

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00994

坎地沙坦酯的大鼠在体肠吸收研究

Intestinal absorption of Candesartan cilexetil in rats

张晶¹, 薛亮²

1. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433

2. 上海市精神卫生中心, 上海 200030

[摘要] 目的: 考察坎地沙坦酯的大鼠在体肠吸收的情况。方法: 采用大鼠在体单向灌流实验装置, 分别考察坎地沙坦酯在大鼠不同肠段、不同浓度的坎地沙坦酯在大鼠空肠段以及坎地沙坦酯与其他药物共同作用在空肠段的吸收情况。结果: 坎地沙坦酯在小肠各肠段(十二指肠、空肠、回肠)的吸收无显著性差异, 在小肠内无明显的特定吸收部位。坎地沙坦酯的药物浓度改变对小肠吸收存在显著性差异; 6种药物(环孢素, 维拉帕米, 乳酸, 氢氯噻嗪, 非诺贝特, 硝苯地平)分别与坎地沙坦酯合用对坎地沙坦酯在小肠中的吸收无显著性影响。结论: 坎地沙坦酯的小肠吸收不因为肠段不同而有区别; 药物浓度对于坎地沙坦酯吸收影响较大; 环孢素等药物对坎地沙坦酯的吸收无影响。

[关键词] 坎地沙坦酯; 在体单向灌流; 肠吸收

[中图分类号] R 969 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)08-0994-03

坎地沙坦(candesartan)是一种血管紧张素 II AT1 受体拮抗剂, 通过与血管平滑肌上 AT1 受体结合而拮抗血管紧张素 II 的血管收缩作用, 从而降低末梢血管阻力。同时, 坎地沙坦也可通过抑制肾上腺分泌醛固酮而发挥一定的降压作用^[1]。坎地沙坦口服不易吸收。坎地沙坦酯(candesartan cilexetil)是坎地沙坦的前体药物, 口服后可以完全水解为活性药物坎地沙坦而发挥药效。目前, 坎地沙坦酯在体内吸收情况尚未见报道。为进一步探讨该药物的吸收机制, 本研究参考有关文献^[2-4], 采用在体小肠单向灌流装置, 对坎地沙坦酯在大鼠小肠中的吸收情况进行了研究。

1 材料和方法

1.1 仪器、试剂和动物 坎地沙坦酯(天津武田制药公司); Krebs-Ringer 营养液(简称 K 试液, pH=7.4), 含氯化钠 7.8 g, 氯化钾 0.35 g, 碳酸氢钠 1.37 g, 氯化镁 0.02 g, 磷酸二氢钠 0.22 g, 葡萄糖 1.48 g, 氯化钙 0.37 g(氯化钙单独溶解至澄清)加水至 1 000 ml; 磷酸二氢钾(上海恒信化学试剂有限公司); 乙腈(TEDIA)。Agilent 1100 高效液相色谱仪, 含四元泵、柱温箱及荧光检测器(美国 Agilent 公司); 涡旋混合器(上海医科大学仪器厂); 电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂); 恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司, BTOO-300M); 天平(Deltarange, Mettler AE260)。SD 大鼠, 雄性, 体质量(200±20) g, 购自第二军医大学实验动物中心。

1.2 坎地沙坦的高效液相-荧光检测测定

1.2.1 色谱条件 色谱柱: YMC-ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 10 mmol/L 磷酸二氢钾溶液(磷酸调 pH 为 3.0): 乙腈 = 40:60(V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波

长: ex 270 nm, em 390 nm。柱温: 30℃; 进样量: 20 μl。在本试验的色谱分离条件下, 坎地沙坦的保留时间约为 3.3 min, 其典型图谱见图 1。

图 1 坎地沙坦的高效液相-荧光检测色谱图

A: 空白肠溶液; B: 空白肠溶液加坎地沙坦

1.2.2 灌流小肠液中坎地沙坦的标准曲线 精密称取坎地沙坦标准品 5.1 mg, 以流动相配成浓度为 500 μg/ml 的标准品母液。将标准品母液进行稀释, 配成浓度分别为 2.5、5、10、25、50 μg/ml 的标准品溶液, 依照 1.2.1 项下的色谱条件测定, 以峰面积 A 对浓度 C 进行回归, 得到坎地沙坦标准曲线 $A = 361.06 C + 19.546 (r = 0.9997)$ 。

1.2.3 精密度测定 分别配制高、中、低浓度(5.0、1.0、0.1 μg/ml)的标准品样品各 5 份, 于 1 d 内不同时间进行 HPLC 分析, 计算日内精密度。连续测定 3 d, 计算日间精密度。高、中、低浓度的日内精密度 RSD 值分别为 1.04%、1.15%、2.39%(n=5), 日间精密度 RSD 值分别为 3.96%、2.80%、2.39%(n=5), 符合含量测定要求。

[收稿日期] 2008-04-15 **[接受日期]** 2008-07-01

[作者简介] 张晶, 药师. E-mail: zz0158503@yahoo.com.cn

1.2.4 回收率测定 分别配制高、中、低浓度(5.0、1.0、0.1 $\mu\text{g/ml}$)的坎地沙坦标准品溶液,按1.2.1项下方法进行HPLC测定。将药物的峰面积代入标准曲线的方程中,计算方法回收率。结果方法回收率为98%~110%,符合含量测定要求。

1.3 大鼠在体肠单向灌流研究^[5-6] 取禁食不禁水16 h的大鼠,腹腔注射20%乌拉坦麻醉(剂量0.65 ml/100 g),固定并维持体温。沿腹中线打开腹腔,分离待考察肠段10~20 cm,于两端切口。各肠段区间如下:十二指肠段自幽门1 cm处开始,空肠段离幽门15 cm处开始,回肠段离盲肠上行20 cm处开始。

先于上端接入插管(进、出液口插入深度均约3 cm),结扎,用预热至37℃的生理盐水冲洗至净,排空气。再于下端插管后结扎,实验前用供试液将管道冲洗至出液口药物浓度与供试液浓度相同,以消除试验过程中管路对药物吸附的影响。伤口处用浸有生理盐水的脱脂棉覆盖保湿,灯照下保温。

进口处用已知质量的装有供试液的小瓶以一定流速进行灌流,在出液口用另一已知质量的小瓶收集,每隔10 min迅速更换一次供试液小瓶和收集液小瓶,称质量,计算灌入和收集的供试液质量。实验结束后处死大鼠,剪下被考察的肠段,测量其长度 l 和宽度 $d(d=\pi r, r$ 为半径),采用质量法按下式计算药物吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})。 K_a 和 P_{app} 为最后4个时间段的平均值^[7-8]。

$$K_a = (1 - C_{out}Q_{out} / C_{in}Q_{in}) v / V_{小瓶}$$

$$P_{app} = -v \ln(C_{out}Q_{out} / C_{in}Q_{in}) / 2\pi r l$$

上式中: Q_{in} 和 Q_{out} 分别为灌入和收集的供试液体积(ml,假定供试液密度为1.0 g/ml,根据测得质量计算体积); C_{in} 和 C_{out} 分别为进口和出口处缓冲液中的药物浓度($\mu\text{g/ml}$); v 为灌流速度(0.2~0.3 ml/min); $V_{小瓶}$ 为灌流肠段的体积(cm^3); l 为灌流肠段的长度, r 为灌流肠段的横截面半径。

1.4 统计学处理 采用SPSS 10.0软件对所得的 K_a 和 P_{app} 结果进行单因素方差分析,判断因素对实验结果影响的显著性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 坎地沙坦酯在大鼠不同肠段的吸收分析 用25 $\mu\text{g/ml}$ 的坎地沙坦酯溶液分别对十二指肠、空肠、回肠作在体肠单向灌流实验,结果 K_a 分别为(0.005 272 \pm 0.000 981)、(0.013 233 \pm 0.004 297)、(0.011 000 \pm 0.004 084) min^{-1} , P_{app} 分别为(0.000 467 \pm 0.000 093)、(0.001 337 \pm 0.000 416)、(0.001 102 \pm 0.000 078) cm/min 。结果表明,坎地沙坦酯在小肠各肠段中(十二指肠、空肠、回肠)的吸收无明显差异($P > 0.05$),在小肠内无明显特定吸收部位。

2.2 不同浓度的坎地沙坦酯在大鼠小肠中的吸收分析 分别选取坎地沙坦酯5、1、0.2 $\mu\text{g/ml}$ 作在体肠单向灌流实验,结果 K_a 分别为(0.010 617 \pm 0.003 463)、(0.033 389 \pm 0.007 569)、(0.013 509 \pm 0.000 644) min^{-1} , P_{app} 分别为(0.001 098 \pm 0.000 264)、(0.002 825 \pm 0.000 632)、

(0.001 116 \pm 0.000 036) cm/min 。浓度为1 $\mu\text{g/ml}$ 的坎地沙坦酯溶液具有最好的吸收($P < 0.05$)。因此,肠吸收时坎地沙坦酯药物浓度的改变对小肠吸收存在显著影响,可能存在小肠吸收的最佳浓度。

2.3 坎地沙坦酯与其他药物共同作用的分析 将1 $\mu\text{g/ml}$ 的坎地沙坦酯分别与其他6种药物(2 $\mu\text{mol/L}$ 环孢素,2 $\mu\text{mol/L}$ 维拉帕米,20 $\mu\text{mol/L}$ 乳酸,1 $\mu\text{g/ml}$ 氢氯噻嗪,1 $\mu\text{g/ml}$ 非诺贝特,10 $\mu\text{mol/L}$ 硝苯地平)混合作为待测样品,6种药物对坎地沙坦酯的含量测定不存在干扰。以1 $\mu\text{g/ml}$ 的坎地沙坦酯药液作为对照,采用空肠段进行实验分析,坎地沙坦酯空肠吸收的 K_a 值为(0.015 837 \pm 0.003 635) min^{-1} , P_{app} 值为(0.001 118 \pm 0.000 282) cm/min ,这6种药物与坎地沙坦酯合用,对空肠中坎地沙坦的吸收没有显著影响。

3 讨论

本研究采用在体单向灌流技术,应用质量法进行测定,相对于原来国内大多采用的在体循环灌流技术,运用酚红等内标法计算具有较大优势。本方法只需检测药物的浓度,而无需对标示物进行检测,从而大大减少了实验工作量。另一方面采用在体单向灌流技术,应用质量法计算能更直接地反映肠道的实际吸收情况,从而提高了 K_a 和 P_{app} 值的准确度,减小了实验误差。

实验结果表明不同浓度的坎地沙坦酯在大鼠小肠中吸收情况存在显著性差异。低、中、高浓度中以1 $\mu\text{g/ml}$ 的坎地沙坦酯溶液吸收最好,那么很有可能在0.2~5 $\mu\text{g/ml}$ 这个范围内对于小肠吸收存在最佳浓度,而且很有可能在1 $\mu\text{g/ml}$ 附近(由人的小肠吸收数据折算至大鼠估算)。

环孢素与维拉帕米是2种常见的P糖蛋白抑制剂,它们与其他药物联用常能促进其他药物吸收。但本研究结果发现,与单一用坎地沙坦酯来比,这两种药物分别与坎地沙坦酯联用并没有影响坎地沙坦酯的吸收。

[参考文献]

- [1] Ripley T L, Chonlahan J S, Germany R E. Candesartan in heart failure[J]. Clin Interv Aging, 2006, 1: 357-366.
- [2] Reed R, Kolz C, Potter B, Rocic P. The mechanistic basis for the disparate effects of angiotensin II on coronary collateral growth[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28: 61-67.
- [3] 聂淑芳, 潘卫三, 杨星钢, 刘宏飞, 刘志东. 对大鼠在体肠单向灌流技术中的重量法的评价[J]. 中国新药杂志, 2005, 14: 1176-1179.
- [4] 马维娟, 胡乃中, 许建明, 梅俏, 徐新华. 法莫替丁大鼠肠吸收动力学的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2006, 41: 164-166.
- [5] 冯亮, 蒋学华, 周静, 杨俊毅. 三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g1} 的大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41: 1097-1102.
- [6] Gao Y, He L, Katsumi H, Sakane T, Fujita T, Yamamoto A. Improvement of intestinal absorption of insulin and water-soluble macromolecular compounds by chitosan oligomers in rats[J]. Int J Pharm, 2008, 359(1-2): 70-78.
- [7] Shah P, Jogani V, Mishra P, Mishra A K, Bagchi T, Misra A.

- Modulation of ganciclovir intestinal absorption in presence of absorption enhancers[J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96: 2710-2722.
- [8] Chen I J, Taneja R, Yin D, Seo P R, Young D, MacKerell A D Jr, et al. Chemical substituent effect on pyridine permeability and mechanistic insight from computational molecular descriptors[J]. *Mol Pharm*, 2006, 3: 745-755.
- [本文编辑] 尹 茶