

盐酸伊伐布雷定对单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动学影响

商庆节

鲁南制药集团股份有限公司, 山东 临沂 273400

摘要: **目的** 研究盐酸伊伐布雷定对单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动学影响。**方法** 采用 HPLC 法测定单硝酸异山梨酯单独给药或联合盐酸伊伐布雷定给药后不同时间比格犬体内的血药浓度, 采用非房室模型计算单硝酸异山梨酯药动学参数。**结果** 单硝酸异山梨酯单独给药及与盐酸伊伐布雷定联合使用后, 在比格犬体内单硝酸异山梨酯的主要药动学参数差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。单硝酸异山梨酯联合盐酸伊伐布雷定给药相对单硝酸异山梨酯单独给药的生物利用度为 100%。

结论 盐酸伊伐布雷定与单硝酸异山梨酯联合用药后对单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动学过程无影响。

关键词: 盐酸伊伐布雷定; 单硝酸异山梨酯; 比格犬; 药动学

中图分类号: R972.2 R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2015)01-0053-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.01.010

Effect of Ivabradine on isosorbide-5-mononitrate pharmacokinetics in Beagle's dogs

SHANG Qing-jie

Lunan Pharmaceutical Group Corporation, Linyi 273400, China

Abstract: Objective To study the effect of Ivabradine on isosorbide-5-mononitrate (5-ISMN) pharmacokinetics in Beagle's dogs. **Methods** The plasma concentration of 5-ISMN was determined by HPLC after taking single or combined Ivabradine administration in Beagle's dogs. The pharmacokinetics parameters of 5-ISMN were calculated using the non-compartmental analysis. **Results** Non-statistically significant differences have been observed for the main pharmacokinetic parameters of 5-ISMN when administered alone or with Ivabradine ($P < 0.05$). Compared with single drug administration, the relative bioavailability of 5-ISMN administered with Ivabradine was 100%. **Conclusion** There is no effect of 5-ISMN combined with Ivabradine on pharmacokinetics of 5-ISMN in Beagle's dogs.

Key words: Ivabradine; isosorbide-5-mononitrate; Beagle's dogs; pharmacokinetics

5-单硝酸异山梨酯 (isosorbide-5-mononitrate, 5-ISMN) 的主要药理作用为扩张冠状动脉, 降低心肌耗氧量, 在临床上广泛用于充血性心肌缺血等心血管疾病的治疗^[1-2], 但因其具有增加心率的副作用, 临床多与盐酸普萘洛尔等能降低心率的药物联合使用以增强疗效及降低副作用。盐酸伊伐布雷定 (Ivabradine) 是首个高度特异性超极化激活通道 (I_f) 抑制剂, 能够特异性的减慢心率, 可作为应用 β 受体阻滞剂受限的心功能不全、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、房室传导阻滞、低血压、糖尿病等患者的替代用药^[3-4]。美国心脏病学院 (ACC) 联合美国心脏学会 (AHA) 等机构于 2006 年发布的《稳定型心绞痛治疗指南》指出, 伊伐布雷定在稳定型心绞痛

治疗中有取代 β -受体阻滞剂的趋势^[5]。单硝酸异山梨酯与盐酸伊伐布雷定合用可以增强治疗心肌缺血疗效, 降低单独使用单硝酸异山梨酯引起的心率增加副作用。本试验通过比较单硝酸异山梨酯单独给药或联合盐酸伊伐布雷定给药后, 单硝酸异山梨酯在比格犬体内主要药动学参数是否存在差异。考察盐酸伊伐布雷定是否影响单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动学过程, 为其他试验研究和临床用药及监测提供一定的参考。

1 仪器、试剂与动物

Waters e2695 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), Waters 2998 型检测器 (美国 Waters 公司), BT125D 型电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公

收稿日期: 2014-10-20

作者简介: 商庆节 (1981—), 男, 硕士, 工程师, 研究方向为药代动力学与毒代动力学。Tel: (053)5030626 E-mail: shangqingjie2012@126.com

司), XW—80A 型旋涡混合器(上海精科实业有限公司), TG16—W 型台式高速微量离心机(维尔康湘鹰离心机有限公司)。

单硝酸异山梨酯对照品(批号 100694-200401, 质量分数 100%, 中国食品药品检定研究院); 内标茶碱(批号 100121-199903, 质量分数 100%, 中国食品药品检定研究院); 单硝酸异山梨酯原料药(批号 1011018, 质量分数 100%, 山东新时代药业有限公司); 盐酸伊伐布雷定(批号 101001, 质量分数 99.5%, 山东新时代药业有限公司)。甲醇、乙腈(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

比格犬 6 只, 雌雄各半, 体质量 6~8 kg, 购于北京玛斯生物技术有限公司, 生产许可证号 SCXK(京) 2011-0003, 质量合格证号 0165448。

2 分析方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 Inertsil ODS-3 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 日本 GL Sciences Inc); 预柱为 Eclipse XDB-C₁₈ 保护柱(12.5 mm×4.6 mm, 美国 Agilent 公司); 流动相为甲醇-水(21:79); 检测波长 210 nm; 体积流量 1.00 mL/min; 进样量 30 μ L; 柱温 30 $^{\circ}$ C。

2.2 血浆样品预处理

取 200 μ L 比格犬血浆置于离心管中, 加入 20 μ L 质量浓度为 10 mg/L 茶碱内标工作液, 加 7% 高氯酸水溶液 180 μ L 涡旋混匀沉淀蛋白, 10 000 r/min 离心 10 min, 取 30 μ L 上清液进样分析。

2.3 药动学研究

6 只比格犬, 雌雄各半, 随机分成 2 组, 采用双周期交叉试验, 给药前禁食 12 h 以上, 分别给予单硝酸异山梨酯水溶液(质量浓度为 3.20 g/L, 给药剂量 16.0 mg/kg)或单硝酸异山梨酯盐酸伊伐布雷定混合水溶液(单硝酸异山梨酯质量浓度为 3.20 g/L, 盐酸伊伐布雷定质量浓度为 0.8 g/L), 给药前及给药后 3、6、12、18、30、42 min 及 1、2、3、4、5、6、7 h 分别于比格犬后肢侧隐静脉采血 500 μ L 立即置于肝素化试管中, 3 500 r/min 离心 10 min, 分离血浆, 取 200 μ L 血浆置于标记好的离心管中, 于-20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存待测。两给药周期间隔一周, 通过比较两给药方式单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动学参数, 考察盐酸伊伐布雷定联合单硝酸异山梨酯给药后是否对单硝酸异山梨酯药动学有影响。

2.4 数据处理

采用 DAS 2.0 药动学软件的非房室模型计算给药后各犬的药动学参数, 其中 $T_{\max}$ 与 $C_{\max}$ 采用实测值。采用 SPSS 11.5 软件对交叉给药后的主要药动学参数进行统计。药动学参数 $C_{\max}$ 与 AUC_{0-t} 经自然对数转换后进行方差分析。

3 结果

3.1 特异性

在本实验所采用的 HPLC 条件下, 单硝酸异山梨酯与内标茶碱色谱峰互不干扰, 峰形良好, 无杂峰干扰, 保留时间分别为 11.9 min 和 14.5 min。

3.2 标准曲线与线性范围

取不同浓度的单硝酸异山梨酯标准溶液 20 μ L 加比格犬空白血浆稀释, 制成质量浓度分别为 0.3、0.5、1、5、20、36、40 mg/L 的血浆样品, 按“血浆样品预处理方法”项下单硝酸异山梨酯的血浆样品预处理方法处理, 以待测物质量浓度为横坐标, 待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标, 采用加权($W=1/C^2$)最小二乘法进行回归运算, 求得直线回归方程: $Y=0.126X-3.26\times 10^{-3}$, $r=0.9994$ 。结果表明, 单硝酸异山梨酯在 0.3~40 mg/L 线性关系良好, 定量下限可达 0.3 mg/L。

3.3 精密度与准确度

配制低、中、高质量浓度分别为 0.5、5、36 mg/L 的单硝酸异山梨酯血浆样品, 每个质量浓度各配制 5 份样品, 同时各配制一条随行标准曲线, 按“血浆样品预处理方法”处理测定, 共测定 3 批样品, 考察单硝酸异山梨酯在犬血浆中的批内精密度与批间精密度。结果显示单硝酸异山梨酯在每一质控浓度水平的批内精密度(RSD)均小于 3.2%, 批间精密度(RSD)均小于 4.1%, 准确度在-3.1%~0。

3.4 提取回收率

配制低、中、高质量浓度分别为 0.5、5、36 mg/L 的单硝酸异山梨酯血浆样品, 每个质量浓度各配制 5 份样品, 按“血浆样品预处理方法”处理测定, 同时另取空白血浆, 除不加单硝酸异山梨酯标准溶液和内标溶液外, 按“血浆样品预处理方法”处理, 获得空白处理后的上清液, 加 20 μ L 相应浓度的单硝酸异山梨酯标准溶液和 20 μ L 茶碱内标工作液混匀后测定。以每一浓度两种处理方法的峰面积比值计算回收率。结果低、中、高质量浓度的回收率分别为(97.9 $\pm$ 2.9)%、(101 $\pm$ 1.6)%、(103 $\pm$ 2.6)%, RSD 值分别为 3.0%、1.6%、2.5%。内标茶碱回收率为(100 $\pm$ 2.7)%, RSD 值为 2.7%。

3.5 稳定性

本实验分别考察了单硝酸异山梨酯含药血浆样品室温放置 6 h 稳定性、样品处理后室温放置 24 h 稳定性、-20 ℃ 低温放置 7 d 稳定性及冻融 3 次的稳定性。单硝酸异山梨酯在上述条件下均保持稳定, 相对误差在 -7.3%~12.8%, 本实验分析方法符合生物样品测定的有关规定^[6]。

3.6 盐酸伊伐布雷定对单硝酸异山梨酯的药动力学影响

单硝酸异山梨酯在比格犬体内单独给药和其与盐酸伊伐布雷联合给药后, 单硝酸异山梨酯的主要药动力学参数见表 1。给药后单硝酸异山梨酯平均血药浓度-时间曲线见图 1。

表 1 单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动力学参数
Table 1 Pharmacokinetics parameters of 5-ISMN in Beagles

参 数	单位	单独给药	联合给药
$T_{\max}$	h	0.37 ± 0.15	0.44 ± 0.27
$C_{\max}$	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	15.8 ± 1.0	15.1 ± 2.9
AUC_{0-t}	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	35.1 ± 4.1	35.0 ± 4.2
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	36.0 ± 4.3	35.8 ± 4.3
$\text{MRT}_{0-\infty}$	h	1.93 ± 0.21	1.93 ± 0.19
$t_{1/2}$	h	1.25 ± 0.14	1.18 ± 0.09
F	%	/	100

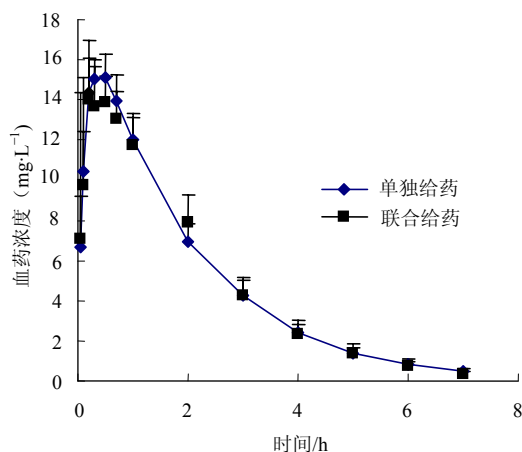


图 1 单硝酸异山梨酯血药浓度-时间曲线

Fig. 1 Concentration-time curve of 5-ISMN

采用 SPSS 11.5 统计软件对单硝酸异山梨酯单独给药和联合盐酸伊伐布雷定给药后单硝酸异山梨酯的 AUC_{0-t} 及 $C_{\max}$ 进行方差分析, 结果见表 2, 结果显示单硝酸异山梨酯单独给药和联合盐酸伊伐布雷定给药后 AUC_{0-t} 及 $C_{\max}$ 在药剂间、周期间和个体间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。两药联合给药

后相对于单硝酸异山梨酯单独给药的相对生物利用度为 100%, 结果显示盐酸伊伐布雷定不影响单硝酸异山梨酯在比格犬体内的药动力学过程。

表 2 单硝酸异山梨酯 AUC_{0-t} 及 $C_{\max}$ 方差分析表

Table 2 Analysis on variance of AUC_{0-t} and $C_{\max}$

	变异来源	SS	DF	MS	F	P
AUC_{0-t}	总变异	0.150	11			
	药剂间	1.10×10^{-5}	1	1.10×10^{-5}	0.001	0.974
	周期间	1.38×10^{-4}	1	1.38×10^{-4}	0.015	0.908
	个体间	0.113	5	0.023	2.494	0.198
	总误差	0.036	4	0.009		
$C_{\max}$	总变异	0.201	11			
	药剂间	0.011	1	0.011	0.520	0.511
	周期间	5.20×10^{-5}	1	5.20×10^{-5}	0.003	0.962
	个体间	0.110	5	0.022	1.087	0.481
	总误差	0.081	4	0.020		

4 讨论

单硝酸异山梨酯与盐酸伊伐布雷定两药合用能增强单硝酸异山梨酯治疗稳定型心绞痛的疗效, 且降低使用单硝酸异山梨酯引起的心率增加副作用。本实验研究结果表明, 单硝酸异山梨酯与盐酸伊伐布雷定联合应用不影响单硝酸异山梨酯的药动力学过程, 在联合盐酸伊伐布雷定用药时无需调整单硝酸异山梨酯的用药剂量, 本实验可为此两药在临床应用提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 齐华阁, 梁丽萍, 王素玉, 等. 单硝酸异山梨酯对慢性稳定型心绞痛患者的长期抗缺血作用 [J]. 中国新药杂志, 2001, 10(4): 287-288.
- [2] 陈 林, 陈蔚娟, 陈雄兵, 等. 5-单硝酸异山梨酯治疗老年冠心病心绞痛疗效研究 [J]. 中国新药杂志, 2002, 11(3): 237-239.
- [3] DiFrancesco D. Characterization of single pacemaker channels in cardiac sino-atrial node cells [J]. *Nature*, 1986, 324(6096): 470-473.
- [4] DiFrancesco D. The contribution of the 'pacemaker' current (if) to generation of spontaneous activity in rabbit sino-atrial node myocytes [J]. *J Physiol*, 1991, 434(1): 23-40.
- [5] Fox K, Ardissino D, Crea F, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27:1341-1381.
- [6] 化学药物非临床药代动力学研究技术指导原则 [S]. 2005.