

间尼索地平控释微丸 Beagle 犬体内药动学研究

齐晓丹, 张晶, 王伟(河北医科大学药学院药剂学教研室, 石家庄 050017)

摘要: 目的 建立间尼索地平血药浓度的高效液相色谱-质谱联用方法, 研究 Beagle 犬单剂量口服间尼索地平控释微丸的药动学。方法 用 HPLC-MS 法测定健康 Beagle 犬单剂量口服间尼索地平控释微丸和普通微丸的血药浓度, 以 DAS 2.0 软件计算药动学参数。结果 单剂量给药后, 控释微丸和普通微丸的 $t_{\max}$ 分别为 $(11.154 \pm 0.5077)\text{h}$ 和 $(2.213 \pm 0.3225)\text{h}$, $C_{\max}$ 分别为 $(79.40 \pm 10.60)\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(116.7 \pm 20.35)\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC 分别为 $(1227.8 \pm 296.0)\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(867.8 \pm 146.7)\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 控释微丸的相对生物利用度为 141.5%。结论 本方法准确、灵敏, 间尼索地平控释微丸血药浓度平稳, 可较长时间保持血药浓度。

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(C2010000488)

作者简介: 齐晓丹, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0311)86265591 E-mail: dzihwt@sina.com

关键词: 间尼索地平; 液相色谱-质谱联用; 控释微丸; 药动学

中图分类号: R945.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)03-0242-04

Pharmacokinetics of m-nisoldipine Controlled-release Pellets in Beagle Dogs

QI Xiaodan, ZHANG Jing, WANG Wei(School of Pharmacy, Department of Pharmaceutics, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method of HPLC-MS for studying the pharmacokinetics of m-nisoldipine controlled-release pellets after a single oral administrations in Beagle dogs. **METHODS** To determine the plasma concentrations of m-nisoldipine controlled-release pellets and conventional pellets after a single oral administration in Beagle dogs by HPLC-MS. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 software. **RESULTS** The pharmacokinetic parameters for the single oral administration of controlled-release pellets and conventional pellets were $t_{\max}$ (11.154±0.5077)h and (2.213±0.3225)h, $C_{\max}$ (79.40±10.60)ng·mL⁻¹ and (116.7±20.35)ng·mL⁻¹, AUC(1227.8±296.0)ng·h·mL⁻¹ and (867.8±146.7)ng·h·mL⁻¹, respectively. The relative bioavailability of controlled-release pellets was 141.5%. **CONCLUSION** The method of HPLC-MS is accurate and sensitive. The plasma concentration of m-nisoldipine controlled-release pellets is steady and the effective plasma drug concentration can be maintained for a longer time.

KEY WORDS: m-nisoldipine; HPLC-MS; controlled-release pellets; pharmacokinetics

间尼索地平(m-nisoldipine, m-Nis)是河北医科大学药学院首次合成的国家一类新药,属于二氢吡啶类钙离子拮抗剂。主要药理作用在于抑制Ca²⁺进入可兴奋细胞,选择性地引起外周血管和冠状血管的扩张,对心肌收缩力和心脏传导系统均无影响^[1-4]。主要用于治疗冠心病、心绞痛、高血压和慢性充血性心力衰竭及心源性休克,具有强效、速效和长效的特点。其为尼索地平的同分异构体,不仅具有与尼索地平相似的药理作用,且毒性很小,光稳定性明显优于尼索地平等同类药物,有望成为心血管疾病的理想治疗药物。

笔者采用液相色谱-质谱联用方法对自制的间尼索地平控释微丸进行了Beagle犬体内的药动学研究,以自制间尼索地平普通微丸作为对照,计算相应的药动学参数,并对间尼索地平控释微丸的生物利用度作出评价。

1 材料与仪器

Agilent 1200 液相色谱系统(美国 Agilent Technologies 公司); 3200 QTRAP 型串联四极杆线性离子阱质谱仪(美国 AB 公司); Analyst 1.4.2 数据采集和分析软件(美国 AB 公司); TDL-5 台式离心机(北京雷勃尔离心机有限公司); XW80A 型漩涡混合器(上海医科大学仪器厂); 乙腈为色谱纯(迪马公司)。

间尼索地平控释微丸及间尼索地平普通微丸(自制, 20 mg)。

Beagle 犬,健康成年,♀♂各半,体质量 9~12 kg,购自上海市新冈实验动物场,实验动物合格证号:

SCXK(沪)2010-0014,饲养于河北医科大学实验动物中心,单笼以专用营养饲料定量饲育。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

分析柱: Waters Symmetry C₁₈(50 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 预柱为 RP18 保护柱, 4 mm×3.0 mm (Phenomenex, Torrance, CA, USA); 流动相: 乙腈-水(80:20), 流速: 0.8 mL·min⁻¹, 柱温: 25℃, 进样量: 10 μL。

2.2 质谱条件

检测方式为负离子多离子反应检测(MRM), 喷雾电压 IS 为-4500 V; 雾化温度为 650℃; 雾化气 NEB(GAS 1)为 60 psig; 卷帘气 CUR 为 30 psig; 碰撞气 CAD 为 6 psig; 辅助气 AUX(GAS2)为 65 psig, m/z 387.1→ m/z 121.9(间尼索地平), m/z 417.3→ m/z 121.9(尼莫地平)。

2.3 血浆样品处理

取血浆 100 μL, 精密加入 20 ng·mL⁻¹ 内标(尼莫地平)乙腈溶液 100 μL, 间尼索地平储备液 100 μL, 乙腈 100 μL, 涡旋混合 1 min, 14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液供 LC-MS 分析。

2.4 方法专属性

间尼索地平及内标尼莫地平的特征离子图谱见图 1。在色谱质谱条件下测得空白血浆、空白血浆加对照品及内标和受试动物给药后血浆色谱图见图 2。由图 2 可见, 通过选择离子监测, 血浆中内源性杂质不干扰药物及其内标物的测定。

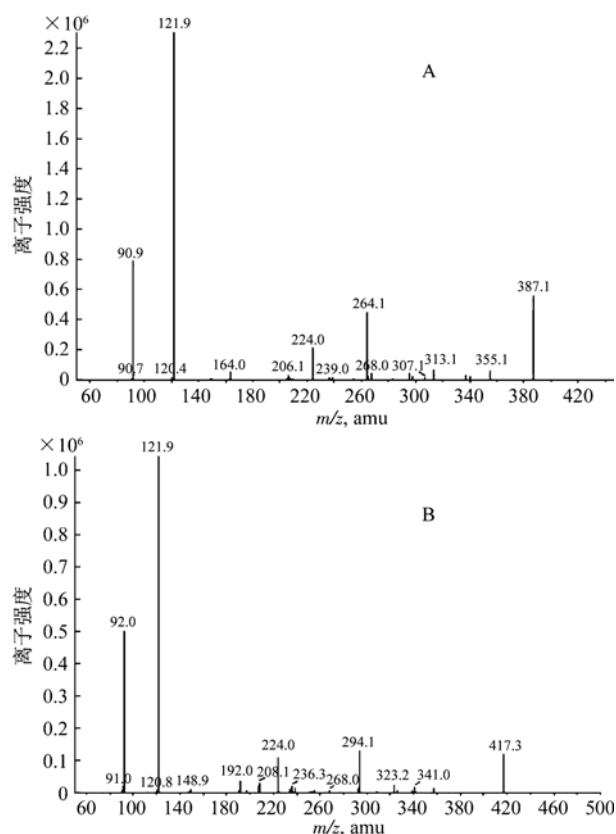


图1 离子峰的二级全扫描质谱图

A-间尼索地平; B-尼莫地平

Fig 1 Product ion scan

A-m-nisoldipine; B-nimodipine

2.5 基质效应

取空白血浆 100 μL , 除不加内标改加相应体积乙腈外, 制备间尼索地平血浆浓度分别为 0.4, 4, 20 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的质控样品, 进样分析, 获得相应峰面积, 记录为 A1。同时用流动相配制间尼索地平溶液至相应浓度进样分析, 获得相应峰面积, 记录为 A2。基质效应 $=A1/A2\times 100\%$, 3 种浓度的基质效应比值分别为 98.4%、96.5%和 101.3%。结果表明, 本方法的基质效应可忽略不计。

2.6 标准曲线和定量下限

取空白血浆 100 μL , 加内标尼莫地平及间尼索地平标准系列乙腈溶液 100 μL , 乙腈 100 μL , 配制成相当于质量浓度为 0.2, 0.4, 2, 4, 10, 20 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的模拟血浆样品, 按“2.3”项下方法操作, 进样 10 μL , 记录色谱图。以血浆样品中待测物质量浓度 $\rho(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 待测物与内标物的峰面积之比(A)为纵坐标, 进行加权回归, 得回归方程: $A=0.944\rho+1.31$, $r=0.9989$; 表明在 0.2~20 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内两者线性关系良好, 最低定量限为 0.2 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

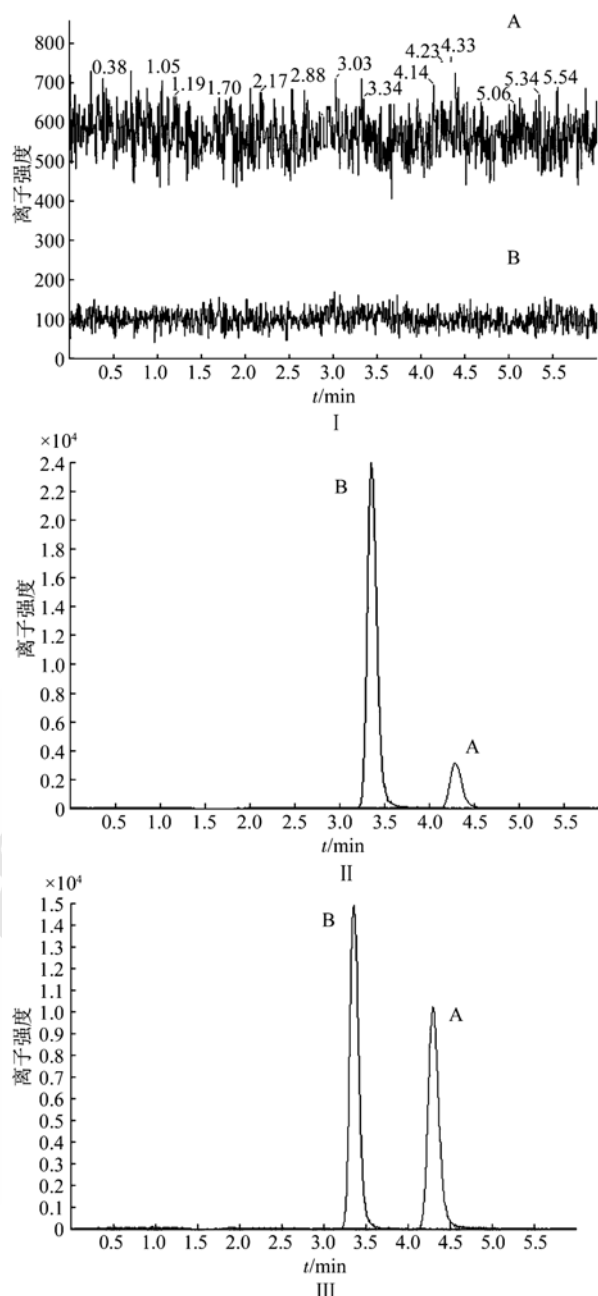


图2 HPLC-MS 色谱图

I-空白血浆; II-空白血浆加入间尼索地平 and 尼莫地平; III-犬血浆样品; A-间尼索地平; B-尼莫地平

Fig 2 HPLC-MS chromatogram

I-blank plasma sample; II-blank plasma spiked with m-nisoldipine and nimodipine; III-plasma sample after m-nisoldipine administration; A-m-nisoldipine; B-nimodipine

2.7 回收率及精密度

取空白血浆 100 μL , 按“2.6”项下方法制备低、中、高 3 个质量浓度(分别为 0.4, 4, 20 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 每一浓度进行 6 样本分析, 连续测定 3 d, 提取回收率均在 85%以上, 方法回收率在 96%~100%内, 日内日间 RSD 均 $<15\%$, 结果见表 1。

表 1 间尼索地平提取回收率、方法回收率和日内、日间精密性(n=6)

Tab 1 Recovery and precision of m-nisoldipine in plasma (n=6)

浓度/ ng·mL ⁻¹	提取回 收率/%	方法回 收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
0.4	91.7	96.2	5.59	10.10
4.0	92.0	97.1	6.10	9.21
20.0	88.9	98.1	5.69	8.20

2.8 样品稳定性

间尼索地平低、中、高 3 个浓度(0.4, 4, 20 ng·mL⁻¹)的血浆样品,每一浓度 3 样本分析,平行制备 3 组分别考察 2 次冷冻-解冻循环,室温放置 24 h, -20 ℃放置 15 d。然后按“2.3”项下方法操作,进样测定。结果显示上述条件下间尼索地平峰面积 RSD(n=3)<11.5%,表明血浆样品在上述条件下均稳定。

2.9 间尼索地平控释微丸及间尼索地平普通微丸体内血药浓度

取 Beagle 犬 6 只,♀♂ 各半,随机分为两组,每组 3 只。服药前禁食 12 h,不禁水。第一组给予间尼索地平普通微丸 20 mg,第二组给予间尼索地平控释微丸^[5]20 mg。第一组给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 h; 第二组给药后 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 48, 60 h 取股静脉血 3 mL,置肝素化离心管中,以 4 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上层血浆,于-20 ℃冰箱冷冻放置备测。经过 1 周洗脱期后,再交叉进行实验。

6 只 Beagle 犬单剂量口服间尼索地平控释微丸和普通微丸后各时间点血药浓度的平均值与时间的关系见图 3。

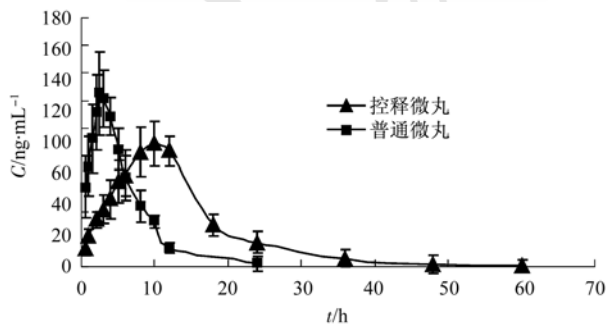


图 3 间尼索地平平均药-时曲线(n=6)

Fig 3 Mean concentration-time curve of m-nisoldipine(n=6)

2.10 主要药动学参数

由测得的血药浓度数据,利用专业软件 DASver.2.0 进行药动学参数的计算,结果见表 2。

表 2 Beagle 犬单剂量口服间尼索地平 20 mg 后的主要药动学参数(n=6)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of m-nisoldipine after a single dose of 20 mg(n=6)

参 数	控释微丸	普通微丸
Ka/h ⁻¹	0.4611±0.02911	1.015±0.1733
Ke/h ⁻¹	0.1080±0.02374	0.2224±0.06236
t _{1/2} Ka/h	1.509±0.1001	0.7684±0.1658
t _{1/2} Ke/h	14.794±1.800	3.447±1.185
t _{max} /h	11.154±0.5077	2.213±0.3225
C _{max} /ng·mL ⁻¹	79.40±10.60	116.7±20.35
AUC/ng·h·mL ⁻¹	1227.8±296.0	867.8±146.7
F/%	141.5	

3 讨论

本研究采用 LC-MS 测定犬血浆中间尼索地平的含量,已有文献[6]采用乙醚液-液萃取对血浆样品进行处理,操作繁琐,且乙醚挥发时对人体健康有一定影响。本研究样品仅需乙腈沉淀蛋白后,即可进样测定,方法学考察表明操作方法简便可行,省时省力。由于采用二级质谱测定,可消除血浆中其他杂质的干扰,方法灵敏度符合实验要求。为了消除试验动物个体差异对试验结果的影响,本研究采用随机自身交叉对照方法进行药动学试验。

由于间尼索地平正处于临床前研究阶段,尚无间尼索地平制剂作参比,故用自制的间尼索地平普通微丸作对照,研究间尼索地平控释微丸在 Beagle 犬体内的药动学特征。

REFERENCES

- [1] GAO Y J, LI Y S, FU S X. Effects of m-nisoldipine on rabbit cardiac and vascular preparations in vitro: a comparison with nisoldipine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 1990, 4(1): 21-24.
- [2] GAO Y J, LI Y S, FU S X. Effects of m-nisoldipine and nisoldipine on the hemodynamics and regional blood flow in conscious rabbits [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 1990, 6(2): 114-117.
- [3] ZHANG Y J, ZHANG G H, ZHANG Y L. Antihypertensive effects of m-nisodipine and nisodipine on spontaneously hypertensive Rats [J]. Acta Acad Med Hebei(河北医学院学报), 1994, 15(3): 135-137.
- [4] CHEN X Y, ZHANG W, MIAO Q F. m-Nisoldipine attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension by suppressing 5-HT/ERK MAPK pathway [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2008, 43(10): 1011-1018.
- [5] QI X D, WANG W, TIAN S. Preparation and quality evaluation of m-nisoldipine-sulfobutyl ether-β-cyclodextrins pellets by extrusion-spheronization method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(1): 60-63.
- [6] KONG D, LI S, ZHANG X, et al. Simultaneous determination of m-nisoldipine and its three metabolites in rat plasma by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2010, 878(29): 2989-2996.

收稿日期: 2011-06-22