

格列吡嗪和格列本脲对氯沙坦药动学的影响

林淑¹, 潘佩佩², 胡国新^{3*} (1.温州医科大学附属第二医院药学部, 浙江 温州 325000; 2.台州市中心医院药剂科, 浙江 台州 318000; 3.温州医科大学药理教研室, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 研究格列吡嗪和格列本脲对氯沙坦在大鼠体内药动学的影响。方法 将 15 只大鼠随机分成对照组、格列吡嗪组和格列本脲组, 分别灌胃给予 0.5% CMC、10 mg·kg⁻¹ 格列吡嗪和 10 mg·kg⁻¹ 格列本脲, 0.5 h 后灌胃给予 5 mg·kg⁻¹ 氯沙坦钾, 经尾静脉予不同时间点采集血样, 采用 HPLC 测定血样中氯沙坦及其代谢产物 E-3174 的浓度。采用 DAS 计算各组主要的药动学参数, 并进行统计学分析。结果 合用格列吡嗪后, 氯沙坦和 E-3174 的 AUC、MRT 和峰浓度均明显增加, 氯沙坦的清除率减小; 合用格列本脲后, 氯沙坦的达峰时间提前, E-3174 的 MRT 延长。结论 与同剂量的格列本脲相比, 格列吡嗪对氯沙坦及其代谢产物在大鼠体内的药动学影响较大。临床上合用氯沙坦和格列吡嗪时, 应注意潜在的药物相互作用所致的药物不良反应。

关键词: 氯沙坦; 格列吡嗪; 格列本脲; 药动学

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)01-0085-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.01.020

Effect of Glipizide and Glibenclamide on the Pharmacokinetics of Losartan

LIN Shu¹, PAN Peipei², HU Guoxin^{3*} (1.Department of Pharmacy, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China; 2.Department of Pharmacy, Taizhou Central Hospital, Taizhou 318000, China; 3.Department of Pharmacology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of glipizide and glibenclamide on the pharmacokinetics of losartan in rats. **METHODS** Fifteen rats were randomly divided into 3 groups(control group, glipizide group and glibenclamide group) and administrated orally with 0.5%CMC, 10 mg·kg⁻¹ glipizide and 10 mg·kg⁻¹ glibenclamide, respectively. The 5 mg·kg⁻¹ losartan potassium was administrated orally to the rats 0.5 h later and blood samples were collected via tail vein at different time point, which were further processed and analyzed for the concentration of losartan and E-3174 by HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS, followed by statistical analysis. **RESULTS** When co-administrated with glipizide, the AUC, MRT and C_{max} of losartan and E-3174 were significantly increased and the clearance of losartan was significantly decreased; when co-administrated with glibenclamide, only the T_{max} of losartan and MRT of E-3174 were altered. **CONCLUSION** Glipizide significantly affected the pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in rats. In clinic, when these two drugs are co-administrated, drug adverse reaction of losartan induced by drug-drug interaction should be paid attention to.

KEY WORDS: losartan; glipizide; glibenclamide; pharmacokinetics

研究表明^[1], 糖尿病的发生和原发性高血压有一定的关联性, 而且糖尿病和高血压患者更倾向于患动脉粥样硬化等血管疾病。慢性病患者往往罹患 2 种或 2 种以上疾病, 且用药也常有 2 种或 2 种以上药物的联用, 其中不乏对其他药物的药动学和药效学有影响的药物^[2]。因此, 在治疗过程中, 根据治疗的效果和是否有不良反应等, 通过对药物的剂量调整来优化治疗方案是非常有必要的。

磺酰脲类降糖药是应用最早、品种最多、临床应用也最广泛的口服降糖药。格列吡嗪和格列本脲均属于第 2 代磺酰脲类降糖药。格列吡嗪在

体内主要经由 CYP2C9 代谢^[3], 而 CYP2C9 也是格列本脲在体内的主要代谢酶之一^[4]。氯沙坦是第一个应用于临床的血管紧张素 II 受体拮抗剂, 主要用于慢性高血压的治疗。氯沙坦口服吸收良好, 在人体内主要经过 CYP2C9 代谢生成有药理活性的 5-羧基化代谢物 E-3174^[5]。

体外研究表明, 2 种 CYP2C9 底物共孵育时存在竞争性抑制作用^[6-7]。氯沙坦与格列吡嗪、格列本脲有合用指证, 且氯沙坦与格列吡嗪、格列本脲在体内均通过 CYP2C9 这一代谢途径, 故这 2 种药物在代谢上有药物相互作用的可能, 进而会

基金项目: 卫生行业科研专项项目(201302008)

作者简介: 林淑, 女, 药师 Tel: (0577)88002863
E-mail: hgx@wmu.edu.cn

E-mail: 45738687@qq.com

*通信作者: 胡国新, 男, 教授

Tel: (0577)86689710

影响药物在体内的药动学和药效学。本研究探讨了2种常用的第2代磺酰脲类降糖药——格列吡嗪和格列本脲对氯沙坦药动学的影响,为临床合理用药提供理论依据。

1 仪器与试剂

Waters 2695 系列高效液相色谱仪和 2487 紫外检测器(美国 Waters 公司);DN-12W 氮气吹干仪(上海比朗仪器有限公司);TG1650-WS 台式高速离心机(湖南赛特湘仪离心机有限公司);Ae200 电子分析天平(梅特勒-托利仪器有限公司)。

乙酸乙酯(色谱纯,天津市四友生物医学技术有限公司);甲醇(色谱纯,美国 TEDIA);乙腈(色谱纯,美国 TEDIA);盐酸(分析纯;兰溪市六洞山化工试剂厂);E-3174(批号:E2413,圣克鲁斯生物技术公司);氯沙坦钾(批号:100597-201201)、内标卡马西平(批号:100142-201105)、格列吡嗪(批号:100281-201002)和格列本脲(批号:100135-201104)均购自中国药品生物制品检定所。

15 只 SD 大鼠,♂,体质量为 200~250 g,由浙江省医学科学院提供,动物质量合格证号:SCXK(浙)2014-0001。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 Phenomenex Luna-C₁₈ 键合硅胶柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱。流动相为水-乙腈-0.1%三氟乙酸,梯度洗脱程序如下:0~6 min, 50:35:15;6~10 min, 50:35:15→20:65:15;10~12 min, 20:65:15。流速为 1.0 mL·min⁻¹。采用紫外检测器,波长为 230 nm。在以上色谱条件下,内标卡马西平、氯沙坦和 E-3174 的出峰时间分别为 6.69, 7.98, 11.13 min,血浆中的杂质对样品的测定无干扰,结果见图 1。

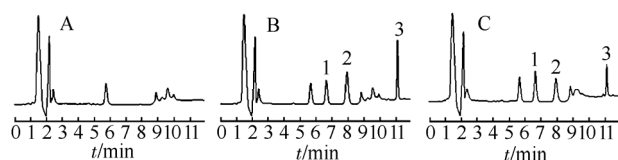


图 1 高效液相色谱图

A-空白血浆;B-血浆对照品;C-血样;1-内标卡马西平;2-氯沙坦;3-E-3174。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-blank plasma; B-plasma spiked with losartan and E-3174; C-plasma sample; 1-internal standard carbamazepine; 2-losartan; 3-E-3174.

2.2 溶液的配制

准确称取 10.0 mg 氯沙坦钾对照品于 25 mL 量瓶中,甲醇定容,得到 0.4 mg·mL⁻¹ 氯沙坦钾对照品储备液。

将 10.0 mg E-3174 对照品全部转移至 25 mL 量瓶中,甲醇定容,得 0.4 mg·mL⁻¹ 的 E-3174 对照品储备液。

准确称取 10.0 mg 卡马西平对照品于 25 mL 量瓶中,甲醇定容,得 0.4 mg·mL⁻¹ 的卡马西平对照品储备液。准确吸取 250 μL 卡马西平对照品储备液于 10 mL 量瓶中,甲醇定容,得 10 μg·mL⁻¹ 的卡马西平对照品溶液。

2.3 血浆样品处理方法

取 200 μL 血浆样品于 2 mL EP 管中,加入 10 μg·mL⁻¹ 卡马西平对照品溶液 20 μL,再加入 0.2 mol·L⁻¹ HCl 100 μL 调节 pH,涡旋混匀。加入 1 mL 乙酸乙酯,涡旋 2 min, 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上层有机相于另一 10 mL 玻璃锥形试管中,45 ℃ 氮气吹干,用 100 μL 流动相(45%水、35%乙腈、20% 0.1%三氟乙酸)复溶,进样量为 20 μL。

2.4 线性关系及定量下限

在 200 μL 大鼠空白血浆中,加入适量的氯沙坦钾和 E-3174 的混合对照品液,配成浓度相当于 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1 000, 2 000 μg·L⁻¹ 的氯沙坦及 E-3174 血浆对照品溶液,按“2.3”项方法处理,测定内标卡马西平的峰面积 A_s 和氯沙坦、E-3174 的峰面积(A_i),以 A_s/A_i 为纵坐标(y),以所对应各点的氯沙坦、E-3174 浓度为横坐标(x)绘标准曲线。氯沙坦的标准曲线方程为 $y=0.0011x-0.0495$ ($R^2=0.9989$); E-3174 的标准曲线方程为 $y=0.0018x-0.0314$ ($R^2=0.9993$)。氯沙坦及 E-3174 定量下限均为 10 μg·L⁻¹。

2.5 精密度和回收率试验

按“2.4”项下方法配成浓度为 25, 250, 1 000 μg·L⁻¹ 的氯沙坦及 E-3174 对照品血样,按“2.3”项下方法处理,进样测定,每个浓度 5 个样品;另将相应体积的氯沙坦钾和 E-3174 的混合对照品溶液,用流动相稀释成 100 μL 的对照品,直接进样,每个浓度 5 个样品,2 组所得峰面积的比值,即该方法的绝对回收率。结果显示,氯沙坦与 E-3174 的绝对回收率均>85%。

同上,配制浓度相当于 25, 250, 1 000 μg·L⁻¹ 的氯沙坦及 E-3174 对照品血样各 5 份,分别于 1 d

内和连续 5 d 测定, 得日内精密度和日间精密度的结果。结果显示, 氯沙坦与 E-3174 的日内、日间精密度的均 $<10\%$ 。

2.6 样品稳定性试验

按“2.4”项下的方法配制浓度为 25, 250, 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯沙坦及 E-3174 对照品血样, 按“2.3”项下方法处理, 放置于进样器中($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), 分别于 0, 2, 4, 6, 12 h 进样, 考察样品处理后在进样器中的稳定性。另配制 25, 250, 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯沙坦及 E-3174 对照品血样, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 分别于 1, 2, 3, 4 周后取出, 按“2.3”项下方法处理后进样, 考察样品在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中存放的稳定性。结果, 氯沙坦和 E-3174 的 RSD 均 $<15\%$, 表明其在 2 种条件下有良好的稳定性。

2.7 药动学研究

2.7.1 药动学方案 15 只 SD 大鼠随机分成 3 组(对照组、格列吡嗪组和格列本脲组), 饲养于清洁级环境中, 温度维持在 $20\sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。实验前一天 20:00 之后禁食不禁水。实验当天, 对照组灌胃给予 0.5% CMC 溶液, 格列吡嗪组灌胃给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 格列吡嗪, 格列本脲组灌胃给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 格列本脲。0.5 h 后, 3 组大鼠均灌胃给予 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氯沙坦钾(溶于可饮用的纯净水中), 分别于给药后 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 和 24 h(每 4 个采血点后予以大鼠 1.5 mL 生理盐水灌胃)经尾静脉采血 0.5 mL 于加有肝素的 EP 管中, $13\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 得血浆样品, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待检。按“2.3”项下方法处理血浆, 将所得药物峰面积代入标准曲线, 计算相应的氯沙坦和 E-3174 血药浓度。氯沙坦和 E-3174 的平均血药浓度-时间图见图 2。

2.7.2 药动学结果 应用 DAS 3.0 软件计算大鼠氯沙坦和 E-3174 的药动学参数, 采用非房室模型分析方法。应用 SPSS 13.0 统计学软件, 采用 ANOVA/Dunnnet's(均与对照组作比较)统计分析方法分析不同组别大鼠氯沙坦和 E-3174 的药动学参数的差异是否有统计学意义, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

与对照组相比, 合用格列吡嗪组大鼠氯沙坦的 $\text{AUC}_{(0-t)}$ 和峰浓度分别增加了 0.96 倍和 1.84 倍, 平均滞留时间(MRT_{0-t})和清除率分别减少了 20.3%和 44.8%, 代谢产物 E-3174 的 AUC_{0-t} 和峰浓度分别增加了 0.71 倍和 1.82 倍, MRT_{0-t} 则减少了 16.8%;

合用格列本脲组大鼠氯沙坦的达峰时间减少了 38.5%, E-3174 的 MRT_{0-t} 减少了 12.8%, 结果见表 1~2。

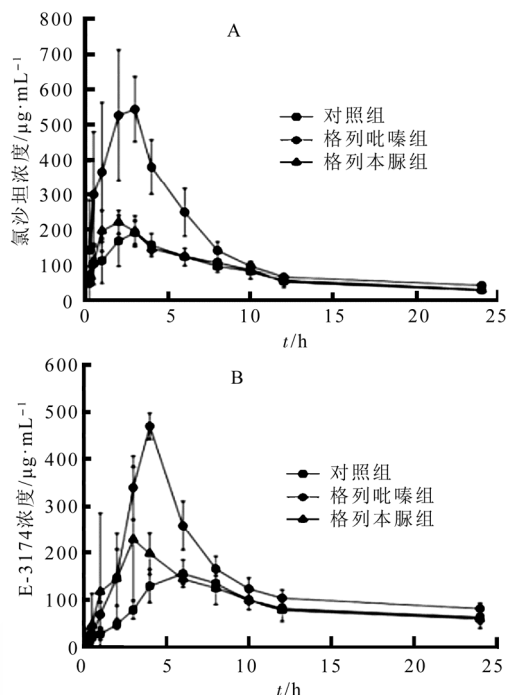


图 2 氯沙坦与 E-3174 的平均血药浓度-时间图

A-氯沙坦; B-E-3174。

Fig. 2 Mean concentration-time curve of losartan and E-3174

A-losartan; B-E-3174.

表 1 灌胃给予 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氯沙坦钾后各组氯沙坦的药动学参数($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of losartan after an oral administration of $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ losartan potassium($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

参数	对照组	格列吡嗪组	格列本脲组
$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	1 926.99 $\pm$ 426.63	3 771.94 $\pm$ 519.61 ¹⁾	2 035.40 $\pm$ 159.40
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	8.19 $\pm$ 0.55	6.53 $\pm$ 0.49 ¹⁾	7.89 $\pm$ 0.43
$T_{1/2}/\text{h}$	8.10 $\pm$ 1.56	5.15 $\pm$ 3.35	10.04 $\pm$ 1.68
T_{max}/h	2.60 $\pm$ 0.55	2.60 $\pm$ 0.55	1.60 $\pm$ 0.55 ¹⁾
$\text{CL}/\text{F}/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	2.32 $\pm$ 0.46	1.28 $\pm$ 0.13 ¹⁾	2.01 $\pm$ 0.18
$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	215.63 $\pm$ 37.90	612.98 $\pm$ 90.96 ¹⁾	241.18 $\pm$ 33.83

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$.

表 2 灌胃给予 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氯沙坦钾后各组别 E-3174 的药动学参数($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 2 Pharmacokinetic parameters of E-3174 after an oral administration of $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ losartan potassium($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

参数	对照组	格列吡嗪组	格列本脲组
$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	2 075.94 $\pm$ 163.06	3 547.36 $\pm$ 412.01 ¹⁾	2 396.26 $\pm$ 788.91
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	11.02 $\pm$ 0.62	9.17 $\pm$ 0.44 ¹⁾	9.61 $\pm$ 0.68 ¹⁾
$T_{1/2}/\text{h}$	25.84 $\pm$ 11.41	19.50 $\pm$ 14.50	12.03 $\pm$ 5.88
T_{max}/h	5.20 $\pm$ 1.79	4.00 $\pm$ 0.00	3.60 $\pm$ 0.55
$\text{CL}/\text{F}/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	1.23 $\pm$ 0.49	0.98 $\pm$ 0.28	1.65 $\pm$ 0.37
$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	166.32 $\pm$ 21.82	469.51 $\pm$ 28.38 ¹⁾	257.01 $\pm$ 143.36

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$.

3 讨论

氯沙坦在体内主要经由肝脏 CYP450 酶系代谢生成羧基化代谢产物 E-3174, 这一反应主要由 CYP2C9 催化反应^[8]。体内研究也表明, CYP2C9 基因多态性对氯沙坦的药动学有明显的影响^[9]。格列吡嗪和格列本脲在体内也主要经由 CYP2C9 代谢^[3-4]。但本研究中给予同剂量的格列吡嗪和格列本脲后, 与对照组相比, 格列吡嗪明显改变了大鼠体内氯沙坦和 E-3174 的药动学参数。而格列本脲对氯沙坦的药动学影响较小, 仅使氯沙坦的达峰时间提前, E-3174 的 MRT 延长。氯沙坦也是 P 糖蛋白的底物, 与 P 糖蛋白抑制剂合用时, 可使氯沙坦的 AUC 增加, 提高其生物利用度^[10]。氯沙坦和格列吡嗪均为高血浆蛋白结合率的药物, 结合率高达 98%左右^[11-12], 其在体内与氯沙坦可竞争结合血浆蛋白。当与其他高血浆蛋白结合率的药物(如格列齐特^[13])合用时, 氯沙坦的血浆蛋白结合率降低, 游离药物明显增加。但查阅文献, 未有格列吡嗪作为 P 糖蛋白抑制剂和体外降低氯沙坦蛋白结合率的直接报道。

结合合用格列吡嗪和格列本脲后氯沙坦和 E-3174 的药动学变化及目前的文献报道, 还不足以明确格列吡嗪、格列本脲和氯沙坦通过何种途径发生药动学相互作用。其机制尚需进一步的体外研究佐证。

E-3174 为有药理活性的代谢产物^[5]。氯沙坦经 CYP2C9 羧基化代谢生成 E-3174 后, 其药物极性增加, 在体内的排泄减慢, 半衰期亦明显长于氯沙坦, 长期使用易于在体内产生蓄积作用。采用萃取法时, 需加入足够量的稀盐酸, 调节血浆的 pH 至 2.5 左右, 使 E-3174 转化成分子态, 以提高萃取率。

本研究考察了格列吡嗪与格列本脲对氯沙坦及其活性代谢产物 E-3174 药动学的影响。与同剂量的格列本脲相比, 格列吡嗪对氯沙坦及其代谢产物在大鼠体内的药动学影响较大。由于存在种属差异, 这两类药物在人体内的药物相互作用尚需进一步的确证。临床上合用氯沙坦和格列吡嗪时, 更应注意潜在的药物相互作用所致的药物不良反应。

REFERENCES

- [1] MURTHY T, KOMMINENI M K, MAYUREN C. Influence of losartan on the hypoglycemic activity of glimepiride in normal and diabetic rats [J]. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 2013, 4(5): 133-138.
- [2] SHITARA Y, SATO H, SUGIYAMA Y. Evaluation of drug-drug interaction in the hepatobiliary and renal transport of drugs [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005, 45(45): 689-723.
- [3] TAN B, ZHANG Y F, CHEN X Y, et al. The effects of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glipizide in Chinese subjects [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2010, 66(2): 145-151.
- [4] ZHARIKOVA O L, FOKINA V M, NANOVSKEYA T N, et al. Identification of the major human hepatic and placental enzymes responsible for the biotransformation of glyburide [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(12): 1483-1490.
- [5] YANG S H, CHO Y A, CHOI J S. Effects of ticlopidine on pharmacokinetics of losartan and its main metabolite EXP-3174 in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin(药学报)*, 2011, 32(7): 967-972.
- [6] IWAKAWA S, MIYASHITA K, HASHIMOTO Y, et al. Effect of glimepiride and glibenclamide on S-warfarin 7-hydroxylation by human liver microsomes, recombinant human CYP2C9.1 and CYP2C9.3 [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(9): 1983-1985.
- [7] CHEN S Z, PAN P P, SHEN L B, et al. Drug-drug interaction of losartan and glimepiride metabolism by recombinant microsome CYP2C9*1, 2C9*3, 2C9*13, and 2C9*16 *in vitro* [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2014, 52(9): 732-738.
- [8] WANG Y H, PAN P P, DAI D P, et al. Effect of 36 CYP2C9 variants found in the Chinese population on losartan metabolism *in vitro* [J]. *Xenobiotica*, 2014, 44(3): 270-275.
- [9] BAE J W, CHOI C I, LEE H I, et al. Effects of CYP2C9*1/*3 and *1/*13 on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite E-3174 [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2012, 50(9): 683-689.
- [10] CHOI J S, CHOI J S, CHOI D H. Effects of licochalcon A on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite, EXP-3174, in rats [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(11): 882-888.
- [11] CHRIST D D. Human plasma protein binding of the angiotensin II receptor antagonist losartan potassium (DuP 753/MK 954) and its pharmacologically active metabolite EXP3174 [J]. *J Clin Pharmacol*, 1995, 35(5): 515-520.
- [12] MATSUDA R, ZHAO L, ZHENG X, et al. Analysis of glipizide binding to normal and glycated human serum albumin by high-performance affinity chromatography [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(18): 1-13.
- [13] JIANG L Y, CHEN S Z, TIAN Z Y, et al. Effect of glimepiride on plasma protein binding rate of losartan potassium [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2013, 30(9): 1017-1021.

收稿日期: 2016-03-18