

环孢霉素 A 和阿苯哒唑脂质体在大鼠体内代谢的相互影响

邵英梅, 赵晋明, 王建华, 林筱琦, 温浩, 陈实 (新疆医科大学第一附属医院, 新疆 乌鲁木齐) 830054

摘要:目的 探讨环孢霉素(CsA)与阿苯哒唑脂质体(L-ABZ)在Wistar大鼠体内代谢的相互影响。方法 采用高效液相色谱法对单用CsA或L-ABZ,以及CsA与L-ABZ联合用药后血中阿苯哒唑及代谢产物砵和亚砵的浓度和CsA的血药浓度测定。**结果** 1. CsA与L-ABZ在代谢方面存在着一定的相互影响。2. L-ABZ与CsA联合用药后,ABZ、ABZSX和ABZSN在体内的消除半衰期、平均驻留时间延长,清除率下降。3. CsA组、CsA+L-ABZ组单次服用CsA后,两组之间CsA的血药浓度-时间曲线及曲线下面积AUC经检验无统计学差异($P>0.05$),连续给药3d后的CsA血药浓度,CsA组、CsA+L-ABZ组联合用药组之间有统计学差异($P<0.01$)。**结论** CsA与L-ABZ在代谢方面存在着一定的相互影响。

关键词: CsA; 阿苯哒唑脂质体; 代谢; 药代动力学

Mutual influence between the metabolism of CsA and L-ABZ in rats

SHAO Ying-mei, ZHAO Jin-ming, WANG Jian-hua, *et al* (Department of General Surgery and Pharmacology, First Teaching Hospital, Xinjiang medical university, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the mutual influence between CsA and L-ABZ metabolism in vivo. **METHOD** CsA, Albendazole (ABZ) concentration and its metabolites (ABZSX, ABZSN) were measured by HPLC at different sampling time. **RESULTS** 1. There exist certain mutual influence between the metabolism of CsA and L-ABZ in. 2. The elimination half life, mean residence time, and clearance of L-ABZ were reduced in vivo, when L-ABZ combined CsA. 3. A single administration of combined CsA and L-ABZ, the CsA concentration was not significantly, consecutive use of CsA was significantly lower than that of L-ABZ was used alone. **CONCLUSION** There exist certain mutual affection of CsA and L-ABZ in rats.

阿苯达唑(Albendazole, ABZ), 又名丙硫咪唑, 属苯并咪唑类抗寄生虫药物, 是目前 WHO 包虫病指导纲要所推荐的首选抗棘球蚴的药物之一^[1]。ABZ 在体内迅速代谢为阿苯达唑亚砷(ABZSX)、阿苯达唑砷(Albendazole sulphone, ABZSN)和 2-氨基苯并咪唑, 其中以 ABZSX 和 ABZSN 为主。由于 ABZ 不溶于水及大部分有机溶剂, 致使该药肠道吸收较差, 血药、肝药浓度相对较低, 严重影响了该药的疗效^[2]。脂质体是一种定向药物载体, 可以提高 ABZ 的生物利用度和疗效, 具有明显的肝脏靶向性^[3]。

目前肝移植已成为晚期肝泡球蚴病的治疗手段之一, 由于泡球蚴本身具有转移的特点, 同时, 大部分患者就诊较晚, 移植后可能存在转移灶及残留病变^[4], 因此, 移植后, 应用常规免疫抑制治疗的同时, 有抗泡球蚴治疗的必要, 但常用的免疫抑制剂环孢霉素和阿苯达唑脂质体有无相互影响尚不清楚。本实验着重考虑 CsA 与 L-ABZ 在代谢方面是否存在一定的相互影响, 以期为临床合理用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂和药物

阿苯达唑(ABZ)标准品、阿苯达唑亚砷(ABZSX)、阿苯达唑砷(ABZSN)、环孢素标准品(四川抗生素研究所生产), 阿苯达唑脂质体(L-ABZ)(新疆包虫病临床研究所药剂室提供)。CsA 针剂(诺华制药公司生产), Waters 2695 (Alliance)高效液相色谱仪(美国), XW-80 型旋涡混合器(上海医学院仪器厂), TGL-16B 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 实验动物

30 只 Wistar 大鼠, 鼠龄 6 个月, 体重 300 ~ 350g(由新疆医科大学动物实验中心提供)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组 30 只 Wistar 大鼠随机分为三组(CsA 组、阿苯达唑脂质体组、CsA + 阿苯达唑脂质体组); CsA 组剂量 10mg(kg·d), 阿苯达唑脂质体剂量 50mg(kg·d), CsA + 阿苯达唑脂质体组剂量分别与以上两组相同。口服灌药后, 分别在 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48h 采尾静脉血, 然后连续灌药 3d 达到稳态浓度后, 处死动物, 取肝、肾脏观察病变同时检查肝脏功能。血样用 HPLC 法测定 ABZ 及其主要代谢产物 ABZSX 和 ABZSN 的血药浓度, CsA 的血药浓度。

1.3.2 HPLC 测定 ABZ 及其代谢产物 ABZSX、ABZSN 的方法

1.3.2.1 标准溶液与内标液的配制 阿苯达唑(ABZ)阿苯达唑亚砷(ABZSX)阿苯达唑砷(ABZSN)标准溶液的配制: 精密称取干燥恒重的 ABZ、ABZSX、ABZSN 标准品各 10mg, 于 10mL 容量瓶中, 加甲酸 2mL, 振摇溶解后, 以色谱级甲醇分别稀释至刻度作为标准储备液, 冰箱冷藏备用。甲苯咪唑(MBZ)标准溶液的配制: 精密称取干燥恒重 MBZ 10mg, 加甲酸 2mL, 振摇溶解后, 加色谱级甲醇分别稀释至刻度作为内标准储备液。精密量取标准储备液, 适量, 用色谱乙酸乙

酯稀释至 1 μ g/mL 的甲苯咪唑内标应用液, 备用。

1.3.2.2 样品的预处理 取血浆 0.2mL, 置 1.5mL 塑料离心管中, 依次加入磷酸缓冲液 0.2mL, 内标应用液 0.5mL, 旋涡震荡 2min, 离心 5min(8000r/min)。吸取上清液(有机层)转移至另一离心管中, 作为 A 液。于第一管中再加入乙酸乙酯 0.5mL, 旋涡震荡 2min, 离心 5min(8000r/min)。吸取上清液(有机层)。吸取上清液与 A 液合并, 50 ~ 55 $^{\circ}$ C 水浴上蒸干, 残留物用 60 μ L 甲醇重溶, 高效液相色谱仪进样 30 μ L。

1.3.2.3 色谱条件 色谱柱: 3.9 $\times$ 150mm (Symmetry ShieldTM RP18, 粒径 5 μ m); 检测波长: 292nm; 流动相: 甲醇: 水: 乙腈 = (20:56:24); 流速: 1.0mL/min; 进样量: 30 μ L; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

1.3.3 HPLC 法测定 CsA 的方法

1.3.3.1 环孢素 A(CsA)标准溶液的配制 精密称取 CsA 标准品 10mg, 于 10mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度作为标准储备液, 冰箱冷藏备用。精密量取标准储备液适量, 用甲醇稀释至 10 μ g/mL 的 CsA 应用液, 备用。

1.3.3.2 样品预处理和色谱条件的选择 样品的预处理: 取全血 0.2mL, 置 1.5mL 塑料离心管中, 依次加入 180mM HClO₄ 0.2mL, 乙醚 0.8mL, 旋涡震荡 2min, 离心 3min(10000r/min)。吸取上清液(有机层)转移至另一离心管中, 作为 A 液。于 A 液中加入 95mmol NaOH 0.2mL, 旋涡震荡 2min, 离心 3min(10000r/min)。吸取上清液(有机层)转移至另一离心管中, 40 $^{\circ}$ C 水浴上挥干, 残留物用 50 μ L 甲醇重溶, 再加入 100 μ L 正己烷, 旋涡震荡 1min, 离心 2min(10000r/min)。吸取下层(甲醇层)转移至进样瓶中, 进样测定, 并按已建立的标准曲线方程计算 CsA 血药浓度。

色谱条件: 色谱柱: 3.9 $\times$ 150mm (Symmetry ShieldTM RP18, 粒径 5 μ m); 检测波长: 210nm; 流动相: 甲醇: 水 = (80:20); 流速: 1.0mL/min; 进样量: 30 μ L; 柱温: 60 $^{\circ}$ C。

1.3.3.3 标准曲线制备 以大鼠空白全血 0.2mL 于 1.5mL 塑料离心管中, 0.5 ~ 4.5 μ g/mL 浓度范围内制成标准系列样品, 按“样品预处理”项下方法处理后, 进样 30 μ L 并测定, CsA 峰面积对浓度进行线性回归, 得到标准曲线回归方程。

1.4 数据处理

将按所建立 HPLC 法提取分离测定, 计算血中药物及代谢产物浓度, 并用 SPSS10.0 统计软件进行检验, 结果见表和图。

2 结果

2.1 单次灌药 48h 内各组各时点 ABZ 在 L-ABZ 及 CsA + L-ABZ 组中的血药浓度, 经检验无差异($P > 0.05$)。

2.2 单次灌药 48h 内各组各时点 ABZSX 在 L-ABZ 及 CsA + L-ABZ 组中的血药浓度, 经检验无差异($P > 0.05$)。

2.3 单次灌药 48h 内各组各时点 ABZSN 在 L-ABZ 及 CsA + L-ABZ 组中的血药浓度, 经检验无差异($P > 0.05$)。

2.4 连续灌药 3d 后两组中 ABZ、SX 及 SN 的血药浓度, 经

检验两组间血药浓度有差异($P < 0.05$)。见表1。

表1 连续灌药3dABZ、SN、SX的血药浓度(单位: $\mu\text{g/mL}$)

药物及代谢产物	L- ABZ 组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)	L-ABZ + CsA ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
ABZ	39.916	40.937
SN	56.642	73.018
SX	143.426	151.594

注: 两组相比, $P < 0.05$

2.5 单次灌药48h内各组各时点后血液中CsA在CsA及CsA + L-ABZ组的血药浓度, 经检验无差异($P > 0.05$)。

2.6 连续灌药3d后两组中CsA的血药浓度, 经检验有显著性差异($P < 0.01$), 见表2。

表2 连续灌药3dCsA的血药浓度(单位: $\mu\text{g/mL}$)

药物	L- ABZ 组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)	L-ABZ + CsA ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
CsA	1.99 ± 0.88	1.28 ± 0.41

注: 两组相比, $P < 0.01$

2.7 连续灌药3d后肝功能各项指标结果, CsA组与CsA + L-ABZ组经检验有显著性差异($P < 0.01$)。见图1。

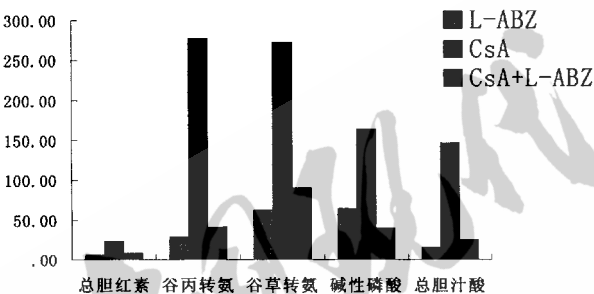


图1 CsA组与CsA + L-ABZ组肝功能各项指标结果

2.8 将单次给药后阿苯达唑脂质体组、阿苯达唑脂质体与环孢素联合用药组的阿苯达唑血药浓度-时间数据用3p87药代动力学程序软件包分别进行模型嵌合, 以Akaike's信息判据AIC值、回归系数、拟合优度等为指标, 确定药物在体内的处置状态符合一级吸收二室模型结果见表3。

表3 两组大鼠体内阿苯达唑的药物动力学参数

药动学参数	L-ABZ 组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)	L-ABZ + CsA 联合用药组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
A ($\mu\text{g/mL}$)	13.21 ± 1.29	7.24 ± 10.33
α (1/h)	1.02 ± 0.98	1.78 ± 1.90
B ($\mu\text{g/mL}$)	1.86 ± 1.01	1.96 ± 1.36
β (1/h)	0.10 ± 0.05	$0.05 \pm 0.02^{(1)}$
Ka (1/h)	1.62 ± 2.19	1.44 ± 1.56
V/F(c)(mg/kg) ($\mu\text{g/mL}$)	15.45 ± 10.25	19.80 ± 6.45
$T_{1/2\alpha}$ (h)	1.48 ± 1.28	1.29 ± 1.39
$T_{1/2\beta}$ (h)	10.18 ± 4.37	$13.26 \pm 5.14^{(1)}$
$T_{1/2}$ Ka (h)	1.69 ± 2.38	1.65 ± 2.14
k21 (1/h)	0.30 ± 0.21	0.42 ± 0.69
k10 (1/h)	0.71 ± 1.09	0.68 ± 1.05
k12 (1/h)	0.20 ± 0.27	0.65 ± 1.18
AUC(($\mu\text{g/mL}$) $\times$ h)	16.71 ± 7.49	30.68 ± 20.58
CL(s)(mg/kg/h)	3.42 ± 1.18	$1.99 \pm 0.66^{(1)}$

药动学参数	L-ABZ 组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)	L-ABZ + CsA 联合用药组 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
T(peak) (h)	1.80 ± 1.09	1.61 ± 0.86
C($\mu\text{g/mL}$)	1.59 ± 0.41	1.91 ± 0.34
MRT(0 - T(n) (h)	8.69 ± 1.78	$10.84 \pm 0.62^{(1)}$

注: 两组间比较¹⁾ $P < 0.053$ 讨论

阿苯达唑(Albendazole)是一种有效的抗棘球蚴病药物, ABZ在体内迅速代谢为阿苯达唑亚砷(ABZSX)、阿苯达唑砷(Albendazole sulphone, ABZSX)。脂质体是一种定向药物载体, 其成分为磷脂, 而磷脂是生物膜的组成成分, 具有生物降解性和生物相容性, 可以提高ABZ的生物利用度和疗效, 具有明显的肝脏靶向性。目前肝移植是治疗晚期肝泡球蚴病有效手段之一, 由于泡球蚴本身具有转移的特点, 同时, 大部分患者就诊较晚, 移植后可能存在转移灶及残留病变^[5], 因此, 移植后, 常规免疫抑制治疗的同时, 有抗泡球蚴治疗的必要, 我们的实验初步表明CsA与L-ABZ在代谢方面存在着一定的相互影响。

L-ABZ组、L-ABZ + CsA联合用药组单次用药后, 两组之间的ABZ、SN、SX大部分药动学参数经检验均无统计学差异($P > 0.05$), 而消除半衰期 $T_{1/2\beta}$ 、平均驻留时间MRT、清除率CL(s)经检验有统计学意义($P < 0.05$), L-ABZ + CsA联合用药组的消除半衰期 $T_{1/2\beta}$ 、平均驻留时间MRT大于L-ABZ组, L-ABZ + CsA联合用药组的清除率CL(s)小于L-ABZ组; 说明ABZ与CsA联合用药后, ABZ在体内的消除半衰期、平均驻留时间延长, 清除率下降, 除此之外的其它体内处置特征基本相同。提示由于CsA使ABZ在动物体内消除半衰期延长、清除率下降, 常规、长期用药可能造成蓄积中毒, 给药方案要进行适当调整。具体给药方案如何调整, 有待做进一步实验。

CsA组、CsA + L-ABZ组单次服用CsA后, 两组之间的血药浓度-时间曲线及曲线下面积(AUC)经检验无统计学意义($P > 0.05$), 说明单次服用CsA后, 两组之间CsA在体内的处置无意义, 即单次服用CsA, L-ABZ对CsA在体内的处置影响不大; 而连续给药3d后的CsA血药浓度, CsA组、CsA + L-ABZ组联合用药组之间有统计学意义($P < 0.01$), CsA + L-ABZ联合用药组的CsA血药浓度低于CsA组, 说明CsA与L-ABZ联合用药时, 在多次连续给药后, L-ABZ对CsA的体内清除有一定的影响, L-ABZ使CsA血药浓度降低, 提示两药合并用药且多次重复给药时, 需调整CsA的给药方案或给药剂量。

CsA组、CsA + L-ABZ组连续3d灌药后, 检测各组肝脏功能, 结果发现, CsA组肝功能各项指标中酶指标显著升高, 提示CsA的肝脏毒性作用, 有意义的是在CsA + L-ABZ组中相应的酶指标却明显下降, 原因可能是(1)脂质体是一种定向药物载体, 其主要成分为磷脂, 磷脂在某种程度上对肝脏功能有保护作用; (2)阿苯达唑脂质体与CsA联合用药时, 使CsA血药浓度较单用CsA组的血药浓度降低, 减轻了CsA的肝脏毒性。

本文通过对血药浓度和各项肝功能指标的变化初步地

探讨了 CsA 和 L-ABZ 联合用药后的药物相互作用,两药在体内相互作用的详细机制还有待于今后更进一步地研究和探讨。

参考文献

- [1] Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in human. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Bull. World Health Organ. 1996,74(3):231.
- [2] Ingold K. Efficacies of albendazole sulphoxide and albendazole sul-

fone against in vitro-cultivated *Echinococcus multilocularis* metacystodes. Antimicrob Agents Chemother 1999,43:1052.

- [3] Wen H. Pharmacology and efficacy of liposome-entrapped albendazole in experimental secondary alveolar echinococcosis and effect of co-administration with cimetidine. Parasitology. 1996 Aug; 113 (Pt 2): 111.
- [4] Wen, H. and Yang, WG. Public health importance of cystic echinococcosis in China, Acta Tropica. 1997,67:133.

收稿日期:2002-12-25