

## 参麦注射液对大鼠细胞色素 P450 酶亚型活性的影响

张国勇<sup>1</sup>, 王双虎<sup>2</sup>, 张青莲<sup>1</sup>, 周云芳<sup>2\*</sup>

1. 丽水市人民医院 药剂科, 浙江 丽水 323000.

2. 丽水市人民医院 临床药学实验室, 浙江 丽水 323000

**摘要:** **目的** 用 Cocktail 探针药物法研究参麦注射液对大鼠细胞色素 P450 酶 (CYP450) 6 种亚型活性的影响。**方法** 将 SD 大鼠随机分组, 实验组 ip 给予参麦注射液 (10 mL/kg), 对照组 ip 给予等量生理盐水, 诱导 7 d, 分别以非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑作为 CYP1A2、CYP2B1、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 的探针药物。UPLC-MS/MS 法检测大鼠血浆中探针药物的血药浓度, 采用 DAS3.0 软件估算药动学参数。**结果** 与对照组相比, 非那西丁、安非他酮和奥美拉唑的  $AUC_{0-\infty}$ 、CL 和  $C_{max}$  显著降低 ( $P < 0.05$ ), 甲苯磺丁脲、美托洛尔和咪达唑仑的  $AUC_{0-\infty}$ 、CL 和  $C_{max}$  无显著性差异。**结论** 参麦注射液对大鼠 CYP1A2、CYP2B1 和 CYP2C19 亚型的活性有明显的抑制作用, 而对 CYP2C9、CYP2D6 和 CYP3A4 亚型的活性无显著性影响。

**关键词:** 参麦注射液; 细胞色素 P450; Cocktail 探针药物法; UPLC-MS/MS 法; CYP1A2; CYP2B1; CYP2C9; CYP2C19; CYP2D6; CYP3A4

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)14-2482-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.015

## Effect of Shenmai Injection on isoforms of cytochrome P450 enzymes in rats

ZHANG Guo-yong<sup>1</sup>, WANG Shuang-hu<sup>2</sup>, ZHANG Qing-lian<sup>1</sup>, ZHOU Yun-fang<sup>2</sup>

1. Department of Pharmacy, The People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

2. Laboratory of Clinical Pharmacy, The People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of Shenmai Injection (SMI) on activities of six isoforms of cytochrome P450 (CYP450) by Cocktail probe drugs in rats. **Methods** SD rats were randomly divided into SM group and blank control group, which were given SMI (10 mL/kg) or normal saline for 7 d. Phenacetin, bupropion, tolbutamide, omeprazole, metoprolol, and midazolam were used as probe drugs for CYP1A2, CYP2B1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4. The UPLC-MS/MS method was used to determine the concentration of probe drugs in rat plasma, and the pharmacokinetic parameters were estimated by DAS3.0. **Results** Compared with the blank control group,  $AUC_{0-\infty}$ , CL, and  $C_{max}$  of phenacetin, bupropion, and omeprazole were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). However, no significant difference of plasma concentration and pharmacokinetics for tolbutamide, metoprolol, and midazolam was shown between SMI group and the blank control group. **Conclusion** SMI can inhibit CYP1A2, CYP2B1, and CYP2C19 activities significantly, but has no effect on the activities of CYP2C9, CYP2D6, and CYP3A4.

**Key words:** Shenmai Injection; cytochrome P450; Cocktail probe drugs; UPLC-MS/MS; CYP1A2; CYP2B1; CYP2C9; CYP2C19; CYP2D6; CYP3A4

参麦注射液是由等量的人参和麦冬提纯后混合制成的中药注射液, 其有效成分主要有人参皂苷、麦冬黄酮、麦冬皂苷及微量人参多糖等<sup>[1]</sup>, 具有益气固脱、养阴生津、生脉的功效。临床用于治疗冠状动脉粥样硬化、病毒性心肌炎、心力衰竭、房颤、肺心病、粒细胞减少等症<sup>[2-4]</sup>。细胞色素 P450

(CYP450) 酶系是参与各种体内药物代谢的重要组成部分。该酶可被药物等外源物诱导或抑制, 导致其水平和活性的改变, 从而直接影响药物在体内的血药浓度、动力学变化以及后续生物学效应。CYP450 酶检测主要有体内和体外 2 种方法。Cocktail 探针药物法是最常用的体内检测法, 它可

收稿日期: 2015-12-28

基金项目: 浙江省中西医结合学会临床药学科科研基金 (康恩贝专项, 2014LYK007)

作者简介: 张国勇 (1976—), 男, 副主任药师, 主要从事医院药学工作。Tel: (0578)2780158

\*通信作者 周云芳 (1969—), 男, 主任药师, 主要从事临床药理学和药物代谢组学研究。Tel: (0578)2780158 E-mail: zyf2808@126.com

以同时评价几种药物代谢酶的活性,即给予多种相对低剂量的探针药物,通过检测生物样本中每种探针药物的血浆动力学从而获取多个代谢酶的活性信息<sup>[5-6]</sup>。在临床应用中,参麦注射液常与其他药物联合应用,有发生药物相互作用的可能,并由此改变相关药物的血药浓度,甚至引起不良反应的发生。此前关于参麦注射液对药物代谢酶影响的研究相对较少<sup>[7]</sup>,缺乏该注射液对药物代谢酶影响的基础数据。

目前大多是采用紫外分光光度计、高效液相色谱紫外法(HPLC-UV)和高效液相色谱荧光法(HPLC-FID)检测探针药物浓度,但是受限制于检测限和分离程度,尤其是检测限的影响<sup>[8-9]</sup>。高效液相联用质谱法(HPLC-MS/MS)也用于 Cocktail 探针血药浓度的检测,检测器离子源主要有 APCI 源和 ESI 源<sup>[10-14]</sup>。本研究通过超高效液相串联三重四级杆质谱法(UPLC-MS/MS)快速、高效和稳定地检测大鼠血浆中非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑的血药浓度,分别以非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑作为 CYP1A2、CYP2B1、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 的探针药物,研究参麦注射液对药物代谢酶亚型的影响,为临床合理用药提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ACQUITY I-Class 超高效液相色谱仪、sample manager FTN 自动进样器、binary solvent manager 四元泵、Masslynx 4.1 色谱工作站和 XEVO TQD 三重四级杆质谱仪(美国 Waters 公司);Milli-Q 纯水机(美国 Millipore 公司);5804R 低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);TE4101-L 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);HH-S2 水浴锅(北京诺基公司)。

### 1.2 试药

参麦注射液(正大青春宝药业有限公司,批号 BJ13704),非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑对照品(加拿大 Toronto Research Chemicals 公司,质量分数 98%,批号分别为 P1669、B3649、047218、O0359、D292072、59467-64-0);地西洋(美国 Sigma 公司,质量分数 99%,批号 439-14-5);HPLC 色谱级甲醇、乙腈(美国 Fisher Scientific 公司);其余常规化学试剂均为分析纯(北京化学试剂公司)。

## 1.3 动物

清洁级 SD 大鼠,体质量(300±20)g,由温州医科大学实验动物中心提供,实验动物使用许可证号 SYXK(浙)2010-0150。

## 2 方法与结果

### 2.1 分组及给药

将 SD 大鼠随机分成 2 组,每组 6 只,分别为参麦注射液组和对照组,参麦注射液组大鼠 ip 参麦注射液 10 mL/kg,对照组大鼠 ip 同体积的生理盐水,连续给药 7 d,于第 7 天晚禁食。第 8 天 2 组大鼠均 ig 给予 6 种探针药物的混合对照品溶液(安非他酮、非那西丁、甲苯磺丁脲、美托洛尔、咪达唑仑和奥美拉唑的剂量分别为 10、10、1、10、10、10 mg/kg),并分别于 ig 给药后 5、30 min 及 1、2、3、4、6、8、12、24、48 h 时间点进行尾部采血 0.3 mL,将全血置于肝素化的 EP 管中,3 000 r/min 离心 10 min,取血浆于-20 ℃冷冻保存。

### 2.2 血浆处理方法

取血浆样品 100 μL,加入 20 μL 地西洋(内标,2 ng/μL),再加入 200 μL 冰乙腈沉淀并涡旋 2 min,将样品在 4 ℃下 13 000 r/min 离心 10 min,转移 200 μL 上清液至新的进样瓶,并取 2 μL 上样检测。

### 2.3 UPLC 条件

色谱柱为 Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-水(含 0.1% 甲酸,B),梯度洗脱(表 1),体积流量为 0.4 mL/min,柱温 40 ℃,进样量为 2 μL,内标为地西洋。

表 1 UPLC 梯度洗脱程序  
Table 1 Gradient elution of UPLC

| t/min | A/% | B/% |
|-------|-----|-----|
| 0     | 30  | 70  |
| 1.8   | 45  | 55  |
| 2.0   | 95  | 5   |
| 2.5   | 95  | 5   |
| 2.6   | 30  | 70  |

### 2.4 质谱条件

质谱条件电喷雾离子化源(ESI),正离子检测模式。扫描范围  $m/z$  100~1 500。毛细管电压 2.5 kV,锥孔电压 15 V,离子源温度 150 ℃,脱溶剂气温度 500 ℃,锥孔气流量 50 L/h,脱溶剂气流量 1 000 L/h,氩气流量 0.15 mL/min。Masslynx V4.1 软件是用来操作仪器和获得数据的,质谱多反应监测(MRM)的信息见表 2。

表 2 MRM 信息

Table 2 Information sheet of MRM

| 化合物   | 母离子 ( $m/z$ ) | 子离子 ( $m/z$ ) | 驻留时间/s | 锥孔电压/V | 碰撞电压/V |
|-------|---------------|---------------|--------|--------|--------|
| 非那西丁  | 180.1         | 109.9         | 0.044  | 35     | 20     |
| 安非他酮  | 240.1         | 184.1         | 0.044  | 24     | 12     |
| 奥美拉唑  | 346.1         | 197.8         | 0.044  | 25     | 16     |
| 美托洛尔  | 268.1         | 115.8         | 0.044  | 40     | 18     |
| 甲苯磺丁脲 | 271.2         | 155.1         | 0.044  | 30     | 15     |
| 地西洋   | 285.1         | 193.1         | 0.044  | 35     | 30     |
| 咪达唑仑  | 326.0         | 291.0         | 0.044  | 50     | 28     |

## 2.5 对照品溶液的配制

分别精密称取非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑对照品 10 mg，置于 10 mL 量瓶中，加 0.5 mL 乙腈溶解，并以 Milli-Q 纯化水稀释至刻度，即得质量浓度为 1 mg/mL 的非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑对照品储备液。精密称取地西洋对照品，用甲醇溶解并稀释，得到 1  $\mu$ g/mL 的内标溶液。

## 2.6 系统适应性及专属性考察

取空白血浆、各探针药物对照品溶液及给混合探针药物 1 h 的血浆样品各 2  $\mu$ L，按照“2.3”项和“2.4”项条件进样测定，结果非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑的保留时间分别为 1.54、1.44、2.26、1.16、0.92、1.72 min，地西洋的保留时间为 2.52 min，相互之间分离良好并在相应的离子通道中，相互之间没有干扰，提取离子流图及总离子流图见图 1。

## 2.7 标准曲线的绘制

分别精密吸取空白血浆 100  $\mu$ L，置于 1.5 mL 离心管中，加入质量浓度分别为 0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20  $\mu$ g/mL 非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑对照品稀释液 10  $\mu$ L，混匀，配制质量浓度分别为 2、5、10、20、50、100、200、500、1 000、2 000 ng/mL 的系列探针药物血浆溶液，并按照“2.2”项方法处理，在“2.3”和“2.4”项色谱和质谱条件下测定，记录峰面积。以探针药物和地西洋（内标）的峰面积比值为纵坐标（Y），相应的探针药质量浓度为横坐标（X），用最小二乘法进行线性回归，求算探针药物在 2~2 00 ng/mL 或 2~2 000 ng/mL 内线性关系良好，回归方程和最低定量限见表 3。平行制备分别含 2 ng/mL 探针药的 6 份血浆样品，处理后进行色谱分析，得探针药方法回收率平均为 107.33%，RSD 为 5.39%，药物最低定量限回收率 RSD 均 <15%。

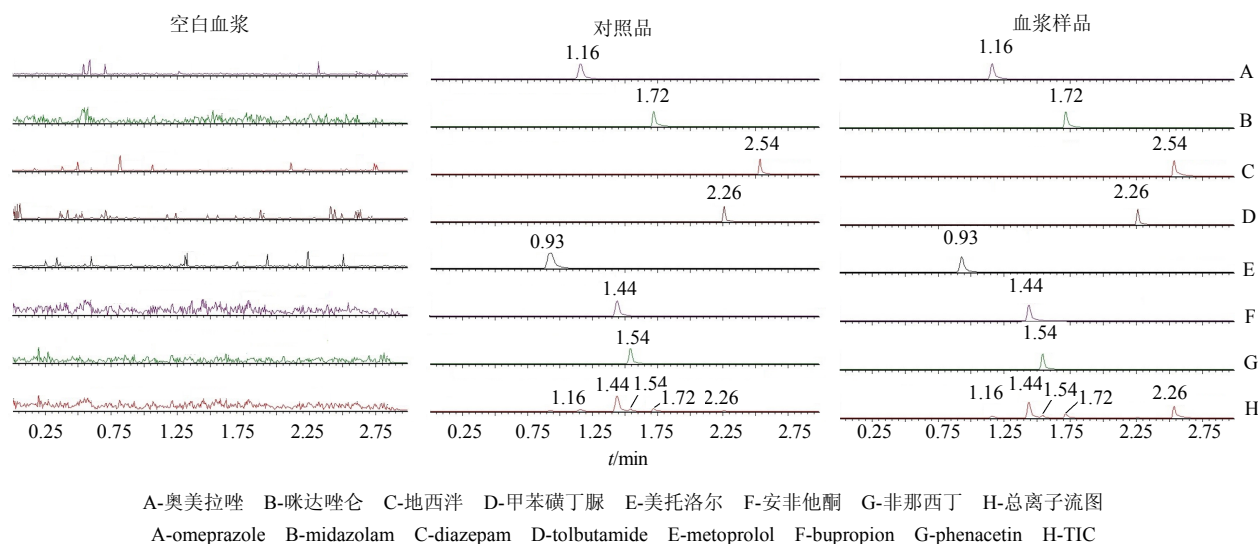


图 1 空白血浆、探针药物对照品溶液及给探针药物 1 h 大鼠血浆样品的离子流图

Fig. 1 TIC of blank plasma, reference substance, and plasma sample of rats administrated with probe drugs for 1 h

表 3 6 种探针药物的回归方程和相关系数

Table 3 Regression equations and correlation coefficients for six probe drugs

| 探针药物  | 回归方程                               | 相关系数    | 线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 最低定量限/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|------------------------------------|---------|-----------------------------|------------------------------|
| 安非他酮  | $Y=0.036\ 929\ 8\ X+0.033\ 344\ 1$ | 0.999 1 | 2~200                       | 0.5                          |
| 美托洛尔  | $Y=0.001\ 390\ 4\ X+0.015\ 432\ 9$ | 0.995 0 | 2~200                       | 0.5                          |
| 咪达唑仑  | $Y=0.005\ 946\ 5\ X+0.019\ 036\ 3$ | 0.997 0 | 2~200                       | 0.5                          |
| 非那西丁  | $Y=0.003\ 149\ 2\ X+0.014\ 775\ 8$ | 0.999 3 | 2~2 000                     | 0.5                          |
| 奥美拉唑  | $Y=0.003\ 698\ 6\ X+0.023\ 430\ 5$ | 0.999 1 | 2~200                       | 0.5                          |
| 甲苯磺丁脲 | $Y=0.000\ 660\ 2\ X+0.001\ 732\ 2$ | 0.999 1 | 2~2 000                     | 0.5                          |

## 2.8 精密度和准确度考察

配制质量浓度为 4、80、160 ng/mL 的安非他酮、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑血浆样品溶液，质量浓度为 4、800、1 600 ng/mL 非那西丁和甲苯磺丁脲血浆样品溶液，按照“2.2”项处理，进样测定，并分别在 1 d 内和连续 3 d 内进样，依法测定 ( $n=6$ )。计算非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑的日内和日间精密度 RSD，每个质量浓度水平测定 6 次，用标准曲线的回归方程计算样品的测定质量浓度与配制的理论质量浓度比较，计算相对回收率，表示方法的准确度，结果见表 4。

## 2.9 稳定性考察

配制质量浓度为 4、80、160 ng/mL 的安非他酮、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑血浆样品溶液，质量浓度为 4、800、1 600 ng/mL 非那西丁和甲苯磺

丁脲血浆样品溶液，按照“2.2”项处理，并分别于 0、2、4、8、12、24 h 取样进行进样测定，结果发现各质量浓度下各药物峰面积的 RSD 均小于 5.0%，表明样品中非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑在 24 h 内稳定。同法将 3 种质量浓度的孵育体系置于 -80 °C 冰箱中保存，分别于第 1、5、15、30 天解冻，依法测定，结果发现各质量浓度的 RSD 均小于 5.0%，表明样品在 -80 °C 条件下存放至少 1 个月稳定。

## 2.10 提取回收率试验

配制质量浓度为 4、80、160 ng/mL 的安非他酮、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑血浆样品溶液，质量浓度为 4、800、1 600 ng/mL 非那西丁和甲苯磺丁脲血浆样品溶液，并经过“2.2”项处理进行进样测定，进样分析得峰面积 ( $A_1$ )；另取空白血浆经

表 4 探针药物的精密度、准确度、回收率和基质效应 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Table 4 Precision, accuracy, extraction recovery, and matrix effect of six probe drugs ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 药物    | $\rho$ /(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 精密度 RSD/% |      | 准确度/% |       | 提取回收率/% | 基质效应/% |
|-------|--------------------------------|-----------|------|-------|-------|---------|--------|
|       |                                | 日内        | 日间   | 日内    | 日间    |         |        |
| 安非他酮  | 4                              | 4.3       | 5.0  | 100.5 | 109.2 | 96.0    | 103.8  |
|       | 80                             | 2.1       | 5.7  | 97.9  | 105.9 | 95.5    | 107.4  |
|       | 160                            | 4.1       | 2.2  | 109.5 | 110.4 | 93.3    | 106.4  |
| 美托洛尔  | 4                              | 8.2       | 8.9  | 99.5  | 108.8 | 103.1   | 92.4   |
|       | 80                             | 11.7      | 12.0 | 98.4  | 104.7 | 103.3   | 87.6   |
|       | 160                            | 11.7      | 9.4  | 105.6 | 97.6  | 96.0    | 84.3   |
| 咪达唑仑  | 4                              | 2.1       | 4.2  | 99.8  | 105.4 | 97.6    | 90.4   |
|       | 80                             | 3.6       | 2.6  | 104.0 | 98.0  | 102.7   | 93.1   |
|       | 160                            | 3.6       | 3.6  | 103.7 | 102.5 | 102.7   | 87.0   |
| 非那西丁  | 4                              | 2.0       | 4.6  | 101.4 | 106.7 | 93.3    | 108.9  |
|       | 800                            | 4.6       | 5.3  | 93.3  | 110.4 | 95.1    | 114.2  |
|       | 1 600                          | 0.8       | 1.0  | 98.6  | 102.9 | 96.8    | 108.7  |
| 奥美拉唑  | 4                              | 3.1       | 4.3  | 101.5 | 107.8 | 90.5    | 104.3  |
|       | 80                             | 5.6       | 3.5  | 93.2  | 109.3 | 90.7    | 101.0  |
|       | 160                            | 3.2       | 1.8  | 101.9 | 100.1 | 96.1    | 106.8  |
| 甲苯磺丁脲 | 4                              | 0.9       | 4.8  | 102.1 | 104.9 | 92.6    | 99.1   |
|       | 800                            | 2.7       | 4.0  | 95.7  | 108.6 | 96.9    | 102.0  |
|       | 1 600                          | 1.2       | 5.1  | 97.3  | 102.3 | 92.8    | 96.5   |

过“2.2”项处理,并在洗脱液中加入相应质量浓度的对照品和内标溶液,进样分析得峰面积( $A_2$ ),每个质量浓度水平测定 6 次,计算该质量浓度样品的药物提取回收率及 RSD,结果见表 4。

### 2.11 基质效应考察

取空白血浆 100  $\mu\text{L}$ ,加入 200  $\mu\text{L}$  冰乙腈沉淀并涡旋 2 min,将样品在 4  $^{\circ}\text{C}$  下 13 000 r/min 离心 10 min,再加入 20  $\mu\text{L}$  地西洋(2 ng/ $\mu\text{L}$ )以及安非他酮、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑 3 个质量浓度 4、80、160 ng/mL(平行 6 个样品),非那西丁和甲苯磺丁脲 3 个质量浓度 4、800、1 600 ng/mL(平行 6 个样品)后混匀,取 2  $\mu\text{L}$  进样检测,记录各药物的峰面积( $A_3$ ),并与相应质量浓度的对照

品溶液直接进样测得的峰面积( $A_4$ )比较,计算基质效应。结果见表 4。内标地西洋的平均基质效应为(92.31 $\pm$ 5.78)%,表明基质基本不干扰检测。

### 2.12 6 种探针药物的药-时曲线

参麦注射液组和对照组的 SD 大鼠 ig 探针药物后,按“2.2”项下方法操作,测得 6 种探针药物的血药浓度,其药-时曲线见图 2。

### 2.13 统计学处理

药动学参数采用 DAS 3.0 软件计算。应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,各探针的药动学参数差异采用  $t$  检验,方差不齐时采用  $t'$  检验。各探针药物的药动学参数见表 5。

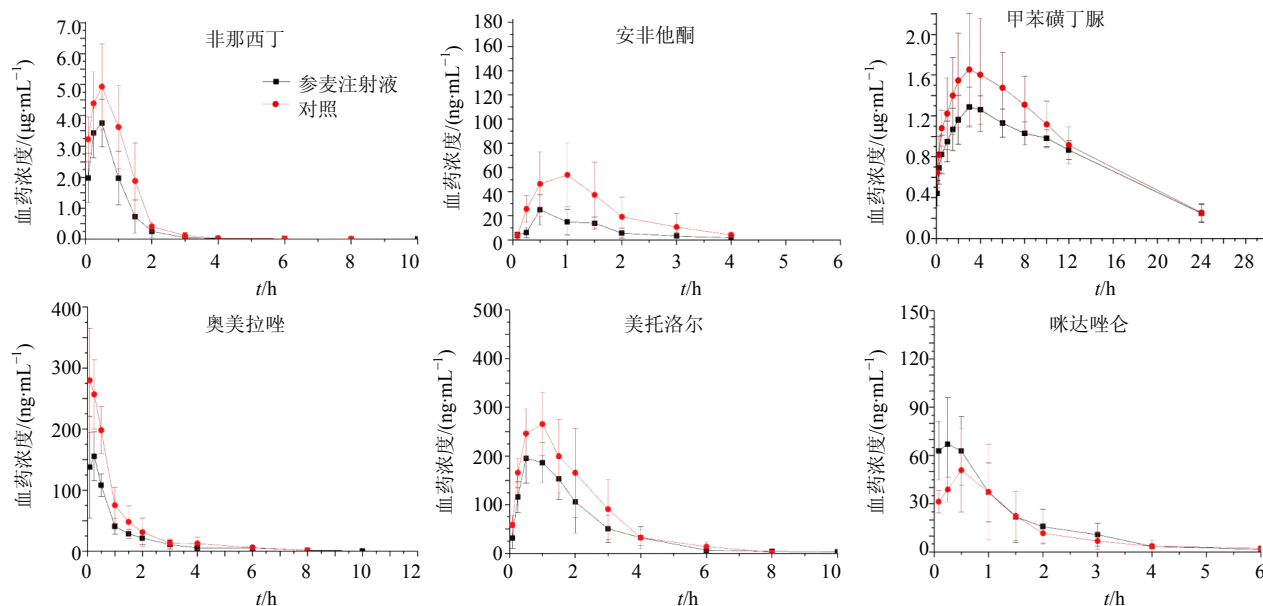


图 2 大鼠体内探针药物的药-时曲线

Fig. 2 Concentration-time curves of probe drugs in rats *in vivo*

表 5 大鼠血浆中 6 种探针药物的主要药动学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 5 Main pharmacokinetic parameters of six probe drugs in plasm of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 参数               | 单位                    | 对照                     |                     |                        |                     |                     |                    |
|------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|                  |                       | 非那西丁                   | 安非他酮                | 甲苯磺丁脲                  | 奥美拉唑                | 美托洛尔                | 咪达唑仑               |
| $AUC_{0-\infty}$ | ng·h·mL <sup>-1</sup> | 6 432.2 $\pm$ 1 764.0  | 101.48 $\pm$ 59.13  | 27 555.2 $\pm$ 6 928.3 | 291.1 $\pm$ 35.6    | 688.8 $\pm$ 221.9   | 85.2 $\pm$ 34.3    |
| $t_{1/2}$        | h                     | 0.898 $\pm$ 0.360      | 0.612 $\pm$ 0.154   | 8.420 $\pm$ 5.046      | 1.234 $\pm$ 0.616   | 0.976 $\pm$ 0.298   | 0.80 $\pm$ 0.46    |
| CL               | L·h·kg <sup>-1</sup>  | 1.667 $\pm$ 0.519      | 131.23 $\pm$ 83.56  | 0.004 $\pm$ 0.001      | 34.740 $\pm$ 4.021  | 15.88 $\pm$ 5.30    | 133.34 $\pm$ 48.86 |
| $C_{max}$        | ng·mL <sup>-1</sup>   | 4 961.8 $\pm$ 1 368.7  | 58.22 $\pm$ 28.6    | 1 751.8 $\pm$ 510.8    | 269.76 $\pm$ 51.42  | 310.2 $\pm$ 93.05   | 61.17 $\pm$ 19.70  |
| 参数               | 单位                    | 参麦注射液                  |                     |                        |                     |                     |                    |
|                  |                       | 非那西丁                   | 安非他酮                | 甲苯磺丁脲                  | 奥美拉唑                | 美托洛尔                | 咪达唑仑               |
| $AUC_{0-\infty}$ | ng·h·mL <sup>-1</sup> | 4 027.7 $\pm$ 1 113.6* | 35.84 $\pm$ 13.95*  | 22 267.7 $\pm$ 2 632.3 | 174.7 $\pm$ 25.7**  | 490.8 $\pm$ 179.7   | 115.57 $\pm$ 38.49 |
| $t_{1/2}$        | h                     | 1.752 $\pm$ 1.377      | 0.630 $\pm$ 0.226   | 7.870 $\pm$ 3.499      | 1.519 $\pm$ 0.610   | 1.126 $\pm$ 0.397   | 0.85 $\pm$ 0.26    |
| CL               | L·h·kg <sup>-1</sup>  | 2.667 $\pm$ 0.792*     | 314.1 $\pm$ 112.6** | 0.005 $\pm$ 0.001      | 58.46 $\pm$ 9.81**  | 22.79 $\pm$ 8.20    | 95.01 $\pm$ 31.27  |
| $C_{max}$        | ng·mL <sup>-1</sup>   | 3 808.3 $\pm$ 752.9    | 29.18 $\pm$ 9.39*   | 1 329.2 $\pm$ 174.4    | 190.43 $\pm$ 54.40* | 217.68 $\pm$ 37.18* | 85.38 $\pm$ 36.003 |

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

### 3 讨论

CYP1A2、CYP2E1 和 CYP3A4 是 CYP450 酶系中重要的药物代谢酶, 代谢许多临床药物。CYP1A2 主要在肝脏表达, 人类 CYP1A2 占肝脏 CYP450 总量的 13%, 参与咖啡因、非那西丁、普萘洛尔、维拉帕米、丙咪嗪等 20 多种药物的代谢。CYP2E1 参与对乙酰氨基酚、异烟肼、氟烷、他莫昔芬等常用药物的代谢。而 CYP3A 是 CYP450 酶系中最重要的成分, 参与催化 50% 以上的临床治疗药物, 如红霉素、卡马西平、咪达唑仑、辛伐他汀、尼非地平<sup>[14]</sup>。

大多数药物进入体内后, 其消除方式分为 2 种: 一种是不经代谢而直接以原型排出体外, 另一种是药物被代谢后以代谢物的形式排出体外, 而药物在体内代谢第一步为 I 相反应, 催化 I 相反应关键的代谢酶即为 P450 酶, CYP450 由许多同工酶组成, 是近年来药理、毒理学研究的热点, 对阐明药物间相互作用和指导临床用药有重要的作用。本课题就从药物代谢酶的角度, 研究参麦注射液对 CYP450 酶的影响。与对照组相比, 非那西丁、安非他酮和奥美拉唑的  $AUC_{0-\infty}$ 、CL 和  $C_{max}$  有显著性的降低 ( $P < 0.05$ ), 甲苯磺丁脲、美托洛尔和咪达唑仑的药动学参数无显著性差异。实验表明, 参麦注射液对大鼠 CYP1A2、CYP2B1 和 CYP2C19 亚型的活性有明显的抑制作用, 而对 CYP2C9、CYP2D6 和 CYP3A4 亚型的活性无显著性影响。

本实验最大的优点是采用 UPLC-MS-MS 法检测血浆中非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑质量浓度, 色谱峰单一, 定量下限低, 可以检测到 10 ng/mL, 可以检测到 48 h 以后, 完全符合应用中的定量需要, 绝大多数药物浓度均落在该线性范围内。本实验采用 Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> 柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 检测一个样本仅需要 3 min, 同时采用梯度洗脱的方法, 对于血浆样本有很好的洗脱作用, 95% 乙腈冲洗 0.5 min 可以将血浆中的杂质有效地冲出色谱柱, 可以达到快速、稳定检测血浆中非那西丁、安非他酮、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、美托洛尔和咪达唑仑质量浓度。本研究为参麦注射液的临床用药奠定坚实的基础, 为临床合理用药提供依据。

### 参考文献

[1] 吴茵, 魏欣, 张黎媛, 等. HPLC-MS/MS 法同时测

定参麦注射液 7 种主要有效成分 [J]. 中草药, 2014, 45(18): 2625-2630.

[2] 曹旭东, 丁志山, 陈建真. 参麦注射液药理及临床研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(3): 104-106.

[3] 叶小勇. 参麦注射液联合奥曲肽治疗急性胰腺炎的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(8): 962-966.

[4] 熊克朝, 李泽君, 李志刚, 等. 参麦注射液致 RBL-2H3 细胞脱颗粒的研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 140-146.

[5] 叶蓁, 朱玲玲, 周权. 利用体内探针法考察植物药和天然产物对人体细胞色素 P450 和 P-糖蛋白活性的影响 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(7): 596-603.

[6] 吴慧, 陈作忠, 彭向前, 等. 复方丹参滴丸对人肝脏药物代谢酶 CYP1A2 活性的影响 [J]. 中国药房, 2008, 19(15): 1182-1184.

[7] 李傅冬, 沈毅. 参麦注射液治疗冠心病疗效与安全性的 Meta 分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3651-3658.

[8] Li Q, Liu Y, Jiao J, et al. Assessment of effects of IR and IPC on activities of cytochrome P450 isozymes in rats by a five-drug cocktail approach [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, 40(2): 157-162.

[9] Zhai X, Lu Y. Development and validation of a simple LC method for the determination of phenacetin, coumarin, tolbutamide, chlorzoxazone, testosterone and their metabolites as markers of cytochromes 1A2, 2A6, 2C11, 2E1 and 3A2 in rat microsomal medium [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(1): 19-26.

[10] 姚珏成, 倪健, 韩婧, 等. 黄芩提取物对细胞色素 P450 酶的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 202-205.

[11] Zhou Y F, Wang S H, Ding T, et al. Evaluation of the effect of apatinib (YN968D1) on cytochrome P450 enzymes with cocktail probe drugs in rats by UPLC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 973C: 68-75.

[12] Malati C Y, Robertson S M, Hunt J D, et al. Influence of *Panax ginseng* on cytochrome P450 (CYP) 3A and P-glycoprotein (P-gp) activity in healthy participants [J]. *J Clin Pharmacol*, 2012, 52(6): 932-939.

[13] 赵文婷, 张波, 李湘晖, 等. 疏血通注射液对大鼠细胞色素 P450 酶 6 种亚型活性的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 445-449.

[14] Spaggiari D, Geiser L, Daali Y, et al. A cocktail approach for assessing the *in vitro* activity of human cytochrome P450s: An overview of current methodologies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 101: 221-237.