

# 盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片在犬体内的药动学研究

尹飞<sup>1\*</sup>,董江南<sup>1</sup>,杨星钢<sup>2</sup>,潘卫三<sup>2#</sup>(1.辽宁省肿瘤医院药学部,沈阳 110042;2.沈阳药科大学药学院,沈阳 110016)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)01-0022-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.01.08

**摘要** 目的:研究盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片在犬体内的药动学特征,并进行体内相关性评价。方法:以市售盐酸地尔硫草缓释胶囊为参比制剂,采用双周期双交叉实验设计。选用6只Beagle犬分别灌服参比制剂或受试制剂(盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片)120 mg,于给药前和给药后1、2、3、4、6、7、8、9、10、12、14、16、24、36、48 h取前肢静脉血3 ml。采用反相高效液相色谱法测定盐酸地尔硫草的血药浓度,以DAS 2.0软件计算药动学参数,以体内吸收百分数( $y$ )对体外累积释放百分率( $x$ )进行线性回归评价体内相关性。结果:受试制剂和参比制剂的药动学参数 $t_{1/2}$ 分别为(12.00±3.65)、(8.30±2.16) h, $t_{max}$ 分别为(18.00±4.73)、(5.00±1.79) h, $c_{max}$ 分别为(169.27±67.48)、(137.80±8.20) ng/ml, $AUC_{0-48h}$ 分别为(2 929.91±719.21)、(2 597.06±578.09) ng·h/ml,生物利用度为(121.8±50.3)%,体内相关性回归方程为 $y=1.429 7x+7.114$ ( $r=0.988 6$ )。结论:盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片具有缓释效果,且体内相关性较好,但其体内时滞时间过长。

**关键词** 盐酸地尔硫草;择时释放渗透泵控释片;Beagle犬;药动学;体内相关性

## Pharmacokinetics Study of Diltiazem Hydrochloride Time-controlled Release Osmotic Pump Tablets in Beagle Dogs

YIN Fei<sup>1</sup>, DONG Jiang-nan<sup>1</sup>, YANG Xing-gang<sup>2</sup>, PAN Wei-san<sup>2</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Liaoning Cancer Hospital, Shenyang 110042, China; 2.School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of Diltiazem hydrochloride time-controlled release osmotic pump tablets in Beagle dogs, and to evaluate *in vitro-in vivo* correlation. METHODS: Bi-periodic double-cross experimental design was applied using Diltiazem hydrochloride sustained-release tablets on the market as reference preparation. 6 Beagle dogs were given reference preparation or test preparation (Diltiazem hydrochloride time-controlled release osmotic pump tablet) 120 mg. Blood samples were obtained from the forelimb vein before medication and 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 24, 36 and 48 h after medication. RP-HPLC method was employed to detect the blood concentration of diltiazem. Pharmacokinetic parameters were calculated using DAS 2.0 software, and the correlation of *in vivo* absorption percentage ( $y$ ) with *in vitro* accumulative percentage was evaluated. RESULTS: The pharmacokinetics parameters of test preparation vs. reference preparation were as follows:  $t_{1/2}$  were (12.00±3.65) h vs. (8.30±2.16) h;  $t_{max}$  were (18.00±4.73) h vs. (5.00±1.79) h;  $c_{max}$  were (169.27±67.48) ng/ml and (137.8±8.20) ng/ml;  $AUC_{0-48h}$  were (2 929.91±719.21) ng·h/ml and (2 597.06±578.09) ng·h/ml. The bioavailability was (121.8±50.3)%. *In vitro-in vivo* correlation regression equation was  $y=1.429 7x+7.114$  ( $r=0.988 6$ ). CONCLUSIONS: Diltiazem hydrochloride time-controlled release osmotic pump tablets has a property of sustained drug release and shows good *in vitro-in vivo* correlation, but with obvious delayed release characteristics.

**KEYWORDS** Diltiazem hydrochloride; Time-controlled release osmotic pump tablets; Beagle dog; Pharmacokinetics; *In vitro-in vivo* correlation

盐酸地尔硫草(Diltiazem Hydrochloride, DTZ)为苯噻氮草类钙离子拮抗药,临床主要应用于心绞痛、高血压的治疗<sup>[1]</sup>。目前国内的市售制剂主要有普通片剂和缓释胶囊。普通片剂药效时间短,每日需多次服药;缓释胶囊虽然具有缓释效果,但是对于心绞痛、高血压类具有时辰节律性的疾病<sup>[2]</sup>,其血药浓度变化不能满足该类疾病昼夜节律波动的要求,没有针对性。时间药动学的研究则有助于调整给药时间,使之与疾病节律适应<sup>[3]</sup>。

笔者自制的盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片是一种择时给药系统,服药后能提供3.5~4.5 h的时滞,之后以渗透泵形式平稳释放药物,能有效满足该类疾病昼夜节律变化的要求<sup>[4]</sup>。为研究其给药后体内分布情况,笔者首先建立了测定盐酸地尔硫草血药浓度的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法,并对其在Beagle犬体内的药动学进行了研究。

## 1 材料

### 1.1 仪器

高液相色谱仪,包括LC-10AT VP泵、SPD-10AVP紫外检测器(日本岛津公司);电子分析天平(上海分析仪器厂);XW-80A型涡旋混合器(上海医科大学仪器厂);80-2型台式高

\* 副主任药师。研究方向:药动学。E-mail: yinfei918@sina.com  
# 通信作者:教授,博士研究生导师。研究方向:药物制剂。电话:024-23953241。E-mail: ppwss@163.com

速离心机(上海安亭科学仪器厂);pHS-2C型酸度计(上海伟业仪器厂)。

## 1.2 药品与试剂

盐酸地尔硫草对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100161-200503,纯度:99.9%);受试制剂:盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片(沈阳药科大学药剂教研室自制,批号:20090405,规格:每片120 mg);参比制剂:盐酸地尔硫草缓释胶囊(天津田边制药有限公司,批号:20090113,规格:每粒120 mg);内标:盐酸维拉帕米原料药(沈阳药大药业有限责任公司,批号:081106,纯度:99.92%);乙腈(山东禹王实业有限公司,色谱纯);水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

## 1.3 动物

健康Beagle犬6只,♀♂各半,体质量8~10 kg,由沈阳药科大学动物实验中心提供,许可证号:SCXK(辽)2008-0011。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[5-9]</sup>

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);内标:盐酸维拉帕米;流动相:磷酸二氢钾水溶液(0.02 mol/L,用2%磷酸水溶液调pH至3.0)-乙腈(60:40),流速:1.0 ml/min;柱温:35℃;检测波长:240 nm;进样量:20 μl。

### 2.2 血浆样品的处理<sup>[7]</sup>

精密取血浆样品1 ml,加入内标溶液(2.04 μg/ml)100 μl、0.5 mol/L的磷酸氢二钠500 μl,涡旋3 min后加入正己烷-乙醚混合液(1:1, V/V)5 ml,涡旋5 min,4 000 r/min(离心半径13.5 cm,以下同)离心10 min,吸取上层有机层至锥形离心管中,加入0.01 mol/L盐酸溶液100 μl,涡旋5 min,4 000 r/min离心10 min,弃去上层有机层,取盐酸层20 μl进样。

### 2.3 专属性考察

分别将空白血浆、空白血浆+盐酸地尔硫草对照品+内标、血浆样品(16 h)+内标,按“2.2”项下方法处理后,进样测定。结果显示,盐酸地尔硫草保留时间为6.931 min,内标保留时间为12.255 min,两者分离良好,血浆内源性物质及杂质不干扰盐酸地尔硫草和内标的测定。色谱图见图1。

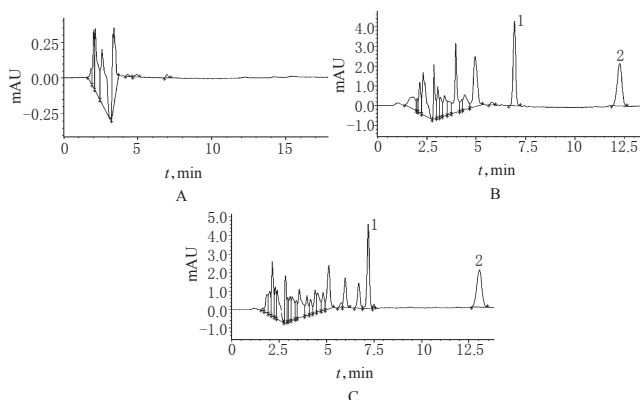


图1 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+盐酸地尔硫草+内标;C.血浆样品+内标;1.盐酸地尔硫草;2.内标

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+diltiazem hydrochloride+internal standard; C. blood sample+ internal standard; 1. diltiazem hydrochloride; 2. internal standard

## 2.4 线性关系考察

精密量取空白血浆1 ml,分别加入不同量的盐酸地尔硫草溶液,使其质量浓度分别为10、20、40、80、200、400 ng/ml,然后按“2.2”项下方法处理后,进样测定,记录色谱。以盐酸地尔硫草与内标的峰面积比(y)为纵坐标,质量浓度(x)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $y=0.0121x+0.0038$ ( $r=0.9996$ ),表明盐酸地尔硫草检测质量浓度的线性范围为10~400 ng/ml。

## 2.5 回收率与精密度试验

精密吸取空白血浆1 ml,加入不同质量浓度的盐酸地尔硫草对照品,使其质量浓度分别为20、80、400 ng/ml,按“2.2”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积,每个浓度测定3次,计算方法回收率和提取回收率。于同日内连续测定5次,考察日内精密度;每日测定1次,连续测定5 d,考察日间精密度,结果见表1。

表1 回收率与精密度试验结果(n=5)

浓度,ng/ml	方法回收率,%	提取回收率,%	日内RSD,%	日间RSD,%
20	107.2	81.4	5.2	6.2
80	110.0	85.5	4.1	10.2
400	107.0	89.7	7.5	9.1

## 2.6 稳定性试验

精密吸取空白血浆1 ml,加入不同质量浓度的盐酸地尔硫草对照品,使其质量浓度分别为20、80、400 ng/ml,分别考察3种质量浓度血浆样品在室温下放置10 h、-20℃下放置30 d、反复冻融3次后的稳定性。结果在上述条件下,血浆样品中盐酸地尔硫草峰面积的RSD<15%,说明血浆样品在上述条件下稳定。

## 2.7 药动学研究<sup>[8]</sup>

将6只Beagle犬随机均分为两组,采用双周期双交叉实验,实验前禁食12 h后,分别灌胃受试制剂和参比制剂,剂量均为120 mg。分别于给药前及给药后1、2、3、4、6、7、8、9、10、12、14、16、24、36、48 h取犬前肢静脉血3 ml置于涂有肝素的离心管中,4 000 r/min离心10 min,分离血浆,置于-20℃冰箱内保存待用;间隔1周后交叉服药,同上采血。将所有血浆样品按“2.2”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积,按内标法计算盐酸地尔硫草的血药浓度,绘制药-时曲线,见图2。

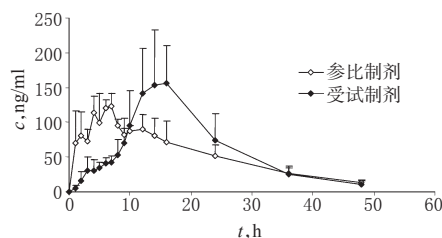


图2 两种制剂在Beagle犬体内的药-时曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of 2 kinds of preparations in Beagle dog in vivo

采用DAS 2.0药动学软件处理,计算药动学参数,结果见表2。

## 2.8 体内、外相关性的研究<sup>[9-10]</sup>

经拟合,盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片在Beagle

表2 两种制剂在Beagle犬体内的药动学参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of 2 kinds of preparations in Beagle dog *in vivo*

参数	受试制剂	参比制剂
$t_{max}$ , h	18.00 ± 4.73	5.00 ± 1.79
$c_{max}$ , ng/ml	169.27 ± 67.48	137.80 ± 8.20
$t_{1/2}$ , h	12.00 ± 3.65	8.30 ± 2.16
AUC <sub>0-48h</sub> , ng/h·ml	2 929.91 ± 719.21	2 597.06 ± 578.09
AUC <sub>0-∞</sub> , ng/h·ml	3 060.31 ± 755.56	2 821.58 ± 645.97
AUC <sub>0-48h</sub> /AUC <sub>0-∞</sub>	0.959 ± 0.034	0.922 ± 0.006
F(AUC <sub>0-48h</sub> ), %		121.8 ± 50.3
F(AUC <sub>0-∞</sub> ), %		117.8 ± 49.7

犬体内的药动学为一室模型,体内吸收百分数(Fa)采用

$$\text{Wanger-Nelson 方法计算: } Fa(\%) = \frac{(X_A)_T}{(X_A)_\infty} = \frac{c_t + k'_0 cdt}{k'_0 cdt} \times 100\%$$

式中,  $(X_A)_t$  是  $t$  时间吸收到体内的药物量,  $(X_A)_\infty$  是体内吸收的药物总量,  $c_t$  是  $t$  时间的血药浓度,  $k$  是消除速率常数。将  $t$  时间 Fa 与相应时间体外累积释放量(Ft)进行线性回归,根据回归系数来判断体内外相关性是否显著。以 3~14 h Ft 为自变量,以 Fa(y) 对 Ft(x) 进行线性回归评价体内外相关性。结果线性回归方程为  $y = 1.429 7x + 7.114 (r = 0.988 6)$ , 表明盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片体内外相关性较好。Fa 和 Ft 结果见表 3。

表3 盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片的 Fa 和 Ft 结果

Tab 3 Results of Ft and Fa of Diltiazem hydrochloride time-controlled release osmotic pump tablet

指标	$t, h$							
	3	4	5	6	8	10	12	14
Ft, %	3.56	7.68	9.26	18.02	30.10	44.59	59.63	64.05
Fa, %	11.69	23.95	27.23	32.45	42.20	75.13	89.23	100.82

### 3 讨论

本文采用高效液相色谱法测定 Beagle 犬体内的盐酸地尔硫草血药浓度,并对实验方法进行了改进。实验过程中比较了各种碱化剂、萃取剂的性质,并对流动相的比例、pH 值、萃取剂的种类和比例进行了优化,最终所采用的血样处理方法和流动相条件准确可靠,所得回收率较高。

由 Beagle 犬体内平均药-时曲线可以看出,市售制剂在 Beagle 犬体内波动较大,达峰时间也较早;相比之下,自制制剂的释药行为比较平稳,达到了理想的延迟释放效果,并且达峰时间比市售缓释胶囊明显延迟。仔细分析两种制剂的药动学参数可以看出,相对于市售缓释胶囊,自制择时释放渗透泵控释片的  $t_{max}$  明显延长,  $c_{max}$  明显升高, AUC<sub>0-∞</sub> 明显增大,  $t_{1/2}$  也明显延长;但同时也应该看到自制制剂的  $t_{max}$  比参比制剂延长太多,超过预期,这表明虽然自制制剂在体外时滞为 4 h,但在体内由于影响因素较多,时滞时间可能有所改变,以及在体内时滞过

后该制剂是否以正常渗透泵的形式释放药物都需要更深入的研究。此外,由于自制渗透泵片属于择时给药系统,释药存在一定的时滞,故与上市的缓释胶囊相比,其体内的  $t_{1/2}$  相应地也有所延长。另,渗透泵片在 Beagle 犬体内释药均比较平稳也体现了渗透泵释药的特点。

体内外相关性结果对缓释控释剂研究非常重要,若能证明体内外相关性良好,就可用体外的释药数据预测药物的体内过程,以制订药物制剂的质量标准及指导临床用药<sup>[11]</sup>。

综上所述,盐酸地尔硫草择时释放渗透泵控释片具有缓释效果,且体内外相关性较好,但其体内时滞时间过长等问题还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 南亚森, 阎志强. 国内盐酸地尔硫草缓释制剂的研究进展[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 2(30): 111.
- [2] 张立超, 胡晋红, 朱全刚, 等. 疾病的昼夜节律及脉冲给药系统[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(12): 738.
- [3] 郭涛. 介绍几种定时释药系统研究近况[J]. 中国药师, 1999, 2(5): 236.
- [4] Lin HL, Lin SY, Lin YK, *et al.* Release characteristics and in vitro-in vivo correlation of pulsatile pattern for pulsatile drug delivery system activated by membrane rupture via osmotic pressure and swelling[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 70(1): 289.
- [5] 秦群, 徐平声, 李新中, 等. 盐酸地尔硫草延迟缓释微丸胶囊的人体药动学研究[J]. 中南药学, 2007, 5(5): 463.
- [6] 于芝颖, 李玉珍, 何蓁. 两种剂量盐酸地尔硫草缓释胶囊在健康人体药动学及参数相关性[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(7): 403.
- [7] 顾健, 于芝颖, 郑毅毅, 等. 国产盐酸地尔硫草缓释胶囊的药代动力学的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 18(2): 122.
- [8] 陈志鹏, 肖衍宇, 陈洪轩, 等. 盐酸维拉帕米择时缓释微丸的研制及犬体内药代动力学[J]. 药学学报, 2006, 41(8): 765.
- [9] 王超, 陈飞, 洪丽娟, 等. 盐酸普萘洛尔渗透泵片的制备及 Beagle 犬体内药动学研究[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(2): 146.
- [10] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 357.
- [11] 丁雪鹰, 高申, 管斐, 等. 自制奥昔布宁渗透泵控释片的体内外相关性研究[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(2): 192.

(收稿日期: 2013-04-24 修回日期: 2013-05-27)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)来源期刊, 欢迎投稿、订阅