

尼群地平片剂生物利用度的研究

朱哲英 毛凤斐 朱家璧

(中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009)

提要 为提高国产尼群地平片剂的生物利用度, 采用球磨混合粉碎法工艺进行处方设计, 试制出新处方片剂, 与西德 Bayer 公司片剂进行了体外溶出、体内生物利用度的比较。体内血浆药浓用 GC-MS 法测定, 体内数据按零级溶出、一级吸收口服单室模型, 经计算机用 Gauss-Newton-Damping 法处理求得药动学参数。本文研制的尼群地平新处方片剂生物利用度已超过西德 Bayer 公司片剂。

关键词 尼群地平; 片剂; GC-MS 法; 生物利用度

尼群地平 (nitrendipine) 由西德 Bayer 公司研制并于 1985 年投放市场, 国内现有三个厂家生产原料, 二十几个厂家生产片剂。文献报道尼群地平生物利用度低⁽¹⁾, 国内临床反映国产尼群地平片剂疗效不如国外产品。经试验, 国产片剂与西德 Bayer 公司片剂体外释药情况有很大差异。从影响生物利用度的因素—原料粒径、处方组成及工艺等几方面考虑, 研制成新处方片剂。选择南京制药厂片剂、河北省某药厂片剂、新处方片剂和西德 Bayer 公司片剂进行体外溶出和人体生物利用度试验, 新处方片剂生物利用度达到或超过国际同类产品水平。

实 验 部 分

一. 仪器与药品

RCDN-6 型溶出仪 (上海); QM-1 型球磨机 (南京); 5970B 型气相色谱-质谱检测器 (GC-MSD) (Hewlett Packard, USA); IBM PC/XT 286 型电子计算机。

尼群地平原料 (南京制药厂); 尼群地平片剂 (A) (南京制药厂), 批号 870901; 尼群地平片剂 (B) (西德 Bayer 公司), 批号 G510A/F221 349920 1987; 尼群地平片剂 (C) (河北省某药厂), 批号 871102; 尼群地平片剂 (D) (自制), 批号 880701。

样品制备 将尼群地平与赋形剂混合, 球磨粉碎, 制粒, 干燥, 整粒, 加硬脂酸镁和崩解剂, 混匀压片 (10 mg/片)。片剂平均含量为标示量的 102.38%, 按中国药典 1985 年版检验合格。

二. 晶型比较

尼群地平有三种晶型⁽²⁾, 国产原料与国外文献报道的 I 型 (市售品) 红外光谱图 (略) 完全相同, 说明国产原料与国外原料晶型相同。

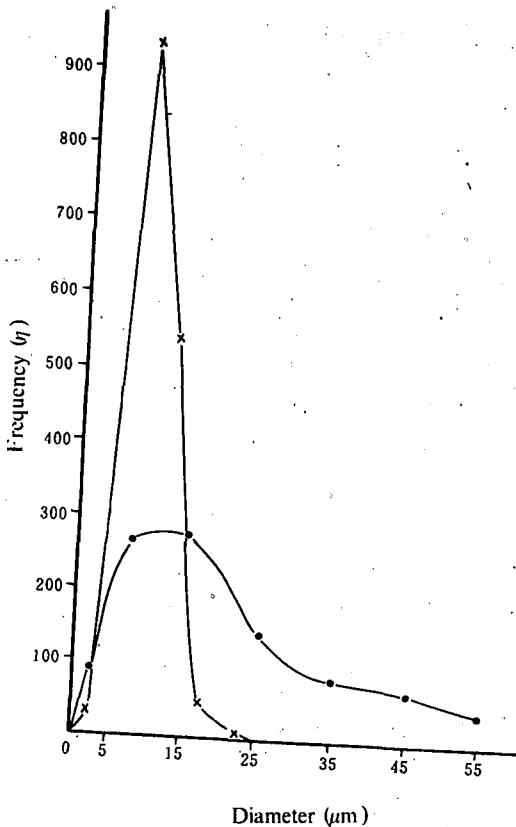


Fig 1. The particle distributions of nitrendipine.
(●) Raw material manufactured in China; (×) Milling mixture.

三. 球磨混合物碎物的性质

(一) 粒度

用显微镜法分别测定国产原料(A')和球磨混合粉碎物(B')的1229和1574个微粒的长径,按公式 $d_s = \sqrt{\sum nd^2 / \sum n}$ 计算平均粒径, A' $d_s = 87.71 \mu\text{m}$, B' $d_s = 10.33 \mu\text{m}$ 。图1是不同粒度范围的频率(粒子数)对各粒度组平均值作的粒度分布图。上述结果表明经过球磨粉碎后的B'平均粒径减小8倍,其粒度分布范围小于A'。

(二) 分子行为⁽³⁾

将尼群地平 and 赋形剂的物理混合物及球磨混合粉碎物进行X-线衍射和红外光谱分析,结果见图2,3。图中结果表明球磨混合粉碎物中尼群地平的分子行为发生了变化,从而提高了其体外溶出及体内吸收率。

四. 体外测定方法

(一) 测定波长选择

根据主药和辅料的紫外吸收曲线。尼群地平在人工胃液(pH 1.2~1.4)中最大吸收波长为237 nm。

(二) 标准曲线

精密称取尼群地平标准品25 mg,用无水乙醇溶解,定量转移到100 ml棕色容量瓶中,

稀释至刻度,摇匀后分别吸取0.05, 0.20, 0.40, 0.60, 1.00 ml置25 ml棕色量瓶中,用人工胃液补加至刻度,测定吸收度(A),将各A值对浓度C作线性回归方程, $C = 15.9412A - 0.0371$, $r = 0.9999$ 。

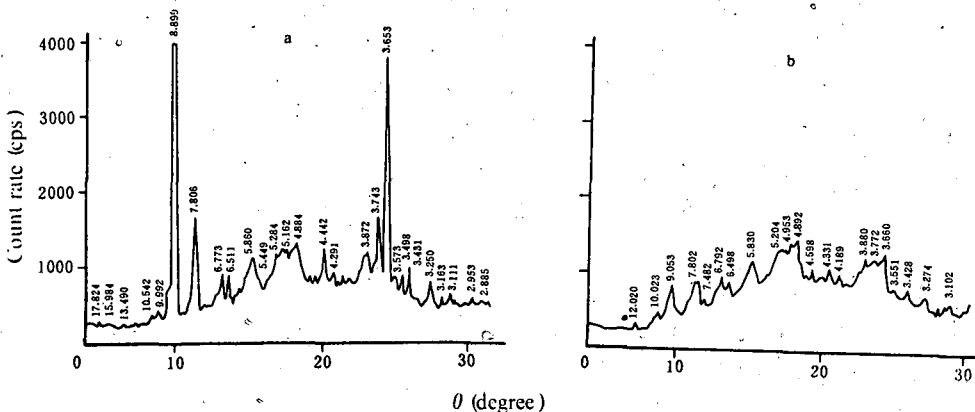


Fig 2. X-ray diffraction patterns of physical mixture (a) and milling mixture (b) of nitrendipine.

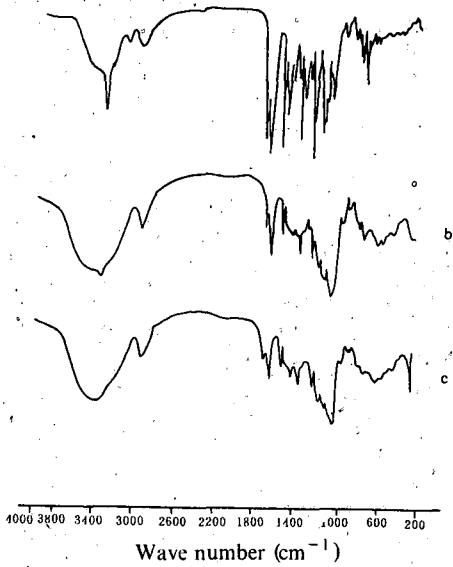


Fig 3. IR-spectra of nitrendipine (a), physical mixture (b) and milling mixture (c).

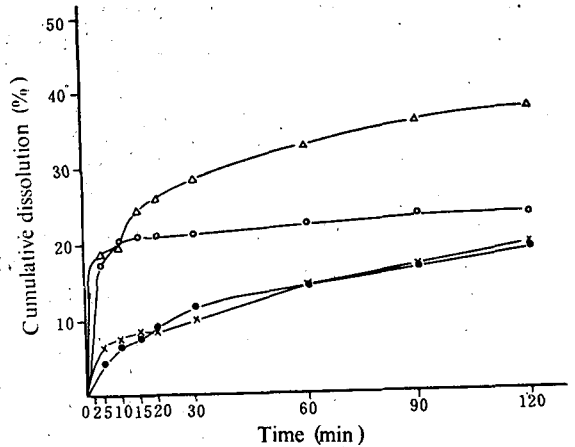


Fig 4. Dissolution profiles of four products of nitrendipine. (●) Commercially conventional tablet A; (○) Import tablet B (Bayer); (×) Commercially conventional tablet C; (△) New formulation tablet D.

(三) 体外溶出速率

将人工胃液 900 ml, 预热至 $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$, 转篮转速为 $100 \pm 1 \text{ r/min}$ 。样品投入后, 每隔一定时间取出释放液, 测定吸收度, 按标准曲线计算释药量, 结果见图 4。体外溶出数据在计算机上用非线性最小二乘法按零级溶出、一级溶出和零级与一级混合溶出这三种过程进行拟合, 比较拟合精度值 SS, VARIANCE, AIC, SC 大小, 确定各制剂体外释药行为是零级与一级混合释放过程, 结果见表 1。

Tab 1. Dissolution parameters of each product *in vitro*

Parameter	A	B	C	D
X_1 (mg)	8.8154	7.8633	8.5799	6.8525
K_1	9.6020×10^{-4}	3.7336×10^{-4}	6.0989×10^{-4}	1.3144×10^{-1}
K_0	3.1339×10^{-2}	6.0666×10^{-2}	7.5772×10^{-3}	4.1682×10^{-2}
SS	3.5948×10^{-3}	1.0058×10^{-2}	1.0129×10^{-2}	6.6244×10^{-2}
Variance	1.1982×10^{-3}	3.3525×10^{-3}	3.3763×10^{-3}	2.2081×10^{-2}
AIC	-35.0262	-26.7954	-26.7389	-11.7153
SC	-34.629	-26.3982	-26.3472	-11.3187

X_1 : First order release amount of drug *in vitro*; K_1 : First order release rate constant of drug *in vitro*; K_0 : Zero order release rate constant of drug *in vitro*; SS: Sum of deviation square; AIC: Akaike information criterion; SC: Schwarz criterion. A: Conventional tablet; B: Imported tablet (Bayer); C: Conventional tablet; D: New formulation tablet.

体外溶出模拟值和实测值见表 2。溶出实测值与模拟值线性回归的相关系数 (r) 表明, 各制剂用计算机模拟的结果与实测值基本一致。

五. 稳定性试验

根据美国 FDA 方法 ($40 \text{ }^\circ\text{C}$ 和相对湿度 75%), 新处方片剂 D 在此条件下恒湿放置三个

Tab 2. Dissolution comparison of experimental data with estimated value of each product *in vitro*

Time (min)	Released amount (mg)							
	A		B		C		D	
	Ex	Est	Ex	Est	Ex	Est	Ex	Est
5	0.426	0.450	1.760	1.758	0.655	0.698	1.929	1.939
10	0.650	0.607	2.062	2.062	0.755	0.762	1.998	2.148
15	0.747	0.763	2.111	2.137	0.854	0.826	2.511	2.356
20	0.916	0.920	2.144	2.151	0.881	0.890	2.659	2.565
30	1.170	1.185	2.154	2.180	1.028	1.017	2.893	2.981
60	1.458	1.435	2.321	2.268	1.467	1.398	3.323	3.352
90	1.671	1.678	2.409	2.354	1.726	1.775	3.654	3.609
120	1.914	1.914	2.387	2.439	2.001	2.001	3.841	3.856
r	0.9991		0.9839		0.9971		0.9908	

A: Conventional tablet; B: Imported tablet (Bayer); C: Conventional tablet; D: New formulation tablet. Ex: Experimental data; Est: Estimated value.

月后含量基本不变, 存放前后体外溶出数据见表 3。

Tab 3. Dissolution rates of product D before and after storage for three months (n=6)

Time (min)	Mean cumulative dissolved % (SD)							
	5	10	15	20	30	60	90	120
Before	19.29 (2.74)	19.87 (2.28)	24.89 (2.00)	26.23 (1.71)	28.43 (1.33)	32.57 (1.25)	35.70 (1.21)	37.37 (1.76)
After	19.11 (2.58)	20.43 (2.39)	24.74 (1.76)	26.29 (1.55)	28.32 (1.13)	32.52 (1.27)	35.84 (1.43)	37.57 (1.64)

六. 体内测定

(一) 分析方法^(4,5) 毛细管气相色谱—质谱 (GC-MS) 法

1. 色谱条件

毛细管柱 12.5m × 0.2 mm (ID); 固定液 交联二甲基硅酮 (crosslinked dimethyl silioone); 进样器及接口温度为 220 °C 和 280 °C; 柱温 100 °C 保持 1 min 后程序升温至 260 °C, 升温速率 20 °C/min; 进样方式无分流; 电子轰击能量 70 eV; 尼群地平保留时间 11.280 min; 内标 (diazepam) 保留时间 9.533 min。

2. 标准曲线

在 0.1 ~ 80 ng/ml 范围内尼群地平与内标的碎片离子峰面积比值和尼群地平浓度呈良好的线性关系, 其回归方程为:

$$C = 0.0159 \times \frac{S_{\text{nitrendipine}}}{S_{\text{diazepam}}} + 2.395 \times 10^{-3} \quad r = 0.9998$$

3. 样品回收率及重复性试验

本法测定二程不同浓度药物溶液, 平均回收率为 92.45% (CV = 5.39%); 日内差 CV = 3.75% (n = 5); 日间差 CV = 4.49% (n = 5)。

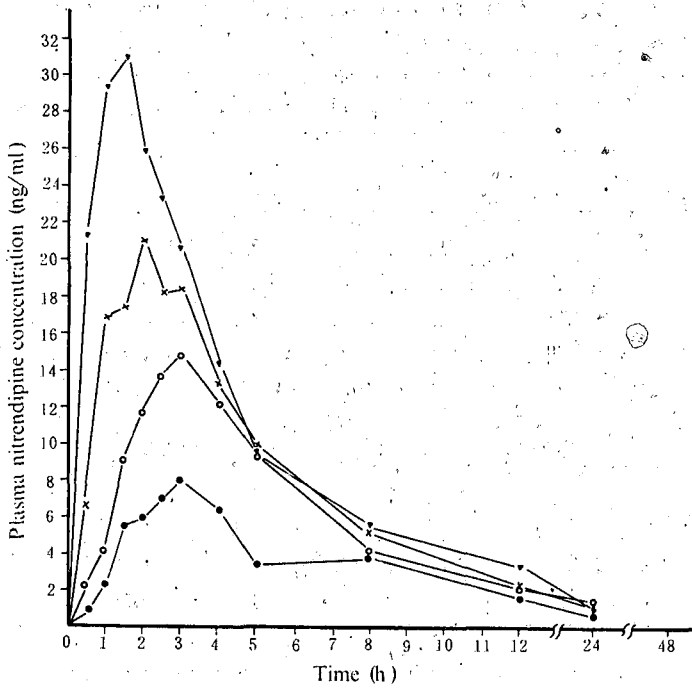


Fig. 5. Mean plasma nitrendipine concentration of four products (n=12). (●) Commercially conventional tablet A; (x) Import tablet B (Bayer); (o) Commercially conventional tablet C; (▲) New formulation tablet D.

见表 4。血浆药物浓度实测值和模拟值见表 5，血浓模拟值与实测值基本吻合。

(二) 体内试验⁽⁶⁻⁸⁾

1. 血浆中药物浓度的测定

12 名健康受试者抽取空白血 3.5 ml, 单剂量交叉服用 A, B, C, D 四种制剂 (10 mg × 2 片), 于服药后 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 8, 12, 24 h 分别抽取静脉血 3.5 ml, 取血浆, 提取分离, 用上述方法测定尼群地平血浓, 整个实验过程均在钠灯下进行, 以免主药见光分解, 结果见图 5。

2. 药代动力学参数

将各制剂体内血浓数据在计算机上用 Gauss-Newton-Damping 法按时滞一级吸收口服单室模型。零级吸收口服单室模型和零级溶出、一级吸收口服单室模型三种方法进行模型嵌合; 比较模型嵌合精度值 SS, VARIANCE, AIC, SC 大小, 说明名制剂体内动态以零级溶出、一级吸收口服单室模型描述为佳, 所得药动学参数

Tab 4. Pharmacokinetic parameters of nitrendipine by fitting with one compartment model (zero order dissolution; first order absorption)

Parameter	A.	B	C	D
K_0 ($\mu\text{g}/\text{h}$)	9116.95	36692.52	7889.78	62692.44
K_a (h^{-1})	3.4487	1.3097	2.9805	2.4212
K (h^{-1})	0.1656	0.2545	0.2383	0.2956
V (L)	489.94	490.04	490.05	490.06
T_p (h)	2.5549	1.8443	2.8231	1.1600
C_{max} (ng/ml)	7.3918	19.7144	14.8530	30.3693
AUC ($\text{ng} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	56.5127	115.452	88.9966	138.032
K_{lim} (h^{-1})	0.1656	0.2545	0.2383	0.2956
SS	5.6491	10.8080	4.2153	13.0939
Variance	0.8070	1.5440	0.6022	1.8705
AIC	27.0465	34.1831	23.8259	36.2936
SC	28.6381	35.7747	25.4175	37.8852

K_0 : Zero order release rate constant of drug *in vivo*; K_a : First order absorption rate constant of drug *in vivo*; K : First order elimination rate constant of drug *in vivo*; V: Apparent distribution volume; T_p : Peak time; C_{max} : Peak concentration; AUC: Area under curve; K_{lim} : Slowest disposition rate constant; SS: Sum of deviation square; AIC: Akaike information criterion; SC: Schwarz criterion.

Tab 5. Comparison of experimental data with estimated value by fitting with one compartment model ; po (zero order dissolution ; first order absorption)

Time (h)	Plasma nitrendipine concentration (ng/ml)							
	A		B		C		D	
	Ex	Est	Ex	Est	Ex	Est	Ex	Est
0.5	0.9198	1.0828	6.7224	6.8682	2.2689	1.9299	21.2558	21.1557
1	2.3769	2.8723	16.8035	15.9671	4.1489	5.1954	29.3137	30.0452
1.5	5.5667	4.6608	17.3923	19.2460	9.1693	8.4531	30.9108	29.4321
2	5.9758	6.3324	20.9491	19.6408	11.7220	11.4242	25.8155	26.4352
2.5	7.0733	7.3848	18.1743	18.6936	13.7104	14.0706	23.1550	23.1147
3	8.0248	7.1332	18.4199	17.1869	14.8614	14.7255	20.4847	20.0313
4	6.3666	6.1101	13.4114	13.8535	12.2133	12.1650	14.3440	14.9364
5	3.5416	5.1795	9.9652	10.8829	9.4663	9.6139	9.6404	11.1162
8	3.8586	3.1514	5.3074	5.1050	4.3151	4.7042	5.6683	4.5789
12	1.6922	1.6247	2.4500	1.8447	2.3368	1.8133	3.4854	1.4033
24	0.7737	0.2226	1.3935	0.0869	1.4428	0.1038	1.3520	0.04039
r	0.9563		0.9899		0.9929		0.9955	

3. 相对生物利用度

A, C, D 三制剂相对于 B 制剂的生物利用度 (F) 用以下公式计算:

$$F = \frac{AUC_{0-\infty}(A, C, D) \times K_{tm}(A, C, D)}{AUC_{0-\infty}(B) \times K_{tm}(B)} \times 100\%$$

K_{tm} : 最慢配置速度常数, 结果为: A 31.85%, C 72.17%, D 138.86%。

Tab 6. Estimations of AUC, C_{max} , T_{max} and statistical results

	AUC (ng · h/ml)	C_{max} (ng/ml)	T_{max} (h)
B	115.4525	19.7144	1.8443
A	56.5127	7.3918	2.5549
Analysis of variance	**	**	**
95% confidence interval (as % of standard B)	-128.59 ~ 1.36%	-130.07 ~ 0.94%	10.69 ~ 73.55%
B	115.4525	19.7144	1.8443
C	88.9966	14.8630	2.8231
Analysis of variance	*	*	*
95% confidence interval (as % of standard B)	-61.11 ~ 1.06%	-58.37 ~ 2.78%	17.01 ~ 96.61%
B	115.4525	19.7144	1.8443
D	138.032	30.3693	1.1600
Analysis of variance	*	*	*
95% confidence interval (as % of standard B)	15.56 ~ 58.85%	11.77 ~ 65.91%	-51.79 ~ 3.11%

*P < 0.05; **P < 0.01.

4. $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , T_{max} 三参数评价生物等效性

将 A, C, D 三制剂体内三参数与标准参比制剂 B 的三参数作两两间方差分析, 并计算供试制剂与标准制剂间体内参数差异的置信区间 (以相对于标准制剂的百分数来表示), 一般认为供试制剂应在标准制剂 $\pm 20\%$ 以内, 结果见表 6。

统计结果说明, A, C 二制剂吸收程度和吸收速度均低于 B, 国产片剂 A, C 与进口片剂 B 生物不等效; D 制剂吸收程度和吸收速度均高于 B, 新处方片剂 D 生物利用度已超过进口片剂 B。

七. 体内外相关性

用 Wagner-Nelson 方法算出体内吸收百分率 (f) 与体外累积溶出百分率 (x) 作最小二乘法线性回归得到各制剂的体内外相关式如下:

$$A: f = 0.9965x + 0.1830 \quad r = 0.9399$$

$$B: f = 0.9068x + 7.0674 \quad r = 0.9340$$

$$C: f = 1.0428x - 5.8284 \quad r = 0.8705$$

$$D: f = 1.0015x - 0.1740 \quad r = 0.8283$$

由相关系数临界值可判断 A, B, C, D 四制剂体内外数据有较好相关性。

致谢 南京军区总区院中心仪器科袁依盛、杨巷菁参加部分工作; 南京制药厂王月南、戈文兰对本工作给予支持和帮助。

参 考 文 献

1. Hasegawa GR. Nidcardipine, nitrendipine and bepridil: New calcium antagonists for cardiovascular disorders. *Clin Pharm* 1988; 7: 97.
2. Kuhner-Brandstatter M, et al. Beitrag zur Polymorphie von Arzneistoffen. *Sci Pharm* 1986; 54: 71.
3. Nakai Y. Molecular behavior of medicinals in ground mixtures with microcrystalline cellulose and cyclodextrins. *Drug Dev Ind Pharm* 1988; 12: 1017.
4. Kann J, et al. Bioequivalence and metabolism of nitrendipine administered orally to healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6 (Suppl 7): S968.
5. Krol GJ, et al. Bioequivalence of different nitrendipine tablet dosage formulations. *Ibid* 1987; 9 (Suppl 4): S129.
6. Graefe KH, et al. Plasma concentration-response relationships for some cardiovascular effect of dihydropyridines in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43: 16.
7. Mikus G, et al. Application of stable isotope methodology to study the pharmacokinetics, bioavailability and metabolism of nitrendipine after iv and po administration. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 651.
8. Goa KL, et al. Nitrendipine. *Drugs* 1987; 33: 123.

STUDIES ON THE BIOAVAILABILITY OF NITRENDIPINE TABLET

ZY Zhu, FF Mao and JB Zhu

(Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing, 21009)

ABSTRACT The problem of nitrendipine tablets manufactured in China is its low bioavailability. To solve this, a new tablet formulation was developed by using milling method to increase its relative bioavailability.

The commercially available conventional tablet A (Nanjing factory) and C (a Hebei factory) and the new tablet formulation D were compared with the reference tablet B (Bayer Company, West Germany) *in vitro* and *in vivo*. The determination of nitrendipine *in vivo* was carried out by GC-MS. The pharmacokinetic parameters of nitrendipine *in vivo* were estimated by using the nonlinear least square computer program on the basis of the compartment model (zero order dissolution, first order absorption).

The bioavailability of A, C and D relative to B was 31.8%, 72.2% and 138.9% respectively. The new tablet formulation D is superior to the imported tablet B in both the extent and rate of absorption.

Key words Nitrendipine; Tablet; GC-MS; Bioavailability