

# 阿昔洛韦复乳的研究:大鼠吸收动力学、生物利用度和趋肝性

丁立\*, 张钧寿, 马丽, 赵骏, 龚明涛

(中国药科大学药剂教研室, 南京 210009)

**摘要** 目的:研究阿昔洛韦(ACV)复乳的口服生物利用度和肝靶向性。方法:采用高效液相色谱法测定大鼠口服ACV复乳和普通片剂后的血药浓度和肝组织分布,对试验数据进行药动学分析。药物浓度对时间数据作房室模型和统计矩解析,并求出相应的药动学参数。结果:大鼠口服ACV复乳对片剂的相对生物利用度为149.8%,达峰时间和血浓维持时间明显延迟。血浓经时过程符合二室开放线性药动学模型。血浓峰值附近的肝组织药物分布是片剂的1.62倍( $P < 0.1$ ),谷值附近是片剂的5.16倍( $P < 0.05$ )。结论:大鼠口服ACV复乳可提高生物利用度,并有一定的肝靶向性。

**关键词** 阿昔洛韦;复乳;生物利用度;肝靶向性

阿昔洛韦(acyclovir, ACV)近年来用于治疗乙肝和爱滋病疗效确切,引起关注。

市场上常用的ACV口服剂型有片剂、胶囊、混悬剂,口服后从胃肠道吸收缓慢、不完全,因此口服生物利用度较低,仅有15%~30%<sup>[1~3]</sup>。提高口服ACV制剂的生物利用度,降低给药频率,是亟需解决的问题。通常认为ACV生物利用度低与该化合物水溶性和脂溶性都较差有关。有人<sup>[4]</sup>认为吸收差主要归因于溶解度小而存在吸收窗。动物试验表明,口服生物利用度恒河猴为4%,犬为75%,小鼠43%,大鼠20%,只有大鼠与人相近。用大鼠为动物模型,人们研究了ACV的吸收机制,认为以被动扩散为主,食物不影响ACV的口服吸收。

本文在研究ACV复乳处方工艺和稳定性,理化特性和体外释放的基础上,试图在比较大鼠灌服复乳与片剂后吸收过程和动力学及生物利用度的同时,观察药物向肝脏的分布,以期考察不同剂型间药物趋肝性的差异。

## 实验部分

### 1 仪器与药品

**1.1 药品与试剂** 阿昔洛韦片剂(深圳海王药业有限公司,批号970821,100 mg/片);自制复乳(处方

组成:含药内水相25%,液体石蜡22.5%,外水相49%,一级乳化剂HLB6.0-2.5%,二级乳化剂HLB11.8-1%,ACV10 mg·mL<sup>-1</sup>);甲醇(色谱纯);高氯酸;肝素钠等试剂(分析纯)。

**1.2 仪器与色谱条件** 80-1型离心机;XW-80涡旋混合器;LDX-4高效匀浆机;LG-10AT泵;R-6A积分仪;SPD-6AV检测器;色谱柱:ODS,10 μm,4.6 cm×15 cm,流动相为7%甲醇-水,流速0.7 mL·min<sup>-1</sup>,进样量20 μL,检测波长UV 254 nm,柱温40℃,灵敏度0.005 AUFS。

**1.3 动物** Sprague Dauley大鼠,♀♂各半,体重(200±10)g,同批动物,3月龄。

### 2 大鼠血样浓度测定及ACV复乳的相对生物利用度

**2.1 生物样品的处理方法** 精密吸取大鼠血浆0.2 mL,加6%高氯酸0.2 mL,涡旋3 min,4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清液进样,HPLC测定。

**2.2 大鼠血样标准曲线方程与检测限** 精密吸取大鼠空白血浆0.2 mL于0.5 mL离心管中,分别加入一定量ACV标准贮备液(200 μg·mL<sup>-1</sup>),使其浓度依次为0.4,1,2.5,5,10,50 μg·mL<sup>-1</sup>,按“生物样品处理方法”项下处理,以血浓对HPLC峰高值进行线性回归,得回归方程为: $C = 0.227 + 6.34 \times 10^{-3} Hi$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 5$ ),在0.09~15.50 μg·mL<sup>-1</sup>范围内线性良好。最低检测浓度为20 ng·mL<sup>-1</sup>。

**2.3 回收率试验** 另取一组离心管,分别加入大鼠空白血浆0.2 mL,加入一定量阿昔洛韦标准液,按样品处理方法项下操作,结果见表1。

收稿日期:1998-11-24

\* Tel:(025)3305996-386, Fax:(025)3302827,

E-mail:dingli69@hotmail.com

**Tab 1** *In vitro* recovery test on series of acyclovir (ACV) concentration added in blank plasma of Sprague Dauley rats (n = 3)

	Amount added / $\mu\text{g}$	Mean recovery / %	RSD / %
1	2.0	98.6	4.47
2	15.0	97.3	4.26
3	40.0	98.2	3.26

平均加样回收率达 98.0%, 达到了测试要求。

**2.4 方法的精密度和样品稳定性测试**

**2.4.1 日内差** 取 3 个浓度的加样溶液, 在 1 d 内分别于 0, 1, 2, 4, 8 和 12 h 测定其峰高, 结果见表 2。

**Tab 2** *In vitro* test on variation in intra day of series of ACV concentrations added in blank plasma of Sprague Dauley rats by HPLC (n = 6)

ACV / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.31	2.48	7.75
Peak height ( $\bar{x} \pm s$ )	118 $\pm$ 11	693 $\pm$ 34	2133 $\pm$ 65
RSD / %	9.3	4.9	3.1

**2.4.2 日间差** 取 3 个浓度的加样溶液 在一周内, 分别于第 1, 2, 3, 4 和 5 d 固定时间测定其峰高, 见表 3。

**Tab 3** *In vitro* test on variation in inter-day of series ACV concentrations added in blank plasma of Sprague Dauley rats by HPLC (n = 5)

ACV / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.24	1.86	15.5
Peak height ( $\bar{x} \pm s$ )	206 $\pm$ 6	307 $\pm$ 10	3744 $\pm$ 218
RSD / %	2.9	3.3	5.8

表 2、表 3 所示的精密度的试验结果表明: 以 HPLC 测定 ACV 的血浓度, 在 1 d 之内不同时间和一周之内不同时间, 重现性较好。

**2.5 大鼠体内 ACV 血浆浓度的测定方法** 大鼠 40 只, 随机分为两组。禁食 12 h 后, 第 1 组大鼠口服给予 ACV W/O/W 复乳 2 mL (相当于 100  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  大鼠体重)。第 1 组动物于服药后 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 和 10.5 h; 第 2 组动物口服 ACV 市售片混悬液 2 mL (相当于 120  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重), 于服药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 和 8.5 h 从大鼠颈动脉取全血, 每个取血系列由两只动物完成。离心 4 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 15 min, 吸取血浆 0.2 mL, 按“生物样品的处理方法”项下操作, 大鼠血浆中 ACV 的色谱分离情况见图 1。

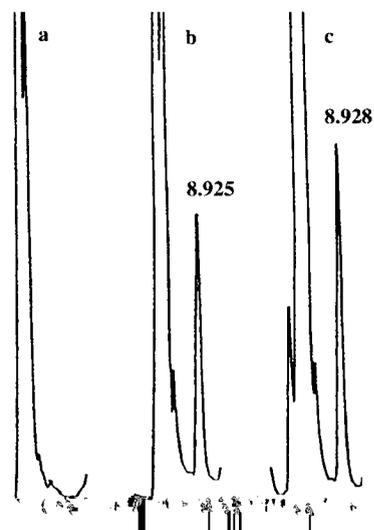


Fig 1 Chromatograms of blank plasma (a), blank plasma with added ACV (b) and plasma after oral administration of ACV (c) in Sprague Dauley rats ( $t_R = 8.92 \text{ min}$ ).

ACV 在大鼠空白血浆加样 (b) 和口服后血浆 (c) 中均获得良好的分离。

**2.6 大鼠血浓度经时数据** 自制 ACV 复乳与国产片剂单剂量给药后, 测得血浓度数据, 取血浓度数据的平均值对时间做大鼠血浓度经时曲线, 见图 2。

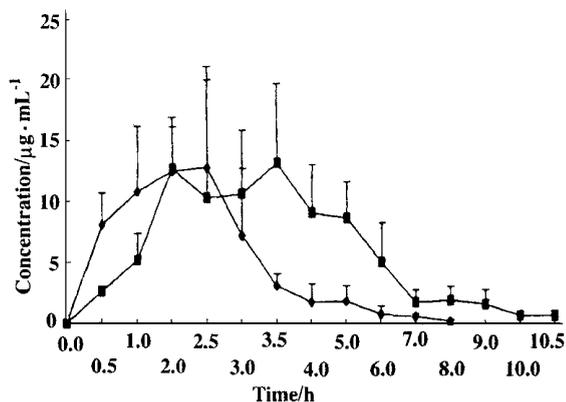


Fig 2 Average plasma concentration of ACV after single oral dose of ACV multiple emulsion ( $\square$ — $\square$  100  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and tablet ( $\diamond$ — $\diamond$  120  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) in Sprague Dauley rats (n = 10).

可见口服复乳有两个吸收峰值, 而且药物浓度比片剂维持更长时间。

以市售 ACV 普通片为标准对照, ACV 复乳的相对生物利用度可按药时曲线下面积对数梯形法求算。公式如下:

$$F_r = \frac{AUC_{\text{emulsion}} \times D_{\text{tablet}}}{AUC_{\text{tablet}} \times D_{\text{emulsion}}} \times 100\% = 149.8\%$$

### 3 大鼠肝组织浓度测定

**3.1 样品处理方法** 第1组动物分别在4 h和10.5 h,第2组动物分别在3 h和8.5 h处死,分离肝脏。精称肝组织,加2倍量生理盐水,用高速匀浆机 $20\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,2 min,制成匀浆。取匀浆0.2 mL,加入6%高氯酸0.2 mL,涡旋3 min,4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,离心15 min。取上清液进样,用HPLC测ACV含量。

**3.2 大鼠肝组织加样标准曲线与检测限** 参照3.1项下操作,得肝组织匀浆含量( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )对HPLC峰高响应值的回归直线方程  $C = 1.068 + 0.01732Hi$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 4$ ),线性范围5 ~ 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,最低检测浓度2  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**3.3 HPLC法** 色谱条件:柱温25  $^{\circ}\text{C}$ ,出峰时间为15.7 min。其余色谱方法学考察均参照1.2相应项下操作。色谱峰分离情况见图3。分离状况良好。

**3.4 大鼠肝组织ACV浓度测定方法及结果** 按“样品处理方法”项下获取大鼠肝组织样本,用HPLC测定响应值依加样标准曲线计算每毫升肝匀浆中ACV的含量,测得的大鼠肝组织ACV含量列

于表4。显示复乳的肝组织药物浓度与片剂相比在峰值( $P < 0.1$ )和谷值( $P < 0.05$ )有显著性差异。

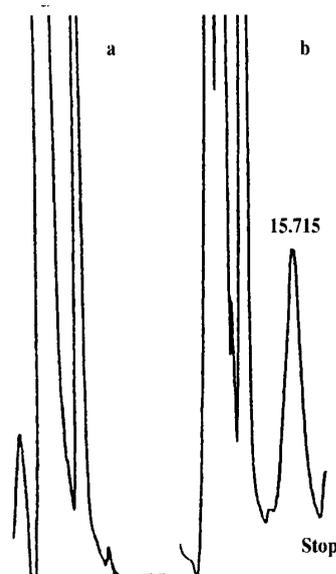


Fig 3 Chromatograms of ACV in blank hepatic tissue (a) and hepatic tissue after oral administration of multiple emulsion (b) in Sprague Dauley rat ( $t_R = 15.70\text{ min}$ ).

**Tab 4 Data of ACV concentration in hepatic tissue for multiple emulsion ( $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and tablet ( $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) administrated orally to Sprague Dauley rats ( $n = 10$ ) ( $\bar{x} \pm s$ )**

Dosage form	Multiple emulsion		Tablet	
	4 h	10.5 h	3 h	8.5 h
Concentration/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$110.6 \pm 63.8^*$	$62.7 \pm 59.8^{**}$	$68.1 \pm 40.6$	$12.2 \pm 5.1$

Compared with tablet: \*  $P < 0.1$ , \*\*  $P < 0.05$ .

**3.5 不同时间点肝组织ACV浓度-时间曲线的测定** 取两组大鼠,分别ig ACV复乳和市售普通片 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。分别于服药后1,2,4,6,8和10 h处死,分离肝脏。精取肝组织,加2倍量生理盐水,制匀浆。取匀浆0.2 mL,加入6%高氯酸0.2 mL,涡

旋3 min,4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,离心15 min。取上清液进样,用HPLC测ACV含量。结果见表5。可见在各个时间点复乳的肝组织药物含量均高于片剂,尤其是峰值(4 h)和谷值(8 h)。

**Tab 5 Data of ACV concentration in hepatic tissue in different time for multiple emulsion ( $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and tablet ( $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) administrated orally to Sprague Dauley rats ( $n = 3$ ) ( $\bar{x} \pm s$ )**

Time / h	1	2	4	6	8	10
Multiple emulsion	$36.9 \pm 7.8$	$37.7 \pm 9.9$	$55.5 \pm 13.3$	$38.2 \pm 29.0$	$22.9 \pm 8.8$	$36.4 \pm 7.9$
Tablet	$31.8 \pm 4.9$	$35.5 \pm 5.6$	$30.1 \pm 9.7$	$25.2 \pm 8.9$	$13.5 \pm 4.2$	$23.0 \pm 4.7$

### 4 药动学分析

#### 4.1 隔室模型的识别和药动学参数研究

使用PKBP- $n_1$ 程序对单剂量血浓(平均值)-时间数据分别进行单室和双室模型嵌合,比较赤池

信息判据(Akaike's information criterion, AIC),同时参考拟合值与实测值之间的相关系数R及剩余标准差s,用PKBP- $n_1$ 程序经最小AIC判别法确定ACV复乳和片剂口服后,中央室血药经时曲线符合

二室模型。模型表达式为:

$$C(t) = A \cdot e^{-\alpha(t-t_0)} + B \cdot e^{-\beta(t-t_0)} - (A+B) \cdot e^{-K_a(t-t_0)} + C_0 \cdot e^{-\beta t}$$

式中各药动学参数见表 6。表明 ACV 复乳和片剂吸收、分布参数及方程的各项指数均有一定差异。

Tab 6 Pharmacokinetic parameters of ACV multiple emulsion (100 mg·kg<sup>-1</sup>) and tablet (120 mg·kg<sup>-1</sup>) administrated orally to Sprague Dauley rats (n = 10)

Parameter	Multiple emulsion	Tablet
T <sub>lag</sub> / h	0.755	0.140
K <sub>a</sub> / h <sup>-1</sup>	0.783	0.872
T <sub>1/2</sub> (K <sub>a</sub> ) / h	0.885	0.795
A	25.338	75.631
B	60.035	72.160
α / h <sup>-1</sup>	1.033	0.688
T <sub>1/2</sub> (α) / h	0.671	1.007
β / h <sup>-1</sup>	0.370	0.685
T <sub>1/2</sub> (β) / h	1.873	1.011
K <sub>21</sub> / h <sup>-1</sup>	0.642	0.687
K <sub>10</sub> / h <sup>-1</sup>	0.595	0.687
K <sub>12</sub> / h <sup>-1</sup>	0.165	3.278E - 06
V·C/F	0.613	0.796
RE	1.590	16.896

4.2 非隔室模型——统计矩分析<sup>[5]</sup> 用 PKBP-n<sub>1</sub> 程序,由单剂量实测数据求算 AUC, AUMC, MRT, VRT 等统计矩参数,见表 7。

Tab 7 Parameters based on statistical moment theory for ACV multiple emulsion (100 mg·kg<sup>-1</sup>) and tablet (120 mg·kg<sup>-1</sup>) administrated orally to Sprague Dauley rats (n = 10) ( $\bar{x} \pm s$ )

Parameter	Multiple emulsion	Tablet
AUC(s <sub>0</sub> ) <sub>exv</sub> / μg·h·mL <sup>-1</sup>	68.826 ± 10.410 <sup>*</sup>	46.037 ± 8.782
AUMC(s <sub>1</sub> ) <sub>exv</sub> / μg·h <sup>2</sup> ·mL <sup>-1</sup>	243.210 ± 59.689 <sup>*</sup>	116.838 ± 102.638
S <sub>2exv</sub>	1339.975 ± 237.728	443.758 ± 263.456
MRT <sub>exv</sub> / h	4.114 ± 0.627 <sup>**</sup>	2.622 ± 0.039
VRT <sub>exv</sub> / h <sup>2</sup>	5.680 ± 0.483 <sup>**</sup>	3.083 ± 0.262
MAT/h	2.456 ± 1.137 <sup>*</sup>	1.163 ± 0.869
K <sub>a</sub> / h <sup>-1</sup>	0.407 ± 0.085 <sup>**</sup>	0.860 ± 0.121
T <sub>1/2</sub> / h <sup>1</sup>	1.702 ± 0.454 <sup>*</sup>	0.806 ± 0.376

Compared with tablets: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

从表 7 可以看出,复乳的吸收速度常数(K<sub>a</sub>)小于片剂(P < 0.01),而平均滞留时间(MRT)远高于片剂(P < 0.01)。在大鼠体内表现出缓慢释放和吸收,血液维持时间延长,起到一定的缓释作用。

4.3 大鼠体内吸收动力学粗略分析 按双室模型的 Loor Riegelman 法研究 ACV 的吸收动力学特征,以 PDBP-n<sub>1</sub> 程序计算各时刻的体内吸收分数见表 8。

Tab 8 Absorbed fraction of ACV from multiple emulsion (100 mg·kg<sup>-1</sup>) and tablet (120 mg·kg<sup>-1</sup>) after single dose administration to Sprague Dauley rats (n = 10)

T / h	Multiple emulsion / %		Tablet / %	
	F. AB	PER. UNAB	F. AB	PER. UNAB
T <sub>lag</sub>	0	100	0	100
0.5	0.067	93.31	0.296	70.37
1	0.181	81.89	0.490	50.94
1.5			0.676	32.38
2	0.571	42.94	0.828	17.24
2.5	0.613	38.69		
3	0.715	28.50		
3.5	0.895	10.49		
4	0.878	12.23		

F. AB: Fraction absorbed; PER. UNAB: Percent unabsorbed.

其中,大鼠体内吸收分数(F. AB)和待吸收分数(PER. UNAB)为将口服制剂药动学参数 K<sub>10</sub>, K<sub>21</sub>, K<sub>12</sub>等作为初始值代入 Loor Riegelman 吸收分数方程求得的。片剂 2 h 吸收 82.8%,而复乳 4 h 吸收 87.8%,明显延迟。粗略比较了复乳与片剂体内吸收的相对快慢,但若精确计算体内吸收分数,需用静脉注射作对照,将求得的 K<sub>10</sub>, K<sub>21</sub>, K<sub>12</sub>代入公式,可进一步推知体内外的相关性。

### 讨 论

将图 2 数据按上述公式计算所得相对生物利用度为 149.8%,但复乳的药时曲线在 2 ~ 3.5 h 之间血浓下降,原因可能是大鼠最后两点取血时已近死亡前期,机体代谢处于非常状态所致,所以实际复乳的相对生物利用度可能更高。

表 4 表明:与片剂相比,ACV 复乳有更高的趋肝趋势。血浓峰值附近,复乳的肝匀浆 ACV 浓度是片剂的 1.62 倍;谷值附近是片剂的 5.16 倍,尤其在谷值附近有显著性差异。值得一提的是,在预试过程中,曾做过 ACV 溶液和 W/O 初乳各两个样本的趋肝性考察,其均值在血浓峰值附近的肝匀浆药物含量分别是复乳的 33.3%和 15.3%,谷值分别是复乳的 12.6%和 11.4%。从趋肝趋势上:初乳 < 溶液 < 片剂 < 复乳。动物口服复乳有趋肝性,国内外

报道较少。有必要在其他动物甚至人体进一步验证, 并做系统化的深入研究。

公式  $AIC = N \cdot \ln SS + 2P$ ,  $SS$  为理论值与实测值偏差的平方和,  $P$  为独立参数的个数,  $N$  为试验点数,  $AIC$  值反映模型选择的好坏, 越小, 模型嵌合越贴切。表 4 的数据表明: 比较而言, 以二室模型描述 ACV 在大鼠体内的配置状态较好。

ACV 复乳与片剂的二室模型药动力学参数比较, 二者存在较大差异, 尤其是慢配置速度常数, 相差近一倍, 可能是由于剂型的差异, 使此常数一定程度上受吸收的影响。

以 1 ~ 4 h 的复乳的体外释放百分率 ( $Q$ ) 和大鼠吸收分数 [ $F(t)$ ] 作相关性考察, 得回归方程:  $F(t) = -0.778 + 0.120Q$  ( $r = 0.9677$ ,  $n = 4$ )。体外释放试验采用蒸馏水为透析液, 这可能是释药速度 (24 h,

释药 80%) 低于复乳体内实际释药速度的原因之一。

## References

- 1 Fletcher C, Bonnie B. Evaluation of oral ACV therapy. *Drug Intel Clin Pharm*, 1985, **19**: 518
- 2 Australian National Drug Informational Service. Profile on acyclovir. *Austr J Pharm*, 1988, **69**: 35
- 3 Zhou BY (周邦元), Gia YR (贾玉蓉), Li TL (李铜铃). The pharmacokinetics and clinical trials of ACV. *West China J Pharm* (华西药理学杂志), 1990, **5**: 101
- 4 Lynch J, Pownall RE, Taylor DC. Site-specific absorption of hydrochlorothiazide in the rat intestine. *J Pharm Pharmacol*, 1987, **39**: 55
- 5 Lee PI, Amidon GL. Chapter 12. Relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Lee PI, ed. *Pharmacokinetic Analysis*. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc, 1996. 275 ~ 280

## STUDIES ON ACYCLOVIR MULTIPLE EMULSION: ABSORPTION KINETICS, BIOAVAILABILITY AND HEPATIC TARGETING

Ding Li (Ding L), Zhang Junshou (Zhang JS), Ma Li (Ma L),  
Zhao Jun (Zhao J) and Gong Mingtao (Gong MT)

(Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

**ABSTRACT AIM:** To study the oral bioavailability and hepatic targeting of acyclovir (ACV) multiple emulsion in Sprague Dauley (SD) rats. **METHODS:** HPLC was testified as a potential method in assaying the concentration of ACV in plasma and tissue in rats after oral administration of multiple emulsion and tablet. Analysis of the data was executed by compartmental model and statistical moment calculation from which pharmacokinetic parameters were obtained. **RESULTS:** The relative availability of multiple emulsion to tablet was 149.8%. The  $t_{max}$  and maintaining time for ACV concentration in plasma were both delayed. The profile of the plasma concentration to time curve was fitted perfectly to two compartment open model. The hepatic drug distribution of multiple emulsion near the peak concentration was 1.62 folds that of the tablet ( $P < 0.1$ ), and the counterpart trough value was 4.16 folds bigger than tablet ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION:** Multiple emulsion administered orally to rats improved the relative bioavailability of the drug ACV and showed hepatic targeting nature to some extent in rats.

**KEY WORDS** acyclovir; multiple emulsion; availability; hepatic targeting