技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)08-1232-03

普罗布考自微乳化释药系统大鼠体内药动学研究

马俐丽,朱照静
(重庆医科大学药学院药剂教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:考察普罗布考(Probucol,PB)自微乳化释药系统(Probucol self-microemulsifying drug delivery system,PB-SMEDDS)在大鼠体内的药动学。方法:以大鼠为模型动物,PB 混悬液为参比,按自身对照单剂量双周期交叉给药方案,对 PB-SMEDDS 进行药动学研究。采用高效液相色谱法检测血药浓度,3P97 药动学软件处理数据。结果:PB-SMEDDS 属于双隔室模型(权重系数为 $1/C^2$),C_{max} 为 6.72 μg/ml,t_{max} 为 8.58 h,$AUC_{0\sim96h}$ 为 253.98 (μg·h)/ml,$AUC_{0\sim96h}$ 为 PB 混悬液的 19.08 倍。结论:PB-SMEDDS 可显著提高 PB 的口服生物利用度。

【关键词】普罗布考;自微乳化释药系统;高效液相色谱;药动学
【中国图书分类法分类号】R944.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-03-23

Pharmacokinetics of probucol self-microemulsifying drug delivery system in rats

MA Li-li, et al
(*Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the pharmacokinetics of probucol (PB) self-microemulsifying drug delivery system (PB-SMEDDS) in rats. *Methods*: Rats were used as the models. With PB suspension as control, double cycle crossover with single oral dose was performed to investigate the pharmacokinetics of PB-SMEDDS. The HPLC method was established to detect drug concentration in the rat plasma, and the obtained data were processed with 3P97 software. *Results*: The plasma concentration-time profiles of PB-SMEDDS conformed to a two-compartment model (the coefficient weight is $1/C_2$). Cmax, tmax and $AUC_{0\sim96h}$ were 6.72 μg/ml, 8.58 h and 253.98 (μg·h)/ml, respectively. The $AUC_{0\sim96h}$ of PB-SMEDDS was 19.08 times of PB suspension. *Conclusion*: PB-SMEDDS could improve the oral bioavailability of PB significantly.

【Key words】Probucol; Self-microemulsifying drug delivery system; HPLC; Pharmacokinetics

普罗布考(Probucol,丙丁酚,PB)主要用于降血胆固醇及抗动脉粥样硬化,可抗经皮经腔冠状动脉成形术后再狭窄、抗氧化、消黄瘤等作用。但 PB 脂溶性强,在胃肠液中溶解度小,口服生物利用度小于 10%,且个体差异大,影响了其临床疗效。

自微乳化释药系统[1](Self-microemulsifying drug delivery system,SMEDDS)由油相、非离子表面活性剂和助乳化剂形成的热力学稳定、均一澄明的液体,在胃肠蠕动下(通常在 37℃)可自发形成粒径小于 100 nm 的 O/W 型乳剂。其乳滴具有巨大的比表面积,可提高水难溶性药物的溶出,促进药物在胃肠道的吸收及淋巴转运,从而提高药物的口服生物利用度[2]。本文对普罗布考自微乳化释药系统(Probucol self-microemulsifying drug delivery system,PB-SMEDDS)在大鼠体内药动学进行研究,探讨 SMEDDS 提高 PB 口服生物利用度的可行性。目前尚未见 PB-SMEDDS 的相关报道。

作者介绍:马俐丽(1983-),女,硕士,
研究方向:药物新剂型与新技术。
通讯作者:朱照静,男,教授,E-mail: zhaojing6271@163.com。

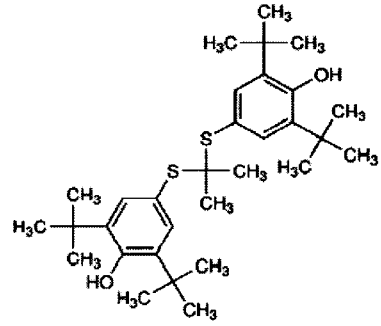


图 1 PB 的结构式

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

PB(武邑慈航药业有限公司,纯度 99.7%);PB-SMEDDS(自制)[3];PB 混悬液(自制);肉豆蔻酸异丙酯(Isopropyl Myris-

tate,IPM,美国 Fluka 公司);聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL,美国 Fluka 公司);聚乙二醇 -8- 甘油辛酸/癸酸酯(Labrasol,法国 Gattefosse 公司);异辛烷(天津市光复精细化工研究所);异丙醇(重庆川东化工有限公司);甲醇(色谱醇,天津市四友精密化学品有限公司);超纯水(自制)。

1.2 仪器

LC-2010 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);高效液相色谱柱 ODS2(5 μm,4.6 mm × 150 mm)(大连依利特);Zetasizer Nano 纳米粒度仪(英国 Malvern 公司);GL-88B 旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);KA-1000 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);LD-G 超纯水机(重庆利迪实验仪器设备有限公司)。

1.3 动物

Sprague-Dawley 大鼠(240 ± 10) g,6 只,雌雄不限,由重庆医科大学动物实验中心提供,试验动物合格证号:FCXK(渝)2007-0001。

1.4 供试品

PB-SMEDDS 制备:称取油相(IPM)3 g,表面活性剂(Cremophor EL)5.25 g,助乳化剂(Labrasol)1.75 g,40℃水浴,50 r/min 搅拌 10 min,加入 PB 1.5 g,同样条件下搅拌 20 min,即得 PB-SMEDDS[3]。Zetasizer Nano 纳米粒度仪测得乳滴粒径为(39.77 ± 0.67) nm。

PB 混悬液制备:称取 PB 1.5 g,加 0.5%羧甲基纤维素钠溶液 10 ml,研磨成 PB 混悬液。

1.5 色谱条件

色谱柱:Elite HPLC-Hypersil ODS2 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相:甲醇 - 水(94:6);检测波长:243 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:25℃;进样量:20 μl。

1.6 血浆样品的处理[4,5]

精密移取待测血浆样品 200 μl,置 5 ml 具塞离心管中,加入甲醇 50 μl,涡旋混合 30 s,加提取剂(异辛烷 - 异丙醇,8:2)1 ml,涡旋混合 5 min,3 000 r/min 离心 10 min,移取上清液 750 μl 于另一尖底离心管中,氮气挥干,残留物用 100 μl 流动相溶解后,20 μl 进样,HPLC 测定。

1.7 给药方案与血样采集

采用自身对照单剂量双周期交叉给药方案,将大鼠随机分成 2 组,每组 3 只,甲组服用 PB-SMEDDS,乙组服用 PB 混悬液;14 d 后两组交叉给药。试验前大鼠禁食 12 h,自由饮水,给药 4 h 后统一进食。按给药剂量 200 mg/kg 灌胃,分别于给药前及给药后 1、2、3、4、6、8、12、18、24、48、72、96 h 断尾取血 0.5 ml,将血浆置预先肝素化的 1.5 ml 尖底离心管中,3 000 r/min 离心 10 min,分离上层血浆,-20℃冻存待测。

1.8 数据处理

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS11.0 统计软件处理,两组间均数比较采用 t 检验,$P<0.05$ 为有统计学意义。采用 3P97 药代动力学软件(中国药理学学会数学药理专业委员会编制)进行拟合处理,获得 PB-SMEDDS 及 PB 混悬液大鼠体内药代动力学参数。

2 结 果

2.1 方法学评价

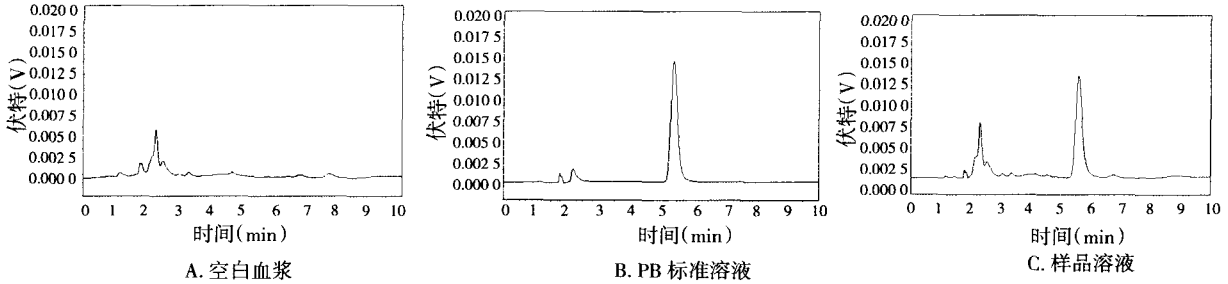
2.1.1 色谱行为 图 2 表明,样品中的溶媒和血浆中内源性物质不干扰 PB 测定,PB 的保留时间(t_R)为 5.6 min,表明方法专属性良好。

2.1.2 标准曲线的制备 采用大鼠空白血浆 200 μl 配置成 0.125 5、0.627 5、1.255 0、2.510 0、5.020 0、10.040 0、20.080 0 μg/ml 系列 PB 血浆标准溶液,按"1.6"项下方法处理,"1.5"项下方法测定,以峰面积(A)对质量浓度(C)进行线性回归。其标准曲线方程为 A=72 300C+16 588(r=0.999 6,n=5),血浆 PB 浓度在 0.125 5~20.080 0 μg/ml 浓度范围内,其峰面积与药物浓度呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度和回收率 分别制备低、中、高 3 个浓度(0.627 5、2.510 0、10.040 0 μg/ml)的含药血浆,按"1.6"项下方法处理,"1.5"项下方法测定。3 个浓度的日内精密度分别为 1.16%、0.77% 和 0.38%(n=5);5 d 的日间精密度分别为 3.31%、2.05%和 1.28%(n=5);提取回收率分别为 81.25%、85.28%和 83.92%(n=3)。精密度与回收率均符合方法学要求。

2.2 体内药动学试验

PB-SMEDDS 和 PB 混悬液的体内药 - 时曲线见图 3。所得数据经 3P97 药代动力学软件拟合,二者均符合双隔室模型(权重系数为 $1/C^2$),各药动学参数见表 1。可见,与 PB 混悬液相比,PB-SMEDDS 在体内 t_{max} 提前,C_{max} 显著提高,$AUC_{0\text{-}96\,h}$ 为 PB 混悬液的 19.08 倍。表明 PB-SMEDDS 可显著提高 PB 的口服生物利用度。



A. 空白血浆　B. PB 标准溶液　C. 样品溶液

图 2 PB 专属性 HPLC 色谱图

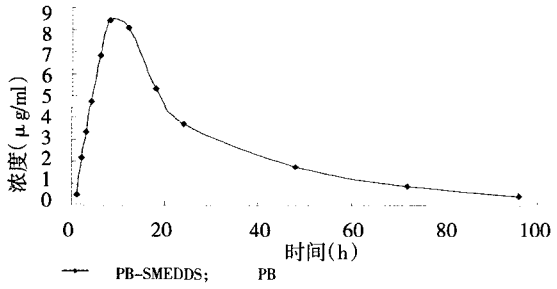


图 3 大鼠单剂量 po PB-SMEDDS 和 PB 混悬液后的平均血药浓度 - 时间曲线(n=6, $\bar{x} \pm s$)

3 讨 论

目前 PB 的上市产品只有片剂,其口服生物利用度小于 10%,水难溶性是其吸收差的主要原因,故本研究采用SMEDDS 为载体,将 PB 制成 PB-SMEDDS,旨在提高 PB 在胃肠道的溶出及其口服生物利用度。

目前常用的血浆样品预处理方法有液 - 液提取法、液固提取法、直接除蛋白法等。因 PB 为亲脂性较强的药物,经预实验和参考文献[4,5],本试验选用液 - 液提取法。在血浆样品提取过程中,比较了异辛烷和异辛烷 - 异丙醇混合液,发现单一的异辛烷对 PB 的提取效率不到 50%,而异辛烷 - 异丙醇(8:2,v/v)混合液的提取效率大大提高,平均回收率 80%以上,符合方法学要求,故采用异辛烷 - 异丙醇(8:2,v/v)为提取剂。

从药动学参数可见,PB-SMEDDS 口服后,分布相半衰期较短($t_{1/2\alpha}$=3.17 h),达峰时间短(t_{max}=8.58 h),表明其在体内的分布早,起效快。可能是因为 PB-SMEDDS 所形成的平均粒径近 40 nm,粒径小,比表面面积增大,有利于透过小肠黏膜;SMEDDS 中含大量的表面活性剂,增加了药物胃肠道上皮细胞的渗透性,促进药物吸收,使 PB-SMEDDS 较 PB 吸收快,起效提前;另外,微乳由于表面张力极低,易于透过细胞壁的水化层,使药物直接和胃肠上皮细胞接触,从而促进药物的吸收[6]。但存在一滞后时间[t_{lag}=(0.78 ± 0.03) h],达峰时间(t_{max})为 8.58 h,消除相半衰期较长($t_{1/2\beta}$)为 22.08 h,其可能是由于长链脂肪酸酯 IPM 或其代谢物肉豆蔻酸对胃的排空过程起抑制作用[7],使滞留时间延长。因此,在连续给药时应考虑 PB 在体内的蓄积。

本研究对 PB-SMEDDS 进行了大鼠体内药动学的评价,结果表明,PB-SMEDDS 大大提高了 PB 在体内的吸收速度和程度,提高了其口服生物利用度,可减少给药剂量,提高患者顺应性。SMEDDS 作为药物口服给药的载体具有显著的优越性。

表 1 大鼠单次 po PB-SMEDDS 和 PB 混悬液后的平均药动学主要参数(n=6, $\bar{x} \pm s$)

参数	PB-SMEDDS	PB
Ka (h^{-1})	0.22 ± 0.03*	0.12 ± 0.07
t_{lag} (h)	0.78 ± 0.03	0.81 ± 0.08
$t_{1/2k_a}$ (h)	3.17*	5.80
$t_{1/2\alpha}$ (h)	5.85*	10.87
$t_{1/2\beta}$ (h)	22.08	16.98
t_{max} (h)	8.58*	12.57
C_{max} (μg/ml)	6.72*	0.34
AUC_{0-96} (μg·h)/ml	253.98*	13.31
CL (L/h)	0.19*	3.61

注:与 PB 组比较,*P<0.01

参 考 文 献

[1] Constantinides, PP. Lipid microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption: physical and biopharmaceutical aspects[J]. Pharm Res, 1995, 12(11): 1561.

[2] Kommuru TR, Gurley B, Khan MA, et al. Self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) of coenzyme Q10: formulation development and bioavailability assessment [J]. Int J Pharm, 2001, 212(2): 233-246.

[3] 马俐丽,朱照静,匡 扶,等. 普罗布考自微乳释药系统处方优化及体内外评价[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(1): 41-46.

[4] Nourooz-Zadeh J, Gopaul N K, Forster L A, et al. Measurement of plasma probucol levels by high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr B Biomed Appl, 1994, 654(1): 55-60.

[5] 齐晓丹,曹德英. 普罗布考固体分散体的制备及体内评价[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(8): 483-486.

[6] 叶海英,张忠义,高 申,等. 法莫替丁微乳的研制及其质量评价[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(1): 68-70.

[7] 陆 彬. 药物新剂型新技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005. 86.

(责任编辑:关蕴良)