

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.7.09

美洛昔康片剂在比格犬体内的药代动力学及生物利用度研究

郝俊玺¹, 叶妮², 王建中³, 王海挺⁴, 曹兴元^{3*}

(1. 内蒙古农业大学科技园区管理办公室, 呼和浩特 010018; 2. 中国兽医药品监察所 北京 100081;

3. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 4. 齐鲁动物保健品有限公司, 济南 250100)

[收稿日期] 2017-05-25 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 07-0047-05 [中图分类号] S859.79

[摘要] 以 0.1 mg/kg 体重的剂量研究美洛昔康片在比格犬中的药代动力学和生物利用度。采用 HPLC 分析血浆中的药物浓度, WinNonlin 6.4 非房室模型计算药代动力学参数。比格犬内服美洛昔康片后测得 0~48 h 美洛昔康的 $T_{1/2}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 和 AUC_{0-48} 分别为 14.55 ± 2.18 h、 296.16 ± 74.15 ng · mL⁻¹、 6.0 ± 0.00 h 和 6356.79 ± 1089.78 ng · h · mL⁻¹; 比格犬静脉注射美洛昔康溶液后, 测得 0~48 h 美洛昔康的 $T_{1/2}$ 和 AUC_{0-48} 分别为 11.54 ± 4.18 h 和 5510.68 ± 1075.29 ng · h · mL⁻¹。内服美洛昔康片剂的绝对生物利用度为 115.35%。美洛昔康片在比格犬体内消除速率较慢, 消除半衰期较长, 在体内滞留时间较长, 具有绝对生物利用度高, 药物在体内作用时间较长的药代动力学特征。

[关键词] 美洛昔康; 犬; 药代动力学; 生物利用度

Pharmacokinetics and Bioavailability of Meloxicam Tablet in Beagle Dogs

HAO Jun-xi¹, YE Ni², WANG Jian-zhong³, WANG Hai-ting⁴, CAO Xing-yuan^{3*}

(1. Inner Mongolia Agricultural University Science and Technology Park Management Office, Hohhot 010018, China;

2. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University,

Beijing 100193, China; 4. Qilu Animal Health Products Co., Ltd, Jinan 250100)

Corresponding author: Cao Xing-yuan, E-mail: cxy@cau.edu.cn

Abstract: This study was designed to investigate the pharmacokinetic and bioavailability of meloxicam (MLX) tablet in beagle dogs at a dose of 0.1 mg/kg bodyweight. The drug concentrations were analyzed using high performance liquid chromatography. The main PK parameters for p.o. and i.v. groups with WinNonlin 6.4 software, respectively, were as followings: $T_{1/2}$, C_{max} , T_{max} and AUC_{0-48} , 14.55 ± 2.18 h, 296.16 ± 74.15 ng · mL⁻¹, 6.0 ± 0.00 h and 6356.79 ± 1089.78 ng · h · mL⁻¹; $T_{1/2}$ and AUC_{0-48} , 11.54 ± 4.18 h and 5510.68 ± 1075.29 ng · h · mL⁻¹. The absolute bioavailability of MLX via p.o. was 115.35%. The results demonstrated that MLX tablet was rapid

基金项目: 国家自然科学基金 (31672599); 2017 年国家农产品质量安全风险评估项目 (GJFP201700701); 科技部“十三五”重大专项子项目 (2016YFD0501309-1)

作者简介: 郝俊玺, 讲师, 从事兽药和饲料分析相关科研工作。

通讯作者: 曹兴元。E-mail: cxy@cau.edu.cn

absorption, slow elimination and high bioavailability.

Key words: meloxicam; dog; pharmacokinetic; bioavailability

犬常见的止痛药包括非甾体抗炎药、阿片类药物和局部麻醉药物。兽医临床常用非甾体抗炎药治疗肌肉骨骼和腹腔疼痛^[1-2]。非甾体抗炎药具有退热、抗炎、镇痛的作用^[3],其主要机制是通过抑制环氧化酶进而阻断前列腺素的合成^[4]。美洛昔康属于烯醇类的非甾体抗炎药,能有效退热、抗炎和止痛^[5]。其选择性的抑制环氧化酶-2。而环氧化酶-2 是疾病状态诱导产生的^[6]。美洛昔康已被广泛用于人医与兽医临床,治疗术后及骨关节炎^[5]。刘宏^[7]研究报道过美洛昔康对犬骨关节炎具有良好的疗效。袁震等^[8]曾报道过美洛昔康口服液在犬体内的药代动力学。Mahmood等^[9]研究口服美洛昔康溶液在犬上的生物利用度。但国内有关美洛昔康片剂在犬体内的药代动力学研究鲜有报道。本文研究美洛昔康片剂在比格犬体内的药代动力学,以为其在临床更好应用于治疗相关疾病提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物 比格犬 12 只(11~13 月龄,10~12 kg,雌雄各半),购自北京苏家坨某比格犬试验场。实验动物房通风良好,装备空调,温度保持在 16~26 ℃,湿度保持在 40%~70%,明暗照明各 12 h,每只比格犬均用耳部纹身标记,并在笼具上标注试药编号与剂量。

1.2 药品与仪器 美洛昔康片(批号:1307002,规格:2.5 mg/片);美洛昔康注射液(批号:G 20809A-29,规格:5 mg/mL),勃林格殷格翰公司。美洛昔康标准物质(规格:50 mg,含量≥99%),批号 100679-200401,中国食品药品检定研究院。乙酸乙酯、甲醇和甲酸,色谱纯,Fisher 公司;其他试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪-紫外检测器:Waters 2695-2996(Waters 公司);电子天平(型号 XP105,瑞士 Mettler Toledo 公司);纯水仪(型号 Milli-Q,美国 MilliPORE 公司);旋涡混合器(型号 VX-2400,美国 TROEMNER 公司);移液器(德国 Eppendorf 公

司);离心机(Centrifuge 5804,德国 Eppendorf 公司);数控超声清洗器(型号 KQ5200DB,昆山市超声仪器有限公司);氮吹仪(型号:OA-SYS N-EVAP112, Organomation Associates 公司)。

1.3 方法 试验前将比格犬称重,随机分为两组,每组雌雄各半。给药前一天,比格犬禁食过夜。根据药品说明书推荐剂量,6 只比格犬以 0.1 mg/kg 体重剂量,经口一次性内服给予药品美洛昔康片。给药前及给药后分别在 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、8、10、12、24、36、48、60 和 72 h,臂头静脉采血 2.5 mL。另外 6 只比格犬以 0.1 mg/kg 体重剂量,经臂头静脉一次性缓慢注射美洛昔康注射液。静注给药前及给药后分别在 0.083、0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、10、12、24、36、48、60 和 72 h,给药对侧臂头静脉采血 2.5 mL。血样置于肝素抗凝的聚丙烯离心管中,3800 rpm 离心 10 min,吸取上层血清,-20 ℃ 保存待测。比格犬给药 4 h 后可恢复进食,试验过程中可自由饮水。为确保片剂完全口服,给药后立即灌胃给予少量生理盐水(10~20 mL)。

1.4 血浆样品前处理 1)取 1 mL 犬血浆于 10 mL 离心管中,然后加入 20 μL 5 mol/L NaOH,涡动 30 s,9000 r/min,4 ℃ 条件下离心 3 min;2)取上清,分别加入 200 μL 0.1 mol/L HCl,5 mL 乙酸乙酯,涡动 2 min;然后 4 ℃,9000 rpm 离心 3 min,转移上清于新离心管中;3)向沉淀中加入 200 μL 0.1 mol/L HCl,3 mL 乙酸乙酯,涡动 2 min;然后 4 ℃,9000 r/min 离心 3 min,转移上清于离心管;4)合并两次上清液;5)于 37 ℃,氮吹至近干;6)用 200 μL 复溶液复溶(复溶液:甲醇-0.2%甲酸水溶液(70:30,V/V);7)0.22 μm 滤膜过滤,取 20 μL 上机检测。

1.5 血浆药物浓度检测 HPLC 条件根据文献报道^[8]:高效液相色谱仪-紫外检测器:Waters 2695-2996;检测波长:355 nm;色谱柱为 Symmetry C18,4.6 mm×150 mm,5 μm;流动相:甲醇:0.2%甲酸水(70:30,V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:20 μL。洗脱条件:采集时间 6 min,70%甲醇:

30%水(0.2%甲酸)。

1.6 数据分析 根据各浓度的数据,使用 WinNonlin 6.4 (Linear/Log Trapezoidal Method, 1/y weighting) 软件,对各试验犬的数据进行计算相关药动学参数。同时经公式 $F_{SC} = (Dose_{IV}/Dose_{po}) \times (AUC_{lastpo}/AUC_{lastIV})$ 计算口服给药的绝对生物利用度。

2 结果

本试验建立了血浆中美洛昔康的HPLC测定方法,能够满足测定要求。样品测定灵敏度较高,

MLX出峰时间5.13 min附近,无明显血浆基质干扰与影响,空白血浆色谱图见图 1,空白血浆添加美洛昔康色谱图见图 2。在50~5000 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内,方法的线性关系良好,线性方程为 $y = 72.173x - 766.27$,相关系数为 $0.9998 \geq 0.99$,标准曲线检出限为 8 ng/mL,定量限为 10 ng/mL,回收率在 80.7%~116.4%,日内变异系数均小于9.0%,日间变异系数均小于10.8%。检测限与定量限优于袁震^[8]报道的检出限为10 ng/mL,定量限为20 ng/mL。

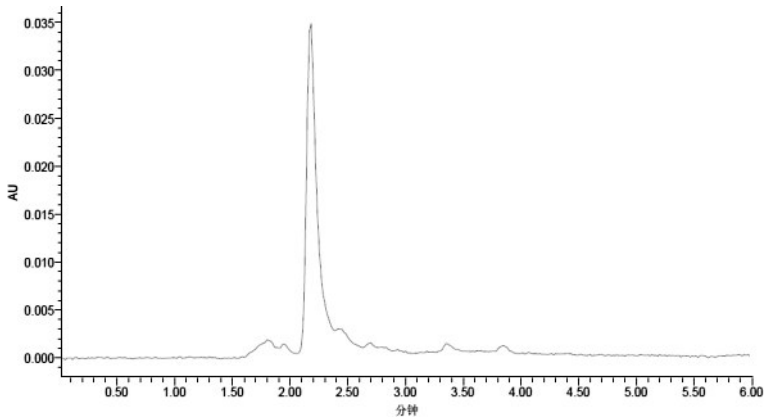


图 1 空白血浆色谱图

Fig 1 Chromatogram of blank plasma

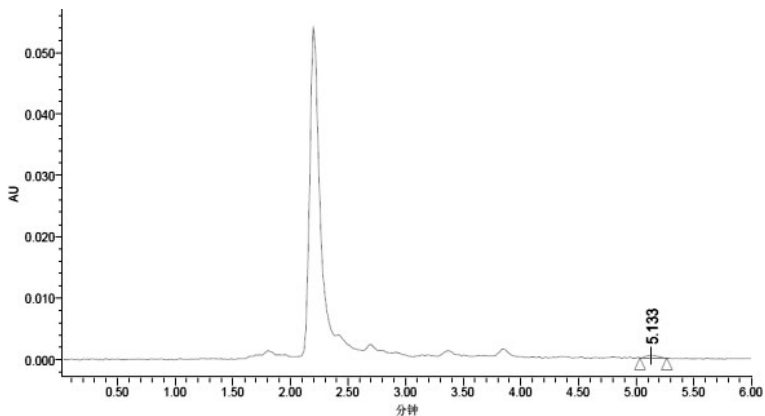


图 2 空白血浆添加美洛昔康色谱图

Fig 2 Chromatogram of MLX for 50 ng/mL in plasma

比格犬内服和静脉注射给予美洛昔康后,美洛昔康的药时曲线见图3,药代动力学参数见表1与表2。比格犬内服给予美洛昔康片后,测得0~48 h美洛昔康的 $T_{1/2}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 和 AUC_{0-1} 分别为 14.55 ± 2.18 h、

$296.16 \pm 74.15 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $6.0 \pm 0.00 \text{ h}$ 和 $6356.79 \pm 1089.78 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ (表1)。比格犬静脉注射给予美洛昔康溶液后,测得0~48 h美洛昔康的 $T_{1/2}$ 和 AUC_{0-1} 分别为 $11.54 \pm 4.18 \text{ h}$ 和 5510.68 ± 1075.29

ng · h · mL⁻¹ (表 2)。将内服给药后药-时曲线下面积 (AUC_{last}) 与静脉注射后药-时曲线下面积 (AUC_{last}) 比较, 经公式 $F = (\text{Dose}_{i.v.} / \text{Dose}_{p.o.}) \times$

(AUC_{lastp.o.} / AUC_{lasti.v.}) 计算, 内服美洛昔康片剂的绝对生物利用度为 115.35%, 说明美洛昔康片剂内服给药吸收完全。

表 1 比格犬内服美洛昔康片后美洛昔康的药代动力学参数 (0.1 mg · kg⁻¹ B.W., P.O., n=6)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of MLX after single oral administration in beagle dogs (0.1 mg · kg⁻¹ B.W., P.O., n=6)

参数	单位	1#	2#	3#	4#	5#	6#	平均值	标准差
λz	1/h	0.0529	0.0378	0.0446	0.0527	0.0469	0.0558	0.0485	0.0067
T _{1/2λz}	h	13.10	18.32	15.53	13.15	14.79	12.42	14.55	2.18
T _{max}	h	6	6	6	6	6	6	6	0
C _{max}	ng · mL ⁻¹	266.54	203.09	321.83	336.11	240.81	408.55	296.16	74.15
AUC _{last}	ng · h · mL ⁻¹	5475.16	5396.71	7079.64	6066.88	5912.24	8210.12	6356.79	1089.78
AUC _{INF_obs}	ng · h · mL ⁻¹	5816.66	6268.88	7921.18	6439.41	6423.58	8713.12	6930.47	1125.67
MRT _{last}	h	16.78	18.62	17.00	16.34	18.19	15.99	17.16	1.04
MRT _{INF_obs}	h	19.73	26.39	22.68	19.27	22.26	18.87	21.53	2.86
F	%							115.35	

表 2 比格犬静脉注射美洛昔康溶液后美洛昔康的药代动力学参数 (0.1 mg · kg⁻¹ B.W., I.V., n=6)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of MLX after single i.v. administration in beagle dogs (0.1 mg · kg⁻¹ B.W., I.V., n=6)

参数	单位	1#	2#	3#	4#	5#	6#	平均值	标准差
λz	1/h	0.0454	0.0799	0.0456	0.0998	0.0448	0.0907	0.0677	0.0254
T _{1/2λz}	h	15.27	8.68	15.21	6.95	15.47	7.64	11.54	4.18
AUC _{last}	ng · h · mL ⁻¹	6024.69	3872.97	5828.72	7042.54	4899.05	5396.10	5510.68	1075.29
AUC _{INF_obs}	ng · h · mL ⁻¹	6425.82	4009.34	6156.25	7193.73	5290.96	5549.77	5770.98	1094.00
V	mL · kg ⁻¹	342.80	312.22	356.52	139.31	421.92	198.59	295.23	105.84
Cl	mL · kg · h ⁻¹	15.56	24.94	16.24	13.90	18.90	18.02	17.93	3.87
MRT _{last}	h	17.43	14.28	18.57	17.02	17.70	15.43	16.74	1.59
MRT _{INF_obs}	h	20.71	15.85	21.31	17.88	21.60	16.64	19.00	2.52

3 讨论与小结

本试验中比格犬口服美洛昔康片后, 测得血浆中美洛昔康在 0~48 h 的药动学参数 T_{1/2}、C_{max}、T_{max} 和 AUC₀₋₁ 分别为 14.55±2.18 h、296.16±74.15 ng · mL⁻¹、6.0±0.00 h 和 6356.79±1089.78 ng · h · mL⁻¹, 而 Busch 等^[10] 以 0.2 mg/kg B.W. 剂量对比格犬进行了美洛昔康内服给药的药动学研究, 其 T_{1/2} 为 23.7 h (CV = 30%), MRT 为 40.0 h (CV = 21.9%), 说明美洛昔康具有消除慢, 血中半衰期长的特点, 与本研究结果一致。获得的 AUC_{inf} 为 22.9 mg/h/L

(CV = 16.0%), 约为本试验结果 (6898.34 ± 1105.88 ng · h · mL⁻¹) 的 2 倍多。本试验中 T_{max} 为 6.0 h, 与 Busch 的研究结果比 (T_{max} 为 7.5 h, CV = 110%), 说明美洛昔康片吸收速度适中, 并且差异不显著。本研究与袁震^[8] 报道美洛昔康口服液在 0.2 mg/kg B.W 犬体内的药代动力学参数 T_{1/2ka} 分别为 (0.95±0.64) h、T_{1/2ke} 为 (23.11±5.99) h、T_{peak} 为 (4.32±2.15) h、C_{max} 为 (0.77±0.25) μg/mL、AUC 为 (28.73±11.20) mg/h · mL⁻¹、C_{V/F} 为 (0.01±0.003) L/h、V/F 为 (0.25±0.09) L/kg 相比, 美洛昔康片剂比口

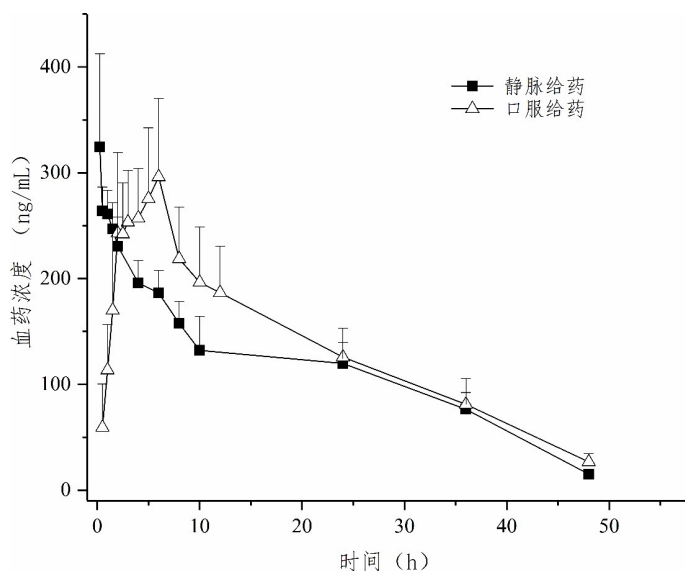


图 3 比格犬静脉注射美洛昔康注射液 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ B.W}$) 和口服美洛昔康片 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ B.W}$) 的药时曲线图
 Fig 3 Curves of MLX concentration-time after i.v and p.o. administration to beagle dogs

服液消除速率较慢,消除半衰期较长,在体内滞留时间较长,药物在体内作用时间较长。Mahmood 等^[9]研究美洛昔康口服液 (0.2 mg/kg bw) 的绝对生物利用度为 90.24%。本研究片剂的绝对生物利用度为 115.35%,说明片剂比口服液具有更好的生物利用度。

本研究提示美洛昔康片剂在比格犬体内消除速率较慢,消除半衰期较长,在体内滞留时间较长,具有绝对生物利用度高,药物在体内作用时间较长的药动学特征,可为兽医小动物临床使用该药提供给药参考依据,为研究及寻找新药,评价临床已经使用药物提供客观标准。

参考文献:

[1] Cagnardi P, Ferraresi C, Zonca A, et al. Clinical pharmacokinetics of tramadol and main metabolites in horses undergoing orchiectomy. *Veterinary Quarterly*, 2014,34(3):143-151.

[2] Karademir U, Aksit D, Kum C, et al. The effect of surgery (Ovariohysterectomy) on the plasma disposition of meloxicam following intravenous administration in dogs. *BMC Veterinary Research*, 2016,12(1):33.

[3] Curry S L, Cogar S M, Cook J L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 2005,41(5):298.

[4] Lees P, Giraudel J, Landoni M F, et al. PK-PD integration and

PK-PD modelling of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: principles and applications in veterinary pharmacology. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 2004,27(6):491-502.

[5] Chinnadurai S K, Messenger K M, Papich M G, et al. Meloxicam pharmacokinetics using nonlinear mixed-effects modeling in ferrets after single subcutaneous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 2014,37(4):382-387.

[6] Engelhardt G, Homma D, Schnitzler C. Meloxicam: a potent inhibitor of adjuvant arthritis in the Lewis rat. *Inflammation Research*, 1995,44(12):548-555.

[7] 刘宏.美洛昔康片对犬的临床安全性试验及对诱导型骨关节炎的疗效研究[D].南京农业大学,2012.

Liu Hong. The study of meloxicam on clinical safety and curative effect of induced osteoarthritis in dogs. [D]. Nanjing agricultural University. 2011.

[8] 袁震.美洛昔康口服液的安全性评价、药动学及解热镇痛作用初步研究[D].南京农业大学,2011.

Yuan Zheng. Study on safety evaluation, pharmacodynamics and pharmacokinetics of meloxicam oral solution [D]. Nanjing agricultural University. 2011.

[9] Mahmood K T, Ashraf M. Absolute bioavailability of oral meloxicam in healthy dogs. *Japs Journal of Animal & Plant Sciences*, 2010,20(3):193-196.

[10] Busch U, Schmid J, Heinzl G, et al. Pharmacokinetics of meloxicam in animals and the relevance to humans. *Drug Metab Dispos*, 1998,26(6):576-584.