

乙氧苯柳胺的测定及其在大鼠的药代动力学研究

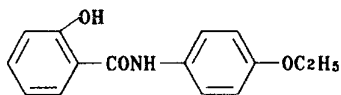
高连用*, 李全胜, 陆 榕, 刘昌孝

(天津药物研究院, 天津 300193)

摘要 目的:建立乙氧苯柳胺在大鼠血清中的测定方法,并研究乙氧苯柳胺软膏(ETO)在大鼠体内的药代动力学。方法:采用 HPLC 方法测定大鼠涂抹 ETO 后血清中的乙氧苯柳胺的浓度。色谱柱为 C_{18} 柱, 250 mm × 4.6 mm (L × ID), 10 μ m, 流动相为甲醇-水(含 0.05% 磷酸) = 63:37, 流速为 1.1 mL · min⁻¹, 检测波长: UV 290 nm。结果:在 10 ~ 500 ng · mL⁻¹ 范围内具良好线性关系, 方法回收率为 94.5% ~ 104.8%。大鼠皮肤涂抹 ETO 100, 200 和 400 mg · kg⁻¹ 后, C_{max} 和 AUC 均与剂量呈正相关。结论:本法简便、准确、重现性好, 可用于 ETO 的药代动力学研究。在 100 ~ 400 mg · kg⁻¹ 范围内, ETO 的吸收和消除呈一级动力学特征。

关键词 乙氧苯柳胺; 高效液相色谱法; 药代动力学

乙氧苯柳胺(etofesalamide)为一新的非甾体抗炎、抗过敏药物,外涂能抑制炎症介质引起的皮肤毛细血管通透性增加,抑制炎症肿胀和炎症增殖过程中的肉芽组织增生,对 I 和 IV 型变态反应有一定的抑制作用^[1~4]。结构为



乙氧苯柳胺软膏(艾地特, etofesalamide ointment, ETO), 用于慢性湿疹、神经性皮炎和痤疮。但未见其生物分析方法和药代动力学研究报道。本文建立了生物样品中乙氧苯柳胺含量的测定方法, 研究了大鼠皮肤涂抹 ETO 后的药代动力学。

材 料 和 方 法

药品和试剂 10% ETO 和乙氧苯柳胺标准品由山东新华制药股份有限公司研制并提供。内标物: 酮洛芬, 浙江宁波天衡制药厂提供, 含量 99.2%。甲醇, 优级纯, 乙酸乙酯等为分析纯。

实验动物 Wistar 大鼠, ♀ ♂ 兼用, 体重 150 ~ 180 g。由天津药物研究院动物室提供。

试验仪器和 HPLC 条件 日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, 包括 UV 检测器, 泵, 柱恒温装置, 自

动进样器, 色谱数据处理仪和中央控制单元(CPU)。色谱条件: C_{18} 柱, 250 mm × 4.6 mm (L × ID), 10 μ m, 天津三维色谱科学仪器公司产品; 柱温: 40 °C; 流动相: 甲醇-水(含 0.05% 磷酸) = 63:37; 流速: 1.1 mL · min⁻¹; 检测波长: UV 290 nm; 内标物: 酮洛芬, 配成 100 μ g · mL⁻¹ 的甲醇溶液。

大鼠血清中样品的处理方法 取大鼠血清 1.0 mL, 加入 100 μ g · mL⁻¹ 酮洛芬甲醇溶液 50 μ L 和乙酸乙酯 5 mL, 振荡 150 s, 离心(3 000 r · min⁻¹ × 10 min), 取有机层 4 mL, 在水浴中用氮气吹干, 用流动相 200 μ L 溶解, 移至微量样品瓶中, 进样 50 μ L, 进行 HPLC 自动分析。以样品与内标物峰面积比(R)和样品浓度(C)求出回归方程, 计算血清中的药物含量。

生物分析方法的建立和认证试验 按上述样品处理方法制备校正曲线, 并测定日内、日间精密度及回收率, 以考察方法的可行性。

ETO 在大鼠的药物动力学实验 设乙氧苯柳胺 100, 200 和 400 mg · kg⁻¹ 3 个剂量组。将大鼠背部两侧剃毛, 皮肤涂抹面积分别为 2.5 cm × 2.5 cm, 2.5 cm × 5.0 cm 和 2.5 cm × 5.0 cm × 2 (侧)。10% ETO 的用量分别为 1, 2 和 4 g · kg⁻¹ 体重。动物给药后不同时间采血, 离心分离出血清 1 mL, 测定药物含量。各组的每一时间点 5 只动物。

数据分析 所有试验数据的测定值均以均值和标准差($\bar{x} \pm s$)表示。血药浓度-时间数据用 3P97 实用药代动力学计算程序处理, 得出主要的药代动力学参数。

收稿日期: 1999-04-30

基金项目: 国家新药研究基金资助课题(87-014)

* Tel.: (022) 27381329, Fax: (022) 27387536,

E-mail: gly@public.tpt.tj.cn

结 果

1 血清中乙氧苯柳胺测定方法的认证

1.1 色谱图 在本文色谱条件下,乙氧苯柳胺与内标物具有较好的分离效果,其保留时间(RT)分别为 9.5 和 7.3 min。色谱图见图 1。

1.2 校正曲线 血清药物浓度为 10, 20, 50, 100, 200 和 500 ng·mL⁻¹时,按上述样品处理方法操作,得浓度(C)对峰面积比(R)的线性回归方程: $R = 0.0099 + 3.240 \times 10^{-3} C$ ($n = 6, \gamma = 0.9998$)。

1.3 灵敏度、回收率和精密度测定 在 20 ~ 500 ng·mL⁻¹ 浓度范围内,方法回收率为 94.5% ~ 104.8%。以 20, 100 和 500 ng·mL⁻¹ 3 种浓度进行当日测定和间日测定,考察测定的准确度和重现性。本法当日和间日测定的结果稳定,相对标准偏差(RSD)均在 10%之内(表 1)。在上述条件下,进样 50 μL,其最低检测浓度为 5 ng·mL⁻¹。

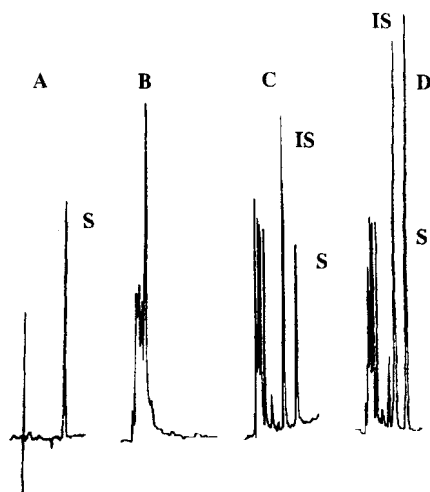


Fig 1 HPLC chromatograms of standard solutions of etofesalamide (A), blank serum of rat (B), blank serum spiked with etofesalamide 200 ng·mL⁻¹ (C), and serum from rat 0.5 h after a single external application of etofesalamide ointment 400 mg·kg⁻¹ (D). S: etofesalamide; IS: internal standard, ketoprofen.

Tab 1 Recovery and RSD of the method ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Amount added / ng·mL ⁻¹	With in day			Bet weer day		
	Amount determined / ng·mL ⁻¹	Recovery / %	RSD / %	Amount determined / ng·mL ⁻¹	Recovery / %	RSD / %
20	18.9 ± 1.1	94.5	5.82	19.3 ± 1.5	96.5	7.77
100	102.9 ± 2.8	102.9	2.43	104.8 ± 4.2	104.8	4.01
500	500.8 ± 8.9	100.2	1.78	485.2 ± 5.3	97.2	1.09

2 药代动力学研究

2.1 血清药物浓度测定 大鼠皮肤涂抹 10% ETO (分别含乙氧苯柳胺 100, 200 和 400 mg·kg⁻¹) 后血清药物浓度-时间曲线见图 2。结果表明,乙氧苯柳胺皮肤涂抹药后吸收较快,在给药后 0.25 h 均可从血清中测到乙氧苯柳胺,给药后约 0.5 h 所测血清乙氧苯柳胺浓度最高,分别为 76.6, 146.2 和 341.4 ng·mL⁻¹,以后缓慢下降。

2.2 药代动力学参数 由大鼠皮肤涂抹 ETO 后不同时间的血清乙氧苯柳胺浓度数据,经 3P97 实用药代动力学计算程序自动拟合,计算出主要药代动力学参数,见表 2。结果表明,血清中乙氧苯柳胺的消除半衰期不随剂量增加而变化,峰浓度(C_{max})和血药浓度-时间曲线下的面积(AUC)随剂量增加而增加,相关系数分别为 0.9986 和 0.9999。

通过分析测定条件的比较,建立了测定血清中乙氧苯柳胺含量的 HPLC 测定方法。在血清浓度 10 ~ 500 ng·mL⁻¹ 范围内,浓度与峰面积比具有良好的线性关系, $\gamma = 0.9998$ 。20, 100 和 500 ng·mL⁻¹ 3 种浓度当日或间日测定的 RSD 均小于

10%,方法回收率 94.5% ~ 104.8%,最低检测浓度为 5 ng·mL⁻¹。其代谢物水杨酸不干扰原形药物的测定,有特异性。该方法简便、准确,可用于测定乙氧苯柳胺在生物样品中的含量。

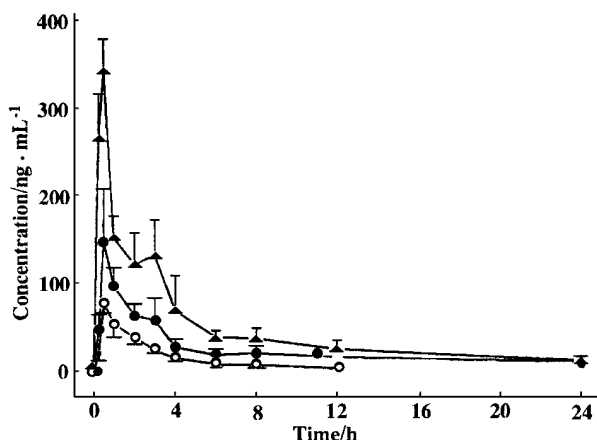


Fig 2 Mean serum concentration-time curve of etofesalamide in rat after single external application of etofesalamide ointment ($\bar{x} \pm s, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) ($n = 5$). $\circ - \circ$ 100 mg·kg⁻¹; $\bullet - \bullet$ 200 mg·kg⁻¹; $\blacktriangle - \blacktriangle$ 400 mg·kg⁻¹.

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of etofesalamide ointment after a single external application of 100, 200 and 400 mg·kg⁻¹ in rats

Parameter	100 mg·kg ⁻¹	200 mg·kg ⁻¹	400 mg·kg ⁻¹
C _{max} / ng·mL ⁻¹	77.4	142.7	305.4
AUC/ ng·h·mL ⁻¹	182.7	362.7	732.7
T _{1/2ke} / h	1.56	1.71	1.61
Ke/ h ⁻¹	0.4433	0.4064	0.4313
Ka/ h ⁻¹	46.38	59.25	63.17
T _{peak} / h	0.50	0.50	0.50
CL/ L·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	547.4	551.4	575.9
Vd/ L·kg ⁻¹	1234.7	1356.7	1265.7

讨 论

乙氧苯柳胺是对多种皮肤疾病有治疗作用的外用新药,尤其对痤疮和瘙痒有较显著的疗效。山东新华制药股份有限公司等单位研制的乙氧苯柳胺软膏,基质为油/水型的乳膏,药物易于从软膏中释放出。本试验在大鼠所得的结果表明,大鼠皮肤涂抹 ETO 后 0.25 h 就可从血中测到药物,药后 0.5 h 即可达峰浓度,以后浓度呈有规律的降低,提示 ETO 透皮吸收速度较快。由于在高剂量 400 mg·kg⁻¹ 时乙氧苯柳胺在血中的峰浓度也仅为 305.4

ng·mL⁻¹, 表明 ETO 经皮涂抹给药后的全身吸收较少。乙氧苯柳胺的吸收特点有助于使活性物质在病灶部位保持较高浓度,有利于发挥疗效作用,而不使药物过分吸收进入血液循环,保持低血浓度,有利于降低药物的毒副作用,减轻机体对药物的代谢负担。

以 100, 200 和 400 mg·kg⁻¹ 3 剂量皮肤给药的药代参数和分析计算结果发现 C_{max} 和 AUC 与剂量存在显著正相关, T_{1/2} 基本为一常数,表明在此剂量范围内,本品的药代动力学呈一级动力学特征^[5]。

参 考 文 献

- 1 刘百里, 张晓友, 王淑珍, 等. 治疗痤疮新药: 益肤酰胺 [N-(4-乙氧苯基)-2-羟基苯酰胺] 的合成. 药学报, 1987, 22: 312
- 2 张晓友, 李亚清, 邹本田, 等. 净肤灵免疫药理作用的研究. 中国药理学通讯, 1985, 2: 19
- 3 张晓友, 李亚清, 邹本田, 等. 净肤灵镇痛和抗炎作用的研究. 中国药理学通讯, 1986, 3: 33
- 4 邹本田, 李亚清, 董淑华, 等. 净肤灵治疗寻常痤疮 53 例疗效观察. 中华皮肤科杂志, 1986, 19: 33
- 5 刘昌孝, 刘定远. 药物动力学概论. 北京: 中国学术出版社, 1984.10

DETERMINATION OF ETOFESALAMIDE AND ITS PHARMACOKINETICS IN RATS

Gao Lianyong, Li Quansheng, Lu Rong and Liu Changxiao

(Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193)

ABSTRACT AIM: To develop an HPLC method for the determination of etofesalamide in serum, and to study the pharmacokinetics of etofesalamide ointment (ETO) in rats. **METHODS:** A Shimadzu LC-6A high performance liquid chromatograph equipped with a constant temperature oven set at 40 °C was used. The UV absorbance detector was set at 290 nm, and a 250 mm × 4.6 mm (L × ID) column packed with C₁₈ with a 10 μm particle size was used. The mobile phase consisted of methanol-water (0.05 % H₃PO₄) = 63:37 with a flow rate of 1.1 mL·min⁻¹. Ketoprofen was used as the internal standard. The above HPLC method was used to determine the level of etofesalamide in rat serum. The main pharmacokinetic parameters were obtained by 3P97 program. **RESULTS:** A good linearity was obtained from 10 ~ 500 ng·mL⁻¹ of etofesalamide in rat serum with $r = 0.9998$. The detection limit was 5 ng·mL⁻¹. The recovery was more than 94%. The relative standard deviation of within day and between day in the level of 20, 100 and 500 ng·mL⁻¹ was 5.82%, 2.43%, 1.78% and 7.77%, 4.01%, 1.09%, respectively. The main pharmacokinetic parameters of ETO after a single external application to rat are shown in table 3. There was good correlation between C_{max}, AUC and doses, with the correlation coefficient (r) 0.9986 and 0.9999, respectively. **CONCLUSION:** The established HPLC method was a simple and accurate method for the determination of etofesalamide in serum. The results of the pharmacokinetic study of ETO showed that it exhibited first order kinetic characteristics.

KEY WORDS etofesalamide; HPLC; pharmacokinetics