

· 药物研究 ·

普罗帕酮与利多卡因合用在体外人肝细胞微粒体中的代谢

唐跃年, 张顺国, 洪莉珍, 马佳珍

(上海第二医科大学附属新华医院药剂科, 200092)

[摘要] 目的:验证普罗帕酮和利多卡因合用时在人体中的代谢酶。方法:采用体外肝细胞微粒体孵育法,高效液相色谱法测定普罗帕酮和利多卡因及其代谢物浓度,对合用前后、孵育前后原形药物及其代谢物进行比较。结果:根据 Dixon 作图法,表明普罗帕酮和利多卡因合用符合竞争抑制。结论:普罗帕酮和利多卡因合用可大大减低由利多卡因引起的神经毒性。由于对心脏有抑制作用,两药联合应用必须十分谨慎。

[关键词] 利多卡因;普罗帕酮;肝细胞;微粒体;代谢

[中图分类号] R972.2;R969.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2002)12-0762-03

An in Vitro Study of the Metabolism of Propafenone in Combination with Lidocaine in Human Hepatocyte Microsomes

TANG Yue-nian, ZHANG Shun-guo, HONG Li-zhen, MA Jia-zhen (*Department of Pharmacy, the Affiliated Xinhua Hospital of Shanghai Second Medical University, Shanghai 200092, China*)

ABSTRACT Objective: To test and verify the enzyme responsible for the metabolism of propafenone in combination with lidocaine in human hepatocyte microsomes in an in vitro study. **Methods:** Propafenone and lidocaine were incubated along with human hepatocyte microsomes and coenzyme factors. The concentration of the drugs and their metabolites were determined by HPLC. The drugs in their original state and their metabolites were compared before and after combination as well as before and after incubation. **Results:** As shown by Dixon plotting, the combination of the two drugs was in accordance with competitive inhibition. **Conclusion:** Neurotoxicity of lidocaine may be greatly mitigated by the combined use of propafenone and lidocaine. The combined use of the two drugs, however, should be carried out with extreme caution because of its depressive effect on the heart.

KEY WORDS Lidocaine; Propafenone; Liver; Microsome; Metabolism

笔者在大鼠肝匀浆中研究普罗帕酮(propafenone, PRO)和利多卡因(lidocaine, LID)合用时对两药代谢影响的基础上^[1],对它们合用时在人肝细胞微粒体中的代谢作进一步探讨。由于人体微粒体与大鼠肝匀浆中所含有的细胞色素酶(CYP)有较大的酶系差别^[2],所以对人体肝细胞微粒体中两个药物的代谢研究及其参数测定,对临床用药和药酶学上的意义更为重要。

1 实验材料

1.1 仪器 Beckman 338 型高效液相色谱仪(包括 406 控制器、166UV 检测仪、110B 双泵、427 积分仪); XW-80 型旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);GF-1 控制调速式高速分散器(上海医用分析仪器厂);SHZ-82 型水浴恒温振荡器(江苏太仓县医疗器械厂);日立 20PR-52D 自动高速冷冻离心机。

1.2 试剂 LID 由上海海普制药厂提供;单乙基甘氨酸二甲苯酰胺(monoethyldimethyl-glycinexylide, MGX)和甘氨酸二甲苯酰胺(dimethylglycinexylide, GX)由上海医科大学药物教研组周智善教授提供;PRO 由广州医药

要从事药物制剂、药物代谢研究。

工业研究所提供,批号:900240;5-羟基普罗帕酮(5-hydroxy-propafenone, 5-OHP)和 N-去丙基普罗帕酮(N-depropyl-propafenone, NDP)由德国 Dr Margarete Fischer-Bosch-Institut for Clinic Pharmacology, Dr HK Kroemer 提供;其他化学、生化试剂均为市售分析纯、生化纯试剂。

2 实验方法

2.1 微粒体的制备 微粒体的制备见文献[3],3 例肝脏样品均来自于我国成年男性,其中 1 例取自交通事故死亡者,2 例取自肾移植供肾者。分别测定每一肝脏的蛋白含量、P₄₅₀活性、细胞色素 b5 活性及脱甲基酶活力^[3]。

2.2 药物代谢的反应体系 反应体系中含有 KCL-磷酸缓冲溶液 0.1 mol · L⁻¹ (pH 7.4), D-葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 2 μg · mL⁻¹, NADPH 0.2 mmol · L⁻¹, MgCl₂ 50 mmol · L⁻¹, 组成辅助因子,并加入肝微粒体 1 mg · mL⁻¹ 及各种浓度的 PRO 和 LID 溶液。反应体系于 37℃ 孵育,振荡孵育 1 h 后,立即放入 -20℃ 冰箱中终止反应。

[收稿日期] 2001-11-19 **[修回日期]** 2001-12-10

[作者简介] 唐跃年(1958 -),男,上海人,主管药师,主

2.3 肝微粒体中蛋白质含量对药物代谢的影响 取自制肝微粒体蛋白质浓度在 $0.5 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,分别加入 PRO 及上述辅助因子,LID 和辅助因子。观察其在不同的肝微粒体蛋白质浓度中药物的代谢变化。

2.4 孵育时间的选择 在上述药物代谢的反应体系中,分别加入 LID 和 PRO $3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,肝微粒体浓度 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 37°C 分别孵育 0,10,20,30,40,60,120,480 min。观察不同孵育时间分别对两药物代谢的影响。

2.5 PRO 及其主要代谢产物的体外代谢 在上述药物代谢的孵育条件下,分别加入底物 PRO 的浓度 0,0.5,1.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,抑制剂 LID 的浓度分别为 0.5,1.0,2.0,5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。每管都作一复管。测定数据用 Dixon 法作图,求得酶动力学常数。

2.6 药物浓度的测定 ①PRO 及其代谢产物 5-OHP、NDP 测定的色谱条件 柱 $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$,填料 Ultrasphere-ODS, $5 \text{ } \mu\text{m}$;检测波长 254 nm ,灵敏度 0.01 AUFS ,流动相: $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 2.7$): 甲醇 = 43: 57,流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。PRO、5-OHP、NDP 用内标法定量,三者的相对校正因子(RF)值分别为 2.20,1.30,0.87。见文献[1]。②LID 及其代谢产物 MGX、GX 测定的色谱条件:柱及填料同上;检测波长为 229 nm ,灵敏度 0.01 AUFS ,流动相: $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 2.7$): 甲醇 = 75: 25;流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。LID、MGX、GX 用内标法定量,三者的相对校正因子(RF)值分别为 3.51,1.29,1.50。见文献[1]。

3 结果

3.1 肝微粒体的酶活力测定 文献[3]表明:3 例样本中,肝微粒体的细胞色素 P_{450} 、细胞色素 b5 及脱甲基酶活力测定均有效。肝微粒体中蛋白质含量与 LID、PRO 的代谢的关系见图 1。可以看到在肝微粒体浓度 $0.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,蛋白质含量越高药物的代谢率越大。

图 1 肝微粒体蛋白质浓度与药药物代谢率

3.2 孵育时间的选择 由图 2 可知,在药物反应体系中,PRO 和 LID 的代谢率开始时随时间的增加而增

加,在 60 min 到达最高,所以笔者选择 60 min 作为样品的孵育时间。

3.3 体外的动力学研究 根据 Dixon 设计的作图法^[4],用代谢速度的倒数($1/V$)与拮抗药的浓度(I)作图,至少 2 种以上的底物浓度,就可用图来表示药物的

图 2 孵育时间与药物代谢率

竞争抑制。就竞争的抑制剂来说,底物浓度线的相交点的 I 轴数值为 $-K_i$ 值,对该点作与 I 轴的平行线,该线与 I 轴的垂直距离既为 $1/V_{max}$ 。当非竞争抑制时,底物浓度线在 I 轴上相交。图 3 表明:PRO 与 LID 的药物合用符合竞争抑制。

图 3 PRO(底物浓度为 $0.5, 1.0 \text{ } \mu\text{m} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 与 LID 在人体外肝细胞微粒体酶中竞争抑制 Dixon 图

4 讨论

笔者采用人肝微粒体孵育法,得到了人肝微粒体中 PRO 和 LID 合用时两药竞争抑制的曲线及部分数据。本实验结果与大鼠肝匀浆实验结果比较发现:在大鼠肝匀浆中 PRO 的孵育时间是 4 h;而人肝微粒体的孵育时间为 60 min。根据文献报道,在人体内 PRO 主要有两条代谢途径,一条为 $\text{CYP}_{450}2\text{D}6$ 催化生成 5-OHPRO,另一条为 $\text{CYP}_{450}3\text{A}4$ 与 $\text{CYP}_{450}1\text{A}2$ 催化生成 N 去丙基 PRO^[4,5],这些 CYP 在人肝微粒体中是大量存在的药酶,而在大鼠肝匀浆中没有 $\text{CYP}_{450}3\text{A}4$ 等代谢酶,所以导致药物代谢时间的变化。

由于抗心律失常药物对心脏具有不用程度的抑制作用,对他们的联合应用必须十分谨慎。LID 和 PRO 合用能使负心肌力效应轻度累加,但可大大减低由于 LID 引起的神经毒性,降低由此而引起的不良反应^[6]。

[参考文献]

[1] 唐跃年,张宛陵,刘璐,等. 普罗帕酮和利多卡因在大

- 鼠肝匀浆中合用时的代谢[J]. 中国药理学报, 1994, 15 (9): 536 - 539.
- [2] Juchau M R, Lee Q P, Fantel A G. Xenobiotic biotransformation / bioactivation in organogenesis-stage conceptual tissues: implications for embryotoxicity and teratogenesis[J]. *Drug Metab Rev*, 1992, 24(2): 195 - 238.
- [3] 唐跃年, 张顺国, 李 岚, 等. 肝细胞微粒体的制备和细胞色素 P₄₅₀ 氧化酶活性测定[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18(9): 535 - 536.
- [4] Kobayashi K, Nakajima M, Chiba K, *et al.* Inhibitory effects of anti-arrhythmic drugs on phenacetin o-deethylation catalysed by human CYP1A2[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1998, 45(4): 361 - 368.
- [5] 唐跃年, 张宛陵. 普罗帕酮的临床应用[J]. 上海第二医科大学学报, 1993, 13(4): 246 - 248.
- [6] Feld G K, Nademanee K, Singh B N, *et al.* Hemodynamic and electrophysiologic effects of combined infusion of lidocaine and propafenone in humans[J]. *J Clin Pharmacol*, 1987, 27: 52 - 59.

肠安颗粒剂对鼠胃肠功能的影响

夏敬民, 陈桂钧, 李 芳

(广东医学院附属湛江中心医院药剂科, 524037)

[摘要] 目的: 研究肠安颗粒剂对小鼠及大鼠胃肠运动及胃液分泌功能的影响。方法: 采用清醒状态下灌胃给药, 测定给药后小鼠小肠内炭末前沿至幽门的距离占小肠全长、大鼠结肠内炭末前沿至回盲瓣的距离占结肠全长的百分比, 小鼠胃内苯酚红的残留量、大鼠胃液与胃酸的分泌量和胃蛋白酶的活性。苯酚红含量测定采用紫外分光光度法, 胃蛋白酶的活性采用 Mett 法。结果: 肠安颗粒剂可增大小鼠小肠内炭末前沿至幽门的距离占小肠全长和大鼠结肠内炭末前沿至回盲瓣的距离占结肠全长的百分比, 增加大鼠胃液、胃酸的分泌量以及增强胃蛋白酶的活性。可减少用药后 30 min 小鼠胃内苯酚红的残留量。结论: 肠安颗粒剂具有促进胃、小肠和大肠运动和胃液分泌的功能。

[关键词] 肠安颗粒剂; 胃肠功能

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2002)12-0764-02

Effect of *Changan* Granules on the Function of the Stomach and Intestine in the

Rat and Mouse

XIA Jing-min, CHEN Gui-jun, LI Fang (*The Affiliated Zhanjiang Central Hospital, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524037, China*)

ABSTRACT Objective: To Study the effect of *changan* (gut-soothing) granules (composed of several traditional Chinese medicinal herbs) on the function of stomach and intestine in the mouse and rat. **Method:** *Changan* granules, carbon particles and phenolsulfonphthalein were administered by oral or cecal intubation, respectively to conscious mice and rats. After a definite time period, the ratio of the distance between the leading front of carbon particles in the small intestine and the pylorus to the full length of the small intestine in the mouse, the ratio of the distance between the leading front of carbon particles in the colon and the ileocecal valve to the full length of the colon in the rat, the amount of remnant phenolsulfonphthalein in the stomach of the mouse, the amount of gastric juice and gastric acid secretion as well as the activity of pepsin in the rat, were measured. Phenolsulfonphthalein was determined by ultraviolet spectrophotometry, pepsin activity, with the mett's method. **Results:** The aforementioned ratios were increased by *changan/granules* in doses of 0.25, 0.50, 1.00 g · kg⁻¹ in the rat and mouse. The secretion of gastric juice and gastric acid and the activity of pepsin were also increased in the rat. The phenolsulfonphthalein remnant in the stomach of the mouse was decreased 30 min after the administration of *changan* granules in doses of 0.125, 0.250, 0.500 g · kg⁻¹. **Conclusion:** *Changan* granules were shown to promote the motility of the stomach, small intestine and large intestine as well as the secretory function of the stomach.

KEY WORDS *Changan* granules; Function of the stomach and intestine

肠安颗粒剂(简称:肠安)是根据脾胃气滞的中医理论,结合现代病理生理学研究,在“扶正理气汤”及“排气汤”等方剂的基础上研制的具有生津健脾、消积除胀和理气止痛的中药颗粒剂。笔者就肠安对动物胃

肠运动及分泌功能作一初步研究,为临床应用提供实验依据。

[收稿日期] 2002-02-19

[修回日期] 2002-03-18

[作者简介] 夏敬民(1961-),男,湖北鄂州人,副教授,