

香叶木昔对格列苯脲在大鼠体内药动学的影响

崔明宇, 李聪慧, 孔晓悦, 张凯, 关枫, 杨柳, 马英丽(黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 考察香叶木昔在大鼠体内对格列苯脲药动学的影响。方法 12只SD大鼠随机分为香叶木昔组和对照组, 分别给予香叶木昔($325\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, ig, qd)和同体积CMC-Na溶液7d后, 灌胃给予格列苯脲, 于不同时间点采集血浆样品, 测定血药浓度, DAS 2.0计算主要药动学参数, 并进行统计学分析。结果 与对照组比, 香叶木昔组 $C_{\max}$ 显著降低($P<0.05$), $t_{\max}$ 显著缩短($P<0.05$), $\text{AUC}_{(0\rightarrow t)}$ 和 $\text{AUC}_{(0\rightarrow\infty)}$ 显著减少($P<0.05$), CL 显著增大($P<0.05$), $t_{1/2}$ 差异不显著。结论 香叶木昔影响格列苯脲在大鼠体内的药动学过程, 临床联合用药中应对格列苯脲的血药浓度进行监测, 以避免潜在的药物相互作用风险。

关键词: 香叶木昔; 格列苯脲; 药动学; 药物相互作用

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)07-0802-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.07.006

引用本文: 崔明宇, 李聪慧, 孔晓悦, 等. 香叶木昔对格列苯脲在大鼠体内药动学的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 802-805.

Effect of Diosmin on Pharmacokinetics of Glibenclamide in Rats

CUI Mingyu, LI Conghui, KONG Xiaoyue, ZHANG Kai, GUAN Feng, YANG Liu, MA Yingli(College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of diosmin on the pharmacokinetics of glibenclamide in rats. **METHODS** Twelve SD rats were randomly divided into the diosmin group and control group, which were administrated respectively with diosmin($325\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, ig, qd) and CMC-Na solution for 7 d. Glibenclamide was given to the rats by intragastric administration. The plasma concentration of glibenclamide was determined. Main pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 and analyzed statistically. **RESULTS** Compared with the control group, the $C_{\max}$ of the diosmin group was significantly lower($P<0.05$), $t_{\max}$ was significantly shortened($P<0.05$), the $\text{AUC}_{(0\rightarrow t)}$ and $\text{AUC}_{(0\rightarrow\infty)}$ of glibenclamide were significantly lower($P<0.05$), and the CL was significantly increased($P<0.05$). There were no significant difference between the two groups of $t_{1/2}$. **CONCLUSION** Diosmin can affect the pharmacokinetics of glibenclamide in rats. To avoid the potential risk of drug interaction, the plasma concentration of glibenclamide shall be monitored when combination.

KEYWORDS: diosmin; glibenclamide; pharmacokinetics; drug-drug interactions(DDI)

香叶木昔为黄酮类化合物, 存在于多种天然植物中, 如蓬子菜^[1]、薄荷^[2]、半边莲^[3]、柑橘属植物中的佛手^[4]、柠檬^[5]等。随着研究不断深入, 证明香叶木昔具有降糖^[6]、降压^[7]、抗肿瘤^[8]等广泛药理活性, 临床应用前景将越来越广泛。Hsu等^[6]研究发现香叶木昔通过激活咪唑啉受体, 提高肾上腺 β -内啡肽的分泌而调节糖尿病大鼠的血糖与血脂水平。Liu等^[9]研究发现, 香叶木昔对高血糖所致人类视网膜色素上皮细胞的氧化损伤具有良好的治疗作用。Jain等^[10]研究发现, 香叶木昔

可以预防糖尿病大鼠早期神经病变。可见香叶木昔有望成为良好的糖尿病及并发症的治疗药物。

格列苯脲临床多用于II型糖尿病的治疗, 由于其血浆蛋白结合率高、清除慢、联合用药方法不当易导致低血糖反应, 甚至发生致死的危险^[11]。故临床联合应用降糖药物及其他合并症治疗药物时应注意对格列苯脲体内药动学过程的影响。本研究探讨香叶木昔是否对格列苯脲的体内药动学过程产生影响, 为香叶木昔作为降糖药物开发的可行性及临床联合应用的安全性提供依据。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81274034); 黑龙江省自然科学基金项目(H2015044, H2015043); 黑龙江省教育厅科研项目(12531625); 研究生创新科研项目(yjsex2017057)

作者简介: 崔明宇, 女, 博士, 副教授, 硕士

Tel: (0451)87266902

E-mail: cuimingyu1971@163.com

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-2010A 高效液相色谱仪、SPD-M10 AVP 紫外检测器(日本岛津公司); BT25S 电子天平(德国 Sartorius 公司); XW-80A 涡旋混合器(上海医用仪器厂); TGL-16C 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂); KQ-50DB pH 计(瑞士 Mettler Toledo 公司); BF-2000 氮吹仪(北京八方世纪科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

格列本脲片(山西云鹏制药, 批号: 20150120; 规格: 每片 2.5 mg); 格列本脲对照品(批号: O0510AS; 纯度: 98%); 萘普生钠(批号: S0322AS; 纯度: 99%)均购自大连美伦生物; 色谱甲醇(美国 DIKMA 公司); 冰乙酸、磷酸氢二铵、磷酸为分析纯。

1.3 动物

SD 大鼠, ♂, 12 只, 体质量(200±20)g, 由青岛市实验动物中心提供, 生产许可证号: SCXK(鲁)20140001。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Topsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.2%冰乙酸(65:35, pH 3.4); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 290 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 10 μL。

2.2 专属性试验

在“2.1”项色谱条件下, 格列本脲和内标物萘普生钠的色谱峰分离良好, 保留时间分别为 15.1 min 和 9.7 min, 专属性强, 内源性物质对血浆样品测定无干扰, 见图 1。

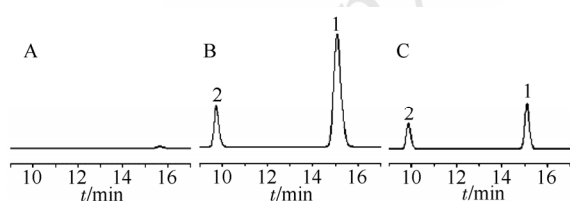


图 1 HPLC 色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆+格列本脲+内标物; C-血浆样品+内标物; 1-格列本脲; 2-萘普生钠。

Fig.1 HPLC chromatograms

A-blank plasma; B-blank plasma+glibenclamide+internal standard; C-plasma sample+internal standard; 1-glibenclamide; 2-naproxen sodium.

2.3 对照品贮备液的配制

格列本脲对照品贮备液: 精密称取格列本脲

对照品 10.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 甲醇定容。得 1.0 mg·mL⁻¹ 格列本脲对照品贮备液。4 °C 保存备用。

萘普生钠内标溶液: 精密称取萘普生钠对照品 10.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 得 1.0 mg·mL⁻¹ 萘普生钠对照品贮备液。再以甲醇为溶剂配制成 2 μg·mL⁻¹ 萘普生钠内标液。4 °C 保存备用。

2.4 样品处理

取 100 μL 待测血浆样品置 5 mL 离心管中, 加入 2 μg·mL⁻¹ 萘普生钠内标液 50 μL, 涡旋混合 2 min 后, 加入 2 mL 氯仿, 继续涡旋混合 2 min, 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 精密移取 1.5 mL 上清液至 2 mL 离心管中, 40 °C 水浴下氮气吹干, 残渣以 100 μL 甲醇复溶, 涡旋后 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取 10 μL HPLC 进样测定。

2.5 标准曲线的制备

精密吸取不同体积格列本脲对照品贮备液于 5 mL 离心管中, 40 °C 水浴下氮气吹干, 加入 100 μL 空白血浆, 涡旋混合, 配成浓度分别为 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 μg·mL⁻¹ 的系列标准血浆样品, 按“2.4”项下进行血浆样品处理并进行测定。测定结果以格列本脲与萘普生钠的峰面积比值(Y)对格列本脲浓度(X)进行线性回归, 得回归方程 $Y=1.0861X+0.096$ ($r^2=0.9983$), 线性范围 0.05~1.6 μg·mL⁻¹, 定量限为 0.05 μg·mL⁻¹, 检测限为 0.02 μg·mL⁻¹。

2.6 回收率与精密度

精密吸取格列本脲对照品贮备液, 氮气吹干, 加入 100 μL 空白血浆, 依次制成浓度为 0.05, 0.4, 1.6 μg·mL⁻¹ 的血浆样品各 5 份, 按“2.4”项下样品处理方法操作; 另取格列本脲对照品贮备液用甲醇依次配制成相应浓度的格列本脲对照品溶液, 加入 2 μg·mL⁻¹ 萘普生钠内标液 50 μL, 涡旋混合, 直接进样。将 2 组中格列本脲的峰面积进行比较, 计算得提取回收率分别为 98.88%, 84.58%, 87.44%(n=5)。测定格列本脲浓度为 0.05, 0.4, 1.6 μg·mL⁻¹ 时的日内精密度和日间精密度, 日内精密度 RSD 分别为 7.60%, 2.07%, 4.28%(n=5), 日间精密度 RSD 分别为 2.99%, 5.34%, 3.37%(n=5)。回收率与精密度均符合生物样品测定要求。

2.7 药动学研究

SD 大鼠 12 只, 随机分为 2 组, 每组 6 只。香叶木昔组每日给予香叶木昔($325 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig, qd), 对照组给予相同体积 CMC-Na 溶液, 连续给药 7 d。禁食 12 h, 于第 7 天在分别给予香叶木昔和 CMC-Na 溶液 30 min 后, 灌胃给予格列苯脲 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [12], 在给药前和给药后 15, 30 min, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 9, 12, 24 h 经眼眶取血 0.3 mL, 置 1.5 mL 肝素化离心管中, $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离得血浆。按“2.4”项下方法处理后进样测定, 计算血药浓度并绘制血药浓度-时间曲线, 见图 2。

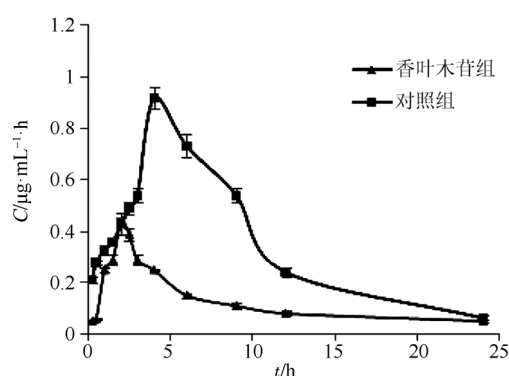


图 2 香叶木昔组与对照组大鼠体内格列苯脲血药浓度-时间曲线($n=6$)

Fig. 2 Blood concentration-time curve of glibenclamide in diosmin group and control group($n=6$)

2.8 药动学参数

采用 DAS 2.0 软件对香叶木昔组与对照组的血药浓度-时间数据进行分析, 计算药动学参数。以 SPSS 17.0 统计学软件对 2 组数据进行显著性分析, 结果见表 1。

表 1 格列苯脲在香叶木昔组与对照组大鼠体内药动学参数($n=6$)

Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of glibenclamide in diosmin group and control group($n=6$)

药动学参数	对照组	香叶木昔组
$t_{1/2}/\text{h}$	5.03 ± 0.76	4.27 ± 0.04
$CL/L \cdot \text{h}^{-1}$	2.28 ± 0.03	$6.45 \pm 0.26^{1)}$
$AUC_{(0 \rightarrow t)}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	8.34 ± 0.04	$3.04 \pm 0.06^{1)}$
$AUC_{(0 \rightarrow \infty)}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	8.77 ± 0.20	$3.99 \pm 0.40^{1)}$
t_{max}/h	4.05 ± 0.09	3.10 ± 0.09
$C_{\text{max}}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.92 ± 0.04	$0.44 \pm 0.02^{1)}$

注: 与对照组比较, $^{1)}P < 0.05$ 。

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

3 讨论

格列苯脲为 CYP2C9 的代谢底物, 而 CYP2C9 所具有的基因多态性则导致药物代谢具有较大的个体差异。张琦等[13]研究发现, 通过检测患者的血糖水平和 CYP2C9 基因型, 分析低血糖与 CYP2C9 基因型的关系, 结果表明格列苯脲所诱发的低血糖组与其他因素诱发低血糖组或无低血糖组比, CYP2C9 基因型的差异有统计学意义, 说明格列苯脲所致 2 型糖尿病患者低血糖可能和 CYP2C9 基因突变($CYP2C9^*1/*3$)有关。Yang 等[14]研究发现, 受 CYP2C9 基因遗传多态性的影响, 格列苯脲在突变型 $CYP2C9^*2, *3$ 重组酶中的代谢活性显著低于野生型 $CYP2C9^*1$ 。可见, 在临床联合用药中, 基于 CYP2C9 酶基因的多态性会使药物相互作用更加复杂。

Bedada 等[15]研究发现, 香叶木昔可使 CYP3A4 代谢底物卡马西平在人体内代谢减慢, 说明香叶木昔对制 CYP3A4 代谢酶的活性具有抑制作用, 目前有关香叶木昔对 CYP2C9 及其他亚型代谢酶活性的影响尚无报道。

课题组在前期通过体外实验发现, 香叶木昔对大鼠 CYP450 酶的活性具有诱导作用[16]。本研究结果表明, 香叶木昔联合格列苯脲与单独应用格列苯脲相比, 可使格列苯脲在大鼠体内的 C_{max} 降低 ($P < 0.05$), AUC 减少 ($P < 0.05$), CL 增大 ($P < 0.05$), 说明香叶木昔可导致格列苯脲在大鼠体内代谢速度加快, 生物利用度降低, 此结果是否与对大鼠 CYP2C11(对应人体 CYP2C9)具有诱导作用相关, 其具体作用机制、种属间的差异性及对体内 CYP2C9 不同基因型的影响还需通过实验进行深入的探讨。另外, 香叶木昔对其他与药物代谢密切相关的 CYP1A2, 2D6, 2E1, 2C19 等亚型酶活性的影响亦应引起关注。

除代谢酶活性影响外, 格列本脲的水溶性较差, 香叶木昔联合用药组可能因黏度增大而进一步减少格列本脲的吸收, 导致 C_{max} 与 AUC 值降低。

目前, 以香叶木昔为主要成分的制剂——爱脉朗, 作为静脉功能不全的预防与治疗药物已在临床应用, 随着对其降糖活性研究的不断深入, 香叶木昔未来有望成为良好的糖尿病治疗药物。鉴于血糖水平对患者的重要性, 香叶木昔与其他糖尿病治疗药物临床联合应用的安全性亦应引起足够的重视。

REFERENCES

- [1] 马英丽, 卢卫红, 于晓敏, 等. 蓬子菜的化学成分研究(I) [J]. 中草药, 2005, 36(10): 1464-1466.
- [2] XU J J, XU C, LIU B. HPLC simultaneous determination of four flavone glycosides in *Menthae Haplocalycis* Herba during different harvest periods [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(12): 2077-2081.
- [3] JIANG Y Y, SHI R B, LIU B, et al. Studies on chemical constituents of flavones from *Lobelia chinensis* Lour [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2009, 32(1): 59-61.
- [4] YIN F, CHENG L, LOU F C. Studies on the constituents of *Citrus medica* L. var. *Sarcodactylis*(Noot.) Swingle [J]. Chin J Nat Med, 2004, 2(3): 149-151
- [5] ZHANG Q, TAN C N, CAI L, et al. Characterization of active antiplatelet chemical compositions of edible Citrus limon through ultra-performance liquid chromatography single quadrupole mass spectrometry-based chemometrics [J]. Food Funct, 2018, 9(5): 2762-2773.
- [6] HSU C C, LIN M H, CHENG J T, et al. Antihyperglycaemic action of diosmin, a Citrus flavonoid, is induced through endogenous β -endorphin in type I-like diabetic rats [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(5): 549-555.
- [7] SILAMBARASAN T, RAJA B. Diosmin, a bioflavonoid reverses alterations in blood pressure, nitric oxide, lipid peroxides and antioxidant status in DOCA-salt induced hypertensive rats [J]. Eur J Pharmacol, 2012, 679(1/3): 81-89.
- [8] DUNG T D, DAY C H, BINH T V, et al. PP2A mediates diosmin p53 activation to block HA22T cell proliferation and Tumor growth in xenografted nude mice through PI3K-Akt-MDM2 signaling suppression [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(5): 1802-1810.
- [9] LIU W Y, LIOU S S, HONG T Y, et al. The benefits of the Citrus flavonoid diosmin on human retinal pigment epithelial cells under high-glucose conditions [J]. Molecules, 2017, 22(12): E2251.
- [10] JAIN D, BANSAL M K, DALVI R, et al. Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats [J]. J Integr Med, 2014, 12(1): 35-41.
- [11] MA M L, GUO M H, YANG L J. Literature analysis of the hypoglycemia deaths caused by glibenclamide [J]. Chin J Pharmacovigil(中国药物警戒), 2012, 9(2): 110-113.
- [12] LIN S, PAN P P, HU G X. Effect of glipizide and glibenclamide on the pharmacokinetics of losartan [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34(1): 85-88.
- [13] ZHANG Q, PENG M G, JIANG P P, et al. Preliminary studies on relationship between sulphonylureas-induced hypoglycemia and CYP2C9 genotype in patients with type 2 diabetes [J]. Adv Drug React J(药物不良反应杂志), 2008, 10(6): 387-391.
- [14] YANG F Y, LIU L L, CHEN L, et al. OATP1B3(699G>A) and CYP2C9*2, *3 significantly influenced the transport and metabolism of glibenclamide and glipizide [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 18063.
- [15] BEDADA S K, BOGA P K. Influence of diosmin on the metabolism and disposition of carbamazepine in healthy subjects [J]. Xenobiotica, 2017, 47(10): 879-884.
- [16] CUI M Y, WANG M W, YANG L, et al. Effect of diosmin from *Galium verum* L. on activity of cytochrome P450 enzymes in rat liver microsomes [J]. J Harbin Univ Commer Nat Sci Ed(哈尔滨商业大学学报: 自然科学版), 2016, 32(4): 406-408.

收稿日期: 2019-01-06

(本文责编: 沈倩)