

形成过程中起着重要的促进作用。

格列本脲抑制泡沫细胞形成可能与其干预 ACAT 及胞内胆固醇代谢有关。

同 Ohgami N 等^[1] 在 J774 巨噬细胞中的研究结果相似, 本实验发现随着格列本脲剂量的增加, 脂质负荷前后的 THP-1 巨噬细胞中 ACAT 酶活性逐渐下降。而且随着格列本脲剂量增加, 脂质负荷前后 THP-1 巨噬细胞中胆固醇酯含量明显下降, 表明格列本脲抑制 ACAT 酶活性的结果是导致细胞中胆固醇酯的堆积减少。

在未进行脂质负荷的 THP-1 巨噬细胞中游离胆固醇含量随着格列本脲浓度的增加而减少, 而在脂质负荷后的 THP-1 巨噬细胞中游离胆固醇含量逐渐增加, 游离胆固醇结果在脂质负荷前后存在差别考虑在外来脂质负荷的作用下, 细胞中的胆固醇代谢失衡, 细胞难以排出过多的胆固醇, 而且有实验表明格列本脲还可以抑制细胞内的三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1) 的活性, 而 ABCA1 在促进细胞内的胆固醇外排, 及高密度脂蛋白 (HDL) 的形成中起着重要作用^[7]。因此, 虽然格列本脲可降低泡沫细胞中胆固醇酯的堆积, 但同时增加了细胞内的游离胆固醇负荷, 过多的游离胆固醇对细胞有毒害作用^[8], 所以格列本脲作为 ACAT 抑制剂使用的安全性尚存在问题, 限制了它作为 ACAT 抑制剂的

广泛使用。

参考文献:

[1] Ohgami N, Kuniyasu A, Furukawa K, *et al*. Glibenclamide acts an inhibitor of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase enzyme [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 277: 417-422.

[2] Peuler JD, Phare SM, Iannucci AR, *et al*. Differential inhibitory effects of antidiabetic drugs on arterial smooth muscle cell proliferation [J]. *Am J Hypertens*, 1996, 9(2): 188-192.

[3] Desfaits AC, Serri O, Renier G. Gliclazide decreases cell-mediated low-density lipoprotein (LDL) oxidation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells induced by oxidatively modified LDL [J]. *Metabolism*, 1997, 46(10): 1150-1156.

[4] Farouque HM, Worthley SG, Meredith IT, *et al*. Effect of ATP-sensitive potassium channel inhibition on resting coronary vascular responses in humans [J]. *Circ Res*, 2002, 90(2): 231-236.

[5] Wang HX, Germain SJ, Benfield PP, *et al*. Gene expression of acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase is upregulated in human monocytes during differentiation and foam cell formation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16: 809-814.

[6] 何平, 成蓓, 彭雯, 等. 泡沫细胞形成过程中酰基 CoA: 胆固醇酰基转移酶 1 活性改变及其机制研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 32: 158-160.

[7] Von Eckardstein A, Langer C, Engel T, *et al*. ATP binding cassette transporter ABCA1 modulates the secretion of apolipoprotein E from human monocyte-derived macrophages [J]. *FASEB J*, 2001, 15(9): 1555-1561.

[8] Tabas I. Consequences of cellular cholesterol accumulation: basic concepts and physiological implications [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110: 905-911.

[收稿日期] 2006-03-10

酮咯酸氨丁三醇在大鼠体内药动学

马铭研¹, 周丹丹², 于治国³ (沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 比较研究大鼠尾静脉注射与局部皮肤给予酮咯酸氨丁三醇的药动学行为。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺-冰醋酸 (80: 19.9: 0.02: 0.08); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 313 nm。结果: 酮咯酸氨丁三醇在 0.2~100 mg·L⁻¹ 范围内与峰面积呈良好的线性关系 (r = 0.999 0), 日内 RSD 为 2.3%~5.1%, 日间 RSD 为 2.2%~12.2%, 萃取回收率为 86.8%~96.2%, 注射剂和凝胶剂的 T_{1/2α} 分别为 (0.4 ± 0.3) h, (2.9 ± 2.6) h; T_{1/2β} 分别为 (2.7 ± 2.0) h, (9.0 ± 8.5) h。结论: 本试验建立的方法操作简单, 方法灵敏、特异, 结果准确。酮咯酸在大鼠体内药动学行为符合二房室模型; 外用给药透皮吸收良好。

[关键词] 酮咯酸氨丁三醇; 药动学; 大鼠; 血浆; 高效液相色谱法

[中图分类号] R969.1 [文献标识码] A [文章编号] 1004-5213(2007)03-0315-04

Pharmacokinetics of ketorolac tromethamine in rat plasma

Ma Mingyan, Zhou Dandan, Yu Zhiguo (School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Liaoning Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacokinetics of ketorolac tromethamine after i. v. and transdermal gel administration in rat. **METHODS** An HPLC method was established using gliquidone as internal standard. Plasma samples were depre-

[作者简介] 马铭研, 硕士, 电话: 13840320136, E-mail: mthydl@163.com

teinized with acetonitrile, 1 mL of acetic acid (0.1%) was added to the supernatant. Kromasil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used at column temperature 30 °C. The mobile phase consisted of methanol-water-triethylamine-acetic acid (80:19.9:0.02:0.08) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was set at 313 nm. **RESULTS** The calibration curve was shown to be linear over the range from 0.2 to 100.0 μg·mL⁻¹ ($r = 0.9990$). The mean recovery was 86.8%–96.2%. The RSDs of within-day and between-day were all less than 5.1% and 12.2%. The main pharmacokinetic parameters were estimated as follows: injection: α (3.0 ± 1.3) h⁻¹, β (0.4 ± 0.2) h⁻¹, $T_{1/2\alpha}$ (0.4 ± 0.3) h, $T_{1/2\beta}$ (2.7 ± 2.0) h, AUC_{0-1} (50.0 ± 13.8) μg·h·mL⁻¹, $AUC_{0-\infty}$ (55.58 ± 13.67) μg·h·mL⁻¹; transdermal gel: α (0.9 ± 0.8) h⁻¹, β (0.2 ± 0.1) h⁻¹, $T_{1/2\alpha}$ (2.9 ± 2.6) h, $T_{1/2\beta}$ (9.0 ± 8.5) h, AUC_{0-1} (50.00 ± 12.66) μg·h·mL⁻¹, $AUC_{0-\infty}$ (51.02 ± 12.58) μg·h·mL⁻¹. **CONCLUSION** The validated HPLC method is specific, simple, sensitive and suitable for the measurement of plasma ketorolac tromethamine concentration. The pharmacokinetic characteristics are fitted with the two-compartment model.

KEY WORDS: ketorolac tromethamine; pharmacokinetics; rat; plasma; HPLC

酮咯酸氨丁三醇属环氧化酶抑制剂, 通过抑制(PG)的合成而达到止痛、抗炎和退热作用, 而非作用于阿片受体或激发体内阿片肽的释放。酮咯酸氨丁三醇在人体内转化为酮咯酸发挥疗效, 酮咯酸能抑制花生四烯酸或胶原诱发的血小板聚集作用, 而对ADP诱发的血小板聚集作用无效, 它与其他非甾体药物作用机理相似, 作用位点是PG、花生四烯酸, 是一种非甾体抗炎药, 具有较强的镇痛活性, 可以缓解各种肌肉、软组织和关节的中度疼痛。

酮咯酸氨丁三醇已经在近20个国家临床使用, 上市的剂型有片剂(克痛诺)、注射液(克痛诺针剂)、滴眼剂(安贺拉滴眼液)等, 国内外尚无其外用凝胶剂产品的生产^[1-2]。本试验建立了大鼠血浆中酮咯酸的高效液相色谱测定法并比较研究其在体内的药动学行为, 为酮咯酸氨丁三醇外用凝胶剂的临床研究提供参考^[3]。

1 材料

1.1 仪器 LC-10ATvp 液相色谱输液泵(日本 Shimadzu 公司); LC-10AD 紫外检测器(日本 Shimadzu 公司); ANASTAR 色谱数据处理系统(美国 Suntuex 公司); BS 110S 分析天平(北京 Sartorius 仪器有限公司); XW-80A 型液体快速混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂); TGL-16C 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); 统计软件 SP97(中国药理学会)。

1.2 药品与试剂 酮咯酸氨丁三醇(含量99.3%); 酮咯酸氨丁三醇注射液(批号050123, 规格1 mL: 30 mg)、酮咯酸氨丁三醇凝胶剂(批号050412, 规格10 g: 0.2 g), 均由沈阳明华制药有限公司提供; 格列喹酮(内标物, 中国药品生物制品检定所, 批号100280-200301)、甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 健康大鼠, 体质量250~300 g, [沈阳药科大学实验动物中心, 生产许可证号 SCXK(辽)2003-008; 实验动物使用许可证号 SYXK(辽)2003-0012]。

2 方法

2.1 给药方案和血样采集 采用单剂量、单周期的两制剂比较试验。12只Wistar大鼠, 随机分为2组, 每组6只(♀♂各半)。于试验前1周开始于实验室内饲养, 试验前禁食12 h, 可自由饮水。第1组尾静脉注射给予酮咯酸氨丁三醇注射剂(30 mg·mL⁻¹用生理盐水稀释制成0.8 mg·mL⁻¹, 4.0 mg·kg⁻¹), 第2组背部皮肤局部给予酮咯酸氨丁三醇凝胶剂(20 mg·g⁻¹, 4.0 mg·kg⁻¹, 涂布面积2.5 cm × 2.5 cm)。尾静脉注射给药和背部局部涂抹给药的大鼠分别于给药前(0 h)及给药后0.017, 0.12, 0.33, 0.67, 1.33, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 15.0, 24.0 h和0.083, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 9.0, 15.0, 24.0 h, 由眼眶后静脉丛取血0.5 mL, 置肝素钠抗凝离心试管中, 离心(4 000 r·min⁻¹)5 min, 分离血浆, -20 °C 冷冻保存、备测。

2.2 血浆样品处理 取血浆样品100 μL, 内标溶液50 μL, 涡旋混匀30 s, 加乙腈100 μL, 涡旋混合1 min, 12 000 r·min⁻¹离心5 min, 取上清液置另一试管中, 加入0.1%冰醋酸1.0 μL, 涡旋混合1 min, 取上清液20 μL进样。

2.3 色谱条件 分析柱: Kromasil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 预柱: C₁₈ 保护柱 (10 mm × 4.6 mm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺-冰醋酸(80:19.9:0.02:0.08); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 313 nm; 进样量: 20 μL。

2.4 标准曲线的制备 分别取酮咯酸氨丁三醇标准系列溶液各50 μL, 置离心试管中, 吹干, 加入空白血浆100 μL, 涡旋溶解30 s, 制成相当于酮咯酸氨丁三醇质量浓度为0.50, 1.00, 2.00, 5.00, 10.0, 50.0, 100.0 mg·L⁻¹的标准血浆样品, 照“血浆样品处理”项下的方法操作, 进样20 μL, 记录色谱图; 以质量浓度(C)为横坐标, 酮咯酸氨丁三醇与内标物

的峰面积比值(R)为纵坐标,用加权($w = 1/C^2$)最小二乘法进行回归运算,求得的直线回归方程即为标准曲线。

2.5 溶液的制备

2.5.1 酮咯酸氨丁三醇标准系列溶液 精密称取酮咯酸氨丁三醇 25.1 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 该储备液用甲醇稀释成 1.0, 2.0, 4.0, 10.0, 20.0, 100.0 和 200.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的酮咯酸氨丁三醇标准系列溶液, 冰箱($-4\ ^\circ\text{C}$)内保存备用。

2.5.2 内标溶液 精密称取格列喹酮 25.0 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为内标储备液($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 精密量取储备液 20.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为内标溶液($200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 冰箱($-4\ ^\circ\text{C}$)内保存备用。

2.6 精密度与准确度 取空白血浆, 照“2.4”项下的方法制备低、中、高 3 个质量浓度(酮咯酸氨丁三醇质量浓度分别为 0.5, 5.0, 50.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的质量控制(QC)样品, 每一质量浓度进行 6 样本分析, 连续测定 3 分析批(3 d)。根据标准曲线, 计算样品质量浓度, 并与标示浓度比较求得本法的精密度与准确度, 结果见表 1。

2.7 萃取回收率 取空白血浆, 照“2.6”项下的方法操作, 以处理后样品的色谱峰面积与空白血浆处理后再加入标准溶液后进样获得的峰面积之比, 考察方法的萃取回收率, 结果见表 1。

表 1 酮咯酸氨丁三醇精密度、准确度和回收率

Tab 1 Precision and accuracy and recovery of ketorolac trometamine

质量浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %		准确度 $/\%$	回收率 $/\%$
	日内	日间		
0.5	2.2	5.1	-3.9	86.8
5.0	11.2	5.4	0.6	96.3
50.0	7.7	2.3	1.3	90.1

2.8 样品稳定性 取空白血浆, 照“2.6”项下的方法制备酮咯酸氨丁三醇 5.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 QC 样品, 考察样品室温放置 24 h、冰冻 30 d、冻融循环 3 次以及经处理后的溶液室温放置 24 h 内的稳定性, RSD 分别为 3.2%, 1.1%, 1.1%, 0.7%。

2.9 数据处理 大鼠各时间点血浆中酮咯酸的浓度数据用 3P97 药动学程序进行模型拟合, 确定房室模型, 并计算各药动学参数。

3 结果

3.1 方法学评价 上述色谱条件下酮咯酸氨丁三醇和内标物保留时间分别为 5.25 min 和 11.39 min,

血浆内源性组份对酮咯酸和内标物无干扰, 见图 1。酮咯酸氨丁三醇质量浓度在 0.2~100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (准确度 = -8.4%~3.4%) 范围内峰面积比值 R 和浓度 C 之间线性关系良好, $R = 0.08481C + 0.00105$ ($r = 0.9990$), 定量下限为 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 酮咯酸氨丁三醇在低、中、高 3 个质量浓度的精密度、准确度、回收率均符合生物样品分析要求; 血浆样品中酮咯酸氨丁三醇室温放置 24 h、经过 3 个冷冻-解冻循环和 $-20\ ^\circ\text{C}$ 条件下保存 30 d 仍保持稳定, 处理后样品溶液室温放置 24 h 仍保持稳定。

3.2 药动学 6 只受试大鼠分别给予凝胶剂(2.5 cm × 2.5 cm)和注射剂后平均血药质量浓度-时间曲线见图 2; 血药质量浓度-时间数据经 3P97 程序处理得到的主要药动学参数见表 2。

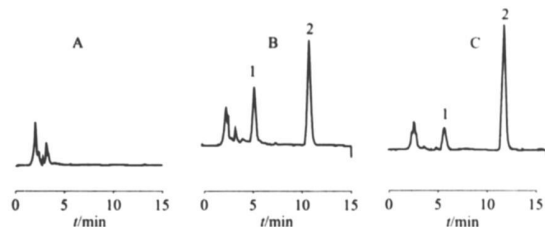


图 1 高效液相色谱图
A. 空白血浆; B. 空白加样及内标; C. 6 h 血浆样品

Fig 1 HPLC chromatograms
A. blank plasma; B. blank plasma spiked with ketorolac trometamine and IS; C. plasma sample(6 h) after i. v. administration of ketorolac trometamine

表 2 注射和凝胶给药后大鼠血浆中酮咯酸药动学参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of ketorolac in rat plasma after i. v. and transdermal gel administration

药动学参数	注射剂	凝胶剂
α/h^{-1}	3.0 ± 1.3	0.9 ± 0.8
β/h^{-1}	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1
$T_{1/2\alpha}/\text{h}$	0.4 ± 0.3	2.9 ± 2.6
$T_{1/2\beta}/\text{h}$	2.7 ± 2.0	9.0 ± 8.5
$V/\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02
$\text{CLs}/\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.02 ± 0.0005	0.02 ± 0.01
T_{max}/h	0.02 ± 0.00	1.9 ± 0.9
$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	32.5 ± 6.1	9.6 ± 4.2
$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	50.0 ± 13.8	50.0 ± 12.7
$\text{AUC}_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	55.6 ± 13.7	51.0 ± 12.6

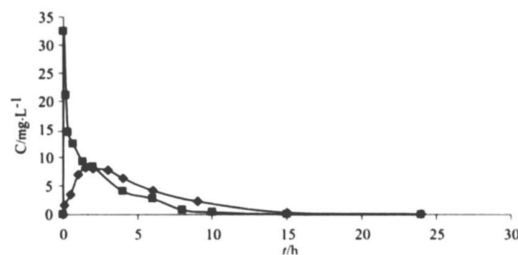


图 2 分别给予凝胶剂和注射剂后大鼠平均血药质量浓度-时间曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time profiles for ketorolac in rat plasma after i. v. and transdermal gel administration
—●—gel; —■—injection

4 讨论

本实验首次报道了酮咯酸氨丁三醇凝胶剂的体内药动学行为,并与注射剂进行了比较。结果显示,酮咯酸在大鼠体内的动力学行为符合二房室开放模型,与文献报道一致^[4-8];凝胶剂吸收与消除均较注射剂慢;以 AUC_{0-t} 计算,凝胶剂的生物利用度为 100.2%。本试验建立的血浆中酮咯酸的测定方法操作简便、方法专属、灵敏、准确,对酮咯酸氨丁三醇制剂的研制开发及其体内代谢动力学研究有广泛意义。

参考文献:
 [1] USP. 1449-1450; 1450-1451.
 [2] W. H. Rooks II. *et al.* The analgesic and anti-inflammatory profile of ()-5-benzoryl-1,2-dihydro-3H-pyrrolo[1,2a]pyrrole-1-carboxylic acid. *Agents and Actions*. 1982, 12(5): 236-239.
 [3] Brocks DR. Clinical pharmacokinetics of ketorolac trometramine [J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 1992, 23(6): 415-427.

[4] Mroszczac EJ. Ketorolac trometramine pharmacokinetics and metabolism after intravenous, intramuscular, and oral administration in humans and animals [J]. *Pharmacotherapy*, 1990, 10(6): 33-39.
 [5] Jung D. Pharmacokinetics of ketorolac and p-hydroxyketorolac following oral and intramuscular administration of ketorolac trometramine [J]. *Pharmaceutical Research*, 1989, 6(1): 62-65.
 [6] Jung D. Pharmacokinetics of ketorolac trometramine in humans after intravenous, intramuscular, and oral administration [J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1988, 35(4): 423-425.
 [7] Luckner P. Tolerability central effects and pharmacokinetics of intravenous ketorolac trometramine in volunteers [J]. *International Journal of Clinical Pharmacological Therapy*, 1994, 32(8): 409-414.
 [8] Olkola KT. The pharmacokinetics of postoperative intravenous ketorolac trometramine in children [J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1991, 31(2): 182-184.

[收稿日期] 2006-04-28

乳酸左氧氟沙星脂质体凝胶剂经小鼠在/离体的透皮吸收

肖桂珍¹, 罗顺德², 张先洲², 刘刚², 范明霞² (1. 暨南大学珠海市人民医院, 广东 珠海 519000; 2. 武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

[摘要] 目的: 研究乳酸左氧氟沙星脂质体凝胶剂的皮肤渗透性。方法: 以普通凝胶剂为对照, 将乳酸左氧氟沙星脂质体制成凝胶剂并应用于小鼠皮肤, 用改良的 Franz 扩散池研究其透皮速率, 以高效液相色谱法测定接受液、皮肤、血液及其他组织中的乳酸左氧氟沙星的含量。结果: 所制脂质体凝胶剂有较大的透皮速率, 平均为 $(13.5 \pm 1.0) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ($n=6$), 透皮吸收行为符合 Fick's 第一定律; 经皮吸收结果显示体内吸收量均较普通凝胶剂低, 而皮内滞留量无论是在体还是离体均较高。结论: 该制剂具有良好的局部皮肤靶向性。脂质体有促进药物进入皮肤的能力, 而药物进入血循环的量并不增加。

[关键词] 乳酸左氧氟沙星; 脂质体凝胶剂; 皮肤渗透

[中图分类号] R943 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)03-0318-05

Percutaneous penetration of levofloxacin lactate liposome gel

XIAO Gu-zhen¹, LUO Shun-de², ZHANG Xian-zhou², FAN Ming-xia², LIU Gang² (1. The People's Hospital of Zhuhai Jinan University, Guangdong Zhuhai 519000, China; 2. Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Wuhan 430060, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the percutaneous permeability of levofloxacin lactate liposome gel. **METHODS** The preparations were applied on the rat skin in vitro and vivo with common gel as control. The permeation flux of the Levofloxacin lactate was determined in vitro using Franz diffusion cell fitted with mouse skin. The drug concentrations in the receiver, skin, blood, liver and other organs were determined by HPLC. **RESULTS** In vitro, the liposome gel showed a higher drug percutaneous permeation rate and higher retention in skin than that of normal gel, the permeation rate of levofloxacin lactate was $(13.5 \pm 1.0) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ($n=6$). In vivo the concentration of Levofloxacin lactate liposomal formulation was lower than that of normal gel formulation. **CONCLUSION** The levofloxacin lactate liposome gel shows an evident targeting effect on skin. Liposome may be able to enhance the permeation of levofloxacin into skin but does not increase blood drug concentration.

KEY WORDS: levofloxacin lactate; liposome gel; percutaneous penetration.

近年来, 脂质体由于有与生物膜具有相似的结构, 能较好地包裹亲水或亲脂性药物, 可使包封药物