

测定结果进行两样本均数的 t 检验, 所得 $P > 0.05$, 表明 2 种抗凝剂保存样品无统计学差异。

3 讨论

本实验考察的保存条件除了温度和时间外, 还考察了抗凝剂的影响; 本实验中, 依实验需要量采取分管采血后保存, 避免了因单管采血, 从中取样继续非真空存放, 可能引起微生物污染等对结果造成影响; 在统计学处理上, 也有所差别。

本实验结果表明: 血样在室温下至少可保存 1 周。通常邮寄的血样一般在 3~5 d 内即可寄到。如邮寄过程无冷藏措施不会影响测定结果。采血管可以选用 EDTA-K₂ 或肝素钠抗凝, 二者差异无显著性。本实验只做了室温放置 3 d 的, 今后进一步

可做放置 5 d、7 d 的考察。

MEIA 法测定全血 FK 506 浓度是临床常用的血药浓度监测项目。深入考察不同保存条件、保存时间及不同抗凝剂对测定结果的影响, 有助于保证测定结果的稳定可靠性和适当的灵活性。限于实验条件, 本实验考察的保存温度、时间及抗凝剂的种类还不够多, 实验样本量也不够大, 相关数据还有待不断积累和补充。

参考文献:

- [1] 丁少波, 胡敏燕. 他克莫司血药浓度监测[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(3): 147.
- [2] 徐新军, 刘皋林, 张正行. 他克莫司治疗的监测方法[J]. 国外医药#抗生素分册, 2001, 22(5): 222.

[收稿日期] 2008-09-12

激光粒度仪对非诺贝特自微乳制剂的实验

葛蔓, 全东琴 (军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

[摘要] 目的: 将非诺贝特制成自微乳制剂, 并对其进行体内外评价。方法: 测定乳化后乳剂的粒径大小及分布情况; 考察非诺贝特自微乳制剂的体外溶出度以及比格犬体内药动学, 并与市售制剂相比较。结果: 制备的非诺贝特自微乳制剂可在 5 min 内乳化完全, 且乳化后形成的微乳平均粒径小于 50 nm。以 0.1 mol/L 盐酸为溶出介质, 20 min 可溶出 90% 以上。比格犬体内药动学结果表明, 与市售制剂相比, 自微乳制剂的 AUC_{0-1} 提高了约 7 倍。结论: 自微乳制剂可显著提高非诺贝特的体外溶出和体内生物利用度。

[关键词] 非诺贝特; 自微乳; 溶出; 生物利用度

[中图分类号] R943 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2009)14-1167-04

Assessment of fenofibrate with a self-microemulsifying formulation in vitro and in vivo

GE Man, QUAN Dong-qin (Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the dissolution behavior and the pharmacokinetics behavior of fenofibrate self-microemulsifying formulation in beagle dogs. METHODS The formulation was selected by drawing the ternary phase diagram and the particle sizes of resultant emulsions after self-emulsifying were determined. The plasma concentrations were determined by HPLC and the pharmacokinetics behavior of self-microemulsifying formulations was evaluated by comparison with the commercial product. RESULTS The dissolution of fenofibrate self-microemulsifying formulations at 20 min was much higher (more than 90%) than that of the commercial products (less than 10%). The area under time-concentration curve (AUC) was significantly higher (about 7 times) in fenofibrate self-microemulsifying formulation group than that in the commercial products. CONCLUSION The self-microemulsifying delivery systems can significantly increase fenofibrate's dissolution in vitro and absorption in vivo.

KEY WORDS: fenofibrate; self-microemulsifying; dissolution; bioavailability

非诺贝特是临床常用的调血脂药物, 可显著降低血清三酰甘油、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein,

LDL) 以及升高高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein, HDL) 水平。因此它在临床上用于高胆固醇血症、高三酰甘油血症及混合型高脂血症的

[作者简介] 葛蔓, 女, 硕士研究生 **[通讯作者]** 全东琴, 女, 副研究员, 电话: 010-66931636, E-mail: qdqwzb@163.com

治疗,是一种针对多种脂质异常危险因素强有力的全面调脂药。但由于该药在水及酸中几乎不溶,所以胃肠吸收差,生物利用度低,且受饮食影响较大。近年来,国外研究较多的是将其制成微粉化制剂以提高其生物利用度。自微乳制剂是自乳化释药系统中的一种。由油相、表面活性剂和助表面活性剂组成的均一体系,药物呈分子状态溶解于其中。该体系在胃肠道中能够自发形成粒径在 100 nm 以下且分布均匀的微乳,具有很大的比表面积,所以能够大大提高药物的溶出度,从而提高生物利用度。其制备工艺简单,易于控制,成本相对较低。目前国外已有 3 种自乳化制剂上市。本文研究了非诺贝特制成自微乳制剂后的体外溶出度以及在比格犬体内药动学。

1 材料

UV-160A 可见-紫外分光光度计(日本岛津公司);1100 系列 HPLC 仪(美国 Agilent);激光粒度测定仪(美国 PSSwww.nanofluidizer.com,上海惠同代理);TDT-08L 溶出仪(美国 ElectroLab);中链油(德国 Con-dea 公司);油酸(进口分装);聚山梨醇酯-80(进口分装);聚氧乙烯蓖麻油 EL-35(德国 BASF 公司);聚乙二醇 400(北京化学试剂厂);1,2-丙二醇(北京化学试剂厂);非诺贝特自微乳胶囊(自制,规格:每粒 50 mg);市售非诺贝特普通片剂(北京益民药业,规格:100 mg/粒);市售微粉胶囊(法国利博福尼制药公司,规格:200 mg/粒);比格犬,体质量(10±2) kg,由军事医学科学院动物中心提供。

2 方法

2.1 非诺贝特自微乳制剂的制备 选择对非诺贝特溶解度较大的油作为油相,溶解药物后,分别按照不同的比例加入表面活性剂与助表面活性剂,搅拌均匀,当体系恰好澄清时,记录各组分的量,绘制三元相图,确定澄清区域,并根据乳化后形成乳剂的粒径大小,绘制自微乳区域。根据乳化后微乳的稳定性及粒径分布,选出较好处方。

2.2 粒径测定 将较好处方加水乳化后(50~500 倍),观察其形态,并以 50 倍纯化水(或 0.1 mol/L 盐酸)稀释乳化后,在激光粒度测定仪下测定其粒径大小及分布。

2.3 体外溶出试验 取自制非诺贝特自微乳胶囊 2 粒,溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸 500 mL,恒温(37±1)℃,篮法,转速 75 r/min;市售普通片剂和市售微粉胶囊的溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸加入 0.1% 的表面活性剂(相当于自制制剂的试验条件) 900 mL,恒温(37±1)℃,浆法,转速 75 r/min;分

别于 10, 20, 30, 45, 60 min 取样 5 mL,并同时补液 5 mL,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,紫外法测定药物含量。

2.4 体内药动学研究 采用双周期交叉给药,比格犬 6 只,分为 2 组,给药剂量参照现有市售微粉化胶囊制剂规格及服用剂量给药,为 200 mg/只,清洗周期为 7 d。给药前禁食 12 h,分别于清晨口服药物(将自制自微乳制剂装入硬胶囊中,再分别将自制胶囊及市售微粉化胶囊投入犬口中,滴加少量水送服)后 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 h 在后肢静脉取血 4 mL,置于涂有肝素的塑料试管中,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆样品,置于 -20℃ 冰柜中保存,待测。

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C₁₈(4.6 mm @ 150 mm, 5 μm);流动相:70% 甲醇-30% 水(磷酸调节 pH 至 2.6);流速:1 mL/min;检测波长:280 nm。

2.4.2 血样处理 取血浆 1.0 mL 于离心管中,精密加入尼泊金丁酯内标溶液(40 mg/L) 100 μL,混合均匀,加 0.1 mol/L 盐酸 0.6 mL,加乙醚 5 mL,旋涡 2 min,3 000 r/min 离心 10 min。取上清液于离心管中,4℃ 下氮气吹干,残渣用 200 μL 流动相复溶,20 μL 进样。

2.4.3 标准曲线 由于非诺贝特进入体内后很快代谢为非诺贝特酸,几乎无原型药物存在,故以非诺贝特酸直接制备标准溶液。各取空白血浆 1.0 mL,加入非诺贝特酸标准品溶液,使其质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 mg/L,每种质量浓度均有 3 个试管,再按 2.4.20 项下方法操作。以样品峰面积与内标峰面积之比为纵坐标对药物浓度进行线性回归。

2.4.4 回收率及精密度试验 取空白血浆 1.0 mL 若干,分别加入非诺贝特酸标准溶液,使其质量浓度分别为 0.2, 2, 10 mg/L,每种质量浓度各 5 份,按 2.4.20 项下方法操作。将药物与内标峰面积比代入标准曲线的方程中,计算所得浓度除以理论浓度,即得方法回收率及日内精密度。

2.4.5 血浆药物浓度测定 分别取待测血浆 1.0 mL 于离心管中,按照 2.4.20 项下方法操作,将药物与内标峰面积比代入标准曲线方程,所得结果采用 DAS 2.0 程序处理,将不同时间内血浆浓度数据对时间进行拟合,并计算相关药动学参数。

3 结果

3.1 三元相图的绘制 分别以油相、表面活性剂和助表面活性剂为顶点,记录临界值,绘制自微乳区三

元相图, 见图 1。

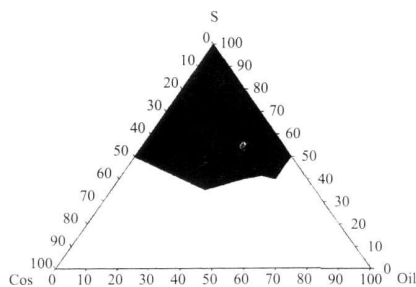


图 1 自微乳区三元相图

Fig 1 Ternary Phase Diagram

3.2 粒径测定结果 将较好处方分别以 50, 100, 200, 500 倍加水乳化后, 观察其外观形态, 均为澄清透明的微乳溶液, 略带淡蓝色乳光, 离心后无药物析出及分层, 说明该制剂可被水无限稀释而始终稳定。

对较好处方 50 倍稀释乳化后进行粒径测定, 由激光粒度仪 (美国 PSS, 上海惠同代理) 测定结果可知, 样品粒径分布均匀, 并且平均粒径均在 50 nm 以下。用纯化水稀释乳化和用 0.1 mol# L⁻¹ 盐酸稀释乳化后的粒径分布和大小无明显变化, 较好处方平均粒径分别为 (28 ± 5.7) nm 和 (33 ± 9.6) nm。

3.3 体外溶出结果 自制样品及市售制剂的体外溶出见图 2。

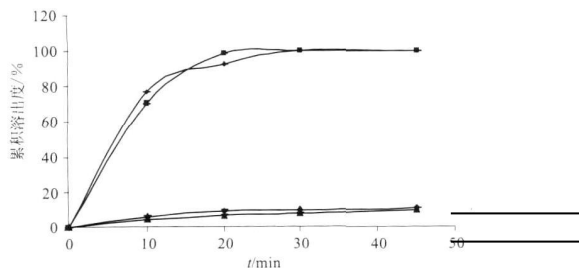


图 2 体外溶出曲线 (n=6)

) s) 自制样品 1;) u) 自制样品 2;) s) 微粉胶囊;) w) 普通片剂

Fig 2 Dissolution curve in vitro (n=6)

) s) sample 1;) u) sample 2;) s) powder capsules;) w) conventional tablets

由图 2 可以看出, 在模拟相似介质的溶出度试验条件下, 自微乳制剂的溶出度明显高于市售普通片剂和微粉胶囊剂。30 min 时, 普通片剂和进口微粉胶囊溶出度不足 10%, 而自微乳制剂在 90% 以上。

3.4 比格犬体内药动力学结果

3.4.1 方法学研究结果 非诺贝特酸在空白血浆中的标准曲线方程为 $C = 1.75A_{比} - 0.0319$, $r^2 = 0.9996$ (n=3), 在 0.1~20 mg#L⁻¹ 范围内线性关系良好。低、中、高 3 个浓度的方法回收率分别为

95.5%, 102.9%, 104.7% (n=5), 绝对回收率分别为 86.2%, 85%, 80.4% (n=5), 低、中、高 3 个浓度的日内精密 RSD 分别为 1.9%, 11.7% 和 4.5% (n=5)。色谱图见图 3。

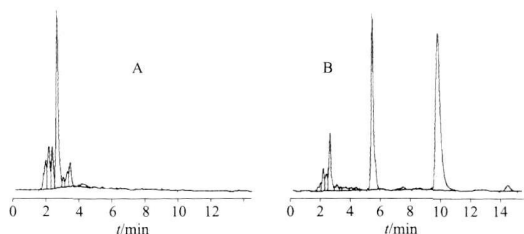


图 3 高效液相色谱图

A. 空白血浆; B. 内标和对照品

Fig 3 HPLC chromatograms

A. blank-plasma; B. internal standard and reference-substance

3.4.2 体内药时曲线及药动力学参数 数据采用 DAS 2.0 程序进行处理。市售微粉胶囊及自制自微乳制剂的体内药时曲线见图 4。主要药动力学参数见表 1。

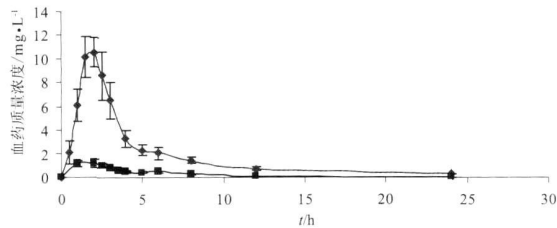


图 4 体内药时曲线 (n=6)

) s) 自制;) u) 参比

Fig 4 Plasma concentration-time curve in vivo (n=6)

) s) test;) u) reference

表 1 主要药动力学参数 (S, n=6)

Tab 1 Comparison of main pharmacokinetics parameters (S, n=6)

| 参数 | 参比制剂 | 自制制剂 |
|---|----------|------------|
| AUC ₀₋₂₄ / mg#L ⁻¹ #h | 6.0? 2.6 | 44.7? 13.7 |
| AUC ₀₋₁ / mg#L ⁻¹ #h | 6.2? 2.6 | 45.8? 14.1 |
| C _{max} / mg#L ⁻¹ | 1.3? 0.8 | 11.8? 2.5 |
| t _{max} / h | 2.5? 0.4 | 2.0? 0.4 |

由结果可知, 非诺贝特自微乳制剂的达峰时间有所提前, 同时, 对市售微粉胶囊与自制自微乳制剂的体内药动力学参数进行方差分析 (C_{max}、t_{max} 和 AUC₀₋₁), 二者差异有显著性 (P<0.01), 说明将非诺贝特制成自微乳制剂后, 可明显提高药物在体内的吸收。

4 讨论

由于非诺贝特难溶于水, 有文献对使用不同溶出介质的结果进行了比较, 目前通常选择用 1% 的十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液作为非诺贝特药物的溶出介质, 这是因为由于表面活性剂 SDS 的存在,

<http://www.cnki.net>

可以增加非诺贝特在水中的溶解度。而本研究中则采用能够模拟人体胃液的 0.1 mol#L⁻¹ 盐酸加入 0.1% 表面活性剂(相当于自微乳制剂处方量中的表面活性剂) 作为溶出介质, 分别考察了非诺贝特市售普通片剂、微粉胶囊和自微乳制剂的溶出度。在同等条件下, 自微乳制剂可显著提高非诺贝特在体外的溶出速度和程度, 说明溶出度的提高并非是表面活性剂的单纯影响, 而是由于自微乳制剂本身能够使水难溶性药物成分分子状态存在, 提高药物在水中的溶解, 从而大大提高了药物的生物利用度。

另一方面说明, 药物以自微乳形式进入机体, 吸收大大提高, 可减少用药剂量。说明自微乳制剂的发展为生物利用度低的水难溶性药物提供了一个很好的给药前景。

参考文献:

[1] Hong JY, Kim JK, Song YK, et al. A new sel-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption[J]. Journal of Controlled Release, 2006, 110: 332-338.

[2] Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, sel-emulsifying and sel-microemulsifying drug delivery systems[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2000, 11(Suppl): S93-S98.

[3] O. driscoll CM. Lipid-based formulations for intestinal lymphatic delivery[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002, 15(5): 405-415.

[4] Vogtm, Kunath K, Dressman JB. Dissolution enhancement of fenofibrate by micronization, cogrinding and spray-drying: Comparison with commercial preparations[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008, 68(2): 283-288.

[5] 赵永红, 黄毅慧, 黄仲义. 非诺贝特胶囊(微粒化) 人体生物利用度研究[J]. 中国药房, 2006, (14): 1082-1083.

[6] GAO ZH W, LI ZH D, JIAO ZH, et al. Determination of Fenofibric Acid in Human Plasma by HPLC and Its Pharmacokinetics[J], Chinese Journal of Pharmaceutics(中国医药工业杂志), 2006, 37(1) 32-34.

[7] Hanapy A, Spahn Languth H, Vergnault G, et al. Pharmacokinetic evaluation of oral fenofibrate nanosuspensions and SLN in comparison to conventional suspensions of micronized drug [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2007, 59(6): 419-426.

[收稿日期] 2008-11-09

盐酸特拉唑嗪分散片的人体生物利用度

张志涛, 李见春, 蒋志文 (蚌埠医学院药理学系, 安徽 蚌埠 233030)

[摘要] 目的: 研究盐酸特拉唑嗪分散片和国产普通片的人体生物等效性。方法: 20 名健康男性受试者自身交叉单剂量口服盐酸特拉唑嗪分散片和国产普通片, 采用高效液相色谱-荧光法测定血浆药物浓度, 计算药动学参数, 以方差分析与双向单侧 t 检验进行统计学分析。结果: 盐酸特拉唑嗪分散片和国产普通片的 C_{max} 分别为(29.8? 9.3) Lg#L⁻¹和(31.0? 9.8) Lg#L⁻¹, t_{max} 分别为(0.8? 0.1) h 和(1.5? 0.9) h, AUC_{0-y₁} 分别为(325.9? 75.5) Lg#h#L⁻¹和(362.3? 105.6) Lg#h#L⁻¹。盐酸特拉唑嗪分散片的相对生物利用度为(91.5? 26.6) %。结论: 2 种制剂具有生物等效性。

[关键词] 盐酸特拉唑嗪; 高效液相色谱法; 生物利用度; 生物等效性

[中图分类号] R969 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2009)14-1170-03

Bioavailability of terazosin hydrochloride dispersible tablets in Chinese healthy volunteers

ZHANG Zhi tao, LI Jian-chun, JIANG Zhi-wen (Faculty of Pharmacy, Bengbu Medical College, Anhui Bengbu 233030, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the relative bioequivalence of terazosin HCl dispersible tablets and its domestic conventional tablets in Chinese healthy volunteers. METHODS A single oral dose of 2 mg terazosin HCl was randomly given to 20 healthy volunteers in two way cross-over design. Plasma concentration of terazosin HCl was determined by HPLC-fluorometry method. Pharmacokinetics parameters were calculated. The bioequivalence of the two preparations was calculated by analysis of variance and two one side t-test. RESULTS After oral administration, the main pharmacokinetics parameters of test and reference preparations were as follows: C_{max}(29.8? 9.3) and (31.0? 9.8) Lg#L⁻¹, t_{max}(0.8? 0.1) and (1.5? 0.9) h, AUC_{0-y₁}(325.9? 75.5) and (362.3? 105.6) Lg#h#L⁻¹, respectively. The relative bioavailability of dispersible tablets was (91.5? 26.6) %. CONCLUSION The two preparations were bioequivalent.

[作者简介] 张志涛, 男, 硕士, 讲师, 电话: 0552-3175233, E-mail: zhangzhitao2000@126.com [通讯作者] 蒋志文, 男, 博士, 教授, 电话: 0552-3175228, E-mail: zzw_wjj51@yahoo.com.cn