

新型胰岛素增敏剂2-甲基-1-(4-氯苯甲酰基)-5-苄氧基-1H-吲哚-3-乙酸在大鼠体内的药动学研究^Δ

黄 静*, 陆 苑, 饶光玲, 李桂兰, 汤 磊[#](贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

中图分类号 R965;R587.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2314-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.04

摘要 目的:研究新型胰岛素增敏剂2-甲基-1-(4-氯苯甲酰基)-5-苄氧基-1H-吲哚-3-乙酸(GY3)在大鼠体内的药动学特征。方法:采用反相高效液相色谱法,检测8只大鼠灌胃给予GY3溶液45 mg/kg后0.25、0.5、1.5、2.5、4.0、5.0、7.0、9.0、12.0、16.0、20.0、24.0、28.0、36.0 h的血药浓度,用DAS 2.0药动学软件计算其药动学参数。色谱条件:色谱柱为Shimadzu C₁₈,流动相为甲醇-0.1%磷酸(76:24),流速为1 ml/min,检测波长为253 nm,柱温为25 ℃,进样量为20 μl。结果:GY3检测质量浓度的线性范围为5.0~160.0 μg/ml($r=0.999\ 6$),绝对回收率为96.96%~100.22%。药动学参数 t_{max} 为(2.75±2.32) h, c_{max} 为(22.34±9.61) μg/ml, $AUC_{0-\infty}$ 为(187.85±115.08) μg·h/ml, $t_{1/2\beta}$ 为(6.99±0.99) h。结论:GY3在大鼠体内的药-时曲线特征符合血管外给药一级吸收二室模型。**关键词** 2-甲基-1-(4-氯苯甲酰基)-5-苄氧基-1H-吲哚-3-乙酸;反相高效液相色谱法;大鼠;血药浓度;药动学

Pharmacokinetics Study of New Insulin Sensitizer 2-methyl-1-(4-chlorobenzoyl)-5-benzyloxy-1H-indole-3-Acetic Acid in Rats

HUANG Jing, LU Yuan, RAO Guang-ling, LI Gui-lan, TANG Lei (School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the pharmacokinetics characteristics of new insulin sensitizer 2-methyl-1-(4-chlorobenzoyl)-5-benzyloxy-1H-indole-3-acetic acid (GY3) in rats. **METHODS:** RP-HPLC method was adopted. The blood concentration of GY3 in 8 rats were determined 0.25, 0.5, 1.5, 2.5, 4.0, 5.0, 7.0, 9.0, 12.0, 16.0, 20.0, 24.0, 28.0 and 36.0 h after given 45 mg/kg. Pharmacokinetic parameters were calculated by the DAS 2.0 software. The determination was performed on Shimadzu C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (76:24) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 253 nm and column temperature was 25 ℃. The sample size was 20 μl. **RESULTS:** Linear range of GY3 were 5.0-160.0 μg/ml ($r=0.999\ 6$) with absolute recovery of 96.96%-100.22%. Pharmacokinetic parameters were as follows: t_{max} was (2.75±2.32) h; c_{max} was (22.34±9.61) μg/ml; $AUC_{0-\infty}$ was (187.85±115.08) μg·h/ml; $t_{1/2\beta}$ was (6.99±0.99) h. **CONCLUSIONS:** Pharmacokinetic concentration-time curve of GY3 in rats is in line with first-order absorption two-compartment model.

KEY WORDS 2-methyl-1-(4-chlorobenzoyl)-5-benzyloxy-1H-indole-3-Acetic acid; RP-HPLC; Rats; Blood concentration; Pharmacokinetics

糖尿病是一种严重危害人类健康的内分泌疾病,其所致的各种并发症已成为患者致残、致死的主要原因之一。2型糖尿病发病的主要原因是机体对胰岛素作用产生了拮抗,所以胰岛素增敏剂的研究越来越引起新药研究人员的注意^[1-3]。新一代胰岛素增敏剂的开发,主要集中在非噻唑烷二酮类化合物的设计与合成^[4]。2-甲基-1-(4-氯苯甲酰基)-5-苄氧基-1H-吲哚-3-乙酸(GY3)为贵阳医学院自主设计合成的非噻唑烷二酮类新型胰岛素增敏剂,具有突出的胰岛素增敏作用^[5-7]。基于GY3潜在的医疗价值,本研究采用反相高效液相色谱法测定大鼠血浆中GY3的浓度,并研究该新化合物在大鼠体内的药动学特征。

GY3的结构式见图1。

1 材料

Δ 基金项目:国家自然科学基金(No.30960462);贵州省优秀科技教育人才省长专项基金(No.黔科合人字[2009]81号);贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金项目(No.黔科合人字[2009]24);贵州省科学技术基金(No.黔科合J字[2012]2031号)

* 副教授,硕士。研究方向:药物质量控制与药动学。电话:0851-6908568。E-mail:huangjgy@sohu.com

通信作者:教授。研究方向:药物合成设计与药动学。电话:0851-6908568。E-mail:tlei1974@163.com

1.1 仪器

LC-10Avp 高效液相色谱仪(日本岛津公司);XH-B型漩涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司);80-2B型离心机(湖南星科科学仪器有限公司);TGL-16G型离心机(上海安亭科学仪器厂);MTN-2800D型氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);KH-600E型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

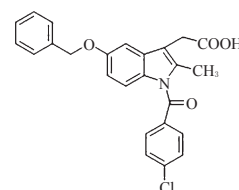


图1 GY3的化学结构式
Fig 1 Chemical structure of GY3

1.2 药品与试剂

GY3原料药(贵阳医学院药物化学教研室提供,经高效液相色谱及核磁共振鉴定纯度大于98%);吲哚美辛对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100258-200904,纯度:99.9%);磷酸、甲基叔丁基醚、磷酸二氢铵均为分析纯,甲醇为色谱纯。

1.3 动物

SD大鼠,♀♂各半,体质量220~250 g,贵阳医学院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(黔)2012-0001。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

精密称取GY3原料药适量,加入少量甲醇溶解并定容,配

制成1 mg/ml的GY3贮备液;精密称取内标吡喹酮对照品适量,用甲醇溶解并定容,配制成10 mg/ml的内标溶液,所有溶液置于4℃冰箱保存待用。

2.2 血浆样品的处理

取内标溶液(10 μg/ml) 200 μl,置于具塞试管中,氮气吹干,加入200 μl血浆样品,再加入pH 2.5的磷酸二氢铵缓冲液100 μl、甲基叔丁基醚4 ml,涡旋混合20 min,3 500 r/min离心10 min,吸取有机层,氮气吹干,残渣加入200 μl甲醇溶解,待测。

2.3 色谱条件与专属性试验

色谱柱:Shimadzu C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(76:24),流速:1 ml/min;检测波长:253 nm;柱温:25℃;进样量:20 μl。空白血浆、空白血浆+GY3+内标、血浆样品(灌胃后45 min)+内标的色谱图见图2。

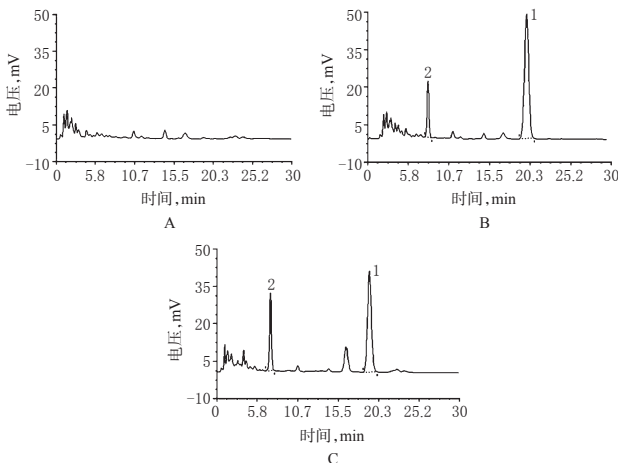


图2 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+GY3+内标;C.血浆样品+内标;1.GY3;2.内标

Fig 2 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+GY3+internal standard; C. plasma sample+internal standard; 1. GY3; 2. internal standard

由图2可知,GY3的保留时间约为19.2 min,内标的保留时间约为7.4 min,辅料对主药的测定无干扰,表明本方法具有较好的特异性。

2.4 标准曲线的制备

取GY3贮备液稀释成5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、100.0、160.0 μg/ml的系列标准液。取空白血浆200 μl,置于具塞试管中,依次加入上述标准液200 μl,按“2.2”项下方法处理,进样测定,记录色谱。以质量浓度(c)为横坐标、GY3与内标峰面积比(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得标准曲线方程为 $y=0.111414c+0.013435$ ($r=0.9996$)。结果表明,GY3检测质量浓度的线性范围为5.0~160.0 μg/ml,定量限为5.0 μg/ml。

2.5 基质效应与绝对回收率考察

取空白血浆200 μl,置于离心管内,按“2.2”项下方法处理,氮气吹干后,分别用质量浓度为10、40、100 μg/ml(低、中、高)的GY3标准液200 μl复溶,每个质量浓度配制5份样品,取20 μl进样测定,计算GY3与内标峰面积比值(I)与同样浓度的GY3标准液直接进样获得的峰面积(II)的比值,考察基质效应。结果表明,GY3低、中、高质量浓度血浆样品的基质效应分别为(106.82±9.91)%、(110.43±6.02)%、(102.02±8.40)%,可见该方法基质效应小,具有特异、专属地测定分析物质的能力。

分别配制质量浓度为10、40、100 μg/ml(低、中、高)的血浆样品,各5份,按“2.2”项下方法处理,进样测定,计算血浆样品

中GY3与内标峰面积比值(III),以 $III/I \times 100\%$ 计算绝对回收率。结果表明,低、中、高质量浓度的血浆样品的绝对回收率分别为99.05%、100.22%、96.96%,RSD分别为6.60%、2.29%、3.38%。

2.6 精密度考察

分别配制质量浓度为10、40、100 μg/ml(低、中、高)的血浆样品,各5份,按“2.2”项下方法处理,进样测定,连续进样3 d,考察日内精密度和日间精密度。结果表明,低、中、高质量浓度的血浆样品的日内RSD分别为2.34%、4.03%、2.72%,日间RSD分别为2.34%、4.03%、2.72%。

2.7 样品稳定性考察

分别配制质量浓度为10、40、100 μg/ml(低、中、高)的血浆样品,各5份,分别将处理前后的2批样品置于室温下放置24 h,另将1批样品反复冻融3次,然后按“2.2”项下方法处理,进样测定,记录峰面积。结果表明,低、中、高质量浓度的血浆样品处理前室温放置24 h测定值的RSD分别为2.64%、4.31%、5.39%,处理后室温放置24 h测定值的RSD分别为3.39%、5.75%、7.61%;反复冻融3次测定值的RSD分别为6.60%、2.29%、3.38%。

2.8 药动学研究

2.8.1 GY3灌胃溶液的制备。精密称取45 mg GY3原料药,置于10 ml量瓶中,加少量蒸馏水将其润湿,加入0.1 ml聚山梨酯80,研磨均匀后,蒸馏水定容,超声分散均匀即可。

2.8.2 实验方法。取大鼠8只,♀♂各半,实验前禁食12 h,正常饮水。大鼠称质量后按常用剂量换算灌胃给予GY3灌胃溶液,剂量为45 mg/kg,于灌胃给药后0.25、0.5、1.5、2.5、4.0、5.0、7.0、9.0、12.0、16.0、20.0、24.0、28.0、36.0 h断尾取血0.5 ml,置于肝素化离心管中,3 000 r/min离心10 min,按“2.2”项下方法处理,进样测定血药浓度。采用DAS 2.0药动学软件进行拟合,计算GY3在大鼠体内的药动学参数。

2.8.3 结果。GY3在大鼠体内的平均药-时曲线见图3。

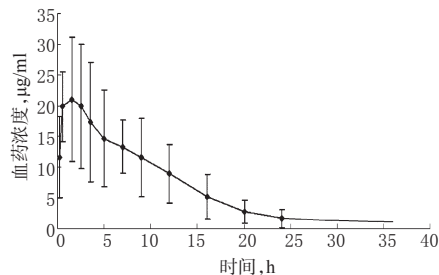


图3 GY3在大鼠体内的平均药-时曲线(n=8)

Fig 3 Mean plasma concentration-time curve of GY3 in rats (n=8)

由图3可知,灌胃给予GY3后,8只大鼠的血药浓度均在2.5 h左右达峰值,在给药后12 h时的血药浓度仍然较高,为峰值的40%左右,至给药后20 h血药浓度下降至峰值的10%,给药后24 h的血浆中仍可检测到GY3。GY3在大鼠体内的药-时曲线特征符合血管外给药一级吸收二室模型。GY3在大鼠体内的药动学参数 $t_{1/2\alpha}$ 为(2.17±0.99) h、 $t_{1/2\beta}$ 为(6.99±0.99) h、 t_{max} 为(2.75±2.32) h、 V 为(3.23±1.91) L/kg、CL为(0.33±0.22) L/(h·kg)、 AUC_{0-36h} 为(178.32±107.98) μg·h/ml、 $AUC_{0-\infty}$ 为(187.85±115.08) μg·h/ml、 K_s 为(0.56±0.54) h⁻¹、 c_{max} 为(22.34±9.61) μg/ml,表明GY3在大鼠体内的分布较慢,消除也较慢,原因可能是其水溶性较差,影响了其吸收和消除,从而造成其在大鼠体内停留时间较长。

新型肾靶向脂质体配体葡萄糖-胆固醇偶联物的合成^Δ

李 勋*, 屈博毅, 海 俐, 吴 勇[#](四川大学华西药学院, 成都 610041)

中图分类号 R94;R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2316-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.05

摘要 目的:合成一种新型的肾靶向脂质体配体葡萄糖-胆固醇偶联物。方法:以胆固醇为原料,将其与对甲苯磺酰氯作用后,以丁二醇取代甲苯磺酰氧基,再经甲磺酰氯磺酰化制得化合物4-(5-胆甾烯-3-氧基)-1-甲磺酰氧基丁烷,再与1,2,3,4-四-*O*-乙酰基-1-硫基-吡喃葡萄糖在碘化钾作用下偶合,经甲酸钠脱保护得到目标化合物。经红外光谱(IR)、核磁共振氢谱(¹H-NMR)、质谱(MS)确证其化学结构。结果:目标化合物经确证为葡萄糖-胆固醇偶联物,总收率为63.45%,纯度为98%。结论:该方法合成目标化合物路线简单,收率较高。

关键词 肾靶向脂质体配体;胆固醇;葡萄糖;合成;葡萄糖-胆固醇偶联物

Synthesis of Glucosyl Cholesterol Conjugation for Novel Kidney Targeting Liposome Ligand

LI Xun, QU Bo-yi, HAI Li, WU Yong (West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To synthesis a glucosyl cholesterol conjugation for novel kidney targeting liposome ligand. METHODS: Cholesterol as raw material and toluene sulfochloride were coupled, substituted with butanediol and then sulfonated to furnish 4-(5-cholestene-3-oxyl)-1-methylsulfonyl-oxyl butane. The coupling reaction of 4-(5-cholestene-3-oxyl)-1-methylsulfonyl-oxyl butane and 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-1-sulf-hydril glucopyranose with potassium iodide afforded compound, which was released deprotection by sodium methoxide to obtain the target compound. The chemical structure of compound was confirmed by IR, ¹H-NMR and MS. RESULTS: The target compound was glucosyl cholesterol conjugation with a yield rate of 63.45% and a purity of 98%. CONCLUSIONS: The target compound is synthesized through a facial way with high yield.

KEY WORDS Kidney targeting liposome ligand; Cholesterol; Glucose; Synthesis; Glucosyl cholesterol conjugation

肾脏是维持机体内环境相对稳定的重要器官之一,如果肾功能发生障碍,会引起新陈代谢紊乱,严重时将危及生命。由于治疗肾脏疾病需长期用药,且所用药物存在不同程度的肾外效应,靶向性不强,因此,药物的肾靶向研究很有必要,用

以增加药物的安全性和有效性^[1]。近年来研究^[2-4]证明,肾小管细胞基底膜和上部存在糖分子介导的主动转运过程,尤其是巯基化葡萄糖化合物,与肾膜的亲和性较其他器官的亲和性高,是肾靶向的合适载体。以巯基葡萄糖为载体制备的前体

3 讨论

GY3是非噻唑烷二酮类胰岛素增敏剂中效果较为突出的一种新化合物,是吡嗪美辛(消炎痛)的衍生物。笔者对其溶解性作了考察,结果显示GY3在甲醇、乙醇及醚类溶剂中溶解良好,故配制GY3标准液时使用甲醇为溶剂,且在实验过程中尽量避光、冷藏。

笔者就血浆样品的预处理方法分别考察了蛋白沉淀法(以甲醇为蛋白沉淀剂)和萃取法(以甲基叔丁基醚为萃取溶剂)的提取回收率。实验结果显示,萃取法提取回收率明显高于蛋白沉淀法,且操作简便、快速,故本实验采用萃取法。

在研究其定量分析方法时,笔者参考了文献报道的血浆中吡嗪美辛的测定方法^[6-10],色谱条件流动相选择甲醇-0.1%磷酸(76:24),以吡嗪美辛为内标,出峰时间和分离度均较好。

参考文献

- [1] 刘星,王亚楼. II型糖尿病治疗药物的现状和开发动态[J]. 药学实践杂志, 2004, 22(1): 1.
- [2] 史可吟,刘长义. 糖尿病新靶点药物的研发进展[J]. 中国

新药杂志, 2008, 17(12): 994.

- [3] 王智峰,朱峰,李秋梅. 我国2型糖尿病的发病现状、原因及防治探讨[J]. 亚太传统医药, 2010, 9(6): 151.
- [4] 陈秋,夏永鹏,邱宗荫. 胰岛素增敏剂的研究进展[J]. 国外医学药学分册, 2005, 32(1): 28.
- [5] Li YY, Wu HS, Tang L, *et al.* The potential insulin sensitizing and glucose lowering effects of a novel indole derivative in vitro and in vivo[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 56(4): 335.
- [6] 汤磊,李煜,王建塔. 2-甲基-1-(4-氯苯甲酰基)-5-苄氧基-1H-吡啶-3-乙酸的合成[J]. 化学试剂, 2008, 30(5): 351.
- [7] Si M, Yan Y, Tang L, *et al.* A novel indole derivative compound GY3 improves glucose and lipid metabolism via activation of AMP-activated protein kinase pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1/3): 480.
- [8] 庞家莲,谈恒山. 高效液相色谱法同时测定人血浆中阿西美辛及其代谢物吡嗪美辛的浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(4): 246.
- [9] 董薇,肇丽梅,张彩霞,等. 荷瘤与正常小鼠血浆及瘤体中吡嗪美辛药动学研究[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(1): 48.
- [10] 胡玉钦,刘会臣,马锐,等. 高效液相色谱法测定人血清中阿西美辛和吡嗪美辛[J]. 色谱, 1999, 17(6): 586.

(收稿日期:2012-12-06 修回日期:2013-03-10)

Δ 基金项目:国家自然科学基金项目(No.81072532)

* 硕士研究生。研究方向:靶向药物和手性药物。电话:028-85503235。E-mail:245082567@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:靶向药物和手性药物。电话:028-85503666。E-mail:tgxx903@163.com