

艾迪注射液对大鼠体内紫杉醇药代动力学的影响

闫加庆, 张元, 周海燕, 刘敏, 杨璐, 张远远, 杨谨成, 李国辉*

(国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院 肿瘤医院 药剂科, 北京 100021)

【摘要】 目的: 研究艾迪注射液对大鼠体内紫杉醇药代动力学参数的影响。方法: 12只SD大鼠, 雌雄各半, 体重180~220 g, 随机分为对照组和实验组, 实验组连续5 d给予艾迪注射液 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天1次, 对照组给予等量生理盐水代替。最后一次给药后30 min两组均给予紫杉醇注射液 $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 并于给药后0、0.5、1、2、4、8、12、24和48 h分别自眼眶取血0.2 mL。分离血浆后采用液质联用的方法测定血浆中紫杉醇的含量, 采用DAS2.0软件分析药代动力学参数, 采用SPSS软件进行统计学分析。结果: 对照组和实验组的 C_{\max} 分别为 $(39\ 555.69 \pm 1\ 728.70)$ 和 $(79\ 957.62 \pm 18\ 067.58) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($P < 0.05$); $AUC_{0 \rightarrow t}$ 分别为 $(28\ 616.24 \pm 7\ 059.78)$ 和 $(76\ 066.42 \pm 32\ 518.88) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ ($P < 0.05$); $t_{1/2}$ 分别为 (3.49 ± 1.17) 和 $(5.99 \pm 0.75) \text{ h}$ ($P < 0.05$); 其他参数差异无显著性。结论: 艾迪注射液可显著增加大鼠体内紫杉醇的 C_{\max} 和 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 并降低 $t_{1/2}$ 。

【关键词】 艾迪注射液; 紫杉醇; 药代动力学参数

【中图分类号】 R285.5

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2017)12-0027-04

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2017.12.007

Influence of aidi injection on pharmacokinetics of paclitaxel in rats

YAN Jia-qing, ZHANG Yuan, ZHOU Hai-yan, LIU Min, YANG Jun, ZHANG Yuan-yuan, YANG Jin-cheng, LI Guo-hui*

(Department of Pharmacy, National Cancer Centre/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective: To explore the influence on pharmacokinetics parameters of paclitaxel after pretreatment with aidi injection in rats. **Methods:** 12 SD rats, half male and half female with body weight of 180~220 g, were randomly divided into control and experimental groups. Rats in experimental group were pretreated with aidi injection at the dose of $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ once a day for consecutively 5 days, while rats in control groups were treated with saline solution instead. 30 minutes after the last treatment, both groups were treated with paclitaxel at the dose of $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. Blood samples were obtained from rat eyes at 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 and 48 h after administration. LC-MS/MS was used to determine plasma concentration of paclitaxel. Pharmacokinetic parameters were calculated by DAS2.0 software and SPSS software was used for statistical analysis. **Results:** C_{\max} levels of paclitaxel in rats of control and experimental groups was $(39\ 555.69 \pm 1\ 728.70)$ and $(79\ 957.62 \pm 18\ 067.58) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively ($P < 0.05$). $AUC_{0 \rightarrow t}$ in control and experimental group was $(28\ 616.24 \pm 7\ 059.78)$ and $(76\ 066.42 \pm 32\ 518.88) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ ($P < 0.05$) while $t_{1/2}$ in control and experimental group was (3.49 ± 1.17) and $(5.99 \pm 0.75) \text{ h}$ ($P < 0.05$). No significant difference was detected in other pharmacokinetic parameters of the both groups. **Conclusion:** aidi injection could significantly increase C_{\max} and $AUC_{0 \rightarrow t}$ while decrease $t_{1/2}$ of paclitaxel.

【Key words】 aidi injection; paclitaxel; pharmacokinetics parameter

根据2015年的癌症统计数据, 我国恶性肿瘤的发生率和死亡率近年来呈上升趋势, 已成为我国致死的主要原因和危害公共健康的重大疾病^[1]。化

疗作为肿瘤治疗的主要手段之一具有疗效确切、有效率高的特点, 能显著延长患者的生存时间。但是化疗药物的不良反应较为明显, 已成为限制肿瘤药

【收稿日期】 2017-07-20

【基金项目】 首都市民健康项目培育 (Z151100003915114)

【作者简介】 闫加庆, 主管药师; 研究方向: 药物相互作用; Tel: (010)87788040; E-mail: yanjiaqing5566@126.com

【通讯作者】 *李国辉, 主任药师; 研究方向: 医院药学; Tel: (010)87788573; E-mail: lgh0603@126.com

物临床使用的重要因素之一。近年来, 中西药联合用药已广泛应用于各种肿瘤的治疗中, 研究表明中西药联合化疗不但能提高临床疗效, 而且能减少化疗药物的不良反应, 改善病人的生存质量, 起到减毒增效的作用^[2-3]。艾迪注射液的主要成分为斑蝥、黄芪、人参、刺五加, 具有清热解毒和消瘀散结的功效, 临床广泛用于原发性肝癌、肺癌、直肠癌、恶性淋巴瘤和妇科恶性肿瘤等的治疗^[4]。近年来艾迪注射液与化疗药物如紫杉醇联合使用治疗非小细胞肺癌、胃癌、食管癌、卵巢癌等, 可显著提高紫杉醇的临床疗效, 降低骨髓抑制等不良反应, 增强机体免疫力, 提高患者的生存质量^[5-9]。

研究证明, 艾迪注射液对细胞色素 P450 酶 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9 和 CYP3A4 有不同程度的抑制作用^[10-12], 而紫杉醇主要经 CYP3A4 和 CYP2C8 代谢^[13], 这些研究提示艾迪注射液与紫杉醇联合使用可能会发生药物相互作用。故基于临床实际, 本研究采用液质联用 (LC-MS/MS) 的检测方法考察紫杉醇单独使用和与艾迪注射液联合使用时血药浓度及药代动力学参数的差异, 以期为中西药合理使用提供理论依据, 同时为探索中西药相互作用提供新的思路。

1 对象与方法

1.1 研究对象

SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 180 ~ 220 g, 由北京斯贝福实验动物科学技术有限公司提供, SPF 级, 合格证号: SCXK (京) 2011-0004。

1.2 试剂

紫杉醇注射液 (批号: 161205, 北京协和药厂); 艾迪注射液 (批号: 20160809, 贵州益佰制药股份有限公司); 紫杉醇标准品 (批号: ZCP-160902, 云南汉德生物技术有限公司); 内标, 盐酸普萘洛尔 (批号: 100783-201202, 中国食品药品检定研究院); 甲醇、乙腈、甲酸、叔丁基甲醚为色谱纯, 水为超纯水, 其余为分析纯。

1.3 仪器

岛津 LC-20ADXR 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司, 带自动进样器), AB Sciex API5500 三重四级杆串接质谱 (美国 AB Sciex 公司); Analyst 工作站 (美国 AB Sciex 公司); 1/10 万电子天平 (瑞士 Sartorius 公司); SCDEALL VX- III 多管振荡器

[安简 (北京) 科技有限公司]; H2-16KR 型高速冷冻离心机 (湖南可成仪器设备有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 仪器条件 色谱条件: Imatakt Unison UK-C₁₈ (75 mm × 3.0 mm id, 3.0 μm); 流动相: A 相为水 (含 1 mmol·L⁻¹ 甲酸铵, 0.05% 甲酸), B 相为甲醇, 梯度洗脱, 柱温 25℃, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 进样量 4 μL。

质谱条件: 离子源: ESI⁺; 离子源温度: 500℃; 检测模式: 多重反应模式 (MRM); 辅助气、雾化气、碰撞气: 氮气; 采集时间 4 min。根据各组分保留时间和一级、二级质谱参数, 应用 MRM 模式对各组分进行定量分析。

1.4.2 标准溶液和内标溶液的制备 精密称取 17.27 mg 紫杉醇标准品到 10 mL 容量瓶内, 用乙腈溶解稀释并定容至刻度, 得到浓度为 1 715 μg·mL⁻¹ 储备液, 用 50% 乙腈水将上述储备液稀释到浓度分别为 10、20、50、250、1 250、2 500、4 000 和 5 000 ng·mL⁻¹ 的标准工作溶液。

精密称取 10.19 mg 盐酸普萘洛尔, 用甲醇溶解稀释并定容至 10 mL, 得到 893 μg·mL⁻¹ 的内标储备液。吸取上述储备液 0.224 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 得到 20 μg·mL⁻¹ 的内标二级储备液。吸取上述二级储备液 0.2 mL, 用 50% 乙腈水定容至 10 mL, 得到 0.4 μg·mL⁻¹ 的内标三级储备液。吸取上述储备液 1.25 mL, 用 50% 乙腈水定容至 100 mL, 得到 0.005 μg·mL⁻¹ 的内标工作液。

1.4.3 动物分组及给药 采用随机数表法将动物分为 2 组, 每组 6 只, 分别为对照组和实验组, 实验组大鼠连续 5 d 尾静脉注射艾迪注射液 1 mL·kg⁻¹, 每天一次, 对照组大鼠注射等量生理盐水代替。最后一次给药 30 min 后两组大鼠均尾静脉注射紫杉醇注射液 12 mL·kg⁻¹。给药后 0、0.5、1、2、4、8、12、24 和 48 h 经大鼠眼眶静脉采血 0.2 mL 置于肝素抗凝的离心管中, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后分离血浆, 采用 LC-MS/MS 方法检测不同时间点血浆中紫杉醇的含量。

1.4.4 样品前处理 移取 50 μL 待分析的大鼠血浆转移至 2 mL 的离心管中, 加入 50 μL 50% 乙腈水, 充分涡旋混合 30 s, 样品加入 100 μL 内标工作溶液 (IS: 配制在 50% 乙腈水中, 浓度为 5 ng·mL⁻¹ 的普萘洛尔), 充分混合均匀, 加入 1 mL 的叔丁

基甲醚,涡旋振荡 120 s,充分混合均匀,室温下于 13 000 r·min⁻¹ 转速下离心 2 min,取上清液 900 μL,50℃氮气吹干,加入 1 000 μL 的乙腈(含 2 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵和 0.1% 甲酸),涡旋振荡 60 s,充分混合均匀,室温下于 13 000 r·min⁻¹ 转速下离心 2 min,过 0.22 μm 滤膜,取 4 μL 上机检测。

1.4.5 统计分析 采用 SPSS 统计软件处理,数据用 mean ± SD 表示,采用 DAS2.0 软件分析药代动力学参数,检验法比较各组统计学差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 专属性

本实验建立分析方法专属性较高,待测物不受血清内源性物质干扰。

2.2 标准曲线

精密量取混合储备液,配制成混合标准系列溶液,按照“1.4.4 样品前处理”项下进行前处理操作,后上机检测。以各待测物色谱峰面积(取 5 次测定结果的均值)为纵坐标,以各物质浓度(μg·mL⁻¹)为横坐标进行线性权重回归,得线性回归方程为 $y=0.00268x+0.00148$ ($R^2=0.997$),线性范围为 10 ~ 5 000 μg·L⁻¹。

2.3 回收率与相对标准偏差

以空白血浆样品进行 3 个加标水平的回收率实验,每个加标水平取 6 个平行样品,上机检测结果见表 1,平均回收率为 94.81% ~ 95.85%,相对标准偏差为 < 3%,说明该方法重复性较好,适用于

表 1 紫杉醇加标回收率和相对标准偏差

加标量(μg·L ⁻¹)	平均检出量(μg·L ⁻¹)	相对标准偏差(%)	平均回收率(%)
20	19.17	2.77	95.85
200	190.64	1.98	95.32
2 000	1 896.15	1.78	94.81

表 2 对照组和实验组紫杉醇的药代动力学参数(mean ± SD, n = 6)

药动力学参数	对照组	实验组	t 值	P 值
AUC(0 ~ ∞)(μg·L ⁻¹ ·h)	28 735.08 ± 6 969.66	78 014.16 ± 36 264.45	3.52	0.036
MRT(0 ~ ∞)(h)	2.75 ± 0.67	2.32 ± 0.62	2.36	0.071
t _{1/2} (h)	5.99 ± 0.75	3.49 ± 1.17	6.63	0.011
V _z (L·kg ⁻¹)	3.14 ± 1.27	0.94 ± 0.58	2.31	0.074
CL(L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	0.38 ± 0.19	0.18 ± 0.07	1.49	0.138
C _{max} (μg·L ⁻¹)	39 555.69 ± 1 728.70	79 957.62 ± 18 067.58	3.01	0.046

待测物的测定。

2.4 稳定性试验

取 1 份血浆样品,按照“1.4.4 样品前处理”项下的方法进行处理,取 4 μL 进样。另取同一份血浆样品,分为 6 份,其中 2 份在室温下放置 5 h 后,2 份反复冻融 5 次,2 份于冰冻条件下保存 20 d,按相同方法处理上述样品后进样。由标准曲线求出各样品的浓度,与 0 h 的相应浓度的样品比较。结果表明:血浆样品在室温放置 5 h,冻融 5 次以及 -20℃ 保存 20 d 均稳定性良好。

2.5 药动学研究

样品按上述方法测得的平均血药浓度 - 时间曲线如图 2 所示,实验组大鼠在 0、0.5、1、2、4、8 和 12 h 的血浆紫杉醇浓度高于对照组,而 24 和 48 h 的血浆紫杉醇浓度两组之间无显著差异。

采用 DAS2.0 软件计算对照组和实验组紫杉醇的药代动力学参数(见表 2),与对照组相比,实验组的 C_{max} 和 AUC_{0-t} 显著升高($P < 0.05$), t_{1/2} 显著降低($P < 0.05$),其他参数无显著性差异,详见图 1。

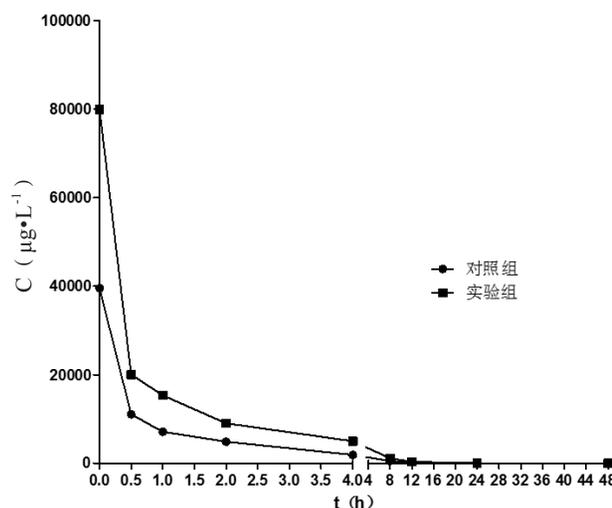


图 1 对照组和实验组紫杉醇血药浓度 - 时间曲线(n=6)

3 讨论

紫杉醇作为广谱抗肿瘤药, 临床广泛应用于多种实体肿瘤的一线化疗。尽管艾迪注射液与紫杉醇联合使用可显著提高紫杉醇的临床疗效并降低不良反应的发生, 但也存在药物相互作用的风险。艾迪注射液与其他化疗药的相互作用已有文献报道^[14-15], 但艾迪注射液是否与紫杉醇存在药物相互作用尚无文献报道。本研究结果显示, 提前给予艾迪注射液可显著改变紫杉醇的药代动力学参数。与对照组相比, 实验组的 C_{max} 和 $AUC_{0-\infty}$ 显著升高, 同时 $t_{1/2}$ 显著降低, 其他药动学参数无显著变化。

C_{max} 反映药物进入体内后血药浓度所达到的最高值, 与药物进入体内和从体内消除的速率有关。 AUC 表示药物浓度-时间曲线下面积, 是反映药物进入血液循环的总量。在本研究中艾迪注射液以静脉注射的方式给药, 药物进入体内的速率是相同的, 提示艾迪注射液提高紫杉醇的 C_{max} 和 AUC 可能与其抑制 CYP3A4 活性从而抑制紫杉醇的代谢有关, 但具体机制仍需进一步研究。此外, 本研究还发现实验组的 $t_{1/2}$ 显著低于对照组, $t_{1/2}$ 的大小取决于表观分布容积(V)和清除率(CL)的比值。在本研究中, 实验组的 V 和 CL 均有一定程度的下降, 但与对照组相比并没有显著性差异。

艾迪注射液中的斑蝥具有抗癌作用, 人参、黄芪能升高白细胞并提高免疫力, 刺五加则可以提高机体对疲劳和应激等非特异性损害的适应能力。这四种成分既能发挥抗肿瘤的作用, 又能降低不良反应的发生, 这可能是其联合紫杉醇发挥增效减毒作用的机制之一。药物的效果与其在体内的血药浓度和暴露量密切相关, 本研究发现艾迪注射液能提高紫杉醇的血药浓度和体内暴露量, 这可能是其增强紫杉醇疗效的新的机制。需要注意的是, 血药浓度和暴露量的升高可能增加不良反应的发生, 在临床使用过程中需密切监测和加强防范, 必要时可降低药物剂量或延长给药间隔。

综上所述, 本研究通过探索艾迪注射液与紫杉醇的相互作用, 从药代动力学的角度阐明了艾迪注射液增强紫杉醇疗效的可能机制以及不良反应的风险, 为临床中西药的合理联用提供了依据。

【参考文献】

- [1] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, et al. Cancer statistics in China 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [2] 李惠, 沈凯凯. 中药抗肿瘤联合用药研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2017, 31(3):90-94.
- [3] 宋如珺, 徐德生. 中西药联合应用研究现状分析[J]. 中国药业, 2016, 25(1):1-5.
- [4] 徐洁, 居文政, 谈恒山. 艾迪注射液药理作用及临床应用研究概况[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(1):48-52.
- [5] 赵华叶, 李国辉, 戚姝娅, 等. 艾迪注射液联合紫杉醇和顺铂治疗中晚期非小细胞肺癌疗效和安全性的 meta 分析[J]. 中国药房, 2016, 27(9):1210-1213.
- [6] 郭伟华. 艾迪注射液与 TCF 联合对胃癌患者化疗反应及生存质量的影响[J]. 慢性病学杂志, 2016, 17(7):743-745.
- [7] 段锋. 艾迪注射液联合化疗方案治疗晚期胃癌疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(2):55-56.
- [8] 张玉芳. 艾迪注射液配合化疗治疗晚期食管癌疗效观察[J]. 山东医药, 2009, 49 (47):99-100.
- [9] 胡伟, 严伟华. 艾迪注射液联合 TP 方案治疗晚期上皮性卵巢癌疗效观察[J]. 福建中医药, 2014, 296(5):17-18.
- [10] 刘丽雅, 韩永龙, 余奇, 等. 消癌平注射液等 4 种抗肿瘤中药注射剂对人肝微粒体种 CYP450 酶 7 种亚型的体外抑制作用研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(5):522-527.
- [11] 杨旭平, 冯碧敏, 黄毅岚, 等. 4 种抗肿瘤中药注射液对大鼠细胞色素 P4503A4 亚型酶活性的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(9):800-802.
- [12] 潘洁, 陆苑, 孙佳, 等. 艾迪注射液对体外人和大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用[J]. 中成药, 2016, 38(11):2332-2337.
- [13] Steed H, Sawyer M B. Pharmacology, pharmacokinetics and pharmacogenomics of paclitaxel [J]. Pharmacogenomics, 2007, 8(7):803-815.
- [14] 许健, 刘雁, 邢亚群, 等. 单剂量艾迪注射液对大鼠体内多西他赛药动学参数影响[J]. 泰山医学院学报, 2017, 38(4):369-372.
- [15] 张炜炜, 梁宁生, 周长虹, 等. 中药艾迪注射液对异环磷酰胺在兔体内代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24):104-108.