

康艾注射液单次给药对大鼠体内多西他赛药动学参数的影响

苏 君¹, 石庆平¹, 张 变², 陈卫东²

[摘要] **目的:** 研究康艾注射液单次给药对大鼠体内多西他赛药动学参数的影响。 **方法:** 选取 24 只 SD 大鼠, 随机分为对照组和高、中、低联合用药组, 对照组大鼠尾静脉注射多西他赛注射液, 高、中、低联合用药组大鼠单次尾静脉注射康艾注射液 (5.4, 3.6, 1.8 mL/kg) 5 min 后, 尾静脉注射多西他赛注射液, 于不同时间点采集血样, 样品经处理后, HPLC 测定并计算多西他赛血药浓度, DAS2.0 软件计算分析药动学参数。 **结果:** 多西他赛与康艾注射液合用后, 其在大鼠体内的药动学参数与单独注射多西他赛相比, 低剂量组的 $t_{1/2\gamma}$ 明显降低 ($P < 0.05$), 其余各组的其他药动学参数均无明显差异。 **结论:** 低剂量康艾注射液可能影响多西他赛在大鼠体内的半衰期, 而高、中剂量则对多西他赛的药动学参数无显著性影响。

[关键词] 多西他赛; 康艾注射液; 药动学参数

[中图分类号] R 96

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.12.003

Effect of single-dose Kangai injection on the pharmacokinetic parameters of docetaxel in rats

SU Jun¹, SHI Qing-ping¹, ZHANG Bian², CHEN Wei-dong²

(1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College,

Bengbu Anhui 233004; 2. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei Anhui 230012, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of single-dose Kangai injection (KI) on the pharmacokinetic parameters of docetaxel in rats. **Methods:** Twenty-four SD rats were randomly divided into the control group, and high, medium and low drug combination groups. The control group was injected with docetaxel through caudal vein, and the high, medium and low drug combination groups were injected with 5.4, 3.6 and 1.8 mL/kg of KI combined with docetaxel through caudal vein, respectively. The blood samples in four groups were collected at different time-points, the blood concentration of docetaxel was calculated by HPLC method, and the pharmacokinetic parameters of docetaxel were analyzed using DAS2.0. **Results:** Compared with the control group, the $t_{1/2\gamma}$ in low drug combination group significantly decreased ($P < 0.05$), and the differences of the other pharmacokinetic parameters of docetaxel among other groups were not statistically significantly. **Conclusions:** The low-dose KI maybe affect the $t_{1/2\gamma}$ of docetaxel in rats, and the high and medium-dose KI do not significantly affect the pharmacokinetic parameters of docetaxel.

[Key words] docetaxel; Kangai injection; pharmacokinetic parameter

经典的抗肿瘤药多西他赛 (docetaxel, 临床上主要用于局部晚期或转移性乳腺癌、非小细胞肺癌, 以及胃癌、食管癌、卵巢癌等多种癌症的治疗, 都取得了较好的疗效^[1]。但是在化疗效果得到肯定的同时, 血液学毒性、肝毒性、过敏反应、体液潴留等不良反应发生率也较高, 常伴随使用的全过程, 使病人化疗不能耐受甚至中断, 达不到预期治疗效果^[2]。

康艾注射液由黄芪、人参、苦参素经现代高科技提取技术精制而成, 具有清热解毒、消瘀散结之功, 能益气扶正, 增强免疫, 且能促进癌细胞凋亡, 抑制多种癌细胞生长^[3], 主要用于肝癌、肺癌、直肠癌、

恶性淋巴瘤、妇科恶性肿瘤以及各种原因引起的白细胞低下及减少症和慢性乙型肝炎的治疗^[4], 是目前临床上使用较为广泛的补益抗癌类中药注射液^[5]。

临床实践^[6-9]证明上述两药联用可以改善病人的生命质量, 增加病人免疫功能, 减轻化疗引起的不良反应, 提高治疗效果。药效学和药动学是体内密切相关的两个过程, 临床疗效的变化很可能与两药联用后体内的药动学变化有关^[10]。因此, 本研究考察了康艾注射液单次给药对多西他赛在大鼠体内药动学参数的影响, 探究两药联用后是否存在潜在的药物相互作用, 以期临床合理用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 药品与试剂 多西他赛注射液 (批号 16110915), 江苏恒瑞医药股份有限公司; 康艾注射

[收稿日期] 2017-08-02 [修回日期] 2018-01-10

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 药剂科, 安徽 蚌埠 233004; 2. 安徽中医药大学 药学院, 安徽 合肥 230012

[作者简介] 苏 君 (1986-), 女, 硕士, 主管药师。

[通信作者] 陈卫东, 硕士研究生导师, 主任医师, 教授。E-mail: anzhongdong@126.com

液(批号 03161006), 长白山制药股份有限公司; 紫杉醇标准品(纯度 99.6%, 批号 100382-201102), 中国食品药品检定研究院; 甲醇(色谱纯, 批号 021160401), 上海星可高纯溶剂有限公司; 乙腈(色谱纯, 批号 1601062164), OCEANPAK; 分析纯甲酸(色谱纯, 批号 20140208), 上海试剂有限公司; 超纯水(18.2 Ω) Milli-Q 超纯水机制备; 乙酸乙酯(色谱纯, 批号 20160101), 江苏强盛功能化学股份有限公司。

1.1.2 仪器与设备 LC-15C 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; SPD-15C 型紫外检测器, 日本岛津公司; TG16-WS 台式高速离心机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司; LC-4016 型低速离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; XW-80A 微型涡旋混合仪, 上海沪西分析仪器厂有限公司; AB135-S 型十万分之一电子天平, 德国 METTLER TOLEDO; Milli-Q Gradient A10 超纯水系统, 密理博(上海)贸易有限公司; BCD-225CHC 冰箱, 合肥美菱股份有限公司; 氮吹浓缩仪(MTN-2800D), 天津奥特赛恩斯仪器有限公司。

1.1.3 实验动物 SD 大鼠 24 只, 雌雄各半, 体重(200 \pm 20) g, 由安徽医科大学实验动物中心提供, 合格证号为 SCXK(苏)2011-0003。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 COSMOSIL C18 色谱柱(4.6 \times 250 mm, 5 μ m); 检测波长为 230 nm; 流动相为乙腈:0.1% 甲酸溶液(50:50, V/V); 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。

1.2.2 样品处理 精密移取 SD 大鼠血浆 100 μ L 置于 1.5 mL 的具塞离心管中, 加入 10 μ L 浓度为 3 μ g/mL 内标紫杉醇, 涡旋, 加入 1 mL 乙酸乙酯, 涡旋震荡 3 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 精密吸取上清液 900 μ L 于氮吹仪上吹干, 残留物用 100 μ L 甲醇复溶后涡旋 5 min, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 20 μ L, HPLC 进样分析。

1.2.3 专属性考察 取大鼠空白血浆溶液, 多西他赛和紫杉醇的空白血浆混合溶液, 尾静脉注射多西他赛 5 min 后的样本, 多西他赛和紫杉醇对照品溶液, 按“1.2.2”项方法操作, 按“1.2.1”项下色谱条件进样, 考察内标紫杉醇和血浆中的内源性物质是否干扰多西他赛的含量测定。

1.2.4 线性关系考察 分别取适量不同浓度的多西他赛标准品储备液, 加入空白 SD 大鼠血浆配制或多西他赛浓度分别为 0.10、0.20、1.00、2.00、

4.00、10.00、20.00、25.00、30.00 μ g/mL 的系列混合标准血浆样品, 按“1.2.2”项下方法处理, 按“1.2.1”项下色谱条件进样检测。

1.2.5 精密度试验 分别取空白血浆加入不同浓度的多西他赛溶液, 分别配置成质量浓度为 0.10、0.20、4.00、25.00 μ g/mL 的质量下限(lower limit of quantitation, LLOQ)、低、中、高四种不同浓度的标准血浆样品, 每个浓度平行配制 5 份, 按“1.2.2”项下方法处理, 按“1.2.1”项下色谱条件进样, 连续测定 3 d。记录多西他赛及紫杉醇峰面积, 计算其面积比, 将比值代入标准曲线方程计算测得量, 并且计算日内、日间精密度, 用相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)表示。

1.2.6 相对回收率试验 按“1.2.5”项下方法配制的 LLOQ、低、中、高 4 种不同质量浓度的多西他赛标准血浆样品(0.10、0.20、4.00、25.00 μ g/mL), 每个浓度平行配制 5 份, 按“1.2.2”项下方法处理, 按“1.2.1”项下色谱条件进样, 记录多西他赛及紫杉醇峰面积, 计算其面积比, 将比值代入标准曲线方程计算实际浓度。以下面的公式计算相对回收率。

相对回收率 = 测得的浓度/实际加入浓度 \times 100%。

1.2.7 稳定性实验 “1.2.5”项下方法配制低(0.20 μ g/mL)、高(25.00 μ g/mL)2 个浓度的多西他赛血浆样品溶液, 每个浓度平行配制 5 份, 分别考察大鼠血浆样品在室温条件下放置 6 h 后处理及处理后室温放置 6 h 的稳定性, -80 $^{\circ}$ C 条件下反复冻融 3 次的稳定性, -80 $^{\circ}$ C 条件下长期冻存 7 d、14 d 的稳定性。

1.2.8 药动学研究 将 24 只 SD 大鼠, 随机分为空白对照组、康艾低剂量组、康艾中剂量组和康艾高剂量组, 各 6 只。实验前 10 h 禁食不禁水。实验当天空白对照组注射同体积 0.9% 氯化钠注射液, 5 min 后, 尾静脉注射多西他赛(15 mg/kg)。康艾高、中、低剂量组分别尾静脉注射液康艾注射液 5.4、3.6、1.8 mL/kg, 间隔 5 min 后尾静脉注射多西他赛(15 mg/kg), 分别于注射后 3、5、10、15、30、60、120、240、360、480 min 眼底静脉丛取血 0.3 mL 放置于肝素化的离心管中, 3 500 r/min 离心 10 min, 取出上层血浆, 按“1.2.2”项下方法操作, 进行 HPLC 测定。

1.3 统计学方法 采用 DAS2.0 软件计算多西他赛的药动学参数, 采用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 方法专属性考察 结果表明,多西他赛和内标紫杉醇的保留时间分别为 8.5 min 和 9.5 min,多西他赛和紫杉醇的出峰时间内均无杂峰出现,即内标和血浆中内源性物质在该条件下对多西他赛均无干扰,满足生物样品测定的要求(见图 1)。

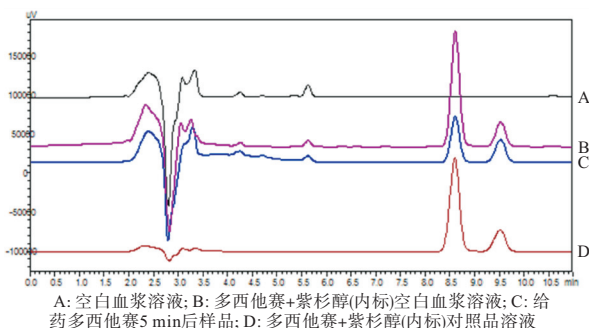


图1 方法专属性考察HPLC图

2.2 线性关系考察 以多西他赛与紫杉醇的峰面积比值 AAS/AIS 为纵坐标,以浓度为横坐标进行线性回归,得多西他赛标准曲线方程: $Y = 0.2293X - 0.0272$,多西他赛在 0.1 ~ 30 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数 R^2 为 0.9992, LLOQ 为 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3 精密度和相对回收率考察 结果表明, LLOQ、低、中、高 4 个浓度的日内精密度和日间精密度均 < 15%,说明该方法精密度高。该方法相对回收率符合药物检测要求,可用于生物样品中药物的分析(见表 1)。

表1 多西他赛在 SD 大鼠血浆样品中的精密度和相对回收率(%)

浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	日内 精密度 RSD	日间 精密度 RSD	相对 回收率/%
0.10	9.16	8.64	92.18 ± 7.23
0.20	10.58	9.04	98.15 ± 10.21
4.00	3.99	4.42	101.21 ± 4.04
25.00	2.32	3.35	99.15 ± 2.30

2.4 稳定性考察 结果表明,多西他赛的血浆样品在“室温条件下放置 6 h 后处理及处理后室温放置 6 h”、“-80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反复冻融 3 次”及“-80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下长期冻存 7 d、14 d”等条件下稳定性良好,符合生物样品中药物的分析要求。

2.5 药动学实验结果 多西他赛和内标紫杉醇的峰面积比带入随行标准曲线方程计算多西他赛血药浓度。各组的平均血药浓度-时间曲线(见图 2)。

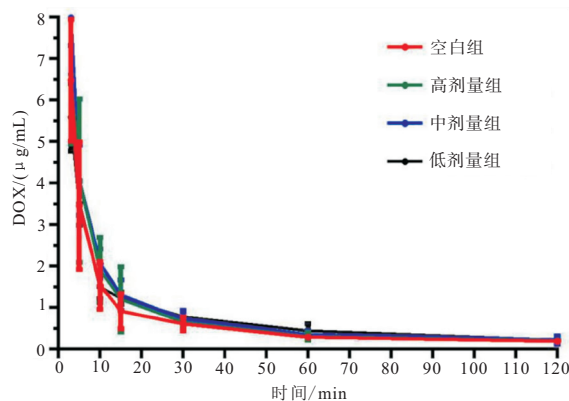


图2 大鼠体内多西他赛的平均血药浓度-时间曲线图($n=6$)

合三室模型,与说明书 I 期临床实验的结果一致,药动学参数见表 2。单因素方差分析结果显示低剂量组的消除半衰期($t_{1/2\gamma}$)和空白组相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。其余各组间 $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 、 V_1 、 CL 、 $AUC_{(0-t)}$ 和 $AUC_{(0-\infty)}$ 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

本实验建立了一种内源性物质不干扰大鼠血浆中多西他赛含量测定的 HPLC 方法。该方法简便、快速、专属性强、灵敏度相对较高,可有效测定大鼠血浆中多西他赛的含量。

康艾注射液药品说明书剂量为成人每天 40 ~ 60 mL,参照动物与人剂量换算比例折合成大鼠剂量为每天 3.6 ~ 5.4 mL/kg。但是临床在实际使用中常出现剂量不足和疗程不足的现象^[11-12],最终确定低剂量组康艾注射液浓度为 1.8 mL/kg,临床最常用剂量(40 mL/d)折合成的大鼠给药剂量 3.6 mL/kg 作为中剂量组。结合李昇刚等^[13]对大鼠体内康艾注射液急性毒性的实验结果选择接近大鼠最小中毒剂量 5.4 mL/kg 作为高剂量组。

实验结果显示,低剂量康艾注射液与多西他赛联用导致多西他赛药动学参数 $t_{1/2\gamma}$ 比空白组明显降低。 $t_{1/2\gamma}$ 降低表明两药联用时可能促使多西他赛的代谢增强,消除加快,为了达到有效的血药浓度,可能要缩短给药间隔。出现这种情况可能与康艾注射液诱导了多西他赛体内的代谢酶有关。中药成分复杂且研究较少与西药联合应用时容易出现药物相互作用(协同或拮抗),40% 的药物相互作用是由影响 CYP450 药物代谢酶所引起的^[14],多西他赛说明书明确显示多西他赛可被 CYP450 酶所代谢,而这种代谢又可以被其他 CYP450 酶的抑制剂所抑制。杨

经 DAS2.0 软件分析对照组和联合用药组均符

表2 大鼠体内多西他赛的房室模型参数($n_i = 6; \bar{x} \pm s$)

分组	$t_{1/2\alpha}/\text{min}$	$t_{1/2\beta}/\text{min}$	$t_{1/2\gamma}/\text{min}$	$V_1/(\text{L}/\text{kg})$	$CL/(\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}^{-1})$	$AUC_{(0-t)}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min})$	$AUC_{(0-\infty)}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min})$
空白组	1.36 ± 0.76	10.30 ± 6.83	67.67 ± 3.67	0.61 ± 0.35	0.11 ± 0.02	102.76 ± 23.15	138.20 ± 26.57
低剂量组	1.49 ± 1.08	5.01 ± 4.22	49.23 ± 17.24*	0.77 ± 0.60	0.11 ± 0.01	111.11 ± 12.91	143.39 ± 21.01
中剂量组	0.87 ± 0.53	8.55 ± 4.19	61.62 ± 17.19	0.30 ± 0.27	0.09 ± 0.01	126.95 ± 18.26	167.73 ± 23.46
高剂量组	1.81 ± 1.28	8.88 ± 8.66	66.22 ± 6.93	0.85 ± 0.57	0.12 ± 0.02	112.08 ± 25.17	146.71 ± 30.32
<i>F</i>	1.00	0.77	4.86	1.61	2.40	1.46	1.54
<i>P</i>	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
<i>MS</i> _{组内}	0.916	39.252	89.64	0.220	0.000	417.387	654.265

旭平等^[15]研究发现在体外中剂量(临床等效剂量)康艾注射液对SD大鼠CYP3A4有抑制作用。刘丽雅等^[16]研究发现在体外正常剂量下,康艾注射液对人肝微粒体CYP3A4/5无明显抑制作用。两篇文献都是在体外正常剂量下康艾注射液对CYP450亚型酶活性有或无抑制作用,并没有体内的和其他剂量的研究做参考。低剂量康艾注射液是否影响药物代谢酶,其影响机制,有待进一步研究证实。中高剂量组药动学参数没有明显差异说明按照说明书推荐剂量使用时两药联用不会发生相互作用。

综上所述,低剂量康艾注射液与多西他赛联用时注意调整给药间隔,中高剂量康艾注射液与多西他赛可以安全联用,不受影响,在临床使用时建议严格按照说明书推荐剂量使用。

[参 考 文 献]

- [1] 赵颖,王芮.抗肿瘤药物多西他赛研究进展[J].中国药业,2014,23(10):87.
- [2] 郭晨煜,孙永旭,祝伟伟,等.多西他赛不良反应及处理对策研究进展[J].中国药房,2013,24(48):4598.
- [3] 宋文霞,陈敏,成明建,等.康艾注射液的临床应用研究进展[J].现代医院,2014,14(3):47.
- [4] 樊慧婷,林洪生.康艾注射液治疗肿瘤的临床应用概况[J].肿瘤防治研究,2014,41(9):1045.
- [5] 唐路明.2010~2012年我院抗肿瘤中药注射剂使用情况分析[J].中国实用医药,2014,9(6):16.
- [6] 郑晓珂.多西紫杉醇+顺铂方案联合康艾注射液治疗晚期胃

癌的近期疗效及安全性[J].中国老年学杂志,2015,35(13):3619.

- [7] 严文辉,彭新茂,朱中山,等.康艾注射液联合DP方案治疗晚期非小细胞肺癌对照研究[J].中南药学,2009,7(5):384.
- [8] 赵镜平.康艾注射液联合多西他赛、顺铂治疗晚期非小细胞肺癌临床分析[J].中国现代医生,2009,47(33):25.
- [9] 姜林,孔庆志,胡贤主.康艾注射液配合DP方案化疗治疗中晚期非小细胞肺癌的临床研究[J].湖北中医药大学学报,2011,13(5):62.
- [10] IZZO AA,ERNST E. Interactions between herbal medicines and prescribed drugs; a systematic review[J]. Drugs,2001,61(15):2163.
- [11] 田云,杨玲,曹舫,等.肿瘤病人使用康艾注射液的合理性分析[J].安徽医药,2016,20(10):1974.
- [12] 万正兰,卓飞霞.肿瘤病人使用康艾注射液的合理性分析[J].临床合理用药杂志,2014,7(15):6.
- [13] 李昇刚,朱爱民,方选,等.康艾注射液急性毒性评价系统的建立[J].中国药师,2011,14(5):660.
- [14] INGELMAN-SUNDBERG M, SIM SC, GOMEZ A, *et al.* Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects [J]. Pharmacol Ther,2007,116(3):496.
- [15] 杨旭平,赖丹,黄毅岚,等.5种抗肿瘤中药注射液对CYP3A4酶代谢的影响[J].华西药学杂志,2014,29(5):550.
- [16] 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中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.

(本文编辑 刘璐)