

氟比洛芬微乳大鼠药动学研究

金小平¹, 黄建耿², 赵珊珊¹, 韩俊^{1*} (1. 襄樊市第一人民医院药学部, 湖北 襄樊 441000; 2. 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

摘要:目的 评价自制氟比洛芬微乳在大鼠体内的药动学和相对生物利用度。方法 两组 SD 雄性大鼠分别单剂量给予氟比洛芬微乳和氟比洛芬片, 采用 HPLC 测定血药浓度。应用 3P87 药动学程序对数据进行处理计算药动学参数。结果 单剂量给药后氟比洛芬微乳和氟比洛芬片的主要药动学参数 C_{max} 分别为 $(4\ 976.1 \pm 500.9) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(3\ 684.0 \pm 500.6) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, t_{max} 分别为 $(1.17 \pm 0.37) \text{ h}$ 和 $(2.33 \pm 0.46) \text{ h}$, AUC_{0-36} 分别为 $(44\ 613.5 \pm 8\ 515.7) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(34\ 126.5 \pm 7\ 909.6) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 相对生物利用度为 130.46%。结论 以市售氟比洛芬片为参比制剂, 氟比洛芬微乳在大鼠体内的生物利用度明显提高。

关键词: 氟比洛芬; 微乳; 高效液相色谱法; 药物动力学; 生物利用度

中图分类号: R945 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)05-0413-03

Pharmacokinetics of Flurbiprofen Microemulsion in Rats

JIN Xiao-ping¹, HUANG Jian-geng², ZHAO Shan-shan¹, HAN Jun^{1*} (1. Department of Pharmacy, Xiangfan No. 1 People Hospital, Xiangfan 441000, China; 2. School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacokinetics and relative bioavailability of flurbiprofen microemulsion in rats. **METHODS** Single dose *po* flurbiprofen microemulsion and tablet were given to two groups of rats respectively. The plasma concentration of flurbiprofen was determined by HPLC and the data was processed with the software 3P87. **RESULTS** The C_{max} , t_{max} , AUC_{0-36} of flurbiprofen microemulsion and flurbiprofen tablet were $(4\ 976.1 \pm 500.9) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(3\ 684.0 \pm 500.6) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(1.17 \pm 0.37) \text{ h}$ and $(2.33 \pm 0.46) \text{ h}$, $(44\ 613.5 \pm 8\ 515.7) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(34\ 126.5 \pm 7\ 909.6) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The mean relative bioavailability of the flurbiprofen microemulsion was 130.46%. **CONCLUSION** The results suggested that the flurbiprofen microemulsion has improved the bioavailability in rats.

KEY WORDS: flurbiprofen; microemulsion; HPLC; pharmacokinetics; bioavailability

氟比洛芬 (flurbiprofen, FP) 是一种新型的非甾体抗炎药, 口服给药吸收快, 达峰时间短, 血浆蛋白结合率高, 体内

作者简介: 金小平, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: (0710) 3420176 E-mail: 63_king@163.com * 通讯作者: 韩俊, 女, 主管药师
Tel: (0710) 3420080 E-mail: jxp3388@126.com

生物半衰期约为 3~5 h 约有 20%~25% 的原形药物经肾排泄,临床上广泛用于风湿关节炎、骨关节炎、强直性脊柱炎等,也用于软组织病(如扭伤及劳损)以及轻中度疼痛(如痛经和手术后疼痛、牙痛等)的对症治疗^[1],临床上用药剂型主要有片剂、滴眼剂、缓释胶囊剂等。由于临床应用各种制剂存在溶出难和生物利用度低的问题,我们以氟比洛芬为模型药物制备 FP 微乳,选取大鼠为实验对象,建立 FP 生物样品测定方法,以市售氟比洛芬片为参比制剂初步考察了 FP 微乳在大鼠体内的药动学及生物利用度情况,为该制剂的进一步研制开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

高效液相色谱仪 (Agilent 1100); Sepu2000 色谱工作站;离心机(上海手术器械厂); XW-80A 微型旋涡混合仪(上海精科实业有限公司)。

1.2 试剂

氟比洛芬微乳(自制,批号 20060314,FP 含量 10 mg·mL⁻¹);参比制剂:市售氟比洛芬片(上海三维制药有限公司生产,批号 2005082Q 规格:50 mg·片⁻¹);酮洛芬(沈阳新地药业有限公司,含量>99.8%,批号 20051204);乙腈(色谱纯);其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

清洁级 SD 雄性大鼠,体重(250±20 g),由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。

1.4 试验设计

取雄性 SD 大鼠 120 只,随机分成 2 组,试验前禁食过夜,一组服用自制 FP 微乳,另一组服用市售普通片,分别给予试验制剂与参比制剂,给药剂量均为 200 mg·kg⁻¹,各组于给药前及给药后 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2、4、8、12、24、36 h 分别处死 5 只大鼠从颈动脉取血 1.0 mL,离心(4 000 r·min⁻¹) 10 min 分离得血浆样品,于-20℃冰箱中保存待测。

1.5 色谱条件^[2-3]

色谱柱: Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.02 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(50:50 三乙胺调 pH 6.4);检测波长: 254 nm;进样量: 20 μL;流速: 1.0 mL·min⁻¹;柱温:室温。

1.6 血浆样品处理

精密量取血浆样品 0.2 mL 于 10 mL 具塞刻度试管中,加入 50 μg·mL⁻¹酮洛芬内标液 10 μL 和 1.0 mol·L⁻¹盐酸 100 μL,涡流振荡混合 1 min,加入无水乙醚 3 mL,涡旋振荡混合 5 min,离心(3 000 r·min⁻¹) 5 min,移取有机相至 10 mL 离心管中,氮气吹干,加流动相 100 μL 溶解,涡旋混合 1 min,离心(8 000 r·min⁻¹) 10 min,取上清液 20 μL 进行 HPLC 分析。

1.7 样品稳定性考察

取低中高浓度 FP 处理样品数份,于日内室温、日间冷藏存放不同时间以及冷冻解冻循环试验后,取 20 μL 进样,测定 FP 浓度,考察其放置稳定性。

1.8 数据处理

采用 3P87 计算程序对血药浓度时间数据进行分析,求算有关药动学参数。采用梯形法计算 AUC₀₋₃₆;达峰时间 t_{max} 和达峰浓度 C_{m,ax} 均为实测值;以市售氟比洛芬片为参比制剂,求算氟比洛芬微乳的相对生物利用度。

2 结果

2.1 专属性

在 HPLC 图中 FP 的保留时间为 7.4 min,血浆中内源性物质及其他杂质不干扰 FP 的分离测定。色谱图见图 1。

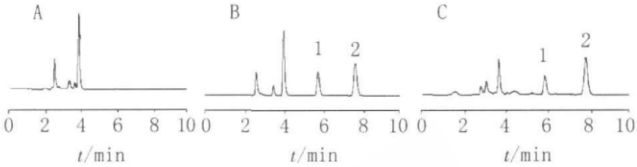


图 1 氟比洛芬 HPLC 测定色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆+氟比洛芬(1.6 μg·mL⁻¹)+酮洛芬(2.5 μg·mL⁻¹); C-给药后 2 h 血浆样品+酮洛芬(2.5 μg·mL⁻¹); 1-酮洛芬; 2-氟比洛芬

Fig 1 HPLC chromatogram of flurbiprofen in plasma

A- blank plasma B- blank plasma + flurbiprofen (1.6 μg·mL⁻¹) + ketoprofen (2.5 μg·mL⁻¹); C- Sample plasma at 2 h after administration+ ketoprofen (2.5 μg·mL⁻¹); 1- ketoprofen 2- flurbiprofen

2.2 标准曲线的制备

配制一系列 FP 血药浓度相当于 50、100、200、400、800、1 600、3 200、6 400 ng·mL⁻¹ 血浆样品,按“血浆样品处理”项下进行血样处理,取上清液 20 μL 进样,以样品峰与内标峰面积比(A_s/A_i)对血药浓度 C 回归,得回归方程为: Y=0.489 6X+0.020 1(r=0.999 7)。

2.3 精密度试验

配制 FP 血药浓度相当于为 100、1 600、6 000 ng·mL⁻¹ 低、中、高 3 浓度血浆样品,按“血浆样品处理”项下进行血样处理,取该低、中、高 3 个浓度样品于日内与日间分别测定 5 次,记录峰面积,计算日内、日间相对标准偏差。结果见表 1。

表 1 精密度试验结果(n=5)

Tab 1 Results of precision tests(n=5)

浓度 /ng·mL ⁻¹	日内		日间	
	$\bar{x} \pm s$	RSD %	$\bar{x} \pm s$	RSD %
100	106.12 ± 1.34	1.26	103.72 ± 6.49	6.26
1 600	1 654.13 ± 21.26	1.29	1 613.36 ± 58.97	3.66
6 000	6 099.13 ± 51.37	0.84	6 064.29 ± 94.47	1.56

2.4 回收率试验

用空白血浆配制低(100 ng·mL⁻¹)、中(1 600 ng·mL⁻¹)、高(6 000 ng·mL⁻¹) 3 个浓度血浆样品,按“血浆样品处理”项下进行血样处理,取上清 20 μL 进样,记录峰面积。将峰面积代入标准曲线方程得到的相应浓度与实际浓度之比得加样回收率;以提取后待测物色谱峰面积与相同浓度未经提取直接进样获得的色谱峰面积之比得提取回收率。结果见表 2。

表 2 回收率结果 (n = 5)

Tab 2 Results of recovery tests(n = 5)

浓度 /ng· mL ⁻¹	加样回收率 %		提取回收率 %	
	$\bar{x} \pm s$	RSD %	$\bar{x} \pm s$	RSD %
100	106.12 ± 1.81	1.71	72.67 ± 4.53	6.23
1 600	104.42 ± 2.63	2.52	69.89 ± 6.27	8.97
6 000	99.67 ± 1.39	1.39	71.29 ± 5.43	7.62

2.5 稳定性考察结果

稳定性考察结果表明,处理好的样品在室温下放置 2 h、冰箱中冷藏放置 24 h、未处理样品冷冻解冻循环 3 次,样品峰面积均无明显变化,低中高浓度质控样品室温下放置 2 h 稳定性试验 RSD 分别为 3.18%, 2.49%, 2.84%; 冷藏放置 24 h 稳定性试验 RSD 分别为 3.77%, 2.64%, 4.29%; 冷冻解冻循环 3 次稳定性试验 RSD 分别为 3.67%, 1.03%, 2.98%, 提示处理好与未处理的样品稳定,不影响测定。

2.6 药动学研究

两种制剂平均血药浓度-时间曲线见图 2。由图可以看出,两种制剂的达峰时间比较接近,FP 微乳的达峰浓度明显高于参比制剂,且药时曲线下面积也明显增加,提示 FP 微乳生物利用度优于普通片剂。

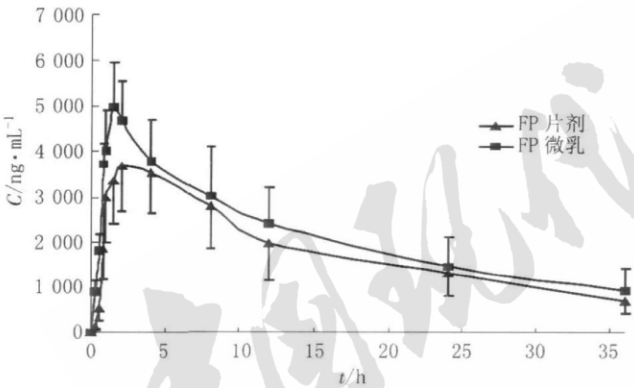


图 2 大鼠单剂量服用氟比洛芬微乳和市售氟比洛芬片的平均药时曲线 (n = 5 $\bar{x} \pm s$)

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve of flurbiprofen microemulsion and tablet in rats(n = 5 $\bar{x} \pm s$)

两种制剂大鼠口服灌胃给药后,血药浓度经 3P87 拟合计算药动学参数。通过比较两种制剂平均血药浓度的拟合结果,以一室模型和权重 1/C²拟合时血药浓度时间数据计算的药动学参数结果分别见表 3。

用梯形法求出氟比洛芬微乳与市售氟比洛芬片药时曲线下面积 AUC₀₋₃₆分别为 (44 613.5 ± 8 515.7) ng· h· mL⁻¹、(34 126.5 ± 7 909.6) ng· h· mL⁻¹,从而计算出氟比洛芬微乳的相对生物利用度为 130.46%。

表 3 大鼠服用氟比洛芬微乳和市售氟比洛芬片的药动学参数 (n = 5 $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Pharmacokinetic parameters of flurbiprofen microemulsion and tablet in rats(n = 5 $\bar{x} \pm s$)

主要参数	氟比洛芬微乳	氟比洛芬片
k_a /h ⁻¹	2.79 ± 0.81	2.93 ± 0.77
k_e /h ⁻¹	0.041 ± 0.008	0.037 ± 0.006
$t_{1/2}(ka)$ /h	0.26 ± 0.07	0.24 ± 0.05
$t_{1/2}(ke)$ /h	16.49 ± 2.97	17.94 ± 2.44
C_{max} /ng· mL ⁻¹	4 976.10 ± 500.9	3 684.00 ± 500.6
t_{max} /h	1.17 ± 0.37	2.33 ± 0.46
AUC_{0-36} /ng· h· mL ⁻¹	44 613.50 ± 8 515.7	34 126.50 ± 7 909.6
$V/F_{(c)}$ /L· kg ⁻¹	13.27 ± 4.76	16.16 ± 5.21
MRT/h	22.14 ± 4.72	23.86 ± 5.43

3 讨论

由于血浆样品中内源性成分复杂,干扰较多,为了排除内源性杂质干扰测定,本实验试用了沉淀蛋白法和有机溶剂提取法。分别比较了甲醇、乙腈、高氯酸沉淀蛋白的效果,并分别试用了乙醚、乙酸乙酯、氯仿提取。试验中结果表明采用乙醚提取杂质干扰少,方法简便、准确,重复性好,可满足生物样品分析的要求,适用于体内药物浓度的测定及药动学研究。

大鼠体内药物动力学初步研究结果表明,与普通片剂相比,FP 微乳的 t_{max} 提前, C_{max} 明显增大,FP 微乳的相对生物利用度为 130.46%,表明将 FP 制成微乳口服液可促进其在胃肠道吸收,提高 FP 的生物利用度。

REFERENCES

[1] FAKHREDDIN J, DAVID S C, BRIAN W B, *et al*. Comparative bioavailability of two flurbiprofen products: stereospecific versus conventional approach [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1991, 12: 435-445.

[2] ZHONG Y O, REN C S, SUN O R, *et al*. Study on pharmacokinetics and bioavailability of flurbiprofen suspension in rabbits [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1999, 19 (12): 707-709.

[3] DING X Y, WANG S L, ZHANG Y, *et al*. Determination of flurbiprofen in human plasma by RP-HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2001, 21 (8): 472-473.