

文章编号:(2008)04-0191-08

口服布洛芬 pH 敏感型原位凝胶在 Beagle 犬体内的药物动力学

武瑞凌¹, 赵春顺², 易少凌², 谢静文², 宋洪涛³, 何仲贵¹

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中山大学 药学院, 广东 广州 510080; 3. 南京军区福州总医院, 福建 福州 350025)

摘要:目的 研究pH敏感型布洛芬口服原位凝胶(IBU-ISG)在Beagle犬体内的药物动力学。**方法** 用RP-HPLC法测定6只Beagle犬口服IBU-ISG和布洛芬混悬液(100 mg)后不同时间血浆中布洛芬的浓度, 计算药物动力学参数。**结果** IBU-ISG与布洛芬混悬液的药物动力学参数分别为: t_{max} 为(1.75±0.63)和(0.42±0.13) h, ρ_{max} 为(29.19±7.65)和(37.77±2.23) mg·L⁻¹, $t_{1/2}$ 为(2.30±0.53)和(2.02±0.91) h, $t_{MR0-\infty}$ 为(4.27 ± 0.80)和(3.26 ± 1.00) h, AUC_{0-t}为(131.05 ± 38.64)和(117.30 ± 23.07) mg·h·L⁻¹。**结论** 布洛芬pH敏感型口服原位凝胶较布洛芬混悬液释药缓慢。

关键词: 药剂学; 药代动力学; 高效液相色谱法; 原位凝胶; 布洛芬

中图分类号: R94; R969.1

文献标志码: A

原位凝胶 (*in situ gel*, ISG)是一种高分子聚合物的溶液剂^[1], 在用药部位对温度、离子强度或pH值刺激产生响应, 发生胶凝。该制剂用药前具有较好的流动性, 提高了患者的顺应性, 尤其为小儿、老人及吞咽困难的病人服药提供了方便; 用药后在用药部位发生相转变, 增加了滞留时间, 同时起到延缓药物释放的作用。

作者所设计的pH敏感型ISG以去乙酰结冷胶和海藻酸钠为基质, 遇游离型钙离子时发生交联并胶凝化。由于处方中有络合剂的存在使钙离子以络合物形式贮存于制剂中, 当制剂遇低pH环境时, 因络合剂的络合能力急剧下降, 钙离子由络合形式转变为游离形式并与基质(去乙酰结冷胶或海藻酸钠)发生交联, 宏观上即发生胶凝, 形成pH敏感型凝胶。作者制备了以去乙酰结冷胶和海藻酸钠为二元基质的布洛芬pH敏感型ISG, 并重点考察了其在Beagle犬体内药物动力学过程, 采用RP-HPLC法测定Beagle犬口服布洛芬pH敏感型ISG与市售混悬剂后的血药浓度, 比较两者的药物动力学性质, 为进一步研究提供实验依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(L-2450 DAD检测器、L-2130泵、L-2300柱温箱、L-2200自动进样器, 日本HITACHI公司), XW-80A漩涡混合器(上海医科大学仪器厂), RH-KT/C磁力搅拌器(德国IKA公司), Anke TGL-16C离心机(上海安亭科学仪器厂), Precise 92SM-202A电子天平(瑞士Precisa公司),

收稿日期: 2008-03-13

作者简介: 武瑞凌(1982-), 女(汉族), 河北宣化人, 硕士研究生, Tel. 024-23986320, E-mail ruilingwu1982@hotmail.com; 赵春顺(1973-), 男(汉族), 河北滦南人, 讲师, 博士, 主要从事新型给药系统研究, Tel. 020-87331215, E-mail zhaocs@mail.sysu.edu.cn.

DKB-501A型超级恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)。

布洛芬(IBU, 山东新华制药厂, 批号 050322), 美林(布洛芬混悬液, 上海强生制药有限公司, 批号 070301059), 吡哌美辛(由沈阳药科大学药剂实验室提供), 去乙酰结冷胶(Kelcogel, 美国CPKELCO公司, 批号 7C9265A), 海藻酸钠(MANUGEL GHB, 美国ISP公司, 批号 440219), 吐温 80(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂), 无水氯化钙(分析纯, 广州化学试剂厂), 枸橼酸钠(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂), 磷酸(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂), 甲醇(色谱纯, 江苏汉邦科技有限公司), 乙腈(色谱纯, 美国SIGMA公司), 超纯水(美国MILLIPORE公司, ELIX5+ MILLI-Q/B A10, 电阻率: 18.2 MΩ·cm)

动物 Beagle犬6只, 雌雄各半, 体质量(12.87 ± 0.53) kg, 年龄为12个月, 由高要市康达实验动物科技有限公司提供, 实验动物合格证号 0000403。动物实验在中山大学实验动物中心完成, 实验动物使用许可证号 SYXK(粤)2007-0081。

2 方法与结果

2.1 IBU-ISG的制备

按200 mL IBU-ISG制备。精密称取氯化钙0.112 g, 用20 mL超纯水溶解备用。将枸橼酸钠0.42 g 溶于170 mL超纯水中, 加入去乙酰结冷胶1.0 g, 于90 ℃磁力搅拌30 min。冷却至50 ℃后, 加入海藻酸钠2.0 g, 恒温搅拌30 min。逐滴加入上述氯化钙溶液, 搅匀, 冷却至室温, 备用。精密称取IBU 0.2 g、体积分数为2.5%的吐温80溶液4 mL, 研磨均匀, 加至上述溶液中, 加超纯水至200 mL, 搅拌1 h 即得。

2.2 IBU-ISG成胶性能的考察

将IBU-ISG分别滴入不同pH值的盐酸溶液(pH值分别为1.0、2.0、3.0、4.0、5.0), 观察滴入后瞬间(<2 s)及2 min的成胶现象, 考察凝胶强度, 根据使凝胶碎裂的难易程度对其评分。

结果见表1, 介质pH值越低成胶速度越快, 凝胶强度越强。于pH值1.0、2.0介质中时成胶性最好, pH值3.0时有所下降, 到4.0、5.0时几乎不成胶。因此IBU-ISG的成胶条件为pH 3.0, 其中以pH 2.0 为最佳。

Table 1 Gelatination of IBU-ISG at different pH values

pH	Phenomenon of gelatination		Gel strength
	0 min	2 min	
1.0	Spherical	Spherical	5
2.0	Spherical	Spherical	4
3.0	Irregular spherical	Irregular spherical	1
4.0	Irregular spherical	Dispersed	0
5.0	Irregular spherical	Dispersed	0

2.3 IBU-ISG体外释放度的考察

依照《中华人民共和国药典》2005版二部附录XC第一法操作。取IBU-ISG 5 mL (IBU 50 mg)置于转篮中,以pH值为1.0的盐酸溶液900 mL为释放介质,转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,经120 min时以pH值6.0的磷酸盐缓冲液900 mL为释放介质,转速不变,于一定时间取样5 mL,同时补加相应的等量同温介质,样品经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液测定IBU含量,计算药物累积释放百分率。

结果表明(见图1),IBU-ISG前2 h(pH1.0盐酸溶液)几乎不释放,2 h后(pH6.0 PBS缓冲液),IBU-ISG在6 h内缓慢释放完全。

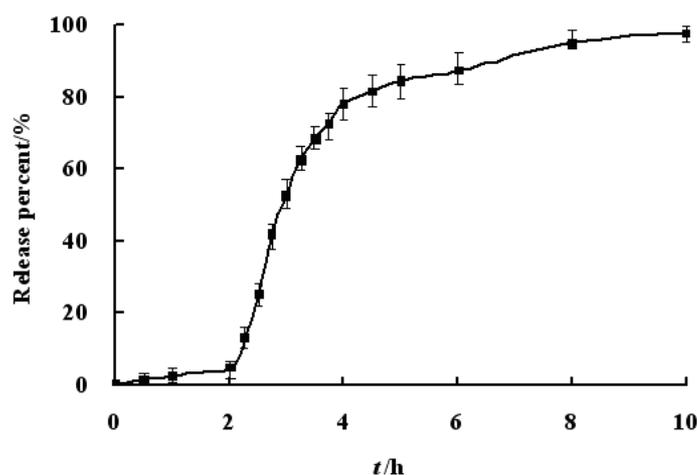


Fig. 1 *In vitro* release profile of IBU-ISG ($n=6$)

2.4 体内分析方法的确立和验证

2.4.1 色谱条件

色谱柱: Dikma C_{18} 柱($4.6\text{ mm}\times 20\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相: $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾缓冲液(pH值为3.5)-甲醇(体积比28:72); 柱温: (40 ± 0.5) ; 检测波长: 220 nm ; 流速: $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: $40\text{ }\mu\text{L}$ 。

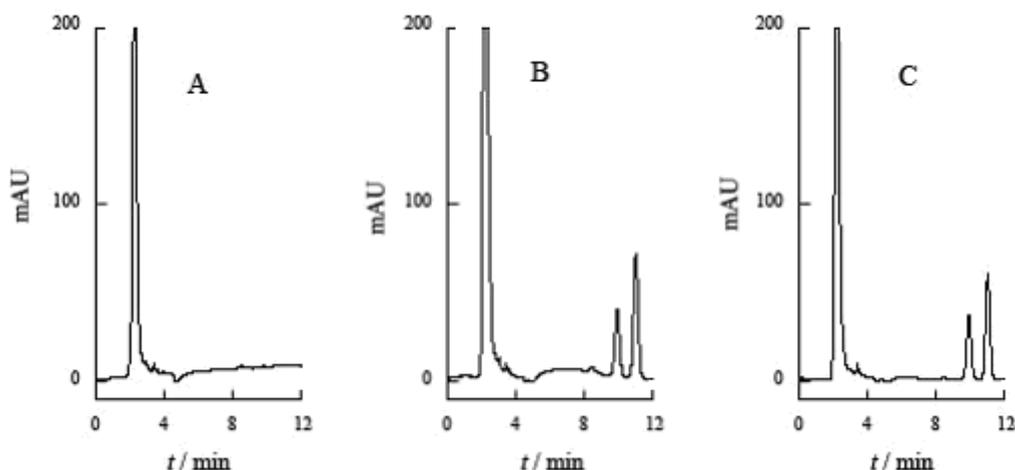
2.4.2 血浆样品的处理

精密移取血浆样品 $100\text{ }\mu\text{L}$ 置 1.5 mL 离心管中,加乙腈 $50\text{ }\mu\text{L}$,涡旋 1 min ,加入 $8.52\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 吲哚美辛乙腈液 $200\text{ }\mu\text{L}$ 作为内标物,涡旋 3 min , $16\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min ,取上清液 $40\text{ }\mu\text{L}$ 注入色谱仪。

2.4.3 方法专属性考察

取空白血浆 $100\text{ }\mu\text{L}$,其他步骤均按“2.4.2”条方法操作。

在“2.4.1”条色谱条件下,空白血浆样品在 5 min 基本无内源性物质峰出现,IBU的保留时间为 10 min ,吲哚美辛(内标)保留时间为 11 min 。表明血浆中内源性物质对IBU无干扰,且IBU与内标达到了完全分离,具有良好的专属性(见图2)。



A—Blank plasma; B—Blank plasma spiked with ibuprofen and internal standard; C—Plasma sample (5 min after oral administration of IBU suspension); 1—Ibuprofen; 2—Indomethacin (internal standard)

Fig. 2 Chromatograms of different ibuprofen samples

2.4.4 标准曲线绘制

称取布洛芬约0.1 g,精密称定,置100 mL量瓶中,乙腈稀释至刻度,摇匀,作为贮备液(质量浓度为 $0.9966\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)。精密量取贮备液适量置量瓶中,用乙腈分别稀释成质量浓度分别为99.66、49.83、24.915、9.966、 $0.9966\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列标准溶液。分别取空白血浆 $100\text{ }\mu\text{L}$,加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 上述系列标准溶液,其他同“2.4.2”条操作,相应的血浆质量浓度分别为49.83、24.915、12.457 5、4.983、 $0.4983\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,注入液相色谱仪,绘制标准曲线。

结果表明,IBU质量浓度在 $0.4983\sim 49.83\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内与峰面积呈良好线性关系,其标准曲线方程为 $A=0.0779\rho+0.0503$ ($r=0.9991$)。定量限为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,检测限为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4.5 精密度及回收率考察

分别取空白血浆 $100\text{ }\mu\text{L}$,加入上述标准溶液 $50\text{ }\mu\text{L}$,按“2.4.2”条操作,配制成血浆质量浓度分别为 0.4983 、 12.4575 、 $49.83\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低、中、高3个质量浓度溶液,计算日内、日间精密度和回收率($n=5$)。结果表明(表2),本测定方法准确性高,重复性好。

Table 2 Precision and recovery of ibuprofen in plasma ($n=5$)

$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	Recovery/%	Precision	
		Within-day RSD/%	Between-day RSD/%
0.498 3	91.19±6.73	7.38	8.05
12.457 5	98.38±3.39	3.44	3.50
49.83	98.55±2.12	2.15	2.05

2.4.6 稳定性考察

取低($0.4983\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、中($12.4575\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、高($49.83\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)3个质量浓度的样品,分别进行反复冻融2次、-20℃冻存1周,考察稳定性。结果显示,样品在反复冻融及冷冻后,标准偏差小

于5%，稳定性良好。

2.5 IBU-ISG药物动力学实验

2.5.1 给药方案与血样采集

6只Beagle犬以自身为对照,按随机交叉试验设计。给药前禁食24 h,自由饮水,分别口服IBU-ISG和布洛芬混悬液(ibu, 100 mg),洗脱期为7 d。分别于给药前和给药后5、15、30、45 min及1、1.5、2、3、4、6、8、10 h由前肢静脉取血2 mL,置于经肝素处理过的离心管中,静置10 min,16 000 r·min⁻¹离心5 min,分离血浆,于-20℃下保存,待分析。

2.5.2 血药质量浓度-时间曲线及药物动力学参数

Beagle犬口服IBU-ISG与布洛芬混悬液的主要药代动力学参数见表3,血药质量浓度-时间曲线见图3。其中达峰质量浓度(ρ_{\max})和达峰时间(t_{\max})为实测值,以半对数作图法由消除相末端三点计算求得消除速率常数(k_e)和 $t_{1/2}$,采用梯形法计算AUC,根据统计矩法计算 t_{MR} 值。

结果表明,与布洛芬混悬液相比,IBU-ISG的达峰时间(t_{\max})推迟,峰质量浓度(ρ_{\max})降低。

Table 3 Main pharmacokinetic parameters of ibuprofen after oral administration of IBU-ISG and IBU suspension in dogs (n=6)

Parameter	IBU-ISG	IBU suspension
$\rho_{\max}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	29.19±7.65	37.77±2.23
t_{\max}/h	1.75±0.63	0.42±0.13
$t_{1/2}/\text{h}$	2.30±0.53	2.02±0.91
k_e/h^{-1}	0.31±0.06	0.40±0.16
t_{MR0-t}/h	3.51±0.51	2.72±0.42
$t_{MR0-\infty}/\text{h}$	4.27±0.80	3.26±1.00
$\text{AUC}_{0-t}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	131.05±38.64	117.30±23.07
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	143.20±41.59	125.69±29.46

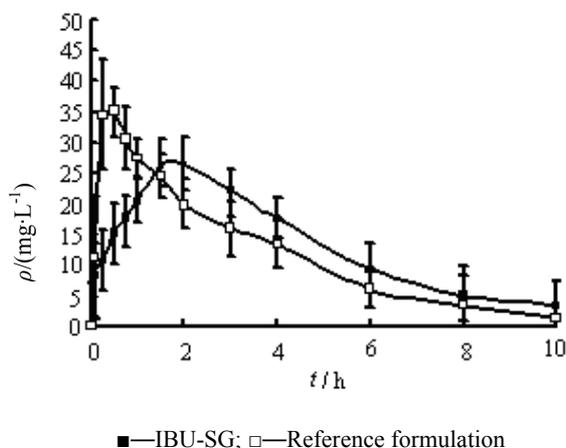


Fig. 3 Mean plasma concentration-time curves of ibuprofen after oral administration of IBU-ISG and IBU suspension in dogs (n=6)

2.5.3 IBU-ISG的相对生物利用度

根据 AUC_{0-t} 计算相对生物利用度。与布洛芬混悬液相比,IBU-ISG的相对生物利用度为110.58% (表4)。

Table 4 Relative bioavailability of ibuprofen after oral administration of IBU-ISG and IBU suspension in dogs (n=6)

No.	AUC _{0-t} /(mg·h·L ⁻¹)		F/%
	IBU-ISG	IBU suspension	
1	186.90	134.57	138.89
2	155.98	141.07	110.56
3	137.21	130.23	105.36
4	129.96	116.07	111.96
5	88.06	101.90	86.42
6	88.21	79.99	110.28
Mean	131.05	117.30	110.58
SD	38.64	23.07	16.82

2.5.4 统计分析

将2种制剂的各主要药物动力学参数进行统计分析。AUC_{0-t}、AUC_{0-∞}、 ρ_{\max} 进行对数转换后进行双单侧t检验并计算90%置信区间(表5);将 t_{\max} 、 t_{MR0-t} 、 $t_{MR0-\infty}$ 进行秩和检验(表6)。秩和检验结果表明, IBU-ISG与布洛芬混悬液相比, t_{\max} 、 t_{MR0-t} 、 $t_{MR0-\infty}$ 均有差异(秩和t值在28~50临界范围外), 即达峰时间(t_{\max})显著推迟, t_{MR0-t} 、 $t_{MR0-\infty}$ 均显著延长; t检验结果表明, IBU-ISG降低了峰质量浓度($P<0.05$), 且两制剂的AUC_{0-∞}和AUC_{0-t}均无显著性差异($P>0.05$); 置信区间计算结果显示, IBU-ISG的 ρ_{\max} 均值的90%置信区间落在布洛芬混悬液的70%~143%之间, AUC_{0-t}和AUC_{0-∞}落在布洛芬混悬液的80%~125%之间。综上, 说明制备的IBU-ISG具有明显的缓释效果, 且与布洛芬混悬液在体内的吸收程度基本一致。

Table 5 Two one-side t test and confidence interval (n=6)

Parameter	t_1^a	t_2	Confidence interval/%
$\ln\rho_{\max}$	0.474 9	4.909 9	56.19 - 98.92
$\ln AUC_{0-t}$	5.253 6	2.209 8	96.42 - 124.42
$\ln AUC_{0-\infty}$	7.828 1	2.413 6	102.54 - 123.47

$$a-t_{1-0.05(4)}=2.131 85$$

Table 6 Rank sum test of pharmacokinetic parameters (n=6)

Parameter	Rank sum	
	IBU-ISG	IBU suspension
t_{\max}	57	21
t_{MR0-t}	53	25
$t_{MR0-\infty}$	51	27

$$t_{0.1}=28\sim50$$

3 讨论

a. 海藻酸钠是由 β -D-甘露糖醛酸(M)和 α -L-葡萄糖醛酸(G)残基通过1,4-糖苷键联接构成的线型多糖类嵌段共聚物。在海藻酸盐的水溶液中加入二价或三价金属离子可形成半透明的亲水凝胶。结冷胶是一种多糖,由四糖单元重复组成的阴离子凝胶基质,分子链上的羧基与钙离子结合成胶状。

b. 成胶性能考察结果表明,pH值越低,制剂成胶性能越好,尤其以pH 2.0最佳。因空腹时胃液的pH值为0.9~1.5,饮水或进食后pH增加,可高达3.5,为保证制剂具有较好的成胶性,达到缓释效果,该制剂需空腹服用。

c. 体外释放实验时,酸性溶出介质(前2 h)是为了保证IBU-ISG的胶凝,因IBU为弱酸性药物,该条件下为非解离状态,溶解度小,此时未达漏槽条件;而在体内,非解离状态的IBU易于透过胃肠黏膜上皮细胞层吸收入血,说明体外释放与体内过程不直接相关($Y = 0.6579X + 43.389$, $r = 0.7910$)。因此,体外IBU-ISG的释放于2 h后采用pH 6.0的PBS为介质,此时体内外具有较好的相关性($Y = 1.0228X + 3.8409$, $r = 0.9928$)。其中, X 为体内药物吸收总量, Y 为制剂体外累积释放量。

d. 统计学分析结果显示,与布洛芬混悬液相比,IBU-ISG推迟了药物达峰时间、延长了体内平均滞留时间(t_{MR}),降低了峰质量浓度,且两种制剂的 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 亦无显著性差异,分析认为,IBU-ISG与布洛芬混悬液的吸收程度相似,IBU-ISG释放药物较布洛芬混悬液缓慢,从血药质量浓度-时间曲线上也可以看出,IBU-ISG明显延缓了药物释放,降低了峰质量浓度,为降低药物刺激性和延长作用时间提供了保证。

参考文献:

- [1] 曹师磊,徐丰,蒋新国,等. 离子敏感鼻用原位凝胶的制备及其免消除动力学[J]. 中国药学杂志, 2007, 42: 844-848.
- [2] 周政,张奇. 布洛芬新型制剂的研究与开发[J]. 药学进展, 2006, 30: 157-162.
- [3] 李智,谏立伟,郭兆贵. 布洛芬混悬液在正常人体内的相对生物利用度和药代动力学[J]. 湖南医学, 1999, 16: 243-244.
- [4] MIYAZAKI S, AOYAMA H, KAWASAKI N, et al. *In situ*-gelling gellan formulations as vehicles for oral drug delivery[J]. Journal of Controlled Release, 1999, 60: 287-295.
- [5] MIYAZAKI S, KAWASAKI N, KUBO W, et al. Comparison of *in situ* gelling formulations for the oral delivery of cimetidine[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2001, 220: 161-168.
- [6] SRIVIDYA B, CARDOZA R M, AMIN P D. Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from a pH triggered *in situ* gelling system[J]. Journal of Controlled Release, 2001, 73: 205-211.

Pharmacokinetics of pH-sensitive *in situ* gel systems for the oral delivery of ibuprofen in Beagle dogs

WU Rui-ling¹, ZHAO Chun-shun², YI Shao-ling², XIE Jing-wen², SONG Hong-tao³, HE Zhong-gui¹

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China)

Abstract : Objective To study the pharmacokinetics of ibuprofen pH-sensitive *in situ* gel (IBU-ISG) in Beagle dogs. **Methods** A single dose of IBU-ISG and IBU suspension (100 mg) were given orally to 6 healthy Beagle dogs in a randomized crossover design. Ibuprofen concentration in the plasma at different sampling time was determined by RP-HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** t_{\max} of IBU-ISG and IBU suspension were (1.75±0.63) h and (0.42±0.13) h; ρ_{\max} values were (29.19±7.65) mg·L⁻¹ and (37.77±2.23) mg·L⁻¹; $t_{1/2}$ were (2.30±0.53) h and (2.02±0.91) h; $t_{\text{MR0-}\infty}$ were (4.27±0.80) h and (3.26±1.00) h, and AUC_{0-t} were (131.05±38.64) mg·h·L⁻¹ and (117.30±23.07) mg·h·L⁻¹, respectively. **Conclusions** The t_{\max} , ρ_{\max} and $t_{\text{MR0-}\infty}$ of the two preparations were significantly different, while their AUCs were comparable. The IBU-ISG has longer residence time compared with IBU suspension.

Keywords : pharmaceutics; pharmacokinetics; HPLC; *in situ* gel; ibuprofen

(责任编辑: 赵桂芝)