

法莫替丁脉冲控释胶囊剂的研究

陈燕忠 岗艳云¹ 金志忠² 阳 怡² 单萍萍² 朱家璧¹

(广东药学院药物研究所, 广州 510224; ¹ 中国药科大学中昆药剂研究所, 南京 210009)

摘 要 采用微丸技术制备了法莫替丁(FM)脉冲控释胶囊剂, 建立了 FM 体外释放度和体内血浓测定方法, 结果表明: 释放度试验中, 0~1 h 和 10~12 h 有二次脉冲释药; 三名健康志愿者口服 FM 脉冲控释胶囊后, 血浓经时曲线均呈双峰现象, 第一峰在服药后 1~2 h, 第二峰在服药后 13~15 h。相对生物利用度的初步估算结果表明: 与口服普通片剂相比, 相对生物利用度约为 80%。

关键词 法莫替丁; 脉冲控释胶囊; 高效液相色谱法; 体外; 体内

法莫替丁(Famotidine, FM)是继西米替丁、雷尼替丁之后上市的第三代强效组胺 H₂-受体拮抗剂, 具有拮抗作用强、耐受性好、起效快、剂量小、毒副作用低等优点, 其抗溃疡效力为西米替丁的 20 倍, 雷尼替丁的 7.5 倍^[1], 可用于各种消化道溃疡的急性期治疗及维持治疗, 还可用于 Zollinger-Ellison 综合症。据文献报道, 人体胃酸分泌在晚间十点左右有一个高峰^[2], 抑制此时胃酸的分泌能明显提高临床治疗胃及十二指肠溃疡的效果^[3], 由此研制了 FM 脉冲控释制剂, 使药物在体内有两个释药峰, 在一天口服一次的情况下也能有效抑制晚间的胃酸分泌。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪, 包括 510 型高压梯度泵, 715 型自动进样器, 486 型可变波长检测器, 配以 2010 色谱专家系统操作及数据处理软件(美国 Waters 公司); 小型改良糖衣锅(Φ20 cm)(江苏泰兴制药机械二厂); 固相提取小柱为自制玻璃柱(130 mm×7.5 mm I. D.)。

法莫替丁(上海第六制药厂); 法莫替丁脉冲控释胶囊(自制, 批号 950318, 含 FM 40 mg/粒); 法莫替丁片(河北省南宫市制药厂,

批号 950408, 含 20 mg/片); 法莫替丁标准品(江苏省药检所提供)。

柱层析用硅胶(100~200 目)(青岛海洋化工分厂); 乙腈, 色谱纯; 肝素钠、甲醇、磷酸、二乙胺等均为分析纯试剂。

2 方法及结果

2.1 法莫替丁脉冲控释胶囊剂的制备

将主药、淀粉、糊精按一定比例混合均匀, 加 60% 乙醇制成软材, 过 16 目筛制粒, 将湿颗粒投入包衣锅中, 同时喷加少量乙醇制得 FM 速释微丸, 于 50℃ 温度下干燥, 收取 24~32 目的微丸。取以上部分微丸分别用内层包衣液(由 HPMC 组成)包衣, 然后用外层包衣液(用乙基纤维素及致孔剂组成)包衣, 得 FM 脉冲控释微丸, 将速释微丸与脉冲控释微丸按一定比例混合, 灌装于硬胶囊壳中, 得 FM 脉冲控释胶囊。

2.2 体外试验

2.2.1 紫外吸收曲线 分别将 FM 与辅料用 0.1 mol/L HCl 溶液和 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液配成 15 μg/ml 的溶液, 在波长 200~400 nm 范围内用 UV260 紫外扫描仪绘制吸收曲线。结果表明: FM 在 0.1 mol/L HCl 溶液中于 266 nm 处有最大吸收, 在 pH 6.8 的磷酸

盐缓冲液中于 275 nm 处有最大吸收,辅料无干扰吸收。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取 FM 适量,分别用 0.1 mol/L HCl 溶液和 pH6.8 的磷酸盐缓冲液制成 5, 10, 15, 20, 25, 35, 45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列溶液,分别在 266 ± 1 nm 和 275 ± 1 nm 波长处用 752 型紫外分光光度仪上测定吸收度 A ,以 A 与浓度 C 作线性回归,得标准曲线方程:(1)在 0.1 mol/L HCl 溶液中 $A=0.0307C+0.0044$, $r=0.9999$ ($n=5$);(2)在 pH6.8 的磷酸盐缓冲液中, $A=0.0295C+0.0049$, $r=0.9999$ ($n=5$)。

2.2.3 回收率试验 精密称取 FM 适量及处方辅料,分别用 0.1 mol/L HCl 溶液和 pH6.8 的磷酸盐缓冲液制成 5, 20, 45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液,过滤,取续滤液测吸收值 A ,代入标准曲线方程计算含量,以测得量与加入量比较,计算回收率,结果分别为:101.21% $\pm 1.88\%$, 98.89% $\pm 1.57\%$, 100.10% $\pm 1.02\%$ ($n=5$)。

2.2.4 释放度试验 取 FM 脉冲控释胶囊 6 粒分别置转篮中,溶出杯中加溶出介质 900

ml,温度控制在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$,转速为 50 r/min,进行试验。每隔一定时间精密量取溶出液 5 ml,过滤,并补加等量新鲜溶出介质。2 h 前用 0.1 mol/L HCl 溶液,2 h 后用 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液作溶出介质。滤液分别于 266 ± 1 nm 和 275 ± 1 nm 波长处用 752 型紫外分光光度仪上测定吸收度 A ,并计算累积释放百分率。结果见图 1。

由图可以看出,FM 脉冲控释胶囊在 0~1 h 和 10~12 h 分别有一次比较集中的爆发式释药过程,其累积释放百分率分别在 40%~60% 和 60%~100% 之间。

2.3 体内试验

2.3.1 体内试验方法

2.3.1.1 HPLC 色谱条件 色谱柱为 $\mu\text{Bondapak C}_{18}$ (3.9 mm \times 300 mm, 10 μm) (美国 Waters 公司生产);流动相:乙腈-水-磷酸 (150:750:1, V/V),以二乙胺调 pH 至 4;流速:1.0 ml/min;检测波长:267 nm。空白血浆、空白血浆添加药物及实测样品的色谱图见图 2。以 FM 计算,柱效为 2216。最低检出浓度为 5 ng/ml ($S/N \geq 3$)。

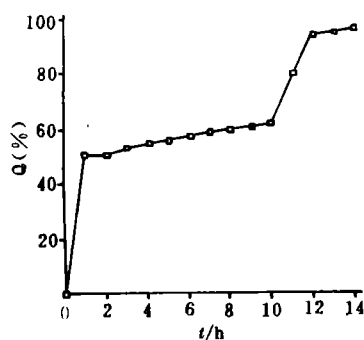


Fig 1. Accumulated release profile of FM pulsatile controlled release capsules ($n=6$)

2.3.1.2 血样处理方法 固相提取柱内填入 100~200 目柱层析用硅胶 0.5 g,以甲醇 2 ml 活化,再以重蒸水冲洗一次,加入血浆样品 1 ml,以重蒸水 1 ml 冲洗两次,加乙腈

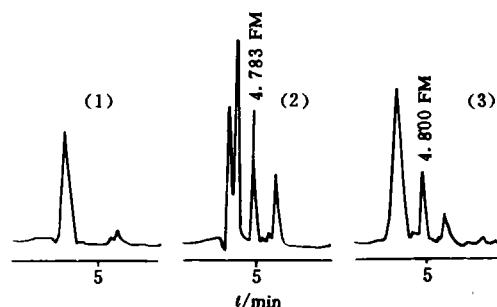


Fig 2. Typical chromatograms of extracts from (1) blank human plasma; (2) human plasma spiked with FM and (3) plasma sample after a single oral dose of 40mg of FM pulsatile controlled-release capsule. FM; $R_t=5.10$ min

2 ml 洗脱,收集乙腈洗液,于氮气流下 50°C 水浴蒸干,残渣以流动相 200 μl 溶解,取 100 μl 进样分析。

2.3.1.3 人血浆中 FM 提取的标准曲线

取健康人空白混合血浆 1 ml, 加入 FM 使其浓度分别为 5, 20, 50, 100, 200 ng/ml, 按“2.3.1.2”项下进行操作。以药物峰面积(Y)对浓度(C)作线性回归, 得标准曲线方程为: $Y=597.9C+460.07$, $r=0.9987$ ($n=5$)。

2.3.1.4 回收率试验 (1)提取回收率:取空白血浆 1 ml, 添加 FM 使其浓度分别为 20, 50, 100, 200 ng/ml, 按“2.3.1.2”项下进行操作。以所测 FM 峰面积与未经提取的、

已知药物浓度的 FM 峰面积比较计算测得量, 并求出回收率, 结果见表 1。(2)方法回收率:取空白血浆 1 ml, 添加 FM 使其浓度分别为 20, 50, 100, 200 ng/ml, 按“2.3.1.2”项下进行操作。以所测 FM 峰面积代入血浆中 FM 提取的标准曲线, 计算测得量, 并求出回收率。结果见表 1。

2.3.1.5 精密密度试验 血浆中 FM 的日内、日间精密密度试验结果见表 2。

Tab 1. Extract and method recovery of FM in human plasma($n=5$)

Added, ng/ml	Extract recovery		Method recovery		
	Recovery, %	RSD, %	Found, ng/ml	Recovery, %	RSD, %
20.32	91.25 \pm 1.85	2.02	19.69 \pm 0.48	96.90 \pm 2.36	2.44
50.80	83.83 \pm 3.32	3.85	52.03 \pm 2.29	102.42 \pm 4.51	4.40
101.60	76.81 \pm 2.43	3.17	99.76 \pm 5.75	98.19 \pm 5.66	5.76
203.20	77.28 \pm 3.00	3.88	204.17 \pm 11.20	100.48 \pm 5.51	5.49

Tab 2. Precision of assay($n=5$)

Added, ng/ml	Intra-day		Inter-day	
	$\bar{x} \pm s$, ng/ml	RSD, %	$\bar{x} \pm s$, ng/ml	RSD, %
20.32	19.76 \pm 0.40	2.03	19.59 \pm 1.53	7.82
50.80	54.84 \pm 2.09	3.99	51.05 \pm 4.27	8.36
101.60	100.20 \pm 5.56	5.55	98.76 \pm 6.21	6.29
203.20	212.48 \pm 11.20	5.29	202.13 \pm 13.46	6.66

2.3.2 人体药动学实验设计 3 名健康男性志愿者(A、B、C)单剂量交叉口服 FM 脉冲控释胶囊剂及对照片剂(服用量均为 40 mg), 受试者空腹过夜至少 12 h, 晨起 7:00 用 200 ml 温开水送服。服药后需继续空腹 2 h, 隔一定时间由上肢静脉采血 4 ml 于肝素试管中, 分离血浆, 处理后测试或于 -20℃ 保存待测。片剂达峰时间为 2 h, 峰浓度为 110.43 ng/ml; 胶囊有两次达峰, 时间分别为 2.5 h 和 13.7 h, 峰浓度分别为 58.75 和 42.42 ng/ml。

2.4 药动学分析

血浓数据采用基于 Gauss-Newton-Damping 原理^[4]的 Z89NLF 非线性最小二乘法模型嵌合通用程序, 在 AST-386 原装微机上进行处理。根据最小 AIC 判据原则^[4], 选择一级吸收的开放一室模型和双脉冲释药吸收的一室模型分别描述口服 FM 普通片和脉冲控释胶囊在人体内的药动学行为, 求出的药动学参数及统计矩分析结果分别见图 3 与表 3。

Tab 3. Pharmacokinetics parameters of FM after oral administration of pulsatile controlled-release capsules or tablets in human($n=3$)

Parameters	flag	K	k_{a1}	k_{a2}	$t_{1/2}(K)$	T	t_{p1}	t_{p2}	C_{max1}	C_{max2}	$V/F1$	$V/F2$	MRT	VRT	AUC	$F2/F1$	AIC
	h	h ⁻¹	h ⁻¹	h ⁻¹	h	h	h	h	ng/ml	ng/ml	l	l	h	h	ng/ml \times h		
Capsules	0.17	0.190	0.971	3.272	3.65	12.87	2.5	58.75	42.42	227.92	291.67	10.34	61.88	678.41	0.464	68.56	
Tablets	0.29	0.184	1.184		3.77		2.15		110.43		217.18		6.57	30.21	845.28		45.87

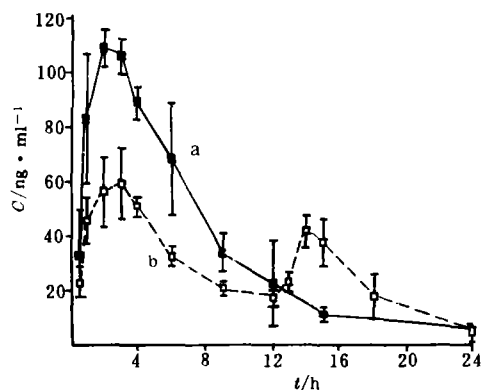


Fig 3. Time course of plasma concentration after oral administration of the tablets (a, 40 mg) and pulsatile controlled-release capsules (b, 40 mg)

从图 3 可知,受试者服用 FM 脉冲控释胶囊后,血浓经时曲线均呈现双峰现象。两种制剂中 FM 在人体内的药动学行为是基本一致的,不同之处是:由于脉冲控释胶囊每次以普通片的一半剂量释药,从而纯粹通过制剂学手段影响与控制了经时曲线出现双峰现象。第二个剂量开始释药的时间(T)在 12 h 左右,说明本处方工艺制备的脉冲释药在时控上比较精确。比较表 3 中的 k_{a1} 、 k_{a2} ,说明第二次释药的吸收速率常数略大,由 $F_2/F_1 = 0.464$,推测第二次释药时药物已推进到肠道稍下部位,吸收水平较上部差,因此在今后的剂型设计时应适当加大第二次释药的剂量。由表中的 AUC 值,对所研制的脉冲控释胶囊剂的相对生物利用度(F_{rel})进行了初步估算,结果表明:脉冲控释胶囊的平均相对生物利用度在 80% 左右。对体外和体内数据的分析发现,FM 脉冲控释胶囊的体内外释放趋势基本一致。

3 讨论

1) 脉冲控释制剂是一种新型制剂。本文考察了自制 FM 脉冲控释胶囊剂的体外溶出特征和人体内的药动学特征。结果表明:在一

天给药一次的情况下,体内有两个一级释放过程,从药动学参数看,近似于口服两次剂量的普通片,从而达到夜间抑制胃酸分泌的目的(早上 8:00 服药,晚上 10:00 血浓又达峰值)。该制剂的研制,不但为 FM 的临床用药提供了方便,而且增加了一种新型控释特征,为其它药物开发新制剂提供了一种可能性。

2) HPLC 测定人血浆中的 FM,其纯化方法国内外有许多报道,有的采用液-液提取,有的采用一次性商品化小柱^[5],还有的采用柱切换法直接测定血浆中 FM 含量^[6]。本实验采用 100~200 目的柱层析用硅胶自制提取小柱进行固相萃取,试验证明本方法灵敏、可靠,费用低,适合临床血药浓度测定和药动学研究。

3) 由于人体生物利用度影响因素较多,要取得较客观的药动学参数,尚需增加受试者数目,以确定临床给药剂量。

参考文献

- 1 Campoli-Richards DM, Clissold SP. Famotidine pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and a preliminary review of its therapeutic use in peptic ulcer disease and Zollinger-Ellison syndrome. *Drugs*, 1986, 32(3): 197
- 2 何绍雄主编. 时间药理学与时间治疗学. 天津科学技术出版社, 1994. 192
- 3 Lemmer B. Implications of chronopharmacokinetics for drug delivery: antiasthmatics, H_2 -blockers and cardiovascular active drugs. *Adv Drug Deliv Rev*, 1991, 6(1): 83
- 4 栗津应司, 小泉保. 最新生物药剂学. 东京: 南江堂, 1991. 296~298
- 5 Carlucci G. Determination of famotidine in plasma, urine and gastric juice by high performance liquid chromatography using disposable solid phase extraction columns. *J Pharm Biomed Anal*, 1988, 6(5): 515
- 6 郭平, 叶利民, 陆彬等. 用 HPLC 柱切换法血浆直接进样测定法莫替丁. *药学学报*, 1990, 25(8): 622

Studies on Famotidine Pulsatile Controlled-Release Capsules

Chen Yanzhong, Gang Yanyun¹, Jin Zhizhong, Yang Yi, Shan Pingping, Zhu Jiabi¹
Institute of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510224; ¹Zhongkun Institute of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract Famotidine pulsatile controlled-release capsules were prepared with suitable excipients and by using pellets technology. Methods were established to test dissolution of capsules and determine FM in plasma. The dissolution results showed that FM pulsatile controlled-release capsules had a characteristic of pulse release within 0~1 h and 10~12 h *in vitro*. The plasma concentration-time curve exhibited double peak phenomena after three healthy volunteers were orally administrated of FM pulsatile controlled-release capsules (40 mg). T_{peak1} was 1~2 h and T_{peak2} was 13~15 h. Preliminary calculation of relative bioavailability indicated that F_{rel} was about 80% compared with the FM tablets.

Key words Famotidine; Pulsatile controlled-release capsules; RP-HPLC; *in vitro*; *in vivo*

[文摘 010] 3,4-二酰氧基苯吡啶类化合物的合成及生物活性 颜 铮, 黄文龙, 彭司勋. 药理学学报, 1997, 32(2): 97

苯吡啶类钾通道启开剂为研究抗高血压药物开辟了新途径。前胡内素具有类似结构, 为寻找活性高、毒副作用小的降压药物, 结合二者结构特征, 设计合成了 24 个 3,4-二酰氧基苯吡啶类化合物, 药理初筛表明某些化合物有一定程度的降压活性。

[文摘 011] 人血浆中硝苯地平的气相色谱法测定及药代动力学研究 吴 静, 张正行, 王 玉. 药理学学报, 1997, 32(2): 147

本文用不分流毛细管柱气相色谱法对硝苯地平的血浆浓度进行测定, 克服了常规分流进样法灵敏度较低的缺点, 测得硝苯地平的最低检测限为 0.01

ng($S/N > 2$), 可用于硝苯地平控释片的药代动力学研究。

[文摘 012] 经典恒温法和多元线性模型预测药物稳定性的空间解析 乐 健, 杨静化, 刘文英等. 药理学学报, 1997, 32(3): 218

应用三维坐标系, 以图示方式解析药物稳定性预测中经典恒温法数据处理的复杂性, 提出一个简便的药物稳定性预测方法——多元线性模型。此模型是以药物的浓度函数 $\ln[f(C_0) - f(C)]$ 和绝对温度的倒数 $1/T$ 为变量, 对时间的对数 $\ln(t)$ 进行多元线性回归, 以此计算药物的活化能和室温贮存期。结果表明, 多元线性模型可以简化数据处理, 明显减少工作量和误差。