

缬沙坦纳米骨架系统在大鼠体内的药动学研究

刘婧琳¹, 吴春暖¹, 王冠元¹, 代文兵^{2*}, 张洁^{1*}

1. 天津医科大学肿瘤医院 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心 药学部, 天津 300060

2. 北京大学 药学院, 北京 100191

摘要: 目的 采用 HPLC 法研究缬沙坦纳米骨架系统在 SD 大鼠体内的生物利用度。方法 采用 BDS Hypersil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钾 (44:24:32); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。取雄性 SD 大鼠 12 只, 随机分为 2 组, 按照缬沙坦 20 mg/kg 分别 ig 缬沙坦胶囊和缬沙坦纳米骨架系统, 绘制血药浓度-时间曲线, 采用 DAS 2.1.1 软件计算主要动力学参数 C_{max} 、 t_{max} 、AUC、 F 。结果 缬沙坦在 0.481~48.1 μg/mL 线性关系良好。定量限为 0.4 μg/mL, 准确度、灵敏度、精密度和专属性均符合体内分析方法学要求。缬沙坦纳米骨架系统药时曲线下面积比缬沙坦胶囊提高 154.78%, 显著提高缬沙坦的体内生物利用度。结论 缬沙坦纳米骨架系统血药浓度变化相对较为平缓, 有望成为难溶性药物的新型给药方式。

关键词: 缬沙坦纳米骨架系统; 缬沙坦胶囊; 缬沙坦; 生物利用度; 高效液相色谱

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2019)12-3524-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.12.005

Pharmacokinetics of valsartan nanomatrix drug delivery system in rats *in vivo*

LIU Jing-lin¹, WU Chun-nuan¹, WANG Guan-yuan¹, DAI Wen-bing², ZHANG Jie¹

1. Department of Pharmacy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China

2. Peking University School of Pharmaceutical Sciences, Beijing 100191, China

Abstract: Objective To study the bioavailability of valsartan nanomatrix drug delivery system in SD rats by HPLC method. **Methods** BDS Hypersil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 3 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate (44:24:32). The detection wavelengths were set at 250 nm. The flow rate was 1.0 mL/min, volume of injection was 20 μL, and temperature of column was set at 30 °C. 12 Healthy male SD rats were randomly divided into two groups. According to the dose of valsartan 20 mg/kg, each group was ig administered with valsartan capsules or valsartan nanomatrix drug delivery system. The plasma concentration - time curve was drawn and the main kinetic parameters C_{max} , t_{max} , AUC, and F were calculated by DAS 2.1.1 software. **Results** The linear range of valsartan was 0.481 — 48.1 μg/mL. The limit of quantification was 0.4 μg/mL. The accuracy, sensitivity, precision, and specificity all meet the requirements of *in vivo* analysis methodology. The area under the curve of valsartan nanomatrix drug delivery system was 154.78%, which higher than that of valsartan capsules, and significantly improved the bioavailability of valsartan *in vivo*. **Conclusion** The change of blood drug concentration in valsartan nanomatrix drug delivery system is relatively gentle, and the nanomatrix drug delivery system is expected to become a promising way for insoluble drug delivery.

Key words: valsartan nanomatrix drug delivery system; valsartan capsules; valsartan; bioavailability; HPLC

收稿日期: 2019-09-18

基金项目: 国家重大科学研究计划项目 (2015CB932100)

作者简介: 刘婧琳 (1988—), 女, 天津人, 药师, 硕士, 研究方向为药物代谢动力学和医院药学。E-mail: nk_liujinglin@126.com

*通信作者 张洁, 女, 副主任药师, 研究方向为临床药理学和医院药学。E-mail: zhangjie@medmail.com.cn

代文兵, 男, 副教授, 研究方向为药物新剂型。E-mail: pawpaw009@126.com

口服给药是最方便的给药途径之一,具有患者顺应性高、成本低、安全性高的优势。具有活性的水难溶性药物在体内溶出较差,生物利用度较低,导致部分活性物质不能成为治疗药物^[1-4]。因此提高难溶性药物的溶解度进而改善生物利用度是目前该类药物开发亟需解决的问题。缬沙坦是首例非肽类口服有效的血管紧张素 II (Ang II) 受体拮抗剂,通过阻断 Ang II 与 AT1 受体的结合产生良好的降压作用。根据 BCS 分类系统,缬沙坦为 BCS II 类药物,具有低溶解性和高渗透性,体内外相关性良好。然而其平均生物利用度仅为 23%,临床药效发挥受限。目前提高缬沙坦生物利用度的方法通常为制备固体分散体,但由于固体分散体有老化现象,表面活性剂在体内有一定的毒性^[5-7]。因此缬沙坦在应用方面受到一定的限制。纳米给药系统粒径小、载体具有可降解性,在提高难溶药溶出度和生物利用度方面已成为研究的前沿和热点,市场开发前景广阔。笔者所在研究团队前期以二氧化硅和高分子聚丙烯酸树脂为载体材料构建了口服纳米骨架给药系统^[8-9]。经实验验证,经处方优化筛选得到的纳米骨架制剂与市售制剂缬沙坦胶囊(商品名代文)相比可显著提高缬沙坦的体外溶出度^[10-11]。为考察缬沙坦口服纳米骨架制剂的药动学行为,本研究建立高效液相色谱法测定缬沙坦的血药浓度,并分析比较市售制剂缬沙坦胶囊与该纳米骨架制剂在大鼠体内的药动学行为。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BP211D 电子分析天平(德国 Sartorius); LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津); YKH- I 型液体快速混合器(江西医疗器械厂); Sigma1-15K 冷冻离心机(德国 Sigma); TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学仪器厂); WH-861 型涡旋振荡器(江苏太仓市科教器材厂); N-EVAP-12 氮吹仪(美国 Organomation)。

1.2 试药

缬沙坦对照品(河南开封制药厂,质量分数 99%); 替米沙坦对照品(中国食品药品检定研究院,质量分数 $\geq 99\%$,批号 100629-201409); 缬沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司,批号 1180); Eudragit L100-55(德国 Evonik); 纳米骨架材料二氧化硅 Sylysia 350(德国 Evonik); 乙腈、甲醇(USA Fisher); 缬沙坦纳米骨架系统(缬沙坦、Sylysia350、Eudragit

L100-55 的比例为 1:2:2,规格 80 mg,自制)。

1.3 实验动物

SD 大鼠,雄性,体质量(250 $\pm$ 10) g,购自维通利华实验动物中心,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2016-0006,实验动物使用许可证号 SYXK(京)2017-0033。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

BDS Hypersil C₁₈ 柱(250mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钾(44:24:32); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L。

2.2 血浆样品处理方法

取 0.1 mL 血浆置于 1.5 mL EP 管中,加入 204.4 μ g/mL 内标替米沙坦溶液 10 μ L 后,加入乙腈 0.5 mL,涡旋振荡 1 min 后,14 000 r/min、4 $^{\circ}$ C 条件下离心 10 min,取上清液并用氮气吹干,用 100 μ L 流动相复溶,即得。

2.3 标准溶液的配制

精密称取缬沙坦 25.75 mg,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释定容,得 1.03 mg/mL 缬沙坦母液,并用流动相逐级稀释配制 4.81、48.1、96.2、192.4、481 μ g/mL 的溶液。精密称取替米沙坦对照品 5.11 mg,用甲醇稀释至 25 mL,得 204.4 μ g/mL 的替米沙坦标准溶液,于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取大鼠的空白血浆、空白血浆加缬沙坦和内标替米沙坦、大鼠给药后的血浆样本,按“2.2 血浆样品处理方法”项下方法处理后进样测定,所得色谱图见图 1。缬沙坦和替米沙坦的出峰时间分别为 8.705、14.265 min。

2.4.2 标准曲线与定量限 取 SD 大鼠血浆 100 μ L,分别加入配制的不同质量浓度的缬沙坦标准溶液 10 μ L 于 1.5 mL EP 管中,再于各 EP 管加 204.4 μ g/mL 替米沙坦溶液 10 μ L,配制相当于缬沙坦血浆质量浓度为 0.481、4.81、9.62、19.24、48.1 μ g/mL 的样品,按“血浆样品处理方法”项下处理,进样分析。以缬沙坦质量浓度为横坐标,缬沙坦与替米沙坦峰面积比值为纵坐标,对各点进行线性回归,得回归方程 $Y=0.512 X+0.002$, $r=0.999 2$ 。缬沙坦在 0.481~48.1 μ g/mL 线性关系良好。信噪比(S/N)为 10.2,定量限为 0.4 μ g/mL。

2.4.3 精密度与准确度试验 取大鼠空白血浆 100

μL , 分别置于 1.5 mL EP 管中, 配制成分别含缬沙坦质量浓度分别为 0.48、9.62、48.10 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆样品, 每个质量浓度各配制 6 份样本, 连续测定 5 d, 并根据每天的随行标准曲线计算样品中缬沙坦的质量浓度, 并于实际配制的质量浓度比较, 计算方法

的精密度与准确度, 日内、日间 RSD 和 RE 分别表示精密度和准确度, 结果见表 1。根据结果可知日内精密度和日间精密度分别为 2.52%~3.51%、4.42%~8.34%, 日内相对误差和日间相对误差分别为 0.56%~2.10%、0.21%~2.10%。

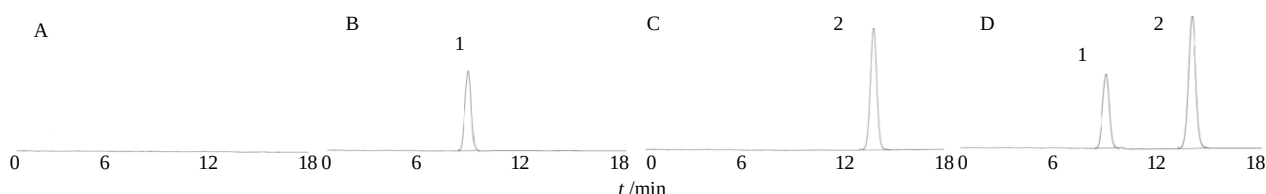


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加缬沙坦 4.81 $\mu\text{g/mL}$ (B)、空白血浆加替米沙坦 204.4 $\mu\text{g/mL}$ (C) 和给大鼠口服给药后 1 h 后血浆样品 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of blank plasma (A), blank plasma + valsartan 4.81 $\mu\text{g/mL}$ (B), blank plasma + telmisartan 204.4 $\mu\text{g/mL}$ (C) and plasma sample (D) 1 h after oral administration to rats

表 1 精密度和准确度试验结果 ($n=6$)

Table 1 Result of precision and accuracy test ($n=6$)

质量浓度/ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	日内精密度和准确度			日间精密度和准确度		
	测定值/($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD/%	RE/%	测定值/($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD/%	RE/%
0.48	0.47 ± 0.01	3.12	2.10	0.47 ± 0.04	8.34	2.10
9.62	9.52 ± 0.33	3.51	1.04	9.64 ± 0.47	4.86	0.21
48.10	47.83 ± 1.21	2.52	0.56	47.84 ± 2.12	4.42	0.54

2.4.4 提取回收率 取空白血浆 0.1 mL, 分别加入 10 μL 用甲醇配制的 4.81、96.2、481 $\mu\text{g/mL}$ 缬沙坦母液和 204.4 $\mu\text{g/mL}$ 替米沙坦标准品, 配制成分别含缬沙坦 0.48、9.62、48.10 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆样品, 每种浓度各 5 份, 按照“血浆样品处理方法”进行测定, 结果见表 2。

表 2 提取回收率试验结果

Table 2 Results of recovery extraction recovery

成分	质量浓度/ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	提取回收率	
		数值/%	RSD/%
缬沙坦	0.48	98.33 ± 1.57	1.60
	9.62	99.80 ± 2.56	2.57
	48.10	99.43 ± 2.52	2.53
替米沙坦	204.40	97.89 ± 2.74	2.80

2.4.5 稳定性试验 取大鼠空白血浆 100 μL 配制含缬沙坦质量浓度分别为 0.48、9.62、48.10 $\mu\text{g/mL}$ 的缬沙坦血浆样品, 每个质量浓度分为 3 组, 每组 6 个样品。第 1 组为冷冻组置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻保

存 15 d, 第 2 组为冻融组在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中经过 2 次冻融, 第 3 组为室温组, 样品在室温放置 8 h。按照“血浆样品处理方法”进行样品处理和分析, 结果见表 3。结果表明, 血浆样品中缬沙坦经长期冷冻、冻融两次后, 稳定性良好。

表 3 稳定性试验结果

Table 3 Results of stability test

类别	理论值/($\mu\text{g mL}^{-1}$)	实测值/($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD/%
冷冻	0.48	0.49 ± 0.04	8.27
	9.62	9.65 ± 0.56	5.76
	48.10	50.02 ± 2.46	4.91
冻融	0.48	0.47 ± 0.05	10.82
	9.62	9.64 ± 0.43	4.45
	48.10	44.72 ± 2.3	5.04
室温	0.48	0.50 ± 0.04	7.49
	9.62	9.59 ± 0.47	4.86
	48.10	46.27 ± 2.29	4.95

2.5 SD 大鼠 ig 缬沙坦纳米骨架系统的体内药动学研究

取雄性 SD 大鼠 12 只, 随机分为 2 组, 每组各 6 只, 第 1 组灌胃缬沙坦纳米骨架系统 (缬沙坦、Sylysia350、Eudragit L100-55 的比例为 1:2:2) 20 mg/kg, 第 2 组灌胃缬沙坦胶囊 20 mg/kg, 给药前 12 h 禁食不禁水, 分别于给药后于 0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、4、6、8、12、24 h 通过眼眶静脉丛取血, 于 3 000 r/min 离心 10 min, 取 0.1 mL 血浆于 -20 °C 冷冻备用, 临用前解冻, 处理, 按照“2.2 血浆样品处理办法”项下测定缬沙坦的血药浓度。以测得的血药浓度为纵坐标, 时间为横坐标, 绘制血药浓度 - 时间曲线, 见图 2。

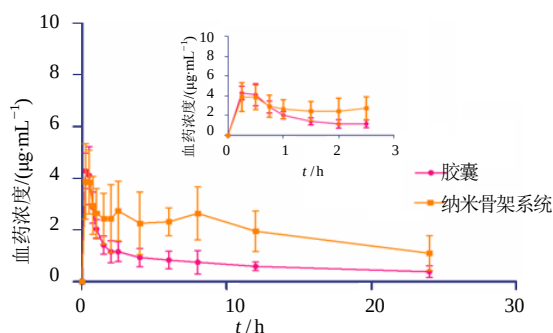


图 2 缬沙坦纳米骨架系统与缬沙坦胶囊的大鼠血浆血药浓度 - 时间曲线

Fig. 2 Average plasma drug concentration-time curves of valsartan nanomatrix drug delivery system and capsules

采用 DAS 2.1.1 软件, 以非房室模型处理血浆浓度 - 时间数据计算血浆药物浓度 - 时间曲线下面积 (AUC), 计算制剂的相对生物利用度 F 、 $C_{\max}$ 、 $t_{\max}$, 应用统计学分析主要药动学参数, 见表 4。

表 4 大鼠体内缬沙坦主要药动学参数

Table 4 Pharmacokinetic parameters of valsartan in rats			
参数	单位	缬沙坦胶囊	缬沙坦纳米骨架系统
$C_{\max}$	$\mu\text{g mL}^{-1}$	4.28 ± 0.68	3.88 ± 1.46
$t_{\max}$	h	0.45 ± 0.11	0.37 ± 0.14
AUC_{0-24}	$\mu\text{g h}^{-1} \text{mL}^{-1}$	18.71 ± 4.62	$47.67 \pm 19.02^*$
F		100%	254.78%

与缬沙坦胶囊比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs valsartan capsules

结果显示, 缬沙坦纳米骨架系统 AUC_{0-24} 为缬沙坦胶囊的 2.5 倍, 提示该制剂能够显著提高缬沙坦的体内生物利用度。该制剂的 $t_{\max}$ 和 $C_{\max}$ 与缬沙

坦胶囊相比没有显著差异。缬沙坦纳米骨架系统口服 0.37 h 时, 达峰浓度为 $3.88 \mu\text{g/mL}$, 达峰后并无明显下降, 且在达峰至 8 h 一直维持在 $3 \mu\text{g/mL}$ 左右, 之后缓慢下降, 直到给药后 24 h, 血药浓度在 $1 \mu\text{g/mL}$ 以上, 血药浓度维持平稳。缬沙坦胶囊在口服 0.45 h 血药浓度达峰, 之后立即下降, 在给药 4 h 后低于 $1 \mu\text{g/mL}$, 血药浓度有明显的波峰和波谷。

3 讨论

市售缬沙坦胶囊口服后, 血药浓度迅速达峰后立即下降, 波动明显, 生物利用度低, 对疗效和机体耐受性易产生不利影响。而缬沙坦纳米骨架系统在体内滞留时间长, 药物口服后在整个胃肠道排空阶段均有药物释放过程, 且不断被机体吸收入血, 药物吸收充分。由于纳米骨架载体的高度分散性, 缬沙坦可分散于载体的表面或纳米级孔道中。口服后缬沙坦与胃肠道接触面积增加, 提高体内吸收度。此外, 载体材料还具有生物黏附性和过饱和稳定作用, 不但可提高缬沙坦与胃肠道黏膜的接触时间, 促进药物的吸收, 还可使缬沙坦在溶出释放后以无定形或分子形式存在, 避免药物结晶析出而使药物吸收量降低, 提高药物吸收入血速度。缬沙坦纳米骨架系统口服后, 血药浓度变化相对较为平缓, 避免了因血药浓度剧烈波动造成的药物中毒或药效不足, 有助于提高治疗依从性, 改善生物利用度。

对比缬沙坦胶囊, 缬沙坦纳米骨架系统可有效提高难溶药缬沙坦的口服生物利用度, 并有望成为难溶性药物的新型给药方式, 为更多难溶性药物口服递送提供参考。

参考文献

- [1] Kalepu S, Nekkanti V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(5): 442-453.
- [2] Bhakay A, Rahman M, Dave R N, et al. Bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs via nanocomposites: formulation-processing aspects and challenges [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(3): 86.
- [3] Han C, Zhang S, Huang H, et al. In Vitro and In Vivo evaluation of core-shell mesoporous silica as a promising water-insoluble drug delivery system: improving the dissolution rate and bioavailability of celecoxib with needle-like crystallinity [J]. *J Pharm Sci*, 2019, 108(10): 3225-3232..
- [4] Qin L, Niu Y, Wang Y, et al. Combination of phospholipid complex and submicron emulsion techniques for

- improving oral bioavailability and therapeutic efficacy of water-insoluble drug [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(3): 1238-1247.
- [5] Fong S Y, Martins S M, Brandl M, *et al.* Solid phospholipid dispersions for oral delivery of poorly soluble drugs: investigation into celecoxib incorporation and solubility-*in vitro* permeability enhancement [J]. *J Pharm Sci*, 2016, 105(3): 1113-1123.
- [6] Modica de Mohac L, Keating A V, de F áima Pina M, *et al.* Engineering of nanofibrous amorphous and crystalline solid dispersions for oral drug delivery [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 11(1): E7.
- [7] Paudwal G, Rawat N, Gupta R, *et al.* Recent advances in solid dispersion technology for efficient delivery of poorly water-soluble drugs [J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25(13): 1524-1535.
- [8] Dai J, Nagai T, Wang X, *et al.* pH-sensitive nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporine A [J]. *Int J Pharm*, 2004, 280(1-2): 229-240.
- [9] Dai W, Guo Y, Zhang H, *et al.* Sylsisa 350/Eudragit S100 solid nanomatrix as a promising system for oral delivery of cyclosporine A [J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(2): 718-725.
- [10] 刘婧琳, 林佳亮, 王小哲, 等. 缬沙坦口服纳米骨架制剂的处方筛选及体外溶出评价考察 [J]. *中南药学*, 2015, 13(9): 930-934.
- [11] Jia Z, Lin P, Xiang Y, *et al.* A novel nanomatrix system consisted of colloidal silica and pH-sensitive polymethylacrylate improves the oral bioavailability of fenofibrate [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 79(1): 126-134.