

# CYP2D6\*10 基因多态性与泮托拉唑药动学关系研究

侯大平\*, 张志国#, 孙淑波, 王 晶, 雷力力(佳木斯大学附属第一医院, 黑龙江 佳木斯 154002)

中图分类号 R975<sup>+</sup>.2;R969.1;R968

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)18-1663-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.18.12

**摘要** 目的:研究泮托拉唑在不同CYP2D6\*10基因型健康志愿者体内的药动学。方法:24名健康志愿者分为CC组、CT组、TT组;应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析CYP2D6\*10基因型。受试者均口服泮托拉唑肠溶胶囊(40 mg)后,采用高效液相色谱法测定血药浓度。结果:CC组、CT组、TT组的 $t_{1/2}$ 分别为(1.78±0.34)、(1.51±0.64)、(2.05±0.37)h, $c_{max}$ 分别为(3.20±0.82)、(3.29±0.74)、(3.13±0.79)mg/L, $AUC_{0-12h}$ 分别为(11.18±3.94)、(11.37±4.66)、(14.31±4.77)mg·h/L。通过 $t$ 检验, $t_{1/2}$ 、 $c_{max}$ 、 $AUC_{0-12h}$  3种基因型之间的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结论:泮托拉唑药动学在个体间的差异与CYP2D6\*10基因型可能不相关。

**关键词** 泮托拉唑;药动学;CYP2D6\*10;基因多态性

## Study on the Relationship of CYP2D6\*10 Gene Polymorphism with Pharmacokinetics of Pantoprazole

HOU Da-ping, ZHANG Zhi-guo, SUN Shu-bo, WANG Jing, LEI Li-li (The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Heilongjiang Jiamusi 154002, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of pantoprazole in healthy volunteers with different CYP2D6\*10 genotypes. METHODS: 24 healthy volunteers were divided into CC group, CT group and TT group; CYP2D6\*10 genotype was analyzed with polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The subjects were given Pantoprazole enteric-coated capsules (40 mg) orally, and then the blood concentration of pantoprazole was determined by HPLC. RESULTS: Main pharmacokinetic parameters of CC group, CT group and TT group were as follows:  $t_{1/2}$  were (1.78±0.34) h, (1.51±0.64) h and (2.05±0.37) h;  $c_{max}$  were (3.20±0.82) mg/L, (3.29±0.74)mg/L and (3.13±0.79) mg/L;  $AUC_{0-12h}$  were (11.18±3.94)mg·h/L, (11.37±4.66) mg·h/L and (14.31±4.77) mg·h/L, respectively. After  $t$ -test, there were no statistical significance in differences of  $t_{1/2}$ ,  $c_{max}$  and  $AUC_{0-12h}$  among three genotypes ( $P>0.05$ ). CONCLUSIONS: The individual pharmacokinetics differences of pantoprazole may not be related to CYP2D6\*10 genotypes.

**KEY WORDS** Pantoprazole; Pharmacokinetics; CYP2D6\*10; Gene polymorphism

泮托拉唑是继奥美拉唑、兰索拉唑后上市的第3代质子泵抑制剂(PPIs),在临床上主要用于治疗消化性溃疡及作为ICU病房的常用备急药品用于上消化道出血的急救。PPIs的代谢表现出遗传多态性,PPIs的慢代谢型与S-美芬妥英的慢代谢型具有很高的相关性(CYP2C19)。涉及PPIs的代谢酶主要为CYP3A4和CYP2C19<sup>[1-2]</sup>。目前对泮托拉唑和兰索拉唑代谢的研究还不完全,CYP2D6是否参与泮托拉唑的代谢还需进一步研究。因此,本研究拟从分子生物学的角度探讨CYP2D6\*10基因多态性与泮托拉唑药动学关系,为疾病的诊断和用药提供基础资料。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

P230 II 高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司);2475多波长荧光检测器(美国Waters公司);EC2006色谱数据处理工作站(大连依利特分析仪器有限公司);S1000 Thermal Cycler PCR仪,PowerPac Universal通用型电泳仪、ChemiDoc XRS凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);H2500R-2高速冷冻离心机(上海沪誉贸易有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

乙腈(天津凯通化学试剂有限公司);泮托拉唑、兰索拉唑购自中国食品药品检定研究院;Genomic DNA Purification

\*主任药师。研究方向:临床药学。电话:0454-8623360。E-mail:houdp888@126.com

#通信作者:主任药师。研究方向:临床药理学。电话:0454-8223391。E-mail:zgz-0000@163.com

Kit,Star pcr Taq,50 bp DNA Marker,Hph I 均为Fermentas公司生产;CYP2D\*10扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,DNA测序由生工生物工程(上海)股份有限公司北京测序部完成。

### 1.3 研究对象

在健康体检人员中随机选择100名经心电图、胸透、血常规、肝肾功能检查均正常者,应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析CYP2D6\*10基因型。从中选出快、中、慢基因型(CC、CT、TT)代谢人员各8名进行药动学试验。试验经医院伦理委员会批准,同时受试者签署知情同意书。其中,男性与女性的数目各占一半,平均年龄为(30.6±3.3)岁,平均体质量为(63.1±8.4)kg,平均身高为(1.69±0.07)m。

## 2 方法

### 2.1 试验方案

健康志愿者从试验前2周至试验结束,整个期间不得服用任何其他药物以及含酒精、咖啡因等的刺激性饮料。于服药前日晚8:00起禁食,于次日晨8:00口服泮托拉唑肠溶胶囊(杭州中美华东制药有限公司)40 mg。患者于服药后4 h给予标准餐进食。受试者在给药前及给药后1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、9.0、12.0 h各抽取肘静脉血4.0 ml。血样加入柠檬酸钠,室温下静置10 min后,3 500 r/min离心10 min,取上层血浆,于-20℃保存,保存时间不得超过10 d。

### 2.2 基因检测

PCR引物:上游引物:5'-CCATTGGTAGTGAGGCAGG-TAT-3';下游引物:5'-CACCATCCATGTTTGCTTCTGGT-3'。

PCR体系:Hot Star酶12.5 μl,F、R引物各1 μl,提取DNA 2 μl,ddH<sub>2</sub>O 9.5 μl;反应条件:95 °C预变性4 min,95 °C变性30 s,56 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,35个循环后,72 °C延伸5 min。酶切及电泳体系:10×green buffer 2 μl,PCR产物8 μl,Hph I 1.0 μl,ddH<sub>2</sub>O 5 μl;酶切条件:水浴37 °C酶切4 h,然后取出置水浴65 °C灭火20 min;电泳条件:使用2.0%琼脂糖凝胶,电压145V,电泳45 min。

### 2.3 血药浓度检测方法

高效液相色谱法测定待测样品血药浓度,以兰索拉唑(含兰索拉唑0.033 2 mg/ml)25 μl为内标。取“2.1”项下血浆0.5 ml,加0.1 mol/L氢氧化钠溶液50 μl,混匀,加无水乙醚-乙酸乙酯混合液(3:2)3 ml,涡旋提取,3 000 r/min离心5 min,分取有机层,38 °C水浴氮气流下吹干;残渣加甲醇0.1 ml涡旋溶解,3 000 r/min离心5 min,进样40 μl。色谱柱:Hpersil ODS2 C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm,5 μm);流动相:0.01 mol/L磷酸氢二钾溶液(磷酸调pH7.0)-乙腈(72:28);流速:1.4 ml/min;检测波长:288 nm;柱温:35 °C。以泮托拉唑样品峰面积与内标峰面积比值(x)对其加入浓度(y)作线性回归,得回归方程: $y=0.789 7x+0.093 9$ , $r^2=0.997 8$ 。结果,其线性范围为0.019~12.672 μg/ml,定量下限为0.019 μg/ml。

### 2.4 统计处理

药-时曲线用3p97程序作参数估算。 $c_{max}$ 和 $t_{max}$ 用实测值;采用梯形法计算曲线下面积(AUC)。计量资料比较应用t检验。

## 3 结果

### 3.1 基因型分析

PCR产物为271 bp,当等位基因为野生纯合子CC时,PCR产物有1个Hph I正向酶切位点,酶切后产生213、58 bp 2个片段;当等位基因为突变纯合子TT时,产生1个反向酶切位点,分为113、100、58 bp 3个片段;当等位基因为杂合子CT时,正向、反向酶切位点均出现,分213、113、100、58 bp 4个片段。

在本试验条件下,3种不同基因型能够清晰分离,见图1;经毛细管电泳测序,与本试验结果一致,见图2(95位为突变基因位点)。

### 3.2 泮托拉唑药动学

待测组分与内标物分离良好,血浆内源性成分不影响检测,泮托拉唑低、中、高3种浓度(0.095、0.792、6.336 μg/ml)准确度在99.00%~102.00%之间,日内及日间RSD在3.00%~14.00%之间,血浆样品于-20 °C保存20 d内稳定。典型色谱图见图3;按基因型分组口服40 mg泮托拉唑后的药-时曲线见图4;经3p97软件处理后,各项数据见表1。

3组泮托拉唑受试者口服后的药-时曲线经3p97软件分析,符合一级动力学和一房室模型。由表1可见,虽然TT型与CC型之间, $t_{1/2}$ 、 $AUC_{0-12h}$ 分别相差0.27 h(13.2%)和3.13 mg·h/L(21.9%),但通过t检验,二者差异无统计学意义( $P>0.05$ ),即CYP2D6\*10基因多态性对泮托拉唑的代谢没有显著影响。

## 4 讨论

泮托拉唑为苯并咪唑衍生物,分子量小,脂溶性高,呈弱碱性,存在于体细胞周围的弱碱性环境之中,比较稳定<sup>[3]</sup>,经酸催化生成有活性的次磺酸和氨苯磺胺衍生物而起作用。此过程使泮托拉唑几乎不经过肝脏的首关效应,生物利用度较高(77%),在肝脏被充分地生物转化并不同程度地被各种细胞色素P<sub>450</sub>同工酶代谢。泮托拉唑被口服和静注后在体内完全被CYP家族的CYP2C19酶和CYP3A4酶代谢,影响其他药

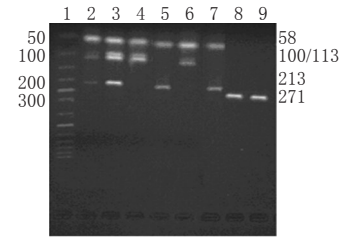


图1 CYP2D6\*10电泳图谱

1.50 bp Marker; 2,3. CT型; 4,6. TT型; 5,7. CC型; 8,9. 扩增产物

Fig 1 CYP2D6\*10 electrophoresis

1. 50 bp Marker; 2,3. CT type; 4,6. TT type; 5,7. CC type; 8,9. amplification products

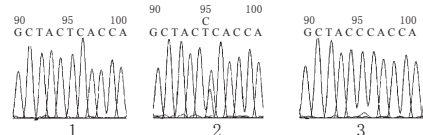


图2 CYP2C19\*2测序图谱

1. TT型; 2. CT型; 3. CC型

Fig 2 CYP2C19\*2 sequencing map

1. TT type; 2. CT type; 3. CC type

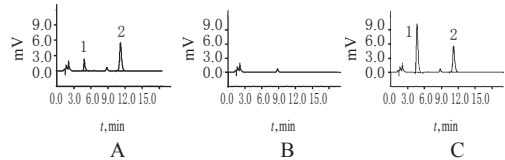


图3 典型色谱图

A. 加样血浆; B. 空白血浆; C. 受试者服用泮托拉唑后血浆; 1. 泮托拉唑(保留时间为4.81 min); 2. 兰索拉唑(保留时间为11.19 min)

Fig 3 Typical chromatograms

A. plasma with sample; B. blank plasma; C. plasma of subjects after taking pantoprazole; 1. pantoprazole (retention time of 4.81 min); 2. lansoprazole (retention time of 11.19 min)

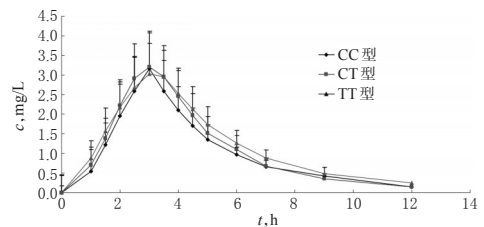


图4 口服泮托拉唑后的药-时曲线

Fig 4 Blood concentration-time curves of pantoprazole with oral administration

表1 单剂量口服泮托拉唑后3种基因型受试者的主要药动学参数( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Main pharmacokinetic parameters of pantoprazole in three genotypes volunteers after oral administration of single dose ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

基因型	$K_e, h^{-1}$	$K_d, h^{-1}$	$t_{1/2}, h$	$t_{max}, h$	$c_{max}, mg/L$	$AUC_{0-12h}, mg \cdot h/L$	CL/F, L/h	$V_d/F, L$
CC	$0.40 \pm 0.08$	$0.81 \pm 0.25$	$1.78 \pm 0.34$	$3.00 \pm 0.27$	$3.20 \pm 0.82$	$11.18 \pm 3.94$	$4.10 \pm 1.83$	$10.12 \pm 3.24$
CT	$0.41 \pm 0.09$	$0.88 \pm 0.46$	$1.51 \pm 0.64$	$3.06 \pm 0.32$	$3.29 \pm 0.74$	$11.37 \pm 4.66$	$4.27 \pm 2.14$	$11.38 \pm 7.73$
TT	$0.34 \pm 0.06$	$0.79 \pm 0.22$	$2.05 \pm 0.37$	$3.12 \pm 0.23$	$3.13 \pm 0.79$	$14.31 \pm 4.77$	$3.11 \pm 1.17$	$9.10 \pm 3.79$

如酮康唑、VitB<sub>12</sub>、地高辛的吸收<sup>[4]</sup>。泮托拉唑肠溶剂口服给药后被迅速吸收,避免了胃酸对其的消除<sup>[5]</sup>。泮托拉唑能提高胃内pH值,与茶碱、地西洋、卡马西平、地高辛和华法林之间无

# HPLC法测定狼疮肾病患者口服吗替麦考酚酯后的血药浓度

徐 怡<sup>1,2\*</sup>, 陈 宪<sup>2</sup>, 周 蕾<sup>2</sup>, 袁恒杰<sup>2</sup>, 李正翔<sup>2</sup>, 巩 路<sup>2</sup>, 娄建石<sup>1#</sup>(1.天津医科大学基础医学院, 天津 300071; 2.天津医科大学总医院, 天津 300052)

中图分类号 R969.1; R979.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)18-1665-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.18.13

**摘要** 目的:建立测定狼疮肾病患者口服吗替麦考酚酯后血药浓度的方法。方法:狼疮肾病患者血样处理后采用高效液相色谱法测定吗替麦考酚酯体内代谢物霉酚酸。色谱柱为SGE Protocol C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-乙腈-0.01%磷酸(23:37:40, V/V/V),检测波长为216 nm,流速为1.0 ml/min,进样量为20 μl,柱温为30 ℃。结果:霉酚酸血药浓度在0.125~10 mg/L范围内线性关系良好( $r=0.9999$ );方法回收率为98.67%~104.31%;萃取回收率为83.43%~97.54%,内标(尼美舒利)萃取回收率为79.35%;日内、日间RSD分别为2.6%~7.7%、2.3%~8.5%。结论:本法简单、准确,可用于狼疮肾病患者服用吗替麦考酚酯后霉酚酸的药浓度检测。

**关键词** 吗替麦考酚酯;高效液相色谱法;狼疮肾病;霉酚酸

## Determination of the Blood Concentration of Mycophenolate Mofetil in Lupus Nephritis Patients by HPLC

XU Yi<sup>1,2</sup>, CHEN Xian<sup>2</sup>, ZHOU Lei<sup>2</sup>, YUAN Heng-jie<sup>2</sup>, LI Zheng-xiang<sup>2</sup>, GONG Lu<sup>2</sup>, LOU Jian-shi<sup>1</sup>(1. Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300071, China; 2. General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the blood concentration of mycophenolate mofetil (MMF) in the lupus nephritis (LN) patients. METHODS: HPLC was used for determining MMF metabolite mycophenolic acid (MPA) after blood sample of LN patients treated. SGE Protocol C<sub>18</sub> column was used with mobile phase consisted of methanol-acetonitrile- 0.01% phosphoric acid (23:37:40, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 216 nm, and injection volume was 20 μl. The column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear range of MPA was 0.125-10 mg/L ( $r=0.9999$ ) with method recovery of 98.67%-104.31% and extraction recovery of 83.43%-97.54%. The extraction recovery of internal standard (nimesulide) was 79.35%. RSDs of inter-day and intra-day were 2.6%-7.7% and 2.3%-8.5%, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for blood concentrations monitoring of MPA in LN patients after taking MMF.

**KEY WORDS** Mycophenolate mofetil; HPLC; Lupus nephropathy; Mycophenolic acid

相互作用<sup>[6-7]</sup>。

CYP2D位于第22号染色体上,由CYP2D6、CYP2D7P、CYP2D8P 3个基因组构成,CYP2D6为其中唯一的真基因,广泛分布于肝、肠、肾、脑等组织之中。CYP2D6参与许多药物的代谢过程,对药物的临床疗效及毒副作用有一定的影响;同时CYP2D6基因受种族差异的影响,存在明显的个体差异,如转运体基因、受体基因、靶体基因的差异<sup>[8-9]</sup>。因此在给药时需采用个体化给药方式,综合考虑个体的差异,预测用药风险<sup>[10]</sup>。

本试验研究了泮托拉唑药动学与CYP2D6\*10基因型的关系,结果表明不同CYP2D6\*10基因型对个体泮托拉唑血药浓度没有显著影响。本研究还表明,3种基因型之间 $t_{1/2}$ 、 $C_{max}$ 、 $AUC_{0-12h}$ 虽有一些差异,但差异无统计学意义。因此,笔者认为应用泮托拉唑时无需考虑CYP2D6\*10基因多态性的影响。

### 参考文献

- [1] 和凡,赵立子,毕惠嫦,等.6种细胞色素P<sub>450</sub>酶亚型特异性底物的酶动力学研究[J].中国药房,2009,20(17):1310.
- [2] 李瑜,田鑫,乔海灵,等.泮托拉唑在不同CYP2C19基因型人体内的药动学[J].中国药理学杂志,2008,43(19):1495.

\*药师。研究方向:医院药学。电话:022-60362235。E-mail: selenaxy6666@163.com

#通信作者:教授。研究方向:心血管药理学。电话:022-83336686。E-mail: jianshilou@163.com

- [3] 李军,部敬顺,张鉴.注射用泮托拉唑钠的稳定性考察[J].中国药房,2005,16(21):1655.
- [4] Blume H, Donath F, Warnke A, et al. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors[J]. *Drug Saf*, 2006, 29(9):769.
- [5] Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the eradication of *Helicobacter pylori*[J]. *Clin Pharmacokinetics*, 2000, 38(3):243.
- [6] Cheer SM, Prakash A, Faulds D, et al. Pantoprazole: an update of its pharmacological properties and therapeutic use in the management of acid-related disorders[J]. *Drugs*, 2003, 63(1):101.
- [7] Blume H, Donath F, Warnke A, et al. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors[J]. *Drug Saf*, 2006, 29(9):769.
- [8] de Leon J, Susce MT, Murray-Carmichael E. The AmpliChip CYP450 genotyping test: integrating a new clinical tool[J]. *Mol Diagn Ther*, 2006, 10(3):135.
- [9] 李健,文思远,王睿,等.细胞色素P<sub>450</sub> CYP2C9基因多态性对甲苯磺丁脲代谢动力学的影响[J].药理学学报,2005,40(8):695.
- [10] 范岚,王果,涂江华,等.表观遗传药理学与药物反应个体差异[J].中国药理学通报,2009,25(8):981.

(收稿日期:2012-12-08 修回日期:2013-01-28)