

联用氟西汀对大鼠体内环磷酰胺药代动力学过程及参数的影响

高晓芬 任宇*

浙江省台州医院药剂科 浙江台州 317000

摘要: 目的 运用高效液相色谱法建立环磷酰胺的血药浓度检测方法,探究联用氟西汀对环磷酰胺的药动学过程及特征参数的影响,为临床合理用药提供理论参考。方法 16只SD雄性大鼠随机分成对照组和实验组,对照组给予环磷酰胺 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,实验组同时给予环磷酰胺 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和氟西汀 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。使用高效液相色谱仪测定大鼠血浆中环磷酰胺的血药浓度。色谱条件如下:流动相采用乙腈:水=30:70,柱温 35°C ,流速为 $1.0\text{mL}/\text{min}$,检测波长 195nm 。甲醇处理血清样品,沉淀蛋白并离心后,取上清液 $20\mu\text{L}$ 直接进样。测定大鼠血浆中环磷酰胺的血药浓度并采用 DAS2.0 进行药代动力学参数拟合分析。结果 实验组峰浓度 (C_{max}) 和曲线下面积 (AUC) 显著从 $24.21\pm 3.94\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $101.37\pm 0.03\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$ 增加到 $24.73\pm 6.09\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $156.00\pm 0.46\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$ 。对照组和实验组总血浆清除率分别为 0.99 ± 0.02 和 $0.67\pm 0.02\text{L}/\text{h}$ 。同时,半衰期 ($t_{1/2}$) 从 $7.17\pm 0.22\text{h}$ 延长到 $8.57\pm 0.05\text{h}$ 。结论 氟西汀可使环磷酰胺在大鼠体内的药物动力学显著变化。临床上联用环磷酰胺与氟西汀治疗癌症共病抑郁患者需注意潜在药物相互作用引起的不良反应以及剂量的调整。

关键词: 癌症共病抑郁; 氟西汀; 环磷酰胺; 药动学; 相互作用

罹患恶性肿瘤是重大的负性生活事件,治疗中的毒副作用与不良反应、沉重的医疗费用、渺茫的治疗预后,均构成了患者的社会心理压力,极易导致不同程度的抑郁^[1]。一般认为,抑郁是个体遗传素质与长期的生存环境共同作用所导致的结果。有研究表明,肿瘤患者抑郁症发病率为 $15\%\sim 29\%$,是正常人患病率的 $3\sim 5$ 倍^[2]。癌症共病抑郁在增加癌症患者的疼痛敏感性的同时会降低患者的化疗依从性、主观幸福感和满意度,严重影响患者的生存质量及预后。研究显示,抑郁平均会使肿瘤患者生存期下降 $10\%\sim 20\%$ 左右,一项为期 17 年的前瞻性研究结果表明,癌症的死亡率和抑郁情绪密切相关,重度抑郁者的死亡率是非抑郁者的 2 倍^[3]。因此,及时有效地治疗抑郁症对提高癌症患者的生活质量,促进癌症治疗的有效开展减轻或预防晚期或进行性疾病患者的症状具有重要意义。

5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI)因其具有较好的耐受性、较低的不良反风险及较少的药物相互作用,已成为癌症抑郁共病的首选抗抑郁药物^[4]。其代表药物氟西汀(fluoxetine, FLX)是 CYP2D6 的强抑制剂,同样是因此,当氟西汀与经 CYP2D6、CYP3A4 和 CYP2C19 代谢的药物合用时,会影响这些药物的代谢^[6]。

环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)是一种无活性前药,

需经代谢活化后发挥细胞毒性作用,通常用于治疗恶性淋巴瘤、白血病和肺癌等。在体内,约 $70\sim 80\%$ 的 CTX 在肝脏中经 CYP2B6、CYP3A4、CYP3A5^[7]、CYP2C9、CYP2C19 等酶作用代谢生成 4-羟基环磷酰胺(4-OHCTX),并与其互变异构体醛磷酰胺处于动态平衡状态。由于 4-OHCTX 极不稳定,很容易通过非酶催化反应转化为磷酰胺氮芥(PM)和丙烯醛。前者是一种 DNA 烷化剂,具有抗肿瘤和免疫抑制作用,是环磷酰胺发挥抗肿瘤作用的主要有效成分,而后者丙烯醛则是环磷酰胺引起膀胱炎、血尿和一系列尿毒性作用的原因。不足 5% 的 CTX 由 CYP3A4 和 CYP3A5 介导,通过侧链氧化生成脱氯乙基环磷酰胺(DC-CTX),同时生成等物质的量的具有肾毒性和神经毒性的氯乙醛^[8]。由于 CTX 的代谢过程涉及多种酶,无论是吸收还是排泄,调控药物消除的各种途径,都可能因为同服药物或食物对其代谢酶活性的影响而改变。

然而,环磷酰胺代谢过程中涉及的多种酶活性可能因其他药物的存在而受到干扰。例如,CYP3A4 和 CYP2C19 酶既参与环磷酰胺的活化代谢,也可被氟西汀抑制。当两者联合使用时,氟西汀可能通过竞争性抑制 CYP450 酶活性而改变环磷酰胺的代谢速率,导致其在体内的蓄积或毒性增强。此外,由于环磷酰胺代谢的复杂性,其代谢途径中产生的不

同中间产物在药效和毒性上差异显著，这进一步增加了两药联用的复杂性。临床上存在联合使用氟西汀和环磷酰胺治疗肿瘤并发抑郁的患者，而这两种药物的代谢均受到 CYP450 的影响，合用后可能会发生相互作用，因此开展此研究，以期临床合理用药提供依据。分析两药联用时的相互作用机制，为临床药师开展相关药学监护提供参考。

1 仪器与试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪 (美国 Thermo 公司)，色谱柱 C18 Hypersil-ODS2 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；WH-966 型调速混合仪 (上海安亭仪器厂)；AB-265S 型分析天平 (日本 Shimadzu 公司)；ST16R 高速台式冷冻离心机 (美国 Thermo 公司)。

环磷酰胺注射剂 (德国 Baxter Oncology GmbH 0.2g/支，批号 OB365A)；环磷酰胺标准品 (批号 100234-201604，中国药品生物制品检定所)；氟西汀 (法国 Patheon France 20mg/片，批号 8780A) 购自苏州礼来公司。甲醇、乙腈均为色谱纯 (天津市四友精细化学品有限公司)；水为台州医院制剂室制备的纯化水。

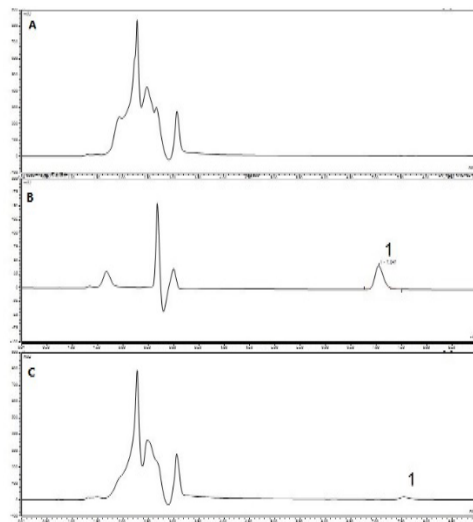
2 方法与结果

2.1 给药方案、血样采集与处理

健康雄性大鼠 20 只，SPF 级，体重 200 ± 20 g，购自上海斯莱克实验动物有限公司 (动物生产证号：SCXK (沪) 2017-0005)。所有动物实验均符合国家研究所实验室动物使用标准，并经台州医院生物伦理委员会批准 (动物许可证号：SYXK (浙) 2019-0030)。实验大鼠适应一周后，纳入实验，随机分为对照组和实验组。对照组被给予一定剂量 CTX (100 mg · kg⁻¹)；实验组同时给予一定剂量 CTX (100 mg · kg⁻¹) 和 FLX (20 mg · kg⁻¹)。分别于给药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 小时从大鼠尾静脉采血约 0.5mL，置于 1.5mL 离心管中。3000 r/min 离心 5 min 后取上清，-20℃ 冰箱保存。精密吸取血清样品 100 μL，加入 200 μL 甲醇，涡旋混匀 1min，12 000 r/min 条件下离心 3 min，取上清液 20 μL 直接进样，按外标法以峰面积计算样品含量。

2.2 大鼠血浆中 CTX 测定的方法学考察

2.2.1 色谱条件 流动相：乙腈 - 水 (30: 70)；流速：1 mL · min⁻¹；检测波长：195 nm，进样量：20 μL，色谱条件进行测定，记录色谱图 (图 1)。



A- 空白血清；B- 标准品溶液；C- 样品溶液；1- 环磷酰胺

图 1 高效液相色谱图

2.2.2 系统适用性试验

按照色谱条件操作，测定 CTX 的保留时间为 9.068 min。实验结果表明，CTX 与血浆中的内源性杂质分离良好，峰形对称且无拖尾现象，峰面积与浓度的相关性良好，满足定量分析的系统适用性要求。

2.2.3 线性关系考察

以血药浓度 (X) 为横坐标，相应峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归，得到 CTX 的回归方程和定量限见表 1。

表 1 CTX 的回归方程和定量限 (n=5)

回归方程	线性范围 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	r	定量限 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
$y=0.0101x-0.0071$	0.72~46	0.9934	0.72

结果表明，CTX 血药浓度分别在 0.72 ~ 46 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好，检测限为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (信噪比 (S/N) ≥ 3)，定量限为 0.72 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.4 方法学考察

取空白血浆，加入 CTX 标准溶液，按上述血浆样品测定方法，每种浓度分别配制低、中、高三个浓度的血浆样品各 5 份。操作后，采用 HPLC 分析计算回收率和精密度，结果如表 2 所示。

表 2 CTX 的回收率及精密度测定 (n=5)

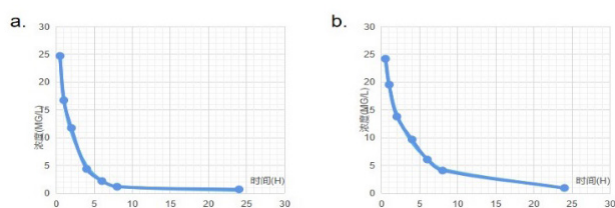
理论浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	实测浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (%)	日内 RSD (%)	日间 RSD (%)
1	1.09 ± 0.07	108.75 ± 6.57	1.55	1.33
6	6.41 ± 7.02	106.82 ± 1.17	3.21	2.16
30	34.91 ± 0.42	116.36 ± 1.39	3.93	5.48

2.2.5 稳定性考察

取空白血浆分别加入 CTX 标准溶液, 配制低、中、高不同浓度的血浆样品, 每个浓度各 5 份, 1 份直接测定, 1 份在室温下分别放置 2 h 后测定, 另外两份分别在 -20°C 冰箱密封保存 1 个月后测定。血浆中 CTX 的浓度在 -20°C 条件下及室温条件下放置 2h, 降解均不到 5%, 分别表明血浆样品可以在室温下保存 2 h 以及在 -20°C 条件下保存 1 个月。

2.3 大鼠体内 CTX 的药动力学变化

CTX 的血浆浓度-时间数据按双室给药模型计算, 采用 SPSS 22.0 和 DAS3.2.2 软件进行统计分析。数据以 $\text{Mean} \pm \text{SD}$ 表示, 以 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。对照组和实验组给药 CTX 后血浆浓度-时间曲线见图 2。两组间 CTX 药动力学参数均有显著性差异 ($p < 0.05$), 相较于对照组而言, 实验组峰浓度 (C_{max}) 和曲线下面积 (AUC) 从 $24.21 \pm 3.94 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $101.37 \pm 0.03 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot \text{h}$ 增加到 $24.73 \pm 6.09 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $156.00 \pm 0.46 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot \text{h}$ 。对照组和实验组总血浆清除率分别为 0.99 ± 0.02 和 $0.67 \pm 0.02 \text{ L/h}$ 。同时, 半衰期 ($t_{1/2}$) 从 $7.17 \pm 0.22 \text{ h}$ 延长到 $8.57 \pm 0.05 \text{ h}$ 。然而两组间 CTX 主要药动力学参数变化除 AUC($p < 0.05$) 外, 均不具有统计学差异 ($p < 0.05$)。



A- 空白血清; B- 标准品溶液; C- 样品溶液; 1- 环磷酰胺

图 2 血药浓度-时间曲线

表 3 CTX 主要药动力学参数 ($\text{Mean} \pm \text{SD}$, $n=8$)

参数	对照组	实验组
$t_{1/2} (\text{h})$	7.17 ± 0.22	8.57 ± 0.05
$\text{AUC}_{0 \rightarrow \infty} (\mu\text{g}/\text{mL} \cdot \text{h})$	101.37 ± 0.03	$156.00 \pm 0.46^*$
$C_{\text{max}} (\mu\text{g}/\text{mL})$	24.21 ± 3.94	24.73 ± 6.09
$\text{CL} (\text{L/h} \cdot \text{kg})$	0.99 ± 0.02	0.64 ± 0.02

注: $*p=0.018 < 0.05$.

3 讨论

已有研究者表明 FLX 对 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 和 CYP3A4 均有抑制作用, 而 CYP3A4, CYP2C9 和 CYP2C19 则为环磷酰胺在体内的主要代谢途径。两者存在

共同的代谢途径, 合用时可竞争结合肝药酶而产生相互作用。从而积累 CTX 在体内药物的含量, 升高血药浓度, 发生了上述药代动力学过程及参数的变化。从氟西汀组药动力学数据结果来看, FLX 明显影响大鼠体内 CTX 的药代动力学特征, 显著提高 CTX 的 AUC 并降低 CL。从药-时曲线 (图 2) 来看, 联用 FLX 后使 CTX 的血药浓度在第 2 小时到第 24 小时升高。

这一现象可以从 CYP450 酶的活性变化来解释。氟西汀作为一种选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂, 不仅具有显著的抗抑郁作用, 还通过抑制 CYP2C19 和 CYP3A4 等代谢酶的活性, 延缓环磷酰胺的代谢速率。CYP450 酶在环磷酰胺的活化和去活化过程中起着关键作用。通过活化生成 4-羟基环磷酰胺 (4-OHCTX), 环磷酰胺可发挥其抗肿瘤效应。然而, 当 CYP450 酶活性受到抑制时, 4-OHCTX 的生成速率降低, 而未代谢的环磷酰胺在体内蓄积, 从而导致药物清除率 (CL) 的降低和血浆药物浓度的升高。这一作用机制揭示了氟西汀与环磷酰胺联用时可能带来的药代动力学变化。

从临床角度来看, 这种相互作用既可能带来益处, 也可能增加风险。一方面, 环磷酰胺暴露量的增加可能增强其抗肿瘤效应, 从而提高治疗效率。然而, 这种增强效应也可能伴随着毒副作用的增加, 例如骨髓抑制、胃肠道不良反应和肝肾功能损害。特别是在癌症共病抑郁患者中, 长期使用氟西汀可能使环磷酰胺的毒性反应加剧, 从而影响患者的治疗依从性和生活质量。因此, 在联合用药方案中, 应密切监测患者的血药浓度和不良反应情况, 以便及时调整用药剂量。

此外, 本研究结果还表明, 氟西汀对 CYP2D6 的强效抑制作用可能对其他药物代谢产生类似的影响。这提示在癌症治疗中, 特别是联合化疗方案中, 应特别关注药物间的相互作用。未来研究应进一步探索氟西汀与其他抗癌药物之间的潜在相互作用机制, 尤其是在多药联合治疗中的复杂相互作用模式。

值得注意的是, 本研究在实验设计上也存在一定局限性。首先, 本研究基于动物实验, 虽然结果具有参考意义, 但在外推至临床应用时仍需谨慎。人类代谢酶的活性和分布可能与实验动物存在差异, 这可能影响药物相互作用的具体表现形式。其次, 本研究只考察了单一剂量水平的氟西汀和环磷酰胺联用效应, 未来研究应进一步评估不同剂量组合对药代动力学的影响。此外, 由于环磷酰胺代谢过程复杂, 涉

及多种酶和中间代谢产物,进一步的分子机制研究将有助于更全面地理解这种相互作用的生物学基础。

综上所述,氟西汀对环磷酰胺药代动力学的显著影响为临床合理用药提供了新的视角。本研究结果强调了在联合用药中监测药物相互作用的重要性,并为未来优化癌症治疗方案提供了参考。

4 结论

氟西汀通过抑制 CYP450 酶活性显著改变了环磷酰胺的药代动力学特性,使其血浆暴露量显著增加。这种相互作用可能增强环磷酰胺的抗肿瘤效应,但同时也增加了毒副作用的风险。在癌症共病抑郁患者的治疗中,应加强对药物相互作用的监测,优化剂量调整策略,并根据患者个体化需求实施精细化管理。本研究为联合用药提供了科学依据,并为临床药学监护工作提出了新的挑战与方向。

参考文献:

[1]LI G H, Ren Y, XU F. The impact factors on cancer-depression comorbidity and drug treatment [J]. Shanghai Medical & Pharmaceutical Journal(上海医药), 2018, 39(22): 3.

[2]PAN W, SUN H, WANG S H, TU Y L, FU J P, XU L. Clinical observation on the effect of continuous fluoxetine administration combined with chemoradiotherapy in the treatment of local advanced NSCLC [J]. Progress in Modern Biomedicine(现代生物医学进展), 2014, (03): 522-5.

[3]LI M H, WU X, WEI K, LIN Y H, WEI Y, SUN J, LUO Q L, LIU B J, DONG J C. Interventional effect of cisplatin combined with fluoxetine on mice bearing Lewis lung cancer with depression [J]. ACTA LABORATORIUM ANIMALIS SCIENTIA SINICA(中国实验动物学报), 2015, (03): 221-6.

[4]谷正松, 李建其. 5-HT 再摄取抑制 /5-HT 受体亚型多重作用抗抑郁药物研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2018, (11): 1481-91.

[5]WANG X, PAN P P, LI H. Effect of Fluoxetine on Methadone Pharmacokinetics in Rats [J]. China Pharmacist(中国药师), 2019,(12): 2286-7+351.

[6]ZHOU S F. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4 [J]. Current drug metabolism, 2008, 9(4): 310-22.

[7]CHEN L Y, WANG X D, HUANG M. Advances in the research of pharmacogenomics of cyclophosphamide [J]. Acta Pharmaceutica Sinica(药学学报), 2014, 49 (7): 971-976.

[8]FENG G, ZHAI J X, CHEN W S, GAO S H, ZHANG F, XIONG X J. Effects of Wuzhi Capsule/Schisantherin A Combined with Cyclophosphamide on the Pharmacokinetics of Cyclophosphamide in Rats [J]. China Pharmacy(中国药房), 2018, 29(3): 5.