

# 长春胺缓释微丸在 Beagle 犬体内的药动学特征

相琳<sup>1\*</sup>, 曾佳<sup>2</sup>, 周游<sup>1</sup>, 黄婷<sup>2</sup>, 魏莉<sup>3</sup>

(1. 大连大学, 辽宁 大连 116622; 2. 上海市计划生育科学研究所, 国家人口和计划生育委员会  
计划生育药具重点实验室, 上海生殖健康药具工程技术研究中心, 上海 200032;  
3. 上海中医药大学, 上海 201203)

**[摘要]** 目的: 制备长春胺缓释微丸并考察其在 Beagle 犬体内的药动学特征, 为非 pH 依赖性释放的长春胺缓释制剂研发提供参考。方法: 制备酒石酸丸芯, 采用流化床混悬液上药法制备长春胺缓释微丸。Beagle 犬随机分成 2 组, 单剂量双周期交叉口服长春胺缓释微丸与普通片, 采用 HPLC 测定血药浓度, 流动相 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-乙腈 (70:30, 用磷酸调节 pH 2.3), 检测波长 268 nm, 比较各制剂的药动学参数。结果: 长春胺缓释微丸与普通片在 Beagle 犬血浆中 C<sub>max</sub> 分别为 (1 147.40 ± 554.50), (1 506.10 ± 327.44) μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> 分别为 (2.38 ± 0.25), (1.63 ± 0.25) h; MRT 分别为 (6.75 ± 2.44), (3.19 ± 0.73) h; AUC<sub>0-t</sub> 分别为 (4 766.76 ± 1 740.26), (3 906.81 ± 686.53) μg·h·L<sup>-1</sup>。长春胺缓释微丸较普通片的相对生物利用度 122%, 体内外相关性良好。结论: 与普通片相比, 长春胺缓释微丸在 Beagle 犬体内吸收较慢, 平均滞留时间为普通片的 2 倍以上, 生物利用度显著提高, 说明该处方可实现药物在胃肠道中非 pH 依赖性释放。

**[关键词]** 长春胺; pH 依赖性; 缓释微丸; Beagle 犬; 药代动力学

**[中图分类号]** R945; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0085-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030085

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141211.1453.006.html>

**[网络出版时间]** 2014-12-11 14:53

**Pharmacokinetics of Vincamine Sustained-release Pellets in Beagle Dogs** XIANG Lin<sup>1\*</sup>, ZENG Jia<sup>2</sup>, ZHOU You<sup>1</sup>, HUANG Ting<sup>2</sup>, WEI Li<sup>3</sup> (1. Dalian University, Dalian 116622, China; 2. Shanghai Institute of Planned Parenthood Research, Key Laboratory of Contraceptives and Devices Research, Shanghai Engineer and Technology Research Center of Reproductive Health Drug and Devices, Shanghai 200032, China; 3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare vincamine sustained-release pellets and analyze its pharmacokinetics in Beagle dogs for providing an reference for non-pH-dependent release of sustained-release formulations of vincamine. **Method:** Vincamine sustained-released pellets were prepared by fluidized bed with self-made tartaric acid pills core. Beagle dogs were randomly assigned to receive sustained-release pellets and common tablets with dosage of 150 mg, then a crossover trial was conducted one week later. HPLC was employed to determine plasma drug concentrations to compare pharmacokinetic parameters of each formulation, mobile phase was 0.02 mol·L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate-acetonitrile (70:30) by adjusting pH 2.3 with phosphoric acid, detection wavelength was 268 nm. **Result:** Pharmacokinetic parameters of sustained-release pellets and common tablets were as follows: C<sub>max</sub> of (1 147.40 ± 554.50), (1 506.10 ± 327.44) μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> of (2.38 ± 0.25), (1.63 ± 0.25) h; MRT of (6.75 ± 2.44), (3.19 ± 0.73) h; AUC<sub>0-t</sub> of (4 766.76 ± 1 740.26), (3 906.81 ± 686.53) μg·h·L<sup>-1</sup>, respectively. Relative bioavailability of sustained-release pellets to common tablets was 122%. Dissolution test indicated that sustained-release pellets had good in *in vivo* and *in vitro* correlation. **Conclusion:** Compared with common tablets, vincamine sustained-release pellets show slower absorption in Beagle dogs, the average residence time is two times more than the former, relative bioavailability has also been significantly

**[收稿日期]** 20140512(007)

**[通讯作者]** \* 相琳, 硕士, 讲师, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel: 0411-82829759, E-mail: lynnxiang@126.com

improved, indicating that this formulation can achieve non-pH-dependent release in the gastrointestinal tract.

[Key words] vincamine; pH-dependent; sustained-released pellets; Beagle dogs; pharmacokinetics

长春胺为吲哚生物碱类成分<sup>[1]</sup>,源自天然植物小蔓长春花 *Vinca minor*,具有调节脑循环、维持神经动态平衡、保护神经和抗氧化等作用<sup>[2]</sup>,临床用于治疗缺血性心脑血管疾病<sup>[3]</sup>及衰老期心理行为障碍等<sup>[4]</sup>,应用前景广阔。但长春胺作为典型的 pH 依赖性药物<sup>[5]</sup>,在中性及弱碱性环境下均表现为难溶,而在酸性条件下溶解度较大,但半衰期较短,仅 2 h<sup>[6]</sup>,故该成分普通制剂难以满足临床治疗需求。前期研制了酒石酸丸芯,采用流化床底喷技术制备长春胺缓释微丸,拟改善长春胺溶解释放的 pH 依赖性,减小环境因素对其释放的影响,延长药物在体内的滞留时间,改善临床疗效。故本实验以长春胺缓释微丸为受试制剂,以长春胺普通片为参比制剂,考察长春胺缓释微丸在 Beagle 犬体内的药动学特征,为实现长春胺在胃肠道中非 pH 依赖性释放提供参考。

## 1 材料

1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), FA1004N 型电子天平(上海市安亭电子仪器厂), TGL-16B 型飞鸽离心机(上海安亭科学仪器厂), XW-80A 型涡旋混合器(上海医科大学仪器厂), Mini 型流化床和 GPCG 1.1 型流化床(德国 Glatt)。

长春胺原料药(批号 CV/VC070515,纯度 100.3%,西班牙考维克斯公司),空白丸芯(德国 JRS 公司),酒石酸(法国罗盖特公司),羟丙甲纤维素(HPMC)、乙基纤维素水分散体(surelease)均购自上海卡乐康包衣技术有限公司,聚维酮(PVP K29-32,美国 ISP 公司),长春胺普通片(自制,规格 30 mg/片,批号 20081020),乙腈为色谱纯,水为蒸馏水或纯化水,其他试剂均为分析纯。

成年健康雄性 Beagle 犬,4 只,体重(12 ± 2) kg,由上海中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(沪)2008-0009。

## 2 方法与结果

### 2.1 缓释微丸的制备工艺

**2.1.1 酒石酸空白丸芯** 称取空白丸芯 500 g 置于 GPCG 1.1 型流化床底喷包衣锅中,将适量酒石酸溶于水配制成 1 g·mL<sup>-1</sup> 溶液作为包衣液。调节适当工艺参数,以底喷将包衣液喷雾于空白丸芯表面,制备酒石酸丸芯。采用 6% HPMC 水溶液进行隔离层包衣。

**2.1.2 载药微丸** 称取一定量长春胺原料,在搅拌状态下配成 8% 的混悬液,加入一定量 PVP K29-32 为黏合剂,其与药物质量的比例 4:5。进风温度 65 °C,雾化压力 120 kPa 时,将该混悬液在搅拌状态下以底喷的方式包裹在酒石酸丸芯上。采用 6% HPMC 水溶液进行隔离层包衣。

**2.1.3 缓释层包衣** 称取载药微丸 50 g,置流化床底喷包衣锅中,将 PVP K29-32 作为致孔剂以一定比例加入水中,搅拌使其全部溶解。将上述溶液慢慢倒入 25% surelease 溶液中,稀释至质量分数 12.5%,低剪切力搅拌约 15 min。按以下参数进行包衣,蠕动泵速度 1.3 g·min<sup>-1</sup>,喷雾压力 120 kPa,进风温度 60 °C,包衣过程中控制物料温度 ≤ 40 °C。包衣液喷完后,使微丸继续流化约 5 min,干燥后备用。

**2.1.4 验证试验** 按上述处方工艺制备 3 批缓释微丸,显示为白色球形小丸,大小均匀、光滑。该微丸中长春胺平均质量分数 100.41%,其在 0.5, 2, 8 h 的累积释放量分别为 29%, 55%, 87%, 12 h 累计释放量 > 90%,符合国家药品标准 WS1-(X-267)-2003Z 的要求。说明该处方工艺制备的长春胺缓释微丸批间重复性较好、质量稳定。

**2.2 给药方案与血样处理** 健康 Beagle 犬 4 只,禁食 12 h 后,采用数字随机表法随机分为 2 组,自身对照交叉给药试验方法,分别灌服长春胺缓释微丸和普通片 150 mg。给药前取空白血,缓释微丸组于给药后 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 h 取血,普通片组于给药后 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 h 取血,分别于前腿静脉处采血 1.5 mL,置于涂有肝素钠的离心试管中,于 5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上层血浆置 -20 °C 冰箱保存,待分析。隔 1 周洗净期后交叉服药 1 次。

**2.3 血浆样品的预处理** 精密吸取血浆 400 μL 置于 1.5 mL 离心管中,加入甲醇-乙腈(1:1)混合液 400 μL,涡旋 2 min,于 16 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液 200 μL 置于 1.5 mL 离心管中,置于 40 °C 水浴下氮气吹干,残留物溶于 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 200 μL 中,取上清液 50 μL 进样。

**2.4 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-乙腈(70:30,用磷酸调节 pH 2.3),柱温 25 °C,流速

1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 268 nm。

**2.5 专属性试验** 取空白血浆、空白血浆加长春胺原药及含药血浆样品,按 2.4 项下色谱条件测定,结果分离度 >1.5,表明该分析方法灵敏、可靠,内源性物质对药物峰无干扰。长春胺血浆样品的最低检测限约 50 μg·L<sup>-1</sup>。

**2.6 标准曲线的绘制** 精密称取长春胺原料药,加适量流动相稀释成 0.06 g·L<sup>-1</sup> 的储备液,备用。取空白血浆 0.5 mL,加入上述储备液,分别加流动相稀释成 238.1, 476.3, 952.5, 1 905.0, 2 857.5, 3 810.0 μg·L<sup>-1</sup> 的系列溶液,按 2.3 项下方法处理,按 2.4 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y = 0.0314X + 5.2834$  ( $r = 0.9964$ ),线性范围 0.2381 ~ 3.810 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.7 回收率试验**

**2.7.1 方法回收率试验** 取空白血浆 0.5 mL,加入 2.6 项下长春胺储备液稀释制成高、中、低质量浓度的样品,按 2.4 项下色谱条件测定,计算方法回收率在 95.06% ~ 99.88%, RSD < 15%,符合方法学要求。

**2.7.2 提取回收率试验** 取空白血浆 0.5 mL,加入 2.6 项下长春胺储备液稀释制成高、中、低质量浓度样品,按 2.4 项下色谱条件测定,计算平均提取回收率 78.68%, RSD < 15%,符合方法学要求。

**2.8 精密度试验** 取空白血浆 0.5 mL,加入 2.6 项下长春胺储备液稀释制成高、中、低质量浓度的样品,按 2.4 项下色谱条件测定,分别在 1 d 内按 2.4 项下色谱条件测定 5 次,同时每天测定 1 次,连续测定 3 d,结果日内精密度低、中、高质量浓度的 RSD 分别为 3.0%, 1.6%, 0.4%, 日间精密度低、中、高质量浓度的 RSD 分别为 10.0%, 3.2%, 2.0%,符合方法学要求。

**2.9 药动学参数分析** 各血浆样品经处理后按 2.4 项下色谱条件测定,平均血药浓度-时间曲线见图 1。采用 3P87 药动学软件(统计矩法)以非隔室模型处理试验数据。部分药动学参数见表 1,计算长春胺缓释微丸较普通片的相对生物利用度 122%。

**2.10 体内外相关性考察** 按单隔室模型处理血药浓度数据,采用 Wagner-Nelson 法计算长春胺缓释微丸不同时间的吸收数( $F_a$ ),计算公式  $F_a = (Ct + K_e \cdot AUC_{0-t}) / K_e \cdot AUC_{0-\infty}$ 。对不同时间点(0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h)体内  $F_a$  和在溶出介质为氯化钠盐酸溶液(每 1 L 中含氯化钠 2 g, 1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 35 mL)

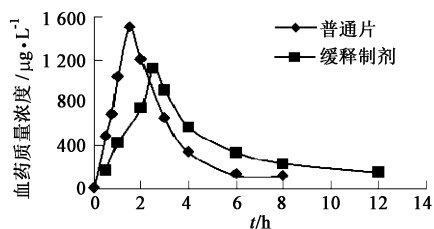


图 1 长春胺不同制剂在 Beagle 犬体内的药-时曲线  
Fig. 1 Mean plasma concentration-time curve of different vincamine formulations in Beagle dogs

表 1 长春胺不同制剂的药动学参数  
Table 1 Pharmacokinetics parameters of different vincamine formulations

药动学参数	单位	缓释微丸	普通片
$T_{max}$	h	2.38 ± 0.25	1.63 ± 0.25
$C_{max}$	μg·L <sup>-1</sup>	1 147.40 ± 554.50	1 506.10 ± 327.44
$K_e$	h <sup>-1</sup>	0.20 ± 0.07	0.39 ± 0.08
$T_{1/2}$	h	4.05 ± 1.94	1.83 ± 0.39
$AUC_{0-t}$	μg·h·L <sup>-1</sup>	4 766.76 ± 1 740.26	3 906.81 ± 686.53
$AUC_{0-\infty}$	μg·h·L <sup>-1</sup>	5 818.31 ± 2 478.61	4 220.56 ± 640.43
AUMC	μg·h·L <sup>-1</sup>	42 664.77 ± 31 218.21	13 288.77 ± 2 395.84
MRT	h	6.75 ± 2.44	3.19 ± 0.73

500 mL, 温度(37 ± 1.0) °C, 转篮转速 100 r·min<sup>-1</sup> 条件下,相同时间的体外释放数( $F_d$ )进行回归,结果  $F_a$  分别为 12.30%, 22.00%, 34.42%, 52.07%, 73.49%, 87.83%, 98.18%;  $F_d$  分别为 9.27%, 24.31%, 50.76%, 65.20%, 69.83%, 74.91%, 84.44%。 $F_a$  与  $F_d$  的回归方程  $F_a = 0.7875F_d + 11.319$  ( $r = 0.9418$ ),结果显示体内外相关性良好,说明长春胺缓释微丸的  $F_d$  可作为衡量生物利用度的指标。

**3 讨论**

前期研究发现长春胺在水中溶解度仅 17.3 mg·L<sup>-1</sup>, 在 pH 7.8 PBS 中溶解度 9.6 mg·L<sup>-1</sup>, 而在 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸中溶解度可达 29.64 g·L<sup>-1</sup>, 说明其溶解度呈明显的 pH 依赖性。长春胺主治心脑血管类疾病,主要针对病人群体为中老年人,胃肠道 pH 与青壮年时期差异很大,会出现胃酸分泌减少、肠蠕动减慢等现象,同时人体胃肠道环境 pH 变化就较大,要求制剂的体内释放必须具有一定的平稳性,以尽量减少环境因素对药物释放的影响。为使长春胺在整个肠道能均匀、稳定释放,本文通过将药物包裹在酒石酸丸芯的方法来改善药物溶解的 pH 依赖性。

目前市场销售的长春胺药物多为缓释制剂,如奥勃兰(长春胺缓释胶囊),其内容物为长春胺缓释微丸。奥勃兰采用了普通的蔗糖丸芯,致使在药物释放过程中具有较强的pH依赖性,即在pH 1.5的强酸条件下可满足释放度检测要求,但在弱酸、中性和强碱条件下释放度较低。这导致患者服用药物后只能在酸性较强的胃内吸收,而呈碱性的肠道不利于奥勃兰的释放,导致肠道无法吸收,致使药物生物利用度较低。本文将药物包裹在酒石酸丸芯上,当外界水分通过连续衣膜渗透入里时,内部酒石酸开始溶解,使微丸自身内部形成一个弱酸的微环境,可加快药物的溶解,减小环境因素对药物释放和吸收的影响。由于药物的释放仍受控于外层薄膜包衣,所以不会影响缓释效果。

通过药动学研究表明长春胺缓释微丸平均滞留时间为普通片的2倍以上,虽然血药浓度的达峰时间较接近,但达峰浓度有所降低,消除时间明显延长,且生物利用度相对于后者显著提高。证明采用酒石酸丸芯制备的长春胺缓释微丸可平稳、缓慢地在Beagle犬体内释放吸收,可实现药物在胃肠道中的非pH依赖性释放。

长春胺缓释微丸较普通片的相对生物利用度达122%,原因可能与长春胺溶解度具有pH依赖性有关。人体胃肠道pH变化很大,长春胺普通片如果不能在偏酸性的胃部和小肠前端崩解完全,未崩解部分在肠道中后端亦很难实现药物的溶解吸收。而

缓释制剂设计改善了这一特征,使药物在整个肠道内不同pH环境下均能平稳释放,提高了长春胺的生物利用度。

[致谢]上海智同医药科技有限公司陈挺博士对本文药剂成型工艺的指导。

#### [参考文献]

- [1] 郑璐侠,邵泓. 高效液相色谱电化学法测定长春胺的有关物质表长春胺[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 118-120.
- [2] 侯恩太,李多伟. 小蔓长春花中长春胺药理学研究进展[J]. 西北药学杂志, 2010, 25(4): 314-316.
- [3] Jovanović Z B, Pavlović A M, Pekmezović T, et al. Transcranial doppler assessment of cerebral vasomotor reactivity in evaluating the effects of vinpocetine in cerebral small vessel disease: a pilot study[J]. Ideggyogy Sz, 2013, 66(7/8): 263-268.
- [4] Fischhof P K, Friedmann A, Herrmann W M, et al. Therapeutic efficacy vincamine in dementia [J]. Neuropsychobiology, 1996, 34(1): 29-35.
- [5] Yang Y, Lou K, Gong W, et al. Simultaneous estimation of vinpocetine and its metabolite, apovincaminic acid, in Beagle plasma by LC-MS-MS [J]. Chromatographia, 2011, 3(7/8): 775-779.
- [6] Juan Y P, Tsai T H. Measurement and pharmacokinetics of vincamine in rat blood and brain using microdialysis [J]. J Chromatogr A, 2005, 1088(1/2): 146-151.

[责任编辑 刘德文]