

文章编号: (2003)02-0052-05

# 利巴韦林缓释微丸在家犬体内的药物动力学及相对生物利用度

陶秀梅, 唐 星, 丁婉萍

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** **目的** 研究利巴韦林缓释微丸在家犬体内的药物动力学、相对生物利用度及体内外相关性。**方法** 应用 HPLC 法, 以市售普通片为对照, 测定利巴韦林缓释微丸口服给药后家犬血浆中的药物浓度, 经 3P97 程序拟合血药浓度-时间数据得出相应的参数, 并计算相对生物利用度。**结果** 利巴韦林缓释微丸和普通片口服后  $t_{max}$  分别为  $(3.59 \pm 0.96)$  h 和  $(0.38 \pm 0.22)$  h,  $c_{max}$  分别为  $(3.23 \pm 0.97)$  mg·L<sup>-1</sup> 和  $(6.62 \pm 2.10)$  mg·L<sup>-1</sup>, AUC<sub>0-t</sub> 分别为  $(39.69 \pm 6.77)$  mg·h·L<sup>-1</sup> 和  $(38.27 \pm 8.87)$  mg·h·L<sup>-1</sup>, 相对生物利用度为 103.7%, 其体内吸收与体外释药具有显著的相关性。**结论** 利巴韦林缓释微丸具有明显的缓释特征。

**关键词:** 药剂学; 药动学; 高效液相法; 利巴韦林; 生物利用度; 缓释微丸

**中图分类号:** R944.9 **文献标识码:** A

利巴韦林 (ribavirin, 三氮唑核苷, 病毒唑) 是一种合成的化合物, 它的合成和抗病毒活性在 1972 年由 Kitkowski 等首次提出。利巴韦林是一种广谱抗病毒药物, 对多数 DNA、RNA 的复制有抑制作用。其主要通过抑制肌苷酸 5-磷酸脱氢酶, 阻断肌苷酸转变为鸟苷酸, 从而抑制病毒核酸的合成<sup>[1]</sup>。该药不易产生耐药性, 活性较强, 临床应用广泛, 主要用于呼吸道合胞病毒引起的病毒性肺炎与支气管炎、流行性感、流行性出血热、病毒性肝炎、心肌炎、爱滋病及肿瘤等<sup>[2]</sup>。利巴韦林在儿科中应用也较多, 主要用于小儿呼吸道感染、小儿秋冬季腹泻、流行性乙型脑炎、腮腺炎、出血热、麻疹和病毒性肝炎等<sup>[3]</sup>。最近国外用利巴韦林在治疗免疫缺陷病毒传染和丙型肝炎方面有了突破性的进展<sup>[4]</sup>。由于利巴韦林消除半衰期较长, 有文献报道建议制成每天服用 2 次的口服制剂, 但是目前的普通制剂消除相血药浓度较低, 每天服用 2 次后不能达到有效的治疗浓度。制成缓释微丸后, 可在整个推荐给药间隔内维持较高的血药浓度。有利于抗病毒作用的发挥。作者采用高效液相色谱法, 以利巴韦林市售普通片为对照, 测定了家犬口服利巴韦林缓释微丸后的血药浓度, 求出相应的药物动力学参数, 并对其相对生物利用度和体内外相关性进行评价。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

ZRD6—B 药物溶出仪 (上海黄河药检仪器厂), 高效液相色谱仪 (日本 JASCO 公司), 色谱王工

收稿日期: 2003-03-31

**作者简介:** 陶秀梅 (1977-), 女 (汉族), 黑龙江齐齐哈尔人, 在读硕士, 主要从事口服缓控释制剂研究; 唐星 (1964-), 男 (汉族), 陕西西安人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事口服缓控释制剂和中药新剂型研究, Tel: 13664171089, (024) 23843711-3923, E-mail: tangpharm@yahoo.com.

作站，离心机（上海手术机械厂），调压变压器（上海振华稳压器厂）。

## 1.2 动物

家犬（沈阳军区总医院提供，体重 12.5 ~ 15 kg）

## 1.3 药品与试剂

利巴韦林片（四川美大康药业股份有限公司，100 mg/片，批号 20020412），利巴韦林缓释微丸（自制，250 mg/粒，批号 20020623），高氯酸（大连无机化工厂），正庚烷（北京化工厂），磷酸二氢铵（汕头金沙化工厂）。

## 2 方法

### 2.1 实验方案

采用 2 种制剂双周期交叉给药设计：家犬 5 只（记作 A、B、C、D、E）禁食 12 h，分别灌服利巴韦林片 10 片、受试利巴韦林缓释微丸 4 粒，自由饮水，在给药后 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h，于家犬静脉取血 4 mL，2 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min，分离血浆，-20 保存备用。实验间隔 1 周。

### 2.2 血浆中利巴韦林含量测定

色谱柱为 Diamongsil™C<sub>18</sub> 柱（200 mm×5 mm，5μm）；紫外检测波长 207 nm；吸收量程 0.02AU/FS；流动相为 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢铵 pH 值为 2.5 缓冲盐溶液；流速为 0.9 mL·min<sup>-1</sup>；柱温 30 。空白血浆、空白加样血浆及样品血浆的色谱图见图 1。

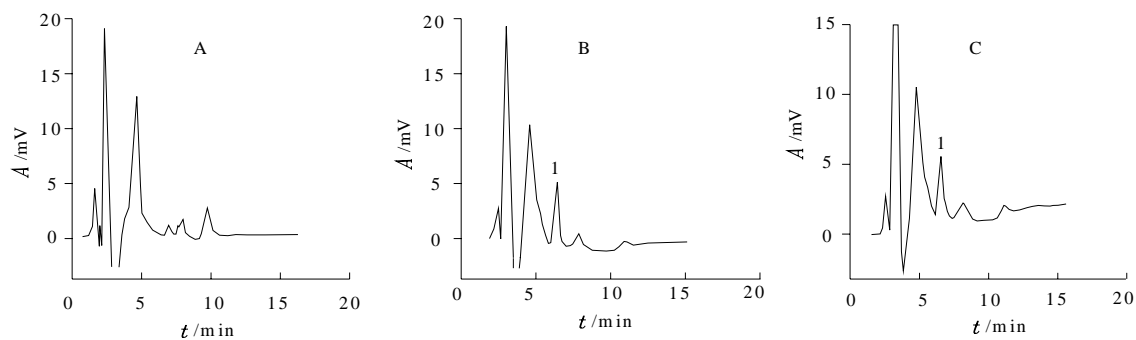


Fig.1 HPLC chromatograms of control plasma (A), 3 h plasma of libavirin administration (B) and plasma spiked with ribavirin standard (C)

1—Ribavirin

#### 2.2.1 血浆中样品的提取与分离

精密吸取血浆 1 mL 于 5 mL 具塞试管中，加入体积分数为 20% 高氯酸 1 mL，涡旋 30 s，于

2 500 r·min<sup>-1</sup>离心 25 min, 精密吸取上清液 1 mL, 加正庚烷 1.5 mL, 涡旋 30 s, 于 2 500 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min, 弃去有机相, 取下层水相进样 20 μL, 记录峰面积, 用外标法定量计算<sup>[5]</sup>。

### 2.2.2 标准曲线绘制

利巴韦林标准溶液: 精密吸取利巴韦林标准品适量, 用蒸馏水配成 1 g·L<sup>-1</sup>、0.4 g·L<sup>-1</sup> 溶液待用。分别取空白血浆 8 份各 1 mL, 分别加入 0.01、0.02、0.04、0.1、0.2、0.5、0.75、1 g·L<sup>-1</sup> 的利巴韦林标准品溶液 10 μL, 摇匀, 按“2.2.1”条操作, 测定 3 次, 取峰面积平均值与药物浓度进行线性回归。结果显示在血浆中利巴韦林在 0.1 ~ 10 mg·L<sup>-1</sup> 内呈线性。回归方程为  $A=18\ 615 + 8\ 003$ ,  $r=0.997\ 5$  ( $n=8$ )。最低定量限为 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 最低检测限为 0.02 mg·L<sup>-1</sup>。

### 2.2.3 回收率测定

取 3 份利巴韦林标准品分别用蒸馏水配制 1 mg·L<sup>-1</sup>、4 mg·L<sup>-1</sup>、10 mg·L<sup>-1</sup> 3 种低、中、高不同质量浓度的利巴韦林标准液, 依“2.2.1”条分别测定 5 次; 再分别取 3 份空白血浆 1.0 mL, 分别加入低、中、高不同质量浓度的利巴韦林标准品溶液 10 μL, 依“2.2.1”条测定 5 次, 以血浆管中药物的峰面积与蒸馏水管中药物的峰面积比值, 计算药物在质量浓度为 1 mg·L<sup>-1</sup>、4 mg·L<sup>-1</sup>、10 mg·L<sup>-1</sup> 的平均回收率, 分别为 82.62%、84.22%、91.65%, RSD 分别为 3.15%、2.96%、1.95%。

### 2.2.4 精密度测定

分别取空白血浆 1.0 mL, 加入低、中、高不同质量浓度的利巴韦林标准液 10 μL, 依“2.2.1”条方法测定, 1 d 内测定 5 次, 计算日内精密度, RSD 为 2.7%。另取空白血浆 1.0 mL, 加入低、中、高不同质量浓度的利巴韦林标准液 10 μL, 依“2.2.1”条方法测定, 连续测定 5 d, 计算日间精密度, RSD 为 2.8%。

## 2.3 药动学参数处理

应用 3P97 实验药动学计算机程序, 对血药浓度-时间数据进行拟合, 根据 AIC 最小的原则对药动学参数进行处理。

## 3 结果

### 3.1 血浆药物浓度

给家犬口服 2 种制剂后血药浓度-时间曲线见图 2。

### 3.2 药物动力学参数

家犬口服 1 g 利巴韦林后的主要药物动力学参数见表 1。

### 3.3 相对生物利用度

根据实际测得的血药浓度-时间数据由梯形法计算, 自制缓释微丸对相同剂量的市售片剂的相对生物利用度为 103.7%。

### 3.4 体内外相关性

本制剂符合单室模型, 可用 Wagner-Nelson 公式, 以均值计算本制剂口服后不同时间吸收百分数  $F(t)(\%)$ 。以体内吸收百分数  $F(t)$  和体外释药百分数  $f(t)$  作线性回归。相关方程为:

$$F(t)=1.1417 f(t)+7.5897, r=0.9914。$$

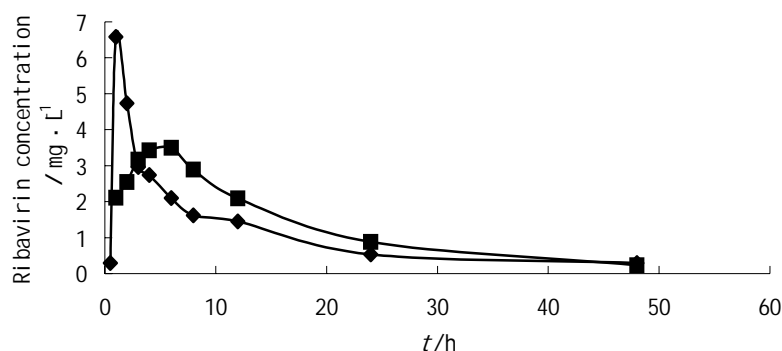


Fig.2 The mean plasma concentration-time curves of ribavirin after oral administration in dogs of sustained-release pellets and immediate release tablets

- Sustained-release pellets ; - Immediate release tablets

Table1 The pharmacokinetic parameters in dogs after oral administration of 1 000 mg ribavirin sustained-release pellets or immediate release tablets(  $n=5, x \pm s$  )

Parameter	Sustained-release pellets	Immediate release tablets
$c_{\max}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$3.23 \pm 0.97$	$6.62 \pm 2.10$
$t_{\max}/\text{h}$	$3.59 \pm 0.96$	$0.38 \pm 0.22$
$\text{AUC}_{0-t}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	$39.69 \pm 6.77$	$38.27 \pm 8.87$
$\text{AUMC}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	$816.94 \pm 31.26$	$726.92 \pm 27.91$
$\text{MRT}/\text{h}$	$23.99 \pm 5.17$	$24.42 \pm 4.75$
$\text{VRT}/\text{h}^2$	$647.10 \pm 30.1$	$577.95 \pm 26.72$
$K/\text{h}^{-1}$	$0.028 \pm 0.009$	$0.031 \pm 0.008$

## 4 讨论

本实验中利巴韦林含量的检测方法参考了有关文献<sup>[5]</sup>, 因为利巴韦林是一种核苷酸类化合物, 对含药血浆处理采用高氯酸直接沉淀蛋白, 以正庚烷提取脂溶性杂质方法不会破坏利巴韦林在血浆中的含量与浓度。并且以加样血浆和样品血浆与利巴韦林的标准品同时进行高效液相色谱分析, 结果保留时间都相同, 且空白血浆无干扰, 证明在血浆中测定的是利巴韦林原形药物。经方法学考察本实验用高效液相色谱法测定血浆中药物浓度的方法准确, 灵敏度高, 分析速度快, 专属性强。

从血药浓度-时间曲线可见, 市售利巴韦林片服用后有一个较快的吸收和分布, 随后有一个较慢的消除过程, 且消除相血药浓度较低, 这与有关文献报道相吻合。然而利巴韦林缓释微丸与市售利巴韦林片相比在体内释药较为缓慢。服用后, 药-时曲线平稳, 其末端消除期由于缓慢吸收的存在

维持着较高的血药浓度。和普通片的药-时曲线比较表明,利巴韦林缓释微丸在体内的吸收相和分布相合并为一相。

#### 参考文献:

- [1] George GG, Donald JK, James DC, *et al.* High-reformance liquidchromatography (HPLC) assay for ribavirin and comparison of HPLC assay with radioimmunosay [J]. *Antimicrob Agents and Chemotherapy* Mar, 1989, 33(3): 311-315.
- [2] Huang XH, Meng QE, Zhang JP, *et al.* Clinical study of ribavirin[J]. *General Clinical Medicine(综合临床医学)*, 1994, 10(1): 44-45.
- [3] Duan LJ. Study of ribavirin in children diseases[J]. *Northwest Pharmaceutical Journal(西北药学杂志)*, 1998, 13(2): 89-90.
- [4] Sardral PG, Drusaro PG, Jacqueline NS, *et al.* Pharamacokinetics and absolute bioavaibility of ribavirin in healthy volunteers as determined by stable-Isotope methodology[J]. *Antimicrobial Agents and Chemother*, 1999, 43(10): 2451-2456.
- [5] Yu HX, Guo J, Li N, *et al.* Pharmacokinetics and bioavailability of ribavirin liposomes in rats[J]. *Journal of Shenyang Pharmacertical University(沈阳药科大学学报)*, 2001, 18(5): 320-323.

## Pharmacokinetics and relative bioavailability of ribavirin sustained-release pellets in dogs

TAO Xiu-mei, TANG Xing, DING Wan-ping

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** **Objective** To determine the pharmacokinetic parameters and relative bioavailability of the ribavirin sustained-release pellets in dogs, study the relationship between absorption *in vivo* and release *in vitro*. **Methods** The concentrations of ribavirin in plasma were determined by HPLC after the oral administration of ribavirin sustained-release pellets to dogs. The relative bioavailability and pharmacokinetic parameters of ribavirin sustained-release pellets were computed by the 3P97 pharmacokinetics program, with tablets available on the market as reference. **Results** The pharmacokinetic parameters of sustained-release pellets and immediate release tablets were  $t_{\max}$  (3.59±0.96)h and (0.38±0.22)h,  $c_{\max}$  (3.23±0.97) mg·L<sup>-1</sup> and (6.62±2.10) mg·L<sup>-1</sup>,  $AUC_{0-t}$  (39.69±6.77) mg·h·L<sup>-1</sup> and (38.27±8.87) mg·h·L<sup>-1</sup> respectively. The relative bioavailability of the test preparation was 103.7%. There was a marked relationship between release *in vitro* and absorption *in vivo*. **Conclutions** Ribavirin sustained-release pellets have marked sustained-release characteristics.

**Key words:** pharmaceutics; pharmacokinetics; HPLC; ribavirin; bioavailability; sustained-release pellets