

REFERENCES

- [1] WANG Y F, WANG X H, ZHU Y T. Advancement of researches in quercetin [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2003, 15(2): 171-174.
- [2] MENG D S, WANG S L. Antitumor effect of quercetin [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2001, 32(2): 187-189.
- [3] YU Y X, GE S R, WANG G Z. Advancement of researches in quercetin and derivative [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2003, 26(12): 902-903.
- [4] WANG Y Q. The study of quercetin microemulsion [D]. Shandong: Shandong University, 2006.
- [5] LI H L. Studies on quercetin-loaded solid lipid nanoparticle s[D]. Shandong: Shandong University, 2008.
- [6] CHANG M Q, SUN Y E, JIANG A R, et al. Preparation of solid dispersion of quercetin and its content determination [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(8): 1069-1071.
- [7] LI B H, ZHANG L J. Study on the solid dispersion of quercetin-PEG6000 [J]. West China J Pharm Sci(华西药科学杂志), 2004, 19(1): 35-38.
- [8] SHAO W, XIE Q C, DENG Y F. Study on the inclusion compound of quercetin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. J Chin Med Mater(制剂与工艺), 2002, 25(2): 121-123.
- [9] REN J, FANG Z J, YIN X X, et al. Quality evaluation of quercetin proliposomes [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(1): 39-42.
- [10] GAO X F, GAO J Q. Preparation of nifedipine solid dispersion by hot-melt extrusion technology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 1002-1006.
- [11] YANG R, TANG X, HUANG H F. A preliminary evaluation of hot melt extrusion technology on improvement of silimarin dissolution [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2005, 14(11): 1305-1308.
- [12] GHEBREMESKEL A N, VEMAVARAPU C. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer-surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability [J]. Int J Pharm, 2007, 32(8): 119-129.
- [13] LANGER M, URBANETZ N A, BRABDT B. Investigations on predictability of the formation of glassy solid solutions of drugs in sugar alcohols [J]. Int J Pharm, 2003, 25(2): 167-179.
- [14] JASMINE G, CLETUS N, SHYAM V. Prediction of solubility parameters and miscibility of pharmaceutical compounds by molecular dynamics simulations [J]. J Phys Chem B, 2011, 115(1): 2014-2023.

收稿日期: 2012-11-12

利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒雾化吸入给药肺靶向性研究

徐颖颖¹, 蔡鑫君¹, 叶晓莉², 李颖芳², 王丛瑶², 李范珠^{2*} (1.浙江省杭州市红十字会医院, 杭州 310003; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 研究利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒雾化吸入给药的肺靶向性。方法 分别将利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒混悬液(RFP-PLGA-NPs)和利福平注射液(RFP-Sol)以雾化吸入方式给予 SD 大鼠, 在不同时间点测定利福平在大鼠肺组织中的浓度, 计算相应药动学参数, 比较 2 种制剂在肺组织中药动学过程, 并评价靶向性。结果 RFP-Sol 和 RFP-PLGA-NPs 的 T_{max} 分别为 $(1.50 \pm 0.01)h$ 和 $(2.00 \pm 0.08)h$, C_{max} 分别为 $(0.83 \pm 0.07)mg \cdot L^{-1}$ 和 $(5.02 \pm 0.05)mg \cdot L^{-1}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 分别为 $(6.24 \pm 0.24)mg \cdot h \cdot L^{-1}$ 和 $(35.80 \pm 6.34)mg \cdot h \cdot L^{-1}$, CL 分别为 $(4.801 \pm 0.18)L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ 和 $(0.85 \pm 0.15)L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ 。通过对 r_e 和 C_e 等靶向性指标进行分析, RFP-PLGA-NPs 在肺组织中的 r_e 和 C_e 均 >1 。结论 与 RFP-Sol 相比, RFP-PLGA-NPs 经雾化吸入给药后, 明显提高了肺组织中药物的分布并且延缓消除, 有显著的缓释性, 从而降低药物对全身的不良反应, 提高对肺结核的治疗作用。

关键词: 利福平; 纳米粒; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 雾化给药; 肺靶向

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2013)07-0755-04

Targeted Study of Rifampicin Polylactic Acid/Glycolic Acid Copolymer Nanoparticles Aerosol Inhalation in Lung

XU Yingying¹, CAI Xinjun¹, YE Xiaoli², LI Yingfang², WANG Congyao², LI Fanzhu^{2*} (1. Department of pharmacy, Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310003, China; 2. School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the targeted character of rifampicin polylactic acid/glycolic acid copolymer nanoparticles in lung after nebulized inhalation in rats. **METHODS** The rifampicin nanoparticles suspension (RFP-PLGA-NPs)

基金项目: 杭州市卫生科技计划重点项目(2010Z007)

作者简介: 徐颖颖, 女, 主任药师 Tel: (0571)56109870 E-mail: xuyingying208@163.com *通信作者: 李范珠, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)86633030 E-mail: lifanzhu@zjtcn.net

and rifampicin suspension (RFP-Sol) were given to SD rats by nebulized inhalation, respectively. The concentrations of two formulations in lung at different time after nebulized inhalation were analyzed. Further more, their pharmacokinetic parameters were compared, and the targeted character was evaluated. **RESULTS** T_{max} of RFP-Sol and RFP-PLGA-NPs were (1.50±0.01) h and (2.00±0.08) h, C_{max} were (0.83±0.07) mg·L⁻¹ and (5.02±0.05) mg·L⁻¹, $AUC_{0\rightarrow\infty}$ were (6.24±0.24) mg·h·L⁻¹ and (35.80±6.34) mg·h·L⁻¹, CL were (4.81±0.18) L·h⁻¹·kg⁻¹ and (0.85±0.15) L·h⁻¹·kg⁻¹, respectively. Moreover, C_e and t_e of the two formulations in lung were analysed, which exceeded 1. **CONCLUSION** Compared with RFP-Sol, the nanoparticles after nebulized inhalation might elevate their distribution and slow their elimination in lung, and decrease the drug adverse reaction in rats, so as to improve the treatment efficacy of pulmonary tuberculosis.

KEY WORD: rifampicin; nanoparticles; polylactic acid/glycolic acid copolymer; nebulized inhalation; lung targeting

肺结核是严重危害人类健康的传染病之一。理想的治疗方法应该能使抗结核药物直接达到病灶,并持续维持有效治疗浓度,最大限度地发挥药物对结核杆菌的杀伤效应,降低药物对其他组织器官的毒性^[1]。目前开发的肺部给药系统中,雾化吸入给药是治疗肺部疾病的重要手段,当吸入制剂的达到所需的气动粒径(aerodynamic diameter, 1~5 μm)时就能有效达到肺部病灶,从而发挥靶向治疗的效果,避免肝脏的首过效应,降低不良反应^[2-4]。因此雾化吸入给药对肺结核治疗有重要意义。

采用纳米粒作为药物的载体,可实现缓释、控释和靶向释药的目的,能提高药物生物利用度、增加稳定性、降低和避免不良反应。同时纳米粒在透过肺泡屏障上具有很大优势,吸入给药的纳米载体易突破肺部动力学屏障(肺泡黏液、上皮细胞层、细胞内外的酶、血管内皮等),将抗结核药物导入肺泡中,发挥杀灭结核杆菌,提高治疗效果的作用^[5-6]。

本课题以利福平(RFP)为模型药物,采用改良的自乳化溶剂挥发法(modified spontaneous emulsification solvent diffusion, M-SESD)制利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒(rifampicin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles, RFP-PLGA-NPs)混悬液。同时借助 Clenny Aerosol 可来尼雾化吸入器保证 97.7%的雾化粒径均<5 μm,平均粒径为 1.9 μm,达到了雾化吸入的要求。以利福平注射液(rifampicin aqueous suspension, RFP-Sol)为对照组,考察经雾化吸入给药后 RFP 在肺组织中主要药动学参数的差异及靶向性。

1 材料

1.1 仪器

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); Clenny Aerosol 可来尼雾化吸入器(意大利迈迪有限公司); TGL-16B 高速台式离心机(上海安亭

科学仪器厂); XW-80A 型涡旋混合器(上海医科大学仪器厂)。

1.2 试药

RFP 对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110757-200206,纯度>99.0%); RFP[沈阳双鼎制药有限公司,纯度>99%,批号:11070201,规格:0.3 g·(5 mL)⁻¹]; RFP-PLGA-NPs(自制,批号:201201,平均粒径:128.5 nm,包封率:65.28%,载药率:3.64%); 甲醇、乙腈为色谱纯;其余试剂为市售分析纯或色谱纯。

1.3 动物

清洁级 SD 大鼠,♀♂各半,体质量 250~300 g,浙江中医药大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SCXK(沪)2007-0005。大鼠进入清洁级动物实验室后,每笼放养 10 只,由专人饲养管理。动物室每天灯光照明 12 h,通风和空调设备良好,室温控制在(23±1)℃,相对湿度为 50%~70%。实验室按常规定期消毒。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.075 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾-1.0 mol·L⁻¹ 枸橼酸(30:30:36:4); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 254 nm。

2.2 给药方案及样品采集

取健康 SD 大鼠 60 只,♀♂各半,随机分为 2 组(RFP-PLGA-NPs 组和 RFP-Sol 组),每组 30 只。给药前禁食 12 h,自由饮水,分别大鼠雾化给予 RFP-PLGA-NPs 和 RFP 混悬剂,剂量为 12 mg·kg⁻¹(按 RFP 计算)。于给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 和 24 h 断头处死大鼠,剖腹,取出肺,清除残留血,滤纸吸干水分,精密称定组织的重量,加入 0.9%氯化钠注射液(1:3),匀浆。密量取组织匀浆液,加入乙腈,涡旋 60 s,

8 000 r·min⁻¹离心 10 min。取出上清液，采用氮吹仪吹干，残渣加乙腈，涡旋 60 s，12 000 r·min⁻¹离心 10 min，取上清液进行 HPLC 测定。

2.3 数据处理

DAS 3.0 软件分析 RFP 在肺组织浓度-时间数据，以统计矩方法计算处理，并 2 种制剂的主要药动学参数进行 *t* 检验，比较差异性。

3 结果

3.1 药物在肺组织中药动学研究

根据不同时间测得的肺 RFP 含量的平均值作为浓度值，分别对时间 *t* 作图，结果见图 1。结果表明，雾化吸入完毕后，肺部的药物浓度即逐渐上升到最大值，然后缓慢下降。

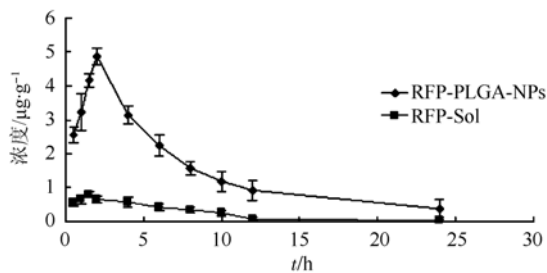


图 1 雾化吸入后肺组织药-时曲线图(*n*=3)

Fig 1 Concentration-time curves of RFP in rats after nebulized inhalation(*n*=3)

3.2 肺组织药动学参数

肺组织中药动学数据见表 1，RFP-PLGA-NPs 在肺组织中 RFP 的浓度及累积量明显提高，RFP-PLGA-NPs 和 RFP-Sol 的 C_{max} 分别为 $(5.02 \pm 0.05) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(0.83 \pm 0.07) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 分别为 $(35.80 \pm 6.34) \text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(6.24 \pm 0.24) \text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。*t* 检验统计分析结果显示，肺组织中 RFP 的平均 AUC 在两制剂间存在统计学差异 ($P < 0.01$)。

表 1 RFP-PLGA-NPs 和 RFP-Sol 经大鼠雾化给药后药动学参数(*n*=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The parameters of RFP-PLGA-NPs and RFP-Sol after nebulized inhalation(*n*=3, $\bar{x} \pm s$)

参数	RFP-PLGA-NPs	RFP-Sol
T_{max}/h	$2.00 \pm 0.08^{1)}$	1.50 ± 0.01
$C_{max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$5.02 \pm 0.05^{2)}$	0.83 ± 0.07
$AUC_{0 \rightarrow \infty}/\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	$35.80 \pm 6.34^{1)}$	6.24 ± 0.24
$MRT_{0 \rightarrow \infty}/\text{h}$	$7.81 \pm 2.68^{2)}$	5.82 ± 0.28
$t_{1/2}/\text{h}$	$5.87 \pm 1.31^{1)}$	3.53 ± 0.78
$CL/F/\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.85 \pm 0.15^{2)}$	4.81 ± 0.18

注：与 RFP-Sol 比较，¹⁾ $P < 0.05$ ，²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with RFP-Sol, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

4 RFP-PLGA-NPs 的靶向性评价

靶向评价是靶向给药系统中的重要内容，靶向评价一般是通过定量来实现的，药物的浓度(*C*)，组织内药量-时间曲线下面积等参数是常用的定量指标。

4.1 相对摄取率 r_e

$$r_e = (AUC_i)_m / (AUC_i)_s$$

式中， AUC_i 是由浓度-时间曲线算得的器官或组织的药时曲线下面积，脚标 *m* 和 *s* 分别表示 RFP-PLGA-NPs 及 RFP-Sol。 $r_e > 1$ 表示纳米粒在该器官或组织有靶向性， r_e 愈大靶向性愈好， ≤ 1 表示无靶向性。将表 1 中 RFP-PLGA-NPs 和 RFP-Sol 在肺组织中的 AUC 带入上式计算，求得 r_e 值为 5.74 (> 1)，说明 RFP-PLGA-NPs 对肺组织具有明显的靶向性，且靶向效果较好。

4.2 峰浓度比 C_e

$$C_e = (C_{max})_m / (C_{max})_s$$

式中， C_{max} 为组织的最高浓度，脚标 *m* 和 *s* 分别表示 RFP-PLGA-NPs 及 RFP-Sol。每个组织或器官中的 C_e 值表明纳米粒改变药物分布的效果，愈大表明改变药物分布的效果愈明显。将表 1 中 RFP-PLGA-NPs 及 RFP-Sol 在肺组织中的 C_{max} 带入上式计算，求得 C_e 为 6.05 (> 1)，说明将 RFP 制成纳米粒可明显的改变 RFP 在肺组织中的分布。

5 讨论

本实验通过比较 RFP-PLGA-NPs 和 RFP-Sol 在大鼠肺部药动学发现，与 RFP-Sol 相比，RFP-PLGA-NPs 组的 C_{max} 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 均明显 $>$ RFP-Sol ($P < 0.01$)，其中 C_{max} 是后者的 6 倍， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 是后者的 5.7 倍； $t_{1/2}$ 明显延长 ($P < 0.05$)，是后者的 1.6 倍。这一结果说明 RFP 纳米粒经肺吸入后，可能被肺部吞噬细胞所截留，减少经肺部入血的药物量，从而提高肺部的 RFP 浓度，并提高 RFP 在肺部的生物利用度；同时 RFP 纳米粒 MRT 明显延长，是由于 PLGA 纳米粒具有药物贮库作用，在肺部缓慢降解，有利肺部持续保持稳定的药物浓度，这将减少给药次数及用药总量，从而发挥增效减毒作用。

与常规给药途径相比，雾化吸入给药系统治疗肺结核具有非常好的应用前景，但是目前也仍有很多问题亟待解决，如需设计适合实验动物所需的专门给药装置以提高给药剂量的准确性；由于肺部是极为敏感且重要的脏器，必须进一步研

究生物安全性高的载体材料以减少毒性作用。同时,国外已有研究人员开发了可吸入型抗结核药微球和脂质体,笔者也将进一步研究,以便更好地走向临床应用^[7-8]。

REFERENCES

- [1] AGRAWAL Y K, BHATTH H G, RAVAL H G, et al. Emerging trends in tuberculosis therapy [J]. J Sci Ind Res, 2007, 66(3): 191-208.
- [2] SETHI T, AGRAWAL A. Structure and function of the tuberculous lung: considerations for inhaled therapies [J]. Tuberculosis (Edinb), 2011, 91(1): 67-70.
- [3] ZAROGOULIDIS P, CHATZAKI E, PORPODIS K, et al. Inhaled chemotherapy in lung cancer: future concept of nanomedicine [J]. Int J Nanomedicine, 2012, (7): 1551-1572.
- [4] LIU J F, LIU J J, CHU L P, et al. Biodistribution and

metabolic pathway of interferon- α 1b administered by aerosol inhalation in rabbits [J]. Her Med(医药导报), 2013, 32 (1): 1-5.

- [5] RAO G C, KUMAR M S, MATHIVANAN N, et al. Nanosuspensions as the most promising approach in nanoparticulate drug delivery systems [J]. Pharmazie, 2004, 59(1): 5-9.
- [6] JACOBS C, MULLER R H. Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration [J]. Pharm Res, 2002, 19(2): 189-194.
- [7] WILLIS L, HAYES D J R, MANSOUR H M. Therapeutic liposomal dry powder inhalation aerosols for targeted lung delivery [J]. Lung, 2012, 190(3): 251-262.
- [8] GOYAL P, GILL S, GUPTA U D, et al. Development and characterization of rifampicin loaded floating microspheres [J]. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2011, 39(5): 330-334.

收稿日期: 2012-07-24

熔融制粒法制备盐酸二甲双胍缓释片

许谕, 孙丹青(海宁市人民医院药剂科, 浙江 海宁 314400)

摘要: 目的 制备盐酸二甲双胍缓释片, 并考察其释药行为及影响因素。方法 以山嵛酸甘油酯为骨架材料, 微晶纤维素为致孔剂, 采用熔融制粒技术制备盐酸二甲双胍缓释片, 并考察不同释放介质, 山嵛酸甘油酯、微晶纤维素的不同用量以及制备工艺参数等对该缓释片体外释放的影响。结果 山嵛酸甘油酯和微晶纤维素的用量为药物释放的主要影响因素, 制备的缓释片具有明显的缓释特征, 体外释药过程符合零级动力学模型。结论 采用山嵛酸甘油酯作为蜡质骨架材料, 结合其他辅料, 采用熔融制粒技术可制备日服1次的盐酸二甲双胍缓释片。

关键词: 盐酸二甲双胍; 缓释片; 熔融制粒; 山嵛酸甘油酯

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)07-0758-05

Preparation of Metformin Hydrochloride Sustained-release Tablets By Melt Granulation

XU An, SUN Danqing(Pharmacy Department of Haining Public Hospital, Haining 314400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare metformin hydrochloride sustained-release tablets and to study its release characterization *in vitro* and the factors affecting drug release. **METHODS** Metformin hydrochloride sustained-release tablets were prepared with glycery behenate as matrix material, microcrystalline cellulose as pore-forming agent by melt granulation. The impacts of releasing transmitter, contents of glycery behenate and microcrystalline cellulose, and preparation process factors on the drug release *in vitro* of the tablets were studied. **RESULTS** The contents of glycery behenate and microcrystalline cellulose were critical factors affecting drug release rate. The tablets had a remarkable sustained-release property, the drug release profile *in vitro* followed zero order or Higuchi kinetics. **CONCLUSION** Using glycery behenate as the wax matrix material, combining with other fillers, a sustained release tablet of once daily administration is prepared by melt granulation.

KEY WORDS: metformin hydrochloride; sustained-release tablets; melt granulation; glycery behenate

盐酸二甲双胍(metformin hydrochloride, MFH)是双胍类降血糖药, 具有疗效好、不良反应少、危险性低的特点, 临床上广泛用于治疗 II 型糖尿

病^[1]。为了降低血药浓度波动, 减少用药次数, 提高患者服药的依从性, Bristol-Myers Squibb 公司率先研制了 MFH 缓释片。目前国内 MFH 缓释片

作者简介: 许谕, 女, 副主任药师 Tel: (0573)87032249 E-mail: 81717258@qq.com