

水溶性水飞蓟素对大鼠体内卡马西平药动学的影响研究

王敏^{1*}, 金贞姬², 杨长青^{1#} (1. 中国药科大学药学院, 南京 211198; 2. 延边大学附属医院药剂科, 吉林延吉 133000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)01-0068-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.01.22

摘要 目的: 研究水溶性水飞蓟素对大鼠体内卡马西平(CBZ)药动学的影响。方法: 取18只大鼠随机均分为对照组(生理氯化钠溶液)、水溶性水飞蓟素普通剂量(50 mg/kg)组、水溶性水飞蓟素高剂量(100 mg/kg)组, 灌胃给予相应药物, 每日1次, 连续给药7 d, 末次给药1 h后所有大鼠灌胃给予CBZ 50 mg/kg。分别于给药前及给予CBZ后0.5、1、1.5、2、4、6、8、10、12 h眼眶取血, 以地西洋为内标, 以高效液相色谱法测定血浆中CBZ及其代谢产物10, 11-环氧卡马西平(ECBZ)的浓度, 并利用WinNolin 5.2药动学软件计算药动学参数。结果: 与对照组比较, 水溶性水飞蓟素普通剂量组和水溶性水飞蓟素高剂量组大鼠体内CBZ的 K_a 明显增加[(0.31 ± 0.22) vs. (2.66 ± 3.12)、(5.26 ± 4.58) h⁻¹, $P < 0.05$], ECBZ的AUC_{0-12 h} [(53.87 ± 7.31) vs. (70.65 ± 12.79)、(68.44 ± 4.62) mg·h/L, $P < 0.05$], c_{max} [(7.20 ± 0.87) vs. (8.82 ± 0.54)、(8.19 ± 0.38) mg/L, $P < 0.05$]明显增加, 其余药动学参数比较差异无统计学意义。结论: 水溶性水飞蓟素连续服用可促进CBZ在大鼠体内的吸收, 同时有促进CBZ体内代谢的趋势, 临床上两者合用时应注意潜在的药物相互作用。

关键词 水溶性水飞蓟素; 卡马西平; 大鼠; 药物相互作用; 药动学

Effects of Water-soluble Silymarin on the Pharmacokinetics of Carbamazepine in Rats

WANG Min¹, JIN Zhen-ji², YANG Chang-qing¹ (1. College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. Dept. of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Yanbian University, Jilin Yanji 133000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of water-soluble silymarin on the pharmacokinetics of carbamazepine (CBZ) in rats. METHODS: 18 rats were randomly divided into control group (NaCl solution), water-soluble silymarin common-dose group (50 mg/kg) and water-soluble silymarin high-dose group (100 mg/kg), respectively. They were given relevant medicine once a day for consecutive 7 d. All rats were given CBZ 50 mg/kg intragastrically 1 h after last administration. The orbital blood samples were collected before medication and 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 h after CBZ therapy. Plasma concentration of CBZ and its metabolite carbamazepine 10, 11-Epoxy (ECBZ) were determined by HPLC using diazepam as internal standard. Pharmacokinetic parameters were calculated with WinNolin 5.2 pharmacokinetic software. RESULTS: Compared with control group, K_a of CBZ increased significantly [(0.31 ± 0.22) vs. (2.66 ± 3.12), (5.26 ± 4.58) h⁻¹, $P < 0.05$], AUC_{0-12 h} [(53.87 ± 7.31) vs. (70.65 ± 12.79), (68.44 ± 4.62) mg·h/L, $P < 0.05$] and c_{max} [(7.20 ± 0.87) vs. (8.82 ± 0.54), (8.19 ± 0.38) mg/L, $P < 0.05$] of ECBZ increased significantly in water-soluble silymarin common-dose group and water-soluble silymarin high-dose group; there was no statistical significant difference in other pharmacokinetic parameters. CONCLUSIONS: Consecutive administration of water-soluble silymarin may promote the absorption of CBZ and the metabolism of it in rats. Great importance should be attached to potential drug interaction of water-soluble silymarin and CBZ.

KEYWORDS Water-soluble silymarin; Carbamazepine; Rats; Drug interaction; Pharmacokinetics

卡马西平(Carbamazepine, CBZ)是临床常用的抗癫痫药, 治疗窗窄, 其药动学特征在个体间及个体内差异性较大, 临床使用时需进行治疗药物监测^[1]。CBZ在体内主要经细胞色素P₄₅₀(CYP)3A4途径代谢成活性代谢物10, 11-环氧卡马西平(ECBZ)^[2], 若合用对CYP3A4代谢酶具有抑制作用的药物, 会使CBZ的血药浓度升高, 甚至引起中毒^[3]; 另外, 一些长期常规剂量治疗的患者中也可能出现肉芽肿性肝炎、急性肝炎及肝细胞坏死等药源性肝损伤^[4]。当发生CBZ致药源性肝损伤时

需要使用益肝灵片(主要成分为水飞蓟素)等保肝药物治疗。

水飞蓟素是从水飞蓟种子中萃取的黄酮类混合物^[5], 包括水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭和异水飞蓟宾等, 其中最主要的活性成分是水飞蓟宾。药理学研究结果表明, 水飞蓟素具有明显的保肝作用及稳定肝细胞膜的作用, 对各种毒物引起的肝损害有不同程度的保护和治疗作用, 常用于急慢性肝炎、脂肪肝、中毒性肝损伤、初期肝损伤等的治疗^[6-7]。Beckmann-Knopp S等^[8]报道, 水飞蓟素在体外可抑制CYP3A4代谢酶活性, 但体内研究^[9]结果显示, 水飞蓟素对硝苯地平、茚地那韦、依立替康等CYP3A4底物的药动学参数无影响。本实验考察了水飞蓟素对大鼠体内CBZ药动学的影响, 为CBZ和水飞蓟素的临床合用提供理论依据。

* 硕士研究生。研究方向: 临床药学、药动学。E-mail: wangkaimin1989@163.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 临床药学、药动学。E-mail: ycq0315@yahoo.com

1 材料

1.1 仪器

LC-2010AHT 高效液相色谱 (HPLC) 仪 (日本 Shimadzu 公司)。

1.2 药品与试剂

CBZ 对照品 (批号: 0142-9503, 纯度: 99%)、地西洋对照品 (批号: 171225-200302, 纯度: 99%) 均购自中国食品药品检定研究院; ECBZ 对照品 (西格玛试剂公司, 批号: C175850, 纯度: 99%); 水飞蓟素原料药 (水溶性, 江苏省句容市倍思特医药材有限公司, 批号: 120513, 纯度: 40%); CBZ 片 (上海信谊黄河制药有限公司, 批号: 120502, 规格: 每片 0.1 g); 乙腈为色谱纯, 水为纯化水。

1.3 动物

SD 大鼠 18 只, ♂, 体质量 180~220 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 合格证号: SCXK (沪) 2008~0016。大鼠分笼饲养, 自由饮水, 给予标准颗粒饲料, 室温 (25±2) °C。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 CBZ 混悬液。精密称取 CBZ 对照品 250.7 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 用 CBZ 给药溶剂 [95% 乙醇-聚乙二醇 400 (PEG 400)-水 (2:5:13)] 溶解定容, 摇匀, 得 5 mg/ml 的 CBZ 混悬液, 4 °C 贮藏备用。

2.1.2 对照品溶液。精密称取 CBZ 对照品适量, 乙腈溶解定容, 配成质量浓度为 1 000 mg/L 的贮备液; 另精密称取 ECBZ 对照品适量, 甲醇溶解定容, 配成质量浓度为 5 000 mg/L 的贮备液, 4 °C 保存待用。临用时分别精密吸取上述贮备液适量, 用乙腈稀释成系列对照品溶液。

2.1.3 内标溶液。精密称取地西洋对照品适量, 用乙腈溶解稀释配制成质量浓度为 30 mg/L 的溶液。

2.2 HPLC 分析方法的建立^[10]

2.2.1 色谱条件。色谱柱: Inertsil ODS-SP (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 以乙腈-水梯度洗脱 (0.1~7 min, 乙腈 35%→70%; 7~11 min, 乙腈 70%; 11~13.5 min, 乙腈 70%→35%), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μl; 内标: 地西洋 (30 μg/ml)。

2.2.2 样品处理。取 50 μl 血浆至 1.5 ml 离心管中, 加入内标溶液 20 μl (30 mg/L), 再加入 130 μl 乙腈, 涡旋混合 60 s, 23 755×g 离心 10 min, 取上清液进样测定。

2.2.3 系统适用性试验。分别取空白血浆、水溶性水飞蓟素普通剂量组给予 CBZ 之前 30 min 的血浆样品、空白血浆+CBZ、水溶性水飞蓟素普通剂量组给予 CBZ 后 1.5 h 的血浆样品, 除前 2 种血浆不加内标外其余均按“2.2.2”项下方法处理, 进样测定。结果 CBZ、ECBZ 及内标的色谱峰分离良好, 保留时间分别为 4.5、6.0、8.7 min, 分离度均大于 1.5, 以 CBZ、ECBZ 及内标的色谱峰计算, 理论板数均不低于 3 000, 满足样品分析检测要求。色谱图见图 1。

2.2.4 标准曲线的制备。取空白血浆 50 μl, 分别加入内标溶液 20 μl 和含 CBZ 或 ECBZ 的对照品溶液 20 μl, 使血浆中 CBZ 质量浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0、25.0 mg/L, ECBZ 的质量浓度分别为 0.25、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 mg/L, 充分混匀, 加入 110 μl 乙腈, 涡旋混合 60 s, 23 755×g 离心 10 min, 取上清液进样测定。分别以 CBZ 或 ECBZ 与内

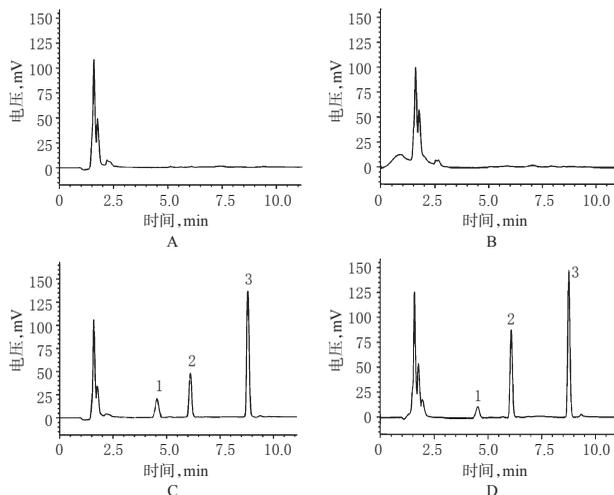


图 1 高效液相色谱图

A. 空白血浆; B. 给予 CBZ 前的血浆样品; C. 给予 CBZ 后的血浆样品+内标; D. 空白血样+对照品+内标; 1. ECBZ; 2. CBZ; 3. 地西洋

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank serum; B. plasma sample before CBZ therapy; C. plasma sample after CBZ therapy+internal standard; D. blank blood sample+substance control+internal standard; 1. ECBZ; 2. CBZ; 3. diazepam

标的峰面积之比(y)对质量浓度(x)进行线性回归分析。得回归方程为 CBZ: $y=0.0645x+0.0155$ ($r=0.9997$, $n=8$), ECBZ: $y=0.0408x+0.0142$ ($r=0.9990$, $n=8$)。CBZ、ECBZ 检测质量浓度线性范围分别为 0.5~25.0、0.25~20.0 mg/L, 检测限均为 0.1 mg/L。

2.2.5 精密度试验。按照“2.2.4”项下方法配制含 CBZ (0.5、16、25 mg/L) 或 ECBZ (0.25、10、20 mg/L) 的血浆样品, 处理后进样, 同日内测定 5 次, 连续测定 3 d, 考察日内和日间精密度。结果 CBZ 的日内 RSD 分别为 4.32%、2.10%、4.45% ($n=5$), 日间 RSD 分别为 4.77%、3.27%、4.68% ($n=3$); ECBZ 的日内 RSD 分别为 1.57%、3.20%、4.97% ($n=5$), 日间 RSD 分别为 3.92%、4.85%、4.65% ($n=3$)。

2.2.6 提取回收率试验。按照“2.2.4”项下方法配制含 CBZ (0.5、16、25 mg/L) 或 ECBZ (0.25、10、20 mg/L) 的血浆样品, 每一浓度进行 5 样本分析, 分别与相应质量浓度的 CBZ 或 ECBZ 对照品溶液进行分析的峰面积进行比较, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 提取回收率试验结果 ($n=3$)

Tab 1 Results of extraction recovery tests ($n=3$)

药品	质量浓度, mg/L	提取回收率, %	RSD, %
CBZ	0.2	95.7	2.9
	16	97.1	3.4
	25	98.5	2.3
ECBZ	0.2	93.5	3.3
	10	97.4	2.8
	20	98.2	4.7

2.3 药理学实验

取 18 只大鼠适应性饲养 1 周后称体质量, 随机均分为对照组 (生理氯化钠溶液)、水溶性水飞蓟素普通剂量 (50 mg/kg) 组、水溶性水飞蓟素高剂量 (100 mg/kg) 组, 灌胃 (ig) 给予相应药物, 每日 1 次, 连续给药 7 d, 给药剂量均按临床常用剂量换

算所得。末次给药1 h后所有大鼠ig给予CBZ 50 mg/kg。分别于给药前及给予CBZ后0.5、1、1.5、2、4、6、8、10、12 h眼眶取血,分离血浆,处理后进样测定,以内标法计算CBZ和ECBZ的血药浓度。大鼠体内CBZ和ECBZ的药-时曲线见图2。

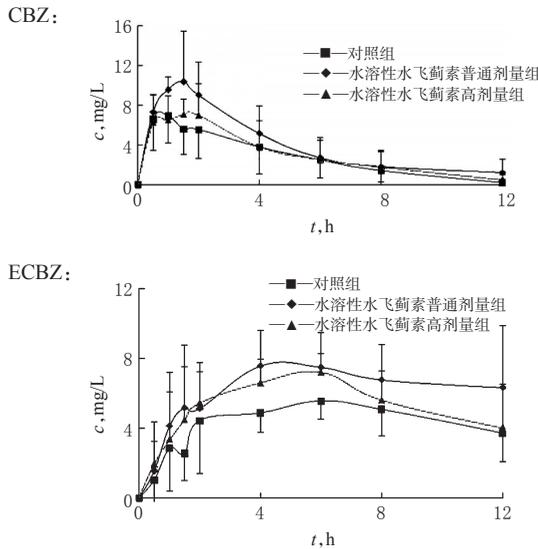


图2 大鼠体内CBZ和ECBZ的药-时曲线

Fig 2 Plasma concentration-time curves of CBZ and ECBZ in rats

采用WinNonlin 5.2药动学软件中的房室模型拟合并计算药动学参数。采用Graphpad Prism 5.0统计学软件中的Tukey多重t检验方法比较组间药动学参数的显著差异。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。大鼠体内CBZ和ECBZ的主要药动学参数见表2。

表2 大鼠体内CBZ和ECBZ的主要药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of CBZ and ECBZ in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	CBZ			ECBZ		
	对照组	水溶性水飞蓟素普通剂量组	水溶性水飞蓟素高剂量组	对照组	水溶性水飞蓟素普通剂量组	水溶性水飞蓟素高剂量组
AUC _{0-12h} , mg·h/L	50.22 ± 20.13	42.52 ± 11.61	40.45 ± 12.19	53.87 ± 7.31	70.65 ± 12.79*	68.44 ± 4.62*
CL/F, L/(kg·h)	0.11 ± 0.05	0.17 ± 0.10	0.96 ± 2.02	0.06 ± 0.03	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.03
V/F, L/kg	0.49 ± 0.40	0.51 ± 0.30	0.49 ± 0.22	0.54 ± 0.25	0.52 ± 0.08	0.27 ± 0.05
K _e , h ⁻¹	0.38 ± 0.26	0.30 ± 0.11	0.38 ± 0.15	0.12 ± 0.08	0.06 ± 0.04	0.23 ± 0.15
K _a , h ⁻¹	0.31 ± 0.22	2.66 ± 3.12*	5.26 ± 4.58*	3.08 ± 4.80	0.60 ± 0.78	2.13 ± 3.54
t _{1/2} , h	2.77 ± 1.82	2.57 ± 0.82	2.15 ± 1.05	8.83 ± 6.09	15.34 ± 11.97	4.49 ± 3.06
t _{max} , h	1.50 ± 0.00	1.33 ± 0.41	2.00 ± 1.00	4.67 ± 2.42	4.67 ± 1.15	4.88 ± 2.25
C _{max} , mg/L	7.43 ± 2.84	9.15 ± 1.04	6.30 ± 0.38	7.20 ± 0.87	8.82 ± 0.54*	8.19 ± 0.38*

注:与对照组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. control group, * $P < 0.05$

3 讨论

Beckmann-Knopp S等^[8]的体外研究结果表明,水飞蓟素对CYP3A4、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP1A2和CYP2A6等代谢酶具有抑制作用。Chang JC等^[11]报道,在大鼠体内水飞蓟素不影响CYP3A4底物——曲唑酮的代谢过程。van Erp NP等^[12]报道,在人体内水飞蓟素不影响经CYP3A4代谢的抗癌药物——伊立替康的体内代谢。而韩仰^[13]的人体内研究结果表明,水飞蓟素能够抑制CYP3A所介导的咪达唑仑羟化代

谢。祁英杰等^[14]报道,在大鼠体内水飞蓟素可加速经CYP代谢的药物——他莫昔芬的消除。

本试验结果显示,与对照组比较,水溶性水飞蓟素两个剂量组大鼠体内CBZ的K_e明显增加($P < 0.05$), ECBZ的AUC_{0-12h}、c_{max}明显增加($P < 0.05$),其余药动学参数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。这表明水飞蓟素连续服用可促进CBZ在大鼠体内的吸收,同时有促进CBZ体内代谢的趋势,临床上两者合用时应注意潜在的药物相互作用。

参考文献

- [1] 李金恒. 临床药物治疗监测的方法和作用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 28-39.
- [2] Kang P, Liao M, Wester MR, et al. CYP3A4-mediated carbamazepine (CBZ) metabolism: formation of a covalent CBZ-CYP3A4 adduct and alteration of the enzyme kinetic profile[J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(3): 490.
- [3] Pauwels O. Factors contributing to carbamazepine-macrolide interactions[J]. *Pharmacological Research*, 2002, 45(4): 291.
- [4] Björnsson E, Olsson R. Outcome and prognostic markers in severe drug-induced liver disease[J]. *Hepatology*, 2005, 42(2): 481.
- [5] Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1[J]. *Altern Med Rev*, 1998, 3(6): 410.
- [6] 张立海, 慈慧. 水飞蓟素保肝的药理作用及临床应用[J]. *首都医药*, 2012(8): 47.
- [7] Bode JC. Silymarin for the therapy of liver disease[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 1999, 94(2): 545.
- [8] Beckmann-Knopp S, Rietbrock S, Weyhenmeyer R, et al. Inhibitory effects of silybinin on cytochrome P-450 enzymes in human liver microsomes[J]. *Pharmacology & Toxicology*, 2000, 86(6): 250.
- [9] 胡帆, 袁洪, 黄志军, 等. 水飞蓟素的药动学及药物相互作用[J]. *中国新药与临床杂志*, 2009, 28(12): 881.
- [10] 邱雯, 鞠洋, 蒋学华, 等. 盐酸小檗碱对大鼠体内卡马西平及其代谢产物药动学的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2011, 31(9): 741.
- [11] Chang JC, Wu YT, Lee WC, et al. Herb-drug interaction of silymarin or silybinin on the pharmacokinetics of trazodone in rats[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2009(182): 227.
- [12] van Erp NP, Baker SD, Zhao M, et al. Effect of milk thistle (silybum marianum) on the pharmacokinetics of irinotecan[J]. *Clinical Cancer Research*, 2005, 11(21): 7800.
- [13] 韩仰. 水飞蓟素对CYP₄₅₀代谢酶以及P-糖蛋白转运体影响的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2009: 45-47.
- [14] 祁英杰, 闫小玉, 高文娟, 等. 水飞蓟素对大鼠体内他莫昔芬药动学的影响[J]. *中国药房*, 2013, 24(3): 210.

(收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-05-26)

(编辑: 邹丽娟)