

兰索拉唑肠溶片体内外相关性研究

王丽瑶¹, 王永禄², 李学明^{2,3*}, 孙小虎², 冯沁心² (1.安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036; 2.南京工业大学药学院, 南京 211816; 3.南京工业大学材料化学工程国家重点实验室, 南京 210009)

摘要: 目的 考察兰索拉唑肠溶片的体外释放与在 beagle 犬体内吸收间的相关性。方法 利用紫外分光光度法测定肠溶片体外释放度; 利用高效液相色谱法测定 beagle 犬口服给药后的体内血药浓度; 以 Wagner-Nelson 法计算其体内吸收分数, 考察体内吸收与体外释放的相关性。结果 兰索拉唑肠溶片的体内吸收分数 f_a 与体外释放速率 f_t 的关系为: $f_a = 0.8122f_t - 9.8746$, $r = 0.9568$ 。结论 兰索拉唑肠溶片的体外释放与在犬体内吸收相关性良好。

关键词: 兰索拉唑肠溶片; 释放度; 体内外相关性

中图分类号: R943.43; R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)03-0239-04

Study on the Correlation between Dissolution *in Vitro* and Absorption *in Vivo* of Lansoprazole Enteric-coated Tablets

WANG Liyao¹, WANG Yonglu², LI Xueming^{2,3*}, SUN Xiaohu², FENG Qinxin² (1.College of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2.College of Pharmacy, Nanjing University of Technology, Nanjing 211816, China; 3.State Key Laboratory of Materials-oriented Chemical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the dissolution rate *in vivo* and bioavailability in beagle dogs of lansoprazole enteric-coated tablets, and to evaluate the correlations of the dissolution *in vitro* and absorption *in vivo*. **METHODS** The drug dissolution *in vitro* was measured by UV spectrophotometer. The plasma concentration in beagle dogs was measured by HPLC. The correlation of dissolution *in vitro* and bioavailability *in vivo* was studied by the Wagner-Nelson method. **RESULTS** The relationship between the dissolution fraction f_t and the absorption fraction f_a was $f_a = 0.8122f_t - 9.8746$, $r = 0.9568$. **CONCLUSION** The correlation between dissolution *in vitro* and absorption *in vivo* of lansoprazole enteric-coated tablets was good.

KEY WORDS: lansoprazole enteric-coated tablet; dissolution; *in vivo-in vitro* correlation

兰索拉唑是治疗胃酸过多及溃疡类疾病的临床常用药物, 为第 2 代质子泵抑制剂(PPI), 其主要作用机理是通过抑制 H^+-K^+-ATP 酶活性, 从而抑制胃酸分泌^[1-2]。由于兰索拉唑水溶性差, 性质不稳定, 口服生物利用度低, 限制了药效的充分发挥, 通过添加增溶剂的手段将兰索拉唑制备成肠溶片, 能够有效提高兰索拉唑的溶解度和释放速率, 从而提高其口服生物利用度^[3]。本实验考察了兰索拉唑肠溶片的体外释放度及 beagle 犬口服给药后的体内血药浓度, 建立了其体内外相关性方程, 以期为该制剂的质量控制和临床应用提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BP211D 电子天平(德国赛多利斯公司); HGC-24A 型 24 孔干式加热氮吹仪(北京万诚博达

科贸有限公司); WH-2 型微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂); TG16-W 微量高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); TU-1901 双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); 岛津高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

1.2 试药

兰索拉唑原料药(浙江普洛家园药业, 含量: 99.2%, 批号: 1003-0910004); 兰索拉唑肠溶片(自制, 规格: 每片 15 mg, 批号: 20100519); 兰索拉唑对照品(中国药品与生物制品检定所, 批号: 100709-200501, 含量: 97.1%); 4'-乙氧基乙酰苯(阿拉丁试剂公司, 批号: 200807299, 含量: 98.4%); 乙腈(Merck 公司, 色谱纯); 其它试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

健康成年 Beagle 犬 6 只, ♀ ♂ 各半, 体质量

基金项目: 江苏省高校自然科学研究面上项目(10KJB350002); 南京工业大学材料化学工程国家重点实验室开放课题基金资助项目(KL10-13)
作者简介: 王丽瑶, 女, 博士, 讲师 Tel: (0551)5786703 E-mail:wangliyao1979@sohu.com 通信作者: 李学明, 男, 博士, 教授 Tel: (025)58139399 E-mail:xuemingli@njut.edu.cn

(9±0.80)kg, 购自上海市新冈实验动物场, 动物合格证号: SCXK(沪)2010-0015。

2 方法与结果

2.1 兰索拉唑肠溶片体外释放度测定

按释放度测定法^[4], 采用溶出测定法第一法装置(转篮法), 转速为 100 r·min⁻¹, 测定兰索拉唑肠溶片释放度。

2.1.1 酸中释放量测定 以盐酸溶液(pH 1.2) 1 000 mL 为溶剂, 依法操作, 经 2 h, 取供试片, 用水洗净表面盐酸溶液, 用滤纸吸干, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液; 另精密称取兰索拉唑对照品适量, 加甲醇溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含有 15 μg 的溶液, 作为对照品溶液, 按分光光度法^[4], 在 284 nm 波长处测定吸收度, 计算每片的理论含量 A(%), 1-A 即为酸中的释放量, 不得大于标示量的 10%。

2.1.2 缓冲液中释放量测定 以盐酸溶液(pH 1.2) 1 000 mL 为溶剂, 依法操作, 经 2 h 停转, 立即将转篮升出液面, 将盐酸溶液弃去, 随即移入预热至 37 °C 的磷酸盐缓冲液(pH 6.8) 1 000 mL 中, 继续依法操作, 经 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 h, 取溶液 10 mL(取液后及时补充同温溶出介质 10 mL), 滤过, 取续滤液照分光光度法^[4], 在 284 nm 波长处分别测定吸收度, 计算累计释放度, 限度为标示量的 75%, 应符合规定, 结果见图 1。

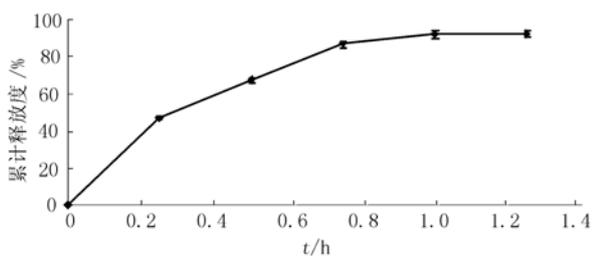


图 1 兰索拉唑肠溶片体外释放度(n=6)

Fig 1 Cumulative release profiles of lansoprazole enteric-coated tablets (n=6)

2.2 兰索拉唑肠溶片在犬体内血药浓度的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: DIKMA Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 预柱: DIKMA(C₁₈, 4.0 mm×10 mm); 流动相: 水-乙腈-三乙胺=67:40:1(磷酸调 pH 值为 7.0); 柱温: 40 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 286 nm; 进样量: 20 μL。

2.2.2 对照品溶液和内标溶液的配制

2.2.2.1 兰索拉唑对照品溶液的配制 取兰索拉唑对照品约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相(磷酸调 pH 为 7.0)适量, 振摇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 100 μg·mL⁻¹ 的标准母液。分别精密量取母液 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 25 mL, 置 100 mL 量瓶中, 流动相稀释得到浓度分别为 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 25 μg·mL⁻¹ 的兰索拉唑储备液。

2.2.2.2 4'-乙氧基乙酰苯内标溶液的配制 取 4'-乙氧基乙酰苯约 0.062 5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 1.25 mg·mL⁻¹ 的储备液, 取 0.4 mL 储备液置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 配制成 50 μg·mL⁻¹ 的内标溶液。

2.2.3 血浆样品处理方法 精密移取 0.5 mL 血浆样品, 置 10 mL 离心管中, 加入内标液(4'-乙氧基乙酰苯)30 μL, 涡旋 30 s, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 250 μL、乙酸乙酯 4 mL, 涡旋 5 min, 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取有机层至另一离心管中, 氮气流下吹干, 加流动相 200 μL(pH 7.0)溶解, 涡旋 2 min, 将溶液转移至 1.5 mL 塑料离心管中, 离心 10 min(12 000 r·min⁻¹), 取上清液 20 μL 进样分析。

2.2.4 线性范围考察 分别取“2.2.2.1”项下的不同浓度兰索拉唑储备液 50 μL 和内标溶液 30 μL 至离心管中, 氮气流吹干, 各加空白血浆 0.5 mL 配成浓度分别为 25, 50, 100, 250, 500, 1 000, 2 500 ng·mL⁻¹ 的血浆样本, 每种浓度的血浆样品配置 5 份, 按“2.2.3”项下方法处理, 进样分析, 以兰索拉唑峰面积 A_s 和 4'-乙氧基乙酰苯峰面积 A_i 的比值 Y(A_s/A_i)对浓度 C(ng·mL⁻¹)作线性回归, 得标准曲线方程为 Y=0.001 4C+0.037 6, r=0.999 5(n=5)。结果表明, 兰索拉唑血药浓度与峰面积比值在 25~2 500 ng·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取空白血浆 0.5 mL, 加入高(2 500 ng·mL⁻¹)、中(500 ng·mL⁻¹)、低(50 ng·mL⁻¹)3 种不同浓度的兰索拉唑储备液, 按“2.2.3”项下方法处理, 样品平行操作 5 份, 同日测定并连续测定 5 d, 计算 RSD。结果日内 RSD 分别为 1.66%, 0.93%, 1.33%; 日间 RSD 分别为 4.21%, 1.11%, 1.39%, 符合生物样品含量测定要求。

2.2.6 回收率试验

2.2.6.1 萃取回收率 精密量取不同浓度的兰索拉唑储备液，配制高(2 500 ng·mL⁻¹)、中(5 00 ng·mL⁻¹)、低(50 ng·mL⁻¹)3 种不同浓度的兰索拉唑溶液(含内标液 3 μg·mL⁻¹)，取 20 μL 进样(分别含兰索拉唑 50, 10, 1.0 ng)，记录峰面积之比 Y_1 ；另取空白血浆 0.5 mL，加入同样高、中、低 3 种不同浓度的兰索拉唑储备液，按“2.2.3”项下方法处理，进样，记录样品峰面积之比 Y_2 ，以 Y_2/Y_1 计算萃取回收率。结果，高中低 3 个浓度的平均萃取回收率分别为 70.99%，61.66%，45.33%，RSD 分别为 4.02%，1.12%，1.62%，均符合要求。

2.2.6.2 方法回收率 精密量取空白血浆 0.5 mL，加入不同浓度兰索拉唑标准品溶液，使血浆中兰索拉唑浓度分别为 2 500, 500, 50 ng·mL⁻¹，按“2.2.3”项下方法处理，进样，记录样品峰与内标峰的面积 A_s 和 A_i ，以 $Y=A_s/A_i$ 代入标准曲线方程计算测定浓度，以测定浓度与制备浓度之比计算方法回收率。结果高、中、低 3 种浓度的平均方法回收率分别为 106.83%，101.23%，104.76%，RSD 分别为 2.45%，1.74%，0.96%，表明此方法的回收率良好，方法准确。

2.2.7 药动学研究

2.2.7.1 犬血药浓度的测定 Beagle 犬 6 只，给药前禁食 12 h，清晨分别给兰索拉唑肠溶片 1 片，在其前肢头静脉或后肢小隐静脉处采血，给药前取空白血，给药后 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 h 分别采血 3 mL，置肝素化试管中，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，分离出血浆置 -20 °C 保存备用。检测时自冰箱中取出冷冻的待测血浆样品，37 °C 水浴中完全解冻后进样，检测吸收峰面积，根据标准曲线计算血药浓度。

2.2.7.2 数据处理和统计分析 将各时间点的血浆药物浓度对时间做药时曲线($C-t$)，并用“3P97”药动学软件进行模型拟合，用 SPSS 统计软件分析比较各组之间的差异。结果见图 2 和表 1。

2.3 兰索拉唑肠溶片的体内外相关性考察

根据“3P97”药动学软件拟合结果，以 AIC 为指标，确定房室模型和权重。在此基础上选用合适的方法计算体内吸收分数。对其体内吸收分数 f_a 和相应时间的体外累计释放百分率 f_t 作线性回归，判断是否具有相关性。

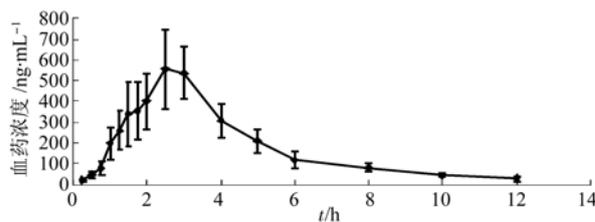


图 2 Beagle 犬口服给药后血浆中兰索拉唑药时曲线图 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig 2 Average plasma concentration-time profiles of lansoprazole enteric-coated tablets following oral administration in beagle dogs($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 1 兰索拉唑肠溶片药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of lansoprazole enteric-coated tablets in beagle dogs($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	肠溶片
K_e/h^{-1}	0.31±0.24
K_a/h^{-1}	0.92±0.34
$t_{1/2ka}/h$	0.74±0.18
$t_{1/2ke}/h$	2.19±0.45
T_{peak}/h	2.17±0.48
$C_{max}/ng·mL^{-1}$	361.74±152.13
$AUC/ng·mL^{-1}·h$	1998.04±1150.72
MRT/h	4.66±1.17

2.3.1 吸收分数的计算

2.3.1.1 运用 3P97 程序对血药浓度-时间数据进行房室模型判断。结果依据 AIC 值最小原则，确定为单室模型，因此可采用 Wagner-Nelson 法计算体内吸收分数。

2.3.1.2 Wagner-Nelson 法计算体内吸收分数

根据血药浓度-时间数据，按一室模型 Wagner-Nelson 法计算兰索拉唑在体内各时间点的吸收分数 f_a 。计算公式为

$$f_a = \frac{C_t + k \int_0^t C_t dt}{k \int_0^\infty C_t dt} \times 100\%$$

经计算，体内吸收分数约 2.5 h 时达最高值，表明此时药物体内吸收和消除已达平衡，故以 2.5 h 前的药-时曲线为吸收相，分别计算吸收分数，结果见表 2。

2.3.2 体内外相关性 以 t 时间体外释放度 f_t 为自变量，体内吸收分数 f_a 为因变量，对达峰之前 45 min 至 2 h 的相应数据作线性回归，得到方程 $f_a=0.812 2f_t - 9.874 6$ ， $r=0.956 8$ ，结果见表 3。结果可见，兰索拉唑肠溶片体外释放与体内吸收的

相关性较好, 因此可以根据兰索拉唑体外释放度来判断和预测药物在体内的吸收规律。

表 2 兰索拉唑在 Beagle 犬体内吸收分数

Tab 2 Absorption fraction *in vivo* of lansoprazole enteric-coated tablets following oral administration in beagle dogs

<i>t</i> /h	<i>fa</i> /%
0.25	3.19
0.50	7.43
0.75	12.24
1.00	30.46
1.25	41.88
1.50	56.30
1.75	62.47
2.00	72.64
2.50	104.63

表 3 兰索拉唑肠溶片体内吸收度与体外溶出度间的相关性

Tab 3 Correlation of lansoprazole enteric-coated tablets between *fa* (fraction of drug absorbed *in vivo*) and *ft* (percentage of drug dissolved *in vitro*)

<i>t</i> ₁ /h	<i>ft</i> /%	<i>t</i> ₂ /h	<i>fa</i> /%
0.25	46.96	1.00	30.46
0.50	67.39	1.25	41.88
0.75	86.86	1.50	56.30
1.00	91.95	1.75	62.47
1.25	92.35	2.00	72.64

3 讨论

兰索拉唑在生物药剂学分类系统中属于 II 型药物(低溶解性, 高通透性), 该型药物具有体外释放与体内吸收相关性良好的特性^[5]。兰索拉唑在胃酸中不稳定, 因此需制成肠溶制剂, 由文献^[6]可知, Beagle 犬的胃排空速率平均在 45 min 至 1 h 左右, 从吸收分数计算结果看, 30 min 前, 药物

吸收量非常少, 说明兰索拉唑肠溶片在胃中比较稳定且没有释放, 45 min 药物开始释放, 考虑到药物释放与吸收间有一定的延时效应, 因此我们选择 1 h 对应磷酸盐缓冲液中 25 min 的采样点。笔者比较了不同时间点的吸收情况, 发现从 45 min 至 2 h 有较好的体内外相关性, 其他时间点的体内外相关性相对较差。为考察兰索拉唑肠溶片的体内外相关性, 本实验减小 2 h 之前的采血间隔时间, 以期获得满意的数据。本实验中兰索拉唑肠溶片体外释放度与体内生物利用度相关性良好, 因此可以根据其体外释放度来判断和预测药物在体内的吸收规律, 用于指导兰索拉唑制剂的处方和工艺筛选。

REFERENCES

- [1] ZHAO X, HUO Y X, BI K S, et al. Pharmacokinetics and bioequivalence study of lansoprazole tablets in Chinese healthy volunteers [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(9): 743-746.
- [2] DER G. An overview of proton pump inhibitors [J]. Gastroenterol Nurs, 2003, 26(5): 182-190.
- [3] WANG X T, GAO P, XIANG D C. Research progress of pharmacokinetics and drug interactions of lansoprazole [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(7): 922-925
- [4] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: Appendix 87.
- [5] PARVIN Z M, MOHAMMAD B J, MANDANA A, et al. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 73(1): 102-106.
- [6] MURATA S, UEDA S, SHIMOJO F, et al. *In vivo* performance of time-controlled explosion system (TES) in GI physiology regulated dogs [J]. Int J Pharm, 1998, 161(2): 161-168.