

# 利托那韦对舒芬太尼在家兔体内药动学的影响<sup>Δ</sup>

张雪松<sup>1\*</sup>, 张莹<sup>1</sup>, 张雪岩<sup>2</sup>(1.上海市公共卫生临床中心麻醉科, 上海 201508; 2.复旦大学附属中山医院青浦分院, 上海 201700)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)22-3048-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.22.08

**摘要** 目的:研究利托那韦对舒芬太尼在家兔体内药动学的影响。方法:将24只家兔随机分为两组,每组12只,实验组ig利托那韦10 mg/kg,5 min后iv舒芬太尼2 μg/kg;对照组ig同等容量生理盐水后iv舒芬太尼2 μg/kg。分别于ig前和iv后0、0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、14、24 h自兔耳中央动脉取血0.3 ml,采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)测定血浆中舒芬太尼的浓度, DAS2.0软件计算药动学参数。结果:两组家兔体内舒芬太尼药动学过程均符合二室模型;对照组与实验组家兔体内舒芬太尼的药动学参数 $t_{1/2}$ 分别为(22.0 ± 6.59)、(26.4 ± 1.41) h, MRT<sub>0-24 h</sub>分别为(8.6 ± 2.08)、(12.1 ± 3.70) h, AUC<sub>0-∞</sub>分别为(16.1 ± 5.17)、(38.1 ± 12.95) mg·h/L;两组间MRT<sub>0-24 h</sub>、AUC<sub>0-∞</sub>差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:利托那韦可提升舒芬太尼在家兔体内的分布,延长舒芬太尼滞留时间。

**关键词** 舒芬太尼;利托那韦;药动学;液相色谱-串联质谱法;药物相互作用;家兔

## Effects of Ritonavir on the Pharmacokinetics of Sufentanil in Rabbits

ZHANG Xuesong<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, ZHANG Xueyan<sup>2</sup>(1.Dept. of Anesthesiology, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China; 2.Qingpu Branch, Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 201700, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects of ritonavir on the pharmacokinetics of sufentanil in rabbits. METHODS: 24 rabbits were randomly divided into 2 groups, with 12 rabbits in each group. Trial group was given ritonavir 10 mg/kg by gavage and then injected sufentanil 2 μg/kg intravenously after 5 min. Control group was given equal volume of normal saline by gavage and then injected sufentanil 2 μg/kg intravenously. Arterial blood samples 0.3 ml were taken before gavage and 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24 h after intravenous administration. The plasma concentrations of sufentanil were determined by LC-MS/MS, and DAS 2.0 software was adopted to calculate pharmacokinetic parameters. RESULTS: The pharmacokinetic change of sufentanil conformed to two-compartment model in 2 groups. The pharmacokinetic parameters of sufentanil in control group vs. trial group were that  $t_{1/2}$  were (22.0 ± 6.59) and (26.4 ± 1.41) h; MRT<sub>0-24 h</sub> were (8.6 ± 2.08) and (12.1 ± 3.70) h; AUC<sub>0-∞</sub> were (16.1 ± 5.17) and (38.1 ± 12.95) mg·h/L, respectively. There was statistical significance in MRT<sub>0-24 h</sub> and AUC<sub>0-∞</sub> between 2 groups ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Ritonavir can elevate distribution of sufentanil in rabbits, and prolong retention time of sufentanil.

**KEYWORDS** Sufentanil; Ritonavir; Pharmacokinetics; LC-MS/MS; Drug interactions; Rabbits

获得性免疫缺陷综合征(又称艾滋病, AIDS)是人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)引起的严重危害人类健康的传染性疾病<sup>[1]</sup>。利托那韦(Ritonavir)为HIV-1和HIV-2天冬氨酸蛋白酶抑制剂,通过阻断该酶使HIV前蛋白不能裂解为成熟蛋白,从而减慢HIV在细胞中的蔓延,以防止新一轮感染的发生和延迟疾病的发展。利托那韦对细胞色素P<sub>450</sub>(CYP)3A4具有较强的抑制作用,因此会减慢通过该酶介导的药物代谢,增加这些药物的血药浓度。有研究发现,与芬太尼合用时,利托那韦可使芬太尼的清除率减少67%, AUC<sub>0-18 h</sub>增加83%,使芬太尼的血药浓度升高,可能造成持续过度镇静或呼吸抑制<sup>[2]</sup>。舒芬太尼(Sufentanil)是芬太尼的衍生物,主要作用于μ阿片受体,不仅镇痛强度更大,而且作用持续时间也更长(约为芬太尼的2倍)<sup>[3]</sup>。所以在临床上,舒芬太尼应用更为广泛,因此研究利托那韦对舒芬太尼药动学的影响意义更大。本研究观察利托那韦对舒芬太尼在家兔体内药动学的影响,以期手术麻醉期间舒芬太尼的用药调整提供参考。

Δ 基金项目:上海市卫生局科研课题(No.20124040)

\* 副主任医师, 硕士。研究方向:麻醉学。E-mail: zxs7154@163.com

## 1 材料

### 1.1 仪器

氮吹仪(英国Techne公司); LC-20AD高效液相色谱仪(日本岛津公司); 低温高速离心机(德国艾本德公司); 串联三重四极杆质谱仪(美国ABI公司)。

### 1.2 药品与试剂

舒芬太尼对照品(上海恒远生物科技有限公司, 批号: 171259-200601, 纯度: 99%); 枸橼酸舒芬太尼注射液(宜川人福药业有限公司生产, 批号: 1150315, 规格: 50 μg/ml); 替米沙坦对照品(内标, 北京柏雅方舟医药科技有限公司, 批号: 040511, 纯度: 99.5%); 利托那韦片(艾伯维医药贸易上海有限公司, 批号: 475408D, 规格: 200 mg/片); 乙腈、甲醇均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为Millipore超纯水。

### 1.3 动物

实验用新西兰家兔共24只, ♂, 体质量为2.5~4 kg, 由上海公共卫生临床中心实验动物中心提供, 使用许可证号为SCXK(沪)2010-0024。家兔饲养于清洁级动物实验室有温度控制的房间里, 且保证12 h白天与黑夜交替, 自由进食; 所有的动物实验通过上海市公共卫生临床中心伦理委员会审核且

获得伦理批文。

## 2 方法与结果<sup>[4-7]</sup>

### 2.1 色谱条件

色谱柱: EclipseXDB-C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 预柱 C<sub>18</sub> (12.5 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.3% 甲酸水溶液 (80:20, V/V), 流速: 0.5 ml/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μl。

### 2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾电离 (ESI); 扫描方式: 多反应监测 (MRM); 喷雾气压: 35 psi; 雾化器温度: 550 °C; 气流速度: 10 L/min; 扫描时间: 10 min。用于定量反应的离子对分别为内标替米沙坦:  $m/z$  515.2→276.2, 舒芬太尼:  $m/z$  316.0→243.9。

### 2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取舒芬太尼对照品 9.60 mg, 用甲醇溶解并定容至 10 ml 量瓶中, 制备成舒芬太尼质量浓度分别为 75、150、300、600、1 200、2 400、4 800、9 600 ng/ml 的对照品系列溶液, 4 °C 贮藏, 备用。

2.3.2 内标溶液 精密称取替米沙坦对照品 10.85 mg, 用甲醇溶解并定容至 10 ml 量瓶中, 制备成质量浓度为 1.080 mg/ml 的内标溶液, 再用 50% 甲醇稀释成 100 ng/ml 的内标工作液, 4 °C 贮藏, 备用。

2.3.3 质控样品 分别取不同质量浓度的舒芬太尼对照品系列溶液 10 μl 与 100 ng/ml 的内标工作液 10 μl, 加至 100 μl 家兔空白血浆中, 制备成舒芬太尼质量浓度分别为 1 500、3 000、7 680 ng/ml 的质控样品 (即低、中、高质量浓度的质控样品), -80 °C 贮藏, 备用。

### 2.4 血浆样品的处理

精密吸取家兔血浆样品 100 μl, 置于 1.5 ml 离心管中, 加入 50% 甲醇 10 μl、100 ng/ml 的内标工作液 10 μl、乙酸乙酯 1 ml, 涡旋混合 5 min, 以 13 400×g 离心 10 min, 吸取上清液 (乙酸乙酯层) 至另一离心管中; 下层溶液用 1 ml 乙酸乙酯按上述方法再提取 1 次; 上清液合并至相应离心管中; 37 °C 氮气吹干, 残渣用 100 μl 流动相复溶, 涡流混合, 取上清液 10 μl 进样。

### 2.5 专属性考察

分别取舒芬太尼对照品溶液、内标溶液、空白血浆、空白血浆+舒芬太尼对照品 (2 400 ng/ml)、给药后 60 min 的血浆样品, 按“2.4”项下方法处理后, 进样测定。结果表明, 舒芬太尼和内标的出峰时间分别约为 7.5、2.5 min, 且血浆中内源性物质以及舒芬太尼的可能代谢产物不干扰舒芬太尼和内标的测定。

### 2.6 标准曲线的制备

按“2.3.1”项下方法制备 75.0、150、300、600、1 200、2 400、4 800、9 600 ng/ml 的对照品系列溶液, 照“2.4”项下方法处理后, 进样测定, 记录峰面积。以舒芬太尼的质量浓度 ( $x$ ) 为横坐标、峰面积与内标峰峰面积之比 ( $y$ ) 为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程为  $y=1.79\times 10^{-5}x+2.12\times 10^{-5}$  ( $r=0.9932$ )。结果表明, 舒芬太尼质量浓度的线性范围为 75.0~9 600 ng/ml。

### 2.7 精密度、准确度、提取回收率试验

按“2.3.3”项下方法制备高、中、低质量浓度的质控样品各 5 份, 照“2.4”项下方法处理后, 进样测定, 记录峰面积, 考察日内精密度 (5 次)、日间精密度 (3 d)、准确度 (5 次) 和提取回收率 (3 次)。结果高、中、低质量浓度的质控样品的日内 ( $n=5$ )、日间 ( $n=3$ ) RSD 均小于 10%, 准确度在 92.1%~102.0% (RSD 为 5.1%~9.2%,  $n=5$ ) 范围内, 提取回收率为 89.1%~90.7% (RSD 为 0.58%~0.93%,  $n=3$ ), 表明该试验方法符合目前生

物样品分析方法指导原则中的有关规定。

### 2.8 稳定性试验

按“2.3.3”项下方法制备高、中、低质量浓度的质控样品各 6 份, 置于 4 °C 保存 24 h、-80 °C 保存 30 d、-80 °C 与室温反复冻融 3 次, 考察样品稳定性。结果质控样品在上述保存条件下测得实际值均在理论值的 85%~115% 范围内, RSD<10.0% ( $n=6$ ), 表明舒芬太尼在血浆样品中稳定性良好。

### 2.9 药动学研究

24 只家兔随机分为实验组与对照组, 每组 12 只。实验前禁食 12 h, 分别以 22 号静脉留置针行兔耳中央动脉穿刺置管, 24 号静脉留置针行兔耳缘静脉置管备用。按临床常用剂量换算, 实验组家兔 ig 利托那韦 (10 mg/kg) 溶液 (将利托那韦混溶于生理盐水中), 对照组家兔 ig 同等容量的生理盐水, 两组家兔分别于 ig 后 5 min 内 iv 舒芬太尼 2 μg/kg。分别于 ig 前和 iv 后 0、0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、14、24 h, 自兔耳中央动脉取血, 每次 0.3 ml, 置于肝素抗凝的试管中, 离心取血浆, 测定舒芬太尼的血药浓度。使用 DAS2.0 药动学统计软件处理, 求算药动学参数。所有数据均以  $\bar{x}\pm s$  表示, 以 SPSS 16.0 统计软件进行分析,  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。舒芬太尼在两组家兔体内的药-时曲线见图 1。

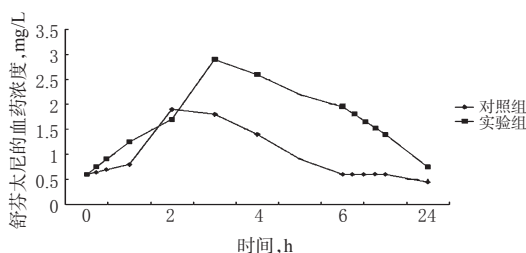


图 1 舒芬太尼在两组家兔体内的药-时曲线

Fig 1 Plasma concentration-time curves of sufentanil in rabbits of 2 groups

经 DAS2.0 软件拟合, 两组家兔体内舒芬太尼的药动学过程均符合二室模型。舒芬太尼在两组家兔体内的药动学参数见表 1。

表 1 舒芬太尼在两组家兔体内的药动学参数 ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of sufentanil in rabbits of 2 groups ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

参数	对照组	实验组
$t_{max}, h$	$3.7\pm 1.07$	$3.6\pm 1.11$
$t_{1/2}, h$	$22.0\pm 6.59$	$26.4\pm 1.41$
CL/F, L/(h·kg)	$1.6\pm 0.53$	$1.0\pm 0.23$
AUC <sub>0-∞</sub> , mg·h/L	$16.1\pm 5.17$	$38.1\pm 12.95^*$
MRT <sub>0-24h}, h</sub>	$8.6\pm 2.08$	$12.1\pm 3.70^*$

注: 与对照组比较, \* $P<0.05$

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

由表 1 可知, 与对照组比较, 实验组家兔体内舒芬太尼的 AUC<sub>0-∞</sub>、MRT<sub>0-24h</sub> 均明显增加, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),  $t_{max}$ 、 $t_{1/2}$ 、CL/F 非参数检验差异无统计学意义。

## 3 讨论

高效的抗病毒疗法对 HIV 感染的治疗产生了革命性的影响, 使 AIDS 发病率及病死率明显下降, 极大地改善了预后<sup>[8]</sup>。HIV 感染常用治疗药物一般分为 4 类: 核苷及核苷类似物、非核苷酸类逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、融合抑制剂。其中蛋白酶抑制剂通过模拟病毒裂解过渡期蛋白酶的自然底物来

干扰正常病毒的成熟,产生无传染性的病毒颗粒,以应对部分抗逆转录病毒药物出现的显著毒性和耐药性。诸多研究表明,在代谢过程中,那韦类药物或者经过相同的CYP酶代谢、或者对CYP酶产生抑制或诱导作用,因而可能与经过这些代谢途径消除的药物发生药物相互作用。另外,在药物吸收和转运过程中,部分那韦类药物受转运体的转运介导,会对转运体的转运产生影响,因而与经过相关转运体途径分布的药物可能发生相互作用。目前,国内外对于HIV患者的手术麻醉阶段药动学研究处于摸索阶段,麻醉医师对于HIV患者的用药策略是基于平时的给药经验来试探性地给药,通过患者对麻醉药的反应来决定接下来的用药剂量。临床上常出现服用蛋白酶抑制剂类药物的患者完全不能代谢麻醉药的情况。麻醉患者的核心用药种类包含了镇静药、镇痛药和肌松药,其中绝大部分药物是CYP3A4酶的代谢底物<sup>[9-10]</sup>。当CYP3A4酶被抑制时,镇痛药和全麻药的降解也受到了抑制,从而使得药物代谢延迟、患者苏醒延迟。如果镇痛药代谢延迟,可能会造成离开手术室或复苏室时还有药物的残留,在麻醉医师的不可控地点发生中枢性呼吸抑制、呼吸遗忘<sup>[10]</sup>。如果患者合并有肺泡弥散和换气时,会非常危险,因为其代偿功能严重减弱,很可能会危及生命。本实验结果显示,两组家兔舒芬太尼的药动学过程均符合二室模型。与对照组比较,实验组家兔舒芬太尼的AUC<sub>0-∞</sub>显著增加,而MRT显著延迟,提示利托那韦可提升舒芬太尼在家兔体内分布,延长舒芬太尼滞留时间。

药物的相互作用在本质上包括药动学或者药效学的改变<sup>[8]</sup>。药动学的相互作用改变反映在药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程,受CYP酶系、P糖蛋白、肾清除率、胃肠道pH的改变以及细胞内药物浓度的波动等多方面影响。药效学的相互作用则往往改变药物的药理反应,产生协同或拮抗两种效应,而组织中的药物浓度不一定改变<sup>[11]</sup>。蛋白酶抑制剂的相关药物相互作用也包括这两个方面。所有HIV蛋白酶抑制剂均抑制CYP3A4酶,因此,利托那韦对舒芬太尼影响的最大可能是因为利托那韦抑制代谢酶的活性而使舒芬太尼代谢减慢,结果是提升后者的分布和延迟其代谢。肝脏CYP酶系统的CYP3A4、CYP2B6和CYP2C9等同工酶,是肝微粒体主要的代谢酶,均具有较高的活性,是多种常用药物共同的代谢酶,如果同时使用多种药物,势必会影响各自的药理效应,发生相互作用<sup>[12-14]</sup>。舒芬太尼主要通过CYP3A4代谢,当与利托那韦同时使用时,由于后者是CYP3A4的强效抑制剂,便导致前者浓度升高、代谢时间延迟。

药物对酶的抑制作用主要是由于药物和药酶的竞争性结合,导致底物代谢速率变化;而长期使用则可能使药酶基因表达上调,或通过蛋白稳定作用,使酶蛋白水平升高而产生诱导作用。酶的诱导或抑制有较大的个体差异,与种族、年龄、疾病及基因的多态性有关。因此,长期使用导致的药物相互关系比短期使用更加复杂<sup>[15]</sup>。也就是说,对于舒芬太尼而言,长期联用利托那韦后的代谢可能又与短期联用不同。

本实验通过在家兔中模拟ig利托那韦后进行舒芬太尼麻醉,发现在服用利托那韦期间使用舒芬太尼,可以使后者的血药浓度增加,其原因可能与其抑制代谢酶或者吸收清除有关,但有待于进一步的研究。这个结果提示,服用利托那韦的患者在进行手术期间,可能需要调整用药剂量,故应该特别注意HIV患者合理用药问题,尤其是联合用药方案的设计。建议综合考虑各药物的性质以及患者的生理状况,提高治疗的安全

和有效性;对可能产生的药物相互作用进行药动学分析,以减少不良反应的发生;如能够进行血药浓度监测,则更为理想。

## 参考文献

- [1] Morino G, Baldan M, D'Onofrio E, et al. AIDS and surgery[J]. *East and Central African Journal of Surgery*, 2004,9(2):9.
- [2] Olkkola KT, Palkama VJ, Neuvonen PJ, et al. Ritonavir's role in reducing fentanyl clearance and prolonging its half-life[J]. *Anesthesiology*, 1999,91(3):681.
- [3] Nelson KE, Rauch T, Terebuh V, et al. A comparison of intrathecal fentanyl and sufentanil for labor analgesia[J]. *Anesthesiology*, 2002,96(5):1070.
- [4] 姚亚敏,张丽军.利福布汀与依非韦伦在大鼠体内药动学的相互作用研究[J]. *中国药房*, 2012,23(41):3869.
- [5] Zhang LJ, Yao YM, Sun JJ, et al. An LC-MS/MS method for simultaneous quantification of seven anti-HIV medicines in plasma of HIV-infected patients[J]. *Pharm Anal Acta*, 2010, doi:10.4172/2153-2435.1000102.
- [6] Sun J, Chen J, Yao Y, et al. Minimum effective plasma concentration of efavirenz in treatment-naïve Chinese HIV-infected patients[J]. *Int J STD AIDS*, 2010,21(12):810.
- [7] 张丽军,姚亚敏,孙建军,等.高效液相色谱串联质谱法同时测定奈韦拉平、拉米夫定、司他夫定、齐多夫定和依非韦伦的血药浓度[J]. *中国药理学杂志*, 2010,26(2):133.
- [8] 邓万俊. HIV蛋白酶抑制剂的药物相互作用研究进展[J]. *国外医学抗生素分册*, 2006,27(1):9.
- [9] Pandya ST. Labour analgesia: recent advances[J]. *Indian J Anaesth*, 2010,54(5):400.
- [10] Kurzawski M, Dabrowska J, Dziewanowski K, et al. CYP3A5 and CYP3A4, but not ABCB1 polymorphisms affect tacrolimus dose-adjusted trough concentrations in kidney transplant recipients[J]. *Pharmacogenomics*, 2014,15(2):179.
- [11] Piscitelli SC, Gallicano KD. Interactions among drugs for HIV and opportunistic infections[J]. *N Engl J Med*, 2001,344(13):984.
- [12] Kohlrausch FB, Carracedo A, Hutz MH. Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians[J]. *Mol Biol Rep*, 2014,41(3):1453.
- [13] Choi JS, Choi I, Choi DH. Effects of nifedipine on the pharmacokinetics of repaglinide in rats: possible role of CYP3A4 and P-glycoprotein inhibition by nifedipine[J]. *Pharmacol Rep*, 2013,65(5):1422.
- [14] Liu R, Qin M, Hang P, et al. Effects of panax notoginseng saponins on the activities of CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 in rats in vivo[J]. *Phytother Res*, 2012,26(8):1113.
- [15] Lin JH. CYP induction-mediated drug interactions: in vitro assessment and clinical implications[J]. *Pharm Res*, 2006,23(6):1089.

(收稿日期:2015-10-20 修回日期:2015-12-19)

(编辑:邹丽娟)