

文章编号: 1006-2858(2013)01-0044-07

齐多夫定对大鼠内源性左卡尼汀水平及左卡尼汀药动学的影响

曾文琴, 刘有平, 王鑫, 邸欣*

(沈阳药科大学 药物代谢与药物动力学实验室 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 研究齐多夫定对大鼠内源性左卡尼汀水平及左卡尼汀药动学的影响。方法 Wistar 大鼠 18 只 随机分为 A、B、C 3 组。A 组为空白对照组 不给药; B 组单独给予齐多夫定; C 组联合给予齐多夫定和左卡尼汀。连续给药 45 d 采用 LC-MS/MS 法测定和比较各组大鼠肌肉和心脏中内源性左卡尼汀水平。另取 Wistar 大鼠 12 只 随机分成 2 组, 一组给予左卡尼汀, 另一组联合给予左卡尼汀和齐多夫定 采用 LC-MS/MS 法分别测定 2 组大鼠给药后左卡尼汀血药质量浓度的经时变化 用 DAS 2.1.1 软件计算主要药动学参数 并进行统计分析和比较。结果 大鼠长期给予齐多夫定后 肌肉中左卡尼汀水平较对照组显著降低 心脏中左卡尼汀水平无显著变化; 联合给予齐多夫定和左卡尼汀后 大鼠肌肉中左卡尼汀水平与对照组比较差异无统计学意义 心脏中左卡尼汀水平显著升高。大鼠单独给予左卡尼汀和联合给予齐多夫定和左卡尼汀后的主要药动学参数差异无统计学意义。结论 齐多夫定能抑制肌肉组织对左卡尼汀的摄取 接受齐多夫定治疗的同时补充左卡尼汀能减轻齐多夫定引起的不良反应 齐多夫定对大鼠体内左卡尼汀的药动学无显著影响。

关键词: 齐多夫定; 左卡尼汀; 药动学; LC-MS/MS

中图分类号: R 97 文献标志码: A

左卡尼汀(levocarnitine *L*-carnitine) 又称左旋肉碱, 是一种广泛存在于机体组织内的特殊氨基酸, 其主要功能是将长链脂肪酸转运至线粒体进行 β -氧化并产生能量^[1]。左卡尼汀的缺乏会导致能量供应障碍及脂肪酸代谢的各种中间产物累积中毒, 出现心肌病变、心律失常、机体疲劳等症状^[2-3]。近年来随着左卡尼汀的药理作用越来越明确, 临床上广泛应用于心力衰竭、心肌梗死、慢性肾衰竭所致贫血、血液透析相关性低血压、男子不育症等的治疗 取得了很好的疗效^[4]。

齐多夫定(zidovudine) 是最经典的抗 HIV 药物, 长期给予齐多夫定会产生很多不良反应, 其中肌病发生率约为 17%^[5]。在临床研究发现, 艾滋病患者接受齐多夫定治疗的同时补充左卡尼汀, 能减轻齐多夫定引起的不良反应, 具有减轻化疗引起的肌病^[6], 改善脂质代谢, 减少外周血细胞凋亡^[7], 提高免疫应答^[8]等多方面的作用。已有体外研究表明, 齐多夫定可以抑制左卡尼汀在成肌细胞 C2C12 的转运, 从而导致肌细胞生长明显减慢^[9]。

本研究拟建立测定大鼠血浆、肌肉和心脏组织中左卡尼汀的 LC-MS/MS 分析方法, 并应用所建立的方法研究齐多夫定对大鼠内源性左卡尼汀水平及左卡尼汀药动学的影响, 为齐多夫定联合左卡尼汀的临床合理应用提供参考依据。

1 仪器与材料

TSQ Quantum Ultra 三重四极杆串联质谱仪, 配备电喷雾电离(ESI)源、Xcalibur 1.4 数据采集软件和 LCQuan 2.5 定量处理软件(美国 Thermo 公司); LC-10ADvp 输液泵、SIL-HTA 自动进样器(日本岛津公司); DW-HL328 超低温冷冻储存器(中科美菱低温科技有限公司); LG16-B 高速离心机(北京医用离心机厂)。

左卡尼汀对照品(含量质量分数 $\geq 99.0\%$, USP), 米屈肼(含量质量分数 $\geq 99.0\%$, 济南伟都化工有限责任公司), 牛血清白蛋白(美国 Sigma 公司), 左卡尼汀原料药(含量质量分数 $\geq 98.0\%$, 辽宁思百得医药科技有限公司), 齐多夫定原料药(含量质量分数 $\geq 98.0\%$, 浙江新华制

收稿日期: 2012-05-10

作者简介: 曾文琴(1986-), 女(汉族), 广西贵港人, 硕士研究生, E-mail zengwenqingx@163.com; * 通讯作者: 邸欣(1968-), 女(汉族), 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 主要从事药物分析学研究, Tel. 024-23986342, E-mail dixin63@163.com。

药有限公司)。甲醇、乙腈(色谱纯,天津康科德科技有限公司),甲酸(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司),水为重蒸水,其余试剂(分析纯,市售)。

Wistar大鼠30只,雄性,体质量(250 ± 20)g,沈阳药科大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(京)2009-0004。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Eclipse XDB-C₈ 柱(150 mm × 4.6 mm I. D., 5 μm),预柱为 SecurityGuard C₈ 保护柱(4 mm × 3.0 mm I. D.);流动相为乙腈-水(含10 mmol·L⁻¹醋酸铵)-甲酸(体积比40:60:0.5);流速为0.4 mL·min⁻¹;柱温为18℃;进样量为10 μL。

2.2 质谱条件

离子源为ESI源,正离子化方式,源喷射电压为4.2 kV,加热毛细管温度为300℃;鞘气(N₂)压力为30 Arb,辅助气(N₂)压力为5 Arb,碰撞气(Ar)压力为0.16 Pa;碰撞诱导解离(CID)电压均为25 eV;扫描方式为选择反应监测(SRM);用于定量分析的离子反应分别为 m/z 162 → m/z 85(左卡尼汀)和 m/z 147 → m/z 58(米屈胍);扫描时间为0.3 s。

2.3 溶液配制

取左卡尼汀对照品约10 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,用体积分数50%甲醇水溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,得到1.0 g·L⁻¹的左卡尼汀储备液I。取左卡尼汀储备液I 2.5 mL,置于25 mL量瓶中,用体积分数50%甲醇水溶液稀释至刻度,获得质量浓度为100 mg·L⁻¹的左卡尼汀储备液II。以体积分数50%甲醇水溶液依次稀释左卡尼汀储备液II,获得质量浓度分别为1.00、2.50、5.00、10.0、25.0、50.0 mg·L⁻¹的左卡尼汀系列标准溶液。

取米屈胍约10 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,用体积分数50%甲醇水溶液稀释至刻度,摇匀,得到1.0 g·L⁻¹的内标储备液I;精密量取内标储备液I 0.1 mL,置于100 mL量瓶中,用体积分数50%甲醇水溶液稀释至刻度,得到1.0 mg·L⁻¹的内标储备液II;精密量取内标储备液II适量,用乙腈稀释成20 μg·L⁻¹的内标溶液,于4℃冰箱中保存备用。

2.4 给药方案与生物样本采集

长期给药试验:健康雄性Wistar大鼠18只,随机分为A、B、C3组,每组各6只。A组为空白对照组不给药,B组单独给予齐多夫定,C组联合给予齐多夫定和左卡尼汀。实验前测出每只大鼠的日饮水量约为50 mL,将药物均匀溶解于大鼠的饮用水中,其中B组的饮用水中含0.8 g·L⁻¹齐多夫定,C组的饮用水中含0.8 g·L⁻¹齐多夫定和2.5 g·L⁻¹左卡尼汀。连续给药45 d,于最后一次给药24 h后断头处死3组大鼠,并立即解剖采集心脏和肌肉组织,用生理盐水冲净表面血液,于-70℃保存待测。

单次给药试验:健康雄性Wistar大鼠12只,随机分成2组,每组各6只。一组给予左卡尼汀(500 mg·kg⁻¹),另一组联合给予左卡尼汀(500 mg·kg⁻¹)和齐多夫定(50 mg·kg⁻¹)。给药前禁食12 h,自由饮水。分别于给药前(0 h)和给药后0.5、1.0、1.5、2、3、4、5、6、8、10、12、24 h经大鼠眼球后静脉丛取血,于-20℃保存待测。

2.5 血浆和组织样品处理

取血浆样品10 μL,依次加入体积分数50%甲醇水溶液10 μL、内标溶液500 μL,涡流混合1 min,12 000 r·min⁻¹离心5 min,取10 μL进行LC-MS/MS分析。

称取心脏或肌肉组织约1 g,按照每g组织加入3 mL生理盐水的比例制备匀浆,3 500 r·min⁻¹离心5 min,分取上清液。取上清液10 μL,依次加入体积分数50%甲醇水溶液10 μL、内标溶液500 μL,涡流混合1 min,12 000 r·min⁻¹离心5 min,取10 μL进行LC-MS/MS分析。

2.6 分析方法确证

2.6.1 质谱分析

左卡尼汀和内标在ESI正离子化方式下,主要生成[M+H]⁺准分子离子,分别为 m/z 162 和 m/z 147。选择性对准分子离子进行产物离子扫描分析,左卡尼汀和内标生成的主要碎片离子分别为 m/z 85 和 m/z 58(图1)将其作为定量分析时监测的产物离子。

2.6.2 方法专属性

左卡尼汀为内源性物质,故无法直接获得不含左卡尼汀的空白血浆和空白组织基质。本实验采用质量分数4%的牛血清白蛋白(BSA)作为替代生物基质建立标准曲线并进行方法学确证。取替代基质10 μL,除用乙腈代替内标溶液外,其余

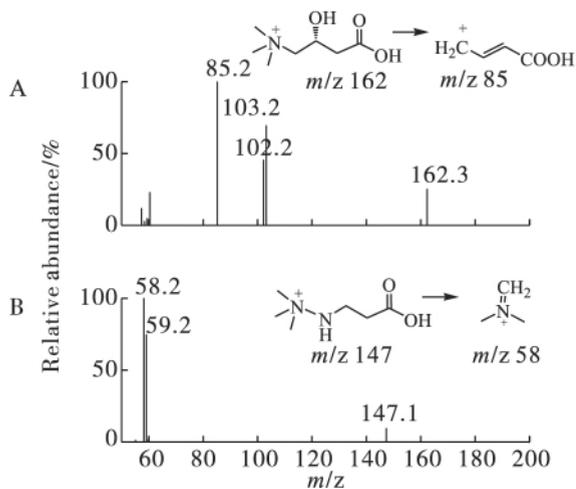


Fig. 1 Product ion mass spectra of $[M + H]^+$ of *L*-carnitine (A) and mildronate (B)

图1 左卡尼汀(A)和内标米屈肼(B) $[M + H]^+$ 的产物离子全扫描质谱图

按“2.5”条方法操作,获得空白样品的色谱图2A;将一定质量浓度的对照溶液和内标溶液加入替代基质中,除不加体积分数50%甲醇水溶液外,其余按“2.5”条方法操作,获得相应色谱图2B;取大鼠给药后的血浆样品,按“2.5”条方法操作,获得色谱图2C。结果表明,替代基质中的物质不干扰左卡尼汀和内标的测定。

2.6.3 交叉干扰试验

取替代基质 $10 \mu\text{L}$,加入质量浓度为 $50.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的左卡尼汀标准溶液 $10 \mu\text{L}$,配制左卡尼汀定量上限样品,除内标溶液用乙腈替代外,其余按“2.5”条方法操作;另取替代基质 $10 \mu\text{L}$,按“2.5”条方法操作。结果表明,在左卡尼汀定量上限样品的色谱图上无内标色谱峰,在内标样品的色谱图上无左卡尼汀色谱峰,说明左卡尼汀与内标间不存在交叉干扰。

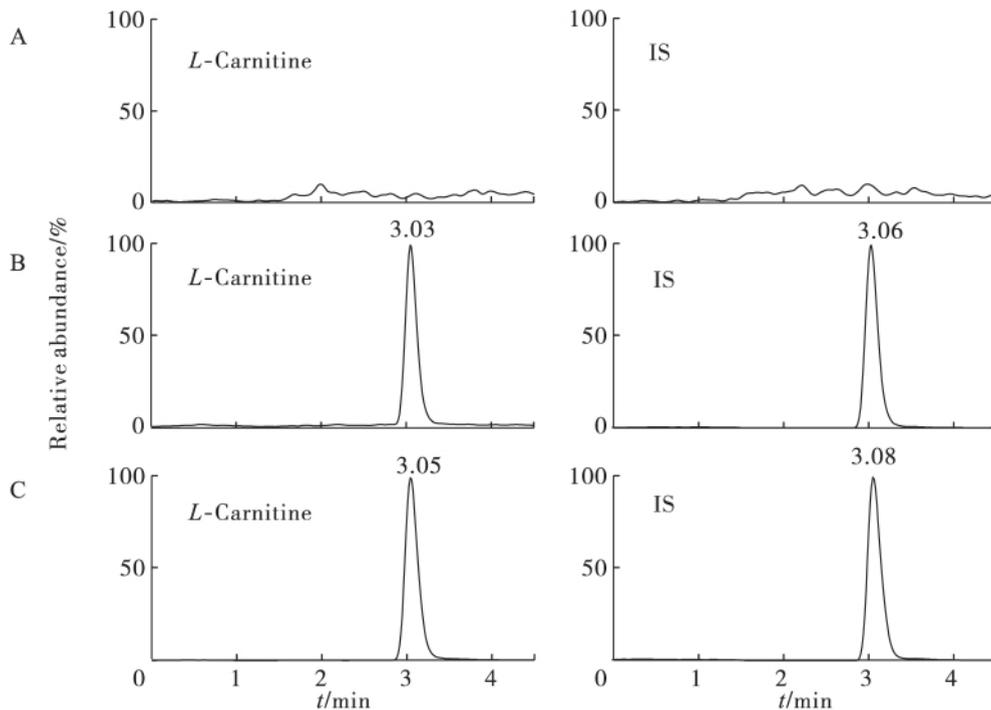


Fig. 2 Representative SRM chromatograms of *L*-carnitine and mildronate (IS) in a surrogate matrix (A) a surrogate matrix spiked with *L*-carnitine at $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and mildronate at $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (B) and a plasma sample 2 h after i. g. administration of $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *L*-carnitine to a rat (C)

图2 空白替代基质(A)、左卡尼汀及内标的替代基质(B)和大鼠给药后的血浆样品(C)的典型色谱图

2.6.4 标准曲线的制备和定量下限的确定

取替代基质 $10 \mu\text{L}$,加入左卡尼汀系列标准溶液 $10 \mu\text{L}$,配制成相当于左卡尼汀质量浓度为 1.00 、 2.50 、 5.00 、 10.0 、 25.0 和 $50.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品,除不加体积分数50%甲醇水溶液外,其余按“2.5”条方法操作,每一质量浓度进行双样本分析。以左卡尼汀质量浓度(ρ)为横坐标,左卡尼

汀与内标的峰面积比值(A)为纵坐标,用加权($W = 1/x^2$)最小二乘法进行线性回归,求得左卡尼汀的线性回归方程为 $A = 9.047 \times 10^{-2} \rho + 4.267 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9987$),根据标准曲线,左卡尼汀的线性范围为 $1.00 \sim 50.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

按上述方法制备左卡尼汀定量下限样品,在方法确证第一天进行6样本分析,根据当日标准

曲线计算每一样本测定质量浓度。由测定结果得到 RSD 为 2.1% ,RE 为 -1.0% ,说明所建立的 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中左卡尼汀的定量下限可达 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

另用 3 个批次的大鼠血浆制备了 3 条标准曲线,并与用替代基质制得的标准曲线进行比较。如图 3 所示,所有标准曲线的斜率都非常近似,说明用质量分数为 4% BSA 作为替代基质可以准确测定大鼠血浆、肌肉和心脏中左卡尼汀的质量浓度。因左卡尼汀为内源性物质,由大鼠血浆制得的标准曲线的截距明显大于用替代基质制得的标准曲线截距,大鼠血浆标准曲线在横轴上的截距就是内源性左卡尼汀的基础浓度。

2.6.5 精密度和准确度试验

按“2.6.4”条方法配制左卡尼汀质量浓度分别为 2.50 、 10.0 和 $40.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品,每个质量浓度制备 6 样本,

Table 1 Precision and accuracy for the analysis of L-carnitine in rat plasma by LC-MS/MS

表 1 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中左卡尼汀的精密度和准确度

$\rho_{\text{added}} / (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho_{\text{found}} / (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	Intra-day RSD/%	Inter-day RSD/%	RE/%
2.50	2.54	3.3	10.7	1.6
10.0	10.4	1.9	7.4	3.9
40.0	38.0	1.6	3.9	-4.9

2.6.6 提取回收率试验

左卡尼汀和内标在替代基质中的提取回收率:按“2.6.4”条方法配制左卡尼汀质量浓度分别为 2.50 、 10.0 和 $40.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品,每个质量浓度制备 6 样本,分别进行分析;另取替代基质 $10 \mu\text{L}$,加入乙腈 $500 \mu\text{L}$,涡旋混合 1 min , $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 取上清液,再分别在上清液中加入低、中、高 3 个质量浓度(每个质量浓度 3 样本)的左卡尼汀标准溶液 $10 \mu\text{L}$ 和 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标储备液 II $10 \mu\text{L}$,分别进样分析。以每一质量浓度下 2 种处理方法的峰面积比值计算提取回收率,以中质量浓度下 2 种处理方法的峰面积比值计算内标的提取回收率。左卡尼汀 3 种质量浓度下的提取回收率分别为 $(97.5 \pm 4.2)\%$ 、 $(96.8 \pm 5.1)\%$ 和 $(97.4 \pm 4.9)\%$,内标的提取回收率为 $(99.1 \pm 3.3)\%$ 。结果表明,左卡尼汀和内标在替代基质中的提取回收率相近且均稳定。

左卡尼汀和内标在大鼠血浆中的提取回收率:取未服药的大鼠混合血浆 $10 \mu\text{L}$,按“2.5”条方法操作,测定大鼠混合血浆中左卡尼汀的基础

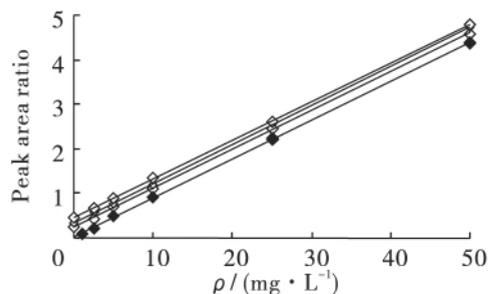


Fig.3 Calibration curves for L-carnitine in a surrogate matrix (◆) and three batches of rat plasma (◇)

图 3 测定大鼠血浆中和替代基质中左卡尼汀的典型标准曲线

连续测定 3 d。根据当日的标准曲线计算 QC 样品的测得质量浓度,将测定结果进行方差分析,计算方法的精密度和准确度,结果见表 1。结果表明,本方法精密、准确,符合有关国际规范的要求^[10]。

峰面积(3 次测定的平均值);另取未服药的大鼠混合血浆 $10 \mu\text{L}$,按“2.6.4”条方法配制左卡尼汀血浆质量浓度增加值分别为 2.50 、 10.0 和 $40.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低、中、高 3 个质量浓度的样品(每个质量浓度 6 样本),依同法处理,分别进样分析;再取未服药的大鼠混合血浆 $10 \mu\text{L}$,加入乙腈 $500 \mu\text{L}$,涡旋混合 1 min , $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 取上清液,再分别在上清液中加入低、中、高 3 个质量浓度的左卡尼汀标准溶液 $10 \mu\text{L}$ 和 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标储备液 II $10 \mu\text{L}$,涡流混合 1 min ,分别进样分析(3 次测定的平均值)。以每一质量浓度下 2 种处理方法的峰面积扣除左卡尼汀基础峰面积的比值计算左卡尼汀的提取回收率,以中质量浓度下 2 种处理方法的峰面积比值计算内标的提取回收率。左卡尼汀 3 种质量浓度下的提取回收率分别为 $(80.9 \pm 5.3)\%$ 、 $(78.3 \pm 4.0)\%$ 和 $(81.9 \pm 4.4)\%$,内标的提取回收率为 $(79.0 \pm 5.2)\%$ 。结果表明,左卡尼汀和内标在替代基质中的提取回收率均比二者在大鼠血浆中的提取回收率高,二者在 2 种基质中的回收率是同步变化的。

2.6.7 稳定性试验

考察大鼠实际血浆样品于室温放置4 h、经处理后室温放置12 h、血浆样品经历3次冷冻-解冻循环及血浆样品于-20℃冷冻放置30 d的稳定性。同时考察左卡尼汀替代基质样品(左卡尼汀在替代基质中的质量浓度分别为2.50和40.00 mg·L⁻¹)经沉淀蛋白处理后室温放置12 h的稳定性。结果表明,测定偏差均在±15%以内,表明血浆及替代基质样品在上述条件下稳定。

Table 2 Contents(c) of L-carnitine levels in rat skeletal muscle and heart (n=6 $\bar{x} \pm s$)

表2 大鼠骨骼肌和心脏中左卡尼汀的含量(n=6 $\bar{x} \pm s$)

Issue	c(control) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	c(zidovudine) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	c(zidovudine + L-carnitine) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Skeletal muscle	78.0 ± 13.2	65.1 ± 10.2	78.0 ± 9.2
Heart	136.5 ± 8.9	126.5 ± 16.1	161.7 ± 27.2

Table 3 Results of t-test of independent samples for differences between experimental and control groups

表3 实验组和对照组的t检验结果

Statistical parameter	Skeletal muscle		Heart	
	Zidovudine	Zidovudine + L-carnitine	Zidovudine	Zidovudine + L-carnitine
t	2.308	-0.090	1.555	-2.283
P	0.044	0.931	0.151	0.046

差异无统计学意义($P > 0.05$),心脏中左卡尼汀水平显著升高($P < 0.05$)。

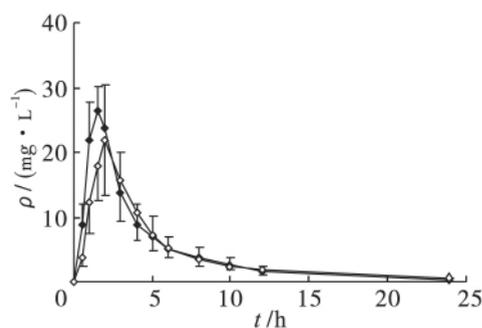
单次给药试验:将每只大鼠给药后不同时刻血浆中左卡尼汀的浓度值扣除给药前0 h血浆中左卡尼汀的浓度,作为大鼠给药后不同时刻左卡尼汀产生的净浓度。大鼠单独给予左卡尼汀和联合给予左卡尼汀和齐多夫定后左卡尼汀的平均血药质量浓度-时间曲线见图4,采用DAS 2.1.1软件计算左卡尼汀的主要药动学参数,结果见表4。将 t_{\max} 进行独立样本非参数检验,将其他药动学参数进行独立样本t检验,结果见表5。统计结果显示,两组大鼠的药动学参数差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

a. 被分析物在替代基质和真正基质中的基质效应和提取回收率是否相同,很大程度上决定了分析方法是否准确。本实验采用质量分数4% BSA溶液和3个不同批次的大鼠血浆分别制备了一系列标准曲线。通过比较用2种基质制备的标准曲线的斜率是否相同,从而判断左卡尼汀和内标的峰面积比值是否受到基质效应和提取回收率的影响^[11]。结果表明,采用质量分数4% BSA

2.7 内源性左卡尼汀水平测定及左卡尼汀药动学参数

长期给药试验:A、B、C 3组大鼠肌肉和心脏中内源性左卡尼汀水平测定结果见表2,将3组数据进行独立样本t检验,结果见表3。由表3可见,健康大鼠长期给予齐多夫定后,肌肉中左卡尼汀水平显著降低($P < 0.05$),心脏中左卡尼汀水平无明显变化($P > 0.05$);联合给予齐多夫定和左卡尼汀后,肌肉中左卡尼汀水平与对照组比较



◆—L-Carnitine; ◇—L-Carnitine + zidovudine

Fig.4 Mean plasma concentration-time curves of L-carnitine in rat after i.g. administration of L-carnitine alone and combined with zidovudine respectively (n=6 $\bar{x} \pm s$)

图4 大鼠单独灌胃给予左卡尼汀和联合给予齐多夫定后左卡尼汀的平均药时曲线图(n=6 $\bar{x} \pm s$)

溶液和3个不同批次的大鼠血浆分别制备的标准曲线的斜率非常相似,即左卡尼汀和内标的峰面积比值不受基质效应和提取回收率的影响,用质量分数4% BSA作为替代基质可以准确测定大鼠血浆、肌肉和心脏中左卡尼汀的浓度。

b. 据Georges^[9]和Rigault^[12]等报道,肌细胞和心脏细胞中均存在钠离子依赖性和非钠离子依赖性左卡尼汀转运蛋白,齐多夫定非竞争性地抑制了钠离子依赖性左卡尼汀转运蛋白的活性,但

Table 4 Pharmacokinetic parameters of *L*-carnitine after i. g. administration of *L*-carnitine alone (500 mg·kg⁻¹) and combined with zidovudine (50 mg·kg⁻¹) to rats ($n=6 \bar{x} \pm s$)**表 4 大鼠单独灌胃给予左卡尼汀和联合给予齐多夫定后左卡尼汀的药动学参数 ($n=6 \bar{x} \pm s$)**

Pharmacokinetic parameter	<i>L</i> -Carnitine	<i>L</i> -Carnitine + zidovudine
AUC _{0-t} / (mg·h·L ⁻¹)	111.4 ± 28.2	104.1 ± 27.0
AUC _{0-∞} / (mg·h·L ⁻¹)	114.9 ± 32.2	108.6 ± 31.3
ρ _{max} / (mg·L ⁻¹)	27.8 ± 4.1	22.2 ± 8.2
CL _z /F / (L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	4.60 ± 1.10	4.91 ± 1.28
V _z /F / (L·kg ⁻¹)	30.70 ± 8.51	35.90 ± 12.32
t _{1/2} / h	4.8 ± 1.6	5.3 ± 2.0
t _{max} / h	1.8 ± 0.3	2.1 ± 0.5

Table 5 Statistical analysis for differences in pharmacokinetic parameters between *L*-carnitine and *L*-carnitine combined with zidovudine groups**表 5 大鼠单独灌胃给予左卡尼汀和联合给予齐多夫定后左卡尼汀的药动学参数统计分析结果**

Statistical parameter	Pharmacokinetic parameter						
	AUC _{0-t}	AUC _{0-∞}	ρ _{max}	CL _z /F	V _z /F	t _{1/2}	t _{max}
<i>t</i>	-0.488	-0.383	-1.768	-2.004	-1.221	0.365	—
<i>P</i>	0.636	0.710	0.108	0.068	0.250	0.723	0.171

齐多夫定对成肌细胞和心脏细胞中左卡尼汀转运蛋白的抑制强度存在显著性差异,在成肌细胞中 IC₅₀ 为 6 μmol·L⁻¹,在心脏细胞中却为 4 mmol·L⁻¹。本实验中,作者发现长期给予齐多夫定后肌肉中左卡尼汀的含量显著降低,心脏中左卡尼汀水平无显著变化,进一步证明齐多夫定确实抑制了肌肉组织对左卡尼汀的摄取。Semino-Mora 等^[13]通过体外实验证明,左卡尼汀可以促进被齐多夫定损坏的肌管的恢复和肌纤维的再生,修复和维护线粒体的结构。给予齐多夫定的同时补充高剂量的左卡尼汀,肌肉中左卡尼汀水平正常,与对照组相比差异无统计学意义。本研究结果提示在临床中为齐多夫定治疗的艾滋病患者补充适当的左卡尼汀是必要的和有益的。

参考文献:

- [1] HOPPEL C. The role of *L*-carnitine in normal and altered fatty acid metabolism [J]. Am J Kidney Dis, 2003, 41: S4 - 12.
- [2] PONS R, DE VIVO D C. Primary and secondary *L*-carnitine deficiency syndromes [J]. J Child Neurol, 1995, 10: S8 - 24.
- [3] REBOUCHE C J, ENGEL A G. *L*-carnitine metabolism and deficiency syndromes [J]. Mayo Clin Proc, 1983, 58: 533 - 540.
- [4] EVANS A M, FORNASINI G. Pharmacokinetics of *L*-carnitine [J]. Clin Pharmacokinet, 2003, 42: 941 - 967.
- [5] CARR A, COOPER D A, et al. Adverse effects of antiretroviral therapy [J]. Lancet, 2000, 356: 1423 - 1430.
- [6] SEMINO-MORA M C, LEON-MONZON M E, DALAKAS M C, et al. Effect of *L*-carnitine on the zidovudine-induced destruction of human myotubes. Part I: *L*-carnitine prevents the myotoxicity of AZT *in vitro* [J]. Lab Invest, 1994, 71: 102 - 112.
- [7] DE SIMONE C, FAMULARO G, TZANTZOGLOU S, et al. *L*-carnitine depletion in peripheral blood mononuclear cells from patients with AIDS: effect of oral *L*-carnitine [J]. AIDS, 1994, 8: 655 - 660.
- [8] DE SIMONE C, TZANTZOGLOU S, FAMULARO G, et al. High dose *L*-carnitine improves immunologic and metabolic parameters in aids patients [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 1993, 15: 1 - 12.
- [9] GEORGES B, GALLAND S, RIGAUD C, et al. Beneficial effects of *L*-carnitine in myoblastic C2C12 cells. Interaction with zidovudine [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 65: 1483 - 1488.
- [10] US Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation [S]. 2001.
- [11] VAN D E, MERBEL N C. Quantitative determination of endogenous compounds in biological samples using chromatographic techniques [J]. Trends Analyt Chem, 2008, 27(10): 924 - 933.

- [12] RIGAUULT C ,DIAS J V ,DEMARQUOY J ,et al. Characteristics of *L*-carnitine import into heart cells [J]. *Biochimie* 2008 90: 542 – 546.
- [13] SEMINO-MORA M C ,LEON-MONZON M E ,DALAKAS M C ,et al. The effect of *L*-carnitine on the AZT-induced destruction of human myotubes. Part II: Treatment with *L*-carnitine improves the AZT-induced changes and prevents further destruction [J]. *Lab Invest* , 1994 71: 773 – 781.

Effects of zidovudine on the concentration of endogenous *L*-carnitine and pharmacokinetics of *L*-carnitine in rats

ZENG Wen-qin , LIU You-ping , WANG Xin , DI Xin*

(*Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics , Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110016 , China*)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of zidovudine on the concentration of endogenous *L*-carnitine and pharmacokinetics of *L*-carnitine in rats. **Methods** Eighteen healthy male Wistar rats were randomly divided into 3 groups. Rats of group A were chosen as control group and administrated only by distilled water ,rats of group B were administered zidovudine and zidovudine and *L*-carnitine were administrated together to rats of group C. The administration process of the three groups lasted for 45 d ,respectively. The concentrations of endogenous *L*-carnitine in muscle and heart were determined by LC-MS/MS and compared. Another twelve healthy male Wistar rats were randomly divided into 2 groups and received i. g. administration of *L*-carnitine alone or combination of *L*-carnitine with zidovudine ,respectively. The concentrations of *L*-carnitine in rat plasma were determined by LC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS2. 1. 1 software. **Results** After long-term administration of zidovudine ,the concentrations of *L*-carnitine in rat muscle were significantly decreased ,while no change was observed in rat heart. After long-term administration of combination of *L*-carnitine with zidovudine ,the concentrations of *L*-carnitine in muscle were no significant change ,while a remarkable increase on *L*-carnitine concentrations was found in heart in comparison with control group. There was no significant difference between the pharmacokinetic parameters after oral administration of *L*-carnitine and the combination of *L*-carnitine with zidovudine. **Conclusions** Zidovudine can inhibit the uptake of *L*-carnitine in muscle. A moderate supplementation of *L*-carnitine may alleviate zidovudine-induced side effects in zidovudine-treated patients. There is no significant effect of zidovudine on the pharmacokinetics of *L*-carnitine in rats.

Key words: zidovudine; *L*-carnitine; pharmacokinetics; LC-MS/MS