

洛伐他汀与二氢吡啶类药物相互作用研究

夏宗玲, 陈荣, 邹素兰, 姚卓贤(苏州大学附属第三医院药剂科, 江苏 常州 213000)

摘要: 目的 研究 5 种二氢吡啶类药物对洛伐他汀代谢的影响。方法 采用大鼠肝微粒体体外代谢模型, 洛伐他汀分别与不同浓度的硝苯地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平和尼莫地平置于一定量的鼠肝微粒体中, 于 37 °C 预孵 5 min 后, 加 β -NADP/NADPH 的 0.1%NaHCO₃ 溶液启动反应, 并开始计时, 37 °C 下孵育 20 min 后, 加入一定量冰乙腈沉淀蛋白并终止反应, 高速离心后, 上清液进 HPLC 分析, 并分别计算硝苯地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平和尼莫地平对洛伐他汀代谢抑制 IC₅₀ 值。结果 不同结构的二氢吡啶类药物对洛伐他汀代谢的影响亦不同, 其中硝苯地平的抑制作用最小(IC₅₀ 值为 53.98 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 尼莫地平的抑制作用最大(IC₅₀ 值为 2.01 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 通过结构参数分析表明油水分配系数(LogP)对抑制作用影响较大成正相关, 而分子量、表面积亦对抑制作用产生影响, 成负相关。结论 对于患有高血压合并血脂异常的患者联合使用二氢吡啶类降压药与洛伐他汀时, 产生药物相互作用的可能性较大。为避免不良反应发生, 宜选用 LogP 值较大, 而分子量、表面积较小的硝苯地平和非洛地平等。

关键词: 洛伐他汀; 二氢吡啶类药物; 药物相互作用

中图分类号: R969.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)03-0193-05

Drug-interactions between Lovastatin and Dihydropyridin Calcium Antagonists

XIA Zongling, CHEN Rong, ZOU Sulan, YAO Zhuoxian(*The Third Affiliated Hospital of Soochow University, Department of Pharmacy, Changzhou 213000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the influences of five dihydropyridin calcium antagonists on the metabolism of lovastatin. **METHODS** The lovastatin was incubated with different concentrations of nifedipine felodipin, lacidipine, lercanidipine, and nimodipine in rat liver microsomes *in vitro*. The metabolic reaction was started by adding NADP/NADPH (0.9 mmol·L⁻¹/0.2 mmol·L⁻¹) after microsomal incubates being prewarmed for 5 min, continued at 37 °C for several periods in a shaking water bath. Then the reaction was terminated and protein was precipitated by ice acetonitrile. After the super-speed centrifugation, the supernatant was analyzed by HPLC. The inhibition parameters (IC₅₀) were calculated. **RESULTS** The results indicated that different dihydropyridin calcium antagonists showed different influences on the metabolism of lovastatin. The inhibition of nifedipine was mild weakest (IC₅₀=53.98 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and nimodipine was strongest(IC₅₀=2.01 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). The structural analysis indicated that the LogP was positively correlated with the IC₅₀, otherwise, the mass amu and surface area grid were negatively correlated. **CONCLUSION** When lovastatin and dihydropyridin calcium antagonists were administered together to treat dyslipidemia and hypertension simutanously, drug interactions with significant clinical consequences may occur. And we should choose the dihydropyridin calcium antagonist with the greater LogP and less mass amu, surface area grid, such as

基金项目: 常州市科技局指导性课题、常州四药临床药学基金(cs2009902)

作者简介: 夏宗玲, 女, 硕士, 主管药师

Tel: (0519)68870870

E-mail: lysaxia@yahoo.com.cn

nifedipine and felodipin.

KEY WORDS: lovastatin; dihydropyridin calcium antagonists; drug-interaction

近年来,我国心血管病发病率及相关危险因素均有增加趋势。其中高血压的发病率为11.6%,全国高血压病患者超过1亿多^[1]。二氢吡啶类钙拮抗剂(CCB)早在90年代就被ISH和WHO推荐为5个一线降压药之一,据中国高血压联盟的统计,我国约50%的高血压患者在应用CCB。高血压和血脂异常往往同时存在,在这1亿多高血压患者中,35岁以上高血压合并血脂异常的患者多达3 700万(30%~50%伴有高血脂)。并且在同一血压水平,血脂越高,患心脑血管疾病的危险越高^[2]。2004年中国高血压防治指南也明确提出在治疗高血压时必须对血脂进行干预^[3]。因此,多数患者采用多药合并应用达到治疗目的,而在合并用药过程中不可避免的会产生药物代谢性相互作用,使某一药物浓度升高,不良反应加重,甚至中毒^[4];或使药物浓度降低,达不到治疗效果,这种作用就是常说的药物-药物相互作用。2005年药物不良反应杂志^[5]报道了一例左旋氨氯地平与洛伐他汀合用引起的严重肝损害病例,虽然笔者对不良反应由药物引起做出了正确推测,但是对其机制并没有说明,究其原因即对这方面的系统研究尚少,仅见个别有关二氢吡啶类和洛伐他汀相互作用的外文报道^[6-8],导致临床药师及医生获取知识不足,不能提供强有力的依据。故对二氢吡啶类降压药与洛伐他汀合用的相互作用研究是十分必要的。

本试验采用大鼠肝微粒体体外代谢模型模拟体内代谢情况研究不同种类二氢吡啶类降压药对降脂药洛伐他汀代谢的影响,为临床合理选择降压药提供理论依据,减少药物不良反应发生率,提高治疗效果。

1 材料

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱系统(包括 2996 紫外检测器、1525 二元梯度泵、717 自动进样器、Empower 色谱工作站);塞多利斯电子分析天平[塞多利斯科学仪器(北京)有限公司,精密度 1×10^{-5} g];Effendorf centrifuge 5417R 高速台式离心机(德国 EFFENDORF);低温冰箱(日本 SANYO);旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);恒温振荡水槽(上海精宏仪器设备有限公司);雪花制冰机(北京长流科

学仪器公司)。

1.2 试药

洛伐他汀(浙江江北药业有限公司,批号:090301)。硝苯地平(批号:10338-0001)、乐卡地平(批号:230-9601)均购自北京索莱宝科技有限公司。非洛地平(批号:100717-200501)、拉西地平(批号:100741-200501)、尼莫地平(批号:100270-200002)均来源于中国药品生物制品检定所。地西洋对照品(中国药品生物制品检定所,批号:230-9601,纯度:99%)。乙腈为 HPLC 级(上海试一化学试剂有限公司,纯度>99.7%),水(thermo 纯水仪),枸橼酸三钠盐、枸橼酸脱氢酶、氧化/还原型辅酶II(NADP/NADPH)均购于 Sigma-Aldrich(上海)试剂公司。

1.3 动物

SD大鼠,♂,体质量200~250 g,月龄1.5个月,合格证号:SCXK(沪)2003-0003,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate-XB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 4 μm);流动相:水-乙腈(70:30),以地西洋为内标,流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:238 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

2.2 鼠肝微粒体制备^[9]

取SD大鼠,♂,重约200 g,断头后打开腹腔暴露出肝脏,用冰浴冷却的生理盐水经胸动脉或门静脉注入肝脏,直至肝脏颜色变黄后取出肝脏后浸入冰冷的生理盐水中,洗去血水(以下均在4 ℃进行)。滤纸吸干水分,称重后加入4倍于肝重量的0.25 mol·L⁻¹蔗糖溶液,制成匀浆。于8 660 r·min⁻¹离心20 min,取上清液于16 600 r·min⁻¹离心20 min,分取上清液,加入1/10体积的88 mol·L⁻¹CaCl₂溶液,置水浴中5 min,不时搅拌,于15 000 r·min⁻¹离心20 min,除去上清液,在沉淀物中加入pH 7.4的0.1 mol·L⁻¹Tris-缓冲液(含0.15 mol·L⁻¹KCl)混匀,15 000 r·min⁻¹离心30 min后,取沉淀物加pH 7.4的50 mmol·L⁻¹Tris-蔗糖缓冲液制成微粒体悬浮液,于-80 ℃下保存备用。以BCA蛋白定量分析方法^[10]测定微粒体中的蛋白浓度。

2.3 体外代谢实验

取微粒体适量,用新鲜配制的枸橼酸-枸橼酸脱氢酶再生系统稀释成蛋白浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合悬液,充氧气 2 min ,取此混悬液 0.2 mL ,加一定浓度的洛伐他汀溶液 $2\text{ }\mu\text{L}$ 和不同浓度的抑制剂硝苯地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平和尼莫地平 $1\text{ }\mu\text{L}$ (终浓度各自分别为 $1, 5, 10, 25, 50, 100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),混匀,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预孵育 5 min ,加 $\beta\text{-NADP/NADPH}$ 的 $0.1\%\text{NaHCO}_3$ 溶液(临用新配,置冰浴中,终浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}/0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)启动反应,并开始计时, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min 后,加冰冷的乙腈 0.2 mL (含 $5\text{ }\mu\text{L}$ 地西洋,终浓度为 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)终止反应,涡旋 1 min , $15\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 。取上清液 $20\text{ }\mu\text{L}$ 进样,测定剩余底物洛伐他汀浓度。

2.4 抑制作用 IC_{50} 计算

IC_{50} 由抑制率(以代谢后剩余洛伐他汀浓度计)对抑制剂浓度作线性回归得到,选择抑制率在 50% 附近的浓度点,按下式计算:

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50\% - R_l)(C_h - C_l)}{(R_h - R_l)} + C_l$$

R_h : 高抑制率; R_l : 低抑制率; C_h : 高浓度; C_l : 低浓度。

2.5 二氢吡啶类降压药结构参数计算

结构参数采用 Hyperchem 软件进行分子力学和分子动力学模拟。模拟条件为:采用分子力学 MM^+ 力场,对每个二氢吡啶结构分别进行最陡下降法和共轭梯度法优化;对优化好的结构在模拟温度为 300 K 、在运行步速为 0.001 ps 的条件下,进行 100 ps 的分子动力学模拟。在 Hyperchem 软件的 QSAR 项下获得数据。

3 结果

3.1 方法学结果

在所选色谱条件下,洛伐他汀及其代谢产物和地西洋出峰情况及峰形良好,且所加入的抑制剂硝苯地平,非洛地平,拉西地平,乐卡地平,尼莫地平均不影响洛伐他汀的测定。洛伐他汀和内标地西洋保留时间分别为 $12.3, 6.1\text{ min}$,且空白微粒体中未见杂质峰干扰,色谱图见图1。

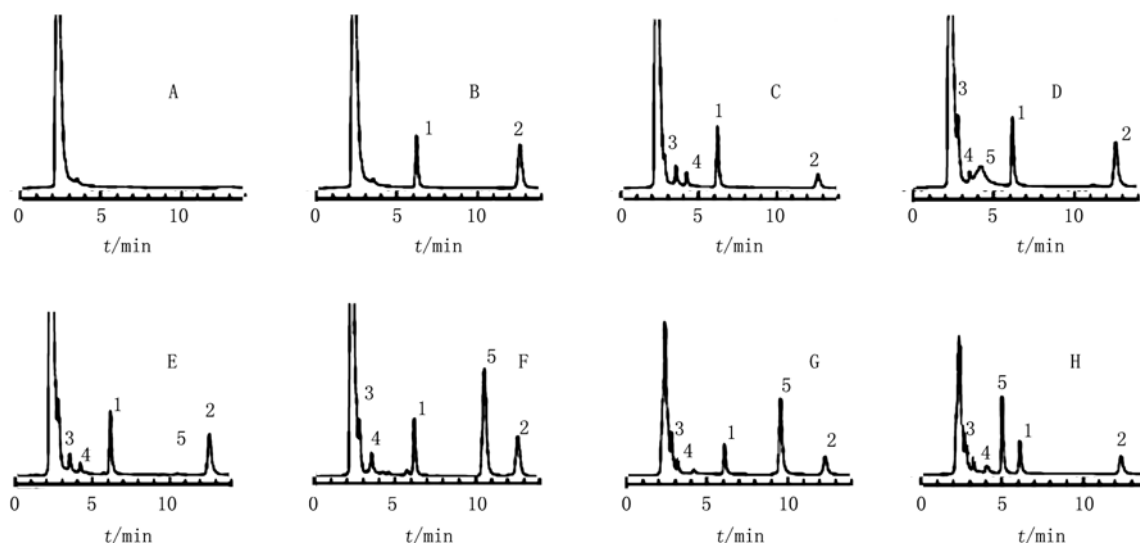


图1 洛伐他汀及其在鼠肝微粒体中代谢产物的高效液相色谱图

A-空白微粒体; B-洛伐他汀和地西洋加入空白微粒体; C-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 代谢 20 min (含内标); D-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与抑制剂尼莫地平共孵育代谢 20 min (含内标); E-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与抑制剂乐卡地平共孵育代谢 20 min (含内标); F-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与抑制剂拉西地平共孵育代谢 20 min (含内标); G-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与抑制剂非洛地平共孵育代谢 20 min (含内标); H-洛伐他汀在微粒体中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与抑制剂硝苯地平共孵育代谢 20 min (含内标); 1-地西洋; 2-洛伐他汀; 3, 4-代谢产物; 5-抑制剂

Fig 1 The HPLC chromatograms of lovastatin and metabolite in rat liver microsomes

A-blank microsome; B-blank microsome+lovastatin and diazepam; C-lovastatin metabolized in $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam); D-lovastatin metabolized at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam and inhibitor nimodipine); E-lovastatin metabolized at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam and inhibitor lercanidipine); F-lovastatin metabolized at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam and inhibitor lacidipine); G-lovastatin metabolized at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam and inhibitor felodipine); H-lovastatin metabolized at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min (including diazepam and inhibitor nifedipine); 1-diazepam; 2-lovastatin; 3, 4-metabolite; 5-inhibitor

以洛伐他汀峰面积与地西洋峰面积的比值 R 对浓度 X 进行线性回归, 得直线回归方程: $R=0.073\ 4\ X-0.032$, $r=0.997\ 7$ 。结果表明洛伐他汀在 $2.5\sim 40.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 内与 R 均有良好的线性关系。低、中、高 3 个浓度的方法回收率分别为 105.62%, 95.47%, 101.53%, 日内、日间精密度分别为 4.96%, 3.95%, 2.93%; 3.12 %, 2.89%, 2.57%。低、中、高 3 个浓度的微粒体样品分别在室温、4 °C 放置 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36 h 后测定, 并于 -20 °C 反复冻融 3 次后测定, 发现其在室温、4 °C 放置 36 h 稳定性良好(RSD 均<5.0%), 反复冻融 3 次稳定性良好(RSD<5.0%), 由以上结果可见本液相色谱方法可用。

3.2 二氢吡啶类降压药对洛伐他汀代谢的抑制作用
按“2.3”项下方法, 抑制剂硝苯地平, 非洛地平, 拉西地平, 乐卡地平, 尼莫地平终浓度为 1, 5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行代谢反应, 并做不加抑制剂的阳性对照, 每份样品做 3 份平行, 结果取均值, 按“2.4”项下的公式计算 IC_{50} 值, 结果见表 1。由表可知, 二氢吡啶类降压药对洛伐他汀代谢抑制作用硝苯地平>非洛地平>拉西地平>乐卡地平>尼莫地平。

表 1 二氢吡啶类降压药对洛伐他汀代谢抑制作用 IC_{50} 值
Tab 1 The IC_{50} values of dihydropyridin type of calcium antagonists

化合物	IC_{50} 值/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
硝苯地平	53.98
非洛地平	52.12
拉西地平	37.79
乐卡地平	6.54
尼莫地平	2.01

3.3 二氢吡啶类降压药分子结构参数

按“2.5”项下的方法采用 Hyperchem 软件对硝苯地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平和尼莫地平进行结构优化并计算其分子结构参数, 结果见表 2。

表 2 二氢吡啶类降压药的分子结构参数
Tab 2 The structure parameter of dihydropyridin type of calcium antagonists

化合物	LogP	水合能/ $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	折射性	极性	分子量	体积	表面积
硝苯地平	-3.08	452.68	94.99	34.10	346.34	924.19	544.65
非洛地平	-0.44	464.44	103.45	37.95	384.26	1 022.76	585.07
乐卡地平	-0.17	733.82	188.95	67.62	611.74	1 724.48	935.65
拉西地平	1.01	462.01	133.58	49.30	455.55	1 312.39	710.94
尼莫地平	-2.49	460.34	115.20	42.08	418.45	1 166.44	660.94

3.4 二氢吡啶类药物分子结构参数与抑制作用 IC_{50} 的关系

采用 SAS 统计学软件中自带的偏最小二乘法(PLS)对二氢吡啶类药物分子结构参数与其对洛伐他汀抑制作用 IC_{50} 的关系进行曲线拟合和回归分析, 得到药物的化学结构参数与 IC_{50} 之间的关系式: $\text{IC}_{50}=278+5.831\times\text{P}+0.027\times\text{H}+3.467\times\text{R}+5.09\times\text{P}-0.297\times\text{M}-0.326\times\text{V}-0.565\times\text{S}$ ($r^2=0.762$)

P: LogP; H: 水合能; R: 折射性; P: 极性; M: 分子量; V: 体积; S: 表面积。

由方程式可见, 二氢吡啶类药物中硝苯地平, 非洛地平, 拉西地平, 乐卡地平, 尼莫地平对洛伐他汀的抑制作用 IC_{50} 值与其分子结构参数成一次方关系, 其中 LogP、折射性、极性与抑制作用成正相关, 而分子量、表面积、分子体积与抑制作用成负相关。

4 讨论

由研究结果可见二氢吡啶类药物中硝苯地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平、尼莫地平对洛伐他汀的抑制作用强弱不同, 其 IC_{50} 值与其分子结构参数成一次方关系, 其中 LogP、折射性、极性与抑制作用成正相关, 而分子量、表面积、分子体积与抑制作用成负相关。故在临床应用中为了避免此类药物对洛伐他汀的强抑制作用, 宜选用 LogP 值大, 而分子量, 分子表面积交小的该类药物如硝苯地平、非洛地平等。

本实验采用的研究方法也可以用于其他药物间相互作用研究, 该方法简便易行, 对实验室设备要求不高, 同时为临床药师及医生提供了药物相互作用机制, 为临床合理用药提供了理论基础。

REFERENCES

- [1] LIN S G, CHEN L Y. Pharmacoeconomic evaluation of hypertension therapy [J]. Chin J Cardiol(中华心血管病杂志), 2003, 31(3): 236-237.
- [2] LUAN T, LIU H S. Therapeutic effectiveness and safety of perindopril and atorvastatin calcium for treating hypertension and hyperlipidemia simultaneously [J]. Chin Commun Doct(中国社区医师), 2007, 9(164): 28.
- [3] China's Prevention and Cure Guide of Hypertension Revision Committee. China's prevention and cure guide of hypertension in 2004 [J]. Chin J Cardiol(中华心血管病杂志), 2004, 32(12): 1060-1064.
- [4] DOMANSKI T L, LUI J, HARLOW G R, et al. Analysis of four residues within substrate recognition site 4 of human cytochrome P450 3A4: role in steroid hydroxylase activity and

- alpha-naphthoflavone stimulation [J]. Arch Biochem Biophys, 1998, 350(2): 223-232.
- [5] CHEN H. Hepatic injury after use of levamisole in combination with lovastatin and acipimox [J]. Adverse Drug React J(药物不良反应杂志), 2006, 8(2): 145.
- [6] LIONEL H O. Adverse cardiovascular drug interactions [J]. Curr Probl Cardiol, 2000, 25 (9): 626-667.
- [7] FURST B A, CHAMPION K M, PIERRE J M, et al. Possible association of QTc interval prolongation with co-administration of quetiapine and lovastatin [J]. Biol Psychiatry, 2002, 51(3): 264-265.
- [8] CHENG J W, FRISHMAN W H, ARONOW W S. Updates on cytochrome P450-mediated cardiovascular drug interactions [J]. Dis Mon, 2010, 5(3): 163-179.
- [9] XIA Z L, XU J P, ZOU S L. The determination of CYP3A4 activity by probe drug [J]. Pharm Clin Res(药学与临床研究), 2010, 18(2): 142-144.
- [10] ZHONG S L, YANG K, CHEN B M. Cholesterol in U937 foam cells assayed in liquid chromatographic-mass spectrometry [J]. Chin J Mod Med(中国现代医学杂志), 2004, 14(20): 51-56.
- 收稿日期: 2010-06-29