

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.21.010

比格犬体内右旋酮洛芬氨丁三醇水凝胶贴剂药代动力学研究

陈永顺, 吴 珍[△]

(湖北省十堰市太和医院·湖北医药学院附属医院, 湖北 十堰 442000)

摘要:目的 考察右旋酮洛芬氨丁三醇(DKT)水凝胶贴剂在比格犬体内的药代动力学参数。方法 6只比格犬均分为DKT灌胃给药组与DKT水凝胶贴剂组,采用高效液相色谱法测定血药浓度,采用DAS 2.0软件计算药代动力学参数,并将两组间的药代动力学数据进行比较与分析。结果 DKT灌胃给药和DKT水凝胶贴剂在比格犬体内的药代动力学过程符合二室模型,DKT灌胃给药(0.5 mg/kg)与DKT水凝胶贴剂腹部给药(每贴100 mg)的主要药代动力学参数,达峰时间(t_{max})分别为(0.50±0.12)h和(6.02±0.14)h,峰浓度(C_{max})分别为(3.08±0.25) μg/mL和(2.98±0.22) μg/mL,分布相半衰期($t_{1/2\alpha}$)分别为(0.29±0.11)h和(1.86±0.26)h,消除相半衰期($t_{1/2\beta}$)分别为(1.01±0.35)h和(10.11±0.26)h,0~24 h药时曲线下面积($AUC_{0-24 h}$)分别为(9.03±0.37)mg/(h·L)和(26.22±1.17)mg/(h·L),0~24 h平均驻留时间($MRT_{0-24 h}$)分别为(6.96±0.32)h和(8.17±0.28)h。结论 与灌胃给药相比,DKT水凝胶贴剂的达峰时间和半衰期均延长,具有缓释给药特征。

关键词:右旋酮洛芬氨丁三醇;水凝胶贴剂;药代动力学

中图分类号:R965;R971+.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)21-0033-04

Pharmacokinetics of Dexketoprofen Trometamol Hydrogel Patch in Beagle Dogs

CHEN Yongshun, WU Zhen

(Taihe Hospital·Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei, China 442000)

Abstract: Objective To investigate the pharmacokinetic of dexketoprofen trometamol(DKT) hydrogel patch in beagle dogs. **Methods** Six beagle dogs were equally divided into the DKT intragastric administration group and the DKT hydrogel patch group. The concentration of DKT in plasma of beagle dogs was determined by the high performance liquid chromatography(HPLC) method and the pharmacokinetics parameters after administration were calculated by DAS2.0 software. The pharmacokinetic data of the two groups were compared and analyzed. **Results** The pharmacokinetic process in the beagle dogs of the DKT intragastric administration group and the DKT hydrogel patch group fitted the two-compartment model, and the main pharmacokinetic parameters of the DKT intragastric administration group (0.5 mg/kg) and the DKT hydrogel patch group(100 mg each patch) were as follows: t_{max} was (0.50±0.12) h and (6.02±0.14) h, C_{max} was (3.08±0.25) μg/mL and (2.98±0.22) μg/mL, $t_{1/2\alpha}$ was (0.29±0.11) h and (1.86±0.26) h, $t_{1/2\beta}$ was (1.01±0.35) h and (10.11±0.26) h, $AUC_{0-24 h}$ was (9.03±0.37) mg/(h·L) and (26.22±1.17) mg/(h·L), $MRT_{0-24 h}$ was (6.96±0.32) h and (8.17±0.28) h. **Conclusion** Compared with DKT intragastric administration, the t_{max} and $t_{1/2}$ of DKT hydrogel patch are prolonged significantly, which has good sustained-release characteristics.

Key words: dexketoprofen trometamol; hydrogel patch; pharmacokinetics

第一作者:陈永顺,男,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药物新制剂与新剂型,(电子信箱)cys1222cys@sina.com。

[△]通信作者:吴珍,女,硕士研究生,副主任医师,研究方向为消化道疾病的诊治,(电子信箱)2476637331@qq.com。

- Induce Androgen Receptor Expression in Castration-Resistant Prostate Cancer Xenografts[J]. Am J Pathol, 2018, 188(1): 216-228.
- [16] HUANG L, WANG L, WANG L, et al. MicroRNA let-7b inhibits proliferation and induces apoptosis of castration-resistant prostate cancer cells by blocking the Ras/Rho signaling pathway via NRAS[J]. Clin Transl Sci, 2020, 26(2): 1-26.
- [17] WU XF, CHEN XL, ZHENG XN, et al. Effect of Different Stimulating Strength of Electroacupuncture on Gastrointestinal Motility and RhoA/ROCK Signaling in Gastric Antral Smooth Muscle in Diabetic Gastroparesis Rats[J]. Acupuncture Res, 2018, 43(3): 169-174.
- [18] BREMMER F, JARRY H, UNTERKIRCHER V, et al. Testosterone metabolites inhibit proliferation of castration- and therapy-resistant prostate cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(24): 16951-16961.
- [19] YIN J, ZHAO J, HU W, et al. Disturbance of the let-7/LIN28 double-negative feedback loop is associated with radio- and chemo-resistance in non-small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172787.
- [20] JIA ZF, CAO DH, WU YH, et al. Lethal-7-related polymorphisms are associated with susceptibility to and prognosis of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(8): 1012-1023.
- [21] ANYANWU NCJ, ELLA E, AMINU M, et al. Detection of NRAS G12D and NRAS G13C mutant genes among apparently healthy and haematologic malignant individuals in Federal Capital Territory, Nigeria[J]. J Immunoass Immunochem, 2019, 40(1): 1-12.
- [22] BRIGHT MD, CLARKE PA, WORKMAN P, et al. Oncogenic RAC1 and NRAS drive resistance to endoplasmic reticulum stress through MEK/ERK signalling[J]. Cell Signal, 2018, 44: 127-137.

(收稿日期:2020-03-23;修回日期:2020-06-21)

右旋酮洛芬氨丁三醇(DKT)是具有苯丙酸结构的非甾体抗炎药,有抗炎、抗风湿、镇痛的药理活性^[1],半衰期较短,维持有效血药浓度时间有限,对胃肠道刺激性较大。水凝胶贴剂具有无刺激性、载药量大、透皮效果好、生物利用度高及透气性好等优点^[2],现已广泛应用到药品的研发及生产。将DKT制成水凝胶贴剂,既可发挥长效镇痛作用,又能减少胃肠道的不良反应。本研究中制备了DKT水凝胶贴剂^[3],并以DKT灌胃给药组为参比,用高效液相色谱(HPLC)法测定其血药浓度,考察DKT水凝胶贴剂在比格犬体内的药代动力学特征,计算其主要药代动力学参数,并对其进行统计与分析,为其开发应用提供依据。现报道如下。

1 仪器、试剂与动物

仪器:Waters 600型高效液相色谱仪(美国Waters公司);BS224S型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度为0.0001g);TGL-16BG型台式高速离心机(上海安亭仪器厂);SK-1型快速混匀器(天津药典标准仪器厂);氮气吹干仪(上海鄂曹电子科技有限公司)。

试剂:DKT水凝胶贴剂(自制,批号为20190615,每贴100mg);DKT对照品(批号为101296-201401,纯度为99.36%),萘普生钠对照品(批号为100330-200702),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇(色谱纯,批号为20190416),乙腈(色谱纯,批号为20190125),均购自Fisher公司;其他试剂均为分析纯。

动物:比格犬,6只,雌雄各半,体质量(15±0.2)kg,湖北医药学院实验动物中心提供,动物合格证号为SCYY(鄂)2019-0011。所有动物试验的操作规程和协议均按照湖北医学院动物保护和委员会颁布的试验动物使用和保护指导守则进行。每天供给比格犬统一的饲料和水,饲养温度控制在室温(20~24℃)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[4]

色谱柱:Kromasil C₁₈柱(200mm×4.6mm,5μm);流动相:5mol/L磷酸盐缓冲溶液-乙腈(73:27,V/V);检测波长:260nm;流速:1mL/min;进样量:20μL;柱温:35℃。

2.2 溶液制备

对照品溶液:取DKT对照品100mg,精密称定,置100mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,配制成质量浓度为1000μg/mL的DKT对照品贮备液。用甲醇稀释成质量浓度为100,50,10,5,2.5,1.25,0.625μg/mL的系列对照品溶液,置4℃下保存,备用。

内标溶液:取萘普生钠对照品100mg,精密称定,置100mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,配制成质量浓度为1000μg/mL的萘普生钠对照品贮备液。用甲醇稀释成质量浓度为250μg/mL的溶液作为内标溶液,置4℃下保存,备用。

2.3 血浆样品处理^[5-6]

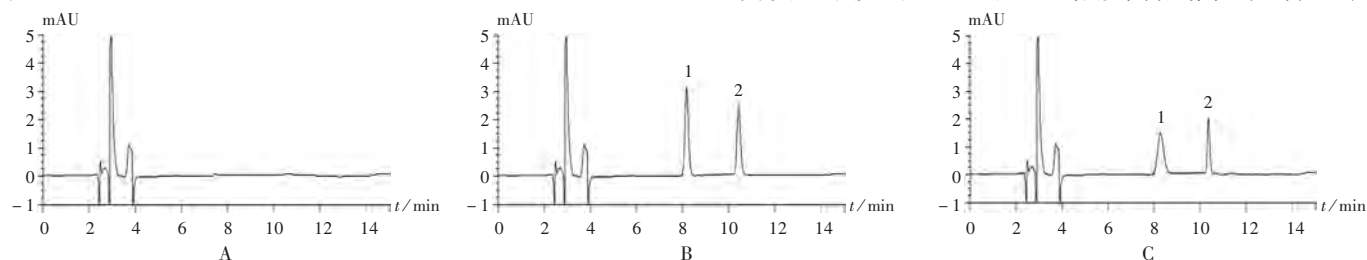
取比格犬血浆200μL置离心管中,加入10μL萘普生钠内标溶液(250μg/mL),振荡,混匀。加入0.1mL盐酸(0.1mol/L),涡旋混匀1min,加入乙醚3mL,涡旋混合3min。吸取上清液2mL,置离心管中,40℃氮气吹干。残渣加入200μL甲醇溶解,涡旋混合1.0min,12000r/min离心5min,取上清液0.22μm,滤膜滤过,取20μL进样测定。

2.4 方法学考察

专属性试验:分别取比格犬空白血浆,加有DKT和内标萘普生钠对照品溶液的空白血浆,作为样品血浆,按2.3项下方法进行处理,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图。可见,血浆内源性物质不干扰DKT及内标萘普生钠的测定,DKT、萘普生钠的保留时间分别为10.45min和8.23min。色谱图见图1。

线性关系考察:取空白血浆200μL,上述对照品系列溶液20μL,配成10,5,1,0.5,0.25,0.125,0.0625μg/mL的标准血浆样品,按2.3项下方法处理,按拟订色谱条件进样测定峰面积。以DKT的质量浓度(X ,μg/mL)为横坐标,DKT与萘普生钠的峰面积比(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y=17862X-2438.6$, $r=0.9982$ ($n=7$)。结果DKT质量浓度在0.0625~10.0μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:分别取空白血浆200μL15份,加入不同质量浓度的DKT对照品溶液,制成高、中、低3个



1. 内标 2. DKT
A. 空白血浆 B. 空白血浆 + DKT + 内标 C. 给药后2h血浆样品

图1 高效液相色谱图

质量浓度(5, 0.5, 0.125 $\mu\text{g/mL}$)的血浆样品,混匀,按2.3项下方法处理并进样分析。每个质量浓度配制3份,连续测定3 d,日内及日间各重复5次。结果表明仪器精密性良好,详见表1。

表1 血浆中DKT提取回收试验结果($n=5$)

质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	精密度的 $RSD(\%)$		提取回收率($\%$)	
	日内	日间	$\bar{X} \pm s$	$RSD(\%)$
0.125	4.26	5.10	92.52 $\pm$ 4.56	3.36
0.5	4.08	4.86	93.57 $\pm$ 4.62	3.25
5	4.13	4.79	93.81 $\pm$ 3.98	4.18

提取回收试验:分别取比格犬空白血浆 200 μL 15份,加入不同质量浓度的 DKT 对照品溶液,制成高、中、低3个质量浓度(5, 0.5, 0.125 $\mu\text{g/mL}$)的血浆样品。按2.3项下方法处理,取20 μL ,按拟订色谱条件进样得DKT峰面积(A_1)。取DKT等浓度标准液直接进样所得峰为 A_2 。依“($A_1/A_2 \times 100\%$)”计算提取回收率。结果见表1。

稳定性试验:分别取空白血浆 200 μL 15份,加入不同质量浓度的 DKT 对照品溶液,制成高、中、低3个质量浓度(5, 0.5, 0.125 $\mu\text{g/mL}$)的血浆样品,分别于室温放置24 h、 -20°C 冰箱保存24 h和冻融循环(-20°C)3次后,分别按2.3项下方法处理。考察血浆样品在上述3种条件下的稳定性。结果的 RSD 均小于4.92% ($n=5$),表明血浆样品稳定性良好。

2.5 给药方案与血样采集^[7-9]

取健康比格犬6只,随机分为A组和B组,每组3只。A组灌胃给药,给药剂量为0.5 mg/kg, B组比格犬给予DKT水凝胶贴剂,给药剂量为1贴(规格为每贴100 mg),给药前2 d于犬左上腹部毛,饲养待用,腹部剃毛区紧密贴敷DKT水凝胶贴剂,给犬穿上棉质背心以防贴剂被其撕落。给药前12 h禁食不禁饮。分别于给药前和给药后0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24 h时从犬前肢内侧下静脉取血2 mL。按2.3项下方法处理,按拟订方法测定血药浓度,并绘血药浓度-时间($C-t$)曲线图,详见图2。可见,灌胃给药组的达峰时间短且代谢迅速,

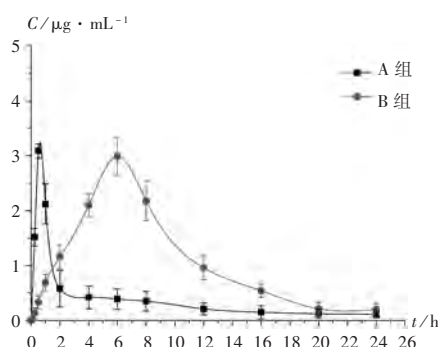


图2 右旋酮洛芬氨丁三醇在比格犬体内平均血药浓度-时间曲线图($\bar{X} \pm s, n=3$)

DKT水凝胶贴剂的达峰时间延长,且能较长时间内维持较高血药浓度,具有缓释给药特征。

2.6 药代动力学参数确定^[10]

采用DAS 2.0药代动力学软件对血药浓度-时间数据进行处理,对血药浓度数据进行曲线拟合,其药代动力学参数见表2。采用SPSS 13.0统计软件对两组给药方式的主要药代动力学参数进行统计学分析,采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。DKT在比格犬灌胃给药和水凝胶贴剂给药后的平均药-时曲线均符合二室模型。与灌胃给药组相比,DKT水凝胶贴剂达峰时间($t_{\max}$)、分布相半衰期($t_{1/2\alpha}$)、消除相半衰期($t_{1/2\beta}$)及0~24 h平均驻留时间($MRT_{0 \rightarrow 24 \text{ h}}$)均显著延长或升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 比格犬给药后主要药代动力学参数($\bar{X} \pm s, n=3$)

参数	A组	B组
$t_{\max}(\text{h})$	0.50 $\pm$ 0.12	6.02 $\pm$ 0.14*
$C_{\max}(\mu\text{g/mL})$	3.08 $\pm$ 0.25	2.98 $\pm$ 0.22
$t_{1/2\alpha}(\text{h})$	0.29 $\pm$ 0.11	1.86 $\pm$ 0.26*
$t_{1/2\beta}(\text{h})$	1.01 $\pm$ 0.35	10.11 $\pm$ 0.26*
$AUC_{0 \rightarrow t}[\text{mg}/(\text{h} \cdot \text{L})]$	9.03 $\pm$ 0.37	26.22 $\pm$ 1.17*
$AUC_{0 \rightarrow \infty}[\text{mg}/(\text{h} \cdot \text{L})]$	10.605 $\pm$ 1.08	27.47 $\pm$ 1.28*
$MRT_{0 \rightarrow 24 \text{ h}}(\text{h})$	6.96 $\pm$ 0.32	8.17 $\pm$ 0.28*
$MRT_{0 \rightarrow \infty}(\text{h})$	9.17 $\pm$ 0.52	12.39 $\pm$ 0.48*

注:与A组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

参考文献[8],采用HPLC法测定血浆中DKT的浓度,并以萘普生钠作为内标,DKT与内标萘普生钠的峰形良好,血浆内源性物质不干扰DKT及内标萘普生钠的测定,DKT和萘普生钠的保留时间分别为10.15 min和8.23 min,表明该方法可用于实验室条件DKT水凝胶贴剂的药代动力学研究。

DKT普通制剂半衰期较短,需频繁给药,且具有较强的抗炎、抗风湿和镇痛的药理活性,为其开发成贴剂剂型提供了有利条件。在DKT灌胃给药的药代动力学参数中, $t_{\max}$ 为0.5 h, $t_{1/2\alpha}$ 为0.29 h, $t_{1/2\beta}$ 为3.01 h,表明DKT普通制剂在体内吸收代谢非常迅速,难以维持较长时间的有效血药浓度。而在DKT以水凝胶贴剂给药, $t_{\max}$ 为6.02 h, $t_{1/2\alpha}$ 为1.86 h, $t_{1/2\beta}$ 为10.11 h,显著延长了DKT在比格犬体内的作用时间,并能较长时间维持较高血药浓度。

给药剂量的设计主要考虑DKT对胃肠道的刺激性及水凝胶贴剂的完整性。DKT灌胃给药组给药剂量参考成人服用该药的常规剂量(每次25 mg),按成人体质量平均折算出比格犬给药剂量,因此该组设计给药剂量为0.5 mg/kg。而DKT水凝胶贴剂为释放不完全制剂,