

非诺贝特固体自乳化制剂 (S-SED DS) 体外评价及生物利用度研究

郭 香 高立军 田 霞 胡 洁 张贵英 全东琴[△]

(军事医学科学院毒物药物研究所 北京 100850)

摘要 目的 以 S-SED DS 替代液态自乳化制剂中的表面活性剂制备非诺贝特固体自乳化制剂。方法 比较了固体自乳化制剂与市售产品、液体自乳化制剂的体外溶出情况及体内生物利用度。结果：表明本研究的固体自乳化制剂用水分散后平均粒径为 820.2 ± 26.5 (nm) 溶出度试验结果显示,30min 累积溶出度达到 80% 以上,本研究制备的非诺贝特固体自乳化制剂 AUC(0-24) 为 22.7 ± 8.2 mg/L¹oh 与 SED DS 的 AUC(0-24) (24.9 ± 7.6 mg/L¹oh) 没有显著性差异 ($P > 0.05$),与市售微粉化胶囊 (13.8 ± 10.5 mg/L¹oh) 相比能够显著提高药物的生物利用度 ($P < 0.05$)。结论 S-SED DS 有液体自乳化给药系统的效果。

关键词 S-SED DS 溶出度 粒径 生物利用度

中图分类号 R917 **文献标识码** B **文章编号** 1673-6273 (2011) 07-1266-04

The Solid Self-emulsified Drug Delivery System (S-SED DS) of Fenofibrate: Evaluation in Vitro and Pharmacokinetic Studies in Vivo

GUO Xiang, GAO Li-jun, TIAN Xia, HU Jie, ZHANG Gui-ying, QUAN Dong-qin[△]

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

ABSTRACT Objective: The solid self-emulsified drug delivery system (S-SED DS) of fenofibrate was investigated, which contained solid excipient instead of surfactants usually used in liquid self-emulsified drug delivery system. **Methods:** Particle size distribution, dissolution rate in vitro was detected. **Results:** The average size of S-SED DS after dispersion was 820.2 ± 26.5 (nm). Dissolution test showed that the accumulated dissolution of S-SED DS was about 80% within 30min. In vivo study, AUC (0-24) was 22.7 ± 8.2 mg/L¹oh in S-SED DS and 24.9 ± 7.6 mg/L¹oh in SED DS. There was no significant difference between S-SED DS and SED DS, while they were all better than that of the market capsule (13.8 ± 10.5 mg/L¹oh). **Conclusions:** S-SED DS could enhance the dissolution rate and the bioavailability of fenofibrate free of surfactant.

Key words: S-SED DS; Dissolution; Particle size; Bioavailability

Chinese Library Classification(CLC): R917 **Document code:** B

Article ID: 1673-6273(2011)07-1266-04

前言

非诺贝特临床用于治疗高胆固醇血症、高三酰甘油血症及混合型高脂血症,是一种全面调脂药,其水中几乎不溶,以往的非诺贝特上市产品多要求其与餐同服。已有文献报道包括采用固体分散技术将其制成固体分散片来提高其生物利用度^[1,4]以及将其制备成自微乳制剂^[11]。市售产品包括,非诺贝特片及微粉化胶囊。

传统的自乳化给药系统(self-emulsion delivery system)能够显著提高亲脂性药物的溶出速度,在提高脂溶性药物生物利用度方面具有巨大贡献^[2-4],其制备方法通常是将脂溶性药物溶解在油相中,然后再与液态的表面活性剂及助表面活性剂混匀成均一的油相,加工制成软胶囊等剂型,当加入水后能自发形成乳剂,根据粒径大小又称为自乳化制剂 SED DS(1-100 μ m)以及自微乳化制剂 SMED DS(50-100nm)^[5,6]。但由于 SED DS 自身加工、储存、运输及稳定性问题,近几年来也有针对此种传统的液

态自乳化给药系统的进一步研究,将液态自乳化制剂转变成固体自乳化制剂(solid self-emulsion delivery system, S-SED DS)^[1,8,9]。S-SED DS 是指具有自乳化性质的固体剂型。固体自乳化给药系统(S-SED DS)兼具有固体制剂及液体自乳化制剂的优点,解决了液体自乳化制剂存在的问题^[7,8]。虽然以往对 SED DS 转变为 S-SED DS 的技术及剂型进行了较多的研究,但是仍然使用大量的表面活性剂。本研究以合适的固体辅料替代常规的表面活性剂,制备成非诺贝特固体自乳化硬胶囊,避免了表面活性剂的胃肠道毒副作用^[9-12],加水后能够迅速自发乳化,与液态 SED DS 一样提高药物的生物利用度。

1 材料与方法

激光粒径测定仪(NANO ZS-90, MALVERN) JUV-160A 可见—紫外分光光度计(日本岛津公司) 智能溶出实验仪 ZRS-6 (天津大学无限电厂) 漩涡混合器 GL-88B (海门市其林贝尔仪器制造有限公司) 微粉硅胶(BASF 公司,德国) 乳糖(新西兰) PEG4000、PEG6000 (陶氏公司,美国) 市售微粉化胶囊(法国利博福尼制药公司,规格 200mg/粒)。

1.1 制备工艺及处方筛选

在 50℃ 恒温水浴中,不断搅拌下使药物溶解于油相中,搅拌均匀后放置至室温。将油相滴加入固体辅料混合物中,搅拌

作者简介 郭香,女,(1982-),硕士,电话:13699277225,

E-mail: gx333gx1020@sina.com

[△]通讯作者 全东琴,电话:86-10-66931636;

E-mail: qdqwzb@163.com

(收稿日期 2010-12-06 接受日期 2010-12-30)

均匀,过筛,制粒,干燥,灌装硬胶囊。以溶出度及加水乳化后的粒径作为指标进行筛选,对微粉硅胶、乳糖、微晶纤维素、PEG4000、PEG6000 等固体辅料进行筛选,得到较优处方。

1.2 样品的制备

1.2.1 固态 S-SEDDS 的制备 参见 "1.1 制备工艺及处方筛选" 中方法,制备样品。

1.2.2 液态 SEDDS 的制备 参考专利^[13] 制备非诺贝特液态 SMEDDS 制剂,在 45℃ 恒温水浴中将表面活性剂与油混合均匀后,将非诺贝特药物溶解于其中,待完全溶解后,加入助表面活性剂,在室温下搅拌成澄清透明的溶液。

1.3 S-SEDDS 体外评价

1.3.1 粒径测定 在 100ml 水中加入适量固体 S-SEDDS 制剂(约含非诺贝特 17mg),于 37℃ 恒温条件下,以 50rpm 的转速搅拌 10min 后,弃去底部不溶性固体,吸取出全部溶液并混匀,再装入样品池,装样高度约 1cm。采用马尔文激光粒度散射仪测定其粒径及分布。

1.3.2 体外溶出试验 按照《中华人民共和国药典》2010 年版二部附录 X C" 溶出度测定法第一法",并参考 2010 版中药典中关于非诺贝特片的溶出度测定方法^[15]。进行溶出度试验,用 500mL 的 1%SDS 溶液作为溶出介质,在 37℃ 下以 100rpm 的转速测定,于第 10min、20min、30min、45min 时取液 5mL (并同时补液 5mL),用 0.22μm 滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液在 290nm 处测定吸光度,计算溶出度。分别测定液态 SMEDDS 制剂、固体 S-SEDDS 制剂和市售胶囊。

1.4 体内药动学研究

采用三周期三交叉给药,比格犬 6 只(8-12kg),雌雄各半,随机分为三组,A 组为非诺贝特固体自乳化制剂,B 组为非诺贝特液态自微乳制剂^[12],C 组为市售微粉化胶囊。给药剂量为 50mg/只,清洗周期为 7 天。给药前禁食 12 小时,分别于清晨口服药物后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、8、12、24h 在后肢静脉取血 4mL,置于涂有肝素的塑料试管中,3000r/min 离心 10min,分离血浆样品,置于 -20℃ 冰柜中保存,待测。

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C18(4.6mm×15mm,5μm) 流动相:70:30 (磷酸调节 pH 至 2.6) 流速:1mL·min⁻¹ 检测波长:280nm。

1.4.2 血样处理 取血浆 1.0mL 于离心管中,精密加入尼泊金丁酯内标溶液(40μg·mL⁻¹) 100μL,混匀,加入 0.1mol·L⁻¹ 盐酸 0.6mL,加无水乙醚 5mL,涡旋萃取 2min,3000r·min⁻¹ 离心 10min。取上清液于离心管中,40℃ 下氮气吹干,残渣用 200μL 流动相复溶,进样量为 20μL^[11,13]。

1.4.3 标准曲线 非诺贝特在进入体内后很快代谢为非诺贝特酸,几乎无原型药物存在,因此以非诺贝特酸作为目标物质进行测定。取空白血浆 1.0mL,加入非诺贝特酸标准品溶液,使其质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、2、5、10、20μg·mL⁻¹,各浓度下五个样品,样品处理照 "血样处理" 项下方法操作。以非诺贝特酸浓度对峰面积比值(A 样/A 内)进行线性回归。

1.4.4 回收率及精密度 取空白血浆 1.0mL。加入非诺贝特酸标准品溶液,使质量浓度分别为 0.2、2、10μg·mL⁻¹,每个浓度下五个样品。照 "血样处理" 项下方法操作,代入标准曲线计算

出测得量,回收率(%)=(测得量/加入量)×100%。

1.4.5 日内及日间精密度 取空白血浆 1.0mL。加入非诺贝特酸标准品溶液,使质量浓度分别为 0.2、2、10μg·mL⁻¹,每个浓度下五个样品。照 "血样处理" 项下方法操作,于第 0、2、4、6、8h 及第 0、1、2、3、4d 进样,根据色谱峰面积比值 A 比(A 样/A 内)计算非诺贝特酸质量浓度,求出日内、日间精密度。

2 结果

2.1 工艺与处方筛选

根据溶出度及粒径分布确定所得到优化的固体 S-SEDDS 其组成为:以微粉硅胶为油相吸附载体,乳糖、PEG4000 为固体稀释剂,油相:微粉硅胶:固体稀释剂比例为 30:7.5:62.5,w/w。

2.2 S-SEDDS 体外评价

2.2.1 粒径测定结果 S-SEDD 加水乳化后平均粒径为 820.2±26.5nm。85%的乳滴粒径集中在 620-830nm 之间。粒径分布图见图 1。

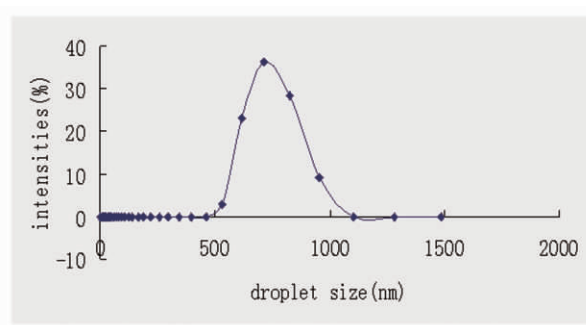


图 1 S-SEDDS 粒径分布图 (n=3)

Fig. 1 The S-SEDDS droplet size distribution (n=3)

2.2.2 溶出度测定结果 如图 2 所示,在 30min 时,液态 SEDDS 的累积溶出度达到 90%以上,固体 S-SEDDS 溶出 80%左右,市售的微粉化胶囊溶出 30%左右,固体 S-SEDDS 显著提高了非诺贝特的体外溶出度。

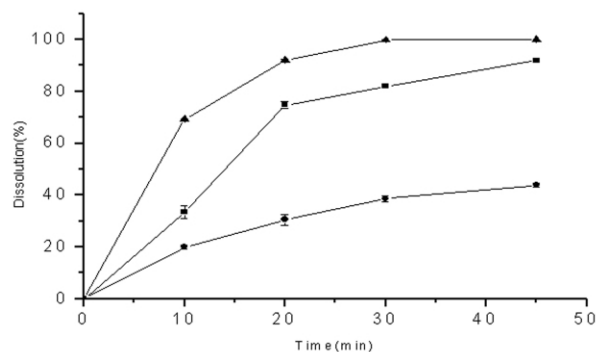


图 2 非诺贝特累积溶出度 (a) ▲ 液体自乳化制剂, (b) ■ 固体自乳化制剂, (c) ● 市售产品 (n=6)

Fig. 2 Dissolution profile of fenofibrate from formulations in 1%SDS (a)

▲ SEDDS, (b) ■ S-SEDDS, (c) ● market capsule (n=6)

2.3 S-SEDDS 体内生物利用度研究

在测定条件下,空白血浆无干扰,目标物质与内标分离良好,非诺贝特酸在 0.1μg·mL⁻¹-20μg·mL⁻¹ 线性良好。回归方程

A 样 /A 内 = 0.4488x - 0.0179(n=6), R² = 0.9999。高、中、低三个浓度回收率分别为 91.85%、93.74%、113.33%。日内及日间精密度均小于 10%,表明该方法精密度良好,可以进行体内药代动力学研究。

非诺贝特的 S-SEDDS、SEDDS 及市售微粉化胶囊经口服给药后,比格犬体内药时曲线如图 3。用 DAS 2.0 程序处理,以二室模型拟合计算药代动力学参数,主要的药代动力学参数见表 1。

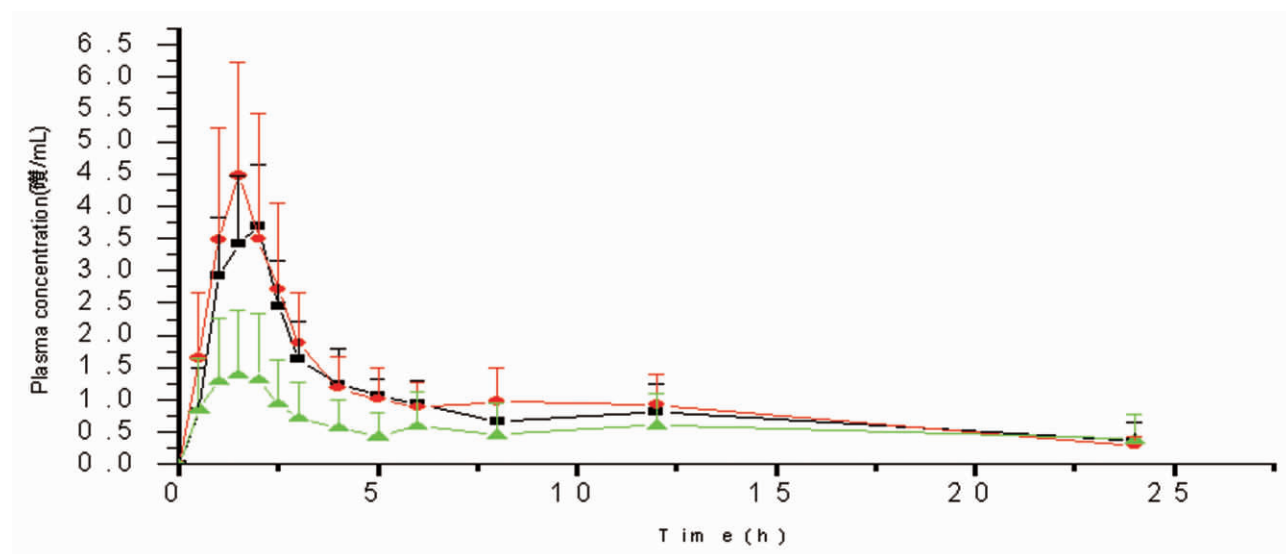


图 3 非诺贝特比格犬体内药时曲线图 (n=6) -■- 液体自乳化制剂 -●- 固体自乳化制剂 -▲- 市售产品

Fig.3 Plasma concentration -time curve of fenofibrate preparation in beagle dogs (n=6) -■- SEDDS -●- S-SEDDS -▲- market capsule

表 1 非诺贝特比格犬体内药代动力学参数(n=6)

Table 1 Pharmacokinetic parameter of fenofibrate preparations in beagle dogs (n=6)

Parameter	Market capsule	SEDDS	S-SEDDS
AUC(0-24)/mgL ⁻¹ oh	13.8± 10.5	24.9± 7.6	22.7± 8.2*
cmax/mgOL ⁻¹	1.6± 1.1	4.8± 1.5	4.6± 0.9*
tmax/h	1.5± 0.5	1.2± 0.3	1.6± 0.4

Each value represents the mean ± SD (n = 6) P < 0.05

应用统计学分析方法进行配对 t 检验,结果显示 S-SEDDS 与 SEDDS 的 AUC (0-24) 及 C_{max} 均没有显著性差异 (P > 0.05),分别为 24.9 ± 7.6mgOL⁻¹oh、22.7 ± 8.2 mgOL⁻¹oh 和 4.8 ± 1.5mgOL⁻¹、4.6 ± 0.9 mgOL⁻¹,与市售微粉化胶囊 (13.8 ± 10.5 mgOL⁻¹oh、1.6 ± 1.1 mgOL⁻¹) 相比能够显著提高药物的生物利用度 (P<0.05)。

3 结论与讨论

本研究制备的非诺贝特固体自乳化制剂,能够避免常规液体自乳化制剂中表面活性剂的使用及生产和储存中存在的问题。液体自乳化制剂及已见报道的固体自乳化技术中,几乎都沿用了加入大量的表面活性剂的方法来制备。而由此带来了胃肠道毒副作用。非诺贝特是高亲脂性药物,用于全面调节血脂,在西方国家应用更加广泛,国外已见报道的提高其生物利用度的制剂手段包括微粉化技术、固体分散体技术、自乳化技术等。国内也有对非诺贝特缓释小丸^[17]、缓释微球片^[18]、缓释片^[16]等的研究。各生产非诺贝特产品的制药公司也在不断进行产品的优化,提高生物利用度的同时降低给药量^[19,20]。非诺贝特溶解度低,受食物影响较大,已上市产品均要求与餐同服,病人顺应性

差,个体差异较大。非诺贝特液体自微乳制剂不仅克服了食物的影响而且大大提高了其生物利用度,在提高药物的生物利用度方面大大的优于其他剂型,然而其中大量的表面活性剂的应用带来的胃肠道毒副作用是不能忽视的,并且液体制剂不便于携带,灌装制备成软胶囊或硬胶囊^[11]后,与胶囊壳的相互作用必然影响制剂的稳定性。本研究结合了液体自微乳制剂的优势以及固体制剂的优点。将药物溶解在油相中,然后进行固型化,再加入其他固体辅料。微粉硅胶质地较轻,易漂浮,制备过程中首先采用微粉硅胶对油相进行吸附,吸附之后避免了生产过程中的批间差异。非诺贝特始终以分子状态存在于制剂中,这是 S-SEDDS 提高生物利用度的前提条件。所制得的制剂遇水后自发乳化,乳滴粒径小于 1μm,有利于药物在胃肠道的分散及吸收。液体自乳化制剂及 S-SEDDS 的 AUC(0-24)分别为 24.9 ± 7.6mgOL⁻¹oh 和 22.7 ± 8.2 mgOL⁻¹oh,数据分析结果显示,两者没有显著差异,在提高非诺贝特生物利用度方面效果相当。非诺贝特 S-SEDDS 生产简便,具有广阔的市场前景。

参考文献(References)

- [1] Balakrishnan P, Lee BJ, Choi HG, et al. Enhanced oral bioavailability of dexibuprofen by a novel solid Self-emulsifying drug delivery sys-

- tem (SEDDS) [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 72(3):539-45
- [2] Chen ML. Lipid excipients and delivery systems for pharmaceutical development: a regulatory perspective[J]. Adv Drug Deliv. Reviews, 2008, 60(6):768-777
- [3] Cuiné JF, Charman WN, Pouton CW, et al. Increasing the proportional content of surfactant (Cremophor EL) relative to lipid in self-emulsifying lipid-based formulations of danazol reduces oral bioavailability in beagle dogs [J]. Pharm. Res, 2007, 24(4):48-757
- [4] Date AA, Nagarsenker MS. Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil[J]. Int. J. Pharm, 2007, 329(1-2):166-172
- [5] Gao S, Singh J. In vitro percutaneous absorption enhancement of a lipophilic drug tamoxifen by terpenes [J]. J Control Release, 1998,51(2-3):193-199
- [6] Gursoya RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 1998,58(3):173-182
- [7] Shen HR, Li ZD, Zhong MK. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery systems containing atorvastatin[J]. Acta Pharm Sin, 2005,40(11):1183-1191
- [8] Yi T, Wan JL, Xu HB, et al. A new solid self-microemulsifying formulation prepared by spray-drying to improve the oral bioavailability of poorly water soluble drugs [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 70(2):439-444
- [9] Tang B, Cheng G, Gu JC, et al. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms[J]. Drug Discov Today, 2008,13(13-14): 13-14
- [10] Kamogawa K, Okudaira G, Sakai T. Preparation of oleic acid/water emulsions in surfactant-free condition by sequential processing using midsonic-megasonic waves [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2004,20(6):228-235
- [11] 葛蔓,全东琴.非诺贝特自微乳制剂的体内外评价[J].中国医院药学杂志, 2009, 29(14)
Ge M, Quan DQ. Assessment of fenofibrate with a self-microemulsifying formulation in vitro and in vivo[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2009, 29(14):1167-1170
- [12] Elnaggar Y S R, El-Massik M A, Abdallah O Y. Selfnanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: Design and optimization [J]. Int. J. Pharm, 2009, 380(1-2):133-41
- [13] 葛蔓.口服非诺贝特组合物[P].中国, 200810167197.2, 2010-05-26
Ge Man. Fenofibrate combinations for oral administration [P]: China, 200810167197.2, 2010-05-26
- [14] P Srinarong *, J H. Faber, M.R. Visser, et al. Strongly enhanced dissolution rate of fenofibrate solid dispersion tablets by incorporation of superdisintegrants [J]. Eu. J.Pharm. Biochem, 2009,73, 154-161
- [15] 非诺贝特胶囊(M). 中国药典. 2010: 455-456
Fenofibrate capsule (M). China pharmacopeia of edition . 2010: 455-456
- [16] 关世侠,杨民,李海刚,等.非诺贝特缓释微丸的制备及释放度研究[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(9):712-715
Guan Shi-xia, Yang Min, Li Hai-gang, et al. Preparation and dissolution experiments of fenofibrate sustained-release pellet [J]. Chin Hosp Pharm J, 2008, 28(9):712-715
- [17] 李晓祥,赵亚男,周理想.非诺贝特缓释片人体药代动力学及生物等效性研究[J]. 安徽医药, 2009,13(7):732-734
Li Xiao-xiang, Zhao Ya-nan, Zhou Li-xiang. Pharmacokinetics and bioequiavailability studys of fenofibrate sustained-release tablet [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2009 Jul,13(7)
- [18] 梅康康,胡容峰,马凤余,等.非诺贝特缓释微球片体内外相关性评价[J] 中国医院药学杂志 2008,28(12):975-978
Mei Kang-kang, Hu Rong-feng, Ma Feng-yu, et al. The relativity in vitro and vivo of fenofibrate sustained-release microspheres tablet [J]. Chin Hosp Pharm J, 2008, 28(12):975-978
- [19] FDA 批准非诺贝特胶囊的补充新药申请[J].世界临床药物, 2006 27(1):1
FDA license of additional application for fenofibrate capsule [J]. World Clinical Drugs, 2006 27(1):1
- [20] 金伟秋. Fournier 的非诺贝特新配方上市[J]. 国外药讯.2001, 3:11
Jin Wei-qiu. The fenofibrate new preparation to market [J]. World Pharmaceutical Newsletter, 2001, 3:11