

背景

油脂在胃肠道的消化是一种常见的生理学行为，该消化过程能够使 BCS II 类药物在脂质给药系统（LBDS）中的生物利用度得到提高。

体外脂解操作规程是由脂质处方分类联盟（Lipid Formulation Classification Consortium）制定标准并进行验证的。其目的在于模拟消化过程中的脂解过程，并测定药物在该过程中的溶解度 (Williams H.D. et al, 2012a; Williams H.D. et al, 2012b; Sassene, P.J et al, 2014; Bakala-N’Goma et al, 2015)。

原理

为评估消化过程到处方的影响，以及整个消化过程药物是否保持溶解状态，须将处方分散在消化介质中，随后加入脂肪酶。定期等量取样，以评估在消化过程中药物在脂质处方中的溶解状态。在此过程中会滴加氢氧化钠溶液来保持体系的 pH 恒定。

设备与仪器

体外脂解过程可以通过 pH 恒定仪（如图 1 所示）来监测，该设备包含螺旋桨搅拌器和基座，玻璃 pH 电极和一个带自动滴定器的定量装置。该设备可以控温在 37°C 并且通过加入脂解介质来模拟小肠内的环境。

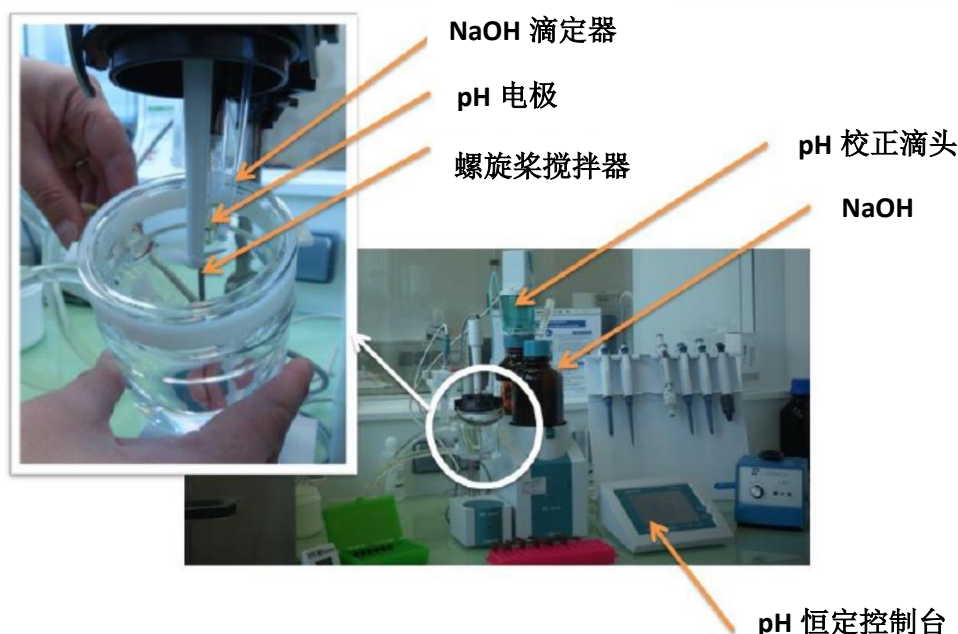


图 1: pH 恒定设备

脂解测试的准备

脂解缓冲液:

- Tris maleate 缓冲液 (0.474 g/L)
- 无水氯化钙(0.208 g/L)
- NaCl 水溶液 (8.766 g/L, Milli-Q 超纯水)
- 使用 5mol/L 的 NaOH 调解 pH 至 6.5

脂解介质:

- L- α -磷脂酰胆碱 (PC) (0.576 g/L)
- 将牛去氧胆酸钠 (1.565g/L) 加入缓冲液中
- 搅拌介质并过夜保证 PC 完全溶解

胰酶溶液:

- 将 3g 研磨过的猪胰脏液加入到 15ml 脂解缓冲液中
- 使用 5mol/L 的 NaOH 调解 pH 至 6.5
- 使用磁力搅拌器搅拌混合物 10 分钟
- 将混合物等分后离心 (5°C, 10 分钟)
- 取上清液进行脂解实验

胰酶酶活的检测:

在脂解实验开始之前, 使用三丁酸甘油酯作为酶底物测定胰酶的酶活。加入过量的三丁酸甘油酯确保反应速率与酶浓度成正比。为此, 500 μ l 三丁酸甘油酯在 35ml 脂解介质中 (不加入磷脂酰胆碱) 可以被 1.5 μ l 胰酶脂解。酶活必须大于 900 U/mg。

操作流程

- 已知量的处方 (每次测试大约用 1g) 称重后, 加入到体积为 36ml 的 37°C 脂解介质中。
- 10 分钟后 (分散所需时间), 加入 4ml 胰酶溶液。
- 整个测试过程 (约 1 小时) 定期取样 (约 1ml), 将样品与 4-溴苯硼酸 (脂肪酶抑制剂) 混合

所有样品必须在 37°C 下 21000xg 离心 30 分钟, 上清液用稀释液稀释到检测浓度。

取样时间为：在酶加入前的 10 分钟和 0 分钟（分散阶段）
在酶加入后 5、15、30 和 60 分钟（消化阶段），如图 2 所示

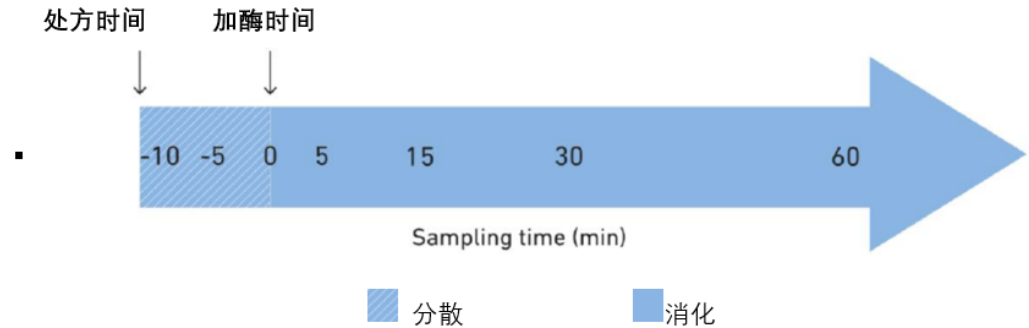


图 2：脂解过程中取样点示意

我们从图 3 可以看到使用 Gelucire 44/14 和 Labrasol ALF 的脂质处方（自乳化辅料）在脂解过程中 API 溶解度的典型图表。

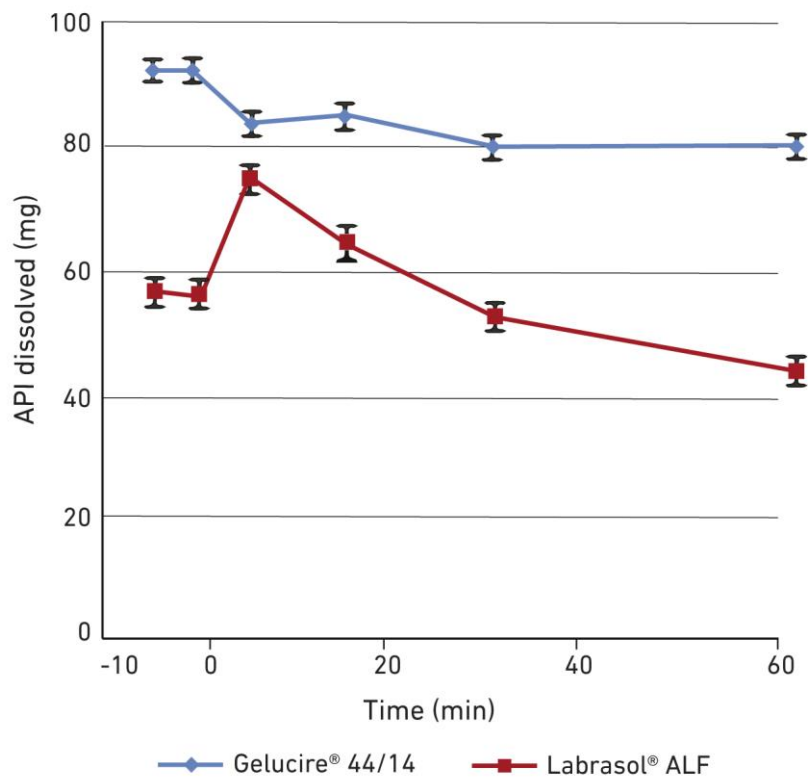


图 3：API 在使用 Gelucire 44/14 和 Labrasol ALF 的脂解介质中的溶解度

参考文献

Bakala-N'Goma et al. (2015) Toward the Establishment of Standardized in vitro Tests for Lipid-Based Formulations. Part 5. Lipolysis of representative formulations by gastric lipase. Pharm. Res., 32 (4) 1279-1287

Sassene et al. (2014) Toward the Establishment of Standardized In vitro Tests for Lipid-Based Formulations, Part 6: Effects of Varying Pancreatin and Calcium Levels. AAPS J., 16 (6) 1344-1357

Williams H.D et al. (2012a) Toward the establishment of standardized in vitro tests for lipid-based formulations. Part 1: method parameterization and comparison of in vitro digestion profiles across a range of representative formulations. J.Pharm. Sci. 101: 3360-3380.

Williams H.D. et al. (2012b) Toward the establishment of standardized in vitro tests for lipid-based formulations, Part 2: The effect of bile salt concentration and drug saturation level (dose) on the performance of Type I, II, IIIA, IIIB and IV formulations during in vitro digestion. Mol. Pharmaceut. 9: 3286 -3300.

名词解释

API Active Pharmaceutical Ingredient