

高乌甲素自胶束化固体分散体缓释片的制备、药动学及毒动学研究

王 丽¹, 王 凯¹, 韩淑华¹, 刘广辉¹, 高小玲^{2*}, 宋沛然³, 薛佳琦¹

1. 商丘医学高等专科学校, 河南 商丘 476000

2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

3. 河南大学附属南石医院, 河南 南阳 473001

摘要: 目的 制备高乌甲素自胶束化固体分散体缓释片 (lappaconitine-self-micellizing solid dispersion sustained-release tablets, Lap-SMSD-SRT), 考察其体内药动学及毒动学。方法 溶剂挥发法制备 Lap-SMSD 粉末, 研究其基本理化性质。单因素实验考察羟丙基甲基纤维素 (hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC) K4M、羧甲基淀粉钠 (carboxymethyl starch Na, CMS-Na) 和乳糖用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响。采用 Lap-SMSD-SRT 在 2、6、12 h 累积释放率综合评分为响应值, Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Lap-SMSD-SRT 处方。比较氢溴酸高乌甲素片、高乌甲素普通片和 Lap-SMSD-SRT 的体外释药行为。取 6 只 Beagle 犬, 采用 3 周期交叉试验考察药动学行为, 计算 Lap-SMSD-SRT 的相对生物利用度。设置 Lap-SMSD-SRT 低、中、高 (0.75、1.50、2.25 mg/kg) 3 个剂量组, 给药期和恢复期均为 4 周, 比较首次和末次给药后血浆中高乌甲素含量, 计算毒动学参数。观察动物生活状态, 检查血液学和生化指标。结果 Lap-SMSD 中聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus) 和高乌甲素用量比为 5:1, 分散于水中可迅速形成粒径为 (29.44±2.01) nm 的胶束。Lap-SMSD-SRT 最佳处方: HPMC K4M 用量为 19.09%, CMS-Na 用量为 15.59%, 乳糖用量为 22.63%。Lap-SMSD-SRT 在 2、6、12 h 累积释放率分别为 26.50%、61.67%和 93.67%。药动学结果显示, Lap-SMSD-SRT 达峰时间 ($t_{\max}$) 延后至 (6.20±1.61) h, 半衰期 ($t_{1/2}$) 延长至 (9.13±2.64) h, 达峰浓度 ($C_{\max}$) 增加至 (123.94±46.77) ng/mL, Lap-SMSD-SRT 相对生物利用度提高至 5.21 倍。Lap-SMSD-SRT 各剂量在 Beagle 犬体内均未见明显的高乌甲素蓄积现象。Lap-SMSD-SRT 中、高剂量组可能对血液系统和肝脏有轻微影响, 4 周恢复期症状消失。结论 Lap-SMSD-SRT 工艺重复性良好, 缓释特征明显, 显著促进了高乌甲素体内吸收, 使用安全性良好。

关键词: 高乌甲素; 自胶束化固体分散体; 缓释片; Box-Behnken 设计-响应面法; 生物利用度; 药动学; 毒动学

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)17-6766-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.17.010

Preparation, pharmacokinetics and toxicokinetics study of lappaconitine-self-micellizing solid dispersion sustained-release tablets

WANG Li¹, WANG Kai¹, HAN Shuhua¹, LIU Guanghui¹, GAO Xiaoling², SONG Peiran³, XUE Jiaqi¹

1. Shangqiu Medical College, Shangqiu 476000, China

2. Henan University of Traditional Chinese medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Henan University's affiliated Nanshi Hospital, Nanyang 473001, China

Abstract: Objective Lappaconitine-self-micellizing solid dispersion sustained-release tablets (Lap-SMSD-SRT) was prepared, and investigated its pharmacokinetics and toxicokinetics *in vivo*. **Methods** Lap-SMSD powder was prepared by solvent evaporation method, and its basic physicochemical properties were also studied. The influence of hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) K4M dosage, carboxymethyl starch sodium (CMS-Na) dosage and lactose dosage on the drug release behavior of Lap-SMSD-SRT were investigated by single factor experiments. Composite score of cumulative release rate at 2, 6, 12 h was used as response value, Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM) was employed to optimize formulation of Lap-SMSD-SRT. The release behavior of lappaconitine hydrobromide tablets, lappaconitine tablets and Lap-SMSD-SRT were compared. Six beagle dogs were used

收稿日期: 2026-02-24

基金项目: 2024 年度河南省科技攻关项目 (242102110111)

作者简介: 王 丽 (1979—), 女, 硕士, 副教授, 主要从事临床药学与毒理研究。E-mail: maomao0492@163.com

*通信作者: 高小玲 (1981—), 女, 博士, 教授, 主要从事中医药研究。E-mail: gxling2005@163.com

to study the pharmacokinetic behavior by a three-period crossover trial, and the relative bioavailability of Lap-SMSD-SRT was calculated. Three level of low, medium, high (0.75, 1.50, 2.25 mg/kg) dose groups of Lap-SMSD-SRT were set up, and compared the plasma concentration of lappaconitine after the first and last administration with a 4-week dosing period and a 4-week recovery period. Then the toxicokinetic parameters were calculated. The living condition of Beagle dogs was observed, and the hematology and biochemical indexes were also examined. **Results** The dosage ratio of polyvinyl caprolactam-polyvinyl acetate-polyethylene glycol graft co-polymer (Soluplus) to lappaconitine in Lap-SMSD powder was 5:1, and quickly became into micelles with particle size of (29.44 ± 2.01) nm when dispersed in water. Optimal formulation of Lap-SMSD-SRT: HPMC K4M dosage was 19.09%, CMS-Na dosage was 15.59%, and lactose dosage was 22.63%. The cumulative release rate of Lap-SMSD-SRT at 2, 6, 12 h were 26.50%, 61.67% and 93.67%, respectively. Pharmacokinetic results showed that the peak time ($t_{\max}$) of Lap-SMSD-SRT was delayed to (6.20 ± 1.61) h, the half-life ($t_{1/2}$) was prolonged to (9.13 ± 2.64) h, the peak concentration ($C_{\max}$) was enhanced to (123.94 ± 46.77) ng/mL, and the relative bioavailability was enhanced to 5.21-fold. No significant accumulation of lappaconitine was observed in Beagle dogs at each dose of Lap-SMSD-SRT. There might be slight effect on the blood system and liver in the medium-dose and high-dose groups of Lap-SMSD-SRT, but these symptoms disappeared during the 4-week recovery period. **Conclusion** The preparation process of Lap-SMSD-SRT was reproducible, and the formulation exhibited obvious sustained-release characteristics, significantly enhanced the *in vivo* absorption of lappaconitine, and showed good safety.

Key words: lappaconitine; self-micellizing solid dispersion; sustained-release tablets; Box-Behnken design-response surface method; bioavailability; pharmacokinetics; toxicokinetics

疼痛是日常生活及临床中最常见的疾病, 临床使用的镇痛药有非甾体抗炎药、阿片类镇痛药等, 但反复使用易引起镇静、恶心和呕吐、成瘾、昏迷、呼吸抑制等不良反应^[1]。天然植物中镇痛类成分不良反应往往相对较小, 且无成瘾性, 因而更具有开发价值。高乌甲素属于二萜类生物碱, 主要从毛茛科乌头属植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 根中提取得到, 毒性约为乌头碱的 1/70, 是二萜类生物碱中毒性最低的成分^[2]。

高乌甲素具有显著的镇痛、麻醉、抗炎等作用, 主要用于轻中度疼痛的治疗, 如坐骨神经痛、癌痛、术后疼痛等^[3]。但高乌甲素溶解度仅 $14.32 \mu\text{g/mL}$ ^[4], 溶出度较低, 且体内易降解^[5], 导致小鼠口服生物利用度仅 1.5%~2.5%^[5]。将高乌甲素成盐制成氢溴酸高乌甲素, 极大地提高了高乌甲素溶解度及溶出度, 但由于血药浓度波动较大, 可能加剧了高乌甲素的不良反应^[6], 还需对其盐型稳定性、副产物等进行监控, 增加了质量控制难度。因此, 提高高乌甲素生物利用度、降低不良反应, 是拓展高乌甲素临床应用需要重点解决的问题。缓释制剂可有效控制药物缓慢释放、抑制血药浓度的波动等^[7], 因而将高乌甲素制备成缓释片有助于减少不良反应。付金芳等^[8]采用大豆卵磷脂和单硬脂酸甘油酯为脂质载体, 泊洛沙姆 188 为表面活性剂, 将高乌甲素制备成脂质纳米粒, 进而制备成缓释片, 但该处方中辅料种类多, 增加了大规模生产及质量控制难度。

自胶束化固体分散体 (self-micellizing solid

dispersion, SMSD) 是近几年纳米制剂的研究热点, 系采用两亲性聚合物为载体, 而制得的一种固体粉末, 分散于水相时两亲性聚合物可携带药物自发形成纳米胶束, 从而改善药物溶解度、溶出度及生物利用度^[9]。SMSD 制备过程类似于固体分散体, 处方工艺简单, 易于质量控制。聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus) 是一种两亲性表面活性剂, 粉末流动性良好, 安全性高^[9]。本研究使用 Soluplus 作为载体, 采用溶剂挥发法制备高乌甲素 SMSD (lappaconitine-SMSD, Lap-SMSD)。考虑到高乌甲素具有一定的毒性, 为防止 Lap-SMSD 引起高乌甲素血药浓度剧烈波动, 故使用缓释技术来控制释药^[8]。亲水性凝胶骨架缓释片简称缓释片, 在国内已实现工业化生产, 推广难度较低。缓释片可降低给药频率、降低不良反应、提高患者顺应性等^[10], 故本研究使用羟丙基甲基纤维素 (hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC) 作为缓释材料, 进一步制备 Lap-SMSD 缓释片 (Lap-SMSD sustained-release tablets, Lap-SMSD-SRT)。以自制高乌甲素普通片和上市品氢溴酸高乌甲素片为对照, 比较 Lap-SMSD-SRT 的释药行为及口服药动学行为。对 Lap-SMSD-SRT 进行毒动学研究, 评价其使用安全性。期望通过本研究为高乌甲素制剂革新提供新策略, 也为新型缓释制剂研发提供新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Quintix 125D 型电子天平, 精度 0.01 mg, 赛多

利斯科学仪器(北京)有限公司; TR-3L 型旋转蒸发仪, 上海泰坦科技股份有限公司; SCQ-5210B 型超声仪, 上海声彦超声波仪器有限公司; NX-2R 型高速离心机, 鼎昊源(天津)生物科技有限公司; LC-2010CHT 型高效液相色谱仪, 日本岛津公司; API3000 型三重四极杆液质联用仪, 美国 AB SCIEX 公司; BP40 型压片机, 北京格瑞德曼仪器设备有限公司; APD-2000 PRO 型粉末 X 射线衍射仪, 北京利曼科技有限公司; JEM-200 型透射电子显微镜, 日本电子株式会社; RCZ-8B 型智能溶出试验仪, 上海本昂科学仪器有限公司; HSC-12/24B 型氮吹仪, 天津市恒奥科技发展有限公司。

1.2 材料与动物

高乌甲素对照品, 批号 220527, 质量分数 98.0%, 曼斯特(成都)生物科技有限公司; 客西茄碱对照品, 批号 20230915, 质量分数 98.5%, 上海甄准生物科技有限公司; 高乌甲素原料药, 批号 20220701, 质量分数 97.5%, 黄石荆晟生物科技有限公司; 羧甲基淀粉钠(carboxymethyl starch Na, CMS-Na), 批号 20220528, 金华市佰康生物工程有限公司; 乳糖, 批号 220902, 湖南九典制药股份有限公司; Soluplus, 批号 38830216K0, 德国巴斯夫公司; 羟丙基甲基纤维 K4M (HPMC K4M), 批号 20220216, 陕西昌吉辅生物科技有限公司; 硬脂酸镁, 批号 202101, 山东聊城阿华制药股份有限公司; 氢溴酸高乌甲素片, 批号 20241120, 广西梧州神农药业有限公司。Beagle 犬, 雌雄各半, 体质量 9.0~10.8 kg, 河南省动物实验中心[许可证号 SCXK(豫)2020-0001] 提供。动物实验遵循商丘医学高等专科学校有关实验动物管理和使用的规定, 动物伦理批准号为 LL-2024-009。

2 方法与结果

2.1 Lap-SMSD 和 Lap-SMSD-SRT 的制备

2.1.1 Lap-SMSD 的制备工艺 取 Soluplus 粉末 1.0 g、处方量高乌甲素原料药和 80 mL 无水乙醇, 一同置于茄形瓶中, 于 50 °C 水浴中 600 r/min 磁力搅拌 3 h。减压旋蒸至干, 即得白色粉末。加入纯化水中振荡复溶, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 除去未形成 Lap-SMSD 的高乌甲素, 将续滤液于 -50 °C 冰箱中预冻后直接冻干, 即得 Lap-SMSD 粉末。

2.1.2 Lap-SMSD-SRT 的制备工艺 固定 Lap-SMSD-SRT 中 Lap-SMSD 处方量为 45.5 mg/片(高乌甲素含量为 7.5 mg/片)。Lap-SMSD 粉末、HPMC

K4M、CMS-Na 及乳糖等均过 80 目筛, 等量递加混匀后加入 1%硬脂酸镁, 采用粉末直接压片法制备 Lap-SMSD-SRT。使用空白 Soluplus 代替 Lap-SMSD 粉末制备阴性样品。Lap-SMSD-SRT 硬度为 (50±5) N, 片质量 0.4 g/片。

2.2 高乌甲素含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax XDB C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(稀磷酸调 pH 值至 4.0)-甲醇 (65:35); 检测波长为 252 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL。理论塔板数以高乌甲素计不低于 5 500。

2.2.2 线性关系考察 取高乌甲素对照品, 使用甲醇为溶剂配制成质量浓度为 400 μg/mL 的溶液, 作为对照品储备液。使用 0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(稀磷酸调 pH 值至 4.0)-甲醇混合溶剂 (65:35) 作为稀释溶剂, 配制成质量浓度分别为 8.00、4.00、2.00、0.50、0.25、0.05 μg/mL 系列溶液, 作为高乌甲素对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定各质量浓度(X)高乌甲素的峰面积(Y), 进行线性回归, 得标准曲线回归方程为 $Y=26.1627X+0.0821$, $r=0.9999$, 结果表明高乌甲素线性范围为 0.05~8.00 μg/mL。

2.2.3 Lap-SMSD-SRT 供试品溶液的制备 取 15 片 Lap-SMSD-SRT, 置于研钵中敲碎后研细, 称取粉末 0.4 g 至 100 mL 量瓶中, 加入 80 mL 甲醇, 振荡使之成混悬状态, 超声 20 min, 放置 10 min 后甲醇定容, 摇匀, 得混悬液。取适量混悬液使用 0.45 μm 有机微孔滤膜滤过, 精密吸取 2.5 mL 续滤液至 50 mL 量瓶中, 加 0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(稀磷酸调 pH 值至 4.0)-甲醇混合溶剂 (65:35) 稀释定容。

2.2.4 专属性考察 取阴性样品(不含高乌甲素)和 Lap-SMSD-SRT, 按照“2.2.3”项下方法分别制备阴性样品溶液和供试品溶液。另取高乌甲素对照品溶液 (2.00 μg/mL), 均按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 结果见图 1。结果表明 Soluplus、HPMC 等辅料不干扰高乌甲素色谱峰, 专属性较高。

2.2.5 精密度考察 精密吸取按照“2.2.3”项下方法制备的质量浓度分别为 8.00、2.00、0.05 μg/mL 的高乌甲素对照品溶液, 分别连续进样测试 6 次, 高乌甲素峰面积的 RSD 分别为 0.64%、0.38%、0.74%, 结果表明该仪器系统精密度良好。

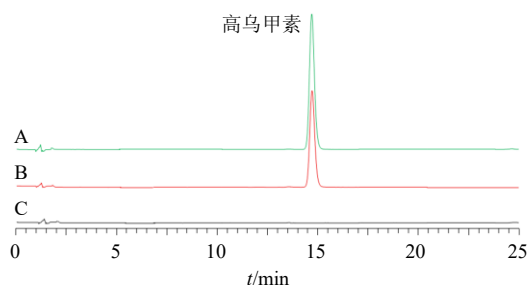


图 1 高乌甲素对照品溶液 (A)、Lap-SMSD-SRT 供试品溶液 (B) 和阴性样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of lappaconitine reference substance (A), Lap-SMSD-SRT solution (B) and negative sample (C)

2.2.6 稳定性考察 取 Lap-SMSD-SRT 供试品溶液置于室温, 分别于制备后 0、2、4、6、12、24 h 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定 Lap-SMSD-SRT 供试品溶液中高乌甲素含量, 其 RSD 为 1.13%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 取 Lap-SMSD-SRT, 按照“2.2.3”项下方法制备 6 份 Lap-SMSD-SRT 供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定。根据 Lap-SMSD-SRT 实际称样量, 计算得到高乌甲素质量分数的 RSD 为 1.54%, 结果表明, 该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率考察 取已测知高乌甲素含量的 Lap-SMSD-SRT, 敲碎后研细, 取粉末 0.2 g, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分为高、中、低 3 组, 每组 3 份。根据 Lap-SMSD-SRT 中高乌甲素标示量, 分别加入 120%、100%和 80%高乌甲素对照品, 按照“2.2.3”项下方法操作后, 测定高乌甲素总含量。结果显示, 高乌甲素的平均加样回收率为 99.27%, RSD 为 1.73%, 结果表明该实验准确度较高。

2.3 Lap-SMSD 的制备

称取不同用量比的 Soluplus 粉末和高乌甲素原料药, 按照“2.1.1”项下方法制备 Lap-SMSD。取 Lap-SMSD 适量 (高乌甲素含量为 10 mg), 设定溶出介质为 1.0 L 纯化水, 介质温度为 37 °C, 搅拌桨转速为 75 r/min, 取样点分别为 10、15、20、30、60、90、120 min, 取样体积和补液体积均为 5 mL。0.45 μm 微孔滤膜滤过后测定高乌甲素质量浓度, 根据取样时间绘制溶出曲线, 结果见图 2。Soluplus 和高乌甲素用量比为 4 : 1 时, Lap-SMSD 累积释放率较低, 两者用量比增加至 5 : 1、6 : 1 时, Lap-SMSD 在 120 min 累积释放率无明显差别, 为获得

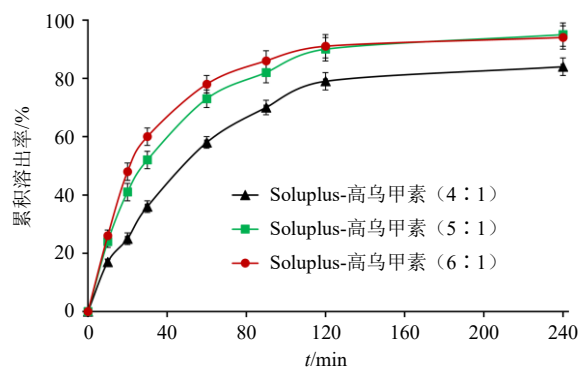


图 2 Soluplus 与高乌甲素用量比对 Lap-SMSD 溶出度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of Soluplus and lappaconitine dosage ratio on dissolution rate of Lap-SMSD ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

较高质量分数的 Lap-SMSD, 故选择 Soluplus 和高乌甲素用量比为 5 : 1 来制备 Lap-SMSD。故确定高乌甲素在 Lap-SMSD 粉末中质量分数为 16.50%。

2.4 Lap-SMSD 理化性质研究

2.4.1 Lap-SMSD 自胶束化性质考察 取 Lap-SMSD 粉末分散于纯化水中, 振荡后即可形成胶束混悬液 (图 3-A), 使用激光笔侧面照射, 可观察到丁达尔现象 (图 3-B), 证明 Lap-SMSD 混悬液是一种胶体分散体系。取 Lap-SMSD 混悬液置于粒度分析仪中, 测得平均粒径、多分散系数 (polydispersity index, PDI) 和 ζ 电位分别为 (29.44 ± 2.01) nm、 0.075 ± 0.008 和 (-23.19 ± 1.58) mV, 粒径分布及 ζ 电位见图 4。

2.4.2 Lap-SMSD 混悬液的透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 将 Lap-SMSD 混悬液滴至铜网上, 2%磷酸钠染色, 晾干, 于 TEM 下观察 Lap-SMSD 混悬液的微观形态, 结果见图 5。Lap-SMSD 形成胶束的基本形态为近似球形, 粒径远小于 50 nm。

2.4.3 Lap-SMSD 的 X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD) 采用 Cu-Kα 靶, XRPD 测试

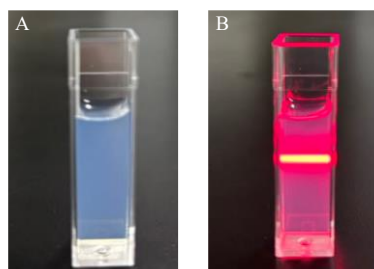


图 3 Lap-SMSD 混悬液 (A) 及其丁达尔现象 (B)

Fig. 3 Lap-SMSD suspension (A) and its Tyndall phenomenon (B)

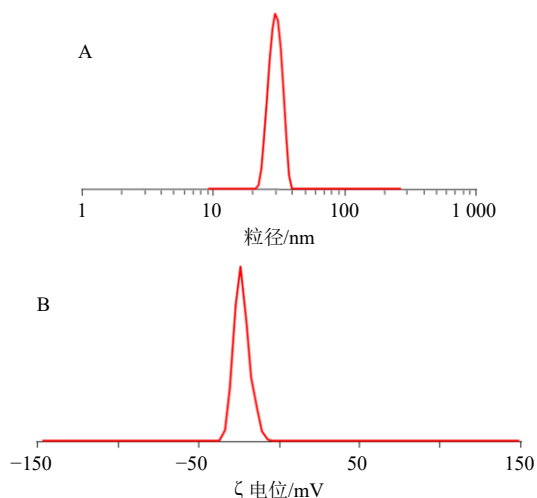


图 4 Lap-SMSD 混悬液的粒径分布 (A) 和 ζ 电位 (B)
Fig. 4 Particle size distribution (A) and ζ potential (B) of Lap-SMSD suspension

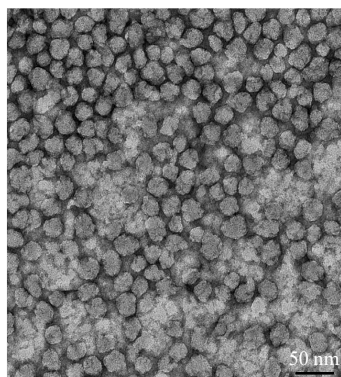


图 5 Lap-SMSD 混悬液的 TEM 图
Fig. 5 TEM picture of Lap-SMSD suspension

范围为 $3^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 。取高乌甲素原料药、Soluplus、物理混合物 (Soluplus 和高乌甲素用量比为 5:1) 和 Lap-SMSD 粉末适量分别测试 XRPD, 结果见图 6。高乌甲素在 5.2° 、 9.6° 、 10.0° 、 13.2° 、 17.7° 、 18.2° 、 19.0° 、 19.6° 、 25.3° 等处出现特征晶型衍射峰, 而 Soluplus 无任何晶型峰, 说明高乌甲素和 Soluplus 分

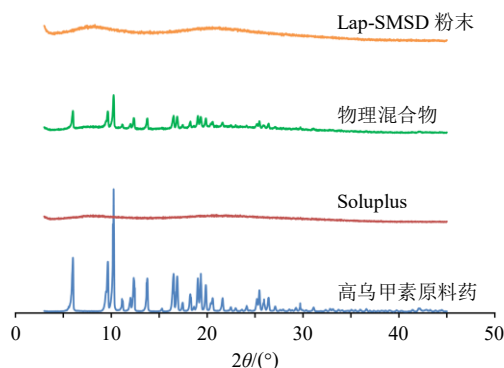


图 6 各样品的 XRPD 结果
Fig. 6 XRPD results of every sample

别属于典型的晶型物质和无定形物质。在物理混合物 XRPD 图谱中仍可见高乌甲素晶型峰, 晶型强度有所下降, 可能是由于 Soluplus 对高乌甲素晶型有抑制作用。Lap-SMSD 粉末 XRPD 图谱中仅显现 Soluplus 的基本轮廓, 证明高乌甲素在 Lap-SMSD 粉末中晶型状态发生改变。

2.4.4 高乌甲素原料药和 Lap-SMSD 粉末饱和溶解度的测定 取过量高乌甲素原料药和 Lap-SMSD 粉末, 置于 5 mL 蒸馏水中, 避光条件下超声 30 min (功率为 200 W、频率为 37 kHz), 超声过程中加入相应样品以保持过量。置于 25°C 恒温振荡器中, 2 d 后取出, $8\,500\text{ r/min}$ 离心 (离心半径 6.8 cm) 10 min, 取上清液, 测定各样品中高乌甲素饱和溶解度。高乌甲素原料药和 Lap-SMSD 粉末中高乌甲素饱和溶解度分别为 (13.88 ± 0.07) 、 $(313.17\pm 4.68)\mu\text{g/mL}$, Lap-SMSD 将高乌甲素饱和溶解度提高至 22.56 倍。

2.5 Lap-SMSD-SRT 释药行为考察

使用 1.0 L 纯化水作为释药介质, 介质温度为 $(37.0\pm 0.2)^{\circ}\text{C}$, 将 Lap-SMSD-SRT 同时放入溶出杯中, 立即计时, 搅拌桨转速为 75 r/min, 于 0、1、2、4、6、8、10、12 h 取样 5 mL, 补加 5 mL 纯化水, 使释药介质体积恒定在 1.0 L。将取样样品 $8\,500\text{ r/min}$ 离心 10 min (离心半径 6.8 cm), 测定上清液中高乌甲素含量, 根据取样时间点及其累积释放率绘制 Lap-SMSD-SRT 释药曲线。

2.6 单因素考察 Lap-SMSD-SRT 处方工艺

2.6.1 缓释材料 HPMC 型号对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响 Lap-SMSD 处方量为 45.5 mg/片, HPMC、CMS-Na 和乳糖用量分别为 20%、15%、20%, 添加 MCC 补充剂至 0.4 g/片, 分别考察 HPMC 型号对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响, 结果见图 7。相对分子质量大小顺序为 HPMC K15M>HPMC K4M>HPMC K100LV, 相对分子质量越大, 形成凝胶层致密性越高, 释药阻力就越大^[1]。HPMC K100LV 或 HPMC K15M 作为缓释材料时释药速率过快或过慢, 对 Lap-SMSD 的控释作用不佳。HPMC K4M 相对分子质量相对适中, 控释效果优于 HPMC K100LV 或 HPMC K15M, 故选 HPMC K4M 作为 Lap-SMSD-SRT 缓释材料。

2.6.2 HPMC K4M 用量的考察 Lap-SMSD 处方量为 45.5 mg/片, CMS-Na 和乳糖用量分别为 15% 和 20%, 添加 MCC 补充剂至 0.4 g/片, 分别考察

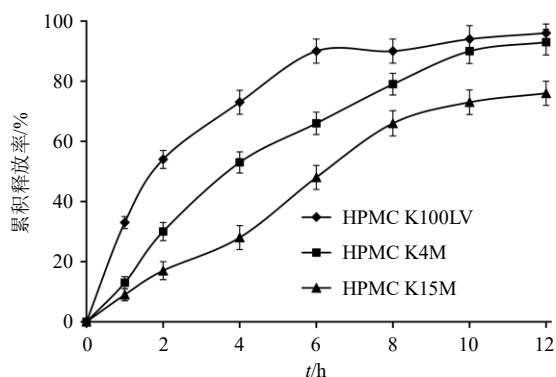


图 7 HPMC 不同型号的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 7 Study of different kinds of HPMC ($\bar{x} \pm s, n=3$)

HPMC K4M 用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响, 结果见图 8。HPMC K4M 用量直接影响到凝胶层致密度及厚度, HPMC K4M 用量越大产生阻滞作用越大, 导致 Lap-SMSD-SRT 释药速率及累积释放率越低。可见 HPMC K4M 用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为影响较大, 后续对其用量 15%~25% 继续优化。

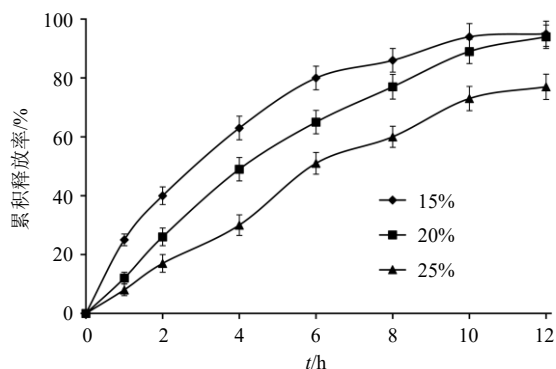


图 8 HPMC K4M 用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 8 Study of HPMC K4M dosage ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.6.3 CMS-Na 用量的考察 Lap-SMSD 处方量为 45.5 mg/片, HPMC K4M 和乳糖用量分别为 20% 和 20%, 添加 MCC 补充剂至 0.4 g/片, 分别考察 CMS-Na 用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响, 结果见图 9, Lap-SMSD-SRT 释药速率和累积释放率随着 CMS-Na 用量增加而增加, 这是由于 CMS-Na 崩解后对凝胶层产生了破坏作用^[12], 利于 Lap-SMSD 扩散进入水相, 从而促进药物释放。可见 CMS-Na 用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为影响较大, 后续对其用量 10%~20% 进行优化。

2.6.4 乳糖用量的考察 Lap-SMSD 处方量为 45.5 mg/片, HPMC K4M 和 CMS-Na 用量分别为 20% 和 15%, 添加 MCC 补充剂至 0.4 g/片, 分别考察乳糖用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为的影响, 结果见图 10。

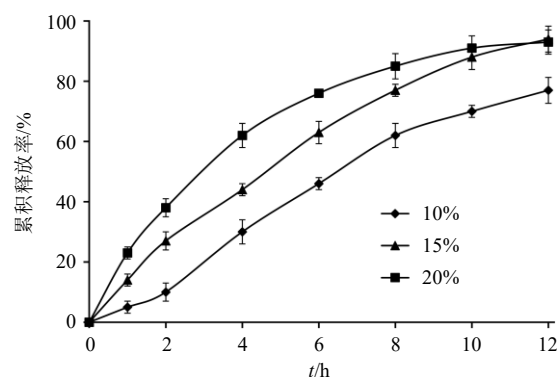


图 9 CMS-Na 用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Study of CMS-Na dosage ($\bar{x} \pm s, n=3$)

图 10。乳糖不仅是一种填充剂, 而且也是一种释药速率调节剂^[8]。Lap-SMSD-SRT 释药速率随着乳糖用量增加而增加, 这是由于乳糖遇水后迅速溶解, 在凝胶层中留下释药孔道, 极大降低了凝胶层的致密度, 便于 Lap-SMSD 释放出去, 从而起到调节释药速率的作用。可见乳糖用量对 Lap-SMSD-SRT 释药行为影响较大, 后续对其用量 10%~30% 优化。

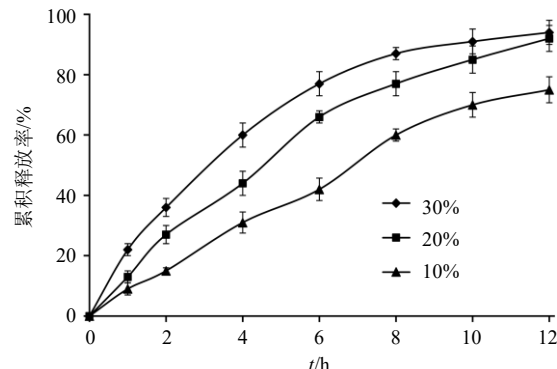


图 10 乳糖用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 10 Study of lactose dosage ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.7 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Lap-SMSD-SRT 处方

2.7.1 实验设计方案 HPMC K4M 用量、CMS-Na 用量和乳糖用量对 Lap-SMSD-SRT 中 Lap-SMSD 释放影响较大, 故分别作为影响因素 X_1 、 X_2 、 X_3 , 并分别设置 3 水平 (-1、0、+1), 结果见表 1。

为了使 Lap-SMSD-SRT 释药过程达到持续、平稳状态, 选取 3 个时间点即释药初期 (2 h)、释药中期 (6 h) 和释药末期 (12 h) 的累积释放率 (Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h}) 作为控制点, 理想释放率分别为 25%、60% 和 100%。将 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h} 转换为总评归一值 (overall desirability, OD) 优化 Lap-SMSD-SRT 处方, 以达到对释药过程总体进行控制的目的。

表 1 BBD 试验设计与结果

Table 1 Experiments design and results of BBD

序号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$Q_{2h}/\%$	$Q_{6h}/\%$	$Q_{12h}/\%$	OD	序号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$Q_{2h}/\%$	$Q_{6h}/\%$	$Q_{12h}/\%$	OD
1	20 (0)	10 (-1)	30 (+1)	18.15	55.96	87.13	23.77	10	20	10	10	20.58	55.93	88.01	20.48
2	25 (+1)	20 (+1)	20 (0)	28.29	69.18	88.48	24.01	11	15	10	20	29.38	56.32	85.09	22.97
3	20	15 (0)	20	22.43	64.41	95.86	11.12	12	20	15	20	25.56	62.07	92.56	10.07
4	20	20	30	29.25	70.08	96.29	18.04	13	20	15	20	22.89	58.52	92.87	10.72
5	20	15	20	23.87	59.73	92.27	9.13	14	25	15	30	21.23	54.13	90.62	19.02
6	15 (-1)	15	30	29.31	65.36	92.51	17.16	15	15	20	20	31.67	66.58	95.14	18.11
7	20	15	20	25.66	62.44	91.36	11.74	16	15	15	10	29.61	68.94	94.49	19.06
8	25	15	10 (-1)	18.11	54.35	86.07	26.47	17	25	10	20	18.55	53.79	88.59	24.07
9	20	20	10	29.90	71.07	92.24	23.73								

结合单因素考察结果并参考相关研究^[10], 对 OD 值计算方式略作调整, 使处方筛选过程更具合理性, 即 $OD = |Q_{2h} - 25\%| \times 100 + |Q_{6h} - 60\%| \times 100 + |100\% - Q_{12h}| \times 100$, Lap-SMSD-SRT 处方及相应结果见表 1。

2.7.2 模型的拟合与方差分析 使用 Design Expert 软件 (版本 13.0.1) 对 X_1 、 X_2 、 X_3 和 OD 值进行拟合, 建立数学模型, 即 $OD = 10.56 + 2.03 X_1 - 0.92 X_2 - 1.47 X_3 + 1.20 X_1 X_2 - 1.39 X_1 X_3 - 2.25 X_2 X_3 + 5.33 X_1^2 + 6.41 X_2^2 + 4.54 X_3^2$, 模型 R^2 (0.978 2) 和 R_{adj}^2 (0.950 2) 均大于 0.95, 表明实验值和拟合值相关性高。方差分析见表 2, OD 数学模型的 $P < 0.000 1$, 失拟项 ($P = 0.201 9$) 无显著性意义, 表明该模型具有极显著性意义, 且干扰因素对拟合结果

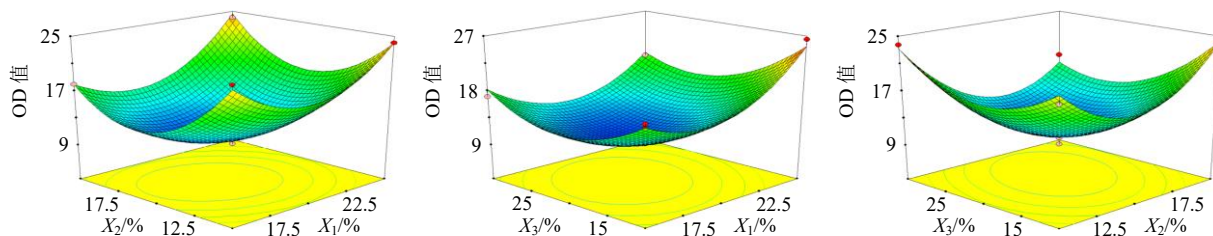
影响较小, 说明拟合结果可信度高。数学模型中 X_3 具显著意义 ($P < 0.05$), 而 X_1 、 X_2 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 具极显著意义 ($P < 0.01$)。根据 F 值大小可知, HPMC K4M 用量 (X_1) 对 Lap-SMSD-SRT 释药行为影响最大, 而 CMS-Na 用量 (X_2) 影响相对最小。

2.7.3 Lap-SMSD-SRT 处方确定 OD 值越小, 代表 Lap-SMSD-SRT 释药行为与设定的优化目标越接近, 故将 OD 值优化目标设置为最小值, 根据实际实验值选择 OD 取值区间为 5~30, 使用 Design Expert 软件 (版本 13.0.1) 绘制 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 与 OD 值的三维图, 结果见图 11。随着 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 或 $X_2 X_3$ 增加, OD 值呈先下降后增大趋势。Lap-SMSD-SRT 最佳处方为 HPMC K4M 用量 19.09%, CMS-Na 用量 15.59%, 乳糖用量 22.63%, 预测 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h}

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

因素	方差	自由度	均方	F 值	P 值	因素	方差	自由度	均方	F 值	P 值
模型	513.41	9	57.05	34.90	<0.000 1	X_1^2	119.54	1	119.54	73.13	<0.000 1
X_1	33.09	1	33.09	20.24	0.002 8	X_2^2	172.77	1	172.77	105.69	<0.000 1
X_2	6.84	1	6.84	4.19	0.080 0	X_3^2	86.91	1	86.91	53.17	0.000 2
X_3	17.26	1	17.26	10.56	0.014 1	残差	11.44	7	1.63		
$X_1 X_2$	5.76	1	5.76	3.52	0.102 6	失拟度	7.43	3	2.48	2.47	0.201 9
$X_1 X_3$	7.70	1	7.70	4.71	0.066 6	纯误差	4.02	4	1.00		
$X_2 X_3$	20.16	1	20.16	12.33	0.009 8	总误差	524.86	16			

图 11 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 对 OD 值的三维图Fig. 11 Three-dimensional plot of $X_1 X_2$, $X_1 X_3$, $X_2 X_3$ on OD values

总评归一值 OD 的理论最小值为 9.28。

2.7.4 Lap-SMSD-SRT 工艺验证及质量检查 根据“2.7.3”项优化后处方参数,按照“2.1.2”项下方法制备 3 批 Lap-SMSD-SRT,释药曲线见图 12, Lap-SMSD-SRT 的 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h} 的累积释放率非常接近,证明 Lap-SMSD-SRT 处方工艺重复性良好。Lap-SMSD-SRT 的 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h} 均值分别为 26.50%、61.67%和 93.67%,实际 OD 值为 9.50。以 OD 理论值(9.28)为参考,实际 OD 值相对偏差为 -2.37%^[9],说明“2.7.2”项下的数学模型对 Lap-SMSD-SRT 处方研究指导价值较高。

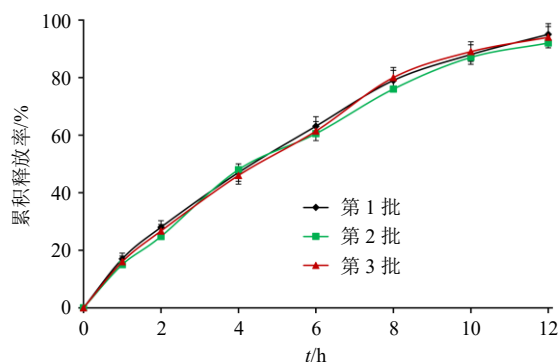


图 12 3 批 Lap-SMSD-SRT 体外释药曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 12 Drug release profiles of three batch of Lap-SMSD-SRT ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Lap-SMSD-SRT 表面光滑,参考《中国药典》2025 年版四部片剂质量检查指导原则,测得 Lap-SMSD-SRT 质量差异为 $(3.68 \pm 0.40)\%$, 减失质量为 $(1.77 \pm 0.23)\%$, 硬度为 (52.29 ± 2.17) N。立即密封至药瓶中,供加速稳定性实验用。

Lap-SMSD-SRT 释药模型拟合结果见表 3,拟合系数 r 越接近 1,代表释药行为与该模型拟合度越高,因此 Lap-SMSD-SRT 符合 Higuchi 模型($r=0.9826$)。采用 Ritger-Pepps 模型研究 Lap-SMSD-SRT 释药机制,拟合系数 n 为 0.7361,由于 $0.45 <$

表 3 Lap-SMSD-SRT 释放模型拟合结果

Table 3 Fitting results of release model for Lap-SMSD-SRT

拟合模型	拟合方程	r	n
零级	$M_t/M_\infty = 0.0784t + 0.1046$	0.9569	-
Higuchi	$M_t/M_\infty = 0.2951t^{1/2} - 0.0757$	0.9826	-
一级	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.2363t + 0.1535$	0.9693	-
Ritger-Pepps	$\ln(M_t/M_\infty) = 0.7361 \ln t - 1.7976$	0.9876	0.7361

M_t 和 M_∞ 分别为 t 和 ∞ 时的累积释放率, M_t/M_∞ 为 t 时间点的累积释放率。

M_t and M_∞ is accumulative drug-release at time t and ∞ , M_t/M_∞ is drug-release rate at time t .

$n < 0.89$, 提示 Lap-SMSD-SRT 是通过扩散与溶蚀协同作用来释放药物^[10]。

2.8 高乌甲素 3 种片剂释药行为比较

取高乌甲素原料药,加入微晶纤维素、硬脂酸镁等辅料混匀后压片,得到高乌甲素普通片,另取上市品氢溴酸高乌甲素片和 Lap-SMSD-SRT,均参照“2.5”项下方法进行释药实验,释药介质中加入 1.5% SDS,比较高乌甲素 3 种片剂的释药行为,结果见图 13。高乌甲素普通片 12 h 累积释放率仅 55.10%,上市品氢溴酸高乌甲素片和 Lap-SMSD-SRT 在 12 h 累积释放率均达 95%,但 Lap-SMSD-SRT 缓释行为较为明显,可以实现持续、缓慢释药,有助于抑制血药浓度波动。

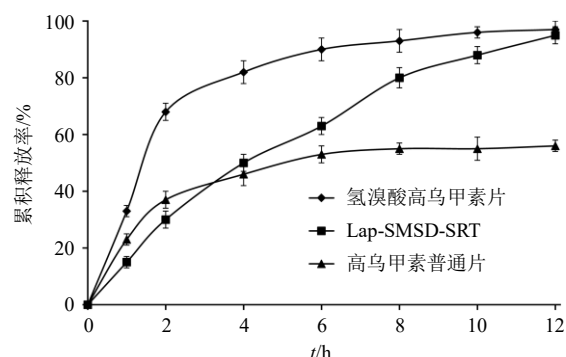


图 13 高乌甲素 3 种片剂释药行为比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 13 Release behaviors comparison of three kinds of lappaconitine tablets ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.9 Lap-SMSD-SRT 稳定性研究

将密封于药瓶的 Lap-SMSD-SRT,置于恒温恒湿箱中(温度和相对湿度分别设置为 35℃和 65%),于 1、2、3、6 个月取样,测定 Lap-SMSD-SRT 的 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h} ,分别计算 OD 值,将测得结果分别与新制备时测得结果相比较,考察 Lap-SMSD-SRT 加速稳定性情况。结果见表 4,加速条件下 Lap-SMSD-SRT 的 Q_{2h} 、 Q_{6h} 和 Q_{12h} 的总评归一值 OD 仍小于 10,说明 Lap-SMSD-SRT 储存稳定性良好。

表 4 Lap-SMSD-SRT 稳定性研究结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Stability results of Lap-SMSD-SRT ($\bar{x} \pm s, n=3$)

t /月	$Q_{2h}/\%$	$Q_{6h}/\%$	$Q_{12h}/\%$	OD
0	26.50 ± 1.33	61.67 ± 2.98	93.67 ± 2.91	9.50
1	24.77 ± 0.92	58.91 ± 2.74	92.80 ± 3.17	8.52
2	25.89 ± 1.90	61.88 ± 3.05	93.22 ± 3.58	9.55
3	26.43 ± 2.00	62.04 ± 3.16	94.05 ± 3.33	9.42
6	25.90 ± 1.77	63.01 ± 2.78	93.95 ± 2.81	9.96

2.10 Lap-SMSD-SRT 药动力学研究

2.10.1 试验方案 取 6 只健康 Beagle 犬（雌雄各 3 只），雄性编号为 1、3、5 号，雌性编号为 2、4、6 号。ig 剂量以高乌甲素计均为 1.5 mg/kg，分为 3 个实验周期，第 1 周期对 1、2、3 号 Beagle 犬 ig 给予高乌甲素普通片，对 4、5、6 号 Beagle 犬 ig 给予 Lap-SMSD-SRT；第 2 周期对 1、2、3 号 Beagle 犬 ig 给予 Lap-SMSD-SRT，对 4、5、6 号 Beagle 犬 ig 给予氢溴酸高乌甲素片；第 3 周期对 1、2、3 号 Beagle 犬 ig 给予氢溴酸高乌甲素片，对 4、5、6 号 Beagle 犬 ig 给予高乌甲素普通片。各组动物分别于 1、2、3、4、5、6、8、10、12、18 h，将 Beagle 犬四肢悬空，安抚后于前肢静脉取血约 1.5 mL 至含抗凝剂离心管中，摇匀，3 500 r/min 离心 5 min（离心半径 6.8 cm），取血浆冷冻保存。

2.10.2 血浆样品的处理 称取客西茄碱对照品，使用甲醇配制成质量浓度为 300 ng/mL，作为内标溶液。取 1.5 mL 醋酸乙酯置于离心管中，分别加入血浆样品 100 μ L 和客西茄碱溶液 100 μ L，涡旋 6 min，6 500 r/min 离心 5 min（离心半径 6.8 cm），取出有机溶剂，与残渣中再加入 1.5 mL 醋酸乙酯，同法操作，合并醋酸乙酯，40 $^{\circ}$ C 温度下氮吹仪吹干，加入 100 μ L 乙腈复溶，待测。

2.10.3 色谱与质谱条件^[5] 色谱柱为 Waters BEH C₁₈ 柱（50 mm $\times$ 2.1 mm，1.7 μ m）；柱温为 30 $^{\circ}$ C；进样量为 5 μ L；流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液（50:50）；体积流量为 0.2 mL/min。使用电喷雾离子源（ESI）在负离子模式下检测，电压-2 500 V，气帘气为 241.32 kPa（35 psi），检测温度为 400 $^{\circ}$ C，高乌甲素和客西茄碱分析离子对分别为 m/z 585.6 $\rightarrow$ 199.9 和 m/z 722.5 $\rightarrow$ 70.2。

2.10.4 血浆对照品溶液配制及线性曲线考察 分别于 3 只 Beagle 犬前肢静脉取血约 6 mL，至含抗凝剂离心管中，摇匀，3 500 r/min 离心 5 min（离心半径 6.8 cm），得空白血浆。使用空白血浆配制高乌甲素质量浓度为 400、200、100、40、20、5 ng/mL 血浆样品，分别取 100 μ L，按照“2.10.2”项下方法操作得到血浆对照品溶液，按照“2.10.3”项下色谱条件进样测定，记录高乌甲素和客西茄碱的峰面积，以高乌甲素质量浓度（ X ）与峰面积比值（ Y ）作线性回归，得到线性曲线方程 $Y=0.0041X+0.1998$ ， $r=0.9968$ ，结果表明高乌甲素在 5~400 ng/mL 存在良好线性关系。

2.10.5 专属性考察 取 Beagle 犬空白血浆、高乌甲素普通片给药 18 h 时的血浆样品、高乌甲素质量浓度为 20 ng/mL 血浆对照品，按照“2.10.2”项下方法处理，按照“2.10.3”项下色谱条件分别进样测定，记录色谱图，结果见图 14，结果表明高乌甲素和客西茄碱专属性高。

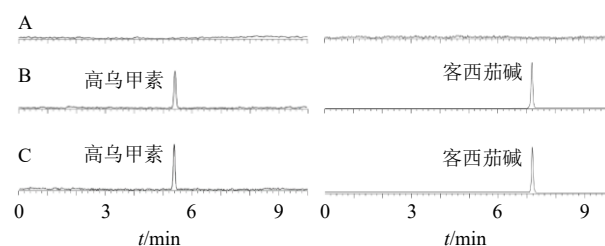


图 14 空白血浆 (A)、血浆样品溶液 (B)、血浆对照品溶液 (C) 的 UPLC-MS/MS 色谱图

Fig. 14 UPLC-MS/MS chromatograms of blank plasma (A), plasma sample solution (B) and plasma reference solution (C)

2.10.6 稳定性考察 配制质量浓度为 100 ng/mL 质控样品，按“2.10.2”项下方法制备成质控样品溶液，分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 测定高乌甲素和客西茄碱峰面积，计算高乌甲素质量浓度，其 RSD 为 6.99%，结果表明样品溶液稳定性较好。

取质量浓度为 100 ng/mL 质控样品，反复冻融 6 次，按照“2.10.2”项下方法操作，得到样品溶液，测定高乌甲素和客西茄碱峰面积，计算高乌甲素质量浓度，其 RSD 为 4.80%。

取质量浓度为 100 ng/mL 的质控样品，置于-20 $^{\circ}$ C 冰箱中，分别于储存 0、3、7、14、21、35 d 取样，按照“2.10.2”项下方法操作得到样品溶液，测定高乌甲素和客西茄碱峰面积，计算高乌甲素质量浓度，其 RSD 为 7.23%。

2.10.7 精密度考察 取质量浓度分别为 400、100、5 ng/mL 质控样品，各质量浓度平行 3 份，按照“2.10.2”项下方法制备待测样品溶液，测定高乌甲素和客西茄碱峰面积，计算高乌甲素质量浓度，其 RSD 分别为 3.26%、6.89% 和 5.17%，结果表明批内重复性良好。

取质量浓度为 100 ng/mL 的质控样品，分别于不同时间制备成待测样品溶液，测定高乌甲素和客西茄碱峰面积，计算高乌甲素质量浓度，其 RSD 为 5.73%（ $n=6$ ），结果表明中间精密度良好。

取质量浓度为 100 ng/mL 的质控样品，分别由 2 个实验的人员进行测试，测得高乌甲素质量浓度

的 RSD 为 6.06% ($n=6$), 结果表明该实验重现性良好。

2.10.8 提取回收率和基质效应考察 取质量浓度为 400、100、5 ng/mL 高乌甲素血浆对照品溶液(含客西茄碱), 记录高乌甲素和客西茄碱峰面积(a)。取空白血浆 100 μ L, 按照“2.10.2”项下方法处理后加入高乌甲素, 使其质量浓度为 400、100、5 ng/mL(含客西茄碱), 记录高乌甲素和客西茄碱峰面积(b), 提取回收率= a/b 。结果显示, 高乌甲素和客西茄碱的提取回收率分别为 103.17%和 98.95%, RSD 值均小于 7.0%, 表明提取回收率较高。

取质量浓度为 400、100、5 ng/mL 高乌甲素对照品溶液(含客西茄碱), 测定高乌甲素和客西茄碱峰面积(c), 基质效应= b/c 。低、中、高质量浓度高乌甲素和客西茄碱的基质效应分别为 98.40%和 102.03%, RSD 值均小于 5.0%, 表明基质效应较小。

2.10.9 药动力学结果 高乌甲素普通片、氢溴酸高乌甲素片和 Lap-SMSD-SRT 的药动力学曲线见图 15, 采用 DAS 2.0 药动力学软件分析对各实验组数据进行分析, 结果见表 5。与高乌甲素普通片相比, 氢溴酸高乌甲素片达峰浓度(peak concentration, $C_{\max}$)、0~ t 时间血药浓度-曲线下面积(area under the curve, $AUC_{0\sim t}$)和 0~ ∞ 时间血药浓度-曲线下面积

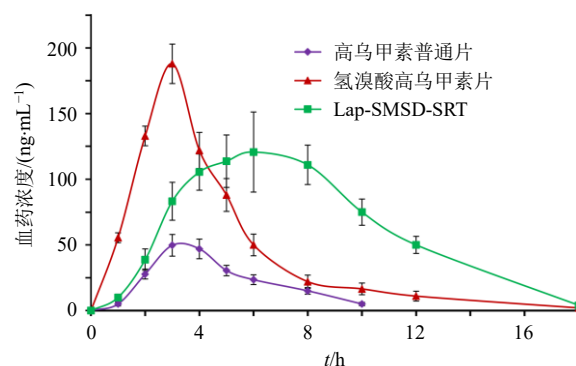


图 15 高乌甲素 3 种片剂的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 15 Profiles of plasma concentration-time of three kinds of lappaconitine tablets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

(area under the curve, $AUC_{0\sim\infty}$) 均有极显著性改变($P<0.01$), 而达峰时间(peak time, $t_{\max}$)、半衰期(half-life, $t_{1/2}$)、平均滞留时间(mean residence time, $MRT_{0\sim t}$)无显著性改变, 表明高乌甲素的药动学行为发生了一定改变, 相对生物利用度提高至 3.65 倍; Lap-SMSD-SRT 的 $t_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{\max}$ 、 $MRT_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 均极显著性改变($P<0.01$), 其中 $t_{\max}$ 延后至 (6.20 ± 1.61) h, $t_{1/2}$ 延长至 (9.13 ± 2.64) h, $C_{\max}$ 增加至 (123.94 ± 46.77) ng/mL, Lap-SMSD-SRT 相对生物利用度提高至 5.21 倍, 表明 Lap-SMSD-SRT 极大改变了高乌甲素药动学行为。

表 5 高乌甲素 3 种片剂的主要药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Main pharmacokinetic parameters of three kinds of lappaconitine tablets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

样品	$t_{\max}/h$	$C_{\max}/(ng \cdot mL^{-1})$	$t_{1/2}/h$	$MRT_{0\sim t}/h$	$AUC_{0\sim t}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$	$AUC_{0\sim\infty}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$
高乌甲素普通片	2.97 ± 0.48	52.84 ± 17.29	4.73 ± 1.37	6.91 ± 1.79	214.28 ± 34.20	230.11 ± 35.35
氢溴酸高乌甲素片	3.15 ± 0.66	$187.38 \pm 26.19^{**}$	5.16 ± 1.63	7.89 ± 2.14	$781.94 \pm 61.85^{**}$	$817.63 \pm 68.72^{**}$
Lap-SMSD-SRT	$6.20 \pm 1.61^{***}$	$123.94 \pm 46.77^{***}$	$9.13 \pm 2.64^{***}$	$12.56 \pm 3.25^{***}$	$1116.40 \pm 93.76^{***}$	$1207.73 \pm 110.44^{***}$

与高乌甲素普通片比较: $^{**}P<0.01$; 与氢溴酸高乌甲素片比较: $^{*}P<0.05$ $^{***}P<0.01$ 。

$^{**}P<0.01$ vs lappaconitine tablets; $^{*}P<0.05$ $^{***}P<0.01$ vs lappaconitine hydrobromide tablets.

与上市品氢溴酸高乌甲素片相比, Lap-SMSD-SRT 的 $C_{\max}$ 显著性下降($P<0.05$), 说明 Lap-SMSD-SRT 有助于抑制血药浓度波动幅度, $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 显著性增加($P<0.05$), 说明 Lap-SMSD-SRT 促吸收作用更具优势。

2.11 Lap-SMSD-SRT 毒动力学研究

2.11.1 给药方案及结果 取 15 只健康雌性 Beagle 犬(♀)和 15 只雄性 Beagle 犬(♂), 共 30 只, 分为低、中、高剂量(0.75、1.50、2.25 mg/kg)组, 每组均 10 只(雌雄各 5 只)。实验室适应末期分别于前肢静脉取血约 2.5 mL, 其中约 2.0 mL 血样置于肝素抗凝管中, 3 500 r/min 离心 5 min(离心半径

6.8 cm), 取上清液用于血生化检测。另 0.5 mL 置于 EDTA 抗凝管, 3 500 r/min 离心 5 min(离心半径 6.8 cm), 取上清液用于血常规检测。实验开始时每天 8:00 时给药 1 次, 连续给药 4 周。首、末次给药后按照“2.10.1”项下时间点取血, 同法测定各取血点的血药浓度, 药-时曲线见图 16, 毒动力学参数见表 6。通过比较各组 $AUC_{0\sim t}$ 值可知, 末次 $AUC_{0\sim t}$ 值均大于首次 $AUC_{0\sim t}$ 值, 具有一定的蓄积倾向。一般认为末次 $AUC_{0\sim t}$ 与首次 $AUC_{0\sim t}$ 比值小于 1.5 时认为无明显蓄积^[13]。Lap-SMSD-SRT 低、中、高剂量 ♂ 蓄积因子分别为 1.13、1.11、1.20; Lap-SMSD-SRT 低、中、高剂量 ♀ 蓄积因子分别为 1.05、1.10、

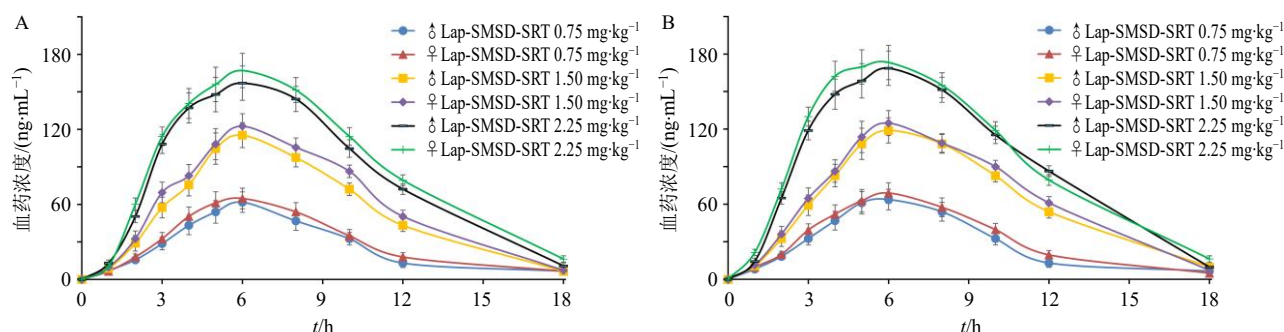


图 16 ♂ 和 ♀ Lap-SMSD-SRT 各剂量组首次给药 (A) 和末次给药 (B) 的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 16 Plasma concentration-time curve in ♂ and ♀ Lap-SMSD-SRT each dose group for first (A) and last (B) administration ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 6 ♂ 和 ♀ Lap-SMSD-SRT 各剂量组毒动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 6 Toxicokinetics parameters of ♂ and ♀ Lap-SMSD-SRT each dose group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	首次给药				末次给药			
		$t_{\max}/h$	$C_{\max}/$ (ng·mL ⁻¹)	$t_{1/2}/h$	$AUC_{0 \sim t}/$ (ng·h·mL ⁻¹)	$t_{\max}/h$	$C_{\max}/$ (ng·mL ⁻¹)	$t_{1/2}/h$	$AUC_{0 \sim t}/$ (ng·h·mL ⁻¹)
♂	0.75	6.05 ± 1.09	61.17 ± 39.42	9.02 ± 1.39	474.58 ± 51.47	6.16 ± 1.22	66.55 ± 48.71	8.81 ± 0.68	495.19 ± 53.64
	1.50	5.92 ± 0.79	116.09 ± 56.93	8.89 ± 1.50	1 174.60 ± 98.73	6.17 ± 1.02	129.94 ± 66.26	9.43 ± 1.27	1 206.54 ± 110.18
	2.25	5.94 ± 0.93	163.78 ± 75.60	8.92 ± 0.96	1 581.71 ± 196.24	5.98 ± 1.65	180.12 ± 86.55	9.52 ± 1.49	1 610.89 ± 223.26
♀	0.75	6.14 ± 0.91	61.90 ± 57.29	8.61 ± 1.18	488.60 ± 67.52	6.15 ± 1.42	63.41 ± 39.06	9.34 ± 0.87	496.77 ± 75.68
	1.50	5.83 ± 1.13	167.16 ± 70.13	9.29 ± 1.39	1 214.13 ± 140.94	6.09 ± 0.99	174.15 ± 69.77	8.70 ± 1.22	1 273.63 ± 188.46
	2.25	6.18 ± 1.48	174.35 ± 80.99	8.93 ± 2.05	1 663.75 ± 254.61	6.20 ± 1.57	187.47 ± 67.01	9.43 ± 1.44	1 702.68 ± 274.37

1.14, 可见各实验组蓄积因子均小于 1.5, 所以高乌甲素体内无明显蓄积倾向。

2.11.2 生存状态观察 各组动物均存活至实验结束。与空白组相比, Lap-SMSD-SRT 低剂量组饮食、活动情况、毛发、精神等状态无异象; Lap-SMSD-SRT 中剂量组有 1 只出现呕吐情况; 高剂量组 3 只出现呕吐情况, 1 只出现流涎情况, 呈现剂量相关性, 但 4 周恢复期后症状均消失, 其他日常生活状态无明显异象。

2.11.3 血液学及生化指标测定 血液学及生化指标测定结果见表 7。与实验前相比, Lap-SMSD-SRT 低剂量组给药末期血小板计数 (platelet count, PLT)、红细胞计数 (red blood cell count, RBC) 和白细胞计数 (white cell count, WBC) 各个指标均无显著性差异; Lap-SMSD-SRT 中剂量雄性组给药末期 RBC 有显著性下降 ($P < 0.05$); Lap-SMSD-SRT 高剂量雌、雄性组给药末期 PLT 和 RBC 均有显著性下降 ($P < 0.05$)。4 周恢复期后 Lap-SMSD-SRT 中、高剂量组的 PLT 和 RBC 均恢复正常。与实验前相比, Lap-SMSD-SRT 中剂量雌性组给药末期天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 有显著性升高 ($P < 0.05$); Lap-SMSD-SRT 高

剂量雌、雄性组给药末期丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和 AST 均有显著性升高 ($P < 0.05$)。4 周恢复期后 Lap-SMSD-SRT 中、高剂量组的 ALT 和 AST 均恢复正常。

3 讨论

缓释片中药物自身的溶解度对释药行为、生物利用度及体内外相关性影响较大^[10]。多数研究者选择固体分散体、纳米混悬剂、二氧化硅纳米粒等技术来增加溶解度^[14-15], 但固体分散体在胃肠道中易发生析晶现象^[16], 纳米混悬剂易发生聚集及粒径增长现象^[17], 可能影响药物的生物利用度。二氧化硅纳米粒可能存在体内蓄积情况, 使用安全性存疑。本研究采用安全性高的 Soluplus 材料作为载体制备 Lap-SMSD, 粉末流动性良好, 适合压制片剂, 且体内稳定性高, 利于维持药物的纳米状态^[18], 可为难溶性药物缓释片开发研究提供新方法。

HPMC K4M 相对分子质量较大, 遇水后可形成三维网络结构, 当质量浓度达到一定阈值时 HPMC 分子之间开始发生相互作用, 从而形成凝胶, 其用量越大形成的凝胶层密度就越大, 故 HPMC K4M 用量直接关系到凝胶层对 Lap-SMSD 的控释效果, 故选为 Lap-SMSD-SRT 主要影响因素。CMS-Na 是

表 7 ♂ 和 ♀ Lap-SMSD-SRT 各剂量组血常规指标及血生化指标测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 7 Determination results of blood routine indices and blood biochemistry in ♂ and ♀ Lap-SMSD-SRT each dose group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	取样时间	PLT/(×10 ⁹ 个·L ⁻¹)	WBC/(×10 ⁹ 个·L ⁻¹)	RBC/(×10 ¹² 个·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
♂	0.75	实验前	190.16±62.12	11.14±2.88	8.55±1.12	25.44±6.16	36.93±9.16
		末次给药	175.27±79.26	12.81±5.21	8.14±0.99	26.92±7.28	35.87±8.44
	1.50	实验前	164.98±86.17	13.04±3.36	8.69±1.26	23.47±5.99	30.65±10.21
		末次给药	137.13±74.58	14.78±4.42	6.82±1.74*	25.54±7.74	33.02±9.54
	2.25	实验前	191.54±69.33	12.99±3.95	8.94±1.25	24.81±6.26	34.79±7.96
		末次给药	149.81±41.43*	15.58±4.01	6.70±0.84*	31.36±5.84*	39.98±8.25*
♀	0.75	实验前	177.82±86.94	13.64±4.28	8.54±1.36	27.02±7.11	30.38±4.62
		末次给药	172.69±70.24	14.17±3.39	8.06±1.04	27.89±9.02	32.11±5.77
	1.50	实验前	183.33±63.77	13.23±4.15	8.78±1.63	26.08±8.16	29.64±8.19
		末次给药	165.07±95.60	15.94±5.06	7.44±0.99	28.13±7.20	36.15±8.07*
	2.25	实验前	170.04±78.18	12.03±5.28	9.12±1.17	26.15±5.73	34.17±6.43
		末次给药	143.89±35.05*	14.08±6.90	7.20±1.08*	32.79±9.04*	40.46±11.28*

与实验前值比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs pre-experimental value.

片剂常用的崩解剂,其分子结构中含有亲水性羧甲基基团,遇水后能迅速吸水膨胀,对凝胶层造成破坏作用,使凝胶层密度下降,从而降低 Lap-SMSD 释药阻力,因而 CMS-Na 是 Lap-SMSD-SRT 释药速率调节剂,CMS-Na 用量对 Lap-SMSD 释药影响也较大,故选为 Lap-SMSD-SRT 主要影响因素。乳糖亲水性良好,遇水后迅速溶解,从而降低了 HPMC K4M 形成凝胶层的密度,并留下释药孔道^[11],利于 Lap-SMSD 扩散出去,因而也是 Lap-SMSD-SRT 释药速率调节剂,故也选为主要影响因素。

目前,上市品氢溴酸高乌甲素片临床最大日用量为 30 mg/d,以人体体质量 60 kg 计算,人体日口服剂量为 0.5 mg/kg。根据不同物种之间体表面积进行折算,并结合实际血药浓度水平,最终确定 Beagle 犬口服高乌甲素剂量为 1.5 mg/kg。采用 3 周期交叉试验进行了药动学研究,结果显示,Lap-SMSD-SRT 的 $t_{\max}$ 发生显著性延后,这主要与 Lap-SMSD-SRT 自身的缓释特点有关。Lap-SMSD-SRT 的 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 得到极大提高,这可能是 Lap-SMSD 极大降低了高乌甲素粒度、增加饱和溶解度,进而利于增加吸收^[19];Lap-SMSD 对高乌甲素提供了保护作用,降低了 pH 值、消化酶等因素对高乌甲素的降解,利于增加药物吸收量;Lap-SMSD 进入水相后可形成纳米胶束,进而发挥了胶束的高效吸收机制^[17-18];Lap-SMSD-SRT 的 $t_{1/2}$ 和 $MRT_{0\sim t}$ 均显著性延长,有利于药物充分吸收、增加生物利用

度^[10];Lap-SMSD 改变了高乌甲素的存在形式,使之转变为无定形药物,无定形药物比晶型药物更易吸收^[20-21],因而在多种有利因素共同作用下 Lap-SMSD-SRT 极大促进了高乌甲素体内吸收^[22]。与上市品氢溴酸高乌甲素片相比,Lap-SMSD-SRT 的 $t_{1/2}$ 和 $MRT_{0\sim t}$ 均显著性延长,这可能是由于 Lap-SMSD-SRT 自身的缓释特点所致。Lap-SMSD-SRT 的 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 提高幅度更大,这可能是由于 Lap-SMSD 在水中通过自胶束化作用,极大促进了药物体内吸收^[23-24];Lap-SMSD 中 Soluplus 可抑制 P-糖蛋白活性^[25],进而利于增加吸收,因而 Lap-SMSD-SRT 促吸收作用高于氢溴酸高乌甲素片。与氢溴酸高乌甲素片相比,Lap-SMSD-SRT 的 $C_{\max}$ 显著性下降 ($P < 0.05$),说明 Lap-SMSD-SRT 有助于避免峰谷效应、降低高乌甲素毒性;Lap-SMSD-SRT 的 $C_{\max}$ 显著性下降 ($P < 0.05$),有助于降低高乌甲素毒性。临床统计数据表明,高乌甲素会引起凝血功能、皮肤、胃肠系统等损伤,严重者甚至引起肝功能异常^[6]。分别对 Lap-SMSD-SRT 低、中、高 (0.75、1.50、2.25 mg/kg) 剂量进行了毒动学研究,未见明显的药物蓄积现象。Lap-SMSD-SRT 对胃肠系统、凝血功能、肝脏功能等可能造成一定影响,但恢复期后所有指标均恢复正常,总体影响程度较低,本实验为 Lap-SMSD-SRT 安全性评价提供了实验数据^[26]。

综上,本研究筛选了 Lap-SMSD-SRT 处方,最

佳处方可实现持续、缓慢、完全释药。Lap-SMSD-SRT 增加了高乌甲素的生物利用度。毒动学结果证明 Lap-SMSD-SRT 毒性较小,因而具有进一步研究、开发价值。将来继续探索不同规格的 Lap-SMSD-SRT (如 30 mg/片),并对小试及中试生产等进行研究,进一步丰富 Lap-SMSD-SRT 研究资料,为评价 Lap-SMSD-SRT 成药性提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李龙飞,黄芝琰,张颖丽,等.镇痛药潜在依赖性及其非临床安全性评价研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(12): 2717-2723.
- [2] 毛莹. 氢溴酸高乌甲素缓解炎症性疼痛的作用研究 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2024.
- [3] 张尹,高召兵,辛晓明,等.高乌甲素药理活性的研究进展 [J]. 生命科学, 2021, 33(9): 1089-1095.
- [4] 孙文霞,钟家亮,王广东,等.高乌甲素磷脂酰胆碱复合物的性质考察 [J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(1): 78-81.
- [5] Chen F, Shen X W, Huang P, *et al.* Quantification of lappaconitine in mouse blood by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. *Bio Med Res Int*, 2019, 2019: 6262105.
- [6] 霍艳飞,田月洁,许莉莉,等.535 例氢溴酸高乌甲素制剂新的和严重的药品不良反应报告分析 [J]. 中国药物警戒, 2023, 20(8): 921-926.
- [7] 马欢,马攀.基于 FAERS 数据库的盐酸可乐定缓释片治疗注意力缺陷多动障碍安全警戒信号分析 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(1): 231-237.
- [8] 付金芳,曹伶俐,李乘欣,等.氢溴酸高乌甲素纳米粒缓释片的制备 [J]. 中成药, 2017, 39(5): 952-955.
- [9] 孙丽,李瑞华,吉媛媛,等.高良姜素自胶束化固体分散体的制备、口服药动学和降血糖作用评价 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(1): 143-156.
- [10] 张留超,李高申,刘勇华,等.芹菜素固体分散体胃漂浮片制备、药动学评价及体内相关性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(19): 6519-6528.
- [11] 王赞华,王献红,张体鹏,等.叶黄素介孔二氧化硅纳米粒胃漂浮片制备、药动学及胃溃疡治疗作用 [J]. 药物评价研究, 2026, 49(4): 1283-1296.
- [12] 黄雅菲,房树华.甲硝唑胃漂浮缓释片的处方开发与质量评价 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(9): 1047-1052.
- [13] 史行幸,薄福民,胡佳伟,等.基于 HPLC-MS/MS 研究 Beagle 犬血浆中左氧氟沙星的毒代动力学 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(6): 970-977.
- [14] 周敬,郑宝玉,李阳杰,等.白屈菜红碱介孔二氧化硅纳米粒缓释片的制备及体外释药考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(2): 159-165.
- [15] 唐静,张付利,决利利,等.黄豆苷元介孔二氧化硅纳米粒缓释片制备及口服药动学研究 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4700-4710.
- [16] 尚慧杰,杨金枝,张付利.岩白菜素 Soluplus/TPGS 混合胶束的制备、表征及体外释药研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1248-1254.
- [17] 李瑞华,吴书凯,孙丽,等.PEG 化壳聚糖葫芦素 B 纳米混悬剂的制备及其冻干粉药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5050-5060.
- [18] Wang Y, Wang W C, Yu E D, *et al.* Preparation of a camptothecin analog FLQY2 self-micelle solid dispersion with improved solubility and bioavailability [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 402.
- [19] 郭亚利,董晓函,李阳杰.基于“药辅合一”的茶皂素-金合欢素纳米混悬剂制备及其药动学与调血脂作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2233-2246.
- [20] 张亚林,郭志刚,王丹凤,等.鞣花酸自胶束化固体分散体制备及口服药动学行为研究 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4350-4360.
- [21] 王丽,高小玲,李思翰,等.五味子乙素-磷脂酰胆碱复合物制备工艺优化及理化性质研究 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(7): 2115-2123.
- [22] 尹元元,耿燕娜,孙晋鹏,等.异甘草素-玉米肽纳米复合物分子模拟对接、制备及体内评价 [J]. 中草药, 2025, 56(21): 7749-7761.
- [23] Mateos H, Gentile L, Murgia S, *et al.* Understanding the self-assembly of the polymeric drug solubilizer Soluplus® [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2022, 611: 224-234.
- [24] 王丽,黄一聆,房伟.柚皮素-mPEG-PLA 聚合物胶束的制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1052-1057.
- [25] 陈绪龙.姜黄素过饱和自纳米乳给药体系的构建及其稳定化与增强吸收机制的研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [26] 金秋阳,朱明亮,刘群,等.基于倾向性评分匹配法比较甘精胰岛素生物仿制药与原研药治疗 2 型糖尿病的有效性安全性 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(10): 2395-2398.

[责任编辑 郑礼胜]