

盐酸强力霉素缓释微丸的制备及药物 动力学研究

邱怡虹* 屠锡德 毛风斐

(南京药学院药剂教研室)

提要 本文采用膜控法制备盐酸强力霉素缓释微丸。实验表明,本品的体外溶出符合零级动力学过程($K_0=20.5$ mg/h);贮存期为两年;胃刺激性明显低于普通片剂($p<0.001$);体内动力学过程符合表观零级吸收与一级消除的单室模型。体内数据经NONLIN 计算机程序处理,求得各项参数如下: $K_a=58.08$ mg/h, $K=0.032$ h⁻¹, $V_d=82.21$ l, $t_{max}=3.94$ h, $c_{max}=2.30$ μg/ml。按强力霉素的常规用药方案给药,本品与市售普通片生物等效。本品的体内外数据具有显著的相关性($p<0.001$)。

关键词 强力霉素;缓释微丸;刺激性;药物动力学;生物等效性

强力霉素是四环素族半合成抗生素,主要用作抗革兰氏阳性和阴性菌感染⁽¹⁾,不仅抗菌作用强,而且对四环素等耐药的金黄色葡萄球菌有效,又是四环素类抗生素中治疗伴有肾功能损害病人的首选药物。因此,国内外应用较广。目前,国内临床应用的口服剂型主要是其盐酸盐片剂。根据临床调研结果和国内外有关文献报道^(1~2),约有20%的病人服用片剂或胶囊剂后出现恶心、呕吐、上腹不适等症状,偶而发生食道溃疡,空腹给药时尤甚。为了减小以至消除强力霉素的这种副作用,充分发挥其应有的作用,本文针对强力霉素引起刺激的原因,研制了盐酸强力霉素缓释微丸,以期在不改变用药剂量的前提下,通过增大制剂在胃肠道内的释药面积,减小药物释放速度达到预期目的。

材 料 与 方 法

一、主要原材料及设备

盐酸强力霉素(常州制药厂);盐酸强力霉素缓释微丸(自制);强力霉素片(金陵制药厂);岛津 UV-300 型紫外分光光度仪。80 型药物释放度测定仪(常州市武进精密仪器厂);日立 MPF-4 型荧光分光光度计。

二、实验方法

(一) 缓释微丸的制备

将盐酸强力霉素与适当比例的淀粉、糊精等充分混匀,用一定浓度的乙醇于包衣锅内制成微丸丸芯,取出,40~50°C干燥。取制得的干燥丸芯,除去细粉后称重,置于包衣锅内转动,吹热风预热至30~40°C,用喷具将包衣溶液(丙烯酸树脂、PEG 4000、苯二甲酸二乙酯、滑石粉)喷在流动丸芯的上部,吹热风干燥,再喷雾、干燥,如此反复直至包衣层达到一定重量时取出,于室温放置过夜。

(二) 强力霉素的体内外定量方法

本文于1985年7月8日收到

* 1985 届硕士研究生

1. 体外测定的标准曲线 根据强力霉素和辅料的紫外吸收曲线,强力霉素在人工胃液和肠液中的最大吸收波长分别为 268 nm 和 272 nm, 辅料在这两个波长处吸收值为零。

分别配制浓度为每 ml 含 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0, 16.0, 20.0 μg 强力霉素的人工胃液和肠液溶液, 测定吸收值 A, 并绘制标准曲线。

2. 制剂的含量分析 据报道⁽³⁾, 用醋酸铜比色法测定强力霉素的含量, 结果与微生物法一致。强力霉素及辅料经该法处理后的吸收曲线表明: 药物的最大吸收峰位于 450 nm 处, 辅料在 420~600 nm 范围内的吸收值等于零。

取相当于强力霉素 100 mg 的缓释微丸 10 份, 研细, 精确称取约 1 份重量的细粉, 与标准溶液平行操作, 测定吸收值, 求出含量。

3. 体内测定的标准曲线 强力霉素标准溶液按 van den Bogert 与 Kroon⁽⁴⁾ 的改良荧光法进行光谱扫描, 结果表明: 激发光谱和发射光谱的峰波长分别为 Ex 384 nm 及 Em 522 nm (狭缝 10 nm/10 nm)。

分别配制浓度为 0.4, 0.8, 1.6, 2.4, 4.0, 5.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的强力霉素标准溶液, 与血清或重蒸馏水混合, 经分离提取, 测定荧光强度 F, 并绘制标准曲线。

(三) 体外药物溶出速率测定(转篮法)

1. 缓释微丸 取释放介质 250 ml, 预热至 $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 调节转篮转速到 50 ± 1 rpm。按 pH 梯度⁽⁵⁾, 每隔 0.5 h 更换一次介质, 直至药物释放完毕为止。取不同时刻取出的释放介质 5 ml, 稀释 5 倍, 测定吸收值, 按标准曲线计算释药量。

2. 普通片剂 取片剂一片, 以人工胃液 500 ml 为介质, 每隔 6 min 取样 3 ml, 滤过, 吸取滤液 2 ml, 稀释 12.5 倍, 测定吸收值, 按标准曲线计算溶出百分数。

(四) 稳定性加速试验

本研究选择美国 FDA 提出的经验方法⁽⁶⁾ (40°C 和相对湿度 78%) 观察缓释微丸的稳定性。

(五) 急性胃刺激性试验

29 名志愿受试者, 无消化道病史, 随机分成三组, 单盲、空腹、单剂量交叉口服相当于 200 mg 强力霉素的普通片剂、缓释微丸和空白微丸(均装于硬胶囊内), 1.5~2.0 h 内不得进食, 记录胃刺激反应, 每次给药间歇时间为一周。

(六) 制剂的体内血药浓度测定

8 名男性健康受试者, 随机编成两组, 每组 4 人, 抽取空白血样后统一进餐, 各组人员单剂量交叉服用相当于 200 mg 强力霉素的缓释微丸和普通片, 于给药后 0.5, 1.0, 2.5, 3.5, 5.0, 7.5, 13.0, 24.0, 36.0 h 静脉采血各 2 ml, 分取血清, 用荧光法测定荧光强度, 每次平行样本二份, 取其平均值, 按随行回归方程计算含量。

结果与讨论

一、缓释微丸的制备

本文研制的缓释微丸为黄色圆球形颗粒。一次成品率(粒径: 400~1200 μm) 约为 85~95%, 表面平滑光亮, 坚韧度较高。

在研制过程中, 我们发现: (1) 丸芯的圆整性与赋形剂及粘合剂的用量、物料的总量、环境的温度和湿度等有关; (2) 药物的溶出速率主要取决于 PEG 4000 的用量及包衣层的厚度; (3) 在缺乏良好排风设施的包衣锅内喷包薄膜衣时, 为了防止微丸凝集, 可以采用间歇式包衣, 并注意控制喷雾速度和雾滴细度。

二、体内外测定方法

1. 体外测定标准曲线 强力霉素在不同介质中的标准曲线回归方程为：人工胃液， $C(\mu\text{g/ml})=21.9298 A-0.0614(r=0.9998, n=3)$ ；人工肠液， $C(\mu\text{g/ml})=27.3973 A-0.2274(r=0.9999, n=3)$ 。

2. 体内测定

(1) 标准曲线 以浓度为自变量，荧光强度为因变量作线性回归，得回归方程如下；血清标准系列， $C(\mu\text{g/ml})=0.0856 F+0.3314(r=0.9993, n=5)$ ；标准系列， $C(\mu\text{g/ml})=0.0524 F+0.3643(r=0.9992, n=5)$ 。

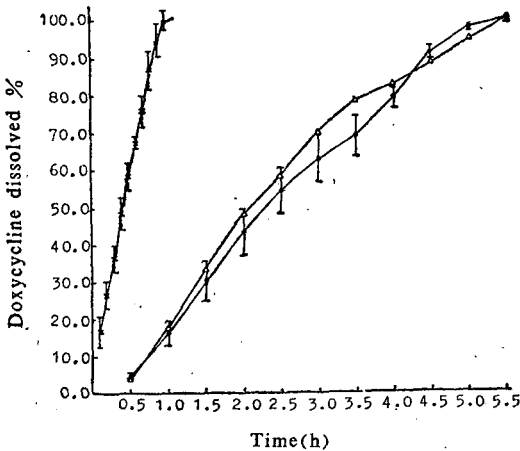


Fig 1. Percent doxycycline dissolved *in vitro* vs. time from 100 mg sustained-release pellets (SRDP) (\bullet), conventional tablet (CCT) (\times) ($n=6$) or SRDP following accelerated testing (Δ)

(2) 回收率和精密度 在 $0.4\sim 5.6 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内用本法测定血清中强力霉素的平均相对回收率为 $100.99\% (\pm 6.73, CV=6.48\%, n=24)$ ，平均绝对回收率为 $74.59\% (\pm 9.97, CV=12.35\%, n=24)$ ；测得平均数的变异系数为 $2.72\sim 10.64\% (n=24)$ 。考虑到温度、试剂浓度和批号等因素可能影响测得结果，本文在分析体内血药浓度时均随行标准曲线。

三、体外药物溶出速率

两种强力霉素制剂的体外累计溶出曲线见图 1，药物的体外溶出基本符合零级动力学过程。

以时间为自变量，制剂的待容量为因变量，作最小二乘线性回归，结果见表 1。

Tab 1. Zero order release constants (K^0) *in vitro* for SRDP and CCT

Product	n	Regression line	r	$K^0(\text{mg/h})$	CV(%)
SRDP	6	$y = -20.4988 t + 101.7427$	-0.9953	20.5	2.91
CCT	6	$y = -95.0524 t + 91.6943$	-0.9972	95.0	10.08

用梯形法求出累计溶出曲线与溶出 100% 之平台之间的面积 $ABC_{in vitro}$ (area between the curve and plateau)，按式 $T_{in vitro} = \frac{ABC_{in vitro}}{M}$ (M 是药物总量) 求出体外平均溶解时间如下：缓释微丸， $T_{in vitro} = 2.52 \text{ h} (CV = 6.98\%, n = 6)$ ；普通片， $T_{in vitro} = 0.45 \text{ h} (CV = 4.67\%, n = 6)$ 。

四、稳定性加速试验

样品在加速试验条件下存放三个月后的体外药物溶出曲线见图 1。可见，缓释微丸的控释作用基本不变 ($K^0 = 20.2 \text{ mg/h}$)；含量分析结果指出，含药量平均下降 $4.16\% < 10.0\%$ ($n = 4$)。据此，初步确定缓释微丸的贮存期为两年，与普通片一致。

五、急性胃刺激性试验

根据受试者对供试制剂的胃刺激反应，刺激程度分成四级：I 级呕吐，II 级恶心或上腹

严重不适, III 级胃轻度不适, IV 级正常。

试验结果表明, 29 名受试者服用普通片后, 有 21 人发生 I~III 级的刺激反应; 缓释微丸与安慰剂给药后分别有 4 人出现 II~III 级反应。显著性检验说明, 缓释微丸与普通片的副反应发生率有非常显著差异 ($x^2 = 17.998, p < 0.001$), 与安慰剂没有显著差异 ($x^2 = 0.145, p < 0.50$)

六、体内血药浓度测定

将 8 名受试者服用两种制剂后在各取样时刻的血药浓度均值对时间作图(图 2), 由图可见, 缓释微丸和普通片单剂量口服, 最低抑菌浓度(MIC=1.0 $\mu\text{g/ml}$)的维持时间相近(分别约为 27.5 h 和 25.5 h)。前者起效时间比后者滞后 1 小时左右。

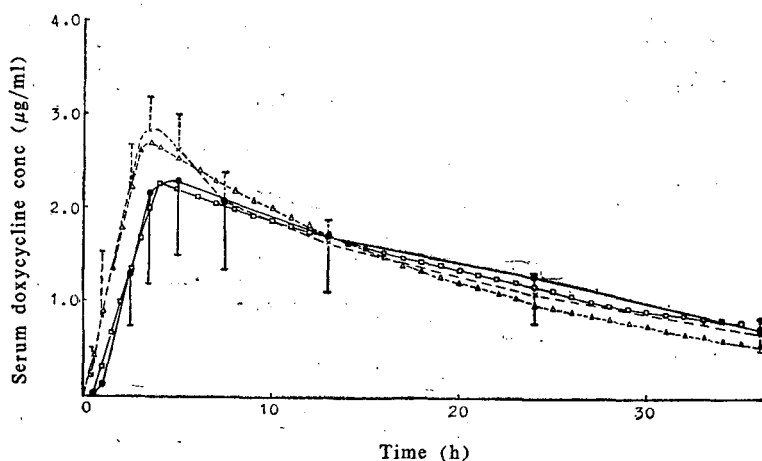


Fig 2. Mean serum doxycycline concentrations vs. time curves from eight normal volunteers who ingested a 200 mg dose as SRDP (\bullet) or 100 mg CCT (\times) in comparison with the curves generated from the data observed using a NONLIN computer program (SRDP: \diamond CCT: \triangle)

七、制剂的体内药物动力学

1. 隔室模型的辨识 鉴于缓释制剂的体内模型特征不易根据血药浓度—时间曲线辨识, 本文选用普通片的体内数据, 假设体内为一级吸收, 在 TRS-80 型微型计算机上用 Gauss—Newton—Damping 迭代法为基础的非线性最小二乘法回归程序“NLFTZHU/BAS:x”分别进行单室和双室模型嵌合, 再根据最小 Akaike 信息判据(AIC)估计原则挑选合适的药物动力学模型⁽⁷⁾, 嵌合结果如下: (1) 单室模型, $C(t) = 3.362(e^{-0.05t} - e^{-0.0662t})$, AIC = -4.12542。 (2) 双室模型, $C(t) = 33.257 e^{-0.371t} - 35.607 e^{-0.407t} + 2.349 e^{-0.030t}$, AIC = -2.52676。可见, 单室模型的 AIC 较小, 所以本实验结果取单室模型为宜。

2. 体内吸收特征 由于固体制剂中药物的胃肠道吸收包含几个不同的速率过程。吸收速率取决于某一主速过程。所以, 必须首先根据体内数据确定口服药物进入全身循环的动力学特征。对于单室模型药物, 可以应用 Wagner—Nelson 法考察体内吸收动力学过程⁽⁸⁾。

由缓释微丸和普通片的体内血药浓度测定值及其部分 Lagrange 二次插值, 按式

$$f = \frac{C_0 - K \int_0^t c dt}{K \int_0^\infty c dt}$$

计算时间从 0 到 5 h 的体内药物吸收分数 f_0 , 以待吸收百分率 $[100(1-f)]$ 对

时间作图(图 3)得到两条直线, 说明两种制剂的吸收过程都可以用表观零级过程表征。因此,

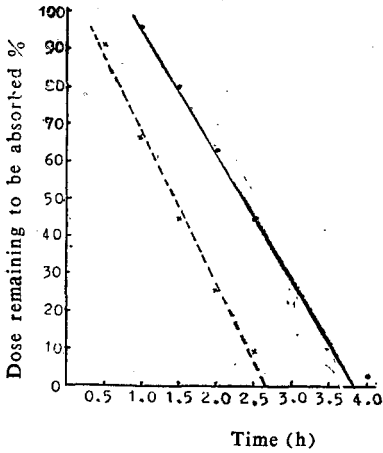


Fig 3. Mean percentages of a 200 mg dose of doxycycline remaining to be absorbed versus time in eight normal volunteers who ingested SRDP (•) or CCT (×)

异。

Tab 2. The residual sum of squares(SS), Akaike's information criterion (AIC) and variance(V) for fitting of monoexponential equations to mean C×t data for doxycycline

Product	SS	AIC	V
CCT	0.137072	-21.8215	0.0124611
SRDP	0.180871	-16.2296	0.0180871

Tab 3. Pharmacokinetic parameter estimates for doxycycline(200mg) in two dosage forms (one-compartment)

Products	n	K _a (mg/h)	K (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	V _d (L)	AUC (h·μg/ml)	C _{max} (μg/ml)	t _{max} (h)
CCT	8	63.30 ^a	0.047	14.7	67.00	63.21	2.77	3.16
		64.91 ^b	0.045	15.4	69.35	64.86	2.72	3.11
		±6.85	±0.005		±7.46	±10.67	±0.31	±0.31
SRDP	8	58.08	0.032	21.7	82.21	76.26	2.30	3.94
		52.70	0.034	20.4	80.05	81.27	2.37	4.15
		±12.65	±0.011		±20.99	±43.39	±0.82	±0.63
Statistics ^c		+ ^d	-		-	-	-	+

a. Derived from mean serum concentration—time curve. d. Mean value(±SD)of individual parameters.
c. t test for treatment pairs. b. Tested only at the 0.05 level of confidence; (+):P<0.05, (-):P>0.05

制剂中药物的溶出可能是药物吸收的主速过程。

3. 体内动态的药物动力学分析 根据 t 时刻符合表观零级吸收与一级消除模型的体内药物浓度基本公式 $C = \frac{k_a(e^{kT}-1)}{VK} e^{-kT}$, 计算两种制剂的动力学参数。体内实测个体血药浓度及其均值—时间数据扣除滞后时间, 在 TRS-80 型数字电子计算机上, 应用非线性最小二乘法模型嵌合的迭代程序“NLFOOO/BAS:X”按上式算得结果见表 2、表 3 及图 2。

根据表 2、表 3, 模型嵌合的 SS, AIC 和 V 值都很小。这说明拟合精度较高, 模拟血药浓度与实测值基本相符。两种制剂的药物动力学参数之间, 除 K_a 和 t_{max} 之外, 均无显著性差

4. 非房室模型分析 由血药浓度均值—时间实测数据, 结合使用梯形法和对数梯形法求出 AUC_∞ 和 AUMC_∞, 进而计算制剂的体内平均驻留时间: MRT_{微丸} = 22.20 h, MRT_片 = 20.29 h₀ 由 MRT 计算体内平均溶解时间之差值 ΔMDT = MAT_{微丸} - MAT_片 = MRT_{微丸}

-MRT_片=1.91 h。结果与体外平均溶解时间之差 (2.07 h) 相近, 提示制剂的体内外药物溶出具有相关关系, 亦即两种制剂体内过程的差异主要表现在药物的溶出。

八、缓释微丸与普通片的生物等效性

Vallner 等人指出⁽⁹⁾, 缓释剂型与普通制剂的生物等效性可以通过计算 ARE, CRE 和 E 进行评价。其中 ARE 和 CRE 分别反映了缓释剂型相对于普通制剂的吸收速率和程度; E 则表示缓释制剂的总有效性, 它是 ARE 和 CRE 的加权平均。通常认为, 与普通剂型比较, 缓释制剂的有效性至少应是 75~80%, 鉴于普通片的临床疗效已经肯定, 本文以其作为标准, 评价缓释微丸相对于普通片的生物等效性。

根据血药浓度的测定结果, 用梯形法估算曲线下面积, 得: $ARE = \frac{T_{片}}{T_{微丸}} = \frac{1.2}{2.1} = 0.571$,

$CRE = \frac{AUC_{微丸}^{AC}}{AUC_{片}^{AC}} = \frac{16.79}{17.22} = 0.975$, $E = a(CRE) + b(ARE)$, 其中, T 是血药浓度到达 MIC

的时间, AUC^{AC} 代表位于治疗窗内的血药浓度曲线下面积。a 和 b 为权重系数 (a+b=1)。

1. 单剂量给药时, 若以同等重要性权衡吸收程度和吸收速率, 则 a=b=0.5, E=0.774。

2. 临床应用时多为连续给药, 血药浓度达到稳态时, 平均血药浓度直接取决于药物的吸收量, 而与吸收速率无关。因而, ARE 的作用主要在第一剂给药时表现出来, 可以设 a=1.0, b=0.0, 则 E=0.975。

在上述两种情况下, E 均大于 0.75, 因此这两种剂型基本上是生物等效的。

九、缓释微丸体内外数据的相关性

对于药物溶出是吸收主速过程的制剂, 有可能从体外药物的溶出速率探求其与体内血药浓度之间的相关关系。

1. 分别以 1~4 h 内的体外累计溶出百分数 x 和扣除滞后时间的体内吸收分数 f 为自变量和因变量, 用最小二乘法线性回归算得体内外相关式: $f = 0.0313x - 0.0110$ (r=0.9834)。自由度=5, p=0.001 时, $|r|_{1-p} = 0.951$, $r > |r|_{1-p}$, 可以判断两者之间相关性非常显著。

2. 据报道⁽¹⁰⁾, 若制剂的体内外药物溶出具有相关性, 则通过体外溶出试验, 运用基于线性系统论的数值卷积计算, 能够预测药剂口服后的体内血药浓度。本文根据普通片的药动力学参数, 以静注 200 mg 强力霉素理论模拟值作为权重函数, 按式 $R_n = (I_1W_n + I_2W_{n-1})$

Tab 4. Values of the weighting, input, and response functions, and data points actually observed in the pharmacokinetic study on SRDP (time steps $\Delta t=0.5$)

Time (h)	Input I (t)	Weighting W (t)	Response R (t)	Observed C (t)
0.5	9.190	0.0146	0.13	0.11
1.0	22.724	0.0142	0.46	0.49
1.5	27.726	0.0139	0.86	0.89
2.0	26.500	0.0136	1.22	1.30
2.5	22.270	0.0132	1.52	1.81
3.0	16.754	0.0130	1.73	2.16
3.5	12.750	0.0126	1.87	2.22
4.0	19.696	0.0124	2.12	2.27
4.5	23.846	0.0121	2.41	2.29

+...I_nW₁) T 计算缓释微丸口服之后的血药浓度, 结果列于表 4。可见, 血药浓度计算值与实测值基本相符。

结 论

1. 本文研制的盐酸强力霉素缓释微丸基本上克服了主药对胃肠道的刺激作用。
2. 缓释微丸改变了强力霉素的吸收速率, 而不影响吸收程度和其它动力学过程。按常规用药方案给药仍然能获得与普通片相当的疗效。
3. 体内外数据的相关性计算结果表明, 体外溶出试验可以作为缓释微丸处方筛选及成品质量控制的依据。
4. 缓释微丸胶囊剂是强力霉素合理的口服新剂型, 可以代替目前临床应用的普通片剂。

致谢 本文承蒙朱家璧老师提出宝贵意见并提供 NONLIN 计算机程序

参 考 文 献

1. 陈新谦. 新编药理学. 第11版. 北京: 人民卫生出版社, 1982:70.
2. Reynolds JEF. *Martindale the Extra Pharmacopoeia*. 28th ed. London: The Pharmaceutical Press, 1982:1155.
3. Rao GR, et al. Colorimetric determination of doxycycline hydrochloride. *East Pharm* 1981; 24:121.
4. Van den Bogert C and Kroon AM. Fluorometric determination of tetracyclines in small blood and tissue samples. *J Pharm Sci* 1981; 70:186.
5. Steinbuch Z and Möller H. Investigations into the accuracy of dosage and release of active drug from sustained release preparations of isosorbide dinitrate. *Int J Pharm* 1978; 1:197.
6. Faldmann SS. Consistency in stability testing. *J Pharm Sci* 1979; 68:1.
7. Yamaoka K, et al. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J Pharmacokin Biopharm* 1978; 6:165.
8. Gibaldi M and Perrier D. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1982:149~153.
9. Vallner JJ, et al. A proposed general protocol for testing bioequivalence of controlled-release drug products. *Int J Pharm* 1983; 16:47.
10. Langenbacher F. Numerical convolution/deconvolution as a tool for correlating *in vitro* with *in vivo* drug availability. *Pharm Ind* 1982; 44:1166.

DEVELOPMENT AND PHARMACOKINETIC STUDY OF SUSTAINED-RELEASE DOXYCYCLINE HYDROCHLORIDE PELLETS

QIU Yi-Hong,* TU Xi-De and MAO Feng-Fei

(Department of Pharmaceutics, Nanjing College of Pharmacy, Nanjing)

ABSTRACT Encapsulated sustained-release doxycycline hydrochloride pellets (SRDP) were developed. SRDP was designed so that drug release was through a diffusion rate controlling membrane constituting the pellet coat and thus could be used to reduce the gastrointestinal injuries in human induced by doxycycline (DX). SRDP showed drug liberation pattern which was best described by zero-order kinetic equation with release constant being 20.5 mg/h; A tentative two-year expiration date on SRDP was established; The new dosage form was shown to be significantly less irritative to gastric mucosa than a commercially available conventional tablet (CCT,) ($p < 0.001$), and no more irritating than a placebo. The blood concentration-time course was demonstrated to fit a classical one-compartment model with apparent zero order absorption and first order elimination. The parameters were calculated based on the individual and average serum level data using a NONLIN computer program with mean values of k_a , k , V_d , t_{max} , c_{max} being 58.08 mg/h, 0.032 h^{-1} , 82.21 L, 3.94 h and $2.30 \mu\text{g/ml}$, respectively. Information derived from observed data *in vivo* and the pharmacokinetic analysis suggested that during the usual therapeutic dosage regimens of DX, SRDP was bioequivalent to CCT. Moreover, *in vivo* drug availability well correlated with *in vitro* values.

Key words Doxycycline; Sustained-release pellets; Irritation; Pharmacokinetics; Bioequivalence

*Graduate student