

# 复方丹参滴丸对药物代谢酶 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性影响的研究

吴慧<sup>1</sup>, 张霞<sup>2</sup> (1. 山东淄博矿业集团公司中心医院药剂科, 山东 淄博 255120; 2. 临淄区人民医院, 山东 淄博 255000)

**摘要:**目的 探讨复方丹参滴丸对 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性的影响, 指导临床医师合理用药。方法 以咖啡因作为探针药物, 以 HPLC 测定受试者服用复方丹参滴丸前后尿液内咖啡因的 5 种主要代谢产物的相对含量, 采用不同代谢物的比率分别评价 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性的变化。结果 受试者用药前 CYP1A2, NAT2 和 XO 平均活性为  $4.20 \pm 1.54$ ,  $0.36 \pm 0.12$ ,  $0.33 \pm 0.05$ ; 服用复方丹参滴丸 14 d 后三者的平均活性为  $4.26 \pm 1.95$ ,  $0.32 \pm 0.12$ ,  $0.32 \pm 0.07$ ; 服用复方丹参滴丸 28 d 后三者的平均活性为  $4.35 \pm 1.26$ ,  $0.30 \pm 0.11$ ,  $0.31 \pm 0.04$ ; 服药 14 d 后 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性无统计学差异; 服药 28 d 后 CYP1A2 和 NAT2 活性无统计学差异, 但 XO 的平均活性降低, 且具有统计学差异。结论 复方丹参滴丸对药物代谢酶 CYP1A2 和 NAT2 活性无明显影响。服用治疗剂量的复方丹参滴丸对 XO 活性具有抑制作用。

**关键词:** 复方丹参滴丸; 咖啡因; 高效液相色谱法; CYP1A2; NAT2; XO

中图分类号: R972 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2009)01-0008-04

## The Study on the Effect of Compound Danshen Dripping Pills on the Activity of CYP1A2, NAT2, and XO

WU Hui<sup>1</sup>, ZHANG Xia<sup>2</sup> (1. The Central Hospital Pharmacy, Mining Industry Company of Shandong Zibo, Zibo 255120, China; 2. The People's Hospital of Linzi District, Zibo 25000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effect of compound danshen dripping pills on the activity of CYP1A2, NAT2 and XO

作者简介: 吴慧, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: (0533)5851738 E-mail: wuhui1031@tom.com

and to forecast the drug-drug interaction with it, so as to instruct clinician to prescribe rationally. **METHODS** In thirty volunteers, two-way cross design was used, caffeine was used as a metabolic probe for CYP1A2, NAT2, and XO, before and after compound danshen dripping pills administration, urine samples were collected. The contents of five major metabolites of caffeine in the urine were determined by RP-HPLC method. And then the activity change of CYP1A2, NAT2 and XO was evaluated by the ratio of metabolites of caffeine. **RESULTS** It was found that the average activity of CYP1A2, NAT2 and XO were  $4.20 \pm 1.54$ ,  $0.36 \pm 0.12$ ,  $0.33 \pm 0.05$  before treatment, and 14 days after administration, the average activity of CYP1A2, NAT2 and XO were  $4.26 \pm 1.95$ ,  $0.32 \pm 0.12$ ,  $0.32 \pm 0.07$ , and 28 days after administration, the average activity of CYP1A2, NAT2 and XO were  $4.35 \pm 1.26$ ,  $0.30 \pm 0.11$ ,  $0.31 \pm 0.04$ . There was no statistical significance between before treatment and after taking medicine 14 days for CYP1A2, NAT2 and XO and also there was no statistical significance between before treatment and after taking medicine 28 days for CYP1A2 and NAT2. But there was statistical significance between before treatment and after taking medicine 28 days for XO. **CONCLUSION** Compound danshen dripping pills have no influence on CYP1A2 and NAT2, so compound danshen dripping pills do not modify the efficacy of drugs which metabolized by CYP1A2 and NAT2 taken simultaneously. But compound danshen dripping pills may modify the efficacy of drugs which metabolized by XO taken simultaneously.

**KEY WORDS**: compound danshen dripping pills; caffeine; HPLC; cytochrome P450 1A2; N-acetyltransferase 2; xanthine oxidase

药物代谢酶细胞色素 P450 酶 1A2 (Cytochrome P450 1A2, CYP1A2)、N-乙酰基转移酶 (N-acetyltransferase 2, NAT2) 和黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO) 在药物代谢和前致癌物激活的过程中均起着重要的作用, 3 种酶不同活性状态的存在对化学物质的体内转化产生一定的影响, 对 3 种药物代谢酶活性的测定有助于预测药物疗效、预防药物不良反应和临床个体化用药。

复方丹参滴丸克服了复方丹参片口服时药效低, 对胃黏膜刺激引发的胃部不适等弊病, 具有有效成分纯度高、分散均匀、溶出速度快、可直接经黏膜快速吸收入血、无肝脏首过效应、生物利用度大大提高等优点<sup>[1]</sup>。目前已广泛用于冠心病为主的多种疾病的治疗, 现已成为国内治疗心血管疾病的主要药物之一。

咖啡因是测定 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性的有效探针药物<sup>[2]</sup>, 通过测定人尿中咖啡因的 5 种主要代谢产物 5-乙酰氨基-6-甲酰氨基-3-甲基尿酸 (AFMU)、1-甲基尿酸 (1U)、1-甲基黄嘌呤 (1X)、1,7-二甲基尿酸 (17U) 和 1,7-二甲基黄嘌呤 (17X) 的相对含量, 以  $(AFMU + 1X + 1U)/17U$  比值可以反映 CYP1A2 的活性,  $AFMU/(AFMU + 1X + 1U)$  反映 NAT2 的活性,  $1U/(1X + 1U)$  反映 XO 的活性<sup>[3]</sup>, 故本实验以咖啡因为探针药物, 研究服用治疗剂量的复方丹参滴丸对人肝脏药物代谢酶 CYP1A2、NAT2 和 XO 活性的影响, 从而为临床应用复方丹参滴丸提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品与试剂

复方丹参滴丸(天津天士力制药股份有限公司

批号:20061208), 雀巢咖啡(东莞雀巢有限公司, 批号:20030801)、咖啡因粉(乐山中西制药有限公司, 批号:010522-2); 5-乙酰氨基-6-甲酰氨基-3-甲基尿酸 (AFMU) (加拿大多伦多大学药理学系提供); 1-甲基黄嘌呤 (1X, Sigma 公司, 批号:84H4055); 1-甲基尿酸 (1U, Sigma 公司, 批号:37H2522); 1,7-二甲基尿酸 (17U, Sigma 公司, 批号:87H2516, 含量为 95%); 1,7-二甲基黄嘌呤 (17X, Sigma 公司, 批号:117H4066, 含量为 98%); 醋酸(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心, 批号:20030601); 乙腈(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心, 批号:20031015)。实验用水为超纯水。

### 1.2 仪器

10Avp 型高效液相色谱仪, SCL-10AVP 中央控制器, LC-10ATVP 高压泵, SIL-10ADVP 自动进样器, SPD-10AVP 紫外可见检测器, CLASS-VP5.0 色谱数据工作站(均为日本 Shimadzu 公司); 低温冰箱(日本三洋公司); 低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.3 试验对象及给药方案

遵照自愿原则, 选择 30 例健康志愿者作为受试者, 其中男 19 例, 女 11 例, 年龄  $(21.9 \pm 6.18)$  岁, 体重  $(68.5 \pm 5.4)$  kg。入选前对志愿者均进行病史询问和体格检查, 包括心电图、血压、肝肾功能及血尿常规等检查, 检查结果正常者被选入受试对象。入选志愿者均无经常吸烟和饮酒史, 无慢性疾病及家族遗传病史。实验前 2 周无用药史, 3 个月内未参加其他药物临床试验。所有参加试验的受试者均签署了书面知情同意书, 研究方案经过山东省立医院伦理委员会批准。

30 名受试者禁食 12 h 后清晨空腹口服临床剂量的复方丹参滴丸(每次 100 mg, 每日 2 次)。分别在第 1 天、第 14 天和第 28 天早上 9:00 预留空白尿样后口服 1 标准杯咖啡(每杯加 120 mg 咖啡因和 3 g 咖啡, 共含咖啡因约 215 mg), 下午 14:00 留取尿样 10 mL 至样品瓶中(样品瓶中预先加入维生素 C200 mg), 于 -20 °C 保存直至分析。受试者在试验前 3 d 内和整个试验过程中禁用任何含咖啡因的食物、饮料及药物, 饮食以清淡食品为主, 并不得服用其他任何药物。试验全过程有医师监护。

#### 1.4 人尿中咖啡因 5 种代谢物的测定

色谱条件: 色谱柱: Shim-packVP-ODS 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 岛津 Shim-pack C<sub>18</sub> 预柱; 流动相为乙腈(A 相), 0.05% 醋酸(B 相), 0~24 min 流动相 B 的比例从 2.5% 线性增加至 8%; 流速为 1 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温 25 °C; 检测波长为 280 nm; 进样体积: 20 μL。具体方法参照文献进行<sup>[3]</sup>。

#### 1.5 不良事件观察

在整个试验过程中详细观察有无不良事件, 按与药物有关、很可能与药物有关、可能与药物有关、可能与药物无关和肯定与药物无关五级评定标准, 判断临床反应及化验异常与试验药物之间的关系, 将前三者计为药物不良反应, 统计药物不良反应发生率。

#### 1.6 统计学处理

表 1 服用复方丹参滴丸后 CYP1A2、NAT2 和 XO 活性变化( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Change of the activity of CYP1A2, NAT2 and XO after compound danshen dripping pills administration( $\bar{x} \pm s$ )

肝药酶	受试者	服药前	服药中期/14 d	P 值	服药后/28 d	P 值
CYP1A2	全体(n=30)	4.20 ± 1.54	4.26 ± 1.95	0.44	4.35 ± 1.26	0.28
NAT2	全体(n=30)	0.36 ± 0.12	0.32 ± 0.12	0.09	0.30 ± 0.11	0.06
XO	全体(n=30)	0.33 ± 0.05	0.32 ± 0.07	0.35	0.31 ± 0.04	0.03

### 3 讨论

药物代谢酶活性测定一直是临床药理学中较为活跃的研究领域, 应用咖啡因同时评价人肝脏药物代谢酶 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性在国内开展还比较少。本研究方案先测定服用复方丹参滴丸前的 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性, 之后再测定服用复方丹参滴丸 14 d, 28 d 后的 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性, 据此考察复方丹参滴丸对 CYP1A2, NAT2 和 XO 活性的影响, 国内未见同类报道。

目前, 国内就丹参提取物对 CYP1A2 的诱导作用存在争议。杨秋慧等<sup>[4]</sup>利用咖啡因代谢探针法研究了复方丹参滴丸诱导人体内 P450 同工酶

实验数据均用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 所有数据应用 SPSS for windows 12.0 统计软件包进行统计分析, 用药前后比较采用配对 t 检验, 以  $P < 0.05$  为有显著性统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 药物不良反应

30 名受试者均按要求进行服药, 整个试验过程中没有受试者退出, 受试者口服咖啡因和复方丹参滴丸后 10 d 内无不适主诉。

### 2.2 测定结果与统计分析

在上述色谱条件下咖啡因 5 种代谢物之间具有良好的分离度, 且尿中杂质不干扰其测定。30 名受试者服用复方丹参滴丸前后 CYP1A2、NAT2 和 XO 活性详见表 1。采用 SPSS for windows 12.0 统计软件包对服用复方丹参滴丸前后 CYP1A2、NAT2 和 XO 活性进行配对 t 检验。结果 CYP1A2 的活性在服药中、服药后分别比服药前升高 1.42% 和 3.57%, 但是没有统计学差异( $P > 0.05$ )。NAT2 的活性在服药中期、服药后分别比服药前降低 11.11% 和 16.67%, 但是没有统计学差异( $P > 0.05$ )。XO 的平均活性在服药中期、服药后分别比服药前降低 3.03% 和 6.06%, 服药中期与服药前相比较无统计学差异( $P > 0.05$ ), 服药后期与服药前相比较, XO 活性降低, 有统计学差异( $P < 0.05$ )。说明复方丹参滴丸对 XO 活性有一定的抑制作用。

CYP1A2 的影响, 认为复方丹参片可诱导人体 CYP1A2 酶的活性。施畅等<sup>[5]</sup>对复方丹参滴丸对大鼠肝微粒 CYP 酶系及其主要亚型(CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1 和 CYP3A)的影响进行了探讨, 认为复方丹参滴丸对大鼠肝脏 CYP450 及主要亚型 CYP1A2, 2E1, 3A 无诱导效应, 高剂量下仅对 CYP2B1/2 有轻度诱导效应, 此种作用无明显临床意义。本试验统计结果表明, 给予复方丹参滴丸治疗剂量 14 d 后, 人体内 CYP1A2 活性虽有所提高, 但无显著性统计学意义( $P > 0.05$ ); 给予复方丹参滴丸治疗剂量 28 d 后, 人体内 CYP1A2 活性有所提高, 但无显著性统计学意义( $P > 0.05$ )。可能由于

试验条件、个体差异及种属差异等原因导致试验结果的差异,但从本试验结果来看故复方丹参滴丸对 CYP1A2 活性的影响虽有提高,但无统计学意义。故笔者认为在临床用药过程中不需考虑复方丹参滴丸对 CYP1A2 活性的影响。当然长期或者大剂量使用复方丹参滴丸对 CYP1A2 活性的影响值得进一步研究。

目前认为慢 NAT2 乙酰化反应能力会提高患膀胱癌、乳腺癌、肝癌和肺癌的危险性,但降低了患直肠癌的危险性<sup>[6]</sup>。给予治疗剂量复方丹参滴丸 14 d 后,人体内 NAT2 活性有所降低,但无显著性统计学意义( $P > 0.05$ );给予复方丹参滴丸治疗剂量 14 d 后,人体内 NAT2 活性有所降低,但无显著性统计学意义( $P > 0.05$ )。提示在以咖啡因为探针进行乙酰化分型时不必考虑复方丹参滴丸对结果的影响;复方丹参滴丸对经乙酰化代谢的药物无明显影响,复方丹参滴丸可能不会影响与之合用的需经乙酰化代谢药物临床疗效。

自由基可引起 DNA 链的点突变、单链缺口、染色体重排等一系列损伤,因此普遍认为癌症的发生与自由基的作用密切相关<sup>[6]</sup>,XO 因其能产生自由基,受到了人们的关注,XO 作为一个敏感的缺氧缺血指标被论证和应用<sup>[2]</sup>。本实验统计结果表明,给予治疗剂量复方丹参滴丸 14 d 后,人体内 XO 活性有所降低,但无显著性统计学意义( $P > 0.05$ );给予复方丹参滴丸治疗剂量 28 d 后,人体内 XO 活性有所降低,有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示复方丹参

滴丸对 XO 活性存在抑制作用,从而可以推测复方丹参滴丸能抑制自由基的产生,进而削弱自由基对机体的损害,可能对抑制癌症的产生有一定的作用。

## REFERENCES

- [1] KANG Y, WANG Y H, ZHI L M, et al. The clinical new application of compound danshen dripping pills [J]. Clinical Focus (临床荟萃), 2005, 20(10):596-597.
- [2] LI J, PENG X Q, ZHANG J, et al. Determination of five metabolites of caffeine in urine to assess three drugs-metabolizing biotransformation enzyme activities by HPLC with direct injection method [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学), 2005;10(7):768-771.
- [3] YANG Q H, SONG Q L, MENG X Q. Observation on the Effect of Compound Danshen Inducing Human CYP 450 1A2 [J]. J Haerbin med Univ (哈尔滨医科大学学报), 1997, 31(4):295-296.
- [4] SHI C, WU C Q, MA H Z, et al. Study on Rat Liver Cytochrome P<sub>450</sub> Induction Effect of Compound Danshen Dripping Pills [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药理学学报), 2003, 19(5):344-346.
- [5] HEIN D W, DOLL M A, FRET LAND A J, et al. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2000, 9(1):29-42.
- [6] BIRI H, OZTURK H S, KACMAZ M, et al. Activities of DNA turnover and free radical metabolizing enzymes in cancerous human prostate tissue [J]. Cancer Invest, 1999, 17(5):314-319.