

## 自制奥昔布宁渗透泵控释片的体内外相关性研究

丁雪鹰\*, 高 申, 管 斐, 张仰眉, 高 静, 俞 媛

(第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**研究自制奥昔布宁渗透泵控释片在体内外的相关性。**方法:**以 HPLC 法 (Irregular-H C18 柱, 4.6 mm×150 mm, 流动相为甲醇:水:1 mol/L 醋酸铵=85:13:2, 流速为 1.0 ml/min, 检测波长 220 nm) 测定奥昔布宁渗透泵控释片体外释放浓度 (释放介质:200 ml 蒸馏水, 37℃, 转速:100 r/min, 分别在 2、4、8、12、16、24 h 各取样 1 ml), 用 LC-MS 法测定渗透泵控释片在 Beagle 犬体内的血药浓度 (8 条犬禁食过夜后口服自制奥昔布宁渗透泵片 10 mg, 于给药前及给药后 2.5、5.0、8.0、12.0、16.0、24.0、27.0、30.0、36.0、48.0 h 在犬一侧后肢静脉取血 1 ml 分离血浆待测), 用 Wanger-Nelson 法计算体内吸收百分数, 并与相应时间体外累积溶出度线性回归, 进行体内外相关性考察。**结果:**药物恒速释放达 24 h, 累积释放率达 90% 以上。体内药动学特征符合单室一级吸收模型, 血药浓度在 48 h 内表现平稳。以体内吸收百分率 (Y) 与体外释放百分率 (X) 进行线性回归, 方程如下:  $Y=0.9782X+12.5019$ ,  $r=0.9373$  ( $P<0.01$ )。**结论:**自制奥昔布宁渗透泵控释片体外释放百分率和体内吸收百分率呈显著相关。

**[关键词]** 奥昔布宁; 渗透泵控释片; 释放; 血药浓度; 体内外相关性

**[中图分类号]** R 944.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2005)02-0192-03

### *In vitro* and *in vivo* correlation of self-designed osmotic pump tablet of oxybutynin

DING Xue-ying, GAO Shen, GUAN Fei, ZHANG Yang-mei, GAO Jing, YU Yuan (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the *in vitro* and *in vivo* correlation of self-designed oxybutynin osmotic pump tablet. **Methods:** Oxybutynin was assayed by HPLC *in vitro* and by LC-MS *in vivo*. HPLC methods were used; Irregular-H C18 column, 4.6 mm×150 mm; mobile phase was methanol: water: 1 mol/L ammonium acetate=85:13:2; flow rate 1.0 ml/min, UV detective wavelength 220 nm. The condition of dissolution study was as follows: dissolution media 200 ml distilled water, temperature 37℃, stir rate 100 r/min, sample time 2, 4, 8, 12, 16, 24 h, sample volume 1 ml. Eight dogs received oral administration of oxybutynin osmotic pump tablet (10 mg) and sampling times were 0, 2.5, 5.0, 8.0, 12.0, 16.0, 24.0, 27.0, 30.0, 36.0, 48.0 h. The correlation was studied by the test of the dissolution *in vitro* and the pharmacokinetics *in vivo* through Wanger-Nelson method. **Results:** The drug was released from OPT at a controlled rate for over 24 h, and the cumulative release at 24 h was over 90%. Self-prepared OPT coincided with one-compartment model and provided a persistent plasma level for at least 24 h. The linear regressive equation was established between the absorption rate *in vivo* and the accumulating dissolution rate *in vitro* of oxybutynin as  $Y=0.9782X+12.5019$  ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** There is a significant correlation between the absorption *in vivo* and the dissolution *in vitro* of oxybutynin osmotic pump tablet.

**[KEY WORDS]** oxybutynin; osmotic pump tablet; dissolution; plasma concentration; *in vitro* and *in vivo* correlation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2005, 26(2): 192-194]

昔布宁是目前临床治疗膀胱过度活动症首选药物, 普通片口服吸收迅速完全, 起效时间为 30~60 min, 1 h 后血药浓度达峰值,  $t_{1/2}$  约为 2 h, 解痉作用可持续 6~10 h。常用量为 5 mg/次, tid, 最大剂量为 5 mg/次, qid<sup>[1]</sup>。不良反应有口干、少汗、视力模糊、心悸、嗜睡、头晕、恶心、呕吐等, 很多患者因此中断治疗。渗透泵控释制剂以零级释药过程为基本特征, 能够以恒定的释药速率释放出一定量的治疗药物, 减少给药次数, 延长作用时间, 降低血药浓度波动幅度和不良反应, 提高用药的安全性和有效性<sup>[2-4]</sup>。本研究测定了自制奥昔布宁渗透泵控释片

在体外的释放速率及体内血药浓度, 探讨该制剂体内外的相关性。

### 1 材料和方法

1.1 药品和仪器 奥昔布宁原料 (青岛制药股份有限公司, 批号 20003); 醋酸纤维素 (CA-398-10, 美国 EASTMAN 公司); 甘油三醋酸酯 (TRI, 上海试剂二厂); 聚氧乙烯 (PEO,  $M_w$  200 000、5 000 000, 美国

[作者简介] 丁雪鹰 (1973-), 女 (汉族), 博士, 讲师。

\* Corresponding author. E-mail: dingxueying@126.com

联合碳化公司);羟丙基甲基纤维素(HPMC,  $M_w$  4 000、10 000,上海运宏化工公司);氯化钠(天津海光化学制药厂);硬脂酸镁(大连制药厂);奥昔布宁渗透泵片(自制,10 mg/片,批号:20020428);甲醇(色谱纯,上海化学试剂研究所);其余试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪(Waters 510型高压恒流泵,Waters 2487紫外检测器,K-10型六通进样阀,三锐色谱数据工作站);ZRD6型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器厂);Varian CRAY 100紫外可见分光光度计;API3000质谱仪(美国应用生物系统有限公司);XW-80A旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);80-2B台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 奥昔布宁渗透泵片的制备 将原料分别过80目筛,分别称取处方量的药物层(含奥昔布宁、氯化钠、PEO、HPMC)和推动层(含氯化钠、PEO、HPMC),分别混合均匀。将药物层适量填充于 $\Phi 7$  mm浅凹冲模内,轻压一下,再将推动层适量填充于冲模内,压制成片芯。

将CA与5% CA量的TRI溶于丙酮-异丙醇(9:1)的混合溶剂中,混合均匀为包衣液。将片芯置于包衣锅内,吹入热空气,待温度为50℃后,进行包衣。包衣液输入速度为4.6 ml/min,压力为24 kPa,直至包衣膜的厚度达到预定标准为止,继续吹入热空气0.5h,然后将包衣片在40℃干燥24h,去除剩余溶剂。将干燥完毕的包衣片在含药层打一小孔(孔径0.4 mm),即得。

### 1.3 体外释放试验

1.3.1 HPLC法测定奥昔布宁含量 色谱条件:色谱柱:Irregular-H C18柱(4.6 mm $\times$ 150 mm,10  $\mu$ m),流动相为甲醇:水:1 mol/L醋酸铵(85:13:2),流速为1.0 ml $\cdot$ min<sup>-1</sup>,检测波长为220 nm。以奥昔布宁浓度( $c$ )对其峰面积( $A$ )回归,得标准曲线: $c=5.2863 \times 10^{-5}A+0.1993$ , $r=0.9997$ ,线性范围0.2~70.0  $\mu$ g $\cdot$ ml<sup>-1</sup>。本方法最低检测限1 ng,平均回收率为102.75%,日内精密度<3%,日间精密度<4.1%,满足分析要求。

1.3.2 释放度实验 按《中国药典(2000版)》二部附录XC第三法进行,释放介质:200 ml蒸馏水,温度:37℃,转速:100 r/min。分别在2、4、8、12、16、24 h取样1 ml,0.8  $\mu$ m微孔滤膜过滤后HPLC测定浓度,计算释放百分率。

### 1.4 体内血药浓度的测定

1.4.1 LC-MS测定血浆内奥昔布宁 静脉血样置于3.0 ml塑料离心管中(加肝素抗凝),2 500 r/min

离心5 min分离血浆。取血浆50  $\mu$ l置于1.5 ml塑料离心管中,加入5  $\mu$ l内标液20 ng/ml维拉帕米(异搏定)溶液,旋涡混合10 s,加入100  $\mu$ l乙腈,旋涡混合30 s,100 00 r/min离心5 min,取上清液50  $\mu$ l,加入20  $\mu$ l水,旋涡混合10 s,取20  $\mu$ l进样分析。质谱条件:离子选择通道分别为:奥昔布宁( $m/z$ ) 358.4 $\rightarrow$ 142.2、维拉帕米(内标, $m/z$ ) 455.6 $\rightarrow$ 165.4;离子源温度:400℃;电压:4kV;液相条件:色谱柱:Aquasil C18(5  $\mu$ m,50 mm $\times$ 2.1 mm),流动相:乙腈:水:甲酸(40:60:0.02),流速0.2 ml/min,室温(25 $\pm$ 1)℃。

以奥昔布宁标准对照品与内标峰面积比( $A_i/A_s$ )对相应的浓度( $c$ ,ng/ml)进行线性回归,得血浆标准曲线方程为: $A_i/A_s=0.106c-0.00483$  ( $r=0.9963$ , $n=5$ ),线性范围0.250~64.00 ng/ml。本方法最低检测浓度为0.25 ng/ml( $S/N=4:1$ ),相对回收率>93.98%,日间和日内RSD<7.63%。

1.4.2 体内试验方法 8条Beagle犬禁食过夜,于早上7:00口服自制奥昔布宁渗透泵片1片,用10 ml温水送服,服药3 h后方可进食。于给药前及给药后2.5、5.0、8.0、12.0、16.0、24.0、27.0、30.0、36.0、48.0 h在犬一侧后肢静脉取血1 ml,置肝素化试管中,4 000 r/min离心5 min,分取0.4 ml血浆,冰箱冷冻保存。

1.5 体内外相关性研究 体内吸收百分数( $f$ )采用Wanger-Nelson方法(W-N法)计算:

$$f = \frac{(X_A)_t}{(X_A)_\infty} = \frac{c_t + k \int_0^t c dt}{k \int_0^\infty c dt} \times 100\%$$

式中, $(X_A)_t$ 是 $t$ 时间吸收到人体内的药物量, $(X_A)_\infty$ 是体内吸收的药物总量, $c_t$ 是 $t$ 时间的血药浓度, $k$ 是消除速率常数。将 $t$ 时间体内吸收百分数与相应时间体外累积溶出度进行线性回归,根据回归系数来判断体内外相关性是否显著。

## 2 结果

2.1 体外释放试验 结果见表1,药物恒速释放达24 h,累积释放率达90%以上。

2.2 体内血药浓度测定 血药浓度上升缓慢,浓度变化平稳,释药时间延长,8条犬平均药动学数据 $t_{1/2}=(9.57 \pm 2.10)$  h, $t_{max}=(10 \pm 2)$  h, $c_{max}=(1.7 \pm 0.5)$  ng/ml, $AUC_{0 \sim t}=(48.59 \pm 11.88)$  ng $\cdot$ h/ml, $AUC_{0 \sim \infty}=(52.16 \pm 11.83)$  ng $\cdot$ h/ml,符合单室一级吸收模型。

2.3 体内外相关性研究 平均血药浓度数据、体内

吸收百分率(Y)、体外释放百分率(X)见表2, Y与X进行回归, 方程如下:  $Y = 0.9782X + 12.5019$ ,  $r = 0.9673$ , 查相关系数r临界值表:  $r_{(0.01,4)} = 0.917$ ,  $r > r_{(0.01,4)}$ , 因此, 可认为药物的体外累积释放度与体内吸收百分率有较好的相关性 ( $P < 0.01$ )。

表1 Beagle犬单剂量口服自制奥昔布宁渗透泵控释片体内吸收百分率和体外释放百分率

Tab 1 Dissolving rate *in vitro* and dose absorbing rate of oxybutynin OPT in dogs

Time (t/h)	Plasma level ( $\mu\text{g}/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	Dose absorbing (%)	Dissolving <i>in vitro</i> (%)
2.5	0.25 ± 0.12	0.12	7.09
5	1.11 ± 0.33	0.33	17.19
8	1.58 ± 0.44	0.44	31.82
12	1.62 ± 0.49	0.49	47.11
16	1.50 ± 0.45	0.45	62.99
24	1.47 ± 0.43	0.43	92.28

### 3 讨论

体内外相关性对控缓释制剂研究非常重要, 若

能证明体内外相关性良好, 就可用体外的释药数据预测药物的体内过程, 以制定药物制剂的质量标准及指导临床用药。本文建立的体外释放度实验方法快速、简便, 结果与药物体内吸收行为相关性良好, 因此可以体外释放度实验来有效地控制和预测药物在体内的释放、吸收规律, 并进一步通过体外实验优化和筛选适宜的处方、工艺条件等。

### [参考文献]

[1] 张玉凤, 袁莉娟. 奥宁[J]. 中国新药杂志, 1998, 7(1): 20-21.  
 [2] Thombre AG, Appel LE, Chidlaw MB, et al. Osmotic drug delivery using swellable-core technology [J]. *J Controlled Release*, 2004, 94(1): 75-89.  
 [3] Abrahamsson B, Alpsten M, Bake B, et al. Drug absorption from nifedipine hydrophilic matrix extended-release (ER) tablet-comparison with an osmotic pump tablet and effect of food [J]. *J Controlled Release*, 1998, 52(3): 301-310.  
 [4] 潘卫三, 吴涛, 尹飞, 等. 硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片的人体药代动力学与生物利用度[J]. 药学报, 1999, 34(12): 933-936.

[收稿日期] 2004-06-10

[修回日期] 2004-09-20

[本文编辑] 尹茶

## Effective gene-viral therapy for telomerase-positive cancers by selective replicative-competent adenovirus combining with endostatin gene

Zhang Q, Nie M, Sham J, Su C, Xue H, Chua D, Wang W, Cui Z, Liu Y, Liu C, Jiang M, Fang G, Liu X, Wu M, Qian Q (Laboratory of Viral and Gene Therapy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

[ABSTRACT] Gene-viral therapy, which uses replication-selective transgene-expressing viruses to manage tumors, can exploit the virtues of gene therapy and virotherapy and overcome the limitations of conventional gene therapy. Using a human telomerase reverse transcriptase-targeted replicative adenovirus as an antiangiogenic gene transfer vector to target new angiogenesis and making use of its unrestrained proliferation are completely new concepts in tumor management. CNHK300-mE is a selective replication transgene-expressing adenovirus constructed to carry mouse endostatin gene therapeutically. Infection with CNHK300-mE was associated with selective replication of the adenovirus and production of mouse endostatin in telomerase-positive cancer cells. Endostatin secreted from a human gastric cell line, SGC-7901, infected with CNHK300-mE was significantly higher than that infected with nonreplicative adenovirus Ad-mE *in vitro* ( $800 \pm 94.7 \text{ ng/ml}$  versus  $132.9 \pm 9.9 \text{ ng/ml}$ ) and *in vivo* ( $610 \pm 42 \text{ ng/ml}$  versus  $126 \pm 13 \text{ ng/ml}$ ). Embryonic chorioallantoic membrane assay showed that the mouse endostatin secreted by CNHK300-mE inhibited angiogenesis efficiently and also induced distortion of pre-existing vasculature. CNHK300-mE exhibited a superior suppression of xenografts in nude mice compared with CNHK300 and Ad-mE. In summary, we provided a more efficient gene-viral therapy strategy by combining oncolysis with antiangiogenesis.

[*Cancer Res*, 2004, 64(15): 5390-5397]