

盐酸格拉司琼透皮贴剂在 Beagle 犬中 多剂量给药的药代动力学研究

陈姗姗, 孙莹莹, 韦 阳, 王恪申

(浙江省医学科学院, 药物研究所, 杭州 310013)

【摘要】 目的 建立盐酸格拉司琼透皮贴剂在 Beagle 犬中的血药浓度测定方法, 通过 Beagle 犬多剂量给药, 揭示盐酸格拉司琼透皮贴剂在 Beagle 犬体内的药代动力学变化规律, 阐明其在 Beagle 犬体内的药代动力学特征, 提供重要的动力学参数。**方法** Beagle 犬给予盐酸格拉司琼透皮贴剂 6 次, 每次贴片持续 72 h, 每次撤药和下次给药间隔 24 h。用建立的 HPLC-MS/MS 法测定血浆中的格拉司琼的浓度, 根据所得的血浆药物浓度-时间曲线, 计算药动学参数。**结果** 第 1 次给药和第 6 次给药后的谷浓度 $C_{\min}$ 分别 0.0459 ng/mL 和 0.2593 ng/mL, 峰浓度 $C_{\max}$ 分别为 0.4637 ng/mL 和 1.3428 ng/mL, AUC_{0-96} 分别为 18.92 h·ng/mL 和 40.21 h·ng/mL, 第 1 次给药和第 6 次给药后的 $T_{\max}$ 分别为 48.3 h 和 45.3 h, MRT_{0-96} 分别为 48.9 h 和 45.84 h。**结论** 多次给药后格拉司琼在体内存在一定的蓄积效应, 并在多次给药后第 16 天到达稳态。

【关键词】 盐酸格拉司琼透皮贴剂; beagle 犬; HPLC-MS/MS; 药代动力学

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 02-0044-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.02.008

Pharmacokinetic study of granisetron hydrochloride transdermal patch by multiple administrations in beagle dogs

CHEN Shan-shan, SUN Yin-yin, WEI Yang, WANG Ke-shen

(Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

【Abstract】 Objective To establish an HPLC-MS/MS method for determination of the plasma concentration of granisetron hydrochloride administered by transdermal patch in Beagle dogs and evaluate its pharmacokinetics. **Methods** Six beagle dogs were given topically applied transdermal patches (72 h) for 6 times with an interval of 24 h. HPLC-MS/MS was applied to determine the concentration of granisetron hydrochloride in blood samples, thereafter the pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** The trough concentration of $C_{\min}$ was 0.0459 ng/mL and 0.2593 ng/mL after the first-dosage and sixth-dosage of granisetron transdermal patches, respectively. The peak concentration of $C_{\max}$ was 0.4637 ng/mL and 1.3428 ng/mL, respectively. The AUC_{0-96} was 18.92 h·ng/mL and 40.21 h·ng/mL, respectively. The $T_{\max}$ was 48.3 hours and 45.3 hours, respectively, and the MRT_{0-96} was 48.9 hours and 45.84 hours, respectively. **Conclusions** The concentration of granisetron has accumulation effect after repeated administration of granisetron hydrochloride transdermal patches, and it reaches a steady state on the sixteenth day by multiple administrations.

【Key words】 Granisetron hydrochloride patch; Beagle dog; HPLC-MS/MS; Pharmacokinetics.

[基金项目] 浙江省科技厅培育创新载体项目(编号:2015F10032); 浙江省中医药科学研究基金项目(编号:2011ZA017)。

[作者简介] 陈姗姗(1982-), 女, 助理研究员, 研究方向: 药代动力学研究。E-mail: cherry0907820@sina.com。

[通讯作者] 韦阳(1973-), 女, 副研究员, 研究方向: 药代动力学研究。E-mail: weiyang56@hotmail.com。

格拉司琼 (granisetron) 是一种强效高选择性外周和中枢神经系统的 5-羟色胺受体 (5-HT₃) 拮抗剂,通过对上端小肠腹部向心神经纤维和孤束核或呕吐化学感受区的 5-HT₃ 受体的阻断作用,抑制抗肿瘤化疗和放疗引起的恶心和呕吐^[1]。它的剂型有片剂、胶囊剂、注射剂等,临床用于预防和放化疗引起的剧烈呕吐,效果良好^[2]。与其它止吐药相比,具有高效、低毒、安全等优点^[3]。目前,我国有仿制的格拉司琼注射剂、片剂,并已用于临床^[4]。盐酸格拉司琼的现有制剂在临床使用中存在着不同的局限性,注射剂使用不便,口服药物有较强的首过效应,生物利用度低,且患者往往因胃肠道反应造成服药困难^[4-5]。盐酸格拉司琼透皮给药系统的研发就是为避免首过效应,减轻全身不良反应,维持恒定有效的血药浓度,提高患者顺应性,本实验对盐酸格拉司琼贴剂在 beagle 犬中的多剂量给药后的药代动力学特性进行研究。

1 材料和方法

1.1 试药

盐酸格拉司琼贴剂,北京羚锐制药有限公司研制,批号:080602,规格:12 mg/40 cm²。

1.2 实验对象

Beagle 犬 6 只,体重为 (8.7 ± 0.35) kg,雌雄各半,由嘉兴市嘉安实验动物养殖有限公司提供,生产许可证号 SCXK(浙)2003-0007。

1.3 实验方法

1.3.1 给药方案与取血:选取 6 只健康 Beagle 犬,体重为 (8.7 ± 0.35) kg,雌雄各半,每只犬给药 6 次,每次贴片持续 72 h,每次撤药和下次给药间隔 24 h。分别在不同时间点自犬前臂静脉抽取静脉血 3 mL 于肝素抗凝管中,30 min 内离心获取血浆,所获血浆 -20℃ 冷冻保存待测。采血时间点分别为首次给药前 1 h 内,给药后(从贴片固定在皮肤初始算起)2、6、10、14、24、30、36、48、54、60、72、76、80、84、96、120、144 和 168 h,第 3、4、5 次给药后 96 h 以及第 6 次给药后 2、6、10、14、24、30、36、48、54、60、72、76、80、84、96、120、144 和 168 h。

1.3.2 样品处理与分析:按照已建立的 HPLC-MS/

MS 法^[6]对血浆样品进行处理与色谱分析,得到的数据代入血浆标准曲线中,求得血浆药物浓度。

1.3.3 数据分析:根据测定的药物血浆浓度-时间数据以均数 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示,用 DAS2.1 拟合房室模型,求算药代动力学参数。将根据第 1 次给药后及第 6 次给药后药物血浆浓度-时间数据分别用药代动力学软件拟合房室模型,估算药代动力学参数,并比较药代动力学参数的差异,评价多次给药是否在体内造成蓄积。其中 C_{max}、C_{min}、T_{max}、C_{ssmax}、C_{ssmin} 和 T_{ssmax} 取实测值。AUC 用矩形法求算。平均稳态浓度 Cave = AUC_{0-τ}/τ;波动系数 FI = (C_{ssmax} - C_{ssmin})/Cave,积蓄因子 R = C_{ssmin}/C_{min}。

2 结果

2.1 血浆药物浓度测定结果

6 只 Beagle 犬多次服用盐酸格拉司琼贴片后格拉司琼血浆浓度-时间数据(表 1、表 2)及平均药时曲线图(图 1),结果显示 6 次给药后,血浆中格拉司琼浓度到达稳态,但到达稳态后,血浆峰谷浓度以及 AUC 与首次用药相比明显增大。

2.2 药代动力学参数与结果分析

用 DAS 2.1 药代动力学软件拟合药代动力学参数(表 3),结果提示多次给药后格拉司琼在体内存在一定的蓄积效应。多次给药研究表明给药第 16 天后血浆中格拉司琼浓度到达稳态,但到达稳态后,血浆峰谷浓度以及 AUC 与首次用药相比明显增大,第 1 次给药和第 6 次给药后的谷浓度 C_{min} 分别为 0.0459 ng/mL 和 0.2593 ng/mL,峰浓度 C_{max} 分别为 0.4637 ng/mL 和 1.342 ng/mL, AUC₀₋₉₆ 分别为 18.92 h·ng/mL 和 40.21 h·ng/mL,提示多次给药后格拉司琼在体内存在一定的蓄积效应。第 1 次给药和第六次给药后的 T_{max} 分别为 48.3 h 和 45.3 h, MRT₀₋₉₆ 分别为 48.9 h 和 45.84 h,分别略有下降。虽然第 1 次给药和第 6 次给药后各药代动力学参数都出现了比较明显的改变,但经非参数检验表明,除 C_{max} 外这些改变均没有显著的统计学意义(表 4)。

表 1 6 条犬第 1 次使用贴片后的各时间点格拉司琼血浆浓度 (ng/mL)

采样时间 (h) Sampling time	动物编号 Animal number						$\bar{x} \pm s$
	1	2	3	4	5	6	
0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	nd	0.0359	nd	0.0136	nd	nd	0.0083 ± 0.0146
6	nd	0.0211	nd	0.0597	0.0770	nd	0.0263 ± 0.0340
10	0.0209	0.0339	0.0185	0.0375	0.1180	0.0066	0.0392 ± 0.0402
14	0.0443	0.0609	0.1560	0.1090	0.0164	0.0296	0.0694 ± 0.0532
24	0.0884	0.1240	0.9220	0.5650	0.1110	0.2680	0.3464 ± 0.3337
30	0.0850	0.0459	0.6400	0.7250	0.1150	0.3670	0.3297 ± 0.2968
36	0.1980	0.1570	0.6440	0.4010	0.0781	0.4360	0.3190 ± 0.2121
48	0.1440	0.1120	0.4610	0.4490	0.1450	0.4950	0.3010 ± 0.1843
54	0.1260	0.1150	0.3360	0.5910	0.1090	0.3640	0.2735 ± 0.1933
60	0.1310	0.1690	0.1400	0.4110	0.1080	0.3930	0.2253 ± 0.1384
72	0.1620	0.1030	0.2690	0.3330	0.1670	0.3490	0.2305 ± 0.1010
76	0.1010	0.2280	0.2790	0.4210	0.2140	0.2590	0.2503 ± 0.1041
80	0.0545	0.0924	0.1170	0.2010	0.0615	0.0894	0.1026 ± 0.0532
84	0.0455	0.0467	0.0486	0.1210	0.1150	0.0589	0.0726 ± 0.0355
96	0.0252	0.0296	0.0324	0.0635	0.0864	0.0382	0.0459 ± 0.0240
16	0.1710	0.3300	0.0818	0.3690	0.1490	0.0484	0.1915 ± 0.1307
20	0.1450	0.2600	0.0895	0.2640	0.2420	0.0216	0.1704 ± 0.1012
124	0.2750	0.3990	0.0932	0.5410	0.1910	0.0563	0.2593 ± 0.1858

表 2 6 条犬第 6 次使用贴片后的各时间点格拉司琼血浆浓度 (ng/mL)

采样时间 (h) Sampling time	动物编号 Animal number						$\bar{x} \pm s$
	1	2	3	4	5	6	
0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
10	0.2420	1.1300	0.0957	0.6530	0.2390	0.3790	0.4565 ± 0.3799
14	0.3230	2.2800	0.1440	1.4200	0.7110	0.2220	0.8500 ± 0.8438
24	0.5540	1.1800	0.2960	2.2600	0.5070	0.6650	0.9103 ± 0.7241
30	0.7140	0.7900	0.2320	1.5300	0.3960	0.5110	0.6955 ± 0.4570
36	0.3890	0.6410	0.1320	0.9010	0.4670	0.5420	0.5120 ± 0.2571
48	0.4650	0.4330	0.1990	0.9270	0.5510	0.4770	0.5087 ± 0.2372
54	0.2460	0.2750	0.1790	0.3860	0.2850	0.4370	0.3013 ± 0.0944
60	0.3110	0.2250	0.1070	0.3870	0.3900	0.5770	0.3328 ± 0.1606
72	0.5400	0.6940	0.2130	0.5320	0.4800	0.9260	0.6525 ± 0.2657
76	0.2080	0.1420	0.2450	0.3860	0.5490	0.6930	0.4980 ± 0.3244
80	0.1980	0.2140	0.1880	0.2250	0.4800	0.2500	0.2592 ± 0.1103
84	0.1360	0.0633	0.1300	0.1370	0.1600	0.1930	0.1366 ± 0.0428
96	0.1660	0.0503	0.0464	0.1100	0.1490	0.1330	0.1091 ± 0.0506
120	0.0817	0.0383	0.0828	0.1040	0.1510	0.1160	0.0956 ± 0.0379
144	0.0153	0.0054	0.0104	0.0669	0.0618	0.0597	0.0366 ± 0.0290
168	0.0080	nd	0.0072	0.0323	0.0342	0.0167	0.0164 ± 0.0141

注:nd 低于检测限 90%
Note. nd: below the detection limit 90%.

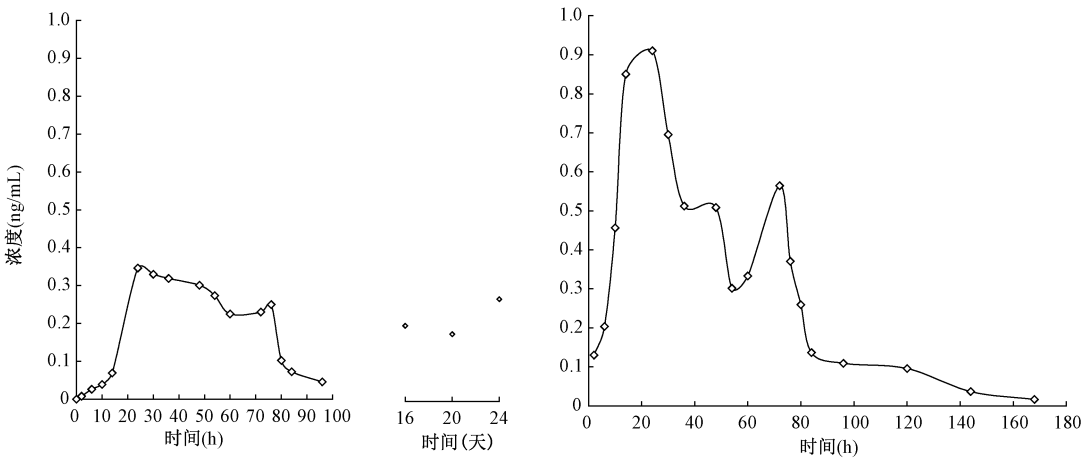


图 1 6 只犬多次使用贴片后的各时间点格拉司琼血浆平均浓度

Fig. 1 The average plasma concentration of granisetron in the 6 Beagle dog at each time point after repeated patch administration

表 3 6 只犬多次使用贴片后的药代动力学参数

Tab.3 The pharmacokinetic parameters of 6 beagle dogs used for many times.

服药天次 Administration	检测指标 Detection indexes	编号 Nnumber						$\bar{x} \pm s$
		1	2	3	4	5	6	
第 1 次 1st time	C_{min} (ng/mL)	0.0252	0.0296	0.0324	0.0635	0.0864	0.0382	0.0459 ± 0.0240
	C_{max} (ng/mL)	0.1980	0.2280	0.9220	0.7250	0.2140	0.4950	0.4637 ± 0.3059
	T_{max} (h)	36	76	24	30	76	48	48.3 ± 22.9
	AUC_{0-96} (h·ng/mL)	9.12	9.31	29.98	31.46	10.06	23.59	18.92 ± 10.66
	MRT_{0-96} (h)	50.7	51.0	41.0	47.4	53.7	49.9	48.9 ± 4.4
第 6 次 6th time	C_{min}^{ss} (ng/mL)	0.2750	0.3990	0.0932	0.5410	0.1910	0.0563	0.2593 ± 0.1858
	C_{max}^{ss} (ng/mL)	0.8700	2.2800	1.0100	2.2600	0.7110	0.9260	1.3428 ± 0.7248
	平均 C_{ave}^{ss} (ng/mL)	0.3276	0.5766	0.1970	0.7137	0.3213	0.3769	0.4189 ± 0.1901
	T_{max} (h)	72	14	76	24	14	72	45.3 ± 30.9
	AUC_{0-96} (h·ng/mL)	31.45	55.35	18.91	68.52	30.85	36.18	40.21 ± 18.25
	AUC_{0-168} (h·ng/mL)	40.29	58.66	21.79	80.13	45.46	48.21	49.09 ± 19.45
	$AUC_{0-\infty}$ (h·ng/mL)	40.46	58.78	21.99	81.46	46.57	48.62	49.65 ± 19.77
	λ (1/h)	0.0449	0.0450	0.0354	0.0244	0.0309	0.0404	0.0368 ± 0.0082
	$T_{1/2}$ (h)	15.42	15.4	19.59	28.45	22.4	17.17	19.74 ± 5.04
	MRT_{0-96} (h)	51.23	32.18	42.53	40.56	54.22	54.32	45.84 ± 8.91
	MRT_{0-168} (h)	53.782	34.271	60.207	42.422	57.764	59.12	51.26 ± 10.56
	$MRT_{0-\infty}$ (h)	54.38	34.539	61.462	45.134	61.149	60.257	52.82 ± 10.91
	FI	1.82	3.26	4.65	2.41	1.62	2.31	2.68 ± 1.12
	R	0.32	0.18	0.09	0.24	0.27	0.06	0.19 ± 0.10

表 4 单剂量多次服用受试药物达稳态前后相关参数分析表

Tab.4 Analysis of the relevant parameters of the drug before and after repeated administration in a single dose

参数 Parameter	结果 Results
C_{min}	$S = 9.5$ $P = 0.0625 > 0.05$
C_{max}	$S = 10.5$ $P = 0.0313 < 0.05^*$
AUC_{0-96}	$S = 9.5$ $P = 0.0625 > 0.05$
T_{max}	$S = -1.5$ $P = 0.2188 > 0.05$
MRT_{0-96}	$S = -6.5$ $P = 0.7813 > 0.05$

注: $P > 0.05$: 组间差别无显著统计意义, $P < 0.05$: 组间差别有显著意义, $P < 0.01$: 组间差别有极显著意义
Note. $P > 0.05$: no significant difference between the groups; $P < 0.05$: significant difference between the groups; $P < 0.01$: very significant difference between the groups

3 讨论

按照中国药典的有关规定,缓控释制剂需要进行单剂量实验和多剂量稳态实验,达稳态后进行血药浓度波动性研究,从而得出一些缓控释制剂的药代动力学参数。另外求算生物利用度时,用多剂量稳态时的 AUC 比单剂量的 AUC 更有价值。基于上述原因,很有必要进行缓控释制剂的多剂量给药药物动力学研究^[7]。

因此,本节对盐酸格拉司琼多次给药后的代谢进行了研究,研究结果表明,血浆中格拉司琼浓度

在多次给药后第 16 天到达稳态,体内存在一定的蓄积效应,参数结果提示,经皮给药的体内滞留时间显著延长,药效维持的时间延长,具有良好的缓释性,并且不用经过胃肠道代谢,提高了生物利用度,克服了口服给药的缺点。对于预防和放化疗引起的恶心呕吐的患者来说,使用盐酸格拉司琼透皮贴剂既可以维持持续平稳的血浆药物浓度达到较长时间药物疗效,又可以减少口服制剂所带来的呕吐等不良反应,显著提高药物的生物利用度。由多次给药研究可进一步证实盐酸格拉司琼贴剂是一种理想的制剂类型,并且使用方便,在临床应用中具有重要的意义。

参考文献:

[1] 曲中堂,袁若,柴雅琴,等. 高选择性 5-HT₃ 受体拮抗剂盐酸格拉司琼离子选择性电极的研制与含量测定 [J]. 重庆大学学报(自然科学报),2009, 38(8): 979-982.

[2] 笪红远,凌树森. 格拉司琼的研究进展 [J]. 中国临床药理学杂志,1999;15: 374-380.

[3] 陈新谦,金有豫.《新编药理学》,第十四版,人民卫生出版社,1997. 517.

[4] 陶欣,朱秀平,卓海通,等. 格拉司琼片剂人体生物利用度和药代动力学研究[J]. 中国临床药理学杂志,1999, 15(1): 45-47, 67.

[5] 章杰兵,周国华,古卓良,等. 盐酸格拉司琼注射剂临床疗效及其安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志,2001, 17(1): 31-35.

[6] 陈姗姗,孙莹莹,韦阳,等. HPLC-MS/MS 法测定 Beagle 犬血浆中盐酸格拉司琼的浓度 [J]. 药物分析杂志,2013, 33(4): 576-580.

[7] 杨星钢,聂淑芳,白海娇,等. 家犬单剂量和多剂量口服阿昔莫司缓释制剂的药代动力学和生物等效性研究 [J]. 药学报,2005, 40(5): 457-461.

[修回日期]2016-06-18