

# $\alpha$ -甘草酸对药物遗传差异豚鼠血钾浓度的影响

俞进, 赖瑛

(杭州市中医院药剂科, 310007)

**[摘要]** 目的 探讨 $\alpha$ -甘草酸是否导致药物遗传差异豚鼠产生低血钾症。方法 体外实验,提取花、白两种豚鼠肾11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶,研究加入 $\alpha$ -甘草酸、 $\beta$ -甘草酸等抑制药后,酶对底物转化率的差异;体内实验,白色豚鼠腹腔注射 $\alpha$ -甘草酸15 d后,测定豚鼠肾11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶活性和血清K<sup>+</sup>浓度。结果 加入 $\alpha$ -甘草酸、 $\beta$ -甘草酸等抑制药后,白色豚鼠的11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶对底物皮质醇的转化率明显低于花鼠( $P < 0.05$ );体内实验,白色豚鼠腹腔注射 $\alpha$ -甘草酸,导致豚鼠肾11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶活性下降和血清K<sup>+</sup>浓度降低,但150 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组未致白色豚鼠产生低血钾症。结论 花、白两种豚鼠之间存在药物遗传差异;常规剂量的 $\alpha$ -甘草酸不会导致白色豚鼠产生低血钾症。

**[关键词]**  $\alpha$ -甘草酸;脱氢酶;低血钾症;药物遗传

**[中图分类号]** R282.71;R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2008)12-1446-03

## Effects of $\alpha$ -Glycyrrhizic Acid on Potassium Concentration in Serum of Difference Pharmacogenetic Hartley Guinea Pig

YU Jin, LAI Ying (Department of Pharmacy, Hangzhou Chinese Traditional Medicine Hospital, Hangzhou 310007, China)

**ABSTRACT Objective** To study the effects of  $\alpha$ -glycyrrhizic acid on hypokalemia in difference pharmacogenetic hartley guinea pig. **Methods** *In vitro*, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase was extracted from white and multicoloured hartley guinea pig kidney and mixed with inhibitory agents, such as  $\alpha$ -glycyrrhizic acid. The conversion percentage of cortisol was determined. *In vivo*,  $\alpha$ -Glycyrrhizic acid was injected intraperitoneally during total 15 days. The activity of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase from hartley guinea pig kidney and potassium concentration in serum were measured. **Results** *In vitro*, compared to multicoloured hartley guinea pig, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in white one exhibited a lower conversion percentage of cortisol ( $P < 0.05$ ). *In vivo*, the activity of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase from hartley guinea pig kidney and potassium concentration in serum were reduced significantly. But 150 mg·kg<sup>-1</sup>  $\alpha$ -glycyrrhizic acid, a normal dose, did not induce hypokalemia in white hartley guinea pig. **Conclusion** There is significant difference of pharmacogenetics between white and multicoloured hartley guinea pig.

**KEY WORDS**  $\alpha$ -Glycyrrhizic acid; Dehydrogenase; Hypokalemia; Pharmacogenetic

$\alpha$ -甘草酸(18 $\alpha$ -glycyrrhizic acid,  $\alpha$ -GA)系由 $\beta$ -甘草酸( $\beta$ -GA)经异构化反应而得到的。研究表明, $\alpha$ -GA比 $\beta$ -GA具有更强的保肝抗炎作用<sup>[1]</sup>,因此而研制的 $\alpha$ -GA类制剂已广泛地应用于临床。实验证明 $\alpha$ -GA能抑制肾脏11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶(11 $\beta$ -OHS<sub>2</sub>)<sup>[2]</sup>,长期使用会引起伪醛甾酮症(pseudoaldosteronism, PA),可能出现高血压、低血钾及水、钠潴留等症状。近年来国内已有 $\alpha$ -GA制剂引起高血压的报道<sup>[3-5]</sup>,但 $\alpha$ -GA制剂是否导致低血钾,尤其是对因遗传学差异而致先天性11 $\beta$ -OHS<sub>2</sub>活性偏低者,尚未有明确结论。笔者从动物实验角度探讨了此问题。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂与动物 $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA:由杭州市第六人民

医院临床药理室馈赠,纯度>95%;皮质醇、可的松、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)、 $\alpha$ -甘草次酸:Sigma公司;醋酸泼尼松:药用,浙江仙琚制药股份有限公司;大黄素:中国药品生物制品检定所(批号:07569505);甲醇:美国Tedia公司。豚鼠:Hartley品系,体质量200~350 g,雌雄兼用,购自浙江省医学实验动物中心。

**1.2 仪器** 美国惠普HP-1100A高效液相系统,色谱柱为Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×150 mm, 5  $\mu$ m, Agilent公司);低温高速离心机:Heraeus公司;低温超速离心机:Beckman公司;急诊生化仪:CX-3型, Beckman公司。

**1.3  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA对花、白两种豚鼠11 $\beta$ -OHS<sub>2</sub>体外活性影响的差异** 取花、白两种豚鼠,体重相近,按有关方法<sup>[2]</sup>提取肾皮质微粒体酶11 $\beta$ -OHS<sub>2</sub>,进行实验,求得皮质醇的转化率进行比较。 $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA的浓度为0.2, 0.4, 0.8 mmol·L<sup>-1</sup>。

**1.4  $\alpha$ -甘草次酸和大黄素对花、白两种豚鼠11 $\beta$ -OHS<sub>2</sub>体外活性影响的差异**  $\alpha$ -甘草次酸和大黄素都

**[收稿日期]** 2008-01-17 **[修回日期]** 2008-06-02

**[作者简介]** 俞进(1967-),男,浙江杭州人,副主任医师,硕士,研究方向:肾脏药理。电话:0571-85827864, E-mail: zhitong2000@sina.com。

能抑制  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 的活性<sup>[6,7]</sup>。取同一批次的两种豚鼠肾皮质微粒体酶  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub>, 按相同方法同时进行实验,  $\alpha$ -甘草次酸浓度为 2.50, 5.00, 6.50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 大黄素浓度为 0.20, 0.36, 0.40  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 求得皮质醇的转化率进行比较。

**1.5  $\alpha$ -GA 抑制豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 活性和降低血钾浓度** 取白色雄性豚鼠 30 只, 随机分为 5 组, 每组 6 只: 阴性对照组,  $\beta$ -GA 组,  $\alpha$ -GA 小、中、大剂量组, 每日分别腹腔注射 0.9% 氯化钠注射液,  $\beta$ -GA (300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),  $\alpha$ -GA (75, 150, 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ( $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 溶于 0.9% 氯化钠溶液, 用 10  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液调节 pH 至中性), 连续注射 15 d。自由饮用饲料和水。第 16 天取豚鼠血, 测定血清钾离子 ( $\text{K}^+$ ) 浓度; 按“1.3”方法提取肾皮质微粒体酶  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 进行实验, 但不加酶抑制药, 求得皮质醇的转化率进行比较。

**1.6 统计学方法** 数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间显著性检验采用  $t$  检验。

## 2 结果

**2.1 花、白两种豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 体外活性的差异** 3 种浓度的  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 对两种豚鼠的  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 的抑制作用, 结果见表 1。显示白鼠的  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 对底物皮质醇的转化率明显低于花鼠 ( $P < 0.05$ ), 说明白豚鼠的  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 被  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 抑制的程度明显高于花豚鼠。

**表 1  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 对两种豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 体外活性 (皮质醇转化率) 的影响** % ,  $\bar{x} \pm s$

组别	浓度/ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	花鼠皮质醇 转化率	白鼠皮质醇 转化率
$\alpha$ -GA 组	0.2	60.41 $\pm$ 0.86	54.15 $\pm$ 2.67 <sup>*1</sup>
	0.4	53.37 $\pm$ 0.63	47.96 $\pm$ 1.39 <sup>*1</sup>
	0.8	38.99 $\pm$ 0.85	30.01 $\pm$ 1.53 <sup>*1</sup>
$\beta$ -GA 组	0.2	44.67 $\pm$ 0.33	39.76 $\pm$ 1.05 <sup>*1</sup>
	0.4	33.09 $\pm$ 0.19	30.50 $\pm$ 0.52 <sup>*1</sup>
	0.8	21.08 $\pm$ 1.50	16.50 $\pm$ 1.15 <sup>*1</sup>
阴性对照组	-	70.56 $\pm$ 3.03	70.37 $\pm$ 1.42 <sup>*2</sup>

与花鼠比较, <sup>\*1</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*2</sup> $P > 0.05$

$\alpha$ -甘草次酸和大黄素作为抑制药进行实验, 结果见表 2。结论与  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 相同。

以上实验结果显示, 所有抑制药对  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 的抑制程度, 白豚鼠均高于花豚鼠。说明因遗传背景差异, 白豚鼠对外部作用的敏感性高过花豚鼠。

**2.2  $\alpha$ -GA 对白豚鼠血清  $\text{K}^+$  浓度的影响** 腹腔注射给药 15 d 后, 注入  $\alpha$ -GA 75, 150, 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组,  $\beta$ -GA 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组和阴性对照组的皮质醇转化率分别为 (84.05  $\pm$  4.51)%, (76.60  $\pm$  5.94)%, (78.87  $\pm$

8.87)%, (67.68  $\pm$  6.07)%, (90.53  $\pm$  9.13)%, 与阴性对照组比较, 中、高剂量的  $\alpha$ -GA 显著抑制了白豚鼠体内  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 活性 ( $P < 0.05$ )。  $\alpha$ -GA 75, 150, 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\beta$ -GA 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组和阴性对照组血清  $\text{K}^+$  浓度分别为 (7.91  $\pm$  0.64), (7.08  $\pm$  0.51), (5.34  $\pm$  0.12), (4.86  $\pm$  0.37), (8.83  $\pm$  1.02)  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。可见, 随着  $\alpha$ -GA 剂量的增大, 血清钾离子浓度均下降, 彼此间差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 呈现明显的剂量依赖性, 说明量效关系良好。各组皮质醇转化率与血清钾离子浓度呈显著正相关关系 ( $r = 0.9109$ ,  $P < 0.05$ )。

**表 2  $\alpha$ -甘草次酸和大黄素对两种豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 体外活性 (皮质醇转化率) 的影响** % ,  $\bar{x} \pm s$

组别	浓度	花鼠皮质醇 转化率	白鼠皮质醇 转化率
$\alpha$ -甘草次酸组	2.50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	55.77 $\pm$ 1.03	44.46 $\pm$ 1.30 <sup>*1</sup>
	5.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	47.35 $\pm$ 0.63	39.79 $\pm$ 1.73 <sup>*1</sup>
	6.50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	44.67 $\pm$ 1.26	36.71 $\pm$ 1.47 <sup>*1</sup>
大黄素组	0.20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	51.31 $\pm$ 2.37	39.79 $\pm$ 3.21 <sup>*1</sup>
	0.36 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	46.88 $\pm$ 0.22	24.83 $\pm$ 1.83 <sup>*1</sup>
	0.40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	43.55 $\pm$ 1.53	19.06 $\pm$ 2.83 <sup>*1</sup>

与花鼠皮质醇转化率比较, <sup>\*1</sup> $P < 0.05$

豚鼠的血清钾离子浓度范围是 6.67 ~ 8.97  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[8]</sup>,  $< 6.67 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  者可被认为是低血钾症。  $\alpha$ -GA 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组,  $\beta$ -GA 组均有白豚鼠出现低血钾症。以各组血清钾离子浓度的平均值为样本均数, 以 6.67  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  为总体均数进行  $t$  检验。结果显示  $\alpha$ -GA 的 150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量显著抑制了白豚鼠肾  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 活性, 该组中有 1/3 的白豚鼠血清钾离子浓度  $< 6.67 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 仍可以认为  $\alpha$ -GA 在 150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量时不会导致白豚鼠产生低血钾症。

## 3 讨论

SANG 等<sup>[9]</sup> 提出豚鼠存在药物遗传的差异。花豚鼠是自然生存状态下的豚鼠, 白豚鼠则是用人工方法, 经十几代近亲繁殖纯化而得的品种。和花豚鼠相比, 白豚鼠因遗传基因的变化, 其遗传特点也会发生变化。本实验比较了包括  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA 在内的药物对  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 活性的影响的差异。结果显示,  $\alpha$ -GA、 $\beta$ -GA、 $\alpha$ -甘草次酸, 大黄素对花、白两种豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 活性的抑制作用差异有显著性, 表明花、白两种豚鼠  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 对抑制药的敏感性不同。白豚鼠的  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 对抑制药的敏感性高于花豚鼠, 提示同一品系但不同亚系的豚鼠在药物遗传方面差异有显著性。从豚鼠的药物遗传差别可以推测人类不同个体之间也可能存在  $11\beta$ -OHSD<sub>2</sub> 的遗传学差异, 某些人因为遗传因

素,先天性 11β-OHSD<sub>2</sub>活性偏低,导致对甘草酸等抑制药的高敏感性,容易引起血钾浓度明显下降<sup>[9]</sup>。

本实验结果显示,虽然白豚鼠的 11β-OHSD<sub>2</sub>对抑制药的敏感性较高,但是在 150 mg · kg<sup>-1</sup>常规剂量下,α-GA 并没有导致其产生低血钾症。因此循此结果推测,对于先天性 11β-OHSD<sub>2</sub>活性偏低的人群,每天给与 150 mg 的常规剂量 α-GA,从整体上看应该不会产生低血钾症。α-GA 是比较安全的药物。

[参考文献]

[1] 吴锡铭,吕 坚,李冰如,等. 甘草酸差向异构体对大鼠肝损害的治疗作用[J]. 中国药理学报,1992,13(4):370-372.

[2] 俞 进,王 佩,吴锡铭. α-甘草酸对豚鼠肾 11β-羟基类固醇脱氢酶活性的影响[J]. 中国现代应用药学,2003,20(3):181-183.

[3] 孟庆萍,周 静. 甘草酸二铵(甘利欣)引起血压升高的临床观察[J]. 辽宁药物和临床,2002,5(1):51-52.

[4] 李 芳. 大剂量甘草酸二铵(甘利欣)静脉滴注治疗慢性

乙型肝炎 80 例报告[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2003,12(2):151-152.

[5] 苏尊玮. 大剂量甘草酸二铵(甘利欣)治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J]. 临床肝胆病杂志,2005,21(1):48-49.

[6] 张银娣,王时明. 某些黄酮类和三帖苷类化合物对豚鼠肾 11β-羟化类固醇脱氢酶的抑制作用[J]. 中国药理学报,1997,18(3):241-243.

[7] SANTOS M A, GONZALO L R, IZQUIERDO H R. Simultaneous determination of cortisol and cortisone in urine by reversed-phase high performance liquid chromatography: clinical and doping control applications [J]. *J Chromatogr B*, 1995, 673(1):27-30.

[8] 施新猷. 医学动物实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1980:440.

[9] SANG G W, LORENZO B, REIDENBERG M. Inhibitory effects of gossypol on corticosteroid 11-hydroxysteroid dehydrogenase from guinea pig kidney: a possible mechanism for causing hypokalemia [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1991, 39(1):169-170.

# 马来酸依那普利的高效液相色谱测定方法及其在药动学研究中的应用

周曙华<sup>1</sup>, 肖仲祥<sup>1</sup>, 邱相君<sup>2</sup>, 胡国新<sup>1</sup>

(1. 温州医学院药理学教研室, 325027; 2. 河南科技大学医学院药理学教研室, 洛阳 471003)

[摘要] 目的 建立测定人血浆马来酸依那普利浓度的高效液相色谱方法并进行药动学研究。方法 色谱柱为 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为乙腈: 0.1 mol · L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠溶液 (pH = 3.0): 水 = 27: 20: 53 (V/V/V), 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长: 0~5 min 286 nm, ~8 min 210 nm, ~10 min 286 nm; 10 例健康志愿者口服马来酸依那普利片, 计算主要药动学参数, 用 DAS 2.0 程序处理。结果 马来酸依那普利的血药浓度在 5~400 μg · L<sup>-1</sup> 内, 与其峰面积有良好的线性关系 (r = 0.999 9), 该法测得主要药动学参数为: C<sub>max</sub> 为 (283.03 ± 37.50) μg · L<sup>-1</sup>, t<sub>max</sub> 为 (0.83 ± 0.12) h, t<sub>1/2</sub> 为 (1.56 ± 0.32) h, AUC<sub>0-t</sub> 为 (711.51 ± 91.18) μg · h · L<sup>-1</sup>, AUC<sub>0-∞</sub> 为 (742.68 ± 98.06) μg · h · L<sup>-1</sup>。结论 该方法简单, 专属性强, 灵敏和准确, 适合依那普利的药动学研究。

[关键词] 依那普利, 马来酸; 色谱法, 高压液相; 药动学; 血药浓度

[中图分类号] R972.4; R969.1 [文献标识码] A [文章编号] 1004-0781(2008)12-1448-03

## A High Performance Liquid Chromatographic Method to Detect Enalapril Maleate in Human Plasma and Its Application in Clinical Pharmacokinetic Study

ZHOU Shu-hua<sup>1</sup>, XIAO Zhong-xiang<sup>1</sup>, QIU Xiang-jun<sup>2</sup>, HU Guo-xin<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 2. Department of Pharmacology, Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**ABSTRACT Objective** To establish a high performance liquid chromatography method for the determination and pharmacokinetic study of enalapril maleate in healthy human. **Methods** Agilent 1100 series HPLC system was applied with the column ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The mobile phase was composed of methanol (0.1 mol · L<sup>-1</sup>), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH = 3.0) and water with a ratio of 27: 20: 53 (V/V/V), and the flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The UV detection wavelength was 0-5 min 286 nm, 5-8 min 210 nm and 8-10 min 286 nm. After oral administration of 20 mg enalapril maleate table in 10 volunteers, concentration-time profile was simulated and pharmacokinetic parameters were calculated with DAS software. **Results**