论著

文章编号:1000-5404(2012)12-1240-04

吡罗昔康环糊精包合物在Beagle犬体内的药物动力学研究

张建明[1],吴 江[2],方晓玲[2] (201108 上海,上海交通大学医学院附属精神卫生中心[1];201203 上海,复旦大学药学院药剂教研室[2])

[摘要] **目的** 研究吡罗昔康环糊精包合物Beagle犬体内药物动力学。**方法** 6只Beagle犬采用随机、双周期交叉给药,单剂量灌胃给予吡罗昔康受试制剂或参比制剂,用HPLC法测定吡罗昔康血浆浓度,用统计矩原理进行血药浓度-时间数据分析。**结果** 吡罗昔康包合物的达峰时间t_{max}快于普通片剂,分别为(0.89±0.09)、(3.92±0.49)h,两者有显著差异($P<0.01$),两者的半衰期$t_{1/2}$分别为(31.30±4.38)、(29.38±1.83)h,曲线下面积(AUC_{0-t})分别为(242.92±30.04)、(230.55±8.06)μg/(h·ml),最高血药浓度(C_{max})分别为(7.82±0.44)、(7.49±0.36)μg/ml,清除率(Cl)分别为(80.92±10.65)、(85.27±2.95)ml/h,表观分部容积(V_d)分别为(3.36±0.51)、(3.22±0.19)L,均无明显差异($P>0.05$),吡罗昔康包合物相对于市售片剂的相对生物利用度为106.74%。**结论** 建立的HPLC分析方法准确可靠。两种剂型的生物利用度相似,将吡罗昔康制成包合物后能大大加快药物在体内的吸收速度,使其更快发挥药效。

[关键词] 吡罗昔康;β-环糊精;包合物;药动学;生物等效性
[中图法分类号] R944;R969.1;R971.1 [文献标志码] A

Pharmacokinetics of piroxicam-β-cyclodextrin inclusion complexes in Beagle dogs

Zhang Jianming[1], Wu Jiang[2], Fang Xiaoling[2] ([1]Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 201108; [2]Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai, 201203, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the pharmacokinetics of piroxicam-β-cyclodextrin inclusion complexes in Beagle dogs. **Methods** An open randomized two-period crossover self-control trial was conducted in 6 Beagle dogs. Piroxicam in the plasma was assayed by HPLC after a single oral dose of 20 mg piroxicam in test complexes (capsules) and reference tablets. The serum concentration-time data were analyzed by non-compartmental model. **Results** The t_{max} of the capsules and the tablets were 0.89±0.09 and 3.92±0.49 h, respectively, with the former significantly shorter than the latter. The $t_{1/2}$ were 31.30±4.38 and 29.38±1.83 h, respectively. The AUC were 242.92±30.04 and 230.55±8.06 g/(h·ml). The C_{max} were 7.82±0.44 and 7.49±0.36 g/ml. The Cl were 80.92±10.65 and 85.27±2.95 ml/h. The V_d were 3.36±0.51 and 3.22±0.19 L, respectively. These above indexes had no significant difference between 2 groups. The relative bioavailability of capsules was 106.74% compared to that of tablets. **Conclusion** The established HPLC method is accurate and reliable. Though the 2 two piroxicam agent are bioequivalent, the capsules of inclusion complexes significantly accelerate the dissolution and absorption rate.

[**Key words**] piroxicam; β-cyclodextrin; inclusion complex; pharmacokinetics; bioavailability

Corresponding author: Fang Xiaoling, E-mail: xlfang@shmu.edu.cn

非甾体抗炎药吡罗昔康(piroxicam)具有很强的抗炎作用,临床用于治疗风湿性和类风湿性关节炎,药物分子具有良好的膜渗透性,口服吸收良好。但是由于其在水中难溶,因此在胃肠液中溶解速度很低,继而导致吸收缓慢和起效时间延迟。据文献报道,将吡罗昔康制成β-环糊精(β-CD)包合物能加快其吸收速度[1-2],降低胃肠道刺激性[3]。本研究拟考察自制吡罗昔康包合物在Beagle犬体内的药物动力学过程,以期为新制剂的研发及更好地发挥药效提供参考[4]。

[通信作者] 方晓玲,E-mail:xlfang@shmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 仪器

TGL-16C台式离心机(上海安亭科学仪器厂);AE2000电子分析天平(METTLER);XW-80A型漩涡混合器(上海医科大学仪器厂);LC-10A型高效液相色谱仪,SPD-10A型紫外可见检测仪(日本岛津公司);HS2000色谱数据工作站(杭州英谱公

司);Phenomenex ODS-C18,5 μm,4.6 mm×150 mm 色谱柱(迪马公司);Phenomenex 保护柱(迪马公司)

1.2 药品与试剂

吡罗昔康原料药(批号200509087,含量98.8%,河南开封制药有限公司);吡罗昔康-β-环糊精包合物粉末(自制,含量10.21%);吡罗昔康-β-环糊精包合物胶囊(自制,剂量10 mg);吡罗昔康片(批号051201,上海医药集团有限公司信谊制药总厂);吡罗昔康对照品(批号100177-200603,中国药品生物制品检定所);美洛昔康标准品(批号100679-200401,中国药品生物制品检定所);乙腈,色谱纯(TEDIA 公司,USA);甲醇,色谱纯(江苏汉邦科技有限公司);其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

Beagle 犬雌性,体质量(10.35±0.48)kg,复旦大学上海医学院实验动物中心提供。采用随机分组、自身对照交叉实验方法,将6只实验对象按照随机数字表分为2组,禁食12 h。分别口服给予自制包合物胶囊和市售片剂各2粒(剂量20 mg),于给药后不同时间(胶囊:10、20、30、40、50 min,1、2、3、4、6、8、12、24、48、72、120 h;片剂:0.5、1、2、3、4、4.5、5、5.5、6、7、8、12、24、48、72、120 h)取静脉血2 ml。

1.4 色谱分析条件

色谱柱:phenomenex ODS-C18,5 μm,4.6×150 mm;流动相:乙腈-醋酸盐缓冲液(取醋酸铵0.77 g,加水1 000 ml溶解,用1 mol/L柠檬酸调节到pH 4.0)(37.5∶62.5);流速:1.0 ml/min;检测波长:334 nm;柱温:常温;进样量:20 μl。

1.5 血浆样品处理方法

取血浆200 μl,加入1 mg/L美洛昔康乙腈溶液10 μl,漩涡30 s,加入20%高氯酸溶液20 μl,漩涡1min,离心(14 000 r/min)10 min,取上清液,进样测定。

1.6 药物动力学研究

1.3 中所取静脉血置于加有肝素钠的离心管内,离心(4 000 r/min)10 min,取血浆200 μl,按"血浆样品处理方法"操作后,进样测定。药动学参数计算时曲线下面积(AUC)用梯形法计算,t_{max}、C_{max}采用实测值,其他药动学参数采用统计矩方法[5]计算。

2 结果

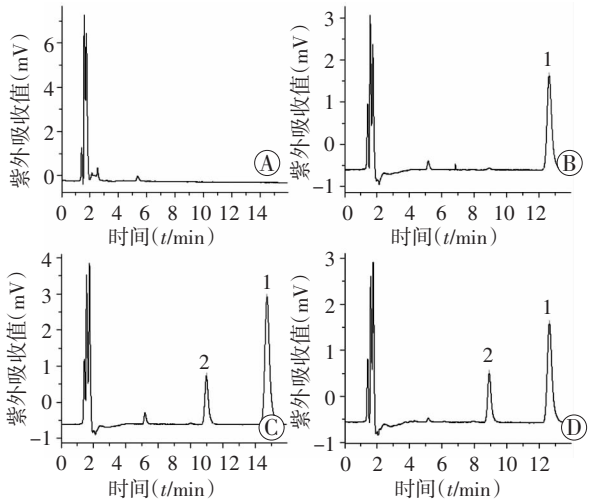
2.1 标准曲线的制备

精密称取吡罗昔康原药适量,用乙腈配制成5 000、10 000、20 000、50 000、100 000、250 000 ng/ml的标准品溶液,置4 ℃冰箱保存备用。取Beagle犬空白血浆200 μl若干份,分别加入标准品溶液,使吡罗昔康浓度分别为250、500、1 000、2 000、5 000、12 500 ng/ml,按血浆样品处理方法进行预处理,依次取样20 μl进样分析,重复3次,记录吡罗昔康的峰面积(A_s)与内标的峰面积(A_i),其比值分别为0.023 3、0.045 8、0.083 3、0.188 4、0.441 9和1.083 7,以两者之比对浓度(C)进行线形回归,得标准曲线方程。线形回归方程:$A_s/A_i=0.086\,6\,C-0.004\,5$,$r=0.999\,7$。

故在0.25~12.5 μg/ml浓度范围内,吡罗昔康与内标的峰面积比(A_s/A_i)与浓度(C)线形关系良好,r为0.999 7。

2.2 方法专属性考察

取Beagle犬空白血浆,分别配制空白血浆、空白血浆加内标液、空白血浆加一定浓度吡罗昔康溶液(含内标)及给药后血浆样品,按"血浆样品处理方法"操作后,在上述色谱条件下,测得各样品的HPLC色谱图。见图1。



A:空白血浆;B:空白血浆加内标;C:空白血浆加吡罗昔康和内标;D:给药后血浆样品 峰1和峰2:分别为吡罗昔康和内标

图1 Beagle犬血浆中吡罗昔康和内标美洛昔康的高效液相色谱图

2.3 精密度实验

分别配制浓度为250、2 000、12 500 ng/ml的吡罗昔康空白血浆标准溶液,用HPLC法测定,在第1天内测定不同浓度的吡罗昔康空白血浆标准溶液,每种浓度5份,统计测定数据的相对标准偏差(RSD),即为日内精密度(intra-day precision);此后在1个月内任选4 d,每天分别测定上述3种浓度的样品各5份,统计5 d内共25份样品测定数据的RSD,求得日间精密度(intra-day precision),结果见表1。由表可知,吡罗昔康的日间和日内精密度符合要求,均<10%。

表1 高效液相色谱法测定吡罗昔康的精密度($n=5$)

浓度(ng/ml)	日内变异		日间变异	
	测得值(ng/ml)	RSD(%)	测得值(ng/ml)	RSD(%)
250	291.06±20.52	7.05	283.51±25.20	8.89
2 000	2 022.83±91.94	4.55	2 062.89±82.72	4.01
12 500	12 505.19±195.17	1.56	12 479.06±340.68	2.73

2.4 回收率实验

分别配制浓度为250、2 000、12 500 ng/ml的吡罗昔康空白血浆标准溶液,经过血浆样品预处理后,用HPLC法测定。将以上空白血浆标准液的测得浓度除以理论浓度求得方法回收率,结果见表2。结果表明,在线性范围内方法回收率均在90%~105%之间,符合要求。

表2 高效液相色谱法测定Beagle犬血中吡罗昔康的方法回收率($n=25$)

浓度(ng/ml)	回收率(%,$\bar{x}\pm s$)	RSD(%)
250	114.73±9.33	8.13
2 000	101.14±4.60	4.87
12 500	100.50±2.17	2.16

2.5 最低检测限

取最低浓度标准样品(250 ng/ml)HPLC进样,信噪比(S/N)达到3倍,测得最低检测限为50 ng/ml。

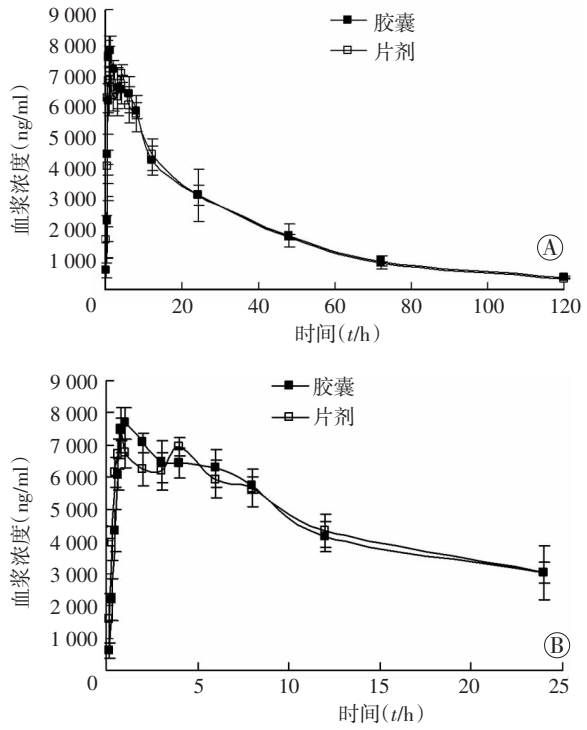
表3 口服吡罗昔康包合物胶囊和片剂20 mg后的药动学参数

组别	$t_{1/2}$(h)	t_{max}(h)	C_{max}(μg/ml)	k_e(h)	$AUC_{0\sim t}$ [μg/(h·ml)]	$AUC_{0\sim\infty}$ [μg/(h·ml)]	平均滞留时间(h)	Cl (ml/h)	V_d (L)
吡罗昔康包合物	31.30±4.38	0.89±0.09[a]	7.82±0.44	0.022±0.003	242.92±30.04	250.61±31.56	41.83±6.81	80.92±10.65	3.36±0.51
吡罗昔康片剂	29.38±1.83	3.92±0.49	7.49±0.36	0.024±0.001	230.55±8.06	234.79±8.39	37.71±1.27	85.27±2.95	3.22±0.19

a:$P<0.01$,与吡罗昔康片剂比较

2.6 Beagle犬体内药物动力学研究

平均血药浓度-时间曲线见图2,其他药动学参数见表3。吡罗昔康包合物的达峰时间大大快于普通片剂($P<0.01$),而两者的半衰期$t_{1/2}$、曲线下面积(AUC)、最高血药浓度(C_{max})、清除率(Cl)、表观分部容积(V_d)无明显差别($P>0.05$),吡罗昔康包合物相对于市售片剂的相对生物利用度为106.74%。



A:给药后全程;B:给药第1天

图2 口服吡罗昔康包合物胶囊和片剂20 mg后6只Beagle犬血浆中吡罗昔康的血药浓度-时间曲线

3 讨论

关于血液中吡罗昔康的测定方法,多数采用血样酸化后加有机溶剂萃取,再吹干复溶的方法处理血样[6-7],优点是可将样品浓缩,灵敏度更高。由于本实验血样中的药物浓度很高,不需浓缩灵敏度亦可达到要求,故选择了强酸沉淀蛋白的方法,简单快捷,重复性好,有利于大量的血样测定工作。

药动学参数的统计分析结果表明,吡罗昔康包合物的AUC值略大于片剂,但无显著性差异,相对生物利用度为106.74%,而达峰时间显著快于市售普通片剂。根据原料药的生物药剂学分类系统(BCS),吡罗昔康属于低溶解性高渗透性的BCSⅡ类药物[8],由于其具有很好的膜透过性,胃肠道吸收良好,因此生物利用度较高,但其溶解度较低,因而药物从剂型中的溶出速率成为吸收的限速步骤。将吡罗昔康制成β-环糊精包合物后,可以显著提高其在水中的溶解度,溶出速度加快,因此吡罗昔康包合物吸收较普通片剂加快,动物体内达峰时提前。研究表明[8]吡罗昔康包合物在体内的达峰时间在30~60 min,而吡罗昔康普通片剂则在3~5 h,与实验结果较为一致。但在人体内半衰期报道为40~50 h,而本实验测得在Beagle犬体内药物半衰期为30 h左右,可能是由于种属差异所导致。

血药浓度-时间曲线显示,本品在比格犬体内吸收存在双峰现象,这可能是吡罗昔康在体内存在肝肠循环所致。已有报道,吡罗昔康动物体内药物浓度-时间曲线存在双峰现象[9-10],本研究实验结果与其报道结果一致。研究显示非甾体类抗炎药普遍存在肝肠循环而存在双峰现象[11-12],因此推论,本实验血药浓度-时间曲线的双峰现象应该是由于药物存在肝肠循环所致。

参考文献:

[1] Wang D, Miller R, Zheng J, *et al*. Comparative population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis for piroxicam-beta-cyclodextrin and piroxicam[J]. J Clin Pharmacol, 2000, 40(11): 1257-1266.

[2] Deroubaix X, Stockis A, Allemon A M, *et al*. Oral bioavailability of CHF1194, an inclusion complex of piroxicam and beta-cyclodextrin, in healthy subjects under single dose and steady-state conditions[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1995, 47(6): 531-536.

[3] Muller P, Simon B. Comparative endoscopic study of gastroduodenal tolerance of piroxicam-beta-cyclodextrin *vs* piroxicam[J]. Z Rheumatol, 1997, 56(2): 76-79.

[4] 谭群友, 熊华蓉, 王睿, 等. 溴吡斯的明缓释片的药代动力学和相对生物利用度研究[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(5): 511-514.

[5] James E F, Reynolds, Katnleen P, *et al*. Martindale[M]. 34 ed. London. Royal Pharmaceutical Society, 2005: 84-85.

[6] Maya M T, Pais J P, Morais J A. A rapid method for the determination of piroxicam in plasma by high-performance liquid chromatography[J]. J Pharm Biomed Anal, 1995, 13(3): 319-322.

[7] 朱余兵, 邹建军, 钱薇, 等. 高效液相色谱法测定健康受试者血浆中吡罗昔康的药动学研究[J]. 中国新药与临床杂志, 2006, 25(7): 511-514.

[8] Yuksel N, Karatas A, Ozkan Y, *et al*. Enhanced bioavailability of pi-

roxicam using Gelucire 44/14 and labrasol: *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2003, 56(3): 453 - 459.
[9] 方晓玲, 蒋新国, 张志如, 等. 吡罗昔康两种给药途径的血药浓度与局部浓度比较[J]. 药学学报, 1995, 30(3): 226 - 229.
[10] 李丽. 吡罗昔康自微乳化给药系统的研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
[11] Baudrimont I, Murn M, Betbeder A M, *et al*. Effect of piroxicam on the nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats[J]. Toxicology, 1995, 95(1/3): 147 - 154.
[12] Villegas I, Alarcon-de-la-Lastra C, La-Casa C, *et al*. Effects of food intake and oxidative stress on intestinal lesions caused by meloxicam and piroxicam in rats[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2001, 414(1): 79 - 86.

(**收稿**:2012-04-22;**修回**:2012-05-13)
(编辑 张 维)

文章编号:1000-5404(2012)12-1243-01

个案与短篇

颞骨巨细胞瘤合并动脉瘤性骨囊肿 1 例

黄 毅, 崔高宇, 冯 华 (400038 重庆, 第三军医大学西南医院神经外科, 全军神经系统疾病微创诊治专科中心)

[**关键词**] 颞骨; 骨巨细胞瘤; 动脉瘤性骨囊肿
[**中图法分类号**] R739.4 [**文献标志码**] B

骨巨细胞瘤(giant cell tumor of bone, GCT)是一种常见的原发性骨肿瘤, 约占所有骨肿瘤的 5%, 发生于颅骨的 GCT 少见, 仅占总数的 1% ~2%[1], 颞骨巨细胞瘤 (giant cell tumor of temporal bone, GCTT) 更为少见; 动脉瘤性骨囊肿(aneurysmal bone cyst, ABC)是一种原因不明的瘤样病变, 好发于长骨干骺端, 发生于颅骨的 ABC 少见, 仅占总数的 3% ~6%[2]。颅骨 GCT 合并 ABC 罕见, 国内外报道例数不多, GCTT 合并 ABC 的病例目前仅有 1 例报道[3]。2008 年 3 月我科收治 1 例, 现报告如下。

1 临床资料

患者, 男性, 35 岁。因"右耳听力进行性下降 1 年半"入院。查体: 右耳听力下降, 右侧面部痛温触觉较左侧减退, 右侧乳突区皮肤正常, 无明显局部膨隆, 无红肿压痛, 余神经系统查体未见确切异常。电测听提示右耳传导性聋。CT: 右侧颞叶脑外囊性占位, 邻近颞骨及蝶骨可见骨质破坏改变, 颞骨乳突可见骨质破坏, 密度增高, 鼓窦及鼓室内可见软组织密度影, 右乳突气化差, 听骨链结构破坏。MRI(图 1): 右侧颞叶见一类圆形病变, 大小为 4.2 cm × 7.0 cm, 呈不均匀囊性混杂信号, 囊壁可见不均匀强化, 周围未见明显低密度影。周围骨质见溶骨性破坏, 各层脑实质内未见异常信号。全麻神经导航下行右侧颞叶病变显微切除术, 术中见: 右颞骨部分骨质被肿瘤侵蚀、破坏; 板障出血用骨蜡止; 右颞骨磷部见一约 0.5 cm × 0.5 cm 大小缺损, 同时有黄色液体涌出, 随后见血性液体流出, 肿瘤位于硬膜外, 血供丰富, 约 7 cm × 5 cm 大小, 直达中颅底, 颞骨岩部也有部分骨质破坏, 质地中等, 与周围组织分界清楚, 包膜完整, 呈淡黄色, 电凝肿瘤表面, 囊内分块切除肿瘤, 再将肿瘤包膜从硬膜外分块切除。术后病理检查: (右颞骨)骨巨细胞瘤伴动脉瘤性骨囊肿。术后复查头颅 CT(图 2)示肿瘤全切, 拆线后予以局部放疗, 患者恢复良好, 无面瘫, 未诉头痛、眩晕等不适症状。随访 4 年情况良好。

[**通信作者**] 冯 华, 电话: (023)68754153, E-mail: Fenghua8888@yahoo.com.cn



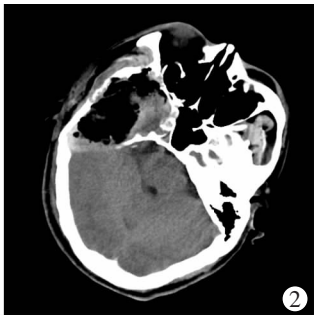


图 1 颞骨巨细胞瘤合并动脉瘤性骨囊肿患者 MRI 示右侧颞部囊性混杂信号影, 囊壁不均匀强化, 周围骨质见溶骨性破坏

图 2 颞骨巨细胞瘤合并动脉瘤性骨囊肿患者术后复查头颅 CT 表现

2 讨论

GCT 是一种原发性骨肿瘤, 一般认为起源于骨髓内非成骨性结缔组织, 好发于 20 ~ 40 岁的成年人, 好发部位为长骨骨端; ABC 是一种膨胀性溶骨性病变, 好发于 10 ~ 20 岁的青少年, 目前认为 ABC 是既非动脉瘤亦非真性囊肿的良性病变。GCT 与 ABC 虽同为良性肿瘤, 但两者的生物学行为十分相似, 均表现为活跃的侵袭性及破坏性特征, 具有复发倾向。

GCT 由单核基质细胞及多核巨细胞组成, 单核基质细胞是 GCT 的主要成分, 多核巨细胞大多由单核基质细胞融合而成, 镜下以多核巨细胞均匀分布于单核基质细胞中为特征; GCT 与 ABC 的鉴别点在于后者镜下多核巨细胞呈不均匀地分布于血管囊肿囊壁内和出血灶附近, 且其细胞的体积多较前者的为小[4]。

颅骨 GCT 和 ABC 的临床表现均无特异性, 都因肿瘤所在部位及侵犯破坏范围而异; 早期可无任何症状, 肿瘤向外生长可出现耳周局部膨隆变形, 向内发展可有耳痛、耳鸣、听力下降、面瘫及眩晕等, 继续向内侵犯至颅内可出现头痛及癫痫等症状。本例患者表现为右耳听力进行性下降及右侧面部浅感觉减退, 可能与肿瘤破坏中耳、听骨链及侵犯三叉神经有关。

(下转 1246 页)