

诺氟沙星-磺丁基醚-β-环糊精包合物在大鼠体内的药动学研究

谷福根¹, 李文妍², 孟根达来¹, 王毅¹, 吴春芝¹, 张爱武¹ (1.内蒙古医学院附属医院, 呼和浩特 010050; 2.内蒙古医学院药学院, 呼和浩特 010100)

摘要: 目的 研究诺氟沙星(NFX)-磺丁基醚-β-环糊精(SBE-β-CD)包合物在大鼠体内的药动学行为。方法 大鼠分别灌胃给予 NFX 及其 SBE-β-CD 包合物, 采用 HPLC 测定给药后不同时间的血药浓度并计算有关药动学参数。结果 NFX 及其 SBE-β-CD 包合物的 C_{max} 分别为 $(3.57 \pm 2.46) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(6.92 \pm 4.03) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; $AUC_{0-\infty}$ 分别为 $(9.94 \pm 5.72) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(14.63 \pm 5.39) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 两组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 包合物相对于原药的生物利用度为 147.2%。结论 NFX 制成 SBE-β-CD 包合物后, 其在大鼠体内的吸收速度有所加快, 血药峰浓度以及生物利用度显著增加。

关键词: 诺氟沙星; 磺丁基醚-β-环糊精; 包合物; 大鼠; 药动学; 生物利用度

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)04-0346-04

Pharmacokinetic Study of Norfloxacin-Sulfobutylether-β-Cyclodextrin Complex in Rats

GU Fugen¹, LI Wenyan², MENG Gendalai¹, WANG Yi¹, WU Chunzhi¹, ZHANG Aiwu¹ (1. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010050, China; 2. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacokinetic behavior of NFX-SBE-β-CD complex in rats. **METHODS** NFX and its SBE-β-CD complex were administered orally to two groups of rats, respectively. The plasma NFX concentrations at different time following administration were determined by HPLC to estimate the main pharmacokinetic parameters. **RESULTS** The C_{max} values for NFX and its SBE-β-CD complex were $(3.57 \pm 2.46) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(6.92 \pm 4.03) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ were $(9.94 \pm 5.72) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(14.63 \pm 5.39) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The C_{max} and $AUC_{0-\infty}$ values for the complex were significantly greater than those of NFX ($P < 0.05$). The relative bioavailability of the NFX complex was 147.2%. **CONCLUSION** The absorption rate, especially the plasma drug peak concentration and bioavailability of the drug in rats were significantly increased by the complex formation of NFX with SBE-β-CD.

KEY WORDS: norfloxacin; SBE-β-CD; complex; rats; pharmacokinetics; bioavailability

诺氟沙星(norfloxacin, NFX)为第3代氟喹诺酮类抗菌药物, 具有抗菌谱广、作用强、使用安全等特点^[1]。该药物属于浓度依赖性抗菌药物, 其抗菌作用取决于血中药物峰浓度^[2]。NFX 水溶性较差, 其普通口服制剂使用后, 体内吸收缓慢, 生物利用度较低, 影响其临床疗效^[3]。磺丁基醚-β-环糊精(sulfobutylether-β-cyclodextrin, SBE-β-CD)是20世纪90年代由美国Cydex公司开发成功的离子化β-CD衍生物, 具有水溶性好、毒性小、安全性高等优点^[4]。作为一种性能优良的药用辅料, 它已被美国FDA批准用作注射剂辅料^[5]。笔者在前期研究中已证实, 将NFX制成SBE-β-CD包合物后, NFX的溶解度、溶出度显著增加^[6]。

因此, 本实验将以NFX-SBE-β-CD包合物为研究对象, 考察其在大鼠体内的药动学行为并与原药进行比较, 旨在为今后研制一种吸收起效快、生物利用度高、临床疗效好的NFX以及其它氟喹诺酮类抗菌药物包合物的新制剂奠定理论基础。

1 材料

LC-10AT高效液相色谱系统(包括SCL-10A型紫外检测器, 日本岛津公司); N2010型色谱数据工作站(浙江大学智达信息工程有限公司)。NFX对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 130450-200705, 含量: 99.6%); NFX原料(湖北恒硕化工有限公司, 批号: 091012, 纯度: 98.2%); SBE-β-CD(山东新大精细化工有限公司, 纯度: 99.9%, 取

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助课题(2009MS1202)

作者简介: 谷福根, 男, 博士, 主任药师 Tel: (0471)6637091

E-mail: fgzh@sina.com

代度: 6.2); NFX-SBE- β -CD 包合物(本实验室自制, 含量: 13.2%); 乙腈(色谱纯, 天津市光复精细化工研究所); 甲醇(色谱纯, 天津市光复精细化工研究所); 其它试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

实验动物: Wistar 大鼠, δ , 250~300 g, 由内蒙古大学实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK(蒙)2002-0001。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3,7]

Inertsil C₁₈ 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m, 日本 GL Sciences 公司); 流动相: 乙腈-0.025 mol \cdot L⁻¹ 磷酸溶液(用三乙胺调 pH 值至 3.0)(15 : 85); 流速:

1 mL \cdot min⁻¹; 检测波长: 278 nm; 柱温: 室温。

2.2 血浆样品的处理

取含药血浆 0.1 mL, 加甲醇 0.2 mL, 涡旋混合 30 s, 混合液以 10 000 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液 20 μ L 进样。

2.3 专属性考察

取空白血浆、加入适量 NFX 对照品的血浆和“2.2”项下血样各 0.1 mL, 按“2.2”项下方法处理后, 分别进样, 测定其 HPLC 图谱。结果见图 1。可见, 血样中 NFX 色谱峰型较好, 保留时间适中。空白血样在 NFX 色谱峰附近无内源性杂质峰, 不干扰 NFX 的测定。说明该测定方法的特异性良好。

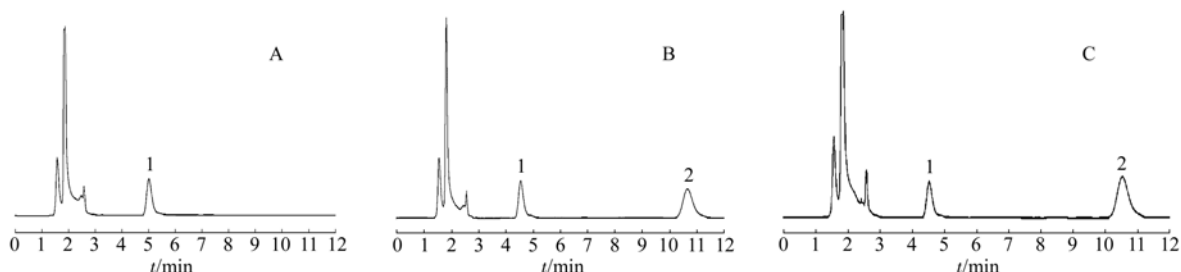


图 1 HPLC 图谱

A-空白血浆; B-空白血浆+NFX; C-血浆样品; 1-内源性物质; 2-NFX

Fig 1 HPLC chromatograms

A-blank plasma; B-blank plasma plus NFX; C-plasma sample; 1-endogenous impurity; 2-NFX

2.4 标准曲线的制备

以甲醇为溶剂, 配制不同浓度的 NFX 系列标准溶液, 取 10 μ L 加入到 0.1 mL 的空白血浆中, 得 NFX 浓度为 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0 μ g \cdot mL⁻¹ 标准血样。取标准血样, 同法处理后, 进样 20 μ L, 测定 NFX 的峰面积(A)。以 NFX 的浓度(C)为横坐标, 其峰面积(A)为纵坐标作线性回归, 得回归方程为 $A=4\ 128.4C+788.07(n=6, r=0.999\ 4)$, 表明 NFX 浓度在 1.0~60.0 μ g \cdot mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取上述浓度分别为 1.0, 20.0, 60.0 μ g \cdot mL⁻¹ NFX 标准血样, 按“2.2”项下方法处理后, 日内分别进样 5 次, 日间分别进样 5 次, 测定方法的精密度, 结果低、中、高浓度的日内 RSD 为 0.82%~2.71%, 日间 RSD 为 2.85%~6.28%, 表明方法的精密度良好。

2.6 回收率测定

配制 1.0, 20.0, 60.0 μ g \cdot mL⁻¹ 的 NFX 标准血样, 按“2.2”项下方法处理后进样, 由 NFX 色谱峰面积, 计算 NFX 的测定浓度, 与配制浓度比较, 计算测定方法的相对回收率, 结果上述 3 个浓度标准血样的相对回收率分别为 96.1%, 100.3%, 100.0%($n=3$)。表明方法回收率良好。

2.7 稳定性考察

配制 1.0, 20.0, 60.0 μ g \cdot mL⁻¹ 的 NFX 标准血样, 进行室温以及冷冻稳定性试验。结果血样在室温放置 24 h 内, 血浆中 NFX 浓度变化<4%, 冷冻-融化循环 3 次, 血浆中 NFX 浓度变化<5%, 在 -20 $^{\circ}$ C 冰冻条件下放置 10 d, 血浆中 NFX 浓度变化<8%。表明样品稳定性较好。

2.8 给药方案与样品采集

取 Wistar 大鼠 12 只, 体重(290 \pm 10)g, 随机分为 2 组, 每组 6 只, 实验前禁食 12 h, 允许自由饮水。分别灌胃给予用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制的 NFX 混悬液及其包合物溶液, 剂量均为

200 mg·kg⁻¹。2 组于给药前及给药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h 分别从眼眶静脉丛采血, 每次采血 0.5 mL, 置于肝素化试管中, 10 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 得血浆样品, 置于冰箱中冷冻保存, 待测。

2.9 样品测定以及药动学参数的计算^[8-9]

取待测血样 0.1 mL, 加入甲醇 0.2 mL, 按“2.2”项下方法处理后进样, 测定色谱峰面积, 计算血药浓度。以血药浓度(C)对给药时间(t)作图, 得 C-t 关系图。由消除相末端血药浓度的自然对数(lnC)对 t 作线性回归, 则回归方程的斜率即为药物的消除速率常数(k); 达峰时间(t_{max})以及血药峰浓度(C_{max})由测定数据直接读出。血药浓度-时间曲线下面积(AUC₀₋₁₂)以梯形面积法进行计算, 剩余曲线下面积(AUC_{12-∞})可通过公式: AUC_{12-∞}=C_t/k 求得。式中, C_t 为最后一次采血点的血药浓度。曲线下面积(AUC_{0-∞})可由公式: AUC_{0-∞}=AUC₀₋₁₂+AUC_{12-∞}计算。包含物的相对生物利用度(F)可由公式: F(%)=(AUC_{0-∞})_{包含物}/(AUC_{0-∞})_{原药}×100%计算。NFX 及其包含物在大鼠体内平均血药浓度与时间的关系见图 2。药动学参数测定结果见表 1。

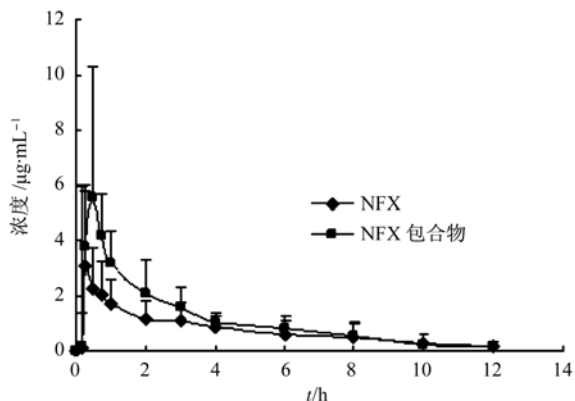


图 2 NFX 及其包含物的平均血药浓度与时间曲线(n=6)
Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of NFX after oral administration of intact drug and its complex (n=6)

2.10 统计学分析

对所得药动学参数以 SPSS13.0 软件进行 t 检验, 其中, AUC 及 C_{max} 需先进行对数转换, 判断差异的显著性, 结果见表 1。可见, NFX 及其包含物的药动学参数包括 k、t_{1/2}、t_{max}, 两组间无显著性差异(P>0.05), 但包含物组的 t_{max} 还是小于原药组。包含物组的 AUC 及 C_{max} 远大于原药组, 两组间有显著性差异(P<0.05)。包含物的 F 为 147.2%。

表 1 NFX 及其包含物在大鼠体内的药动学参数($\bar{x} \pm s$, n=6)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters after oral administration of NFX and its complex in rats ($\bar{x} \pm s$, n=6)

参数	原药组	包含物组
k/h ⁻¹	0.48±0.21	0.51±0.17
t _{1/2} /h	1.69±0.73	1.60±0.85
t _{max} /h	0.54±0.25	0.38±0.21
C _{max} /μg·mL ⁻¹	3.57±2.46	6.92±4.03 ¹⁾
AUC ₀₋₁₂ /μg·h·mL ⁻¹	9.28±5.35	14.04±4.99 ¹⁾
AUC _{0-∞} /μg·h·mL ⁻¹	9.94±5.72	14.63±5.39 ¹⁾
F/%		147.2

注: 与原药组相比, ¹⁾P<0.05

Note: Compared with NFX group, ¹⁾P<0.05

3 讨论

本实验选择大鼠眼眶静脉丛采血法, 具有操作简便, 易于掌握, 可重复多次采集等特点。每只动物均可获得一条完整的血药浓度-时间曲线图, 所需实验动物数量大大减少, 节省了研究成本。在血浆中 NFX 的 HPLC 测定中, 采用甲醇为血浆蛋白沉淀剂, 将蛋白沉淀后直接进样, 采用外标法进行血药浓度的测定, 结果发现, 蛋白沉淀效果良好, 所得标准曲线方程的线性、方法精密度以及回收率均符合测定要求。而且, 外标法较常用的内标法操作较为简便、省时。

NFX 及其包含物在大鼠体内药动学及生物利用度研究结果, 可见, 经 SBE-β-CD 包合后, NFX 在动物体内的吸收速度有所加快, 具体表现为包含物的 t_{max}<原药, C_{max} 是原药的近 2 倍; 此外, 包含物的相对生物利用度为 147.2%, 表明药物的生物利用度显著增加。根据生物药剂学有关理论, 对于水难溶性药物来说, 其体内溶出通常是其体内吸收的限速步骤^[10]。正是由于 NFX 形成 SBE-β-CD 包合物后, 药物的溶解度以及溶出度显著增加, 故其在体内吸收速度、药物峰浓度与吸收程度均得到明显提高。NFX 属于浓度依赖性抗菌药物, 其抗菌作用与药物的峰浓度密切相关, 依据本研究结果, 可预测 NFX 包含物经人体服用后, 其血药峰浓度提高, 吸收程度增加, 因而其抗菌作用将会得到改善, 这为今后研制抗菌效果更好的 NFX 以及其它氟喹诺酮类药物包含物新制剂提供了有力的理论依据。

此外, 研究中发现, 大部分动物的血药浓度-时间曲线呈双峰或三峰现象, 而且达峰时间存在

明显的个体差异,故本实验中所测得的大鼠平均血药浓度-时间曲线为伪单峰。基于大鼠无胆囊这一生理特点,推测血药浓度出现多峰现象的原因可能有2种情况^[11]:①体内再循环。血液中的药物从肠壁透入肠腔内,再经肠壁重吸收入血,引起血药浓度再次升高;②吸收时间与吸收速率的不一致性。在胃肠道的不同部位,管壁对某些药物的通透性不同,当口服药物后,不同部位的吸收时间和吸收速率并不一致。一般有两个吸收部位,一个在胃肠道上部,另一个在胃肠道下部。两处吸收的药物在血液中叠加,使血药浓度-时间曲线出现双峰或多峰。

REFERENCES

- [1] CHEN X Q, JIN Y Y, TANG G. New Handbook of Drugs(新编药物手册) [M]. 15th ed. Beijing: People's Health Publishing Press, 2003:105.
- [2] LIU J Y, XU H Z. Administration strategies of antimicrobial drugs [J]. China Pharm(中国药业), 2009, 18(10): 87-88.
- [3] LUAN L B, ZHU J B. Pharmacokinetics of norfloxacin injection and capsules in humans [J]. Acta Pharm Sin(药理学

报), 2000, 35(2): 147-150.

- [4] GU F G, CUI F D, GAO Y L. Sulfobutylether- β -cyclodextrin and its application in pharmaceuticals [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2004, 13(1): 15-19.
- [5] STELLA V J, HE Q. Cyclodextrins [J]. Toxicol Pathol, 2008, 36(1): 30-42.
- [6] LI W Y, GU F G, MENG G D L, et al. Preparation and characterization of norfloxacin- sulfobutylether- β -cyclodextrin complex [J]. Chin South Pharm(中南药学), 2011, 9 (2): 81-84
- [7] LI B Y, WANG C, SONG T B, et al. Determination of norfloxacin in plasma by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1998, 18(5): 323-325.
- [8] ZHANG H Y, PING Q N, GUO J X, et al. Pharmacokinetics of breviscapine and its β -cyclodextrin complex in rats [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2005, 40(6): 563-567.
- [9] XIAO L, ZHAI S D, ZHAO R S, et al. Bioavailability of silymarin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex in rats [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2006, 26(2): 140-142.
- [10] HU G Y, PENG J Q, YU H. Study on the relativity of bioavailability and dissolution profile of irbesartan-hydrochlorothiazide tablets [J]. Chin J Modern Appl Pharm (中国现代应用药学), 2011, 28(7): 659-660.
- [11] MA Y M, SUN R Y. Double-peak phenomenon in drug concentration-time curve [J]. Foreign Med Pharm (国外医学:药学分册), 1987, 3(3): 168-173.

收稿日期: 2011-08-04