

阿德福韦酯自乳化制剂大鼠体内药动学的初步研究

王金锐, 陈建明, 王建超(第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433)

摘要 目的: 研究阿德福韦酯自乳化制剂在大鼠体内的药动学过程。方法: 以随机分组组间对照实验设计方法, 通过高效液相色谱法测定 6 只 SD 大鼠(两组)体内单剂量灌胃服用阿德福韦酯自乳化制剂和片剂 100 mg/kg 后不同时间点的血药浓度, 并计算其药动学参数。结果: 自乳化制剂组大鼠的 C_{max} 为 $2\ 509\ 4\ \mu\text{g}/\text{mL}$, AUC 为 $277\ 291\ 1\ \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$; 片剂组大鼠的 C_{max} 为 $1\ 725\ 8\ \mu\text{g}/\text{mL}$, AUC 为 $215\ 919\ 6\ \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ 。结论: 阿德福韦酯自乳化制剂的口服生物利用度优于片剂。

关键词 阿德福韦酯; 自乳化制剂; 药动学; 高效液相色谱

中图分类号: R978 R945 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)04-0276-03

Pharmacokinetics study of self-emulsifying drug delivery systems of adefovir dipivoxil in rat

WANG Jin-rui; CHEN Jian-ming; WANG Jian-chao (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective To study the pharmacokinetics of self-emulsifying drug delivery systems of adefovir dipivoxil in rats. **Methods** Six SD rats were randomly divided into two groups for oral administration of the self-emulsifying adefovir dipivoxil and adefovir dipivoxil tablets at a single dose of 100 mg/kg. HPLC method was applied to determine the plasma concentration of these two groups. The calculations of pharmacokinetic parameters were performed with 3P87 program. **Results** For the self-emulsifying adefovir dipivoxil, C_{max} and AUC were $2\ 509\ 4\ \mu\text{g}/\text{mL}$ and $277\ 291\ 1\ \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$, respectively, while for adefovir dipivoxil tablet, C_{max} and AUC were $1\ 725\ 8\ \mu\text{g}/\text{mL}$ and $215\ 919\ 6\ \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$, respectively. **Conclusions** The oral bioavailability of the self-emulsifying adefovir dipivoxil was better than adefovir dipivoxil tablet.

KEY WORDS adefovir dipivoxil; self-emulsifying drug delivery systems; pharmacokinetics; HPLC

阿德福韦酯为白色或类白色粉末, 为阿德福韦的酯类前体药物, 是单磷酸腺苷的无环核苷类似物。ADV 与其它核苷药物不同, 本身含有单磷酸, 在转化为二磷酸活性物时不依赖于细胞特异性核苷激酶, 故在多种细胞内有较强的活性^[1]。阿德福韦酯在体内外均能有效拮抗 HBV^[2], 且有广谱的抗病毒作用^[3], 可以用于终末期肝病患者和肝移植术后患者^[4], 是目前作为抗乙型肝炎病毒治疗的一线药物。大鼠口服阿德福韦酯片剂的药动学行为研究已有报道^[5], 但口服阿德福韦酯自乳化制剂的药动学行为研究未见报道。本研究采用 HPLC 分析方法, 以片剂作比较, 测定阿德福韦酯自乳化制剂大鼠灌胃给药后不同时间点的血药浓度, 进而研究阿德福韦酯自乳化制剂在大鼠体内^[6]的药动学特征及口服相对生物利用度。

1 材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪 (Agilent 公司); 电热恒温水浴锅 (DK-S22 型, 上海精宏实验设备有限公司); 旋涡混合仪 (上海医科大学仪器厂); 高速离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试药 阿德福韦酯自乳化制剂 (自制制剂, 批号: 20080512); 阿德福韦酯片 (天津天士力集团药物研究院研制, 每片含主药 10 mg, 批号: 20070603); 阿德福韦标准品 (天津天士力集团药物研究院研制, 含量: 98.0%, 批号: 20071212)。甲醇和乙腈为色谱纯 (Merck 公司), 水为 MillQ 超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物 健康 SD 大鼠 (雄鼠), 体重 (200 ± 10) g, 第二军医大学药学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 血浆样品的制备 SD 大鼠 12 只, 分成 2

作者简介: 王金锐 (1982-), 女, 硕士研究生. Tel 13917672946, E-mail shjyu20300@yahoocn.com

通讯作者: 陈建明. E-mail yj@163.com.

组,将受试制剂阿德福韦酯自乳化制剂和阿德福韦酯片剂分别配成一定浓度的自乳化制剂及混悬剂,振摇均匀,按 100 mg/kg 间隔清洗期后交叉灌胃给药^[5],服药后分别在 1Q、2Q、4Q、6Q、12Q、18Q、24Q、36Q、48Q、720 min 时间点,采取眼眶取血 0.5 mL,加入 1.5 mL 含肝素抗凝离心管中,15 000 r/min 离心 5 min,分离血浆, - 40 °C 冷藏保存备用。

2.2 血浆样品测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS C₁₈ 反相柱。流动相为甲醇-四丁基溴化铵溶液(取四丁基溴化铵 1.934 g 与磷酸二氢钾 6.8 g 加水溶解并稀释至 1 000 mL,用磷酸调节 pH 值至 3.0) = 2% :

98%,流速为 1.0 mL/min,进样量为 20 μL。紫外检测波长为 262 nm。

2.2.2 血浆样品预处理 取血浆 0.1 mL 置于 0.5 mL 具塞塑料离心管中,加入 25% 的 CCl₃COOH 40 μL,涡旋混合 1 min,沉淀蛋白,15 000 r/min 离心 5 min,取上清液,供 HPLC 进样分析。

3 结果

3.1 血药测定方法的评价专属性试验 在拟定的分析条件下,测得大鼠血浆中阿德福韦药物浓度的高效液相色谱图(见图 1~3),可见血浆中内源性物质不干扰样品峰的测定,表明本色谱条件适于体内药物浓度的定量检测。

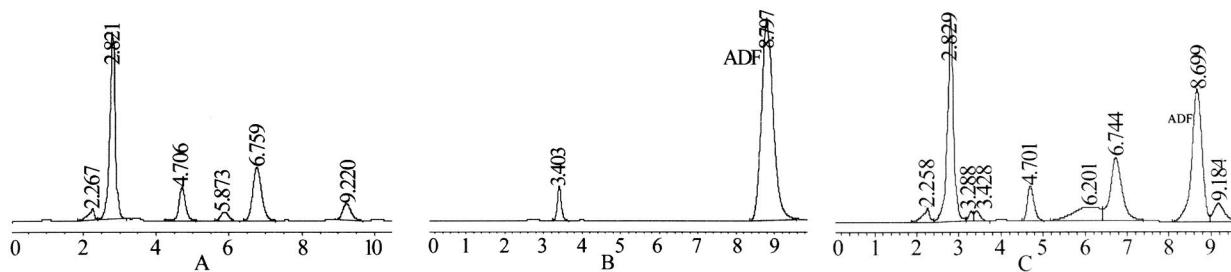


图 1 高效液相色谱图

A-大鼠空白血浆; B-阿德福韦 (ADF); C-阿德福韦 (ADF)大鼠血浆

3.2 标准曲线的绘制 精密取空白血 90 μL 于具塞离心管中,再加入不同浓度的阿德福韦 10 μL,依次配成浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 的标准血浆样品,再加入 25% 的 CCl₃COOH 20 μL,涡旋混合 1 min,15 000 r/min 离心 5 min,取上清液,按“2.2.1”项下进样分析,记录色谱图,并以峰面积 (Y) 对浓度 (X) 进行线性回归,绘制标准曲线,最低定量线为 0.1 μg/mL 见图 2。

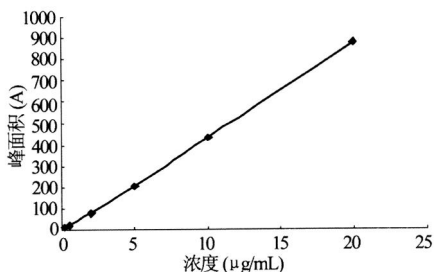


图 2 阿德福韦酯大鼠空白血浆标准曲线

经计算,得方程为 $Y = 43.509X + 1.9442$, $r = 0.9991$; 结果表明,阿德福韦在 0.1~20.0 μg/mL

浓度范围内,呈良好的线性关系。最低定量检测限为 0.1 μg/mL。

3.3 回收率与精密度 按照“3.2”项下方法,取低、中、高浓度依次为 0.5、5.0、10.0 μg/mL,配制 3 个血浆样品,同时配制与 3 个血浆样品等量溶液的对照品样品,按血浆样品与对照品样品中相应物质的峰面积代入标准曲线方程计算 4 浓度,并比较其比值,得到提取回收率,结果低、中、高 3 个浓度在血浆中的提取回收率分别为 85.53%、90.41%、93.27%,低、中、高 3 个浓度的 RSD 分别为 3.41%、2.22%、3.17%。日内精密度测定分别以上述低、中、高浓度按“2.1”项下方法,在同一天进样 5 次,结果测得日内浓度分别为 0.51、4.72、9.35 μg/mL,日内 RSD 分别为 4.35%、2.47%、6.32%; 日间精密度测定分别以上述低、中、高浓度按“3.2”项下方法,连续测定 3 d 测得日间浓度分别为 0.52、4.95、9.37 μg/mL,日间 RSD 分别为 6.17%、7.35%、6.43%。

3.4 血药浓度数据分析 按照“血浆样品的制备”项下方案采集血样,测定血浆样品中阿德福韦酯自乳化制剂和片剂的浓度,绘制大鼠血浆中血药浓度-时间曲线,见图 3。

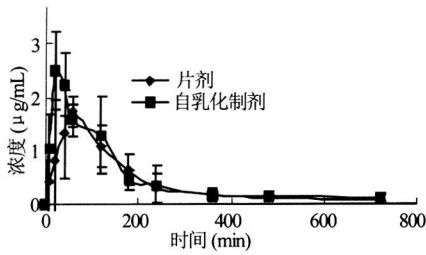


图3 阿德福韦酯自乳化制剂和片剂大鼠血浆中血药浓度-时间曲线

采用 3P87 程序, 将不同时间内血浆浓度数据对时间进行拟合, 并计算相关药动学参数^[7], 见表 1。

表 1 单剂量灌胃阿德福韦酯自乳化制剂和片剂后测得的药动学参数 (n = 6)

参数	阿德福韦酯	
	片剂组	自乳化制剂组
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1 725.8	2 509.4
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	215 919.6	277 291.1
$MRT_{0-\infty}$ (min)	138 283.3	122 970.2
MRT_{0-12} (min)	110 164.7	102 259.9
AUC_{0-12} ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	271 710.5	339 800.0
AUC_{0-12} ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	247 122.3	316 640.1

由拟合的数据得出结论: 阿德福韦酯自乳化制剂口服生物利用度优于阿德福韦酯片剂。

4 讨论

阿德福韦酯自乳化制剂大鼠体内药动学的实验中采用 CCl_3COOH 提取血样中的药物, 一方面有利于对蛋白的沉淀作用, 另一方面, 杂质干扰峰

少, 且血样萃取液不产生乳化现象, 回收率较高, 便于操作。本项研究采用了高效液相色谱法测定阿德福韦血浆浓度, 方法灵敏度高, 日内、日间精密度试验结果表明变异小, 专属性强, 重现性良好。由拟合的数据可以得出, 阿德福韦酯自乳化制剂口服生物利用度优于阿德福韦酯片剂, 表明进行阿德福韦酯自乳化制剂大鼠体内药动学的实验具有一定的研究意义。

参考文献:

- [1] Tanji N, Tanji K, Kanbhan N, *et al*. Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondria DNA depletion [J]. *Hum Pathol* 2001, 32(7): 734.
- [2] Ray AS, Vekaj JE, Olson L, *et al*. Effective metabolism and long intracellular half life of the anti hepatitis B agent adefovir in hepatic cells [J]. *Biochem Pharmacol* 2004, 68(9): 1825.
- [3] 茅益民, 曾民德. 抗乙型肝炎新药阿德福韦酯 [J]. *中国肝病杂志*, 2004, 12(1): 61.
- [4] 郑萍, 陈志良, 胡敏燕, 等. 单剂量口服阿德福韦酯片人体药动学研究 [J]. *中国药房*, 2007, 18(14): 1073.
- [5] 黄萍, 王冰, 王本杰, 等. 阿德福韦酯分散片、胶囊及片剂的药物动力学与生物等效性研究 [J]. *中医药工业杂志*, 2007, 38(12): 858.
- [6] Seigneres B, Aguesse-Garnon S, Pichoud C, *et al*. Duck hepatitis B virus polymerase gene mutants associated with resistance to lamivudine have a decreased replication capacity *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Hepatol* 2001, 34: 114.
- [7] 潘圣扬, 赵筱萍, 邵青. 丹参素大鼠体内药代动力学及生物利用度研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(2): 146.
- [8] 郭瑞臣, 孙德清. 抗乙肝新药阿德福韦酯的研究现状及展望 [J]. *中国药事*, 2005, 19(3): 169.

收稿日期: 2008-09-22

(上接第 273 页)

raphy-diode array detection and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomol Chromatogr* 2008, 22: 64.

- [4] 窦有业, 杜蓉. 四逆汤的临床应用与实验研究进展 [J]. *医药导报*, 2008, 27(1): 74.
- [5] Hu R, Zhao J, Qi LW, *et al*. Structural characterization and identification of C19- and C20-diterpenoid alkaloids in roots of *Aconitum camachoii* by rapid-resolution liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2009, 23: 1619.
- [6] Jiang H, Soylun AM, Timmermann BN, *et al*. Characterization of gingerol-related compounds in ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2005, 19(20): 2957.
- [7] Zhang QY, Ye M. Chemical analysis of the Chinese herb almedicine Gan-Cao (licorice) [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216: 1954.

- [8] 刘红霞, 林文翰, 王晓良, 等. 四逆汤活性成分的研究 [J]. *中华临床医药杂志(北京)*, 2003, 4(20): 5.
- [9] 刘红霞, 林文翰, 杨峻山. 复方四逆汤水煎剂的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(5): 434.
- [10] 刘红霞, 林文翰, 杨峻山. 复方四逆汤水煎剂化学成分研究 II [J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(21): 1710.
- [11] 王勇, 宋凤瑞, 金东明, 等. 复方中药四逆汤中乌头碱类二萜生物碱的电喷雾串联质谱研究 [J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(1): 85.
- [12] 阎爱荣, 张宏. 附子的药理研究 [J]. *中国药物与临床*, 2008, 8(9): 745.
- [13] 陈惠芳. 植物活性成分辞典(第一册) [J]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 90.
- [14] Marjan NA, Hossein H. Review of Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* sp. and its Bioactive Compounds [J]. *Phytother Res* 2008, 22: 709.

收稿日期: 2008-12-03