬脂酸镁的用量作为因素 C 考察。

通过参比制剂的溶出实验结果可得知,在 15 min 时主药已达到最大溶出,为保证自研制剂的快速释放,本实验以 15 min 时药物的溶出度为评价指标,筛选最优辅料配比。

5.3 压片硬度的考察

压片硬度对主药的溶出速率有着重要影响,硬度过大可能会造成崩解迟缓,进而影响溶出速度,硬度过小则对片剂的生产、储存、运输带来不便。本实验按照“**3**”项下操作制备压片硬度不同的速释片,分别考察 50、80、110 N 这 3 种压片硬度下拉米地坦自研制剂的溶出行为,以参比制剂做对照,绘制溶出曲线。

5.4 验证实验

基于上述实验得出的最优 API 粒径、辅料用量、压片硬度,通过“**3**”项下操作制备一批拉米地坦片,按照“**4.3**”项下实验方法测定片剂溶出度,计算平均溶出度,绘制溶出曲线,并与参比制剂比较,考察处方工艺筛选结果的准确性。

5.5 晶型稳定性考察

据文献报道,拉米地坦半琥珀酸盐遇水存在转晶的风险,将制备的拉米地坦片检测晶型,并开展稳定性考察,分别于加速(40 ℃、75% RH)、长期(25 ℃、60% RH)条件考察 6 个月,并检测晶型 2θ 角的变化。

5.6 有关物质检测

色谱柱:Ultimate LP-C_{18} 柱(150 mm × 4.6 mm,3 μm);流动相 A:0.02 mol·L^{-1} 磷酸氢二钾;流动相 B:乙腈;梯度洗脱,洗脱条件见表 2;检测波长:270 nm;流速:1.0 mL·min^{-1};柱温:35 ℃;进样量:15 μL;稀释液:40% 乙腈。

表 2 色谱条件

t/min	A/%	B/%
0	80	20
25	45	55
40	45	55
45	80	20
55	80	20

6 基于体外平行人工膜(parallel artificial membrane permeability assay,PAMPA)原理药物溶出度与膜渗透实验

胃肠道仿生亲脂膜主要由磷脂(如卵磷脂)、胆固醇、聚合物[如聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)、Eudragit®]、胆汁酸盐(如牛磺胆酸钠)等组成,胃肠道仿生膜通过模拟胃肠道上皮的脂质环境和生理条件,能够较好地预测药物在人体内的渗透行为,已成为药物早期开发阶段的重要筛选工具。

6.1 供体室与受体室中的标准曲线

空腹肠模拟液(介质 A):称取 0.420 g NaOH、6.186 g NaCl、3.438 g 无水 NaH_2PO_4 置于 1 000 mL 容量瓶中,加纯化水 900 mL,搅拌,超声溶解。测定 pH 值约为 6.5,用纯化水定容为 1 L。

磷酸盐缓冲液(介质 B):取 4.26 g Na_2HPO_4、2.00 g KCl、4.00 mL 1 mol·L^{-1} NaOH 置于 100 mL 容量瓶中,用纯化水定容至 100 mL,搅拌,超声混匀。测定 pH 值在 10.2 ~ 10.6 之间。

胃模拟液(介质 C):取 1 mol·L^{-1} HCl 30.00 mL、4.50 g NaCl 置于容量瓶中,用纯化水定容至 1 L,搅

拌混匀。测定 pH 值在 1.4 ~ 1.6 之间。

ASB 溶媒(artificial simulated bile):取市售 ASB 溶媒,置于 37 ℃下预热至少 30 min,混匀。ASB 溶媒是一种模拟人体胆汁成分的人工溶媒,常用于药物溶解性测试、渗透性研究和制剂开发中。主要由胆汁盐类、磷脂类、缓冲系统、电解质等成分组成。药物需溶解后才能被吸收,ASB 溶媒常用于 PAMPA(人工膜渗透性实验)模拟肠道吸收。

混合溶液:取 16 mL 介质 C、2 mL 介质 A 和 2 mL 介质 B 混合,搅拌均匀,测定 pH 应为(6.5 ± 0.2),A∶B∶C = 1∶1∶8。

标准曲线的建立:精密称取拉米地坦对照品 65 mg 于 5 mL 容量瓶中,用二甲基亚砜溶解并定容,制得浓度为 13 mg·mL^{-1}的对照品溶液。精密量取上述的对照品储备液适量,分别用 pH 1.6 缓冲液、pH 6.5 缓冲液和 ASB 缓冲液稀释制成每 1 mL 溶液中含拉米地坦对照品 0 ~ 140 μg 的系列溶液,将其作为标准曲线溶液。光纤实时在线采集 330 ~ 350 nm 波长范围内紫外吸收,采用二阶导数法校正并做线性回归。线性相关系数 > 0.999,线性关系良好。

6.2 药物浓度及膜渗透性测定

实验装置如图 2 所示,含有模拟生物介质的溶出杯作为供体室,在溶出杯盖上安装体积约为 30 mL 的小杯作为受体室,小杯中配有搅拌桨,两隔室间以膜面积 3.88 cm^2 仿生膜隔离。供体室、小杯中均插入光纤,以实时监测供体室、受体室中药物的渗透量。

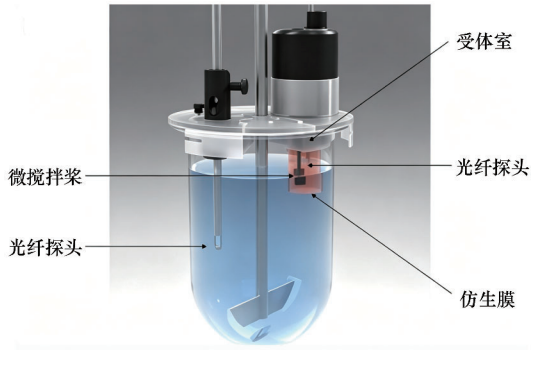


图 2 μFlux 型药物溶解性与渗透性测试仪示意图

于溶出杯中加入 840 mL pH 1.6 介质 C,平衡温度至 37 ℃。另取一溶出杯预热约 700 mL(350 mL 介质 A + 350 mL 介质 B)混合液。

精密量取 ASB 溶媒 12 mL 于受体室中,设置受体室转速为 450 r·min^{-1},供体室转速为 50 r·min^{-1},取自研制剂和参比制剂各一片投入含有介质 C 的供体室中,设置溶出时间 30 min,溶出温度 37 ℃。30 min 之后向溶出杯中加入已预热至 37 ℃的混合液(A∶B = 1∶1) 210 mL,将溶出杯介质 pH 调整至 6.5 左右,设置采集时间为 250 min,波长为 330 ~ 350 nm,测定药物在供体室与受体室中的药物浓度曲线,按下式计算药物的人工膜渗透性(P_e)。

$$P_e = \frac{J}{c_t} = \frac{\mathrm{d}_c}{\mathrm{d}_t} \times \frac{V}{A \times c_t \times 60}$$

其中,P_e:渗透性(cm·s^{-1});J:渗透速率(μg·min^{-1}·cm^{-2});C_t:供体室中药物的初始浓度(μg·mL^{-1});$\frac{\mathrm{d}_c}{\mathrm{d}_t}$:单位时间内受体室中药物浓度的变化速率(μg·mL^{-1}·min^{-1});V:受体室中缓冲液体积(mL);A:人工膜面积(cm^2)。

7 体内药动学实验

7.1 液相色谱-二级质谱条件

色谱条件:色谱柱 YMC Triait C_{18}柱(100 mm × 4.6 mm,5.0 μm);流动相为缓冲溶液(2% 乙酸水和 5 mmol·L^{-1}醋酸铵的水溶液)-乙腈(50∶50);流速 0.650 mL·min^{-1};柱温 40 ℃;进样体积 1 μL。

质谱条件:三重四极杆质谱仪[配有电喷雾离子源(ESI)和 Xcalibur 3.0 工作站];离子化模式:正离子模式;离子源温度:500 ℃;喷雾电压:3 500 V;拉米地坦离子对为 *m/z* 378.4→306.2,碰撞能量:32 eV;拉贝洛尔离子对 *m/z* 329.1→161.9,碰撞能量:27 eV。

7.2 溶液的配制

拉米地坦标准品配制:精密称取拉米地坦对照品适量,用 50% 乙腈水溶解并定量稀释制成拉米地坦浓度约为 1.00 μg·mL^{-1}的储备液。

拉贝洛尔内标溶液配制:精密称取盐酸拉贝洛尔对照品适量,用 50% 乙腈水溶解并定量稀释制成拉贝洛尔浓度约为 500 ng·mL^{-1}的内标液。

7.3 血浆样品处理及方法学研究

取血浆样品 50 μL,内标溶液 50 μL 和乙腈 300 μL 置于一 96 孔板中,涡流混匀 10 min,4 ℃下,经 4 000 r·min^{-1}离心 10 min,取 50 μL 上清液置于另一干净的 96 孔板中,加入 150 μL 乙腈-水(1∶1,*v/v*)涡流混匀。

将空白血浆代替血浆样品,同法操作,得空白血浆供试品。

7.3.1 专属性验证 分别取适量空白血浆、样品按“血浆样品的处理”项下操作，在“**4.1**”项下色谱条件下进行检测，记录色谱图，结果表明空白血浆中的内源性物质不会对样品测定造成干扰。

7.3.2 血浆样品标准曲线 取空白血浆 50 μL，内标溶液 50 μL，加入不同体积的拉米地坦浓度约为 1 μg·mL^{-1}的储备液，并用乙腈稀释至 400 μL，涡流混匀，4 ℃下，经 4 000 r·min^{-1}离心 10 min 配制成浓度为 3.725、6.25、12.5、31.25、62.5 ng·mL^{-1}的线性溶液，依法测定，记录峰面积。以血浆中拉米地坦浓度为横坐标（X），以血浆中拉米地坦的峰面积与内标物质的峰面积之比作为纵坐标（Y），通过线性回归计算，得到回归方程为：$y = 6\,424.9x - 1\,481.6$，$R^2 = 0.999\,9$，见图 3。

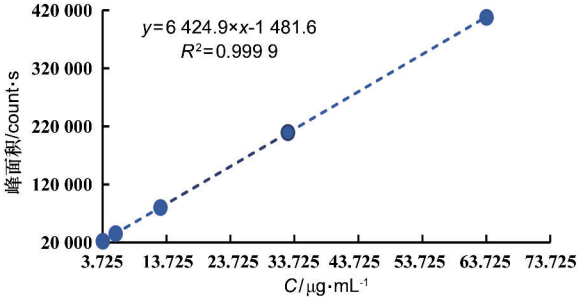


图 3 拉米地坦线性曲线

结果表明拉米地坦在 3.75 ~ 62.5 ng·mL^{-1}范围内线性关系良好，定量下限为 3.75 ng·mL^{-1}。

7.3.3 日间和日内精密度与回收率 采用与标准系列样品相似方法配制拉米地坦低、中、高 3 个浓度（血浆浓度分别为 6.25、12.5、31.25 ng·mL^{-1}）样品，每个浓度平行 6 份样品，按“**7.3**”项下操作后进样检测，计算日内精密度。连续测定 3 批，计算日间精密度。结果表明，定量限下的日内、日间精密度 RSD 均 <20%，在低、中、高 3 个浓度下，拉米地坦的日内、日间精密度 RSD 均 <15%，由此可见该方法精密度良好，在低、中、高 3 个浓度下，拉米地坦的回收率分别为 97.2%、101.4%、100.1%，符合分析检测要求。

7.3.4 样品稳定性实验 分别配制 6.25、12.5、31.25 ng·mL^{-1}这 3 个浓度样品，按照“**7.3**”项下操作，每个浓度平行 6 批，共考察 4 种放置条件：室温下放置 17 h、自动进样器内放置 99 h、5 次冷冻-解冻循环（从 −80 ℃到室温），−80 ℃放置 30 d。进样考察血浆样品的稳定性。结果表明，3 个不同浓度样品中拉米地坦含量的 RSD 值均 <20%，证明含有拉米地坦的血浆样品有良好的稳定性。

7.4 药动学方案及样品处理

采用单剂量双周期交叉给药实验方案，取禁食 12 h 的 Beagle 犬 12 只，随机分为 A、B 两组。A、B 两组分别按 18 mg·kg^{-1}进行参比制剂给药、自研制剂给药。分别在给药后 0、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3、3.5、4、5、6、8、10、12 和 24 h，取 Beagle 犬前肢静脉血 2 mL，立即置于肝素化离心管中，5 000 r·min^{-1}离心 10 min，取血浆至空白离心管中，于 −20 ℃冰箱进行冻存备用。

结 果

1 粒径筛选结果

实验结果见表 3、图 4。

表 3 不同原料药粒径的混合均匀度 %

序号	含量		
	80 μm	100 μm	220 μm
1	99.92	100.52	99.01
2	99.57	100.70	99.60
3	99.98	100.10	99.51
4	99.52	99.70	101.52
5	98.92	99.24	99.83
6	100.00	99.13	99.65
7	99.43	99.99	100.06
8	98.29	98.02	100.73
9	98.35	99.46	98.94
10	98.46	99.40	101.39
11	99.07	99.16	100.41
均值	99.2	99.6	100.10
RSD	0.66	0.75	0.87

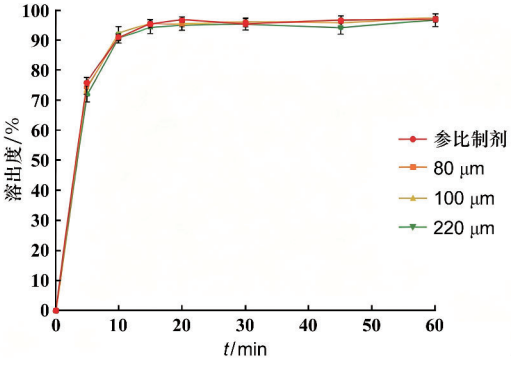


图 4 不同 API 粒径下所制自研制剂与参比制剂溶出行为的对比

由图 4 和表 3 可知 3 条溶出曲线相似度较高，表明随着 API 粒径的增加，自研制剂的溶出行为无

明显变化(15 min 溶出释放均 >85%),混合均匀度的 RSD 均 <5%,暂选择 220 μm 粒径的 API 开展后续的实验。

2 BBD 法实验设计结果

实验结果如表 4、表 5、表 6 所示。

表 4 BBD 设计的因素水平表 %

水平	因素 A	因素 B	因素 C
-1	5.00	3.00	2.00
0	10.00	4.50	3.00
1	15.00	6.00	4.00

表 5 各因素对 15 min 时溶出率的影响

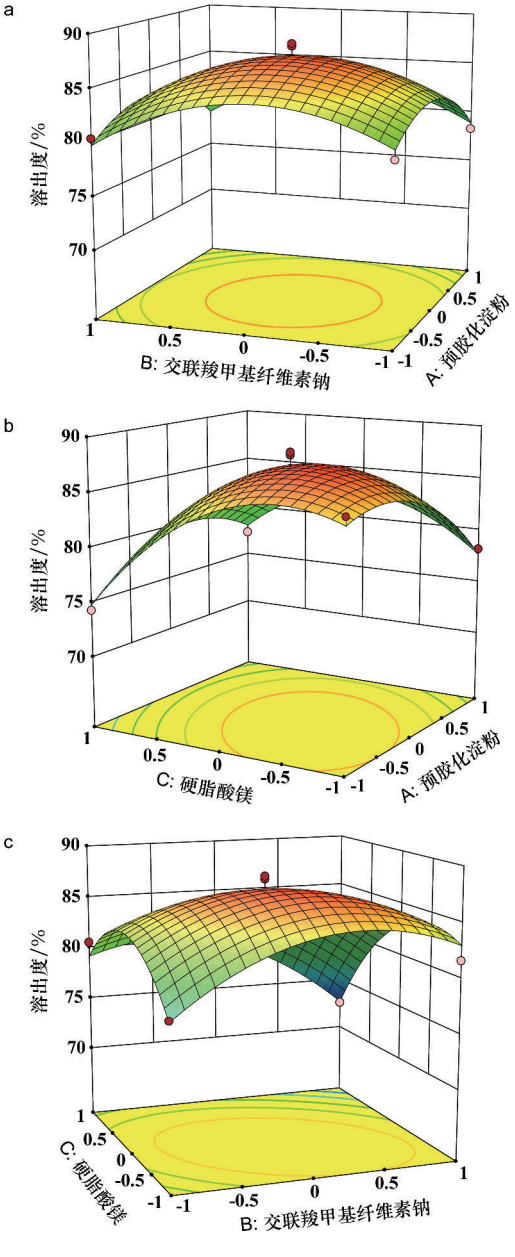
序号	A	B	C	*Y*/%
1	-1	1	0	80.44
2	1	1	0	79.46
3	-1	-1	0	80.32
4	0	1	-1	81.64
5	0	0	0	86.09
6	0	0	0	86.55
7	0	-1	1	80.57
8	-1	0	-1	85.21
9	0	0	0	86.08
10	0	0	0	88.06
11	0	0	0	87.79
12	0	1	1	72.58
13	1	-1	0	78.31
14	1	0	1	77.35
15	1	0	-1	78.19
16	-1	0	1	74.29
17	0	-1	-1	78.34

表 6 BBD 设计回归模型中的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值	显著性
模型	339.13	9	37.68	23.58	0.000 2	显著
A	6.04	1	6.04	3.78	0.093 0	不显著
B	1.46	1	1.46	0.92	0.370 6	不显著
C	43.20	1	43.20	27.04	0.001 3	显著
AB	0.27	1	0.27	0.17	0.695 9	不显著
AC	25.40	1	25.40	15.90	0.005 3	显著
BC	31.87	1	31.87	19.95	0.002 9	显著
A^2	48.73	1	48.73	30.50	0.000 9	显著
B^2	63.37	1	63.37	39.66	0.000 4	显著
C^2	95.08	1	95.08	59.51	0.000 1	显著
残差	11.18	7	1.60			
失拟项	7.60	3	2.53	2.82	0.170 9	不显著
纯误差	3.59	4	0.90			
总离差	350.31	16				

$Y = 86.81 - 0.87A - 0.43B - 2.32C + 0.26AB + 2.52AC - 2.82BC - 3.40A^2 - 3.88B^2 - 4.75C^2$,$R^2 = 0.968\ 1$;括号内外是对 *Y* 拟合模型的方差分析结果

由表 6 可知,硬脂酸镁的用量对溶出度有显著影响,影响程度大小依次为硬脂酸镁 > 预胶化淀粉 > 交联羧甲基纤维素钠。模型的 *P* 值小于 0.05,表征为显著;失拟项值高于 0.05,表征为不显著,说明差异无统计学意义。该模型失拟度不显著,未知因素对试验干扰性小,此模型成立。这表明实验所建立模型的预测结果与实际结果较为相似,可用于自研制剂的处方筛选试验。根据表 5 结果以及回归方程进行双因子效应分析,所得响应面图见图 5。



a:因素 A 和 B 对 *Y* 的影响;b:因素 A 和 C 对 *Y* 的影响;c:因素 B 和 C 对 *Y* 的影响

图 5 15 min 溶出度的三维响应面图

响应曲面较陡说明因素间交互作用显著,由图5可知,交联羧甲基纤维素钠与硬脂酸镁对响应值的交互作用最为显著。BBD优化实验得出的原辅料配比为:预胶化淀粉8.77%、交联羧甲基纤维素钠4.58%、硬脂酸镁2.67%,预测15 min溶出度为95.39%。由图表可知,交联羧甲基纤维素钠和硬脂酸镁主要影响片剂的溶出行为。交联羧甲基纤维素钠依靠毛细管和溶胀作用起到崩解效果,崩解力强,能使片剂迅速崩解,主药快速释放。硬脂酸镁具有疏水性,作为润滑剂,保证主药能够顺利溶出。

3 压片硬度考察结果

压片硬度考察结果见图6。

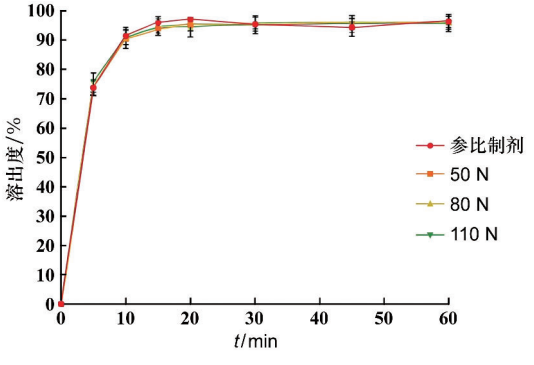


图6 不同压片硬度下所制自研制剂与参比制剂溶出行为的对比

通过溶出曲线可以看出,3种不同硬度下片剂的溶出曲线与参比制剂无显著差异,15 min溶出释放均大于85%,为方便车间生产需要,选择压片硬度80 N作为最佳压片硬度。

4 验证实验结果

参比制剂与自研制剂的溶出数据如表7所示,溶出曲线对比见图7。实验验证结果为15 min时拉米地坦的溶出度为94.2%,与模型预测结论基本一致。

表7 参比制剂与自研制剂在0.1 mol·L^{-1} HCl中的溶出度 %

取样点	参比制剂		自研制剂	
	溶出度	RSD	溶出度	RSD
5 min	75.9	1.2	76.7	0.97
10 min	91.4	1.3	90.9	0.60
15 min	95.5	0.99	94.2	1.3
20 min	96.7	1.2	95.3	1.4
30 min	95.4	0.88	96.8	1.6
45 min	97.6	0.82	96.6	1.5
60 min	96.5	1.1	96.3	1.5

溶出介质:0.1 mol·L^{-1} HCl;方法:浆法;转速:50 r·min^{-1};体积:500 mL

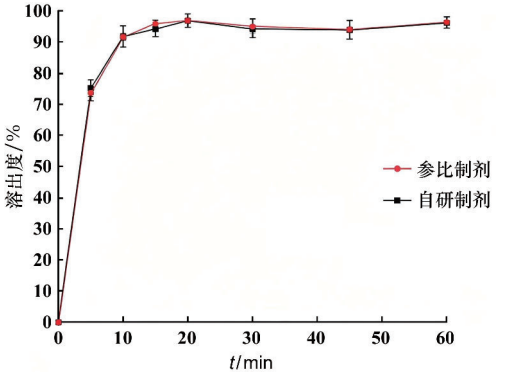


图7 自研制剂与参比制剂溶出行为的对比

5 晶型检测结果

拉米地坦片0 d和稳定性考察6个月晶型结果汇总见图8~图11。

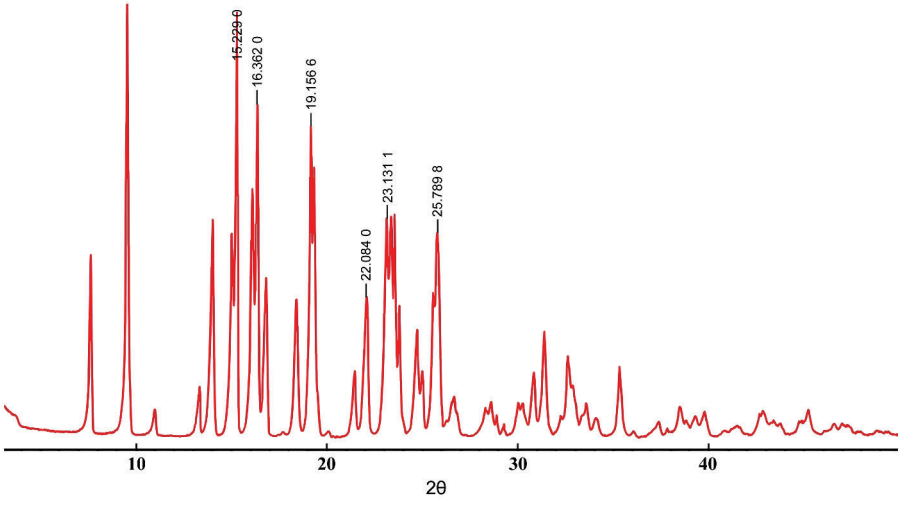


图8 拉米地坦片0 d 2θ角检测结果

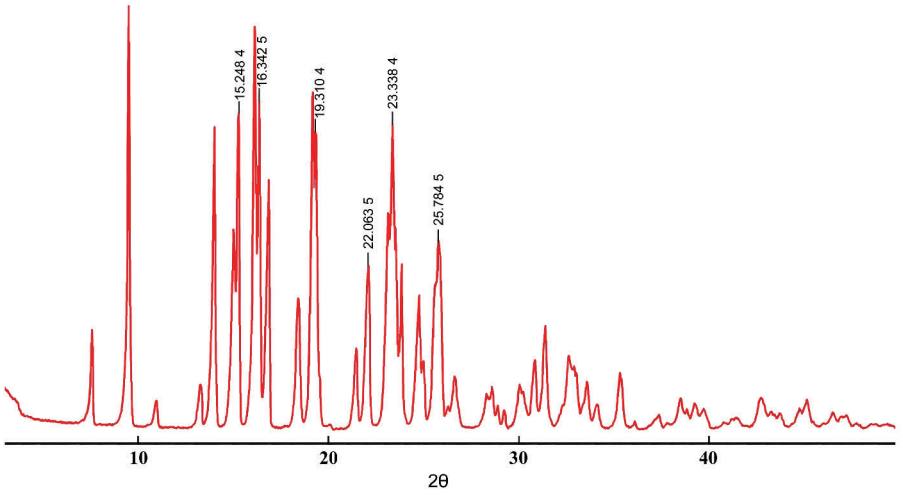


图 9　拉米地坦片加速(40 ℃、75% RH) 6 个月 2θ 角检测结果

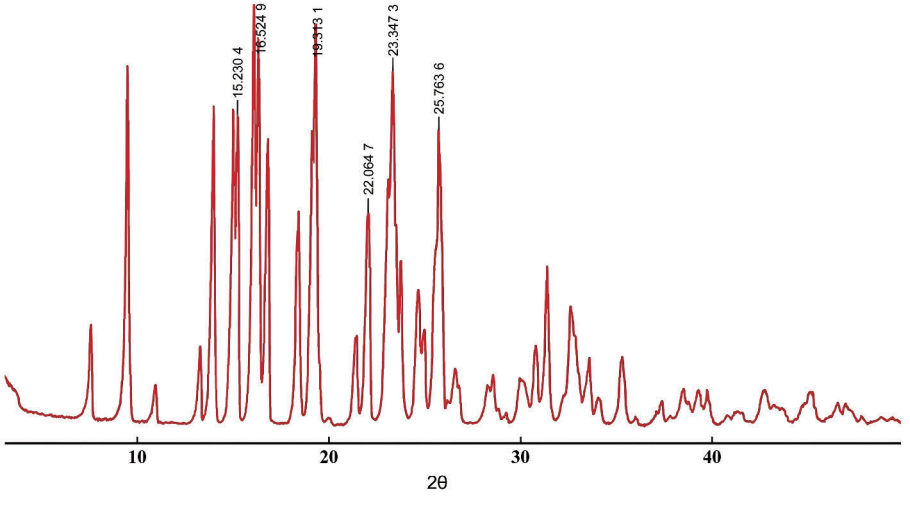


图 10　拉米地坦片长期(25 ℃、60% RH) 6 个月 2θ 角检测结果

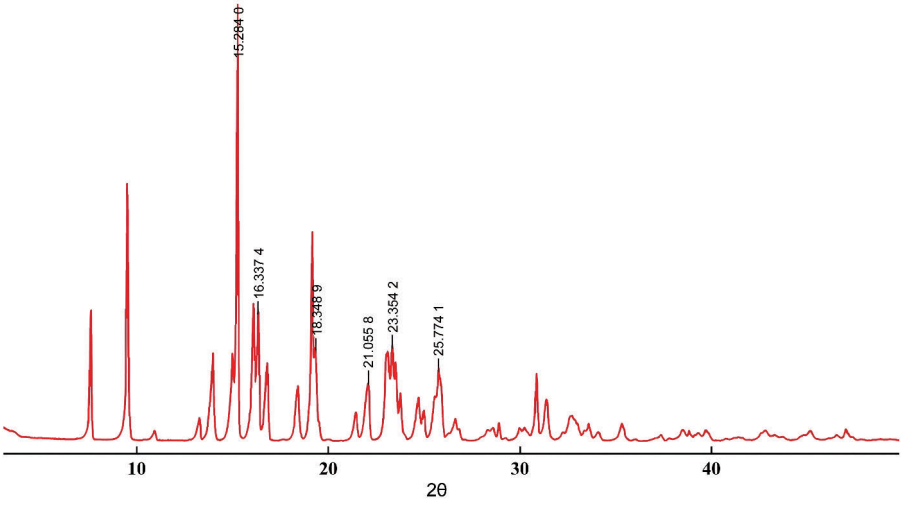


图 11　拉米地坦片长期(30 ℃、75% RH) 6 个月 2θ 角检测结果

拉米地坦片在加速及长期稳定性考察 6 个月内晶型保持不变,晶型稳定。

6 有关物质检测结果

高温试验:取适量样品,裸片放于 60 ℃ 25% RH 恒温恒湿箱中,于 d 10、d 30 对有关物质进行检测,并与 d 0 样品进行对比分析;具体检测结果见表 8。

表 8 拉米地坦片有关物质检测结果(高温试验)

杂质	0 d	10 d	30 d
杂质 A(≤0.20%)	0.04	0.08	未检出
单杂其他单个杂质(≤0.20%)	未检出	0.03	0.02
总杂(≤1.0%)	0.04	0.12	0.01

高湿试验:取适量样品,裸片放于 25 ℃ 90% RH 恒温恒湿箱中,于 d 5、d 10 分别取样检测有关物质,与 d 0 样品进行比较,结果见表 9。

表 9 拉米地坦片有关物质检测结果(高湿试验)

杂质	0 d	5 d	10 d
杂质 A(≤0.20%)	0.04	未检出	0.01
单杂其他单个杂质(≤0.20%)	未检出	0.01	0.01
总杂(≤1.0%)	0.04	0.01	0.02

光照试验:取适量样品,裸片放置于强光照射箱中,于 d 0 取样与 d 0 样品进行比较,结果见表 10。

表 10 拉米地坦片有关物质检测结果(光照试验)

杂质	0 d	10 d
杂质 A(≤0.20%)	0.04	0.02
单杂其他单个杂质(≤0.20%)	未检出	未检出
总杂(≤1.0%)	0.04	0.02

长期试验:取适量样品,第 3 个月、6 个月、9 个月(未到期)、12 个月(未到期)分别取样检测与 d 0 样品进行比较,结果见表 11。

表 11 拉米地坦片有关物质检测结果(长期试验)

杂质	0 d	3 个月	6 个月
杂质 A(≤0.20%)	0.04	未检出	0.01
单杂其他单个杂质(≤0.20%)	未检出	0.01	0.01
总杂(≤1.0%)	0.04	0.01	0.02

加速试验:取适量样品,铝塑板泡罩包装放于 40 ℃ 75% RH 恒温恒湿箱中,于第 1 个月、2 个月、3 个月、6 个月分别取样检测与 d 0 样品进行比较,结果见表 12。

表 12 拉米地坦片有关物质检测结果(加速试验)

杂质	0 d	1 个月	2 个月	3 个月	6 个月
杂质 A(≤0.20%)	0.04	0.05	0.04	0.04	0.039
单杂其他单个杂质(≤0.20%)	未检出	未检出	0.04	0.02	未检出
总杂(≤1.0%)	0.04	0.05	0.08	0.07	0.039

综上所述,在高温,高湿,光照,长期试验,加速试验的条件下有关物质的测定均符合限度规定。

7 基于 PAMPA 原理药物溶出度与膜渗透实验

如图 12 所示,30 min 内自研制剂与参比制剂在介质 C 中溶出,二者溶出曲线接近,溶出行为无明显差异。30 min 后介质转换为 pH 6.5 的混合液,以此模拟人体内血液环境。同时,药物在 30 min 左右开始进行膜渗透,二者的渗透曲线无明显差异。相关渗透数据如表 13 所示,表明自研制剂和参比制剂的渗透性和渗透速率基本一致,t 检验法进行检验,预测生物等效性 90% 置信度为 106.90% ~114.15%,在 80.00% ~125.00% 之间,可初步预测其与参比制剂生物等效,为后续正式生物等效性研究提供支持。

表 13 自研制剂与参比制剂的渗透速率与渗透性数据

样品	$\frac{d_c}{d_t}$	J/μg·min^{-1}·cm^{-2}	Pe/×10^{-4} cm·s^{-1}
自研制剂	0.273 8	0.846 804	1.125
参比制剂	0.273 9	0.847 113	1.117

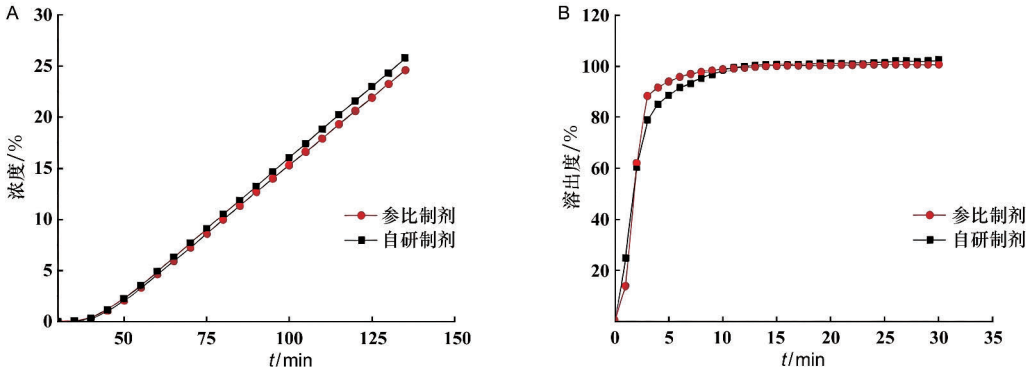


图 12 自研制剂与参比制剂的溶出曲线(A)、膜渗透曲线(B)

8 药动学实验结果

测量和计算“**7.4**”项下,各个时间点所取血浆的药物浓度,绘制平均血药-时间曲线,结果见图 13。采用 DAS 2.0 软件,利用非房室模型进行拟合,所得主要药动学参数见表 14。

表 14 Beagle 犬口服自研制剂和参比制剂后的主要药动学参数 $n=6$

药动学参数	参比制剂			自研制剂		
	Mean	SD	RSD/%	Mean	SD	RSD/%
$AUC_{0\to t}$/μg·h·L^{-1}	1 120	13.98	1.245	1 153	12.77	1.107
$AUC_{0\to\infty}$/μg·h·L^{-1}	1 187	12.78	1.076	1 169	10.55	0.902
$MRT_{0\to t}$/h	5.74	0.30	5.66	5.32	0.27	5.07
$MRT_{0\to\infty}$/h	7.61	0.45	5.91	6.60	0.39	5.90
$t_{1/2z}$/h	6.33	0.37	5.84	5.84	0.32	5.47
T_{max}/h	3	0.12	4	3	0.09	3
CLz/F/L·h^{-1}	83.7	4.73	5.65	84.2	4.75	5.64
Vz/F/L	740	9.72	11.61	736	8.95	10.62
C_{max}/ug·L^{-1}	188	5.21	2.77	189	5.34	2.82

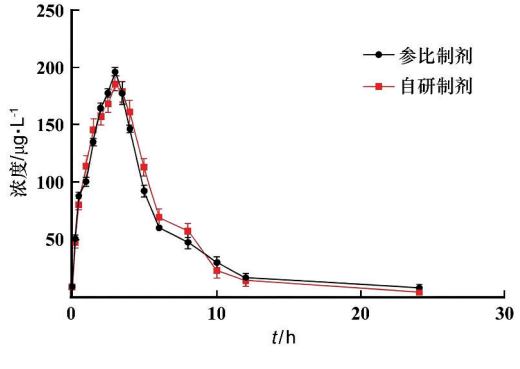


图 13 Beagle 犬分别给予自研制剂和参比制剂的平均血药-时间曲线($n=6$)

结果显示,自研制剂与参比制剂在 Beagle 犬内的 T_{max} 和 C_{max} 无明显差异。将原研制剂和自研制剂的 $AUC_{0\to t}$、$AUC_{0\to\infty}$、C_{max} 经对数转换后进行方差分析,结果表明 2 种片剂上述参数间的差异均无统计学意义($P>0.05$)。经 t 检验及(1-2a)% 置信区间(CI)法计算得自研制剂 $AUC_{0\to t}$、$AUC_{0\to\infty}$、C_{max} 的 90% 置信区间分别为参比制剂相应参数的 82.2% ~102.1%、85.7% ~102.6%、86.2% ~104.5%,均在 80% ~125% 范围内。经 Wilcoxon 检验比较 2 种制剂的 T_{max} 可知两者间的差异无统计学意义($P>0.05$)。经计算,自研制剂的口服相对生物利用度为 93.32%,自研制剂组 Beagle 犬体内拉米地坦的半衰期与参比制剂组相似,自研制剂与参比制剂体内生物等效,为后续正式开展人体生物等效性提供支持。

讨 论

本研究采用湿法制粒,所制得的混粉外形美观,流动性好,耐磨性强,压缩成型性好。自研制剂的外

观、重量、颜色等物理性质均与 Reyow® 相似。拉米地坦属于 BCS Ⅰ类,但是在水介质中 60 min 以内仅溶出释放 75.9%,该实验通过筛选辅料组成及型号,筛选制剂制备工艺,满足自研制剂与参比制剂体外溶出相似的要求。实验表明 API 的原料药粒径与压片硬度对主药的溶出并无明显影响,为节省粉碎原料药成本,选择 220 μm 粒径原料药开展后续实验[9]。本研究使用的拉米地坦原料药晶型稳定,片剂晶型稳定性考察结果良好。本研究测得的样品在高温、高湿、光照、长期试验、加速试验的条件下有关物质的测定均符合限度规定。本实验采取 BBD 实验设计法筛选出辅料的最优配比:预胶化淀粉 8.77%、交联羧甲基纤维素钠 4.58%、硬脂酸镁 2.67%,预测结果为 15 min 时拉米地坦的溶出度为 95.39%,进行验证实验得出 15 min 时拉米地坦的溶出度为 94.2%,溶出行为与参比制剂基本一致。

PAMPA 方法提供了一种模拟生物膜通透性的效果良好、一致性高的方式,往往能与体内实验结果获得比较好的关联性。由于 PAMPA 使用的是人工膜,不存在个体之间的差异,因此可以减少偶然因素的影响,提高实验重复性。本文通过 PAMPA 平行人工膜模拟药物的肠道渗透性,比较参比制剂与自研制剂的溶出曲线及膜渗透曲线,发现二者基本保持一致,由此可初步预测自研制剂与参比制剂生物等效,并通过 Beagle 犬体内药动学实验加强上述结论。综上所述,自研制剂与参比制剂质量一致,体内外生物初步等效,开发的制备工艺切实可行,可为拉米地坦片后续仿制药的开发工作提供基础数据支持。

[参 考 文 献]

[1] 米荷音, 李悦, 郝咏刚, 等. 偏头痛与脑小血管病 MRI 总负荷评分的相关性研究[J]. 放射学实践, 2019, 34(4): 386 - 391.

[2] 王永丽. 偏头痛患者的发病特点及中医体质特征的初步研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.

[3] 陆佳洁, 赵红如. 偏头痛疾病负担研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2022, 22(2): 69 - 72.

[4] 陈本川. 治疗急性偏头痛新药: 半琥珀酸拉米地坦(lasmiditan hemisuccinate)[J]. 医药导报, 2020, 39(6): 887 - 894.

[5] 杨君义. 选择性 5-HT1F 受体激动剂拉米地坦[J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40(1): 22 - 24.

[6] MERINO D, GÉRARD AO, VAN OBBERGHEN EK, *et al*. The neuropsychiatric safety profile of lasmiditan: a comparative disproportionality analysis with triptans[J]. *Neurotherapeutics*, 2023, 20(5): 1305 - 1315.

[7] 黄运安, 郭艳红, 杨秀立. Box-Behnken 响应面法优化地参咀嚼片辅料配比工艺[J]. 现代食品, 2024, 30(3): 78 - 83, 88.

[8] 石彦勃, 刘国薇. 采用预胶化淀粉消除传统辅料对片剂的不良影响[J]. 辽宁药物与临床, 2000, 3(1): 26 - 27.

[9] 张晓娟, 宋如顺, 张双双, 等. 质量源于设计在缬沙坦胶囊处方开发中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(11): 1519 - 1525.

编辑:毕晓帆/接受日期:2026 - 02 - 13