

尼索地平控释贴剂在自发性高血压大鼠体内的药动学-药效学结合模型的建立^Δ

聂阳^{1,2*}, 许良葵², 李博², 朱俊访², 陈新颖^{3#} (1.广东省中药研究所, 广州 510520; 2.广东食品药品职业学院, 广州 510520; 3.中山大学工学院, 广州 510006)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3915-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.09

摘要 目的:建立尼索地平控释贴剂(NCRP)在自发性高血压大鼠(SHR)体内的药动学-药效学(PK-PD)结合模型。方法:将SHR随机分为贴剂(NCRP)组和片剂(尼索地平片)组,每组6只,植入微透析探针,按尼索地平计每只给药5 mg。收集给药后36 h内的血浆微透析液,采用高效液相色谱法测定尼索地平血药浓度,WinNonlin 5.3软件计算药动学参数,以心率和血压为药效学指标,进行PK-PD结合模型研究。结果:与尼索地平片比较,NCRP具有控释效果;NCRP药物效应与效应室浓度以Sigmoid- E_{max} 模型拟合,心率和收缩压的PK-PD模型主要参数分别为 E_{max} :(2.65 ± 0.06)、(10.71 ± 0.87), EC_{50} :(83.65 ± 35.25)、(1.29 ± 0.26) ng/ml, γ :(0.83 ± 0.91)、(1.2 ± 0.35), K_{eo} :(0.37 ± 0.53)、(0.91 ± 0.24) h⁻¹。结论:成功建立了NCRP在SHR体内的PK-PD结合模型。
关键词 尼索地平;控释贴剂;微透析;自发性高血压大鼠;药动学-药效学结合模型

Study on the Pharmacokinetic-pharmacodynamic Model of Nisoldipine Controlled-release Patches in Spontaneously Hypertensive Rats

NIE Yang^{1,2}, XU Liang-kui², LI Bo², ZHU Jun-fang², CHEN Xin-ying³ (1.Traditional Chinese Medical Institute of Guangdong Province, Guangzhou 510520, China; 2.Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 3.School of Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) model of Nisoldipine controlled-release patches (NCRP) in spontaneously hypertensive rats (SHR). METHODS: SHR were randomized into a patch (NCRP) group and a tablet (Nisoldipine tablets) group, with 6 rats in each group. The microdialysis probes were implanted in SHR. Each rat was given 5 mg nisoldipine. Plasma microdialysate was collected within 36 h after administration. HPLC was adopted to determine the plasma concentration of nisoldipine, and WinNonlin 5.3 was employed to calculate Pharmacokinetic parameters. With heart rate and blood pressure as pharmacodynamic indexes, PK-PD model study was conducted. RESULTS: Vs. nisoldipine tablets, NCRP has controlled release effect. The relationship between NCRP drug effect and effect-site concentration met the Sigmoid- E_{max} model. The main parameters of the PK-PD model for heart rate and systolic blood pressure were as follows as E_{max} of (2.65 ± 0.06) and (10.71 ± 0.87), EC_{50} of (83.65 ± 35.25) and (1.29 ± 0.26) ng/ml, γ of (0.83 ± 0.91) and (1.2 ± 0.35), K_{eo} of (0.37 ± 0.53) and (0.91 ± 0.24) h⁻¹. CONCLUSIONS: PK-PD model of NCRP in SHR has been established successfully.

KEYWORDS Nisoldipine; Controlled-release patch; Microdialysis; Spontaneously hypertensive rat; Pharmacokinetic-pharmacodynamic model

尼索地平为二氢吡啶类钙离子拮抗药,作用效果是硝苯地平的4~10倍,具有抗绞痛、抗心肌缺血和降血压等作用。我国临床应用其普通片、胶囊、软胶囊、缓释片和缓释胶囊等

剂型,美国已有尼索地平控释片上市,但均为口服消化道给药,存在肝首关效应明显、生物利用度低($\leq 5\%$)、消化道不良反应严重等问题^[1-3]。针对尼索地平口服给药的局限,笔者为

2007.
[6] 张石革,孙定人.眩晕与抗眩晕药[J].中国药房,2005,16(5):400.
[7] 袁淑兰,乔建忠,阮金秀,等.盐酸苯环壬酯人体药代动力学及生物利用度研究[J].中国临床药理学杂志,1995,11

(2):98.
[8] 郑露露,曾媛,刘辉,等.高效液相色谱法内标法测定盐酸苯环壬酯控释片的含量[J].中国药业,2014,23(23):47.
[9] 于博,李敬来,王晓英,等.LC-MS/MS法研究左旋去甲基苯环壬酯在比格犬体内的生物利用度[J].军事医学,2012,36(5):365.
[10] 刘锋,胡绪英,李前远.人血中盐酸苯环壬酯的GC-MS/SIM定量测定[J].药学学报,1994,29(10):778.

^Δ基金项目:广东省医学科研基金(No.B2012063)
* 讲师,硕士。研究方向:药物新剂型及新技术。电话:020-28854883。E-mail:drugs999@163.com
通信作者:讲师,硕士。研究方向:天然药物活性成分与新药。电话:020-39336430。E-mail:googluck2201@163.com

(收稿日期:2015-01-07 修回日期:2015-03-05)
(编辑:邹丽娟)

开发其经皮给药制剂,前期研究了尼索地平醇质体作为透皮给药载体,具有较高的药物经皮渗透速率和经皮渗透量^[4];应用新型骨架型基质作为控释体系,制备了尼索地平控释贴剂(NCRP)。本研究采用微透析技术采集血样,以NCRP给药自发性高血压大鼠(SHR),建立药物浓度-药理效应之间的关系,得到药动学-药效学(PK-PD)结合模型的主要参数,为NCRP的新药研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);微透析系统,包括150型动物保温垫、402型微量注射泵、85型低温样品收集器(瑞士CMA公司);RM6240BD型多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂)。

1.2 药品与试剂

NCRP(广东省中药研究所自制,批号:20140311,规格:每贴5mg);非洛地平对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130452-200902,纯度:98%);尼索地平片(山东力诺科峰制药有限公司,批号:110512,规格:每片5mg);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SHR 12只,♂,12周龄,体质量为250~300g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证号为SCXK(沪)20090010。

2 方法与结果

2.1 分组与预处理

取SHR12只,随机分为贴剂(NCRP)组和片剂(尼索地平片)组,每组6只,12h光照和12h黑暗环境下适应性饲养数天,自由饮食饮水。贴剂组大鼠给药前2d,先用剃刀剃除背部粗毛,再涂8%硫化钡溶液脱去背部细毛,生理盐水洗净,作为给药部位。

2.2 微透析探针的植入

每只SHR用20%乌拉坦按体质量(0.5ml/100g)ip麻醉,用柔软纱布条固定SHR四肢和头,以保温垫维持体温在37.5℃左右;将微透析探针(分子截留值5000Da,膜长30mm)用穿刺针引导植入SHR腹部皮下中,使探针在皮下表浅可见,以灌流液(格林氏液)8μl/min流速灌流0.5h,再以2μl/min流速平衡0.5h,并用手术线固定探针,用于收集血浆微透析液。

2.3 给药与血样采集

两组SHR给药前1d,禁食不禁水。贴剂组每只SHR背部相同位置贴敷NCRP1贴,透气胶布缠绕固定,给药后1、2、3、4、6、8、10、12、16、24、30、36h收集血浆微透析液,冷冻保存;同时测定SHR给药前后不同时间点的血压(尾动脉收缩压)、记录心率。

片剂组每只SHR ig尼索地平片1片,于给药后0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12、24、36h收集血浆微透析液,冷冻保存;同时测定血压、心率。

2.4 血浆微透析液中尼索地平浓度的测定方法

采用高效液相色谱法测定各组SHR血浆微透析液中尼索地平的浓度。精密吸取透析样品20μl,加入10ng/ml非洛地平溶液(内标)5μl,涡旋混匀,吸取20μl注入液相色谱仪进行测定。色谱条件:色谱柱为Zorbax XDB-C₁₈(250mm×4.6mm,5μm);流动相为甲醇-水-三乙胺(72:28:0.1,以冰醋酸调pH

值至5.0),流速为1.0ml/min;检测波长为237nm;柱温为40℃;进样量为20μl。以尼索地平与内标的峰面积之比(y)对尼索地平质量浓度(x)作线性回归,得回归方程为 $y=0.295x+3.27 \times 10^{-5}$ ($r=0.9992$)。结果,尼索地平的线性范围为0.20~10.0ng/ml,最低检测限为0.20ng/ml(信噪比为3);方法回收率、绝对回收率分别为(97.4±4.2)%、(93.7±6.1)%,RSD分别为2.23%、3.52%($n=6$)。

2.5 药动学考察

取“2.3”项下两种SHR不同时间点的血浆微透析液,按“2.4”项下方法测定其中尼索地平的药浓度,采用WinNonlin 5.3软件处理,计算药动学参数,采用WinNonlin中的PK/PD Link程序模块进行拟合PK-PD结合模型。SHR体内尼索地平的药-时曲线见图1,药动学参数见表1。

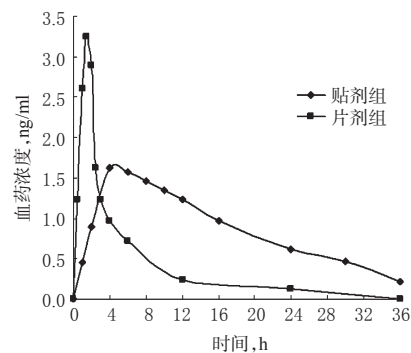


图1 SHR体内尼索地平的药-时曲线

Fig 1 The drug-time curves of nisoldipine in SHR

表1 尼索地平在SHR体内的药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of nisoldipine in SHR ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	片剂组	贴剂组
t_{max}, h	1.59 ± 0.32	3.80 ± 0.51*
$c_{max}, ng/ml$	3.45 ± 0.56	1.61 ± 0.22*
$AUC_{0-36h}, ng \cdot h/ml$	7.47 ± 2.33	18.21 ± 7.40*
$AUC_{0-\infty}, ng \cdot h/ml$	8.12 ± 2.51	19.29 ± 7.49*
$AUMC_{0-\infty}, ng \cdot h^2/ml$	84.57 ± 7.47	915.63 ± 86.87*
MRT, h	10.42	47.46*

注:与片剂组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. tablets group, * $P < 0.05$

由图1可见,与片剂组比较,贴剂组SHR的血药浓度“峰谷”波动程度减小,能长时间维持较高浓度,释药达峰时间和持效时间延长,控释效果良好。由表1可知,尼索地平的药动学过程选择权重系数为 $1/c^2$,描述为开放的二室模型较为合理。药动学参数经 t 检验,与片剂组比较,贴剂组的 t_{max} 延长、 c_{max} 降低、 AUC_{0-36h} 和 $AUC_{0-\infty}$ 提高、MRT延长,差异有统计学意义($P < 0.05$),亦说明NCRP的控释效果比尼索地平片好。

2.6 药效学考察

2.6.1 心率 记录“2.3”项下两种SHR不同时间点的心电图,按公式计算心率[心率=60/1个心动周期的持续时间(s)],以各时间点的心率与取样时间绘制心率-时间曲线,结果见图2。

由图2可见,给药后,两组SHR的心率都有所加快,片剂组SHR心率快速升高,心率升高约2h时达到峰值,约6h时心率加快不再明显;贴剂组SHR心率缓慢升高,心率升高约4h时达到峰值,此后心率升高逐渐减弱,约16h时不再明显。对比血药浓度变化过程与心率变化过程,可看出心率药效滞后

0.5~1 h,存在滞后现象。

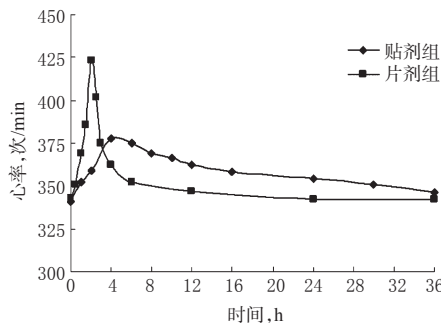


图2 两组SHR的心率-时间曲线

Fig 2 The heart rate-time curves of SHR in two groups

2.6.2 血压 记录“2.3”项下两种SHR不同时间点的血压(主动脉收缩压),以各时间点的血压和取样时间绘制血压-时间曲线,结果见图3(注:1 mm Hg=0.133 kPa)。

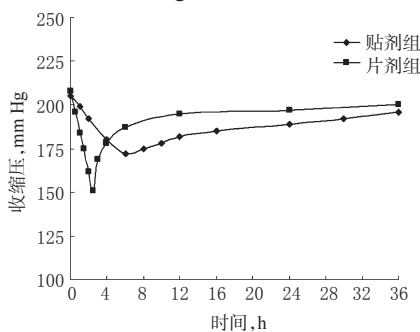


图3 两组SHR的收缩压-时间曲线

Fig 3 The systolic blood pressure-time curves of SHR in two groups

由图3可见,给药后,两组的收缩压都有所降低,片剂组收缩压快速下降,血压降低约2.5 h时达到峰值,约6 h时血压降低不明显;贴剂组收缩压下降缓慢,血压降低约6 h达到峰值,此后血压降低逐渐减弱,约16 h时不再明显。对比血药浓度变化过程与血压变化过程,可看出降压药效滞后1~3 h,也存在滞后现象。

2.7 NCRP的PK-PD模型拟合

以二室模型与效应室模型建立NCRP的PK-PD模型。各房室药物的量用微分方程式表示,公式: $dD/dt=K_{10}D_1-K_{e0}D_e$,式中 D_1 、 D_e 为中央室和效应室药量; K_{10} 为药物从中央室转运到效应室的平衡速率常数; K_{e0} 为效应室的消除速率常数。将NCRP的药效(心率、收缩压)-血药浓度转化为药物效应(E)-效应室药物浓度(c_e)间的关系,两者之间的关系用Sigmoid- E_{max} 模型拟合,公式: $E=E_{max}c_e^\gamma/(c_e^\gamma+EC_{50}^\gamma)$,式中 E_{max} 为药物的最大效应; c_e 为药物浓度; EC_{50} 为引起半数最大效应的效应室药物浓度; γ 为陡度参数,反映曲线的形状^[5-6]。分别将采样时间 t 、各采样时间的血药浓度 c 及心率或收缩压数据输入WinNonlin 5.3软件,采用PK-PD Link程序模块进行PK-PD结合模型拟合,得NCRP的PK-PD结合模型的参数见表2。

3 讨论

微透析技术适用于小分子活性物质的分析,具有活体取样、动态观察、定量分析、对组织损伤小、可连续监测且易实现自动化等优点,特别适合于深部组织和重要器官的活体生化研究^[7-8]。本实验采用微透析采集血样、高效液相色谱技术测

表2 NCRP的PK-PD结合模型的参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	心率	收缩压
E_{max}	2.65 ± 0.06	10.71 ± 0.87
EC_{50} , ng/ml	83.65 ± 35.25	1.29 ± 0.26
γ	0.83 ± 0.91	1.20 ± 0.35
K_{e0} , h ⁻¹	0.37 ± 0.53	0.91 ± 0.24

定大鼠皮下血液中尼索地平的药物浓度,较好地反映了尼索地平在大鼠经皮给药的药动学特征。

尼索地平能增加心输出量,提高心脏冠状窦氧饱和度,增加冠脉流量及减少耗氧量等^[9]。药动学研究结果显示,与片剂口服给药比较,尼索地平以贴剂透皮给药的药浓度波动程度减小,能维持长时间高浓度;经皮给药后药物从效应室消除的速度要慢于口服给药,效应维持的时间较长。药效学研究结果显示,贴剂组的心率升高缓慢、降血压变化更为平缓。以上表明贴剂中药物发挥了控释作用。

本文建立的NCRP PK-PD模型显示药物在大鼠体内分布比较快,心率、血压的效应峰值均滞后于血药浓度峰值,说明药物是逐渐分布到效应室中的,导致其效应峰值的出现慢于血药浓度峰值。 K_{e0} 反映药物在中央室和效应室之间的平衡速率,也反映了药物滞后效应的强弱^[10]。贴剂组心率、血压药效指标的 K_{e0} 并不相同,说明两个药效指标可能隶属于不同的效应室,药物从中央室分布到各个药效学指标所对应的效应室的时间不同。PK-PD模型解决了尼索地平透皮给药与心率、血压效应的预测问题,将为后续研究提供参考。

参考文献

- [1] 刘茜,徐翀,赵辉,等.尼索地平口腔崩解片和普通片在健康人体的生物等效性[J].中国新药与临床杂志,2013,32(2):140.
- [2] 李华凌,陈海燕,于辉,等.正交试验优化尼索地平口腔黏附片处方[J].中国药房,2008,19(34):2682.
- [3] 黄胜炎.国外新近上市的心血管药物制剂[J].上海医药,2008,29(7):319.
- [4] 聂阳,何盛江,陈伶俐,等.尼索地平醇质体的制备及体外经皮渗透研究[J].中国医院药学杂志,2013,33(20):1677.
- [5] 李新刚,周田彦,赵志刚,等.基于机制的药动学/药效动力学模型介绍[J].中国新药杂志,2013,22(10):1179.
- [6] 詹淑玉,邵青,李正,等.生脉注射液中人参皂苷Rg₁、Rb₁在心肌缺血大鼠体内的药动学-药效学结合研究[J].中国中药杂志,2014,39(7):1300.
- [7] 谢波,凌家俊,吴秀君,等.微透析技术用于化疗药物:吉西他滨体内药动学的初步研究[J].中国临床药理学与治疗学,2010,15(9):1035.
- [8] 马张庆,陶芳,方浩,等.应用微透析技术研究盐酸曲马多小鼠额叶皮质细胞外液中的药动学[J].药学学报,2013,48(3):406.
- [9] 刘茜,徐翀,赵辉,等.尼索地平对单硝酸异山梨酯在大鼠体内药动学的影响[J].中国药房,2012,23(45):4235.
- [10] 黄晓晖,黄继汉,陈纭,等.厄贝沙坦与氢氯噻嗪联用在肾性高血压大鼠体内药动学-药效学关系研究[J].中国临床药理学与治疗学,2012,17(3):294.

(收稿日期:2015-02-11 修回日期:2015-03-06)

(编辑:邹丽娟)