

# 卡培他滨/聚乙二醇1000/蒙脱石复合物在大鼠体内的药动学研究<sup>△</sup>

孔令钰\*, 杨萍, 郝迪, 王倩(天津市医药科学研究所, 天津 300020)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)19-2641-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.19.15

**摘要** 目的:建立测定大鼠卡培他滨(CAP)血药浓度的方法,并用于卡培他滨/聚乙二醇1000/蒙脱石(CAP/PEG1000/MMT)复合物在大鼠体内的药动学研究。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>,流动相为0.1%冰醋酸-乙腈(73:27),流速为1.0 ml/min,检测波长为250 nm,柱温为40 ℃,进样量为10 μl。将18只Wistar大鼠随机分为CAP组、CAP/MMT组(MMT为载体)和CAP/PEG1000/MMT组(PEG1000/MMT为载体),分别ig给予相当于CAP 200 mg/kg的药物。分别于给药15、30、60、90、120、180、240、300、360 min后取血,分离血浆,加内标阿魏酸,经甲醇沉淀蛋白后,用HPLC法测定其血药浓度,利用3p97软件计算药动学参数。结果:CAP检测质量浓度的线性范围为0.054 9~4.390 0 μg/ml( $r=0.998 2$ );方法回收率为98.2%~102.1%(RSD为1.50%~3.29%, $n=5$ ),提取回收率为76.2%~78.9%(RSD为2.29%~2.99%, $n=5$ )。CAP、CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT组的 $t_{1/2}$ 分别为(1.11±0.32)、(1.57±0.32)、(1.62±0.10) h, $c_{max}$ 分别为(2.91±0.36)、(0.91±0.23)、(0.91±0.14) μg/ml,AUC<sub>0-6 h</sub>分别为(8.70±1.79)、(3.76±0.27)、(3.73±0.25) μg·h/ml, $t_{max}$ 分别为(0.97±0.20)、(1.55±0.47)、(1.50±0.07) h。CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT组间药动学参数差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论:建立的方法可靠、简便,可用于CAP/PEG1000/MMT在大鼠体内的药动学研究。MMT和PEG1000/MMT复合物均能使CAP在体内的作用时间延长。

**关键词** 卡培他滨;蒙脱石;聚乙二醇1000;大鼠;药动学

## Study on Pharmacokinetics of Capecitabine/Polyethylene Glycol 1000/Montmorillonite Compound in Rats *in vivo*

KONG Ling-yu, YANG Ping, HAO Di, WANG Qian (Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method of determining the plasma concentration of capecitabine/polyethylene glycol 1000/montmorillonite (CAP/PEG1000/MMT) in rats' plasma for the study on pharmacokinetics of CAP compound in rats *in vivo*. METHODS: HPLC was adopted. The determination was performed on Kromasil C<sub>18</sub> with mobile phase consisted of 0.1% glacial acetic acid-acetonitrile (73:27), at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 250 nm and column temperature was 40 ℃. The sample size was 10 μl. 18 Wistar rats were randomly divided into CAP group, CAP/MMT group (MMT as carrier) and CAP/PEG1000/MMT group (PEG1000/MMT as carrier) and ig given corresponding drugs, that equal to 200 mg/kg of CAP. Blood sample was respectively taken 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 and 360 min after the administration of drugs, and plasma was isolated and added with internal standard ferulic acid. The concentration of the drug in the plasma was determined by HPLC following protein precipitation with methanol, based on which the pharmacokinetic parameters were calculated by 3p97 software. RESULTS: The linear range of CAP was 0.054 9-4.390 0 μg/ml ( $r=0.998 2$ ) with the method recovery of 98.2%-102.1% (RSD=1.50%-3.29%,  $n=5$ ) and absolute recovery of 76.2%-78.9% (RSD=2.29%-2.99%,  $n=5$ ). In the above-mentioned three groups,  $t_{1/2}$  were (1.11±0.32), (1.57±0.32) and (1.62±0.10) h;  $c_{max}$  were (2.91±0.36), (0.91±0.23) and (0.91±0.14) μg/ml; AUC<sub>0-6 h</sub> were (8.70±1.79), (3.76±0.27) and (3.73±0.25) μg·h/ml; and  $t_{max}$  were (0.97±0.20), (1.55±0.47) and (1.50±0.07) h, respectively. There was no significant difference in the pharmacokinetic parameters between the CAP/MMT group and CAP/PEG1000/MMT group ( $P>0.05$ ). CONCLUSIONS: The method is reliable and simple, and can be used for pharmacokinetic study of CAP/PEG1000/MMT in rats. MMT and PEG1000/MMT compound can prolong CAP acting time in the body.

**KEYWORDS** Capecitabine; Montmorillonite; Polyethylene glycol 1000; Rats; Pharmacokinetics

卡培他滨(Capecitabine, CAP)是一种对肿瘤细胞有选择性活性的口服细胞毒性药物,在体内代谢为5-氟尿嘧啶后起作用,对胃肠道肿瘤有极佳的治疗效果,但其消除半衰期较短、腹泻副作用明显<sup>[1-4]</sup>。蒙脱石(Montmorillonite, MMT)由于颗粒小、表面积大、带电不均匀等,使其具有强吸附性、悬浮性、分散性和阳离子可交换性等特点,可作为CAP的药物载

体<sup>[5-6]</sup>。聚乙二醇1000(PEG1000)可增大MMT层间距、比表面积和增加MMT载药量<sup>[7-9]</sup>,故PEG1000/MMT复合物可作为CAP缓释制剂的药物载体,延长CAP在体内的滞留时间。笔者建立了测定大鼠CAP血药浓度的方法,通过测定大鼠体内CAP/PEG1000/MMT复合物的血药浓度,并计算药动学参数,验证了PEG1000/MMT复合物对CAP的缓释作用。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-2010A HT型高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公

<sup>△</sup>基金项目:天津市卫生局科技基金(No.2012KY33)

\* 助理研究员。研究方向:药物制剂、药物分析。E-mail: lingyu\_kong@163.com

司);AE240型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);TGL-16G型高速离心机(上海安亭科学仪器厂,离心半径:8 cm)。

## 1.2 药品与试剂

CAP原料药(南京康德祥医药科技有限公司,批号:20130201,纯度:99.12%);CAP/MMT复合物(批号:201403,载药量:18.7%);CAP/PEG1000/MMT复合物(批号:201405,载药量:22.96%)均为天津市医药科学研究所自制;CAP对照品(美国USP标准品公司,批号:1090706,纯度:99.7%);阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110773-201012,纯度:99.6%);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。

## 1.3 动物

健康清洁级Wistar大鼠18只,♀♂兼半,体质量(220±20)g,由中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所提供[实验动物使用许可证号:SCXK-(军)2009-003]。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1%冰醋酸-乙腈(73:27),流速:1.0 ml/min;检测波长:250 nm;柱温:40℃;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取CAP对照品11.01 mg,加甲醇制备成质量浓度为219.5 μg/ml的CAP对照品贮备液。精密量取CAP对照品贮备液1 ml,加甲醇稀释成质量浓度为2.195 μg/ml的CAP对照品溶液,备用。

2.2.2 标准溶液的制备 精密吸取CAP对照品贮备液0.1、1、2 ml,分别用甲醇稀释成0.219 5、2.195 0、4.390 0 μg/ml的标准溶液;再取质量浓度为0.219 5 μg/ml的标准溶液2.5、5 ml,分别用甲醇稀释成质量浓度为0.054 9、0.109 8 μg/ml的标准溶液,备用。

2.2.3 内标溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品11.31 mg(纯度以99.6%计),加甲醇制备成质量浓度为225.3 μg/ml的内标贮备液。精密量取内标贮备液1 ml,加甲醇稀释成质量浓度为2.253 μg/ml的内标溶液,备用。

### 2.3 血浆样品预处理

精密吸取300 μl血浆样品,加入10 μl阿魏酸内标溶液,涡旋30 s;加甲醇1 ml,涡旋2 min。以离心半径为8 cm、10 000 r/min离心10 min,取上清液1 ml,氮气吹干,残留物加流动相200 μl涡旋溶解10 s,取10 μl进行HPLC分析。

### 2.4 专属性考察

取大鼠空白血浆2份,每份300 μl,其中1份加10 μl CAP对照品溶液和10 μl内标溶液;另再分别取给药CAP、CAP/MMT、CAP/PEG1000/MMT 300 min后的大鼠血浆1份,每份300 μl,加入10 μl内标溶液。5份血浆按“2.3”项下自“加甲醇1 ml”后方法处理,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示,CAP和其他杂质峰的分度大于2.0,空白血浆中的内源性物质及其他成分不干扰CAP及内标的测定,表明实验方法的专属性良好。色谱图见图1。

### 2.5 标准曲线、定量限与检测限考察

精密量取各质量浓度的CAP标准溶液10 μl,分别加至300 μl空白血浆中,按“2.3”项下方法处理后,进样检测。以

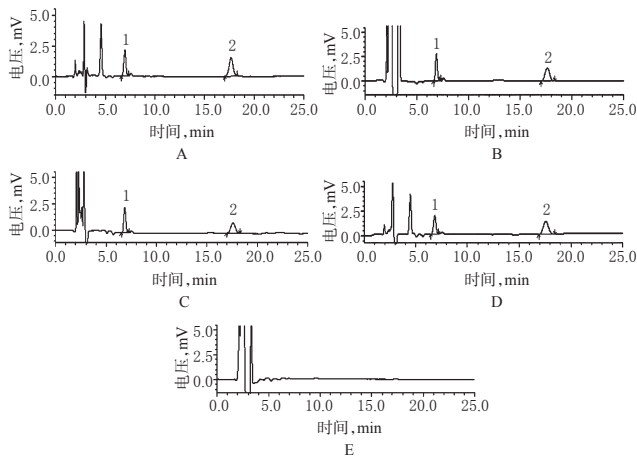


图1 高效液相色谱图

A. CAP对照品+内标+空白血浆;B. CAP血浆样品;C. CAP/MMT血浆样品;D. CAP/PEG1000/MMT血浆样品;E.空白血浆;1.内标;2.CAP

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance of CAP+internal standard+blank plasma; B. plasma sample of CAP; C. plasma sample of CAP/MMT; D. plasma sample of CAP/PEG1000/MMT; E. blank plasma; 1. internal standard; 2. CAP

CAP标准溶液与内标溶液的峰面积之比(y)对CAP质量浓度(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=78.593x+0.1479$ ( $r=0.9982$ )。结果,CAP检测质量浓度线性范围为0.054 9~4.390 0 μg/ml;CAP的定量限为54.9 ng/ml,检测限为10.98 ng/ml。

### 2.6 回收率和精密度试验

精密吸取空白血浆3份,每份300 μl,加入不同质量浓度的CAP标准溶液10 μl,制备成低、中、高质量浓度(0.109 8、1.098、2.195 μg/ml)的血浆样品各5份,按“2.3”项下方法处理后,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算方法回收率。另用流动相制备质量浓度分别为0.109 8、1.098、2.195 μg/ml的标准溶液各5份,进样测定,计算提取回收率。同一样品,同日内测定5次,连续测定5 d,分别考察日内和日间精密度。结果表明,回收率和日内、日间精密度均良好,结果见表1。

表1 回收率和精密度试验结果(n=5)

Tab 1 The results of recovery and precision tests(n=5)

加入量, μg/ml	方法回收率		提取回收率		日内RSD, %	日间RSD, %
	$\bar{x} \pm s$	RSD, %	$\bar{x} \pm s$	RSD, %		
0.109 8	98.2±1.47	1.50	76.2±2.28	2.99	1.47	2.89
1.098	100.5±2.83	2.82	78.9±1.81	2.29	1.69	2.35
2.195	102.1±3.36	3.29	77.3±2.11	2.73	1.62	2.21

### 2.7 稳定性试验

考察CAP的高、中、低质量浓度样品在室温、-20℃条件下保存10 d、反复冻融3次后的稳定性。精密吸取空白血浆300 μl,加入不同质量浓度的CAP标准溶液10 μl,制备成低、中、高质量浓度(0.109 8、1.098、2.195 μg/ml)的血浆样品各5份,按上述条件保存后,依法处理并测定,将所得结果与初始样品测定结果相比,RSD均在15%以内,表明血浆样品在上述条件下稳定性良好。

### 2.8 药动学研究

2.8.1 给药剂量依据 根据人每次口服CAP剂量为30.7

mg/kg,折算为大鼠剂量200 mg/kg。

2.8.2 给药与取血方案 取Wistar大鼠18只,随机分成CAP、CAP/MMT、CAP/PEG1000/MMT 3组,禁食、自由饮水12 h后,分别ig给予单剂量的CAP(200 mg/kg)、CAP/MMT复合物(1 070 mg/kg,相当于CAP 200 mg/kg)和CAP/PEG1000/MMT复合物(871 mg/kg,相当于CAP 200 mg/kg)。各组分别于给药后15、30、60、90、120、180、240、300、360 min,采用毛细管从大鼠眼眶静脉丛取血约0.8 ml,置于肝素抗凝预处理的1.5 ml离心管中,样品以离心半径为8 cm、5 000 r/min离心10 min,分离血浆,-20℃保存。

2.8.3 药动学结果 将血浆按“2.3”项下方法处理、按“2.1”项下色谱条件进样测定后,代入“2.5”项下回归方程计算血药浓度。以时间( $t$ )为横坐标、血药浓度( $c$ )为纵坐标,绘制血药浓度-时间曲线,结果见图2。采用3p97软件对数据进行分析处理,计算药动学参数,结果见表2。

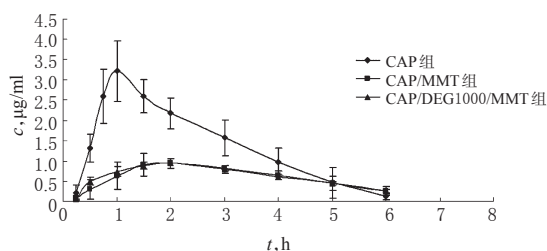


图2 血药浓度-时间曲线( $n=6$ )

Fig 2 Plasma concentration-time curves( $n=6$ )

表2 3种试药在大鼠体内的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of 3 formulations in the rats *in vivo* ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	CAP组	CAP/MMT组	CAP/PEG1000/MMT组
$c_{max}, \mu\text{g/ml}$	$2.91 \pm 0.36$	$0.91 \pm 0.23^*$	$0.91 \pm 0.14^*$
$t_{max}, \text{h}$	$0.97 \pm 0.20$	$1.55 \pm 0.47^*$	$1.50 \pm 0.07^*$
$t_{1/2}, \text{h}$	$1.11 \pm 0.32$	$1.57 \pm 0.32^*$	$1.62 \pm 0.10^*$
$k_e, \text{h}^{-1}$	$0.59 \pm 0.24$	$0.46 \pm 0.09$	$0.43 \pm 0.03$
$\text{AUC}_{0-6\text{h}}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	$8.70 \pm 1.79$	$3.76 \pm 0.27^*$	$3.73 \pm 0.25^*$
$\text{AUC}_{0-\infty}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	$9.48 \pm 3.01$	$3.97 \pm 0.31^*$	$3.91 \pm 0.23^*$

注:与CAP组比较,\* $P<0.05$

Note: vs. CAP group, \* $P<0.05$

根据3p97软件处理结果的 $F$ 检验和AIC值可知,CAP、CAP/MMT、CAP/PEG1000/MMT在大鼠体内的药动学行为均符合一室模型。与CAP组比较,CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT组的 $t_{max}$ 、 $t_{1/2}$ 明显增加( $P<0.05$ ), $k_e$ 减小,可见MMT和PEG1000/MMT复合物均能使CAP在体内作用时间延长。但CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT两组药动学参数差异无统计学意义( $P>0.05$ ),说明MMT和PEG1000/MMT复合物对

CAP在大鼠体内的作用时间延长上差异不明显。

### 3 讨论

笔者建立了测定大鼠血浆中CAP血药浓度的方法。该方法的准确度、精密性、灵敏度、专属性及线性等均符合生物样品的分析要求,可用于大鼠体内CAP/PEG1000/MMT复合物的药动学研究。前期试验分别以乙腈和甲醇为蛋白沉淀剂,其中甲醇的回收率较乙腈高,故最终选择甲醇为蛋白沉淀剂。

由药动学参数可知,采用MMT和PEG1000/MMT作为CAP载体都可延长CAP的达峰时间和半衰期,说明延长了药物的作用时间。CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT复合物的体外释放试验显示两者不能使CAP完全释放,最大释放量均在40%左右,导致体内CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT复合物的 $\text{AUC}_{0-6\text{h}}$ 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 、 $c_{max}$ 都有所降低。CAP/MMT和CAP/PEG1000/MMT相比较,药动学参数相差不大,表明PEG1000进入MMT层间通道,在MMT内形成有机层,增大了MMT层间距,提高了MMT比表面积,增加了MMT的载药量,延长了CAP在体内的滞留时间,但不影响其释放。

### 参考文献

- [1] 安富荣,戈升荣,祝德秋.卡培他滨的药理特性及临床应用进展[J].中国新药与临床杂志,2002,21(8):503.
- [2] 贾宝辉.新型选择性肿瘤化疗药物卡培他滨[J].国外医学药学分册,2002,29(5):282.
- [3] 马新成,魏长凤,岳建华.卡培他滨[J].齐鲁药事,2005,24(10):638.
- [4] Mader RM, Schrolnberger C, Rizovski B, et al. Penetration of capecitabine and its metabolites into malignant and healthy tissues of patients with advanced breast cancer[J]. *British Journal of Cancer*, 2003, 88(5):782.
- [5] 廖才智.聚合物/蒙脱土纳米复合材料研究进展[J].广东化工,2010,37(8):16.
- [6] 邓春兰,于明安,王馨,等.蒙脱石作为药用辅料及药物载体的研究进展[J].硅酸盐通报,2013,32(3):414.
- [7] 李涛.多用途聚乙二醇产品的市场和应用[J].石油化学技术与经济,2010,26(2):24.
- [8] 卢其明,孙克君,廖宗文.不同分子质量聚乙二醇在蒙脱石层间的吸附作用[J].矿物学报,2004,24(4):354.
- [9] 韦莉萍,徐耿明,邱玉超.超声波技术制备聚乙二醇/蒙脱石插层复合物[J].第一军医大学分校学报,2004,12(27):107.

(收稿日期:2014-12-02 修回日期:2014-12-31)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅