

霉酚酸与代谢物的血药浓度测定及基于 UGTs 酶的性别相关的药动学研究

吴莉莉¹, 夏晨¹, 李乔希¹, 刘碧浩², 张红雨¹, 王妍^{1*}(1.佛山市第一人民医院药学部, 广东 佛山 528000; 2.佛山市布林肯生物医药研究有限公司, 广东 佛山 528251)

摘要: 目的 应用 UPLC 同时测定大鼠血浆中霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)及代谢物霉酚酸葡萄糖醛酸苷(MPA-glucuronide, MPAG)的血药浓度, 并对其性别相关的药动学特征进行分析研究。方法 选取 12 只 SD 大鼠, 雌雄各半, 灌胃给予 90 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 霉酚酸酯, 于给药后不同时间点眼眶采血, 血浆样本经液液萃取处理, 采用 UPLC 测定血浆中 MPA 及代谢物 MPAG 的药物浓度。选用 Waters BEH C₁₈ 色谱柱, 采用梯度洗脱程序, 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 流速为 0.35 mL·min⁻¹, 检测波长为 266 nm, 柱温为 40 °C, 使用 DAS 2.0 软件计算药动学参数。结果 MPA 和 MPAG 的血药浓度分别在 0.31~160 µg·mL⁻¹(R²=0.999 8)和 0.62~320 µg·mL⁻¹(R²=0.999 4)内线性关系良好, 建立的 MPA 和 MPAG 的分析测定方法均符合方法学验证要求。雌性大鼠体内 MPA 和 MPAG 的 AUC_{0-t} 和 C_{max} 均高于雄性大鼠(P<0.05 或 P<0.01), 染料木素[葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyltransferases, UGTs)底物]和 MPA 在雄性大鼠肝微粒体酶中的代谢速率均明显快于雌性大鼠肝微粒体酶。结论 该方法灵敏、准确、专属性强, 适用于 MPA 及代谢物 MPAG 的血药浓度测定, 大鼠体内 MPA 和 MPAG 的药动学具有性别差异性, 可能与 UGTs 活性的性别差异有关。

关键词: 霉酚酸; 霉酚酸葡萄糖醛酸苷; UGTs; 性别差异

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)19-2659-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222835

引用本文: 吴莉莉, 夏晨, 李乔希, 等. 霉酚酸与代谢物的血药浓度测定及基于 UGTs 酶的性别相关的药动学研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(19): 2659-2664.

Measurement of Mycophenolic Acid and Its Glucuronide in the Plasma and Study on Gender-related Pharmacokinetics Based on UGTs Enzymes

WU Lili¹, XIA Chen¹, LI Qiaoxi¹, LIU Bihao², ZHANG Hongyu¹, WANG Yan^{1*}(1.Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China; 2.Foshan Blink Biomedical Research Co., Ltd., Foshan 528251, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a UPLC detection method for simultaneous determination of mycophenolic acid(MPA) and its glucuronide(MPAG) in plasma of rats, and to investigate gender-related pharmacokinetic characteristics of mycophenolic acid. **METHODS** Twelve SD rats(half male and half female) were intragastrically administrated with 90 mg·kg⁻¹·d⁻¹ mycophenolate acetate, and blood was collected from periorbital vein at different time points after administration. Plasma samples were extracted by liquid-liquid extraction and drug concentrations of MPA and metabolite MPAG in plasma were determined using UPLC. The method was developed using Waters BEH C₁₈ column. The gradient elution was performed at a flow rate of 0.35 mL·min⁻¹ with the mobile phase acetonitrile solution (A)-0.1% formic acid aqueous solution(B). The detection wavelength was at 266 nm and column oven temperature was maintained at 40 °C. The pharmacokinetic parameters were calculated by using DAS 2.0 software. **RESULTS** The linear relationship between peak area and concentrations of MPA and MPAG were good in the ranges of 0.31–160 µg·mL⁻¹(R²=0.999 8) and 0.62–320 µg·mL⁻¹(R²=0.999 4), respectively. Analytical methods of MPA and MPAG all met the requirements of the methodology. Pharmacokinetic parameters AUC_{0-t} and C_{max} of MPA and MPAG in female rats were higher than that in male rats(P<0.05 or P<0.01). In addition, the metabolic rate of genistein[UDP-glucuronosyltransferases(UGT)s substrate] and MPA in male rat liver microsomes were significantly faster than that in female rat liver microsomes. **CONCLUSION** This developed UPLC method is sensitive, accurate and specific, which is suitable to detect the concentrations of MPA and MPAG in the plasma. The pharmacokinetics of MPA and MPAG in rats are gender different, which may be related to the sex difference of UGTs metabolic enzyme activity.

KEYWORDS: mycophenolic acid; mycophenolic acid glucuronide; UGTs; gender difference

基金项目: 2022 年度佛山市卫生健康局医学科研课题(20220379); 广东省中医药局面上项目(20241299); 广东省医院药学研究基金(2024A18)

作者简介: 吴莉莉, 女, 博士, 主管药师 E-mail: xnwll668@126.com *通信作者: 王妍, 女, 博士, 副主任药师 E-mail: 77565663@qq.com

霉酚酸酯(mycophenolate mofetil, MMF)是新型免疫抑制剂,需在体内转变成有活性的霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)才能发挥免疫抑制作用,主要用于肝肾移植的抗排斥反应及成人狼疮性肾炎(III型和IV型)的治疗^[1-2]。MPA的抗排斥效果及不良反应的发生与其浓度具有密切的关系,因此监测药物浓度对于指导其安全合理使用极其重要^[3]。在体内MPA主要经葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyltransferases, UGT)1A8和1A9代谢为不具药理活性的霉酚酸葡萄糖醛酸苷(MPA-glucuronide, MPAG)^[4],MPAG经转运蛋白排泄到胆汁中,随后在肠道菌群的作用下经肠肝循环可再次转变为MPA,使MPA的暴露量增加,同时也增加了毒性反应的发生^[5]。众多临床证据表明MPA的药动学个体差异比较大,性别、种族及基因多态性等多种因素都会影响其药物浓度^[4,6-7],MPAG在肠道菌群作用下水解,促进了MPA的肠肝循环,肠肝循环对MPA体内暴露贡献约为40%^[5],因此MPAG的浓度差异也是导致MPA药动学个体差异大的因素之一,但关于MPAG血药浓度及药动学的性别差异研究的文献报道较少。本课题旨在建立能同时测定血浆中MPA及代谢物MPAG药物浓度的UPLC检测方法,并应用于研究UGTs代谢酶介导的MPA药动学的性别差异,有利于指导MPA的临床合理用药,为MPA的个体化治疗提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY H-Class 超高效液相色谱仪(美国Waters); Microfuge 20R型高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特); Arium mini plus型超纯水机、BSA623S型电子分析天平均来自德国赛多利斯; Research plus基本型移液器(德国Eppendorf); Vortex-Genie2型涡旋振荡器(美国Scientific Industries); AB33型pH测定计(美国Ohaus)。WS27-2恒温水浴摇床(美国Shellab)。

1.2 药物与试剂

MPA和MPAG(Toronto Research Chemicals公司,纯度分别为98%和96%;批号分别为3-BKG-19-1和2-FAI-5-1);MMF、睾酮(testosterone, TES)、染料木素、丙甲菌素、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、乙二胺四乙酸二钠和氯化镁(上海阿拉丁生化科技有限公司,纯度均>98%;

批号分别为M302247, T102169, G106672, A132913, P113045, P112221, E118595, M283904);尿苷二磷酸葡萄糖醛酸钠、D-葡萄糖二酸单内酯[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,纯度均为98%,批号分别为U6751和S0375];乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)均购自德国Merck公司。

1.3 动物

SPF级SD大鼠,共12只,雌雄各半,体质量为200~250 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(粤)2019-0035。大鼠在实验前适应环境1周,饲养环境的温度为(25±2)℃,相对湿度为40%~70%,饮食量和饮水量不受限制,在实验前12 h禁食(可自由饮水)。该研究经伦理委员会批准,且所有操作均符合动物伦理学要求。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为Waters BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相A相和B相分别为乙腈和0.1%甲酸水溶液,流速为0.35 mL·min⁻¹,检测波长为266 nm,柱温为40℃,梯度洗脱(0~0.1 min, 30%A; 0.1~1.8 min, 30%→80%A; 1.8~2.8 min, 80%→70%A; 2.8~4.0 min, 70%→30%A)。

2.2 对照品储备液的配制

精密称取10 mg MPA和10 mg MPAG,加入5 mL甲醇溶解,配制成2 mg·mL⁻¹ MPA和2 mg·mL⁻¹ MPAG的对照品储备液,置于4℃保存。精密称取TES 10 mg,加入5 mL乙腈溶解,涡旋混匀,制备成2 mg·mL⁻¹的内标储备液,置于4℃保存。精密称取染料木素10 mg,加入5 mL乙腈溶解,涡旋混匀,制备成2 mg·mL⁻¹的内标储备液,置于4℃保存。

精密称取240.17 mg磷酸二氢钾和1.88 g磷酸氢二钾,溶解于200 mL超纯水中,调节pH至7.4,为kpi磷酸缓冲液,保存于4℃备用。精密称取80.78 mg尿苷二磷酸葡萄糖醛酸钠,溶解于5 mL超纯水中,即为Solution A,保存于-20℃。称取5 mg丙甲菌素,溶于100 μL甲醇中,加入到含有19.04 mg氯化镁和210 mg D-葡萄糖二酸单内酯的水溶液中,超纯水定容至40 mL,涡旋混匀,即为Solution B,保存于-20℃备用。

2.3 血浆样品的前处理

取10 μL内标溶液(50 μg·mL⁻¹ TES)加入到

90 μL 含药血浆中, 涡旋混匀, 加入 1 mL 乙酸乙酯, 涡旋混匀 8 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、15 493 $\times g$ 离心 20 min, 取上清至干净离心管内, 真空干燥, 残留物用 100 μL 流动相溶液(30%乙腈和 70%水)复溶, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、15 493 $\times g$ 离心 30 min, 取上清 UPLC 进样分析。

2.4 药动学试验

健康成年 SD 大鼠 12 只, 分为雌性组(♀ , $n=6$)和雄性组(♂ , $n=6$), 口服灌胃给予 MMF, 给药剂量为 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (相当于成人 MMF 每日 1 g), 实验当天分别在给药后 0, 15, 30 min 及 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 眼眶采血, 每次采血 150 μL , 同时腹腔注射等体积生理盐水, 以保持动物血容量恒定。全血 5 867 $\times g$ 离心 5 min, 取上清液得到血浆, 按“2.3”项下方法处理血浆并用 UPLC 进样分析。

2.5 代谢试验

将“2.4”项下大鼠的肝脏按之前的研究方法^[8]制备肝微粒体酶, 将 250 μL 的 kpi 磷酸缓冲液、70 μL Solution B、20 μL 稀释后的微粒体(约 0.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、4 μL 不同浓度的药物母液(染料木素或 MPA)及 56 μL Solution A 依次加入至离心管中, 混匀后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育 30 min。其中 Solution A 主要由尿苷二磷酸葡萄糖醛酸钠组成, 是葡萄糖醛酸基的直接供体。Solution B 主要由丙甲菌素、氯化镁和 D-葡萄糖二酸单内酯组成, 是 II 相反应的 UGT 孵育系统。孵育结束后加入 60 μL 含 TES(内标)的乙腈溶液终止反应, 涡旋混匀 5 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、15 493 $\times g$ 离心 30 min, 取上清用 UPLC 进样分析, 代谢速率(V)用每分钟每毫克酶生成的代谢物的量($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)来表示。

2.6 统计学处理

采用 DAS 2.0 软件按血管外给药非房室模型计算药动学参数, 所得的药动学参数主要包括峰浓度(C_{max})、半衰期($t_{1/2\alpha}$)、平均滞留时间(MRT_{0-t})、药时曲线下面积(AUC_{0-t})和清除率(CL_Z/F)。采用 SPSS 20.0 软件中独立样本 t 检验进行雌雄 2 组间的比较, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 方法学验证

3.1.1 专属性试验 将大鼠空白血浆及含药血浆(含 MPA、MPAG 和内标)按“2.3”项下方法处理后, 按“2.1”项下的色谱条件进样, 得到色谱图, 见图 1。MPAG 的保留时间在 1.3 min, MPA 的保留时

间在 2.1 min, 内标 TES 的保留时间在 2.7 min, MPA、MPAG 与内标分离良好, 血浆中的内源性物质不干扰样品的测定, 空白血样在 MPA、MPAG 和内标的色谱峰位置无吸收, 表明所建立的方法特异性良好, 适用于 MPA 和 MPAG 的定量分析。

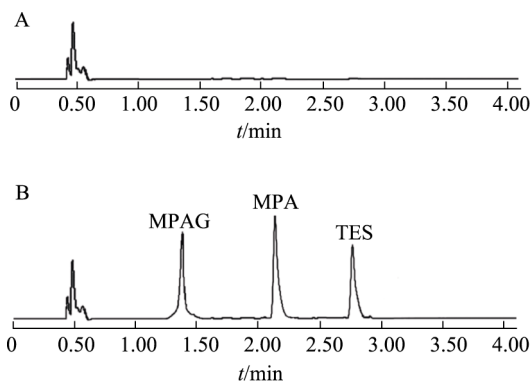


图 1 空白血浆(A)及含 MPA、MPAG 和内标 TES 的血浆(B)的 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of blank plasma(A) and plasma(B) containing MPA, MPAG and internal standard TES

3.1.2 线性范围和定量下限 采用加权最小二乘法计算 MPA 及 MPAG 在大鼠血浆中的标准曲线方程, 将药物浓度作为横坐标(X), 将药物峰面积与内标峰面积比值作为纵坐标(Y), 得到 MPA 在大鼠血浆中的标准曲线方程为 $Y=0.0864X+0.0396$, 相关系数 $R^2=0.9998$, 表明 MPA 在 0.31~160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性良好, 定量下限为 0.31 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。得到 MPAG 在大鼠血浆中的标准曲线方程为 $Y=0.0501X+0.0293$, 相关系数 $R^2=0.9994$, 表明 MPAG 在 0.62~320 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性良好, 定量下限为 0.62 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.1.3 精密度和准确度试验 采用大鼠空白血浆制备高、中、低 3 个浓度的质控样品, 每天按“2.3”项下前处理方法和“2.1”项下的色谱条件将每个浓度的样本进行 6 次进样分析, 连续测定 3 d, 计算日内精密度、日间精密度和准确度。所有样品的精密度与准确度均符合生物样品的分析要求, 结果见表 1。

3.1.4 提取回收率试验和基质效应 将“3.1.3”项下 3 个浓度的 MPA 和 MPAG 工作液进样测得待测物峰面积 A_1 (每个浓度进行 6 个样本的分析)。取空白血浆按“2.3”项下方法进行预处理后的上清液, 加入高、中、低浓度的 MPA 和 MPAG 样品(包括内标), 每个浓度 6 份, 测得待测物峰面积 A_2 ,

表 1 大鼠血浆中 MPA 及 MPAG 的精密度及准确度
Tab. 1 Precision and accuracy of MPA and MPAG in rats plasma

药物	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内($n=6$)		日间($n=6$)	
		精密度/%	准确度/%	精密度/%	准确度/%
MPA	1.25	5.59	97.75	7.52	92.51
	10	2.62	102.21	5.91	96.25
	80	3.71	99.78	3.50	98.83
MPAG	2.50	3.62	94.11	4.59	97.26
	20	5.33	104.54	4.03	101.79
	160	6.79	98.37	5.52	103.21

峰面积比 A1/A2 可求得 3 种浓度待测物的提取回收率。使用复溶液(30%乙腈和 70%水)配制高、中、低浓度样品溶液,每个浓度 6 个待测样品,样品经萃取、离心处理后测得待测物峰面积 A3,基质效应为 A2 与 A3 的比值,结果显示,MPA 和 MPAG 的提取回收率为 90.45%~95.49%,基质效应为 95.54%~100.44%,均符合方法学要求,见表 2。

表 2 血浆中 MPA 和 MPAG 的提取回收率和基质效应($n=6$)
Tab. 2 Recovery and matrix effect of MPA and MPAG in plasma ($n=6$)

药物	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	基质效应/%
MPA	1.25	92.77	95.54
	10	94.49	98.81
	80	90.45	100.06
MPAG	2.50	92.12	96.15
	20	91.46	100.44
	160	95.49	98.31

3.1.5 稳定性试验 取空白血浆制备高、中、低 3 个浓度的血浆样品,每个浓度进行 6 个样本的分析,分别在室温下放置 6 h,在 4℃下放置 24 h,在-20℃下反复冻融 3 次,按“2.3”项下方法处理后进样测定,结果显示 MPA 和 MPAG 在本实验条件下稳定性良好(95.23%~103.85%),见表 3。

表 3 MPA 和 MPAG 的稳定性试验结果($n=6$)
Tab. 3 Stability test result of MPA and MPAG in serum($n=6$)

药物	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% 室温(6 h) 4℃(24 h) -20℃反复冻融		
MPA	1.25	98.96	99.13	98.43
	10	98.68	95.23	99.39
	80	102.48	99.68	99.18
MPAG	2.50	97.42	99.92	100.89
	20	103.85	97.63	103.63
	160	103.15	93.77	96.30

3.2 药动学研究

从血药浓度-时间曲线图上可以看出 MPA 在体内大部分转变为 MPAG,MPA 的药时曲线存在

双峰,提示可能存在肠肝循环。在口服给药 0.5~1 h 后血浆中 MPA 和 MPAG 浓度达到峰值,MPAG 的 $C_{\max}$ 约为 MPA 的 8 倍,MPAG 的 AUC_{0-t} 约为 MPA 的 11 倍。雌性大鼠体内 MPA 和 MPAG 的 AUC_{0-t} 和 $C_{\max}$ 均高于雄性大鼠($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 2 和表 4。

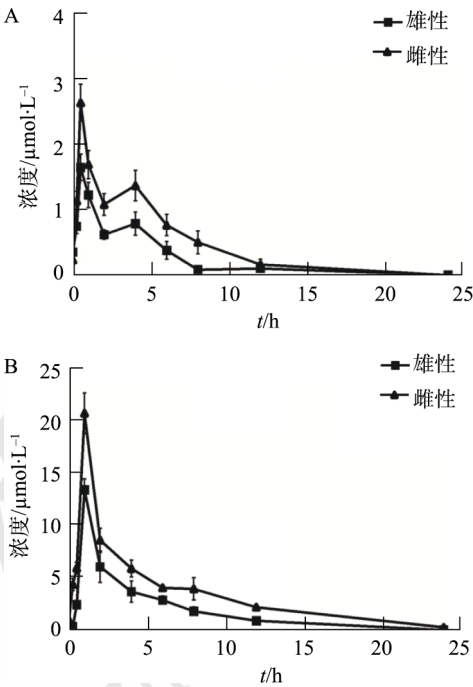


图 2 雌雄大鼠口服 MMF 后的代谢物 MPA(A)以及 MPAG(B)的血药浓度-时间曲线图($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
Fig. 2 Plasma concentration-time curve of MPA(A) and MPAG(B) after oral administration of MMF in male and female rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表 4 雌雄大鼠口服 MMF 后的代谢物 MPA 以及 MPAG 的药动学参数($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
Tab. 4 Pharmacokinetics parameters of MPA and MPAG after oral administration of MMF in male and female rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

药动学参数	MPA		MPAG	
	雄性	雌性	雄性	雌性
$C_{\max}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.67 ± 0.35	$2.65\pm 0.49^{1)}$	13.37 ± 1.78	$20.64\pm 3.33^{1)}$
$t_{1/2}/\text{h}$	4.13 ± 1.09	2.89 ± 0.17	3.97 ± 1.66	5.21 ± 0.55
MRT_{0-t}/h	4.61 ± 0.87	4.84 ± 0.57	5.10 ± 0.19	5.94 ± 0.77
$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	2.05 ± 0.27	$3.71\pm 0.50^{2)}$	23.28 ± 3.90	$41.48\pm 1.94^{2)}$
$\text{CLz}/\text{F}/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	43.62 ± 5.55	$24.43\pm 3.07^{2)}$	3.84 ± 0.56	$0.46\pm 0.02^{2)}$

注:与雄性相比, $^{1)}$ $P<0.05$, $^{2)}$ $P<0.01$ 。

Note: Compared with male, $^{1)}$ $P<0.05$, $^{2)}$ $P<0.01$.

3.3 UGTs 介导的葡萄糖醛酸化代谢

MPA 主要经 UGT1A8 和 UGT1A9 代谢,将 UGT1A8、UGT1A9 的特异性底物染料木素^[9]进行葡萄糖醛酸化代谢反应探究 UGTs 酶活性的变化,

此外 MPA 也作为底物进行葡萄糖醛酸化代谢反应研究。染料木素和 MPA 在雄性大鼠肝微粒体酶中的代谢速率均明显快于雌性大鼠肝微粒体酶, 推测 MPA 及 MPAG 在大鼠体内的药物浓度的性别差异性可能与 UGTs 酶活性、MPA 的代谢速率的性别差异有关。结果见图 3。

4 讨论

目前临床检测 MPA 血药浓度常用的方法有免疫法、HPLC 及 LC-MS/MS^[10-11], 本研究采用 UPLC, 此法相比于免疫法, 具有可同时监测 MPA 及代谢物 MPAG 的优点; 相比于液相色谱-质谱联用法, 具有仪器及后期维护费用低的优点; 相比于 HPLC, 具有检测时间快的优点。本研究采用 0.1% 甲酸和乙腈作为流动相, 与缓冲盐溶液(如磷酸盐缓冲液)作流动相相比, 可减轻对仪器及色谱柱的伤害, 延长使用寿命。选择内源性物质 TES 作为内标, 该物质稳定, 出峰时间适宜, 不受其他杂质峰的干扰。本研究采用液液萃取和离心的方法去除血浆蛋白, 去除蛋白更彻底, 可减少对色谱柱造成的损伤。本研究建立了血浆中 MPA 和 MPAG 的 UPLC 检测方法, 该方法分离效能高、重现性好, 分析速度快, 相关物质保留时间适当, 可快速同时监测 MPA 及代谢物, 结果准确。

大鼠药动学结果显示, MPA 的药时曲线存在双峰, 肠肝循环、P-糖蛋白在肠道分布不均、胃排空延迟及胃肠道存在多吸收位点等因素都会导致药时曲线出现双峰^[12]。在体内 MPA 主要代谢为 MPAG^[4], MPAG 经转运蛋白排泄到胆汁中, 随后在肠道菌群的作用下经肠肝循环可再次转变为 MPA^[5], 提示导致双峰的原因可能是存在肠肝循环。肠肝循环对 MPA AUC 的贡献率约为 40%^[5], MPAG 通过参与 MPA 的肠肝循环过程, 影响 MPA 的药动学, 进而影响 MPA 的疗效。研

究表明食物可通过影响胆汁的排泄进而引起肠肝循环的变化, 使得 MPA 的暴露量发生变化^[13]。消胆胺通过与 MPAG 结合减弱肠肝循环而降低 MPA 的暴露量^[14]。研究发现抗菌药物可通过肠道菌群影响肠肝循环, 进而使 MPA 体内暴露下降^[15]。故 MPAG 虽不具药理活性, 但其在肠道菌群作用下水解, 促进了 MPA 的肠肝循环, 对 MPA 的个体间药动学差异有显著影响。

文献报道 MMF 体内代谢存在性别差异, 女性剂量调整 MPA AUC_{0-12h} 显著高于男性, 而 MPAG/MPA 的 AUC_{0-12h} 比值显著低于男性^[7], 本研究同样发现 MPA 和 MPAG 的药动学参数均具有性别差异性, 雌性大鼠体内 MPA 和 MPAG 的 AUC_{0-t} 和 C_{max} 均高于雄性大鼠(约为 1.54~1.81 倍, $P<0.05$ 或 $P<0.01$), 雌性大鼠体内 MPA 及代谢物蓄积更多。据报道女性患者 MPA 的毒性反应发生率比男性更高, 主要的毒性反应为胃肠道反应及中枢神经系统反应, 主要与女性体内的 MPA 浓度高于男性有关^[16-17]。在雌性大鼠体内 MPAG 的药物浓度和暴露量高于雄性大鼠, 使得 MPA 的药动学参数更具性别差异性。由于口服药物生物利用度未知, CL_Z/F 无法指示真正的消除率, 虽然 MPA 和 MPAG 的 CL_Z/F 均低于雄性大鼠($P<0.01$), 但不能根据数值比较推断性别差异情况。

药物的药动学参数的性别差异主要表现在吸收、分布、代谢和排泄 4 个方面, 相比于男性, 女性总体质量较低, 肌肉量较少, 脂肪比例较多, 因而亲脂性药物的表观分布容积更大, 但女性胃酸含量较少, 胃排空较慢, 使得药物的吸收与分布方面存在性别差异^[18]。此外, 药物代谢酶和转运蛋白的性别差异也是导致药物代谢和排泄存在性别差异的原因。本实验先从 UGT 代谢酶相关的

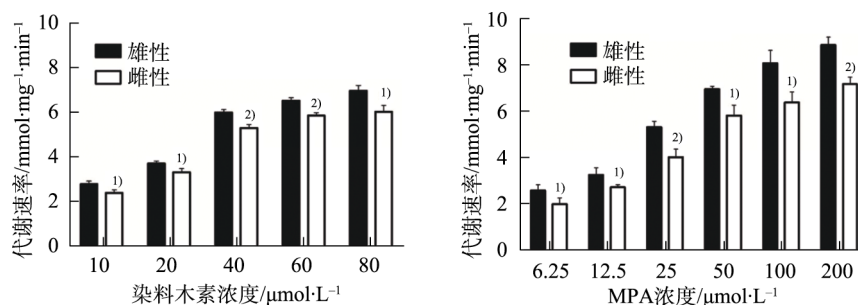


图3 染料木素和 MPA 在雌雄大鼠肝微粒体酶中的代谢速率比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

与雄性相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Comparison of glucuronidation rate of genistein and MPA in male and female rat liver microsomes($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Compared with male, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

性别差异进行研究, 下一步研究会从肠吸收、药物组织分布、酯酶代谢及外排蛋白等方面对 MPA 及 MPAG 暴露量具性别差异的机制进行研究。

药物的浓度与机体对药物的代谢密不可分, 药物代谢酶对药物体内的处置过程有着不可或缺的作用, 在药动学中扮演着重要角色, 并影响着药物的效应和毒性。MPA 及 MPAG 药动学的差别可能与药物代谢的改变相关^[19], 而 MMF 在体内经酯酶迅速转变为活性物质 MPA, MPA 主要经 UGT1A8 和 UGT1A9 代谢生成 MPAG。本研究基于 UGTs 代谢酶探讨 MPA 的药动学性别差异的机制, 接下来会基于酯酶代谢探讨 MPA 药动学性别差异的机制。UGTs 酶在不同性别的大鼠肝脏中表达不同, 本研究证实了 UGTs 底物染料木素和 MPA 在雄性大鼠中的 UGTs 代谢速率均要高于雌性大鼠, 染料木素在雄性小鼠中的 UGTs 代谢速率要高于雌性小鼠^[20], 导致 UGTs 酶活性具性别差异的可能原因是雌激素^[21-22]。因此, UGTs 代谢酶活性的性别差异性可能导致了 MPA 和 MPAG 在药动学参数方面的性别差异, 这也提示在临床使用 MPA 时需考虑性别因素, 为不同性别的患者制定个体化的给药方案。

REFERENCES

- [1] 刘志红, 胡伟新, 陈樱花, 等. 中国狼疮肾炎诊断和治疗指南[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(44): 3441-3455.
- [2] SHI B Y, YUAN M. Guidelines for immunosuppressive therapy of renal transplant recipients in China (2016 edition)[J]. Organ Transplant(器官移植), 2016, 7(5): 327-331.
- [3] CAO Y R, JIA Y C. Research progress on pharmacokinetics of mycophenolic acid drugs in organ transplant recipients[J]. Organ Transplant(器官移植), 2020, 11(5): 635-645.
- [4] JIANG Z W, HU N. Effect of *UGT* polymorphisms on pharmacokinetics and adverse reactions of mycophenolic acid in kidney transplant patients[J]. Pharmacogenomics, 2021, 22(15): 1019-1040.
- [5] COLOM H, LLOBERAS N, ANDREU F, et al. Pharmacokinetic modeling of enterohepatic circulation of mycophenolic acid in renal transplant recipients[J]. Kidney Int, 2014, 85(6): 1434-1443.
- [6] TORNATORE K M, MEANEY C J, WILDING G E, et al. Influence of sex and race on mycophenolic acid pharmacokinetics in stable African American and Caucasian renal transplant recipients[J]. Clin Pharmacokinet, 2015, 54(4): 423-434.
- [7] XIE X C, WANG H Y, LI J L, et al. Influence of gender on mycophenolate mofetil pharmacokinetics in Chinese renal transplant patients[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2015, 31(6): 456-458, 462.
- [8] WU L L. Hepatotoxicity of emodin and the relevant ADME mechanism research[D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2019.
- [9] LIU J J, YU X M, ZHONG S L, et al. Hepatic and renal metabolism of genistein: An individual-based model to predict glucuronidation behavior of genistein in different organs[J]. J Pharm Biomed Anal, 2017(139): 252-262.
- [10] ZHAO Q, GAO F. Determination of mycophenolic acid and its metabolites in human plasma by RP-HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(9): 836-840.
- [11] LYU F J, LI S, SUN F J, et al. Comparison of the consistency and difference of three detection methods in blood concentration monitoring of mycophenolic acid[J]. China Pharm(中国药房), 2021, 32(23): 2885-2889.
- [12] WANG Y, YANG G P, GUO C X, et al. Plasma double-peak phenomenon following oral administration[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2014, 19(3): 341-345.
- [13] BULLINGHAM R, SHAH J, GOLDBLUM R, et al. Effects of food and antacid on the pharmacokinetics of single doses of mycophenolate mofetil in rheumatoid arthritis patients[J]. Br J Clin Pharmacol, 1996, 41(6): 513-516.
- [14] SUN S S, CHEN B. Research progress in the influence of enterohepatic circulation on pharmacokinetics of mycophenolic acid[J]. China Pharm(中国药师), 2022, 25(4): 688-692.
- [15] BORROWS R, CHUSNEY G, LOUCAIDOU M, et al. The magnitude and time course of changes in mycophenolic acid 12-hour predose levels during antibiotic therapy in mycophenolate mofetil-based renal transplantation[J]. Ther Drug Monit, 2007, 29(1): 122-126.
- [16] LU X Y, HUANG H F, SHENG-TU J Z, et al. Pharmacokinetics of mycophenolic acid in Chinese kidney transplant patients[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2005, 6(9): 885-891.
- [17] SPASIĆ A, CATIĆ-ĐORĐEVIĆ A, VELIČKOVIĆ-RADOVANOVIĆ R, et al. Adverse effects of mycophenolic acid in renal transplant recipients: Gender differences[J]. Int J Clin Pharm, 2019, 41(3): 776-784.
- [18] SCHMID Y, NAVARINI A, THOMAS Z M, et al. Sex differences in the pharmacology of itch therapies-a narrative review[J]. Curr Opin Pharmacol, 2019(46): 122-142.
- [19] PICARD N, RATANASAVANH D, PRÉMAUD A, et al. Identification of the UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid phase II metabolism[J]. Drug Metab Dispos, 2005, 33(1): 139-146.
- [20] COLDHAM N G, ZHANG A Q, KEY P, et al. Absolute bioavailability of [¹⁴C] genistein in the rat; plasma pharmacokinetics of parent compound, genistein glucuronide and total radioactivity[J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2002, 27(4): 249-258.
- [21] CHEN J M, ZHENG H H, ZENG S J, et al. Profiles and gender-specifics of UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases expressions in the major metabolic organs of wild-type and efflux transporter knockout FVB mice[J]. Mol Pharm, 2017, 14(9): 2967-2976.
- [22] LIU W, KULKARNI K, HU M. Gender-dependent differences in uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase have implications in metabolism and clearance of xenobiotics[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2013, 9(12): 1555-1569.

收稿日期: 2022-08-10
(本文责编: 李艳芳)