

胰岛素口服微乳经狗十二指肠给药的体内吸收途径研究*

王 召 杨金奎¹ 路丽芳² 朱家璧²

(海军医学高等专科学校药剂学教研室,南京 210099; ¹南京医科大学附属医院内分泌科,南京 210029; ²中国药科大学药剂学教研室,南京 210009)

摘 要 狗十二指肠给予 15 IU/kg 的 W/O 型胰岛素微乳(其中 ¹²⁵I 胰岛素浓度相当于 150 μ Ci/kg),同位素示踪法测定其上腔静脉及下腔静脉血药浓度,结果表明:反映淋巴转运的上腔静脉血药浓度峰值是反映门静脉吸收的下腔静脉血药浓度峰值的 2.55 倍,说明胰岛素微乳口服吸收的主要途径为淋巴途径。

关键词 胰岛素; ¹²⁵I 胰岛素; 口服微乳; 吸收途径

口服多肽及蛋白质类药物释放系统的研究必然涉及该药物的体内吸收^[1-3]。虽然到目前为止大多数释放系统的体内转运机制尚无定论,但无论哪一种释放系统,都希望通过增加药物的淋巴转运,提高药物在体内的生物利用度。W/O 型胰岛素微乳的口服吸收机理研究尚无文献报道,本文以 ¹²⁵I 胰岛素为示踪物,通过对狗的上腔静脉(淋巴通道)、下腔静脉(肝门静脉通道)血药浓度的测定,对 W/O 型胰岛素微乳的口服吸收途径作一初步探讨。

1 实验材料

猪胰岛素(26 IU/mg)(南京生化制药厂);无还原剂 Na¹²⁵I(中国原子能研究所);Iodogen 及 Sepharose 4B(美国 Pierce 公司及瑞典 Pharmacia 公司);其它为药用或化学纯产品。实验狗(中国药科大学实验动物中心)。

¹²⁵I 胰岛素的制备 采用对蛋白质损伤较小的 Iodogen 法^[4]对胰岛素碘标;标记率为(59.4±8.3)%。放化纯度为(98.6±1.8)%。

胰岛素微乳的制备 选择油酸、水及一种低级醇作为制备胰岛素微乳的三元系统,通过相图绘制及电导测定确定 W/O 型微乳

的处方组成,处方中加入适量乳糜形成材料及吸收促进剂以提高微乳的小肠吸收,所得的胰岛素微乳每毫升含胰岛素 50 IU, ¹²⁵I-胰岛素 50 μ Ci。

2 实验方法

2.1 实验设计

药物的体内吸收通常存在两种途径,一是肝门静脉通道,另一途径为淋巴转运通道。通过对上、下腔静脉血药浓度的测定,则可反映药物经淋巴或肝门静脉途径的吸收情况。

2.2 实验方法

狗四条,体重(10±2)kg,禁食一夜后以 30 mg 的戊巴比妥钠麻醉,手术进行上腔静脉及下腔静脉插管;十二指肠给予 15 IU/kg 的胰岛素微乳(其中 ¹²⁵I 胰岛素的浓度相当于 150 μ Ci/kg),分别于 0, 0.5, 1, 2, 3, 8, 12, 16 及 20 h 取上、下腔静脉血,分别测定血清 ¹²⁵I 胰岛素的浓度(cpm/ml)。

2.3 血清 ¹²⁵I 胰岛素测定方法

2.3.1 制备胰岛素抗体 -Sepharose 偶联珠 称取 CNBr 活化的 Sepharose 4B 5.0 g,根据产品说明书,先用 1 mmol/L HCl 溶液 1000 ml 洗涤溶胀 15 min,耐酸玻璃漏斗过

滤,残渣溶于用 NaHCO_3 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 8.3, 含 0.5 mol/L NaCl) 稀释的 10 mg/ml 的 24 ml 胰岛素抗体 (IgG) 中,混匀 1 h, 4°C 过夜,使 IgG 与 Sepharose 偶联。加入 0.1 mmol/L pH 8.0 Tris 缓冲液 50 ml 继续混匀 1 h,去除剩余偶联活性基团,用含 0.02% 叠氮钠的磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤,备用

2.3.2 ^{125}I 胰岛素测定 吸收胰岛素抗体-Sepharose 混悬液 0.1 ml,加入待检血清 0.1 ml, 37°C 孵育 2 h, 1500 r/min 离心 15 min,取沉淀,加入 PBS 2 ml 洗沉淀, 1500 r/min

离心 15 min 取沉淀测定放射性强度

2.4 数据处理

用“PKBP-N1”药动学程序对血浓时间数据进行拟合,按具有滞后时间的一室开放模型,计算出药动学参数,并对来自上腔静脉和下腔静脉的两组药动学参数进行 t 检验。

3 实验结果

狗的上、下腔静脉血清 ^{125}I 胰岛素 时间拟合曲线见图 1,药动学参数见表 1

Tab 1. Pharmacokinetic parameters of serum ^{125}I -insulin from superior and inferior vena cava in normal fasting dogs ($n=4$)

Route	C_{max} , cpm $\times 10^4$ /ml	T_{max} , h	K_c , h^{-1}	$T_{1/2s}$, h	K , h^{-2}	$T_{1/2}$, h	T_{lg} , h	AUC cpm $\times 10^4$ /ml	R
Superior mean	6.97	1.99	1.73	0.49	0.40	1.88	0.74	30.48	0.98
	± 1.24	± 0.45	± 0.94	± 0.22	± 0.13	± 0.61	± 0.11	± 3.45	± 0.01
Inferior mean	2.73	1.24	2.78	0.28	0.20	3.63	0.16	18.06	0.99
	± 0.47 **	± 0.23	± 1.07	± 0.10	± 0.03 *	± 0.60 **	± 0.10 **	± 4.54	± 0.11

** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$, vs superior vena cava

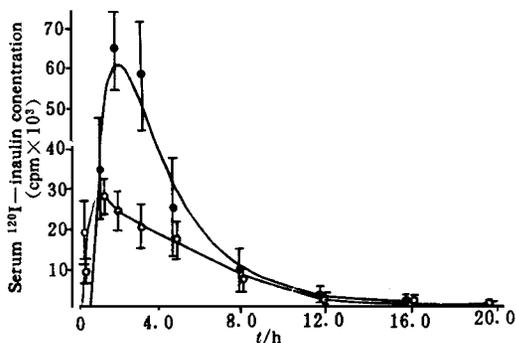


Fig 1. The simulated curves of mean serum ^{125}I -insulin (drawn from superior vena cava and inferior vena cava respectively) levels vs time following duodenum administration of ^{125}I -insulin microemulsion (150 $\mu\text{Ci/kg}$) in dogs. ($\pm s, n=4$) (-●-) Observed from superior vena cava; (-○-) Observed from inferior vena cava

4 讨论

4.1 W/O 型微乳的淋巴转运

从理论上分析 W/O 型微乳的体内吸收途径应与油脂的吸收相似。作为连续相的油

酸可以在肠道胆盐、甘油单脂、磷脂、胆固醇、脱辅基酶蛋白等乳糜化材料作用下形成 W/O 的乳糜微粒,从而经淋巴通道到达血液循环。实验表明,反映淋巴转运的上腔静脉血清胰岛素峰值是反映肝门静脉吸收的下腔静脉血清胰岛素峰值的 2.55 倍 (表 1)。此外,血浓-时间曲线下面积分析也表明:经淋巴转运的 AUC 是肝门静脉途径的 1.69 倍。可见外周血液中胰岛素浓度主要由淋巴转运途径来维持,该结果与理论分析相一致。

4.2 W/O 型微乳的肝门静脉吸收

一般认为, W/O 型微乳具有高亲脂性,故较难通过肠道毛细血管直接吸收入血,即使部分药物能被吸收,也可能在肝脏的首过效应中被灭活。实验表明 (表 1),微乳的肝门静脉吸收,也是药物的体内转运途径之一 (尽管其作用没有淋巴转运显著)。微乳的肝门静脉吸收,可能是小肠上皮细胞对微乳胞饮作用的结果^[5]。

4.3 不同途径的药物吸收速率

通过比较反映吸收方面的参数 T_{lag} , $T_{1/2\alpha}$ 及 T_{max} 不难发现,下腔静脉血的时滞短,吸收半衰期短,达峰时间快(分别为 0.16, 0.28及 1.24 h),而上腔静脉血分别为 0.74, 0.49及 1.99 h。两组数据经配对 t 检验除吸收半衰期不显著外,时滞与达峰时间均存在非常显著 ($P < 0.01$)及显著性 ($P < 0.05$)差异,这一结果与理论是符合的。

参考文献

1 Tokada K, Yoshimura H, Shibata N, *et al.* Effect of administration route on the selective lymphatic delivery of

cyclosporine A by lipid-surfactant mixed micelles. *J Pharmaceutio-Dyn*, 1986, 9: 156

2 Yoshikawa H. A method to potentiate enteral absorption of interferon and selective delivery into lymphatics. *J Pharm Dyn*, 1984; 7: 59

3 Saffran M, Sudesh GK, Savariar C, *et al.* A new approach to the oral administration of insulin and other peptide drugs. *Science*, 1986, 23: 1081

4 童明庆,孙南雄. 实用免疫化学. 第一版. 南京出版社, 1990. 64~ 67

5 Charman WN, Stella V J. Transport of lipophilic molecules by the intestinal lymphatic system. *Adv Drug Deliv Rev*, 1991, 7: 1

Studies on Absorptive Mechanism of Insulin in Oral Microemulsion

Wang Zhao, Yang Jinkui¹, Lu Lifang², Zhu Jabi²

Department of Pharmaceutics, Naval Medical College, Nanjing 210099;

¹Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; ²Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract *W/O* Type of insulin microemulsion was administrated to dogs at the dose of 15 IU/kg (insulin) and 150 μ Ci/kg (¹²⁵I-insulin) via duodenum. Isotope tracing method was used to determine the level of serum ¹²⁵I-insulin in superior and inferior vena cava. The results showed that the peak value of serum ¹²⁵I-insulin level in superior vena cava responding lymphatic transportation was 2.55 times of that in inferior vena cava responding absorption route of portal vein. This proved that the lymphatic transportation is the main absorption route of insulin oral microemulsion.

Key words Insulin; ¹²⁵I-insulin; Oral microemulsion; Absorptive mechanism