

盐酸尼卡地平缓释微丸人体内外相关性的研究

刘善奎¹ 孙其荣¹ 钟延强¹ 张卫星²(¹济南 250031 济南军区总医院; ²上海 200433 第二军医大学药学院)

摘要 目的:考察盐酸尼卡地平缓释微丸体外释放和人体内吸收的相关性。方法:体外溶出试验采用转篮法。人体内血药浓度测定采用反相 HPLC。该法以安定为内标,其线性范围为 5.0 ~ 200.0 ng/ml,峰面积比值 R 对药物浓度 C 的回归方程为 $R = 0.05893 + 0.01237 C$ ($r = 0.9996$, $n = 6$),最低检测浓度为 2.5 ng/ml,日内、日间相对标准偏差分别为 5.35% 和 7.27% ($n = 3$),平均回收率为 96.94%。结果:将体外释放百分率 $F(\%)$ 对人体吸收百分率 $f(\%)$ 进行线性回归,得方程: $f = -6.1403 + 1.2780 F$ ($r = 0.9681$, $P < 0.01$)。结论:盐酸尼卡地平缓释微丸体内吸收百分率与体外释放百分率间存在良好的相关关系。

关键词 盐酸尼卡地平;缓释微丸;HPLC;体内外相关性

Study on the correlation of in vitro release and in vivo absorption of nicardipine hydrochloride sustained release pellets

Liu Shankui (Liu SK), Sun Qirong (Sun QR), Zhong Yanqiang (Zhong YQ), et al (General Hospital of Jinan Region, Jinan 250033)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the correlation between the in vitro dissolution of nicardipine sustained release pellets (NCSR) and the in vivo absorption of healthy volunteers. **METHODS:** The dissolution test was proceeded on Chp 95 (II), method I. The drug levels in human plasma were determined by RP-HPLC with diazepam as internal standard. The linear concentration range for this method was 5.0 ~ 200.0 ng/ml, with the correlation coefficient of 0.9996, the average recovery was 96.94%, the RSD of intra-day and inter-day was 5.35% and 7.47% respectively. The method is simple and accurate. **RESULTS:** The in vitro/in vivo regression equation was $f = -6.1403 + 1.2780 F$ ($r = 0.9681$, $n = 10$, $P < 0.01$). **CONCLUSION:** A good correlativity was showed between in vivo absorption and in vitro dissolution of NCSR.

KEY WORDS nicardipine hydrochloride, sustained-release pellets, HPLC, in vitro/in vivo correlation

盐酸尼卡地平是新一代二氢吡啶类钙离子拮抗剂,临床上用于治疗心绞痛和各类高血压。普通片剂口服吸收迅速,生物利用度低,消除半衰期短,约为 80 min,需每日三到四次频繁给药^[1]。自制的缓释微丸是一种采用不同包衣材料,通过膜控法和固体分散体技术制备的新型缓释制剂。口服给药后,可在不同的吸收部位,因消化道 pH 值的不同,定位释放药物,延长药物的释放,从而达到平缓血药浓度,延长药

效,提高生物利用度的目的。

本文建立 HPLC 法测定 NCSR 口服给药后的人体内血药浓度,进而评价体内外试验的相关性,从而对于缓释制剂处方的筛选,质量控制及预测体内药物的吸收情况具有一定的实际意义。

1 材料和仪器

UV-265 紫外分光光度仪(日本岛津);RCD-6 型药物

溶出度仪(上海黄海药检仪器厂); Waters 486 液相色谱系统(510 泵,486 紫外检测器,810 工作站)(美国 Waters 公司);80-2 型离心沉淀器(上海第一医学院仪器厂);盐酸尼卡地平缓释微丸(教研室研制);甲醇、乙腈为色谱纯试剂,其它试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 体外释放实验

依中国药典 1995 年版二部溶出度测定项下转篮法,溶出杯内温度(37±0.5)℃,转速为 100±1rpm,溶出介质前 2h 为 pH 1.2 人工胃液,然后更换为 pH 6.8 人工肠液,再溶出 10h。以溶出介质为空白,在 240nm 测定吸收度^[2],由标准曲线计算不同时间的溶出液的浓度和溶出度。

标准曲线浓度范围为 2~16ng/ml,pH 1.2 人工胃液中,回归方程为 $A = 2.5508 \times 10^{-3} + 0.04667 C$ ($r = 0.9999, n = 6$)。pH 6.8 人工肠液中回归方程 $A = 4.2288 \times 10^{-3} + 0.04586 C$ ($r = 0.9999, n = 6$)。

2.2 人体内血药浓度测定

健康志愿者 6 名,均为男性。年龄(22.3±1.86)岁,体重(63.5±2.43)kg,血压及肝、肾功能正常,无烟酒等不良嗜好。服药前两周及实验期间禁服其它药物。隔夜禁食 12h,口服盐酸尼卡地平缓释微丸 40mg,温开水 200ml 送服。分别在服药后 2h 进标准餐,服药前后定时采血 4ml(用埋植于前上臂的留滞针),肝素钠抗凝,离心(3000rpm)10min,取血浆 1.5ml,表 1 健康志愿者口服缓释微丸(40mg)的血药浓度

	Time/h									
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	8.0	10.0	12.0
1	3.24	10.38	17.21	21.81	28.66	25.11	20.39	16.31	8.59	5.14
2	5.36	13.80	20.16	25.86	29.65	24.48	18.30	13.20	7.41	4.93
3	2.41	9.87	15.11	17.64	22.72	25.85	19.48	11.95	6.90	5.56
4	1.94	11.25	18.06	21.95	27.31	20.43	18.74	14.05	7.63	6.02
5	5.28	9.27	17.58	22.09	30.81	24.59	21.06	15.64	8.32	6.41
6	6.60	11.64	20.43	24.91	31.13	26.84	22.57	17.52	10.33	7.26
$\bar{x}$	4.14	11.04	18.09	22.39	28.38	24.55	20.09	14.75	8.20	5.89
s	1.87	1.61	1.98	2.88	3.11	2.20	1.59	2.11	1.21	0.87

表 2 健康志愿者口服缓释微丸的药动学参数

	Ke	Ka	T _{lag}	t _{1/2Ka}	t _{1/2Ke}	T _p	C _{max}	AUC	MRT
	/1•h ⁻¹	/1•h ⁻¹	/h ⁻¹	/h ⁻¹	/h ⁻¹	/h ⁻¹	/ng•mg ⁻¹	/ng•mg ⁻¹	/h ⁻¹
1	0.27	0.34	0.40	2.01	2.60	3.68	24.73	205.37	6.36
2	0.24	0.48	0.31	1.44	2.83	3.17	25.66	208.74	6.29
3	0.23	0.40	0.40	1.74	3.06	3.69	20.99	187.87	6.97
4	0.26	0.40	0.40	1.72	2.66	3.47	23.62	205.32	7.10
5	0.22	0.40	0.33	1.74	3.12	3.65	24.26	221.93	7.02
6	0.21	0.42	0.27	1.67	3.34	3.61	26.39	248.84	7.20
$\bar{x}$	0.24	0.41	0.35	1.72	2.93	3.54	24.27	213.01	6.82
s	0.02	0.04	0.05	0.18	0.29	0.20	1.89	20.65	0.40

冰箱 - 4℃保存备用。

2.2.1 样品的制备^[3~6] 取血浆样品 1.5ml 置于 15ml 磨口具塞离心管中,加入内标应用液 0.5ml(80ng)和 0.5ml(0.1mol/L NaAc + 0.1mol/L HCl 1:1)缓冲液,混匀,振荡 10min,加入 0.5ml 2mol/L NaOH 溶液和 5ml 乙醚,涡旋 5min,离心 5min(3000r/min),吸取乙醚层至另一离心管中,40℃水浴,N₂流吹干,残留物用 100l 流动相溶解,离心,上清液进样 20μl。

2.2.2 色谱条件 色谱柱:YMG-C₁₈(25×0.5cm)10μm(中科院上海药物研究所);保护柱:(5×0.5cm)内装 RP-C₁₈10μm(中科院上海药物研究所);流动相:甲醇-乙腈-0.02mol/L KH₂PO₄(35:30:25) pH 4.2;流速:1.0ml/min;检测波长:240nm;灵敏度:0.02AUFS;内标物:安定。在此条件下,盐酸尼卡地平和安定的保留时间分别为 8.83min 和 13.68min。本法的线性范围为 5.0~200.0ng/ml,盐酸尼卡地平与安定的峰面积比值 R 对盐酸尼卡地平浓度 C 的回归方程为:R=0.05893+0.01237 C($r = 0.9996, n = 6$),最低检测浓度为 2.5ng/ml,平均回收率 96.94%,日内日间相对标准偏差分别为 5.35%和 7.27%(n=3)。

3 实验结果

6 名健康志愿者口服 NCSR 后血药浓度结果见表 1。用 3P87 药动学软件自动拟合,其药动学特征呈血管外一室模型,药动学参数见表 2。

将不同时间体外溶出量累加计算累积释放百分率 F (%) ,根据 Wagner - Nelson 公式以均值计算盐酸尼卡地平缓释微丸口服后不同时间的吸收百分数 f (%) 。不同时间体内吸收分数和相应时间的体外释放百分率的计算结果见表 ,经线性回归 ,得方程 : $f = - 6.1403 + 1.2780 F$ ($r = 0.9681$, $n = 10$) 。经相关系数检验 ,两者之间存在显著的相关性 ($P < 0.01$) 。结果见表 3。

表 3 体外释放百分率 F (%) 和体内吸收百分数 f (%) 实验结果 / $n = 6$

t/h	f / %	F / %
1	23.31	25.82 ± 1.31
2	43.59	32.62 ± 2.58
3	61.10	48.48 ± 3.94
4	84.20	59.68 ± 4.17
5	88.94	70.58 ± 5.10
6	90.58	74.70 ± 4.54
8	96.26	82.35 ± 4.23
10	94.17	84.12 ± 4.32
12	96.18	85.38 ± 5.21

4 讨 论

实验结果表明 ,本文建立的体外释放方法与体内吸收分数之间存在着良好的相关性。本文建立的反相高效液相色谱法测定血浆中盐酸尼卡地平浓度 ,灵敏度高 ,线性范围宽 ,重现性好 ,适用于盐酸尼卡地平体内药动学的研究。

参考文献

- 1 John G, Wagner, Teck L, *et al*. Single intravenous dose and steady state oral dose pharmacokinetics of nicardipine in healthy subjects. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 1987, 8: 133.
- 2 许明望,陈斌,余文光. 尼卡地平溶出度测定. *中国医院药学杂志*, 1994, 14(6): 265.
- 3 Anne T, Ian J, Massey, *et al*. A HPLC method for the simultaneous determination of nicardipine and its pyridine metabolite in plasma. *J Pharm Sci*, 1984, 73(10): 1444.
- 4 李克,张昕,赵飞浪,等. 高效液相色谱法测定人血浆中尼卡地平及药代动力学参数. *中国药科大学学报*, 1998, 29(3): 197.
- 5 齐美玲,孙延莉,姚琳,等. 尼卡地平缓释片人体内外相关性研究. *中国药学杂志*, 1995, 30(11) 增刊: 60.
- 6 王嗣岑,贺浪中. 钙离子拮抗剂尼卡地平的 HPLC 法及其在体内药代动力学研究. *药物分析杂志*, 2000, (3): 160.