

6 β -纳曲醇单次和连续肌内注射给药在犬体内的药代动力学

颜玲娣¹, 刘军², 董华进¹, 崔孟珣¹, 姚霞君¹, 柳用绍¹, 龚正华¹, 官泽辉^{1*}

(1. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850; 2. 解放军第 291 医院药械科, 内蒙古 包头, 014040)

摘要: 研究 6 β -纳曲醇单次和连续肌内注射给药在犬体内的药代动力学。Beagle 犬 ($n = 4$) 肌内注射 6 β -纳曲醇 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每日 1 次, 连续 7 日。用反相高效液相-电化学检测法测定血浆 6 β -纳曲醇浓度。Beagle 犬单次 (第一次) 及连续给药 (最后一次) 后的血药浓度经时变化过程均符合血管外给药一级吸收二室模型 ($R^2 > 0.999$), 药代动力学参数分别为 $t_{1/2\alpha}$ (0.26 ± 0.23) 和 (0.19 ± 0.18) h, $t_{1/2\beta}$ (4.77 ± 1.65) 和 (5.79 ± 1.50) h, C_{\max} (81.65 ± 5.61) 和 (79.82 ± 10.5) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, t_{peak} (0.27 ± 0.07) 和 (0.18 ± 0.08) h, CL_s (1.20 ± 0.06) 和 (1.12 ± 0.07) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, V/F_c (1.94 ± 0.15) 和 (2.10 ± 0.27) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, AUC_{0-t} (166.82 ± 7.68) 和 (173.23 ± 9.49) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。第一次和最后一次给药的药代动力学参数无显著性差异 ($P > 0.05$)。连续给药期间, 血药峰浓度和谷浓度的平均值分别为 (79.03 ± 10.3) 和 (1.50 ± 0.93) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结果显示, 6 β -纳曲醇在犬体内的药物代谢过程符合一级吸收二室模型, 得到了相应的药代动力学参数; 连续给药对原形药物代谢过程基本无影响。

关键词: 6 β -纳曲醇; 血浆; 药代动力学; 单次给药; 多次给药; 高效液相色谱

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 07-0722-04

Pharmacokinetics of 6 β -naltrexol after single and multiple intramuscular injections in Beagle dogs

YAN Ling-di¹, LIU Jun², DONG Hua-jin¹, CUI Meng-xun¹, YAO Xia-jun¹, LIU Yong-shao¹,
GONG Zheng-hua¹, GONG Ze-hui^{1*}

(1. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. Department of Pharmacy, 291 Hospital of People's Liberation Army, Baotou 014040, China)

Abstract: The pharmacokinetics of 6 β -naltrexol (6 β -NOL) following single intramuscular administration and multiple intramuscular injection once per day for seven days was studied in 4 Beagle dogs. Plasma concentration of 6 β -NOL in dogs was analyzed by a combination of high performance liquid chromatography (HPLC) and electrochemical detection with naloxone (NLX) as internal standard. After single intramuscular injection of $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 6 β -NOL, the plasma concentration-time curve of the drug was found to fit to a two compartment model with first-order absorption. The main parameters of single dosing were as follows: $t_{1/2\alpha}$ was (0.26 ± 0.23) h, $t_{1/2\beta}$ was (4.77 ± 1.65) h, C_{\max} was (81.65 ± 5.61) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, t_{peak} was (0.27 ± 0.07) h, CL_s was (1.20 ± 0.06) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, V/F_c was (1.94 ± 0.15) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, and AUC_{0-t} was (166.82 ± 7.68) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, separately. After multiple intramuscular injection of $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 6 β -NOL once per day for seven days, the plasma concentration-time curve of the drug fitted to a two compartment model with first-order absorption too. The main parameters of the last dosing were as follows: $t_{1/2\alpha}$ was (0.19 ± 0.18) h, $t_{1/2\beta}$ was (5.79 ± 1.50) h, C_{\max} was (79.82 ± 10.5) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, t_{peak} was (0.18 ± 0.08) h, CL_s was (1.12 ± 0.07) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, V/F_c was (2.10 ± 0.27) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, and AUC_{0-t} was (173.23 ± 9.49) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, separately. The difference of the parameters between the first and the last dosing was not significant, showing that the plasma kinetics of 6 β -naltrexol was not changed after

收稿日期: 2008-12-17.

基金项目: 北京市科技计划资助项目 (H020220060190).

*通讯作者 Tel: 86-10-66931620, Fax: 86-10-68211656, E-mail: gongzeh@yahoo.com.cn

multiple administrations. In the course of multiple administration, the peak and valley concentration of plasma 6β -naltrexol were (79.03 ± 10.3) and (1.50 ± 0.93) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. No clear adverse events were noted during this study. These results showed that plasma 6β -naltrexol fits to a two compartment model with first-order absorption in dog after intramuscular administration and their pharmacokinetic parameters were reported. There was no remarkable change on plasma pharmacokinetics of 6β -naltrexol after multiple intramuscular administrations.

Key words: 6β -naltrexol; plasma; pharmacokinetics; single dose; multiple dose; HPLC

6β -纳曲醇 (6β -naltrexol, 6β -NOL) 是纳曲酮 (naltrexone, NTX) 在人、猴、鼠等动物体内的主要代谢产物, 是具有中等强度的长效阿片受体拮抗剂, 其拮抗作用约为 NTX 的 $1/12\sim 1/50$, 有效时间约为 NTX 的 $4\sim 10$ 倍^[1-5]。作为活性代谢产物, 6β -NOL 不仅在 NTX 的药理作用中有一定的贡献, 也是 NTX 相对长效的主要原因。但迄今为止, 6β -NOL 的药物代谢过程尚不清楚, 相关的研究主要集中于给予 NTX 后转化为 6β -NOL 的血药浓度的变化情况。在人、猴等动物体内大约 95% 的 NTX 转化为 6β -NOL, 相比原形药物, 其血药浓度更高, 血液中消除时间更长^[6-9]。而且由于 NTX 在人体内的代谢存在明显的个体差异性, 转化的 6β -NOL 的血药浓度变化范围很大, 是原形药物 NTX 的 $10\sim 30$ 倍, 通过末端血药浓度推算出的消除半衰期差别非常大, 范围在 $6\sim 22$ h^[6-9]。因此有部分文献暗示 6β -NOL 的代谢比较慢, 在防复吸临床 NTX 长期给药过程中 6β -NOL 可能造成蓄积。但是 6β -NOL 的代谢过程究竟如何, 连续给药对代谢过程是否有影响, 尚未见相关文献报道。因此本研究拟通过 6β -纳曲醇单次和连续肌肉注射给药在犬体内的药代动力学研究阐明相关问题。

材料与方法

动物与试剂 雄性 Beagle 犬 (4 只), 体重 (12.6 ± 0.8) kg, 由军事医学科学院动物中心提供, 合格证号: SCXK (军) 2002-001 号。动物饲养于 SPF 级动物房。本实验方案得到军事医学科学院实验动物伦理委员会的批准。

6β -纳曲醇 (6β -naltrexol, 6β -NOL) 为白色粉末, 纯度 $> 99\%$, 由军事医学科学院毒物药物研究所合成; 盐酸纳洛酮 (NLX) 标准品, 纯度 $> 99.8\%$, 由军事医学科学院毒物药物研究所合成; 6β -纳曲醇标准品由 Wendel L. Nelson 教授惠赠。其余试剂或药品均为色谱纯或分析纯。

实验步骤和样品制备 6β -NOL 给药剂量为 0.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 给药时间为第 1 日至第 7 日上

午 8:00, 注射部位为犬右后腿股骨头肌肉。第一次和最后一次 (第 7 天) 给药后 0.08、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0 和 24 h, 以及连续给药期间 (第 2 日至第 7 日) 给药前和给药后 0.5 h, 通过另一侧股静脉各采血 1 mL, 用肝素抗凝, 样品立即离心分离出血浆并冷冻于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

血浆 6β -NOL 的提取方法采用的是 Monroe 等^[10]提出的改良方法。取血浆 1.0 mL, 加入内标液 (纳洛酮 $40\sim 60$ ng) 20 μL , 混匀后用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 调 pH 为 9.2, 加入苯-丁醇 (85:15, v/v) 6 mL, 振荡 2 min 提取 2 次, $2\ 000 \times g$ 离心 7 min 分层, 合并两次提取液, 加入 0.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 1 mL 振荡提取, 离心分出水相, 依次用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 0.4 mL 中和, 并用 NaHCO_3 -NaOH 缓冲液 0.25 mL 调 pH 为 9.2, 加入苯-丁醇 5 mL 振荡提取, 离心分离有机相, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上用氮气流吹干, 残留物用流动相溶液 50 μL 溶解, 取 $20\sim 50$ μL 进样分析。

HPLC-ECD 检测 6β -NOL^[11] 高效液相色谱 (HPLC) 包括安捷伦 1100 型泵、HP 1049A 电化学检测器、HP 工作站 (HP Co, 美国), RP-18 柱 (ODS-3, 150 $\text{mm} \times 4.6$ mm ID, GL Sciences Inc.) 及预柱。流动相为 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液-甲醇 (85:15, pH 4.78), 流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。电化学检测器工作电压为 0.8 V。

数据分析 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。药代动力学参数采用 3P97 软件进行分析。连续给药期间各峰浓度及各谷浓度之间比较采用单因素方差分析, 第一次和最后一次给药的药代动力学参数比较采用 t 检验。

结果

1 分析条件

标准品与内标分离良好, 血浆中的其他成分对分析方法无干扰。犬血浆中 6β -NOL 浓度在 $1.5\sim 160$ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与 HPLC 的响应值 (NTX 与内标峰面积比) 之间呈良好的线性关系 ($y = 0.007\ 89 + 0.009\ 23x$, $r = 0.999\ 75$, $n = 9$), 方法的最低检测浓度为 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

(信噪比 1 : 3, RSD < 20%)。低、中、高浓度 (1.5、20 及 160 ng·mL⁻¹) 6 β -NOL 犬血浆样品的日内变异系数分别为 6.5%、4.2%、4.3%，日间变异系数分别为 10.1%、7.9%、2.7%，回收率及变异系数分别为 71.6%、87.0%、90.2% 和 9.2%、7.6%、7.8%。在 2 周内反复冻融 3 次血浆，低、中、高浓度 6 β -NOL 样品的含量降低均小于 5%，显示 6 β -NOL 血浆样品储存在 -20 °C 是基本稳定的。

2 单次给药后血浆 6 β -NOL 的代谢特征

犬单次肌内注射 6 β -纳曲醇 0.2 mg·kg⁻¹ 后，吸收较快，平均 0.27 h 达到峰浓度，然后缓慢消除，消除半衰期平均为 4.8 h。6 β -NOL 血药浓度曲线见图 1，用 3P97 软件分析，其血药浓度经时变化过程符合血管外给药一级吸收二室模型 ($R^2 > 0.999$)，药代动力学参数见表 1。

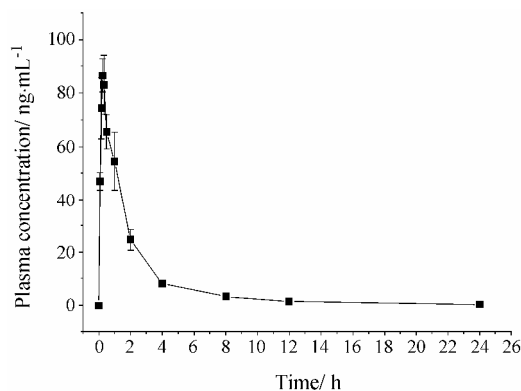


Figure 1 Mean plasma concentration-time curve of 6 β -NOL in dogs after im single dose of 0.2 mg·kg⁻¹. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$

Table 1 Pharmacokinetic parameters of 6 β -NOL (0.2 mg·kg⁻¹, im) after single and multiple dosing in dogs

Parameter	One injection	7th injection
$t_{1/2\alpha}$ /h	0.26 ± 0.23	0.19 ± 0.18
$t_{1/2\beta}$ /h	4.77 ± 1.65	5.79 ± 1.50
C_{max} / ng·mL ⁻¹	81.65 ± 5.61	79.82 ± 10.5
t_{peak} /h	0.27 ± 0.07	0.18 ± 0.08
CL_s /L·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	1.20 ± 0.06	1.12 ± 0.07
V/F_c /L·kg ⁻¹	1.94 ± 0.15	2.10 ± 0.27
AUC_{0-t} /ng·h·mL ⁻¹	166.82 ± 7.68	173.23 ± 9.49

$n = 4$, $\bar{x} \pm s$. All pharmacokinetic parameters were calculated by the program of 3p97 on a computer. Parameters were compared by two-tailed, independent-samples, t -test

3 连续给药后血浆 6 β -NOL 的代谢特征

犬每日肌内注射 6 β -纳曲醇 0.2 mg·kg⁻¹ (连续 7 日)，连续给药期间，血药峰浓度和谷浓度的平均值分别为 (79.03 ± 10.3) 和 (1.50 ± 0.93) ng·mL⁻¹，7 日内

的各峰浓度及各谷浓度之间均无显著差异 ($P > 0.05$)。第 7 日给药后犬 6 β -NOL 血药浓度变化见图 2，与第一次给药的血药浓度曲线比较接近，用 3P97 软件分析，其血药浓度经时变化过程符合血管外给药一级吸收二室模型 ($R^2 > 0.999$)，药代动力学参数见表 1。对最后一次与第一次给药的药代动力学参数进行比较，无显著性差异 ($P > 0.05$)。在整个试验期间，犬除了轻微的呕吐外，未发现严重的副反应。结果提示，6 β -NOL 连续给药对其药代动力学过程基本无明显影响，可能不会造成蓄积。

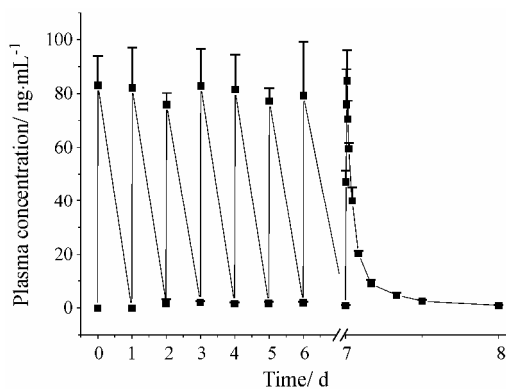


Figure 2 Mean plasma concentration-time curve of 6 β -NOL in dogs receiving daily im dose of 0.2 mg·kg⁻¹ for 7 days. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$

讨论

6 β -NOL 是 NTX 在人及猴、大鼠等动物体内的主要代谢产物，NTX 的药效强度及持续时间主要是血浆中游离 NTX 及其主要代谢产物 6 β -NOL 共同的贡献，因此 6 β -NOL 在 NTX 的药效作用中尤其是相对长效方面占有重要的地位。目前 6 β -NOL 的药代动力学研究集中于给予 NTX 后代谢产物 6 β -NOL 的血药浓度的变化情况，但是作为代谢产物其受到原形药物 NTX 的代谢影响，因此获得的 6 β -NOL 的药物代谢过程并不准确。本实验中，制备了 6 β -NOL 化合物，通过犬肌内注射 6 β -NOL (0.2 mg·kg⁻¹) 研究药物在犬体内的药代动力学，明确了药物的吸收、分布、代谢过程，报告了较完全的血浆药代动力学参数。此外，与本实验室同期进行的犬肌内注射 NTX 药代动力学研究得到的参数 [$t_{1/2\alpha}$ 为 (0.22 ± 0.05) h, $t_{1/2\beta}$ 为 (1.06 ± 0.21) h, C_{max} 为 (97.43 ± 9.21) μ g·L⁻¹, t_{peak} 为 (0.21 ± 0.03) h, CL_s 为 (3.49 ± 0.32) L·h⁻¹·kg⁻¹, V_c 为 (4.40 ± 0.74) L·kg⁻¹, AUC_{0-t} 为 (148.54 ± 7.14) μ g·h·L⁻¹] 比较可以看出，6 β -NOL 和 NTX 的吸收半衰期和达峰时间基本一致，说明药物吸收速率相近，但是在犬体

内的消除情况有显著差异, 6 β -NOL 的消除更慢, 消除半衰期为 NTX 的 4~5 倍, 肾清除率更低, 约为 NTX 的 1/3。以上药代动力学结果与 6 β -NOL 和 NTX 的抗吗啡镇痛等药理作用的有效时间等特性能很好地统一起来。

目前 NTX 是唯一被 FDA 批准的预防复吸和酒精依赖的药物, 在防复吸临床, NTX 需要每日服药 1 次, 连续 6 个月, 目前已明确在人及犬等体内, NTX 连续给药对 NTX 的代谢过程基本没有影响, 也不造成蓄积, 但是对于 NTX 连续给药后主要代谢产物 6 β -NOL 的代谢过程是否发生变化并不明确。本试验中 6 β -NOL 的连续给药方式也是每日给药 1 次, 连续 7 日, 结果显示, 连续给药期间各峰浓度及各谷浓度之间无显著变化, 第一次和连续给药 (最后一次) 的血药浓度曲线非常接近, 消除半衰期、血浆清除率、曲线下面积等药代动力学参数也没有显著性差异, 说明 6 β -NOL 连续给药对其代谢过程基本没有显著影响, 连续给药可能不会造成蓄积。

致谢: Wendel L. Nelson 教授 (Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, University of Washington) 惠赠 6 β -纳曲醇标准品。

References

- [1] Divin MF, Holden Ko MC, Traynor JR. Comparison of the opioid receptor antagonist properties of naltrexone and 6 beta-naltrexol in morphine-naïve and morphine-dependent mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 583: 48-55.
- [2] Yan LD, Gong ZH, Yao XJ, et al. Comparison of the antagonistic effects of 6 β -naltrexol and naltrexone against morphine analgesia [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 578-581.
- [3] Raehal KM, Lowery JJ, Bhamidipati CM, et al. *In vivo* characterization of 6beta-naltrexol, an opioid ligand with less inverse agonist activity compared with naltrexone and naloxone in opioid-dependent mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313: 1150-1162.
- [4] Porter SJ, Somogyi AA, White JM. *In vivo* and *in vitro* potency studies of 6beta-naltrexol, the major human metabolite of naltrexone [J]. *Addict Biol*, 2002, 7: 219-225.
- [5] Stromberg MF, Rukstalis MR, Mackler SA, et al. A comparison of the effects of 6-beta naltrexol and naltrexone on the consumption of ethanol or sucrose using a limited-access procedure in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, 72: 483-490.
- [6] Reuning RH, Ashcraft SB, Wiley JN, et al. Disposition and pharmacokinetics of naltrexone after intravenous and oral administration in rhesus monkey [J]. *Drug Metab Dispos*, 1989, 17: 583-589.
- [7] Monroe EW, Dolores RB, Mario PR. Metabolism and disposition of naltrexone in man after oral and intravenous administration [J]. *Drug Metab Dispos*, 1981, 9: 369-375.
- [8] Li H, Wang N, Yan GZ, et al. Pharmacokinetics and relative bioavailability of naltrexone hydrochloride tablet in Chinese healthy volunteers by HPLC [J]. *Chin J Clin Pharmacol (中国临床药理杂志)*, 1998, 14: 24-29.
- [9] Ferrari A, Bertolotti M, Dell'Utri A, et al. Serum time course of naltrexone and 6 beta-naltrexol levels during long-term treatment in drug addicts [J]. *Drug Alcohol Depend*, 1998, 52: 211-220.
- [10] Monroe EW, Dolores RB, Mario PR. Metabolism and disposition of naltrexone in man after oral and intravenous administration [J]. *Drug Metab Dispos*, 1981, 9: 369-375.
- [11] Davidson AF, Emm TA, Pieniaszek HJ Jr. Determination of naltrexone and its major metabolite, 6-beta-naltrexol, in human plasma using liquid chromatography with electrochemical detection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1996, 14: 1717-1725.