اندازه‌گیری مبودیپین در مایعات بیولوژیک با روش HPLC و کاربرد این دارو در مطالعه فارماکوکینتیک در موش صحرایی

دکتر شهاب بهلولی I
دکتر فریبرز کیهانفر II
دکتر سعید ضیایی III
***دکتر مسعود محمودیان** IV

چکیده

زمینه و هدف: داروی مبودیپین یک داروی کلسیم آنتاگونیست بوده با ساختمان ۱/٤ دی‌هیدروپیریدین می‌باشد که در درمان فشار خون می‌تواند موثر باشد. در این مطالعه یک روش HPLC برای اندازه‌گیری این ماده در سرم ابداع شده که برای مطالعه فارماکوکنیتک این دارو پس از تجویز خوراکی در موش صحرایی بزرگ به کار گرفته شده است.

روش بررسی: در این روش ۱cc از پلاسما و یا مایعات بیولوژیکی دیگر استاندارد داخلی(دیبودیپین) به ۰/۵cc سرم افزوده شد. مبودیپین و استاندارد داخلی در ۵cc اتیل استات استخراج گردیده و در جریان ازت خشک شد و باقی‌مانده آن در ۲۰۰µl فاز متحرک حل شد و ۲۰µl به دستگاه HPLC با ستون C18 و دتکتور UV تزریق گردید. فاز متحرک شامل متانول(۷۰٪)، آب(۲۵٪) و استونیتریل(۵٪) با سرعت ۱ml در دقیقه بود.

نتایج: نشان داده شد که در این روش این ۲ ماده به خوبی از یکدیگر جدا شده و پیک‌های مداخله‌گر با مواد داخلی سرم ندارد. منحنی استاندارد آن در دامنه ۱۰-۵۰۰ng/ml خطی بوده و قابلیت استخراج، بالای ۹۰٪ می‌باشد. این نتایج در مطالعه فارماکوکینتیک این دارو پس از تجویز خوراکی یا وریدی به موش صحرایی، مورد آزمایش قرار گرفت و دیده شد که اگر چه، جذب این دارو از طریق خوراکی کم‌تر از ۲٪ بود ولی دارو در بافت‌های مغز، قلب، کبد و کلیه به خوبی منتشر شده بود.

نتیجه‌گیری: روش HPLC گزارش شده روشی مناسب، راحت، ساده و حساس برای تعیین مقدار و مطالعات فارماکوکینتیک مبودیپین می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – مبودیپین ۲ – فارماکوکینتیک ۳ – اچ.پی.ال.سی ۴ – موش صحرایی

تاریخ دریافت: ۸۳/۳/٦، تاریخ پذیرش: ۸۳/۱۰/۲۷

مقدمه

داروی مبودیپین یک آنتاگونیست جدید کلسیم با ساختمان ۱/٤ دی‌هیدروپیریدین می‌باشد(تصویر شماره ۱). مطالعات قبلی نشان داده است که اثرات فارماکولوژیکی این ماده مشابه با نیفدیپین است، به عنوان مثال در عضله صاف مجرای ایلئوم خوکچه هندی مبودیپین باعث می‌شود که منحنی دوز اسپانس کلسیم به طرف راست انتقال یابد و از این نظر مبودیپین قوی‌تر از نیفدیپین عمل می‌نماید و نیز مبودیپین سبب شل شدن عضلات صاف جداره آئورت می‌شود که در این زمینه هم، قوی‌تر از نیفدیپین عمل می‌کند.(1) پس این دارو دارای خصوصیات بهتری می‌باشد و هم‌چنین نیمه عمر

I) استادیار گروه داروشناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.

II) دانشیار گروه داروشناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.

III) متخصص داروشناسی و پژوهش‌گر در شرکت داروسازی رازک.

IV) استاد گروه داروشناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.(*مولف مسؤول)

بیولوژیک آن بالاتر می‌باشد، در عضلات صاف جداره عروق پستانی در انسان پوتنسی آن بیش‌تر از نیفدیپین است و نسبت به آنتاگونیست‌های نسل اول کلسیم نیز نیفدیپین دارای Vaso-selectivity(۲) بیش‌تری بوده و دارای اثرات انتخابی برای عروق می‌باشد.(۲، ۱) هم‌چنین نشان داده شده است که این دارو قادر است جریان کلسیم را در نورونهای عصبی Helix aspersa مهار کند.(۳)

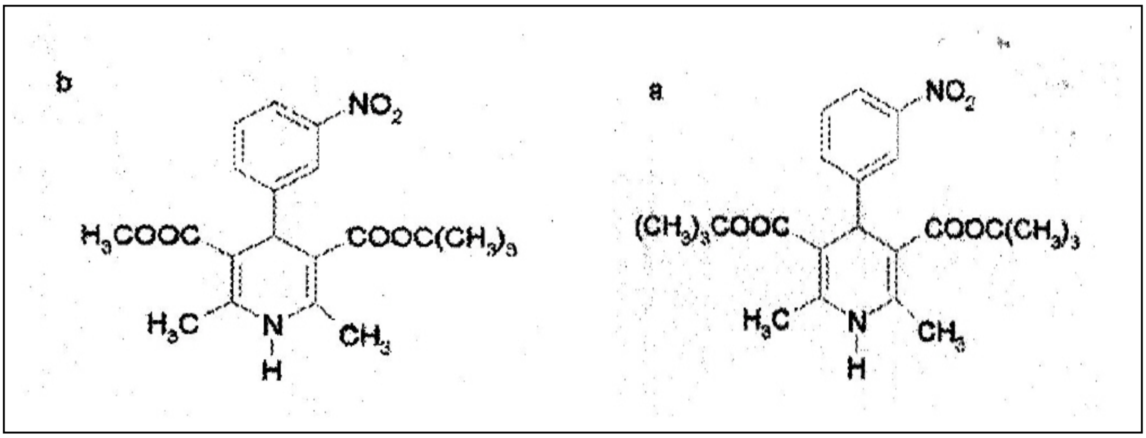
در این مطالعه یک روش HPLC برای اندازه‌گیری این ماده در سرم ابداع شده که برای مطالعه فارماکوکینتیک این دارو پس از تجویز خوراکی در موش صحرایی بزرگ به کار گرفته شده است.

روش بررسی

مبودیپین و دیبودیپین(به عنوان استاندارد داخلی تصویر شماره ۱) در آزمایشگاه ما بر طبق روش بیان شده قبلی(۱) سنتز شدند. متانول با درجه HPLC(از شرکت داروپخش) خریداری شد و سایر حلال‌ها مانند متانول و استونیتریل و اتیل‌استات از شرکت مرک(E.Mearck) خریده شدند. سایر معرف‌ها از درجه آنالیز یا بالاتر بوده‌اند.

سیستم HPLC شامل یک سیستم کروماتوگرافی HPLC واترز که مجهز به یک مدل کنترلر مدل ۶۰۰ و یک پمپ مدل ۶۰۰ و یک دکتکتور UV ٤٨٦ بود، ستون ODC نووا پک(٤/٦mm×۲۵۰mm و ٥µm) مجهز به یک ستون حفاظتی C18 واترز می‌باشد که در تمام آنالیزها به کار گرفته شده‌اند. فاز متحرک شامل متانول × آب و استونیتریل(۷۰، ۲۵و ۵) بود.

کروماتوگرافی در شرایط درجه حرارت آزمایشگاه انجام پذیرفت و سرعت فاز متحرک ۱ml/min بود و جذب مواد خارج شده در ۲۳۸nm اندازه‌گیری شد. محلول استاندارد در مطالعه حاضر، مبودیپین در متانول به میزان ۱mg/ml بود که در مقابل نور حفاظت گردید و تا وقت استفاده شدن در درجه حرارت -۲۰C° نگه‌داری شد. محلول‌های به میزان ۲ و ۲۰mg/ml با رقیق کردن محلول مادر در متانول تهیه گردید و میزان پایداری این محلول‌ها با محلول‌های تازه تهیه شده دارو، مقایسه شد.



تصویر شماره ۱- ساختمان a=Dibudipine و ساختمان b=Mebudipine

منحنی استاندارد پلاسما و سایر مواد بیولوژیکی با اضافه کردن مقادیر مشخص مبودیپین به سرم بلانک و آنالیز بعدی آن به کمک HPLC به دست آمد. نسبت‌های ارتفاع هر پیک نمونه به ارتفاع پیک استاندارد داخلی(دیپودیپین) محاسبه شده و براساس آن منحنی استاندارد تهیه شد. روش تهیه نمودن نمونه‌ها به این صورت بود که به یک میلی‌لیتر محلول پلاسما 10µl از محلول استاندارد داخلی دیبودیپین(به غلظت ۲۰µg/ml) و ۰/٥ml سود ۱m افزوده شده و مخلوط برای چند دقیقه بهم زده شد، سپس ٥µl اتیل استات به آن اضافه کرده و بر روی شیکر افقی به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. سپس این محلول در دور ۱۸۰۰۰g به مدت ۱۰

دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول آلی جدا کرده شد و به یک ظرف لوله تمیز منتقل شده و در زیر ازت در دمای ۴۰°C خشک شد، باقی مانده آن در ۲۰۰µl فاز متحرک حل شده و ۲۰µl از محلول نهایی به سیستم HPLC تزریق شد. استخراج جامد به روش‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت ولی نتایج به دست آمده به خاطر کمی قابلیت استخراج، قابل استفاده نیستند. علاوه بر آن حلال‌های آلی متفاوتی نیز مورد آزمایش قرار گرفتند و نشان داده شد که روش استخراج با اتیل استات بهتر است. این حلال حاوی کم‌ترین مواد داخلی که با روش HPLC تداخل کند بود و قابلیت استخراج توسط این روش براساس قابلیت آن برای استخراج مبودیپین(۴۰۰ng، ۲۰۰، ۵۰، ۱۰) که به ۱ml سرم اضافه شده بود و طبق روش گفته شده مورد استخراج قرار گرفت(n=۴) از مقایسه ارتفاع پیک مبودیپین با مقایسه آن با پیک مقدار دانسته شده درصد قابلیت استخراج به دست آمد. برای تعیین دقت و صحت بین روزی و درون روزی روش، به طریق زیر عمل شد.

نمونه‌ها از محلول SI۲۰µg/ml و مقادیر مشخص مبودیپین به ۱ml سرم اضافه شد و سپس از تعیین مقدار دقت و صحت روش در روزهای مختلف محاسبه شد.

درباره فارماکوکینتیک مبودیپین در موش صحرایی می‌توان گفت که غلظت مبودیپین و نمونه‌های پلاسمایی پس از تجویز یک دوز ۰/۵mg/kg از طریق وریدی و یا ۱۰mg/kg از طریق خوراکی به موش صحرایی خون‌گیری در دقایق مختلف و براساس مدل فارماکوکینتیکی زیر و متد اکسل به دست آمد: $C_t=A_e^{-\alpha t}+B_e^{-\beta t}$

برای تجویز خوراکی $AUC\text{-}\infty\text{-}T$ براساس مدل ذوزنقه‌ای محاسبه شد و بالاترین غلظت تجربی پلاسمایی G_{max} بود و زمان رسیدن به این $G_{max}=T_{max}$ بوده است(در ضمن فراهمی زیستی دارو F براساس فرمول زیر محاسبه گردید):

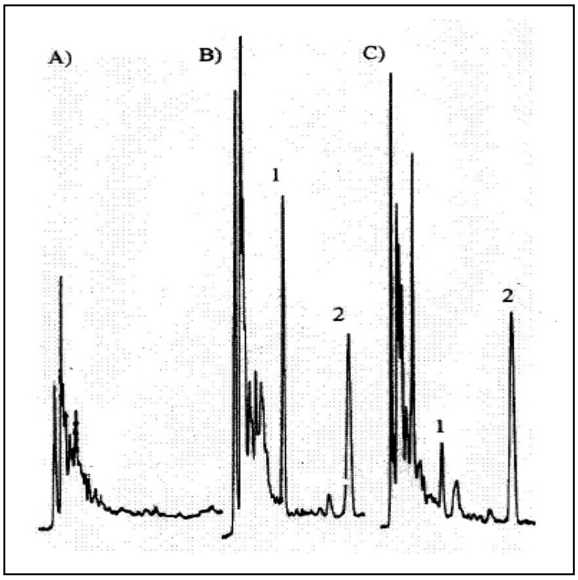
$F=AUC_{po}\times dose_{IV}/ACU_{IV}\times dose_{po})\times$۱۰۰

یافته‌ها

نتایج مربوط به روش تعیین مقدار نشان داد که استوبنزیل بهترین حلال برای دناتوره کردن پروتئین‌های پلاسمایی می‌باشد و روش‌های دیگر دناتوره کردن درصد استخراج دارو را کاهش می‌دهد.

در مطالعه حاضر از روش استخراج جامد برای استخراج مبودیپین استفاده شد ولی دیده شد که این متد قابل تکرار نبوده و قابلیت استخراج آن کم‌تر از ۵۰درصد بوده است. روش‌های مختلف استخراج با حلال‌های آلی مورد تجربه قرار گرفت و بهترین نتیجه وقتی به دست آمد که محلول مورد تجربه از ستون C18 عبور داده شد و توسط ٦ml بافر فسفات PH8 در ۳ مرحله ۲ml و سپس ۳ml استونیتریل شسته شد.

در این شرایط روش تعیین مقدار تکرار پذیر بوده ولی متاسفانه قابلیت استخراج هنوز کم‌تر از ٦۰درصد بوده ولی در روش استخراج با کمک حلال‌های آلی(اتیل استات) قابلیت استخراج بالاتری(بیشتر از ۹۰٪) داشت و کروماتوگرام‌های به دست آمده نسبتا" تمیز بود. نمونه یک کروماتوگرام پلاسمای بلانک وپلاسمای حاوی دارو و سرم که از مطالعات فارماکوکینتیک به دست آمده است، در نمودار شماره ۱ آورده شده است.



نمودار شماره ۱- کروماتوگرام تعیین مقدار مبودیپین در سرم موش صحرایی A) نمونه سرم بلانک، B) سرم بلانک که به آن ماده مبودیپین اضافه شده به میزان ۵۰ng/ml و ۲۰۰ng/ml استاندارد اضافه شده است. C) نمونه سرم پس از ۲۰ دقیقه از تزریق وریدی ۵۰۰ng/ml مبودیپین. پیک‌های ۱= مبودیپین و ۲= دیبودیپین می‌باشد.

زمان تاخیری مبودیپین و استاندارد داخلی تقریبا" ۱۵-۸ دقیقه بوده و زمان آنالیز HPLC حدود ۲۰ دقیقه بوده است در این روش پیک‌های مداخله‌گر در نمونه‌های بلانک سرم وجود نداشت. منحنی استاندارد مبودیپین در سرم در دامنه ng/ml ۵۰۰-۱۰ خطی بوده و معادله کالیبراسیون برابر: $Y=۰/۰۰۸_{۲}-۰/۰۰۲۲(۱^{۲}=۰/۹۹۸۹)$ بوده است. مبودیپین در غلظت های در حدng/ml ۱۰ قابلیت تعیین مقدار دارو و این حساسیت برای مطالعات فارماکوکینتیک کافی است. دقت روش بالای ۹۰درصد بوده و CV آن کم تر از ۱۰درصد می‌باشد(جدول شماره ۱).

اگر این محلول در مبودیپین در مقابل نور حفاظت شود، در حدود۳ ماه پایدار می‌ماند، ولی وقتی در درجه حرارت آزمایشگاهی نگه‌داری شود به مدت ۲ هفته پایدار است. پیک‌هایی که مربوط به تجزیه دارو بود در کروماتوگرافی دیده شد. نشان داده شد که غلظت میانگین دارو در پلاسما حدود ng/ml ۱۶ در۵ دقیقه بعد از تجویز وریدی آن بود و این غلظت به صورت bieprontial تا ng/ml ۲۹، ۴ ساعت بعد نزول می‌کرد. نیمه عمر نهایی آن(t ½ β) برابر با ۲/۸۴ ساعت بود(نمودار شماره ۲)و(جدول شماره ۱).

AUC و حجم انتشار آن در مرحله تعادل برابر با h/kg ۱/۶۷۱ و kg ۶/۲۶۱ بود. همانطوری که در نمودار شماره ۳ و جدول شماره ۲ نشان داده شده است پس از تجویز خوراکی به میزان ۱۰mg/kg غلظت پلاسمایی مبودیپین تغییر نکرد و در موش‌های صحرایی مختلف به میزان ۱۰/۴۴ و ۲۳ng/ml در زمان‌های ۱۲۰، ۳۰، ۱۰ دقیقه به حداکثر رسید. نیمه عمر نهایی مبودیپین برابر با t ½ β = ۱/۷۸ ساعت بود. انتشار مبودیپین در بافت‌های مختلف در نمودار شماره ۴ آورده شده است. مطالعات نشان داده‌اند که کلیه حاوی بالاترین میزان مبودیپین بر حسب گرم ـ بافت بوده است.

جدول شماره ۱– پارامترهای فارماکوکینیتیک پس از تجویز وریدی ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مبودیپین در موش صحرایی

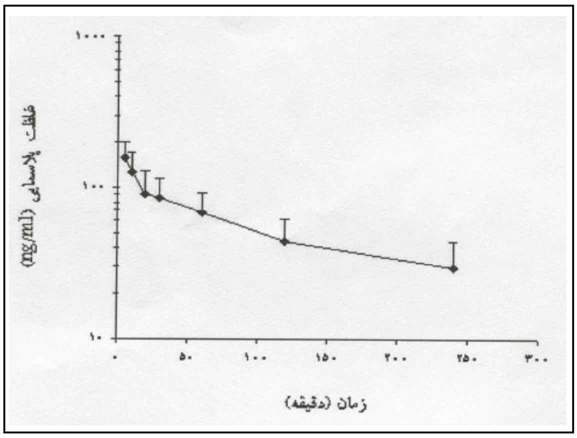
حیوان	$AUC_{0-\infty}$(ng.hr/ml)	AUC_{0-4} (ng.hr/ml)	Ke	$T_{1/2}$(h)	CI_T(l/h/kg)	V_{ss}(l/kg)
موش صحرایی یک	۵۷۷/۱۶	۳۲۶/۹۷	۰/۰۲	۳/۳۶۸	۰/۸۶۶۵	۴/۰۰
موش صحرایی دو	۲۵۵/۳۸	۱۹۸/۵۱۱	۰/۳۵	۱/۹۶	۱/۹۵۸	۵/۵۴
موش صحرایی سه	۲۳۳/۲۹	۱۸۳/۹۹	۰/۳۸	۱/۸۱۳	۲/۱۴	۵/۸
موش صحرایی چهار	۲۹۲	۱۳۷	۰/۲۴	۲/۸۴۳	۱/۷۱	۹/۷۱
خطای استاندارد±میانگین	۳۳۹±۳۴	۲۱۱±۱۷	۰/۰۴۲±۰/۳۰	۲/۸۴±۰/۲۵	۱/۶۷±۰/۱۲۲۱	۶/۲۶±۰/۵۲

دارو به صورت محلول ۶۰ درصد PEG 400 تجویز شده است.

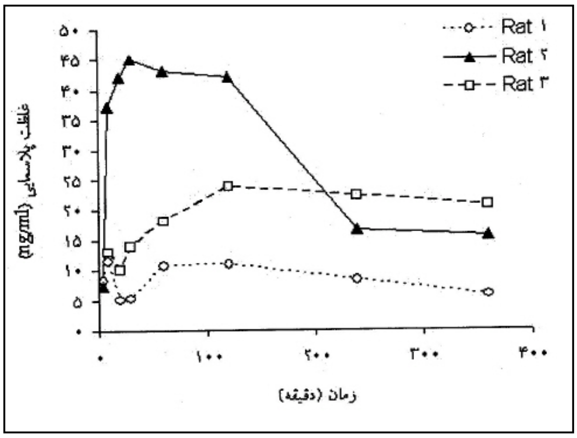
جدول شماره ۲– پارامترهای فارماکوکینیتیک بعد از تجویز خوراکی ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مبودیپین در موش صحرایی

حیوان	F(%)	CL(l/h/kg)	Ke	$T_{1/2}$(h)	ACU_{0-6}	$ACU_{0-\infty}$	C_{max}(ng/ml)	T_{max}(min)
موش صحرایی یک	۰/۸	۱۳۵	۰/۴۳	۱/۵۹	۵۰	۵۴	۱۰/۶۵	۱۰
موش صحرایی دو	۲/۶	۴۴	۰/۳۵	۱/۷۶	۱۷۱	۱۷۴	۴۴/۱۹	۳۰
موش صحرایی سه	۱/۹	۱۵	۰/۳۳	۱/۹۹	۱۲۱	۱۲۹	۲۳/۰۰	۱۲۰
خطای استاندارد	۱/۸	۶/۶۴	۰/۳۷	۱/۷۸	۱۱۴	۱۱۹	۲۵/۹۰	۵۳
میانگین	۰/۴۲۵	۳۶/۱۲	۰/۰۳	۰/۱۱	۳۵	۳۵	۹/۷۹	۳۴

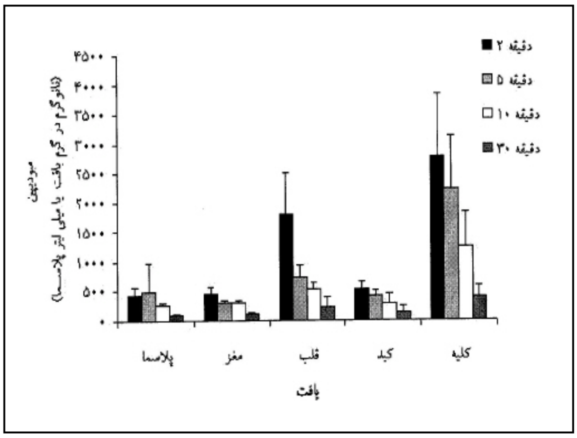
دارو به صورت محلول ۶۰ درصد PEG400 بعد از یک شب بدون غذا



نمودار شماره ۲– میانگین غلظت پلاسمای مبودیپین بعد از تجویز وریدی به میزان ۰/۵ng/kg در موش صحرایی بزرگ، هر نقطه میانگین چهار موش صحرایی می‌باشد.



نمودار شماره ۳– غلظت پلاسمائی مبودیپین در موش صحرایی بعد از تجویز خوراکی ۱۰ng/kg در محلول PEG۴۰۰



نمودار شماره ۴– میانگین غلظت مبودیپین در پلاسما، مغز، قلب، جگر و کلیه موش صحرایی بزرگ بعد از ٤، ٥، ١٠و ٣٠ دقیقه بعد از تجویز ۰/۵mg/kg به حداقل ٤ موش صحرایی بزرگ

بحث

روش HPLC گزارش شده، روش مناسبی برای تعیین مقدار و مطالعات فارماکوکینتیک مبودیپین می‌باشد. این روش راحت ـ ساده و حساس است. براساس این روش نشان داده شد که نیمه عمر مبودیپین بعد از تجویز ۲/۸٤ ساعت بوده است و طولانی‌تر از نیمه عمر سایر دی‌هیدروپیریدین‌ها مانند نیکادیپین(۰/۱ ساعت)، نیفدیپین (۰/۵ ساعت)، نیزلودیپین(۰/٤ ساعت)، نیترودیپین(۱/۳ ساعت)، فلودیپین(۱/۵ ساعت) و نیوادیپین(۱/۳ ساعت) بوده است.(۵)

کلیرانس مبودیپین (۱/٦٧l/h/kg) آهسته‌تر از جریان خون کبدی موش صحرایی بوده است(٤) همانطور که کلیرانس سیستمیک اغلب دی‌هیدروپیریدین‌ها بیش‌تر از گردش خون کبدی است.(۵) نیوادیپین مثل نیفدیپین(۵) نیزلودیپین(٦) و نیترودیپین(۷) فلودیپین(۵) نیوادیپین(۸) داکسی‌دیپین(۹) سیستم کلیرانس بیش‌تری از مبودیپین بعد از تجویز وریدی دارند ولی به هر حال چنانچه کلیرانس ۱/٦٧ 1.h.kg در نظر گرفته شود کلیرانس مبودیپین نسبتا" بالا بوده و به نظر می‌رسد که علت اصلی برای طولانی‌تر بودن نیمه عمر مبودیپین انتشار وسیع آن بوده است(1/kg ٦/۲).

نتایج غلظت پلاسمایی بعد از تجویز وریدی نشان داده است که مدل کینتیکی ۲ مرحله‌ای برای این دارو وجود داشته است و غلظت پلاسمایی اغلب دی‌هیدروپیریدین‌ها به صورت ۲ مرحله‌ای و ۳ مرحله‌ای بوده است.(۵، ۷و ۸) در نتیجه چنین به نظر می‌رسد که مبودیپین از نظر فارماکوکینتیکی مشابه با دی‌هیدروپیریدین‌های نسل سوم بوده است.

حجم توزیع ظاهر مبودیپین 1/kg ٦/۲ بوده و نشان می‌دهد که مبودیپین بطور وسیعی در بافت‌های مختلف منتشر می‌شود و از این نظر مشابه با آمیلودیپین می‌باشد.(۱۰) از مشاهده کردن نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۲ چنین به نظر می‌رسد که الگوی غلظت در زمان آن، بعد از تجویز خوراکی به شدت در حیوانات مختلف متفاوت بوده است.

متوسط فراهمی زیستی خوراکی مبودیپین برابر با ۱/۷۷٪ بوده و از این نظر مشابه نیوادیپین(۴/۳٪)(۲-۱۱) با، نیفدیپین (۱۸-۱۱٪)(۵)، نیزودیپین (۱۱٪)(۷)، نیزولودیپین(۳/۴٪) و نیفدیپین(۳/۱٪)(۱۱) بوده است.

با توجه به جذب نسبتا" کامل دی‌هیدروپیریدین‌ها از دستگاه گوارش متابولیسم در اثر عبور اولیه به علت اصلی کم بودن فراهمی زیستی این داروها مانند نیزولودیپین، فودیپین و تیوادیپین بوده است(۹) به نظر می‌رسد که مبودیپین از این نظر شبیه سایر داروهای دی‌هیدروپیریدین بوده و متابولیسم در نتیجه عبور اولیه مسئول کم شدن فراهمی زیستی آ ن بوده است.

نسبت سطح مبودیپین در مغز، قلب، کبد و کلیه به نسبت پلاسما در زمان‌های مختلف(۱۰ و۵ و۲ دقیقه) به طور تقریبی، ثابت بوده است و به نظر می‌رسد که این بافت‌ها در جزء اصلی بدن قرار داشته باشد.

باید متذکر شد پژوهش انجام شده در موش صحرایی بوده است و نتایج تجویز آن در انسان باید به طور جداگانه مطالعه شود.

نتیجه‌گیری

مطالعات ما نشان می‌دهد که روشهای HPLC می‌تواند روشی راحت، ساده و حساس برای تعیین مقدار و مطالعات فارماکوکینتیک داروی مبودیپین پس از تجویز خوراکی ایجاد نماید.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۴۰۹) انجام گردیده است و نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسوولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

منابع

1- Mahmoudian M, Mirkhani H, Nehardani Z, Ghiaee S. Synthesis and biological activity of two new calcium-channel blockers, mebudipine and dibudipine. J Pharm Pharmacol 1997; 49: 1229.

2- Mirkhani H, Omani G.R, Ghiaee S, Mahmoudian M. Effect of mebudipine and dibudipine, two new calcium channel blockers, on rat left atrium, rat blood pressure and human internal mammary artery. J Pharm Pharmacol 1999; 617: 617.

3- Faizi M, Janahmadi M, Mahmoudian M. The effect of mebudipine and dibudipine two new Ca2- channel blockers, in comparison with nifedipine on Ca2+spikes of F1 neuronal soma memorane in helix aspersa. Acta physiol Hung 2003; 90: 243-254.

4- Grundy JS, Ehot LA, Foster RT. Extrahepatic first-pass metabolism of nifedipine in the rat.Biopharm Drug Dispos 1997; 18: 509.

5- Teramura T, Watanabe T, Hizuchi S, Hashimoto K. Pharmacokinetics of barnidipine hydrochloride, a new dihydropyridine calcium blocker, in the rat, dog and human Xenobiotica 1995; 25: 1237.

6- Ahr HJ, Krause HP, Siefert HM, Suwelack D, Weber H. Pharmacokinetics of nisoldipine. I. Absorption, Concentration in plasma, and excretion after single administration of [14C] nisoldipine in rats, dogs, monkey, and swine. Arcneimittelforschung 1988; 38: 1093.

7- Krause HP, Ahr Hj, Beermann D.Siefert HM, Suwelack D, Weber H. The Pharmacokinetics of nitrendipine J. Absorption, plasma concentrations, and excretion after single administration of [14C] nitrendipine to rats and dogs. Arzenimittelforsclung 1988; 38:1593.

8- Tokuma Y, Sekiguchi M, Niwa T, Noguchi H. Pharmacokinetics of nilvadipine, a new dihydropyidine calcium antagonist, in mice rats, rabbits and dogs. Xenobiotica 1988; 8: 21.

9- Pellegatti M, Crossi P, Ayrton J, Evans GL, Harker AJ. Absorption, distribution and excretion of lacidipine, a dihydropyridine calcium antagonist, in rat and dog. Xenobiotion 1990; 20: 765.

10- Stopher DA, Beresford AP, Macrae PV, Humphrey MJ. The metabolism and pharmacokinetics of amlodipine in human and animals. Cardoivas pharmacol 1988;12: 555.

11- Tokuma Y, Fujiwara T, Noguchi H. Absorption, distribution and excretion of milvadipine, a new dihydropyridine calcium antagonist, in rats and dogs. Xenoniotica 1987; 17: 1341.

An HPLC Method for Determination of Mebudipine in Biological Fluids in Rats and its Application in Pharmacokinetic Study

Sh. Bohlooli, Ph.D.[I] **F. Keyhanfar, Ph.D.**[II] **S. Ziaee, Ph.D.**[III]
***M. Mahmoudian, Ph.D.**[IV]

Abstract

Background & Aim: Mebudipine is a calcium antagonist drug which is used to treat blood pressure. A new high performance liquid chromatography(HPLC) system for the determination of a new 1, 4-dihydropyridine, mebudipine, in rat plasma and other biological fluids was developed in this study for the first time.

Materials & Methods: To 1 ml of rat plasma and/or other biological fluids, 0.5 ml of internal standard(dibudipine) and 0.5 ml of 1 M NaOH was added. Mebudipine and internal standard were extracted to 5 ml ethyl acetate, evaporated under slow stream of nitrogen. The residue was reconstituted in 200μl mobile phase and 20μl of aliquots was injected into a HPLC system equipped with 4.6×250mm i.d.C18 analytical column. Mobile phase consisted of methanol(70%), water(25%) and acetonitril(5%) and its flow rate was 1 ml/min.

Results: There were no interfering peaks from endogenous components in blank plasma chromatograms. Standard curves were linear(r(2)>0.99) over 10 to 500ng/ml. The extraction efficiency was above 90% and the minimum quantifiable concentration was 10ng/ml(CV<10%) which reveals that it is a suitable, convenient and simple HPLC assay for pharmacokinetic study of mebudipine in rat.

Conclusion: By using this method, it was found out that while the oral bioavailability of mebudipine was low(<2%), it had a marked first-pass effect. The distribution of mebudipine into some tissues such as brain, heart, liver and kidney following intravenous administration(0.5 mg/kg) was studied and a rapid distribution of mebudipine into these tissues was found. It was concluded that brain, heart, liver and kidney are in the same compartment as plasma(central).

Key Words: 1) Mebudipine 2) Pharmacokinetics 3) HPLC 4) Rat

I) *Assistant Professor of Pharmacology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
II) *Associate Professor of Pharmacology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
III) *Pharmacologist. Razak Pharmaceutical Company.*
IV) *Professor of Pharmacology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*