

# 艾拉莫德 (T-614) 的临床前药代动力学研究

高 晶<sup>1\*</sup>, 只德广<sup>1</sup>, 曾 勇<sup>1</sup>, 张 鹏<sup>2</sup>, 刘昌孝<sup>1</sup>

1 天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学国家重点实验室, 天津 300193

2 沈阳药科大学药学院 药代实验室, 辽宁 沈阳 110016

**摘 要 目的:** 研究 T-614 原料在动物体内的吸收、分布、代谢、排泄、蛋白结合及口服原料和片剂的相对生物利用度; 研究 T-614 原料对 5 种人 P450 同工酶的体外抑制作用。**方法:** 采用 HPLC 方法进行大鼠 ig T-614 原料 5、10 和 20 mg/kg 的药代动力学 (吸收、分布、代谢、排泄、蛋白结合率) 及 Beagle 犬 po T-614 原料及片剂 (5 mg/kg) 的相对生物利用度研究; 采用 LC/MS/MS 方法对大鼠 ig T-614 原料 50 mg/kg 后尿液中的主要代谢转化产物进行了分析; 采用高通量 P450 酶抑制剂筛选试剂盒测定了 T-614 原料对人 P450 同工酶 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 的体外抑制活性。**结果:** 大鼠 ig T-614 原料 5、10 和 20 mg/kg 后主要药动学参数  $t_{1/2Ke}$  分别为  $(5.41 \pm 1.28)$ 、 $(4.31 \pm 0.48)$  和  $(4.17 \pm 1.04)$  h,  $t_{1/2Ka}$  分别为  $(0.16 \pm 0.06)$ 、 $(0.30 \pm 0.19)$  和  $(0.58 \pm 0.37)$  h,  $t_{max}$  分别为  $(0.81 \pm 0.20)$ 、 $(1.16 \pm 0.60)$  和  $(1.78 \pm 0.61)$  h,  $C_{max}$  分别为  $(7.83 \pm 1.85)$ 、 $(15.46 \pm 2.27)$  和  $(30.89 \pm 6.54)$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $AUC_{0-t}$  分别为  $(72.08 \pm 11.05)$ 、 $(127.53 \pm 17.68)$  和  $(296.24 \pm 57.10)$   $\mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$ ; 大鼠 ig T-614 原料 10 mg/kg 后在所有脏器组织中均能检测到原形物质, 其中肝、肾、子宫的量最高, 脑的量最低; 大鼠 ig T-614 原料 10 mg/kg 72 h 后, 粪中的排泄率达到 15.75 %, 而尿与胆汁的排泄率分别为 0.836 % 和 0.677 %; 当质量浓度为 5、10 和 20  $\mu\text{g/mL}$  时, T-614 原料的蛋白结合率分别为  $(17.2 \pm 5.1)$  %、 $(28.6 \pm 7.1)$  % 和  $(28.9 \pm 10.2)$  %, 平均蛋白结合率为  $(24.9 \pm 9.2)$  %。Beagle 犬口服 T-614 原料和片剂 5 mg/kg, 其主要药动学参数  $t_{1/2Ke}$  分别为  $(11.10 \pm 1.50)$  和  $(9.30 \pm 3.29)$  h,  $t_{1/2Ka}$  分别为  $(1.18 \pm 0.22)$  和  $(1.53 \pm 1.26)$  h,  $t_{max}$  分别为  $(4.24 \pm 0.48)$  和  $(4.23 \pm 1.75)$  h,  $C_{max}$  分别为  $(0.77 \pm 0.13)$  和  $(1.01 \pm 0.27)$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $AUC_{0-t}$  分别为  $(12.69 \pm 2.77)$  和  $(16.81 \pm 6.49)$   $\mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$ ; 微粉化片剂相对于原料的相对生物利用度为 132.5 %。大鼠 ig 50 mg/kg T-614 后, 尿液中检测到 T-614 的 5 种主要代谢物, 包括 T-614 原结构的异构体、苯环羟基化、脱醛基后再羟基化、脱醛基后胺基乙酰化、脱醛基后的产物。体外 CYP450 酶活性抑制试验结果表明, T-614 原料浓度为 20 ~ 0.009 1  $\mu\text{mol/L}$  时, 对 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 活力抑制的  $IC_{50} > 20 \mu\text{mol/L}$ 。**结论:** 大鼠 ig T-614 原料 5、10 和 20 mg/kg 剂量的药代动力学特征符合一级吸收。在大鼠体内各组织中分布较广, 蛋白结合率低于 30 %。粪、尿、胆汁中原形物质的总排泄量低于 20 %。Beagle 犬口服 T-614 片剂的相对生物利用度为 132.5 %。T-614 对人 P450 同工酶 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 活力无抑制作用。T-614 在肾脏中代谢转化的主要产物为原形物质的异构化、羟基化、脱醛基后再羟基化、脱醛基后胺基乙酰化、脱醛基等。

**关键词** 艾拉莫德 (T-614); 药代动力学; 吸收; 分布; 排泄; 代谢; 蛋白结合; P450 同工酶

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2009) 01-0019-10

## Studies on preclinical pharmacokinetics of Iguratimod (T-614)

GAO Jing<sup>1\*</sup>, ZHI De-guang<sup>1</sup>, ZENG Yong<sup>1</sup>, ZHANG Peng<sup>2</sup>, LIU Chang-xiao<sup>1</sup>

1 Center of New Evaluation Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2 Laboratory of Pharmacokinetics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, 110016, China

收稿日期: 2009-01-25

作者简介: 高 晶 (1960-), 女, 高级实验师, 从事药代动力学和药效动力学研究工作。E-mail: gaojing\_60@126.com

**Abstract Objective:** To study the absorption, distribution, excretion, metabolism, and protein bounding of raw material *in vivo* of animals and relative bioavailability of T-614 orally raw materials and tablets and the inhibitory activities of T-614 to 5 kinds P450 Isodynamic enzymes. **Methods:** Use HPLC method to carry out pharmacokinetics of T-614 in rats at doses of 5, 10 and 20 mg/kg, and also use the same method to observe the relative bioavailability of T-614 micro-powder tablets by *po* administered 5 mg/kg to Beagle dog. Using LC/MS/MS method to analyze the metabolites of T-614 50 mg/kg in urine of rats. Using P450 High throughput Inhibitor Screening Kit to determine the inhibitory activities of T-614 to P450 enzymes, CYP2D6, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4. **Results:** After ig administration of T-614 (5, 10, and 20 mg/kg) to rats, the main pharmacokinetic parameters  $t_{1/2K_e}$  was (  $5.41 \pm 1.28$  ), (  $4.31 \pm 0.48$  ), and (  $4.17 \pm 1.04$  )  $h^{-1}$ ;  $t_{1/2K_a}$  was (  $0.16 \pm 0.06$  ), (  $0.30 \pm 0.19$  ), and (  $0.58 \pm 0.37$  )  $h^{-1}$ ;  $t_{max}$  was (  $0.81 \pm 0.20$  ), (  $1.16 \pm 0.60$  ), and (  $1.78 \pm 0.61$  ) h,  $C_{max}$  was (  $7.83 \pm 1.85$  ), (  $15.46 \pm 2.27$  ), and (  $30.89 \pm 6.54$  )  $\mu g/mL$ ,  $AUC_{0-t}$  was (  $72.08 \pm 11.05$  ), (  $127.53 \pm 17.68$  ), and (  $296.24 \pm 57.10$  )  $\mu g/mL \cdot h$ , respectively. After ig T-614 (10 mg/kg) to rats, T-614 in all organic tissues was observed, contents in liver and kidney were the maximum, and the minimum in brain. During 72 h after administration of T-614 (10 mg/kg), excretion amount was 15.75 % from faeces, but only 0.836 % and 0.677 % from urine and bile, respectively. At 5, 10, and 20  $\mu g/mL$ , the protein bounding rate of T-614 was (  $17.2 \pm 5.1$  ) %, (  $28.6 \pm 7.1$  ) %, and (  $28.9 \pm 10.2$  ) %, respectively. The average value was (  $24.9 \pm 9.2$  ) %. After 5 mg/kg with *po* administration of T-614 and the tablets in Beagle dog,  $t_{1/2K_e}$  was (  $11.10 \pm 1.50$  ) and (  $9.30 \pm 3.29$  ) h,  $t_{1/2K_a}$  (  $1.18 \pm 0.22$  ) and (  $1.53 \pm 1.26$  ) h,  $t_{max}$  (  $4.24 \pm 0.48$  ) and (  $4.23 \pm 1.75$  ) h,  $C_{max}$  (  $0.77 \pm 0.13$  ) and (  $1.01 \pm 0.27$  )  $\mu g/mL$ , and  $AUC_{0-t}$  (  $12.69 \pm 2.77$  ) and (  $16.81 \pm 6.49$  )  $\mu g/mL \cdot h$ , respectively. The relative bioavailability of T-614 tablets was 132.5 %. Metabolites of T-614 in the urine were found to have five kinds of metabolic products, including isomer, hydrogenation, dealdehydelation, and hydrogenation and amino-acetylation of dealdehydelation products of T-614. At 20—0.009 1  $\mu mol/L$  of T-614, the  $IC_{50}$  was over 20  $\mu mol/L$  to CYP2D6, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4. **Conclusion:** After ig administration of T-614 (5, 10, and 20 mg/kg) to rats, the results indicate that pharmacokinetic study shows first order kinetic characteristics, distribution is broader in every tissue of rats, protein bounding rate is lower, and total excretion amounts are lower in urine and bile. Oral relative bioavailability of the T-614 tablets in Beagle dog is 132.5%. T-614 has no inhibitory action to P450 enzymes (CYP2D6, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4). The main metabolism transformation is isomer, hydrogenation, dealdehydelation and hydrogenation and amino-acetylation of dealdehydelation products of T-614.

**Key words** abstraction; distribution; excretion; Igratimod (T-614); metabolism; pharmacokinetics; protein binding; P450

自 1992 年日本学者 Tanaka 等<sup>[1]</sup>首次报道艾拉莫德 (Igratimod, T-614, 图 1) 的抗炎作用以来, 对其临床前药理活性和作用机制等基础研究一直未停止<sup>[2]</sup>。1993 年天津药物研究院与江苏先声药物研究有限公司对 T-614 进行了联合开发, 研究表明 T-614 是一种新型的具有多作用靶点的抗风湿性药物 (DMARD), 对风湿性关节炎具有明显的改善作用。目前 T-614 在中国已完成 I、II、III 期临床试验<sup>[3]</sup>。由于艾拉莫德同时作用于致炎细胞因子和 B 淋巴细胞, 因此它是一种很有前途的新型 DMARD<sup>[4]</sup>。在多中心剂量研究中, 口服给药剂量是 50 mg/d, 75 mg/d<sup>[5]</sup>。

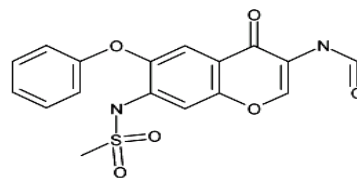


图 1 T-614 化学结构

Fig.1 Structure of T-614

T-614 的临床前药代动力学系统研究和生物利用度试验至今未见报道。根据我国新药申请的技术指南, 本课题组应用大鼠和 Beagle 犬进行了动物药代动力学研究, 包括吸收、分布、排泄, 以及片剂的相对生物利用度研究, 对体内代谢转化进行了定性分析, 对人 P450 同工酶 CYP2D6、CYP1A2、

CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 的体外抑制作用进行了研究。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

T-614 原料, 批号 20010701, 质量分数 99.62%, 由天津药物研究院化药部提供; T-614 片, 规格: 25 mg/片, 批号 20030113, 由天津药物研究院制剂中心提供; T-614 中间体, 由天津药物研究院化药部提供; N, N-二甲基甲酰胺 (DMF), 分析纯, 华北地区特种化学试剂开发中心天津公司经销; 乙腈, 色谱纯, 购于天津市康科德科技有限公司; 磷酸, 分析纯, 天津化学试剂二厂生产; 高通量 P450 酶抑制剂筛选试剂盒 (High Throughput Inhibitor Screening Kit), Gentest 公司产品, 其中包括: CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4, 相应的底物和阳性对照药分别为: (1) AMMC 和 12.5  $\mu\text{mol/L}$  的喹尼丁 (quinidine), (2) CEC 和 2.5 mmol/L 的呋喃菲林 (furafylline), (3) MFC 和 250  $\mu\text{mol/L}$  的磺胺苯吡唑 (sulfaphenazole), (4) CEC 和 2.5 mmol/L 的反苯环丙胺 (tranilcypromine), (5) BFC 和 125  $\mu\text{mol/L}$  的酮康唑 (ketoconazole)。

### 1.2 动物

Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 体质量 ( $200 \pm 20$ ) g, 天津药物研究院动物室提供。生产合格证: 津管动字 001 号。Beagle 犬, 体质量 ( $10 \pm 1.0$ ) kg, 由上海新冈动物场提供, 合格证书: 沪动合格证字 118 号。

### 1.3 仪器

高效液相色谱仪, 含 SSI—P4000 型泵, 岛津 SPD—10A UV 检测器, LabAlliance AS—3000 自动进样器, ANASTAR 色谱数据工作站; LC-MS 分析质谱仪, 美国 Finnigan 公司 LCQ 型液相色谱—质谱联用仪, 有电喷雾离子源 (ESI) 以及 LCQ 数据处理系统, 并配有直接进样用注射泵和 250  $\mu\text{L}$  进样器, 具有软电离和多级离子阱质谱功能; Zenyth 1100 多功能扫描仪: 奥地利 Anthos 公司产品; 荧

光专用 96 孔板 (全黑): Costar 公司产品; 日本岛津 NL—200TPA 分析天平, TGL—16C 高速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂。

## 2 方法

### 2.1 HPLC 法进行大鼠药代动力学研究

#### 2.1.1 给药分组和标本的采集

**吸收** 18 只大鼠, 随机分为 3 组, 每组 6 只, 雌、雄各 3 只, 分别 ig T-614 原料 (CMC 混悬液) 5、10、20 mg/kg, 于给药前 0 h 和给药后 0.17、0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 h 采血, 测定血药浓度。根据血药浓度数据应用 3P97 药代计算程序进行拟合计算药动学参数, 其中  $C_{\text{max}}$ 、 $t_{\text{max}}$  采用实测值, AUC 采用统计矩法计算。

**分布** 18 只大鼠, 随机分为 3 组, 每组 6 只, 雌、雄各 3 只, 各组大鼠均 ig T-614 原料 10 mg/kg, 分别于给药后 1、4、12 h 处死一组动物, 摘取心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠、肌肉、脂肪、睾丸、子宫等组织脏器, 制备组织匀浆, 测定相应组织匀浆中药物的量。

**排泄** 选用大鼠 6 只置于代谢笼中, ig T-614 原料 10 mg/kg, 收集给药后 0~2、2~4、4~6、6~8、8~12、12~24、24~48、48~72 h 的尿液和 0~4、4~8、8~12、12~24、24~48、48~72 h 的粪样本, 测定粪、尿中的药物浓度; 另取 6 只大鼠, 做胆管插管引流术, 收集给药前胆汁作为空白对照, 然后 ig T-614 原料 10 mg/kg, 收集药后 0~2、2~4、4~6、6~8、8~12、12~24 h 时间段的胆汁, 测定胆汁中的药物浓度。

**蛋白结合** 采用平衡透析法将 T-614 设为 3 个质量浓度 (5、10、20  $\mu\text{g/mL}$ ), 在平衡透析池中 4  $^{\circ}\text{C}$  放置 48 h, 测定蛋白结合率。

#### 2.1.2 样品处理方法

取大鼠血浆 200  $\mu\text{L}$ , 加入 DMF 200  $\mu\text{L}$ , 振荡 30 s, 放置 15 min, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 20  $\mu\text{L}$  进样。

#### 2.1.3 色谱条件

色谱柱: C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相: 乙腈-0.1 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (40 : 60); 柱温: 35 °C, 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 257 nm。

## 2.2 HPLC 法进行 Beagle 犬药代动力学和生物利用度研究

选用 Beagle 犬 8 只, 随机分为两组, 每组 4 只, 雌、雄各 2 只, 一组给予 T-614 原料 5 mg/kg, 另一组给予 T-614 片剂 5 mg/kg。分别于给药前 0 h 和给药后 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 静脉取血, 按 2.1.2 项下方法对血样进行处理后, 以 HPLC 法测定血药浓度, 色谱条件同 2.1.3 项下。应用 3P97 药代计算程序进行拟合计算药动学参数, 并计算口服片剂相对于口服原料的相对利用度。

## 2.3 LC/MS<sup>n</sup> 法进行大鼠体内代谢转化研究

### 2.3.1 给药及样品处理

大鼠 ig T-614 原料 50 mg/kg 后, 收集 24 h 尿液, 用乙腈沉淀后以 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进样分析。

### 2.3.2 分析条件

**色谱条件** 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm, 迪马公司); 流动相为乙腈-水-甲酸 (55 : 45 : 0.5); 体积流量为 0.5 mL/min; 进样量 20 μL。**质谱条件** 质谱仪离子源为电喷雾离子源 (ESI), 正离子方式检测, 离子源喷雾电压 4.50 kV; 毛细管温度: 200 °C, 毛细管电压: 13 V; 管透镜补偿电压 30 V; 碰撞气为 He; 鞘气和辅助气均为 N<sub>2</sub>, 流速分别为 70 和 10 流量单位 (a. u.); 采用全扫描一级质谱 (full scan MS)、离子全扫描二级质谱 (full scan MS<sup>2</sup>) 和全扫描三级质谱 (full scan MS<sup>3</sup>) 3 种方式同时测定。

## 2.4 对 CYP 酶活性的体外抑制研究

采用高通量 P450 酶抑制剂筛选试剂盒给出的试验步骤进行操作, 根据不同 CYP450 酶和不同底物选择不同的激发波长和发射波长。以荧光扫描仪上读出 96 孔板的荧光强度值计算样品和阳性对照药各对应浓度的剩余活性 (%), 以样品浓度的对数值对剩余活性作图, 找到最接近 50 % 酶活力的上下值 (high% inhibition 和 low% inhibition) 以及相

对应的样品浓度 (high concentration 和 low concentration), 并按以下公式计算 IC<sub>50</sub>。

$$IC_{50} = (50\% - \text{low\% inhibition}) \times (\text{high con.} - \text{low con.}) / (\text{high\% inhibition} - \text{low\% inhibition}) + \text{low con.}$$

## 3 结果

### 3.1 大鼠药代动力学

#### 3.1.1 专属性

按 2.1.2 处理样品和 2.1.3 色谱条件下, T-614 和内标峰形良好, 分离完全, 血浆及组织中的杂质不干扰样品测定, 内标和 T-614 的保留时间分别为 6.5 和 10.2 min。结果见图 2。

#### 3.1.2 方法学确证

**血浆** 用终质量浓度分别为 0、0.2、0.5、2、5、10、25、50 μg/mL 的标准血浆样品进行标准曲线、线性范围、最低检测限、回收率、重现性、稳定性考察。其标准曲线的回归方程为:  $Y = 20.764X + 0.431$  ( $r = 0.9991$ ); 线性范围 0.2 ~ 50 μg/mL; 最低检测限为 0.2 μg/mL; 血浆样品浓度为 0.5、5 和 25 μg/mL 的回收率分别为 (101.4 ± 7.2) %、(99.4 ± 1.8) % 和 (104.0 ± 4.0) %; 重现性、稳定性的 RSD 均在 10 % 以内, 均符合我国现行药代动力学试验的技术要求。

**组织** 心标准曲线方程:  $Y = 23.086X - 0.003$  ( $r = 0.9997$ ), 线性范围 0.1 ~ 5 μg/mL; 肝标准曲线方程:  $Y = 23.006X - 0.014$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围 0.1 ~ 5 μg/mL; 肾标准曲线方程:  $Y = 22.736X + 0.004$  ( $r = 0.9998$ ), 线性范围 0.2 ~ 5 μg/mL; 脑标准曲线方程:  $Y = 23.917X - 0.006$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围 0.05 ~ 2 μg/mL; 肌肉标准曲线方程:  $Y = 25.458X - 0.020$  ( $r = 0.9998$ ), 线性范围 0.05 ~ 2 μg/mL。

**尿、粪、胆汁** 尿标准曲线方程:  $Y = 22.297X + 0.048$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围 0.1 ~ 8 μg/mL; 粪标准曲线方程:  $Y = 20.430X + 0.428$  ( $r = 0.9994$ ), 线性范围 0.1 ~ 50 μg/mL; 胆汁标准曲线方程:  $Y = 24.066X + 0.078$  ( $r = 0.9994$ ), 线性范围 0.1 ~ 8 μg/mL。

### 3.1.3 药-时曲线及药代动力学参数

大鼠血浆中 T-614 的浓度-时间曲线见图 3, 其在体内的吸收符合一级动力学模型。药代动力学参数见表 1, 3 个剂量组  $C_{\max}$ 、 $AUC_{0-t}$  的相关性分析结果表明与剂量呈线性关系 ( $r=0.9999$ 、 $r=0.9956$ ), 见表 2。

### 3.1.4 T-614 在大鼠组织中的分布

大鼠 ig T-614 原料 10 mg/kg 后, T-614 原形在组织中分布顺序从高到低依次为 1 h: 子宫、肝、肠、肺、肾、心、脂肪、睾丸、脾、肌肉、胃、脑; 4 h: 肝、肾、子宫、肺、心、肠、睾丸、脾、脂肪、肌肉、胃、脑; 12 h: 肝、肾、子宫、肺、心、肠、睾丸、脾、脂肪、肌肉、胃、脑, 结果见图 4。

### 3.1.5 T-614 在大鼠组织中的排泄

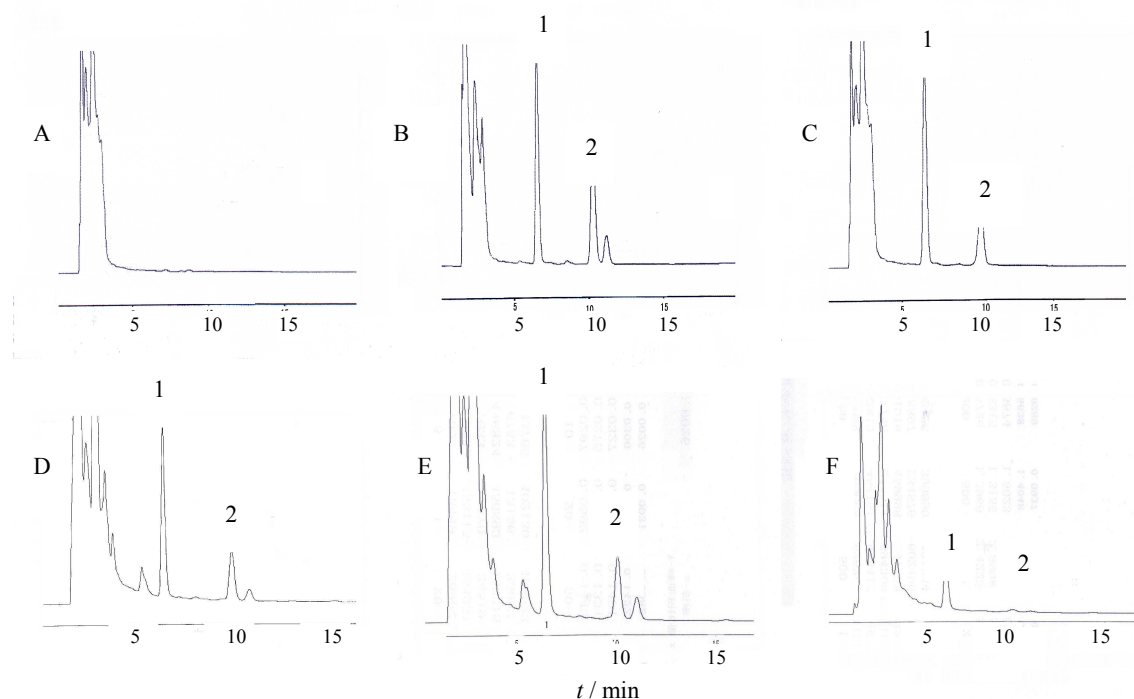
大鼠 ig T-614 原料 10 mg/kg 后, 72 h 后累积排泄率达到总给药量的 0.84 %; 粪中 72 h 后累积排泄率达到总给药量的 15.75 %; 胆汁中 72 h 后累积排泄率达到总给药量的 0.68 %, 见表 3。

### 3.1.6 T-614 的蛋白结合

T-614 质量浓度为 5、10、20  $\mu\text{g/mL}$  的蛋白结合率分别为 ( $17.2 \pm 5.1$ ) %、( $28.6 \pm 7.1$ ) %、( $28.9 \pm 10.2$ ) %, 结果见表 4。

### 3.1.7 T-614 在大鼠体内的代谢转化

大鼠 ig T-614 50 mg/kg 后, 经 LC/MS<sup>n</sup> 方法初步分离和分析, 检测到 5 种代谢物, 结果如图 5 所示, 其中  $M_1$  为 T-614 (S) 的异构体, 其他代谢转化为  $M_2$  苯环羟基化、 $M_3$  脱醛基后再羟基化、 $M_4$  脱醛基后胺基乙酰化、 $M_5$  脱醛基等。



A-空白血浆; B-空白血浆+T-614+内标; C-大鼠 ig T-614 血样; D-大鼠 ig T-614 粪样; E-大鼠 ig T-614 尿样; F-大鼠 ig T-614 胆汁样品; 1-内标; 2-T-614

A-blank plasma; B-blank plasma + T-614 + internal standard; C-blood sample of rats ig administered by T-614; D-faeces of rats ig administered by T-614; E-urine of rats ig administered by T-614; F-bile of rats ig administered by T-614; 1-internal standard; 2-T-614

图 2 T-614 血浆、粪、尿、胆汁样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of T-614 in plasma, faeces, urine, and bile

表 1 大鼠 ig T-614 后的主要药代动力学参数

Table 1 Main pharmacokinetic parameters of rats ig administered by T-614

| 参数                               | 单位                                      | T-614 剂量/ (mg•kg <sup>-1</sup> ) |                |                |
|----------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|
|                                  |                                         | 5                                | 10             | 20             |
| <i>Ka</i>                        | h <sup>-1</sup>                         | 4.90 ± 1.87                      | 4.92 ± 5.07    | 1.75 ± 1.44    |
| <i>Ke</i>                        | h <sup>-1</sup>                         | 0.13 ± 0.03                      | 0.16 ± 0.02    | 0.18 ± 0.04    |
| <i>t</i> <sub>1/2<i>Ka</i></sub> | h                                       | 0.16 ± 0.06                      | 0.30 ± 0.19    | 0.58 ± 0.37    |
| <i>t</i> <sub>1/2<i>Ke</i></sub> | h                                       | 5.41 ± 1.28                      | 4.31 ± 0.48    | 4.17 ± 1.04    |
| <i>t</i> <sub>max</sub>          | h                                       | 0.81 ± 0.20                      | 1.16 ± 0.60    | 1.78 ± 0.61    |
| <i>C</i> <sub>max</sub>          | μg · mL <sup>-1</sup>                   | 7.83 ± 1.85                      | 15.46 ± 2.27   | 30.89 ± 6.54   |
| AUC <sub>0-<i>t</i></sub>        | μg · h · mL <sup>-1</sup>               | 72.08 ± 11.05                    | 127.53 ± 17.68 | 296.24 ± 57.10 |
| CL                               | mL · kg <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> | 0.08 ± 0.01                      | 0.09 ± 0.02    | 0.08 ± 0.02    |
| V (c)                            | mL · kg <sup>-1</sup>                   | 0.61 ± 0.17                      | 0.55 ± 0.15    | 0.51 ± 0.18    |

表 2 *C*<sub>max</sub>、AUC 与给药剂量的相关性分析

Table 2 Correlation analysis on *C*<sub>max</sub> and AUC at various doses

| 参数                                                       | T-614 剂量/ (mg•kg <sup>-1</sup> ) |                |                | <i>r</i> |
|----------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|----------|
|                                                          | 5                                | 10             | 20             |          |
| <i>C</i> <sub>max</sub> / (μg · mL <sup>-1</sup> )       | 7.83 ± 1.85                      | 15.46 ± 2.27   | 30.89 ± 6.54   | 0.999 9  |
| AUC <sub>0-<i>t</i></sub> / (μg · h · mL <sup>-1</sup> ) | 72.08 ± 11.05                    | 127.53 ± 17.68 | 296.24 ± 57.10 | 0.995 6  |

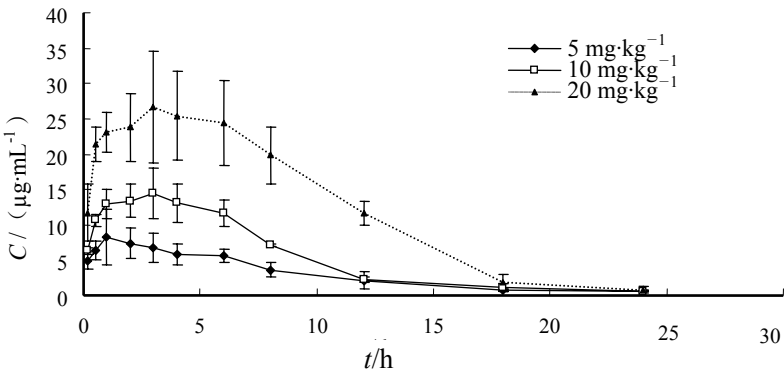


图 3 大鼠血浆 T-614 血药浓度-时间曲线

Fig. 3 The serum concentration–time curve of T-614 after ig administration to rats

表 3 大鼠 ig T-614 10 mg/kg 后的累计排泄率

Table 3 Accumulative excretion rate of T-614 after ig administration 10 mg/kg to rats

| 时间/h | 累计排泄率 / % |      |      |
|------|-----------|------|------|
|      | 粪         | 尿    | 胆汁   |
| 2    | —         | 0.08 | 0.09 |
| 4    | 0.33      | 0.18 | 0.17 |
| 6    | —         | 0.29 | 0.26 |
| 8    | 3.40      | 0.39 | 0.34 |
| 12   | 10.94     | 0.50 | 0.42 |
| 24   | 13.45     | 0.67 | 0.68 |
| 48   | 14.66     | 0.76 | —    |
| 72   | 15.75     | 0.84 | —    |

表 4 T-614 血浆蛋白结合率  
Table 4 Protein bounding rate of T-614

| 总浓度 $C_f$ / ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 游离浓度 $C_f$ / ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 蛋白结合率 / %       |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|
| 5                                                | $2.07 \pm 0.13$                                   | $17.2 \pm 5.1$  |
| 10                                               | $3.57 \pm 0.36$                                   | $28.6 \pm 7.1$  |
| 20                                               | $7.11 \pm 1.02$                                   | $28.9 \pm 10.2$ |

### 3.2 Beagle 犬药代动力学和生物利用度研究

Beagle 犬口服 T-614 原料 5 mg/kg 和 T-614 片剂 5 mg/kg 后体内的吸收符合一级动力学模型, 血药浓度-时间曲线见图 6, 药代动力学参数及相对生物利用度见表 5。片剂的相对生物利用度为 132.50 %, 结果表明微粉化处理可以明显提高生物利用度。

### 3.3 对人 P450 同工酶 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 的体外抑制作用

采用 Gentest 公司的高通量 P450 酶抑制剂筛选试剂盒 (High Throughput Inhibitor Screening

Kit), 测定了 T-614 对 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 共 5 种 P450 同工酶的体外抑制活性。阳性对照药物和 T-614 对 CYPs 的体外抑制试验结果分别见表 6 和 7。表 6 结果显示在本试验条件下, 5 种已知的专一性抑制剂均对各自对应的酶有显著抑制作用, 证明了本试验方法的可靠性。表 7 结果显示 T-614 对 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和 CYP3A4 活力抑制的  $\text{IC}_{50}$  均大于  $20 \mu\text{mol/L}$ , 属于基本没有抑制作用 ( $\text{IC}_{50} > 10 \mu\text{mol/L}$ )。

表 5 Beagle 犬口服 T-614 原料与片剂后的主要药动学参数

Table 5 Pharmacokinetic parameters of T-614 after *po* raw materials and tablets to beagle dog

| 参数                 | 单位                                                   | T-614 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) |                  |
|--------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------|
|                    |                                                      | 原料                                            | 片剂               |
| $K_a$              | $\text{h}^{-1}$                                      | $0.60 \pm 0.10$                               | $0.71 \pm 0.50$  |
| $K_e$              | $\text{h}^{-1}$                                      | $0.06 \pm 0.01$                               | $0.08 \pm 0.03$  |
| $t_{1/2K_a}$       | h                                                    | $1.18 \pm 0.22$                               | $1.53 \pm 1.26$  |
| $t_{1/2K_e}$       | h                                                    | $11.10 \pm 1.50$                              | $9.30 \pm 3.29$  |
| $t_{\max}$         | h                                                    | $4.24 \pm 0.48$                               | $4.23 \pm 1.75$  |
| $C_{\max}$         | $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$                   | $0.77 \pm 0.13$                               | $1.01 \pm 0.27$  |
| $\text{AUC}_{0-t}$ | $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$    | $12.69 \pm 2.77$                              | $16.81 \pm 6.49$ |
| CL                 | $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ | $0.32 \pm 0.07$                               | $0.28 \pm 0.03$  |
| V (c)              | $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$                     | $5.08 \pm 1.04$                               | $3.81 \pm 1.59$  |

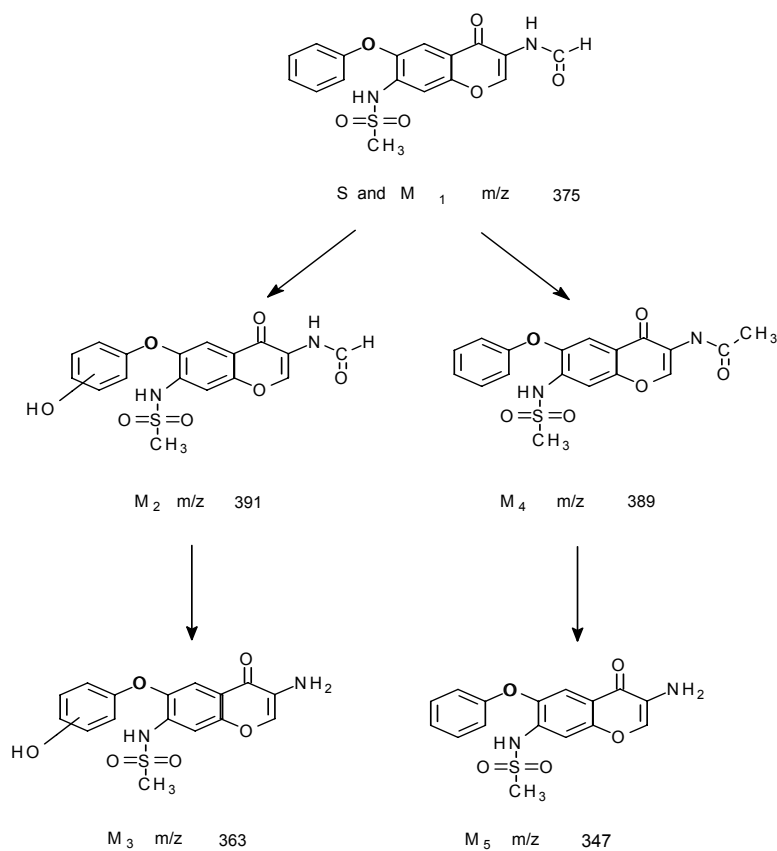


图 5 T-614 的代谢转化产物

Fig. 5 Metabolism transformation of T-614

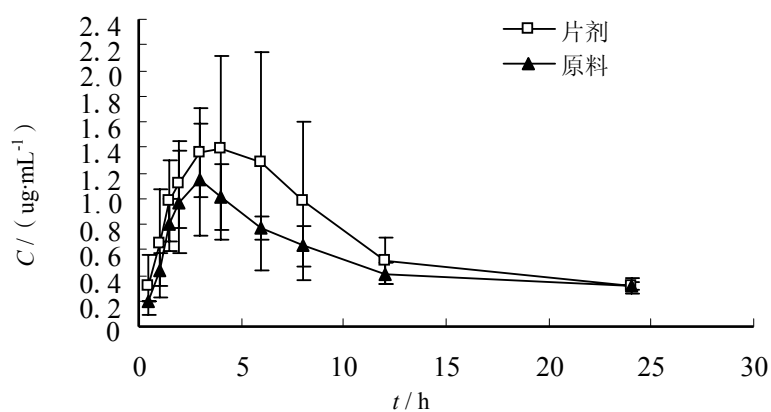


图 6 Beagle 犬口服 T-614 原料和片剂 (5 mg/kg) 后血药浓度-时间曲线

Fig. 6 The serum concentration-time curve of T-614 after *po* raw materials and tablets to beagle dog



表 6 阳性对照药物对 CYPs 的抑制实验结果

Table 6 Inhibitory activities of positive control drugs to CYPs

| 2D6              |                              | 1A2   |                             | 2C9   |                             | 2C19  |                              | 3A4   |                              |
|------------------|------------------------------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|------------------------------|-------|------------------------------|
| 酶活性              | Qui/ (nmol·L <sup>-1</sup> ) | 酶活性   | Fur/(nmol·L <sup>-1</sup> ) | 酶活性   | Sul/(nmol·L <sup>-1</sup> ) | 酶活性   | Tra/ (nmol·L <sup>-1</sup> ) | 酶活性   | Ket/ (nmol·L <sup>-1</sup> ) |
| /                | 500                          | 0.6%  | 100 000                     | /     | 10 000                      | 7.7%  | 100 000                      | 1.5%  | 5 000                        |
| 7.0%             | 166.7                        | 4.8%  | 33 333                      | /     | 3 333                       | 8.0%  | 33 333                       | 8.2%  | 1 667                        |
| 21.5%            | 55.6                         | 17.5% | 11 111                      | 26.6% | 1 111                       | 19.5% | 11 111                       | 11.0% | 555.6                        |
| 50.3%            | 18.5                         | 33.3% | 3 704                       | 46.9% | 370.4                       | 56.9% | 3 704                        | 32.1% | 185.2                        |
| 112 %            | 6.17                         | 69.3% | 1 235                       | 74.0% | 123.5                       | 115%  | 1 235                        | 49.7% | 61.7                         |
| 79.6%            | 2.06                         | 132%  | 411.5                       | 109%  | 41.2                        | 141%  | 411.5                        | 91.6% | 20.6                         |
| 88.2%            | 0.69                         | 84.2% | 137.2                       | 93.3% | 13.7                        | 149%  | 137.2                        | 141%  | 6.86                         |
| 117%             | 0.23                         | 165%  | 45.7                        | 77.4% | 4.57                        | 157%  | 45.7                         | 117%  | 2.29                         |
| IC <sub>50</sub> | 17.8                         |       | 2225                        |       | 327                         |       | 4536                         |       | 61.2                         |

表 7 艾拉莫德对 CYPs 的抑制实验结果

Table 7 Inhibitory activities of T-614 to CYPs

| T-614/ (nmol·L <sup>-1</sup> ) | 酶活性 / % |      |      |      |      |
|--------------------------------|---------|------|------|------|------|
|                                | 2D6     | 1A2  | 2C9  | 2C19 | 3A4  |
| 20 000                         | 190     | 105  | 245  | 156  | 69.0 |
| 6 667                          | 129     | 92.9 | 138  | 73.1 | 66.5 |
| 2 222                          | 134     | 129  | 161  | 146  | 92.2 |
| 740.7                          | 103     | 90.8 | 148  | 146  | 119  |
| 246.9                          | 98.8    | 81.9 | 131  | 66.8 | 72.0 |
| 82.3                           | 102     | 84.3 | 162  | 119  | 83.7 |
| 27.4                           | 98.8    | 85.1 | 147  | 236  | 65.0 |
| 9.1                            | 100     | 125  | 91.2 | 122  | 91.4 |
| IC <sub>50</sub> / (μmol/L)    | >20     | >20  | >20  | >20  | >20  |

## 4 结论

大鼠 ig T-614 5、10 和 20 mg/kg 剂量的药动学研究表明, 该药物的体内吸收符合一室模型的动力学特点。在所有脏器组织中均能检测到原形药物。其中肝、肾、子宫的量最高, 脑的量最低。蛋白结合率低于 30 %, 在粪、尿、胆汁中的累计排泄率分别相当于总给药量的 15.75 %、0.84 %、0.68 %。Beagle 犬口服 T-614 片剂 5 mg/kg 后相对于 T-614 原料的相对生物利用度为 132.5 %。在大鼠尿液中检测到 5 种 T-614 的代谢产物, 以 T-614 原形的异构体、羟基化、脱醛基后再羟基化、脱醛基后胺基乙酰化、脱醛基等为主要代谢转化途径。T-614 对 CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 和

CYP3A4 活力基本没有抑制作用。

## 5 讨论

到目前为止, 未见国内外学者有关 T-614 药动学的系统研究的报道。T-614 动物药动学研究结果表明, T-614 在动物体内吸收迅速, 消除较缓慢, 为将来临床用药及剂型的确定提供了一些参考依据。T-614 在体内分布较广泛, 且对 CYP450 酶无抑制作用, 在临床应用方面, 特别是联合用药方面有很大参考价值。T-614 在尿液中有 5 种代谢产物, 这些转化产物的量有多少, 对肌体是否会产生毒副作用, 是否会有其他活性, 均有待于今后进一步的研究。

## 参考文献:

- [1] Tanaka K, Shimotori T, Makino S, *et al.* Pharmacological studies of the new anti-inflammatory agent 3-formylamino-7-methyl- sulfonylamino-6- phenoxy- 4H-1- benzopyran-4-one. 1<sup>st</sup> communication: anti-inflammatory, analgesic and other related properties[J]. *Arzneimittel-Forschung*, 1992, 42 ( 7 ) : 935-944.
- [2] Liu C X. Review on the pharmacodynamics and action mechanism of Igyratimod, a non-steroidal antiinflammatory drug[J]. *Asian J Pharmacodyn Pharmaokinet* , 2007, 7 ( 1 ) : 33-48.
- [3] LÜ L J, Teng J L, Bao C D, *et al.* Safety and efficacy of T-614 in the treatment of patients with active rheumatoid arthritis: a double blind, randomized, placebo-controlled and multicenter trial[J]. *Chin Med J*, 2008, 121 ( 7 ) : 615-619.
- [4] Hara M, Abe T, Sugawara S, *et al.* Efficacy and safety of igyratimod compared with placebo and salazosulfa-pyridine in active rheumatoid arthritis: a controlled , multicenter, double-blind, paralle-group syudy[J]. *Mod Rheumatol*, 2007, 17: 1-9.
- [5] Hara M, Kashiwazake S, Abe T, *et al.* Therapeutic effect of T-614, a new anti-arthritic agent, on rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheumat*, 1996, 39 ( 9 Suppl ) : S28

## 《中草药》杂志 2010 年征订启事

《中草药》杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级期刊，月刊，国内外公开发行。

本刊创始于 1970 年 1 月，1992 年荣获首届全国优秀科技期刊评比一等奖；2001 年荣获中国期刊方阵“双奖期刊”；2003 年荣获第二届国家期刊奖；2005 年荣获第三届国家期刊奖提名奖；2005 - 2008 年连续 4 年荣获“百种中国杰出学术期刊”；2008 年度中国精品科技期刊。本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊。根据《中国科学引文数据库》连续 6 年来的统计数据表明，在中国科技期刊总被引频次数排行表中，本刊一直名列前 15 名，中医中药类第 1 名。多年来一直入选“CA 千刊表”，并被俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《国际药学文摘》(IPA)、美国《医学索引》(IM/MEDLINE)、荷兰《医学文摘》(EMBASE)、波兰《哥白尼索引》(IC)等国际著名检索系统收录。

本刊主要报道中草药化学成分；药剂工艺、生药炮制、产品质量、检验方法；药理实验和临床观察；药用动、植物的饲养、栽培、药材资源调查等方面的研究论文，并辟有中药现代化论坛、综述、短文、新产品、企业介绍、学术动态和信息等栏目。

承蒙广大作者、读者的厚爱和大力支持，本刊稿源十分丰富。为了缩短出版周期，增加信息量，本刊由大 16 开本每期 160 页扩版为 168 页，定价 25.00 元。国内邮发代号：6—77，国外代号：M221。请到当地邮局订阅。

欢迎广大作者踊跃投稿，欢迎广大读者订阅，欢迎与中外制药企业合作，宣传推广、刊登广告（包括处方药品广告）。

### 《中草药》杂志编辑部

地 址：天津市南开区鞍山西道 308 号

邮 编：300193

电 话：(022) 27474913 23006821

传 真：(022) 23006821

电子信箱：zcyzzbjb@sina.com

网 址：www.tjipr.com