

洛匹那韦药代动力学的研究进展

姚亚敏¹, 沐俊², 孙骥², 马芳¹, 卢洪洲¹, 张丽军¹ (1. 上海市公共卫生临床中心, 上海 201508; 2. 苏州大学医学部, 江苏 苏州 215123)

[摘要] 洛匹那韦作为第二代蛋白酶抑制剂, 在艾滋病治疗领域得到广泛应用。然而, 该药能被代谢酶 CYP3A4 快速代谢, 在临床应用中, 存在较大的个体差异。因此, 对洛匹那韦进行药代动力学分析, 了解其血药浓度与疗效以及不良反应的关系, 对优化临床用药具有重要意义。本文全面综述了近年来洛匹那韦浓度分析方法、药代动力学研究进展, 为日后洛匹那韦治疗药物监测以及个体化用药研究提供归纳总结材料。

[关键词] 洛匹那韦; 艾滋病; 蛋白酶抑制剂; 药代动力学

[中图分类号] R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)05-0336-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.05.005

Progress on pharmacokinetics of lopinavir

YAO Ya-min¹, MU Jun², SUN Ji², MA Fang¹, LU Hong-zhou¹, ZHANG Li-jun¹ (1. Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China; 2. Medical College of Suzhou University, Suzhou 215123, China)

[Abstract] Lopinavir was widely used as a second generation protease inhibitor in AIDS therapy, which was quickly metabolized by CYP3A4. For individual variance might lead to different metabolism, it was important to study the pharmacokinetic parameters of lopinavir and learn the relationship between drug concentration and curative effect or adverse reactions. The methods for determining lopinavir concentration and the progress of pharmacokinetic research were reviewed in this paper which might offer some help for treatment drug monitoring (TDM) and personalized dosage research.

[Key words] lopinavir; AIDS; protease inhibitor; pharmacokinetics

洛匹那韦(LPV, 结构式如图 1) 是一种新的抗 HIV 的蛋白酶类抑制剂药物, 主要通过细胞色素 P450 3A (CYP3A, 主要是 CYP3A4) 得以快速代谢, 与少量的利托那韦(RTV) 组成一种复合制剂(克力芝)。利托那韦是 CYP3A 抑制剂, 竞争性抑制洛匹那韦的代谢, 可以增强洛匹那韦的吸收利用, 增强药物治疗效果^[1]。最近的研究表明监测洛匹那韦的血药浓度与疗效、毒副作用密切相关; 由于艾滋病患者常常进行长期的联合用药, 药物与药物之间相互作用所导致的疗效降低或者毒副作用增强成为临床研究不容忽视的领域; 此外, 药物代谢酶的个体差异所导致血药浓度差异较大^[2~4]。因而, 准确、简单易行的监测抗病毒药物洛匹那韦的血药浓度具有非常重要的意义。本研究就洛匹那韦在各种生物体液中的浓度检测方法, 药代动力学研究进展作一个系统性的综述。

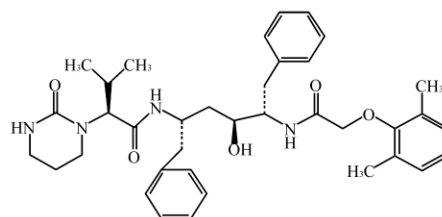


图 1 洛匹那韦的化学结构

1 洛匹那韦浓度分析方法

1.1 生物样品处理方法 文献报道的样品前处理方法有蛋白沉淀法^[5], 液液萃取法^[6-11], 固相萃取法^[1-12], 干血点法^[13], 以及蛋白沉淀联合液液萃取法^[14]。这 5 种方法各有优缺点, 蛋白沉淀法处理过程简单, 成本低, 但是样品被稀释, 检测限低, 要求仪器具有足够的灵敏度, 而且蛋白沉淀法往往处理不干净, 会有蛋白进入待分析的样品中, 污染仪器和色谱柱; 液液萃取法萃取溶剂量大, 容易造成环境污染, 而且只适合于极性小的化合物的提取, 其优点是对脂溶性化合物提取效率高, 样品比较干净; 固相萃取法可以对样品分离、纯化和浓缩, 与传统的液液

[基金项目] 抗艾滋病病毒新药临床评价研究技术平台建设 (2012ZX09303013); 成人艾滋病适宜治疗策略研究与应用 (2012ZX10001003)。

[作者简介] 姚亚敏 (1982-), 女, 研究实习生, E-mail: yym_210@163.com。

[通讯作者] 张丽军, E-mail: zhanglijun1221@163.com。

萃取法相比较可以提高分析物的回收率,更有效的将分析物与干扰组分分离,但是目前其成本比较高;干血点法(dried blood spot, DBS)即将全血样品收集在卡纸上,在血样采集方法上比传统方法有一定的优势。它需求较少的血量,可减少动物和人的痛苦,方便血样采集、存储运输,简化样品前处理,特别适用于采血体积较少的药物实验的研究,其缺点是

采集时血样必须均匀,对点样工具、点样温度、点样体积要求比较高;蛋白沉淀联合液液萃取提取法虽然提取的样本比单独的蛋白沉淀法要干净,但是适用于脂溶性化合物,而且为两步提取,操作复杂。笔者对洛匹那韦生物样品的样品处理过程做了一个整理,具体见表 1。每个实验室可根据自身实验条件选择合适的样品处理方法。

表 1 文献报道的处理洛匹那韦样品的方法

标本	处理方法	大致步骤	回收率(%)	参考文献
人血浆	固相萃取法(SPE)	病人血浆→加入内标→涡旋→转移到固相萃取柱中(甲醇和蒸馏水冲洗过)→0.5 M Na ₂ CO ₃ (pH=9.0)冲洗萃取柱→0.001 M HCl 冲洗萃取柱→乙腈洗脱 2 次→上样分析;	90.7	[1]
人血浆	固相萃取法(SPE)	血浆→加入内标→加入 10% 甲酸→涡旋→转移到固相萃取柱中(甲醇和蒸馏水冲洗过)→5% 甲醇洗脱杂质→0.2% 甲酸甲醇洗脱→N ₂ 吹干复溶→上样分析	96.6	[12]
脑脊液/人血浆	液液萃取(LLE)	样品加入萃取剂己烷-乙酸乙酯(25:75)→涡旋→离心→氮吹→复溶→上样分析	99	[6~8]
人血浆	液液萃取(LLE)	血浆用 0.5 M Na ₂ CO ₃ 碱化后加入萃取剂己烷-乙酸乙酯(50:50)→涡旋→离心→氮吹→复溶→上样分析	77~87	[9]
人血浆/精液/唾液/血浆超滤液	液液萃取(LLE)	样品加入 0.01 mM NaOH 碱化后→甲基叔丁醚萃取→吹干→复溶→上样分析	73.5~118.4	[10]
PBMC 细胞/血浆/超滤液	液液萃取(LLE)	样品加入 0.02 mM K ₃ PO ₄ 碱化后(PBMC 超声)→甲基叔丁醚萃取→吹干→复溶→上样分析	74.1~102.7	[11]
人血浆	蛋白沉淀法	样品加入内标→涡旋→加入乙腈→离心→上清上样分析	97.7	[5]
人血浆	蛋白沉淀联合萃取	样品先经蛋白沉淀后在液液萃取	76.1~82.2	[14]
人全血	干血点提取法	指尖采血风干→取一定面积干血点样品→乙腈:甲醇:0.2M 硫酸锌(1:1:2)提取	94~109	[13]

1.2 生物样品的分析方法 生物样品中的洛匹那韦大多以 μg/ml 或 ng/ml 浓度水平存在,其检测不仅受同时存在的多种结构相似的内源性物质干扰,还受和原型药仅有微小差别的代谢物干扰,因此其检测方法必须灵敏度高,专属选择性强。目前文献报道的有高效液相色谱(HPLC)、液质联用法(LC-MS/MS)等方法来分析检测洛匹那韦的。高效液相色谱只能检测在紫外可见光谱内有吸收的化合物,要求分析物与干扰的内源性物质必须达到完全分离,灵敏度不及液相色谱串联质谱仪;液质联用法目前普遍采用多反应监测(Multiple reaction monitor, MRM),其原理是每个化合物有特定的母子离子对,对其进行定量分析,专属性好,灵敏度高。表 2 例举了血浆、脑脊液、全血、超滤液、PBMC 等生物样本中洛匹那韦的线性检测范围,流动相、色谱柱规格、检测波长、检测离子对等详细内容,可以为分析研究者提供参考。

2 药代动力学研究进展

洛匹那韦作为一个重要的一线蛋白酶类抑制药物,在艾滋病的治疗中扮演重要角色。为了更好的指导临床用药,近年来有较多的上市后再评估研究,包括药物相互作用、不同剂量药代动力学、药物浓度与药物基因组学关系、时辰药代动力学、PK-PD、群体药理学等研究,获得了一些具有临床指导意义的药理学参数(表 3)。在药物相互作用研究方面, Eric 等研究了洛匹那韦与奈韦拉平的相互作用,发现奈韦拉平能诱导洛匹那韦的代谢,增加其清除速度,降低其体内浓度^[3]。Jackson 等从复方制剂中利托那韦(RTV)能提高洛匹那韦(LPV)的生物利用度角度出发,比较了克力芝 LPV/RTV 400/100 mg、200/150 mg、200/50 mg 的药代动力学,发现 LPV/RTV 200/150 mg 可以与 LPV/RTV 400/100 mg 达到相同的生物利用度^[18]。在 PK-PD 研究方面, Ann 等人进行洛匹那韦 PK-PD 研究,发现当克力芝合用依非韦伦时 LPV/RTV 剂量为 400/100 mg 与不合用依非韦伦但 LPV/RTV 剂量为 533/133 mg 的 PK-PD 相当,说明依非韦伦可以提高洛匹那韦的生物利用

度^[19]。在药物基因组学研究上,Matthias 等研究了洛匹那韦药物浓度与基因的关系,发现在一部分 CYP2B6 超强代谢者 LPV 浓度偏低,治疗失败,究其原因 LPV 主要通过 CYP3A4 代谢,而 RTV 能抑制 3A4 从而提高 LPV 的浓度,但是 RTV 又是通过 CYP2B6 代谢,CYP2B6 超强代谢型能快速代谢 RTV,从而导致体内 LPV 的浓度降低,这部分人由于基因差异 LPV 达不到有效治疗浓度从而治疗失

败^[4]。另外 Van 等学者对洛匹那韦进行了时辰药代动力学研究,发现无论是早上服药还是下午服药其药代动力学过程均无影响,食物也不会影响其在体内的代谢过程^[16]。Natella 等则对 LPV 进行了群体药代动力学研究,成功建立了 PPK 模型应用于治疗效果不佳的 HIV 患者疗效的研究实现个体化用药^[20]。以上各种研究均为洛匹那韦的合理安全用药提供了依据。

表 2 文献报道的检测洛匹那韦的方法

检测仪器	检测范围	色谱条件		质谱条件			参考文献
		流动相	色谱柱	检测波长 (nm)	离子对 (m/z)	离子源检测模式	
HPLC	血浆 0.187 ~ 10 $\mu\text{g/ml}$	乙腈:水 = 41 : 59	Xterra C ₈ (150 mm \times 3.9 mm)	210	[1]
HPLC	血浆 0.06 ~ 24.06 $\mu\text{g/ml}$	乙腈:甲醇:0.02 M 四甲基高氯酸铵含 0.2% 三氟乙酸 (45 : 5 : 50)	Radial-Pak Nova-Pak C ₁₈ column (4 mm , 8 \times 100 mm , Waters)	205	[9]
UPLC-ESI-MS/MS	血浆 29.7 ~ 14 379 ng/ml	甲醇-0.1% 甲酸水溶液 (90: 10)	Waters Acquity UPLC BEH C ₁₈ , (50 mm \times 2.1 mm)	...	629.3/447.4	正离子	[12]
LC-MS/MS	脑脊液:0.31 ~ 25 ng/ml 血浆:1.25 ~ 100 ng/ml	5m M 乙酸胺-乙腈 (5: 95)	Waters Symmetry C ₁₈ (30 mm \times 2.1mm)	...	629.5/447.6	正离子	[6 7]
LC-MS/MS	血浆 62.5 ~ 10 000 ng/ml	甲醇-0.1% 甲酸水溶液 (80: 20)	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C ₁₈	...	629.6/155.2	正离子	[14]
LC-MS/MS	血浆 50.67 ~ 10 008.82 ng/ml	乙腈-5 mM 乙酸铵 (20: 80)	Inertsil ODS column	...	629.3/447.4	正离子	[5]
LC-MS/MS	血浆 19 ~ 5 300 ng/ml	乙腈-5 mM 乙酸铵含 0.1% 甲酸 (70: 30)	Waters Symmetry C ₁₈ column (150mm \times 3.9 mm)	...	629.4/447.2	正离子	[8]
LC-MS/MS	血浆 1 ~ 2 000 ng/ml	5 mM 乙酸胺-甲醇含甲酸 pH3.2 (20: 80)	LiChrocart (125 \times 4 mm)	...	629/447.1	正离子	[10]
LC-MS/MS	PBMCs 0.1 ~ 250 ng/ml 血浆 4.0 ~ 10 000 ng/ml 超滤液 0.2 ~ 500 ng/ml	5 mM 乙酸胺含 0.1% 甲酸-乙腈 (45 : 55)	Phenomenex [®] JupiterTM Proteo C ₁₂ column (4 μm ,100 \times 2 mm)	...	629.5/447.2	正离子	[11]
LC-MS/MS	全血 0.1 ~ 20 $\mu\text{g/ml}$	[甲醇:乙酸:乙酸铵 (70 : 44 : 86)-甲醇] [15 : 85]	a Phenomenex Gemini C ₁₈ column (150 mm \times 2 mm)	...	629/447	正离子	[13]

表 3 洛匹那韦药动学参数

药动学参数								剂量 LPV/RTV (mg)	参考文献
t_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	AUC_{0-24} ($\mu\text{g/ml} \cdot \text{h}$)	$t_{1/2}$ (h)	CL/F (L/h)	Ka (h^{-1})	V/F (L)	C_{ssmin} ($\mu\text{g/ml}$)		
4	9.8 \pm 3.7	92.6 \pm 36.7	7.1 \pm 2.9 5.5 \pm 2.7	400/100	[15]
4.5 (3.8-5.3)	12.8 (10.3-17.2)	143 (116-214)	5.8 (4.9-12.9)	5.61 (3.77-7.01)	...	51.1 (39.0 ~ 121)	...	400/100	[16]
...	4.56 \pm 3.94	0.326 \pm 0.040	42.99 \pm 0.08	5.29 \pm 2.19	400/100	[3]
6-12	9.0	136.4	400/100	[17]
...	12.0	99.6	5.78	400/100	[18]
...	8.939 6.404	73.60 45.15	4.30 1.75	200/150 200/50	[18]
4.0 \pm 0.7	3.303	32.06	4.4 \pm 1.5	200/50	[12]

3 结论

蛋白酶抑制剂洛匹那韦在 AIDS 的治疗中扮演重要角色,其药物浓度不足或过大均会影响疗效或发生毒副作用。本文对近年来洛匹那韦生物样品检测方法及洛匹那韦的药代动力学研究进行了全面的归纳总结。就样品提取方法而言,液液萃取法以其能同时满足提取效率高、成本低,内源性物质干扰小、操作简单易行等优势而被广泛采用。对于定量分析方法,液质联用法(LC-MS/MS)由于具有较好的选择性和定量准确性。纵观研究进展,在相同的给药剂量(400 mg,一天 2 次)下,各研究实验中 t_{\max} , C_{\max} , AUC, CL/F , V/F , C_{ssmin} 等参数都相近。当剂量减为 200 mg 时, C_{\max} , AUC 相应变小(不成相应比例),但是 t_{\max} 、半衰期不改变。这些药动学参数(半衰期、达峰时间、峰浓度和谷浓度)为 LPV 的合理使用提供了理论基础。

【参考文献】

[1] Faux J, Venisse N, Olivie PJ *et al.* Rapid high-performance liquid chromatography determination of lopinavir, a novel HIV-1 protease inhibitor, in human plasma [J]. *Chromatographia*, 2001, 54: 469.

[2] Jaspervander L, Anchalee A. clinical pharmacology and pharmacokinetics of antiretrovirals in Asia [J]. *Asian Biomedicine*, 2009 3(1): 53.

[3] Eric D, Veronique R, Francois R, *et al.* A population approach to study the influence of nevirapine administration on lopinavir pharmacokinetics in HIV-1 infected patients [J]. *Eur J Clin Pharmacol* 2005 61: 153.

[4] Matthias G, Stephanie R, Stephanie L *et al.* Pharmacogenomic adaptation of antiretroviral therapy: overcoming the failure of lopinavir in an African infant with CYP2D6 ultrarapid metabolism [J]. *Eur J Clin Pharmacol* 2010 66: 107.

[5] Rajasekhar D, Jaswanthumar I, Ravik, *et al.* Simultaneous determination of ritonavir and lopinavir in human plasma after protein precipitation and LC-MS-MS [J]. *Chromatographia*, 2010, 71: 815.

[6] Difrancesco R, Diczno R, Vicente G, *et al.* Determination of lopinavir cerebral spinal fluid and plasma ultrafiltrate concentrations by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44 (5): 1139.

[7] Frerichs VA, Difrancesco R, Morse GD. Determination of protease inhibitors using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 787(2): 393.

[8] Perry GW, Jack SW, Grace K, *et al.* Validation and application of a high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for simultaneous quantification of lopinavir and ritonavir in human plasma using semi-automated 96-well liquid-

liquid extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1130: 302.

[9] Yoshiko USAMI, Tsuyoshi OKI, Masahiko NAKAI, *et al.* A simple HPLC method for simultaneous determination of lopinavir, ritonavir and efavirenz [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(6): 715.

[10] Rita CEE, Fabio SR, Brayan VS, *et al.* Determination of lopinavir and ritonavir in blood plasma, seminal plasma, saliva and plasma ultra-filtrate by liquid chromatography/tandem mass spectrometry detection [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2008 22: 657.

[11] Manuela E, Marion M, Walter EH, *et al.* Monitoring of lopinavir and ritonavir in peripheral blood mononuclear cells, plasma, and ultrafiltrate using a selective and highly sensitive LC/MS/MS assay [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 850: 249.

[12] Manish Y, Rajasekhar R, Hemal K *et al.* Application of a rapid and selective method for the simultaneous determination of protease inhibitors, lopinavir and ritonavir in human plasma by UPLC-ESI-MS/MS for bioequivalence study in Indian subjects [J]. *J Pharmaceut Biomed* 2009, 49: 1115.

[13] Heinea R, Rosinga H, Gorb ECM, *et al.* Quantification of protease inhibitors and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in dried blood spots by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B* 2008 867: 208.

[14] Yao Y, Sun J, Chen J *et al.* LC-MS/MS method for simultaneous quantification of lopinavir and ritonavir in human plasma [J]. *Acta Pharmaceut Sin* 2010, 45 (2): 279.

[15] Shish JC, Catzaro LM, Ma Q *et al.* Update on the pharmacokinetic aspects of antiretroviral agents: implications in therapeutic drug monitoring [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2006, 12: 1129.

[16] Van Heeswijk RPG, Bourbeau M, Seguin I, *et al.* Absence of circadian variation in the pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir given as a once daily dosing regimen in HIV-1-infected patients [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2005, 59 (4): 398.

[17] Gondi NK, Venkata KJ, Marianne KJ *et al.* Metabolism and disposition of the HIV-1 protease inhibitor lopinavir (ABT-378) given in combination with ritonavir in rats, dogs, and humans [J]. *Pharmacol Res*, 2004, 21(9): 1622.

[18] Jackson A, Hill A, Puls R, *et al.* Pharmacokinetics of plasma lopinavir/ritonavir following the administration of 400/100 mg, 200/150 mg and 200/50 mg twice daily in HIV-negative volunteers [J]. *J Antimicro Chemoth* 2011 66(3): 635.

[19] Ann H, Jeffrey I, Scott B. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of lopinavir-ritonavir in combination with efavirenz and two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in extensively pretreated human immunodeficiency virus-infected patients [J]. *Antimicrob Agents Ch* 2003, 47(1): 350.

[20] Natella R, John A, Aline B, *et al.* Population pharmacokinetics of lopinavir predict suboptimal therapeutic concentrations in treatment-experienced human immunodeficiency virus-infected children [J]. *Antimicrob Agents Ch* 2009, 53(6): 2532.

[收稿日期]2011-12-06
[修回日期]2012-01-14