

【药学评价】

基于平行人工膜渗透分析法对药物溶出/吸收仿生系统优化及其药物渗透性评价研究

王洋洋¹, 黄 聪¹, 王彩君¹, 肖娟兰¹, 刘昌孝^{1,3}, 何 新^{1,2*}

1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

2. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006

3. 天津药物研究院释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 基于平行人工膜渗透分析法 (Parallel artificial membrane permeability analysis, PAMPA) 对药物溶出/吸收仿生系统 (Drug dissolution and absorption simulating system, DDASS) 的生物膜系统进行改进, 以单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪为工具药进行渗透性考察, 建立一种快速、简便的药物渗透性考察方法, 以期进一步提高 DDASS 系统对药物渗透性评价的效率和准确性, 并对药物体内吸收百分率进行预测。方法 以疏水性半透膜为载体, 将 1% 大豆卵磷脂和 0.1% 胆固醇的正十二烷溶液涂于疏水性聚偏氟乙烯中空纤维膜上制备人工渗透膜, 以人工渗透膜取代 DDASS 中的大鼠肠管, 以 BCS I 类药单硝酸异山梨酯, BCS II 类药奥美拉唑和 BCS III 类药氢氯噻嗪为工具药考察其在 DDASS 系统中经人工渗透膜的表现渗透系数 (P_{app}), 采用大鼠在体单向肠灌注法对上述 3 种药物的有效渗透系数 (P_{eff}) 的测定, 验证人工渗透膜对药物 BCS 归类的准确性。结果 单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪基于 PAMPA 优化 DDASS 法测得 P_{app} 分别为 $(3.644 \pm 0.291) \times 10^{-6}$ 、 $(2.391 \pm 0.020) \times 10^{-6}$ 、 $(0.129 \pm 0.032) \times 10^{-6}$ cm/s; 上述药物基于大鼠在体单向肠灌注法测得 P_{eff} 分别为 $(37.69 \pm 2.67) \times 10^{-5}$ 、 $(33.72 \pm 5.02) \times 10^{-5}$ 、 $(14.37 \pm 1.66) \times 10^{-5}$ cm/s。三者的体内吸收百分率预测值分别为 95.36%、65.76%、5.61%, 与 P_{app} 呈正相关。结论 基于 DDASS 优化 PAMPA 法对 3 种不同 BCS 分类药物渗透性的考察结果与大鼠在体单向肠灌注结果一致, 均证明单硝酸异山梨酯与奥美拉唑为高渗透性药物, 氢氯噻嗪为低渗透性药物, 符合 FDA 对三者的 BCS 分类。表明基于 DDASS 优化 PAMPA 法考察药物渗透性, 结果准确, 简单方便, 节约资源, 体内吸收百分率预测值具有参考价值, 为仿制药申请生物等效性豁免及为创新药物口服生物利用度研究提供了可靠的体外预测平台。

关键词: 药物溶出/吸收仿生系统 (DDASS); 平行人工膜渗透分析法 (PAMPA); 药物渗透性; 药物吸收预测

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2019) 08-1544-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.08.010

Optimization of DDASS based on PAMPA and drug permeability evaluation investigation

WANG Yangyang¹, HUANG Cong¹, WANG Caijun¹, XIAO Juanlan¹, LIU Changxiao^{1,3}, HE Xin^{1,2}

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

3. Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** Drug dissolution and absorption simulating system (DDASS) is a device that combines the drug *in vitro* dissolution model and the transmembrane permeation model to continuously and dynamically simulate the process of dissolution and transmembrane permeation of drugs *in vivo*. Improvement of the biological membrane system of the Drug dissolution and absorption simulating system based on Parallel artificial membrane permeability analysis (PAMPA). Permeability studies were carried out by using isosorbide mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide as tools, in order to establish a rapid and simple drug permeability test method and predict the percentage of absorption, in order to further improve the efficiency and accuracy of DDASS

收稿日期: 2019-03-11

基金项目: 天津市科技支撑重点项目 (No.16YFZCSY00440); 教育部创新团队发展计划资助项目 (IRT_14R41)

第一作者: 王洋洋, 女, 硕士研究生, 中药学专业。Tel: 13602068970 E-mail: 946986468@qq.com

*通信作者: 何 新, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药代动力学研究。E-mail: hexintn@163.com

system for drug permeability evaluation. And predict the percentage of drug absorption in the body. **Methods** Using hydrophobic semi-permeable membrane as the carrier, the artificial permeable membrane was prepared by coating 1% soybean lecithin and 0.1% cholesterol n-dodecane solution on the hydrophobic polyvinylidene fluoride hollow fiber membrane. Replace the rat intestine in DDASS with an artificial permeability membrane. The P_{app} of the BCS I drug isosorbate, the BCS II drug omeprazole and the BCS III drug hydrochlorothiazide was investigated in the DDASS system through the artificial permeability membrane. the P_{eff} of above three drugs were tested in the rat single-pass intestinal perfusion assay. **Results** P_{app} of isosorbide mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide based on PAMPA optimized DDASS method were $(3.644 \pm 0.291) \times 10^{-6}$ cm/s, $(2.391 \pm 0.020) \times 10^{-6}$ cm/s, $(0.129 \pm 0.032) \times 10^{-6}$ cm/s; the P_{eff} of above drugs were $(37.69 \pm 2.67) \times 10^{-5}$ cm/s, $(33.72 \pm 5.02) \times 10^{-5}$ cm/s, $(14.37 \pm 1.66) \times 10^{-5}$ cm/s based on the rat single-pass intestinal perfusion assay. The predicted percentages of absorption in the three drugs were 89.36%, 65.76% and 5.61%, respectively, which were positively correlated with P_{app} . **Conclusion** The results of the PAMPA optimized DDASS method for the permeability of three different BCS classification drugs were consistent with the results of the rat single-pass intestinal perfusion assay. It is proved that isosorbide mononitrate and omeprazole are high-permeability drugs, and hydrochlorothiazide is a low-permeability drug, which conform to the BCS classification of the three drugs by FDA It shows that the PAMPA optimized DDASS method applying to investigate the drug permeability is convenient and simple, it can save resources, and the results are accurate, the predicted percentage of absorption have a reference. It can provide a reliable *in vitro* prediction platform for applying a bioequivalence exemption for generic drugs and oral bioavailability studies of innovative drugs.

Key words: Drug dissolution and absorption simulating system (DDASS); Parallel artificial membrane permeability analysis (PAMPA); drug permeability; absorption prediction

药物溶出/吸收仿生系统(drug dissolution and absorption simulating system, DDASS)将药物体外溶出模型和跨膜透过模型有机结合,旨在连续、动态地模拟药物在体内的溶出和跨膜渗透过程,构建于2001年^[1];He等^[2-3]完善了该模型,见图1,用数学模型和动力学参数表征药物变化规律的动力学特点,同时建立了几种不同胃酸模型,阐明不同生理状况对药物释放度和吸收率影响,并在颗粒剂^[4]、片剂^[5-6]和胶囊剂^[7]等不同剂型上进行研究。研究表明DDASS法评价片剂等固体药物制剂释药及透过特性时,通过一定时间内切换不同pH值的药物释放介质,更真实地模拟了人体胃肠道环境,为药物剂型设计研究提供了新技术和新方法。目前,DDASS

的应用研究已受到国内外同行的广泛关注。该DDASS透过介质为大鼠肠管或Caco-2单层细胞膜,但由于动物饲养成本高,细胞培养时间长,给高通量筛选药物造成了困难,故本课题组致力于研究一种可以替代大鼠离体肠管或Caco-2单层细胞膜的人工渗透膜,以期提高药物渗透性评价及其药物制剂口服吸收预测的效率及准确性。

平行人工膜渗透分析法(Parallel artificial membrane permeability analysis, PAMPA)主要用于化合物的膜透过性的高通量筛选研究^[8-10],使用疏水性过滤材料作为载体考察化合物渗透性,将其运用农药新药渗透性测定以及人工皮肤与大鼠肠壁的模拟^[11-12]等,Zhu^[13]进行了大量药物渗透性实验证明

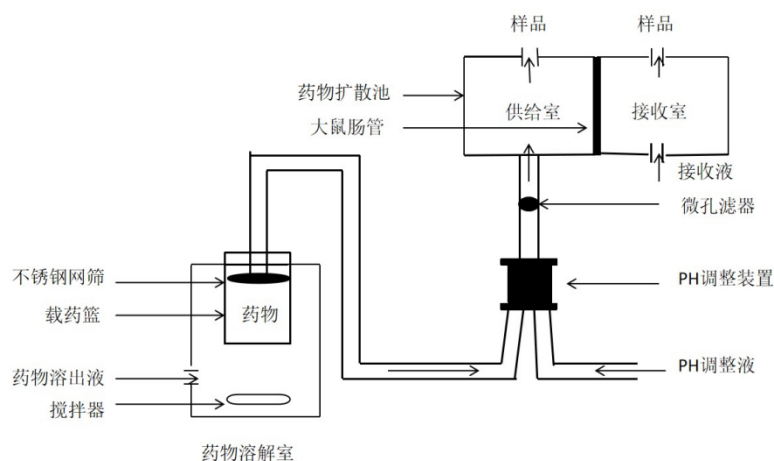


图1 药物溶出/吸收仿生系统(DDASS)^[6]

Fig. 1 Drug dissolution and absorption simulating system (DDASS)^[6]

PAMPA在评估口服药物吸收潜力方面,优于其他体外或计算机方法,是药物发现前期理想筛选和分析工具,但其缺点是只能进行静态药物渗透。本课题组基于PAMPA对DDASS进行改进,以单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪3种临床常用的典型的BCS I、II、III类药物为研究载体,运用PAMPA优化DDASS法研究药物的表观渗透系数(P_{app})和体内吸收百分数(F_a)。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 HPLC(美国Agilent公司),DKB-501A型超级恒温水浴槽(上海精宏实验设备有限公司),PHSJ-4A型实验室pH计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 材料

奥美拉唑标准品(纯度>99%,中国食品药品检定研究院);氢氯噻嗪标准品(纯度>99%,大连美仑有限公司);单硝酸异山梨酯标准品(纯度>99%,中国食品药品检定研究院);疏水性聚四氟乙烯中空纤维膜(0.45 μm ,上海新亚有限公司);大豆卵磷脂(天津市光复科技有限公司);胆固醇(合肥博美生物科技有限公司)。

乙腈($\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$)为色谱纯;甲醇(CH_3OH)、冰醋酸(CH_3COOH)、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、醋酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)、盐酸(HCl)、氢氧化钠(NaOH)均为分析纯。

1.3 动物

SD大鼠,雄性,体质量200~230 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证编号:SCXK-(京)2017-0006。

2 方法

2.1 HPLC色谱条件

2.1.1 奥美拉唑色谱条件 色谱柱为Dikma Diamonsil Lichrosorb C_{18} 柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm),流动相为甲醇-水(60:40),检测波长272 nm,体积流量1 mL/min,进样量10 μL 。

2.1.2 氢氯噻嗪色谱条件 色谱柱为Dikma Diamonsil Lichrosorb C_{18} 柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm),流动相为甲醇-水(65:35),检测波长310 nm,体积流量1 mL/min,进样量10 μL 。

2.1.3 单硝酸异山梨酯色谱条件 色谱柱为Dikma Diamonsil Lichrosorb C_{18} 柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm),流动相为乙腈-水(20:80),检测波长205 nm,体积流量1 mL/min,进样量10 μL 。

2.2 溶液配制

2.2.1 母液的配制 精密称取单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪标准品,用甲醇配制成1 mg/mL的母液。

2.2.2 K-R液的配制 7.8 g NaCl, 0.35 g KCl, 1.37 g NaHCO_3 , 0.02 g MgCl_2 , 0.22 g NaH_2PO_4 和1.48 g葡萄糖溶于1 000 mL蒸馏水中,调节pH至7.4,通入95% O_2 0.5 h。

2.2.3 扩散池溶液的配制 接收室溶液:将0.2 mol/L $12\text{H}_2\text{O}-\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 溶液51 mL和0.2 mol/L $12\text{H}_2\text{O}-\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 溶液49 mL混合,调节pH至6.8。供给室溶液:将2.2.1项下母液加入接收溶液中,配制成200 $\mu\text{g/mL}$ 的供给室溶液。

2.3 正交实验法筛选制备PAMPA优化DDASS法中的人工渗透膜的条件

2.3.1 正交实验设计 以成膜材料中卵磷脂与胆固醇的体积比(A)、成膜材料体积(B)、静置时间(C)3个因素进行正交实验,每个因素设3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表进行实验,以渗透平衡时间为考察指标,筛选最佳成膜条件,各因素水平设计见表1。

表1 正交实验因素水平

Table 1 Orthogonal experimental factor and level

水平	因素		
	A	B	C
1	15:1	10	5
2	10:1	20	10
3	5:1	30	15

2.3.2 PAMPA优化DDASS法中的人工渗透膜完整性的考察 荧光素钠常作为渗漏标志物进行细胞通透性考察^[14],此次实验中用其考察人工渗透膜的完整性。将疏水性聚偏氟乙烯中空纤维膜切割成1 cm \times 0.5 cm的大小,按筛选出的最优条件进行人工渗透膜制备,固定于DDASS扩散池。供给室加入含有100 mmol/L的荧光素钠的供给室溶液,透过室加入接受液,各5 mL,37 $^{\circ}\text{C}$ 下温育,两侧连续通入 O_2/CO_2 (95%/5%),1 h后测量透过测的荧光素钠的浓度。

$$P_{app} = \frac{d_o/d_t}{A \times C_o} \quad (1)$$

d_o/d_t 为单位时间内透过量的变化(mg/s), A 为膜的有效面积(cm^2), C_o 为加入药物的初始质量浓度(mg/L)。

2.4 基于PAMPA优化DDASS法的药物渗透性研究

供给室加入5 mL供给室溶液,将等体积的接收室溶液快速加入透过室,37℃下温育,连续通入O₂/CO₂(95%/5%)直至浓度不变,取样进行测定。人工膜渗透率可用 P_{app} 表示,计算公式如下:

$$P_{app} = C \times \lg(1 - \frac{(V_d + V_a) \times C_{a(t)}}{V_d C_{d(0)}}) \quad (2)$$

$$C = -2.303 \times (\frac{V_a V_d}{(V_a + V_d) A t}) \quad (3)$$

其中, t 为渗透平衡时间(s), A 为渗透表面积等于中空纤维膜的面积(cm²), V_a 为受体液的体积(cm³), V_d 为供体液的体积(cm³), $C_{a(t)}$ 为 t 时受体液的浓度(μg/mL), $C_{d(0)}$ 为初始供体液的浓度(μg/mL),而 $C_{d(t)}$ 为 t 时供体液的浓度(μg/mL), P_{app} 的单位为cm/s。

2.5 大鼠在体单向肠灌流实验

用2.2.2项方法下配置的K-R液将标准品溶液稀释至200 μg/mL,制成灌流液。向实验前12 h禁食的健康雄性大鼠腹腔注射200 g/L乌拉坦溶液0.65 mL/kg,麻醉后,大鼠背位固定,沿腹中线切开腹腔,分离十二指肠,两端插管并结扎,用37℃生理盐水冲净肠道内容物,灌流液以1 mL/min流速灌流肠段30 min,再以0.2 mL/min的流速灌流,于0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h时取样,HPLC法分析测定样品中的浓度,实验中采用重量法校正供试药液流经肠段后因体积变化而导致的质量浓度偏差。按照下式计算药物吸收速率常数(K_a)和有效渗透系数(P_{eff}):

$$K_a = (1 - \frac{P_{out}}{P_{in}} \times \frac{V_{out}}{V_{in}}) \times \frac{v}{\pi r^2 l} \quad (4)$$

$$P_{eff} = \frac{-v \times \ln(\frac{P_{out}}{P_{in}} \times \frac{V_{in}}{V_{out}})}{2\pi r l} \quad (5)$$

V_{in} 和 V_{out} 分别为肠道进出口灌流液的体积(mL); P_{in} 和 P_{out} 分别为肠道进出口灌流液中药物的浓度(mg/L); v 为灌流速度(mL/s); l 和 r 分别为被灌流液肠段的长度(cm)和横截面半径(cm)。

2.6 药物体内吸收百分数的预测

Amidon等^[15]研究药物的 P_{app} 与 F_a 之间的关系,证明基于 P_{app} 可以预测药物在人体内的吸收。公式如下:

$$F_a = 1 - \exp(-k \times P_{app}) \quad (6)$$

其中, k 是相关因子,根据环境的酸碱度不同取值不同,由于本实验扩散池中溶液属于强碱性,故设定 k 值为 4.48×10^{-5} ^[11]。利用2.5项下方法求得的药物 P_{app} 求得 F_a 预测值。

3 结果

3.1 PAMPA优化DDASS法中人工渗透膜的制备

正交实验结果如表2所示,从表2中可以看出,成膜条件影响因素顺序为:A>B>C,即卵磷脂与胆固醇的体积比>成膜材料体积>静置时间,最优成膜条件为A₂B₁C₃,即卵磷脂与胆固醇的体积比10:1,成膜材料体积10 μL,静置时间15 min。

表2 人工渗透膜成膜条件正交实验

Table 2 Orthogonal experiment of conditions of artificial permeability membrane

序号	A	B	C	渗透平衡时间/min
1	15:1	10	5	420
2	15:1	20	10	420
3	15:1	30	15	480
4	10:1	10	10	240
5	10:1	20	15	240
6	10:1	30	5	270
7	5:1	10	15	300
8	5:1	20	5	360
9	5:1	30	10	420
均值1	440	320	350	
均值2	250	340	360	
均值3	360	390	340	
极差	190	70	20	

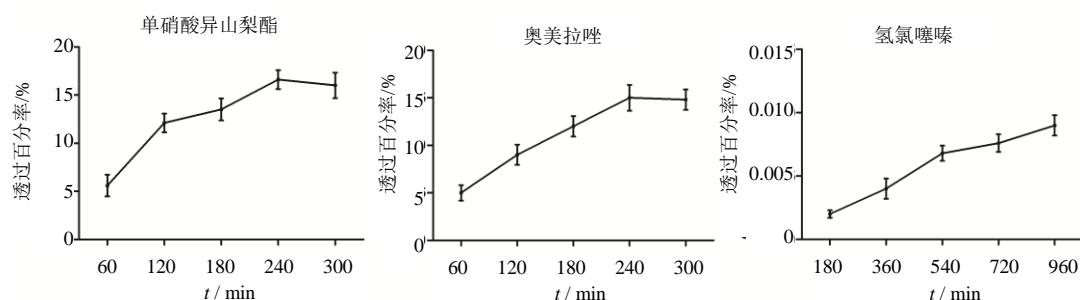
荧光素钠主要由细胞旁路进入细胞,一般被用于检测细胞的完整性,文献规定荧光素钠透过小于0.6%/(h·cm²)^[14]即细胞膜完整。在此利用其检测人工渗透膜是否有泄露。根据公式(3)求得荧光素钠累积透过量为0.47%/(h·cm²),小于文献规定的数值,证明本研究建立的人工渗透膜完整。

3.2 基于PAMPA优化DDASS法的药物渗透性研究

从图2可以看出单硝酸异山梨酯和奥美拉唑4 h时达到渗透平衡,氢氯噻嗪在16 h内未达到平衡,因此将极值(16 h)设置为平衡时间^[16]。Avdeef等^[17]做了大量药物的PAMPA渗透性实验,发现 P_{app} 值大于 2×10^{-6} cm/s的药物属于高渗透性药物。经此标准判断,单硝酸异山梨酯和奥美拉唑是高渗透性药物,氢氯噻嗪渗透性较差,经时渗透曲线见图2,3种药物的 P_{app} 见表3。

3.3 大鼠在体单向肠灌流实验

小肠上部被认为具有较高的药物吸收能力,因

图2 单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪基于PAMPA优化DDASS法的透过百分率($n=3$)Fig. 2 Percentage of permeability of isosorbide mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide based on PAMPA optimized DDASS method ($n=3$)表3 单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪基于PAMPA优化DDASS法的 P_{app} ($n=3$)Table 3 P_{app} value of isosorbide mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide based on PAMPA optimized DDASS method ($n=3$)

药物	$P_{app}/(10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$
单硝酸异山梨酯	3.644 ± 0.291
奥美拉唑	2.391 ± 0.020
氢氯噻嗪	0.129 ± 0.032

此本实验选择十二指肠来研究单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪的吸收程度^[18-19]。文献指出肠灌流实验中如果 P_{eff} 小于 $0.2\times 10^{-4} \text{ cm/s}$,则吸收不完全;当 P_{eff} 超过此值时,药物可以被完全吸收^[20]。大鼠在体单向肠灌流实验结果表明单硝酸异山梨酯、奥美拉唑属于高渗透性药物,氢氯噻嗪属于低渗透性药物,见表4。

表4 单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪基于大鼠在体单向肠灌流的 K_a 和 P_{eff} ($n=6$)Table 4 K_a and P_{eff} of isosorbide mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide based on single-pass intestinal perfusion in rats ($n=6$)

药物	$K_a/(10^{-5}\cdot\text{s}^{-1})$	$P_{eff}/(10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$
单硝酸异山梨酯	32.66 ± 2.88	37.69 ± 2.67
奥美拉唑	31.02 ± 2.82	33.72 ± 5.02
氢氯噻嗪	17.07 ± 5.24	14.37 ± 1.66

3.4 药物体内 F_a 预测

根据公式(6)求得三者的 F_a 如表5所示。从表5中可以看出预测值与实际值之间的关系呈正相关,说明基于PAMPA优化DDASS法来预测 F_a 具有一定参考价值。

表5 单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪体内 F_a Table 5 F_a in vivo of isosorbide-mononitrate, omeprazole and hydrochlorothiazide(%)

药物	F_a 预测值/%	F_a 实际值/%
单硝酸异山梨酯	95.36	103 ^[21]
奥美拉唑	65.76	64 ^[22]
氢氯噻嗪	5.615	30.5 ^[23]

4 讨论

4.1 基于PAMPA优化DDASS法的优势

生物药剂学分类系统(biopharmaceutics classification system, BCS)是1995年由Amidon等^[24]首先提出的,是按照药物的水溶性和肠道渗透性将药品进行分类的一个科学的框架系统。药物按照BCS共分成4类:BCSI类(高溶解-高渗透)、BCSII类(低溶解-高渗透)、BCS III类(高溶解-低渗透)、BCS IV类(低溶解-低渗透)^[25]。2016年我国CFDA颁布《人体生物等效性试验豁免指导原则》^[26],BCS I类药物为主要豁免对象。原则规定,对于BCS I类药物,如果证明其高溶解度,高渗透性,仿制制剂与参比制剂均能快速溶出,并且制剂中不含有影响主药成分吸收速率和吸收程度的任何辅料,即可申请生物等效性豁免,其中需要高渗透性数据支持,目前药物渗透性考察多采用大鼠肠灌流、Caco-2细胞膜、PAMPA等方法。与大鼠肠灌流方法相比,PAMPA省去了动物饲养过程,提高了实验效率;与Caco-2方法相比,PAMPA省去了细胞培养的过程,更方便并节约经费,并可接受更广泛的pH范围和更高的DMSO含量(高达5%),更广泛的pH范围更适于模拟生理环境,较高的DMSO含量可以增加样品溶解度,使后期分析工作更易于进行。但由于PAMPA三层模型由人工脂质膜和屏障两侧的两个未搅动的水层组成,形成不流动水层,渗透性结

果明显低于实际值^[16]。本课题组把 DDASS 和 PAMPA 模型相结合,以扩散池作为载体,新的 PAMPA 三层模型供体侧和受体侧不断有气体进入,降低了不流动水层的厚度,更利于模拟连续的动态生理过程^[16],并可随时更换供给侧和接收侧溶液,为 DDASS 后期优化增加可能性。

4.2 基于 PAMPA 优化 DDASS 法对不同 BCS 分类药物的渗透性考察

本课题组基于 PAMPA 优化 DDASS 法对三者进行渗透性考察,得到的单硝酸异山梨酯、奥美拉唑与氢氯噻嗪 P_{app} 分别为 $(3.644 \pm 0.291) \times 10^{-6}$ 、 $(2.391 \pm 0.020) \times 10^{-6}$ 、 $(0.129 \pm 0.032) \times 10^{-6}$ cm/s, 基于大鼠在体肠灌注模型考察三者 P_{eff} 分别是 $(37.69 \pm 2.67) \times 10^{-5}$ 、 $(33.72 \pm 5.02) \times 10^{-5}$ 、 $(14.37 \pm 1.66) \times 10^{-5}$ cm/s。文献表明,在 PAMPA 模型下, P_{app} 值大于 2×10^{-6} cm/s 的药物属于高渗透性药物^[19];在大鼠肠灌注模型下如果得到的 P_{eff} 小于 0.2×10^{-4} cm/s,则吸收不完全;当 P_{eff} 超过此值时,药物可以被完全吸收^[20]。根据判定标准,单硝酸异山梨酯、奥美拉唑和氢氯噻嗪分别被归为 BCS I、II、III 类,两者在两种模型下渗透性分类一致,并均符合 FDA 对三者的 BCS 分类。

4.3 基于 PAMPA 优化 DDASS 法对 F_a 的预测

F_a 是评价药品质量的重要指标,与药物疗效密切相关,特别是治疗指数窄、剂量小、溶解度小和急救用的药物,其改变对临床疗效的影响尤为严重,而当 F_a 过高时,可导致中毒,甚至危及生命。基于 PAMPA 优化 DDASS 法可以对 F_a 的趋势进行基本预测,进行药物临床前研究可以预测疗效、降低风险。

Zhu 等^[13] 基于 PAMPA 做了大量药物吸收预测实验,得出当药物 P_{app} 小于 3×10^{-6} cm/s 时,两者呈现正相关的趋势, P_{app} 大于 3×10^{-6} cm/s 时, F_a 约为 80%。

PAMPA 优化 DDASS 法可以对单硝酸异山梨酯和奥美拉唑这两种高渗透性药物的 F_a 进行准确预测,但氢氯噻嗪 F_a 预测值误差较大,究其原因,可能是本研究使用单一成分作为模型药物,而文献中 F_a 是基于制剂所得到的,由于各药厂制药规范不同,临床中使用的不同厂家氢氯噻嗪片的 F_a 差别很大。文献报道部分不同厂家不同批次的氢氯噻嗪片生物利用度为 30.53%、52.39%、77.7%,有的厂家甚至能高达 95.09%^[23],疗效不均一。本研究对氢氯噻嗪预测的 F_a 值很低,根本原因是该成分本身跨膜能力差,针对 F_a 预测值低的药物,目前可通过改良制剂工艺和给药途径的方式提高口服体内吸收程度。

本研究基于 PAMPA 优化 DDASS 法建立了 P_{app} 与其渗透性类别的相关性,实验过程简单方便、节约资源,并能较好的预测 F_a ,为仿制药申请生物等效性豁免及为创新药物口服生物利用度研究提供了可靠的体外预测平台。

参考文献

- [1] Kobayashi M, Sada N, Sugawara M, et al. Development of a new system for prediction of drug absorption that takes into account drug dissolution and pH change in the gastro-intestinal tract [J]. Int J Pharm, 2001, 221(1/2): 87-94.
- [2] He X. An *in vitro* system for prediction of oral absorption of relatively water-soluble drugs and ester prodrugs [J]. Int J Pharm, 2003, 263(1/2): 35-44.
- [3] He X, Kadomura S, Takekuma Y, et al. A new system for the prediction of drug absorption using a pH-controlled Caco-2 model: Evaluation of pH-dependent soluble drug absorption and pH-related changes in absorption [J]. J Pharm Sci, 2004, 93(1): 71-77.
- [4] Sugawara M, Kadomura S, He X, et al. The use of an *in vitro* dissolution and absorption system to evaluate oral absorption of two weak bases in pH-independent controlled-release formulations [J]. Eur J Pharm Sci, 2005, 26(1): 1-8.
- [5] 李自强, 刘志东, 顾慧, 等. 药物溶出/吸收仿生系统研究丹酚酸 B 缓释片释放规律 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(5): 367-373.
- [6] 祝诚诚, 李自强, 刘志东, 等. 药物溶出仿生系统研究黄芩苷固体制剂的释放规律 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(1): 11-20.
- [7] Li Z Q, He X, Gao X M, et al. Study on dissolution and absorption of four dosage forms of isosorbide mononitrate: Level A *in vitro* - *in vivo* correlation [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 79(2): 364-371.
- [8] Stenberg P, Bergstrom C A S, Luthman K, et al. Theoretical predictions of drug absorption in drug discovery and development [J]. Clin Pharmacokinet, 2002, 41(11): 877-899.
- [9] Avdeef A. The rise of PAMPA [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2005, 1(2): 325-342.
- [10] Galinis-Luciani D, Nguyen L, Yazdani M. Is PAMPA a useful tool for discovery? [J]. J Pharm Sci, 2007, 96(11): 2886-2892.
- [11] Sugano K, Hamada H, MacHida M, et al. Optimized conditions of bio-mimetic artificial membrane permeation assay [J]. Int J Pharm, 2001, 228(1/2): 181-188.

- [12] Di L, Kerns E H, Fan K, et al. High throughput artificial membrane permeability assay for blood - brain barrier [J]. Eur J Med Chem, 2003, 38(3): 223-232.
- [13] Zhu C Y, Jiang L, Chen T M, et al. A comparative study of artificial membrane permeability assay for high throughput profiling of drug absorption potential [J]. Eur J Med Chem, 2002, 37(5): 399-407.
- [14] Raub T J. Signal transduction and glial cell modulation of cultured brain microvessel endothelial cell tight junctions [J]. Am J Physiol, 1996, 271(2): C495-C503.
- [15] Amidon G L, Sinko P J, Fleisher D. Estimating human oral fraction dose absorbed, a correlation using rat intestinal membrane permeability for passive and carriermediated compounds [J]. Pharm Res, 1988, 5: 651-654.
- [16] 彭婷婷. 利用中空纤维膜测定口服药物的生物膜渗透性系数 [D]. 天津: 天津大学, 2009.
- [17] Avdeef A, Bendels S, Di L I, et al. PAMPA: critical factors for better predictions of absorption [J]. J Pharm Sci, 2007, 96(11): 2893-2909.
- [18] Kang M J, Kim H S, Jeon H S, et al. *In situ* intestinal permeability and *in vivo* absorption characteristics of olmesartan medoxomil in self-microemulsifying drug delivery system [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2012, 38(5): 587-596.
- [19] Xie Y, Zeng X L, Li G W, et al. Assessment of intestinal absorption of total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. in rat using *in situ* absorption models [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2010, 36(7): 787-794.
- [20] Fagerholm U, Johansson M, Lennernas H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. Pharm Res, 1996, 13(9): 1336.
- [21] Cayen M N, Hicks D, Karounis J, et al. Absorption and excretion of isosorbide dinitrate and isosorbide-2-mononitrate in dogs [J]. J Pharm Pharmacol, 1983, 35(5): 312-316.
- [22] Andersson T, Andrén K, Cederberg C, et al. Bioavailability of omeprazole as enteric coated (EC) granules in conjunction with food on the first and seventh days of treatment [J]. Drug Invest, 1990, 2(3): 184-188.
- [23] 陆明盛, 吴光辰, 陆振达, 等. 氢氯噻嗪片在人体内的相对生物利用度的研究 [J]. 南京药学院学报, 1983(1): 55-60.
- [24] Amidon G L, Lennernas H, Shah V P, et al. A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability [J]. Pharm Res, 1995, 12(3): 413-420.
- [25] Food and Drug Administration. Guidance for industry: waiver of *in vitro* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system[S]. 2000.
- [26] 国家食品药品监督管理总局. 总局发布《人体生物等效性试验豁免指导原则》[S]. 2016.