

CYP2D6*10 基因多态性与比索洛尔药动学关系研究[△]

王晶*, 张志国#, 李洪影, 孙淑波(佳木斯大学附属第一医院, 黑龙江 佳木斯 154003)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)34-3199-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.34.11

摘要 目的:研究CYP2D6*10不同基因型对健康志愿者体内比索洛尔药动学的影响。方法:采用实时荧光测序法分析CYP2D6*10基因型。将24例健康志愿者分为CC、CT、TT基因型3组($n=8$),受试者单剂量口服富马酸比索洛尔片5 mg后,采用高效液相色谱法测定血药浓度。结果:CC、CT、TT 3种基因型受试者之间主要药动学参数 $t_{1/2}$ 、 C_{max} 、 AUC_{0-32h} 分别为 (8.25 ± 1.80) 、 (7.70 ± 1.18) 、 (8.19 ± 1.86) h, (41.69 ± 11.22) 、 (37.69 ± 6.53) 、 (43.14 ± 5.85) $\mu\text{g/L}$, (394.38 ± 104.70) 、 (380.04 ± 84.04) 、 (414.08 ± 104.40) $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$ 。通过 t 检验,3种基因型之间无显著性差异($P>0.05$)。结论:比索洛尔药动学在个体间的差异与CYP2D6*10基因型无相关性。

关键词 比索洛尔;药动学;CYP2D6*10;基因多态性

Relationship of CYP2D6*10 Genetic Polymorphisms with the Pharmacokinetics of Bisoprolol

WANG Jing, ZHANG Zhi-guo, LI Hong-ying, SUN Shu-bo (The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Heilongjiang Jiamusi 154003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of different CYP2D6*10 genotypes on pharmacokinetics of bisoprolol in the healthy volunteers. METHODS: CYP2D6*10 genotypes were determined by real-time PCR. 24 healthy subjects were divided into CC genotype group, CT genotype group and TT genotype group ($n=8$). All the subjects were administered with Bisoprolol fumarate tablets at a single oral dose of 5 mg. Plasma concentration of bisoprolol was measured by HPLC. RESULTS: The main pharmacokinetic parameters of 3 genotypes of CC, CT and TT were as follows: $t_{1/2}$ (8.25 ± 1.80) h, (7.70 ± 1.18) h and (8.19 ± 1.86) h; C_{max} (41.69 ± 11.22) $\mu\text{g/L}$, (37.69 ± 6.53) $\mu\text{g/L}$ and (43.14 ± 5.85) $\mu\text{g/L}$; AUC_{0-32h} (394.38 ± 104.70) $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$, (380.04 ± 84.04) $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$ and (414.08 ± 104.40) $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$. There was no significant differences among 3 genotypes by t -test ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The individual differences of bisoprolol pharmacokinetics are not related with CYP2D6*10 genotypes.

KEY WORDS Bisoprolol; Pharmacokinetic; CYP2D6*10; Genetic polymorphism

药物代谢酶基因多态性与各种降压药的疗效密切相关,细胞色素P₄₅₀(CYP)2D6是体内最重要肝药酶之一,参与50多种临床常用药物代谢,代谢了约20%~25%的临床重要药物,并影响了约50%的临床药物的药动学(PK)。就我国人群的遗传多态性而言,CYP2D6*10型约占50%^[1]。有研究表明CYP2D6*10基因携带者美托洛尔代谢明显减慢,且纯合子变异比杂合子变异对美托洛尔的代谢影响更大^[2]。在国外有研究认为CYP2D6*10对比索洛尔的代谢有一定影响^[3],而另一

些研究认为CYP2D6*10只影响美托洛尔的代谢,而对比索洛尔的代谢没有影响^[4]。在中国人群中CYP2D6是否影响比索洛尔代谢,尚未见报道。笔者对CYP2D6*10基因多态性与比索洛尔药动学关系进行研究,以探讨比索洛尔在体内的代谢机制,为提高药物疗效、保证用药安全提供依据。

1 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);

不良反应以及二重感染的发生率。

总之,口腔颌面外科清洁手术围术期预防用药情况虽有所改善,但仍存在诸多不合理现象,如无指征用药、用药品种选择不合理、用药时机掌握不当、疗程过长、联合用药等,需要进一步加强管理。

参考文献

[1] 夏文松,胡必杰,高晓东,等.政策干预对围术期抗菌药物

[△] 黑龙江省自然科学基金资助项目(No.D201186);黑龙江省教育厅自然科学基金资助项目(No.12531694)

* 副主任药师。研究方向:临床药理学。电话:0454-8625640。E-mail:wangjing77788999@163.com

通信作者:主任药师。研究方向:临床药理学。电话:0454-8623372。E-mail:zzg-0000@163.com

预防性应用的影响[J].中华医院感染学杂志,2010,20(12):1776.

[2] 罗斌华,陈丽霞,沈燕如,等. I类手术围术期抗菌药物应用的干预分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(20):4337.

[3] 阮燕萍,俞洋,余元明.甲状腺手术围术期使用抗菌药物的干预研究[J].中华医院感染学杂志,2013,23(1):157.

[4] 中华医学会外科学分会,中华外科杂志编辑委员会.围术期预防应用抗菌药物指南[J].中华外科杂志,2006,44(23):1594.

[5] 卢军,冯兴梅,崔明军.口腔颌面外科术后感染相关因素分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(18):3868.

(收稿日期:2013-05-13 修回日期:2013-06-13)

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);AUW220D 电子分析天平(日本岛津公司);RT-Cycler 436 实时荧光定量 PCR 仪;微测序基因分析程序(北京华夏时代基因科技发展有限公司);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

富马酸比索洛尔对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100711-200401);酒石酸美托洛尔对照品(内标,中国食品药品检定研究院,批号:10084-200101);富马酸比索洛尔片(默克雪兰诺有限公司,批号:128380,规格:5 mg);PHARM-GENE 01 SNP 分析保存液(北京华夏时代基因科技发展有限公司,批号:2012032811,规格:1 ml);PHARM-GENE 200 SNP 分析样品处理试剂(CYP2D6*10-100,北京华夏时代基因科技发展有限公司,批号:2012052613,规格:25 μ l);乙腈为色谱纯。

2 方法

2.1 研究对象

在健康体检人员中随机选择 100 例心电图、胸透、血常规、肝肾功能均正常人员进行 CYP2D6*10 基因检测,从中挑选 CC、CT、TT 基因型人员各 8 例,其中男性 11 例,女性 13 例进行药动学试验。试验前遵循赫尔辛基宣言,经医院伦理委员会批准,受试者在被告知所有可能出现的不良反应后,签署知情同意书。24 例试验对象人口学统计数据见表 1。

表 1 不同基因型试验对象人口学数据($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Demographic data of healthy volunteers with different genotypes($\bar{x} \pm s, n=8$)

基因型	年龄,岁	体质量,kg	身高,cm	性别(男/女)
CC	27.9 \pm 2.3	62.1 \pm 9.1	170.2 \pm 6.5	3/5
CT	33.5 \pm 2.6	60.7 \pm 7.8	168.0 \pm 5.5	3/5
TT	28.4 \pm 1.9	66.1 \pm 10.2	170.5 \pm 7.4	5/3

2.2 试验方案

健康志愿者从试验前 2 周开始及试验期间不得服用任何其他药物,禁用含酒精、咖啡因饮料。于服药前日晚 8:00 起禁食,于次日晨 8:00 口服富马酸比索洛尔片 5 mg,温开水 200 ml 送服。服药后 4 h 统一进标准餐。受试者在给药前及给药后 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、6.0、8.0、14.0、24.0、32.0 h 时各抽取肘静脉血 4.0 ml。血样经柠檬酸钠抗凝,静置 10 min 后,3 500 r/min 离心 10 min,收集上层血浆,−20 $^{\circ}$ C 保存待测。所有样品在取样后 10 d 内测定完毕。

2.3 基因检测

2.3.1 富集白细胞。取新鲜全血 150 μ l 加入 0.8% 氯化铵溶液 1 000 μ l 中,颠倒混匀后室温放置 5 min,室温 3 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液。

2.3.2 裂解液的保存及加样。在富集白细胞中加入 SNP 分析保存液 100 μ l,振荡混匀,室温放置 30 min 后使白细胞裂解,取 1.0 μ l 直接加入 SNP 分析样品处理试剂 25 μ l 中,上机检测。

2.4 血药浓度检测

取血浆 1.0 ml 置 10 ml 试管中,加美托洛尔溶液(含美托洛尔约 2 180 ng/ml)15 μ l、0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 100 μ l,涡旋混匀,加乙酸乙酯 4 ml,涡旋提取 2 min,3 000 r/min 离心 5 min。分取有机层于另一 10 ml 试管中,50 $^{\circ}$ C 水浴氮气流下吹干,残渣加流动相 0.1 ml 涡旋溶解,3 000 r/min 离心 1 min,作为样品溶液。

2.5 色谱条件

色谱柱:Hpersil ODS2 C₁₈(200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.68% 磷酸二氢钾水溶液(25:75);流速:1.4 ml/min;检测波长:激发波长(Ex)=226 nm,发射波长(Em)=300 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:40 μ l。

2.6 统计处理

用 3p97 程序的一房室模型作药动学参数估算。 c_{max} 和 t_{max} 用实测值。采用梯形法计算曲线下面积(AUC),计量资料两组比较时采用 t 检验。

3 结果

3.1 方法学验证结果

在本试验条件下,比索洛尔与内标美托洛尔分离良好,血浆内源性成分不影响检测;配制含比索洛尔浓度分别为 1、2、4、8、16、32、64 ng/ml 的溶液,按“2.4”项方法处理,按“2.5”项色谱条件进样测定,记录色谱。以比索洛尔峰面积与美托洛尔峰面积的比值(Y)作为纵坐标,以加入比索洛尔量(X)为横坐标进行线性回归,得线性回归方程为 $Y=0.0375X+0.0008$ ($r=0.9987$)。结果表明,比索洛尔血药浓度在 1~64 ng/ml 范围内线性关系良好,最低检测限为 1 ng/ml。比索洛尔低、中、高(2、32、64 ng/ml)3 种浓度平均回收率在 99.34%~103.64% 之间,日内及日间 RSD 在 4.71%~9.66% 之间。含比索洛尔低、中、高(2、32、64 ng/ml)3 种浓度的血浆样品室温放置 6 h、反复冻融 3 次、−20 $^{\circ}$ C 冰冻保存 20 d,平均回收率在 99.22%~100.93% 之间,RSD 在 5.73%~11.50% 之间,说明在上述 3 种条件下,样品稳定。典型色谱图见图 1。

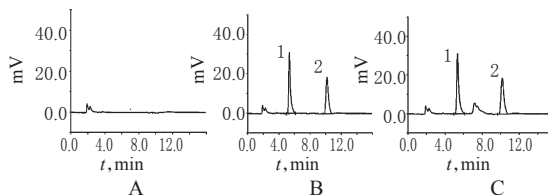


图 1 典型色谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆+富马酸比索洛尔对照品+内标溶液; C. 患者血浆+内标溶液; 1. 美托洛尔; 2. 比索洛尔

Fig 1 Typical chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma + bisoprolol fumarate control + internal standard; C. plasma + internal standard; 1. metoprolol; 2. bisoprolol

3.2 比索洛尔药动学

按基因型分组口服 5 mg 比索洛尔后,依法测得药-时曲线见图 2;经 3p97 软件处理后,各项药动学数据见表 2。

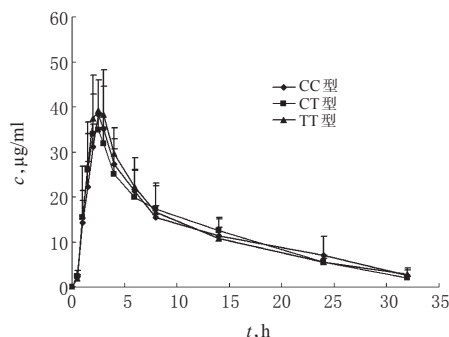


图 2 3 种基因型受试者单剂量口服比索洛尔后的平均药-时曲线图

Fig 2 Mean plasma-time curves of bisoprolol in 3 different genotypes of healthy volunteers after oral administration

HPLC法测定人血浆中氟罗沙星的浓度^Δ

吴干斌^{1*}, 张 军¹, 周建华¹, 李晓天^{2#}(1. 郑州大学第二附属医院西药学部临床药理学室, 郑州 450014; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R969.1; R978.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)34-3201-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.34.12

摘要 目的: 建立测定人血浆中氟罗沙星浓度的方法。方法: 血浆样品以甲醇处理后, 采用高效液相色谱法进行测定, 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB C₁₈, 流动相为乙腈-磷酸盐缓冲液(内含0.1%三乙胺, 磷酸调pH至2.5)(20:80, V/V), 流速为1.0 ml/min, 进样量为20 μl, 柱温为35℃, 检测器激发波长为290 nm, 发射波长为458 nm。结果: 氟罗沙星血药浓度在50~2 000 ng/ml范围内线性关系良好, 平均方法回收率为87.9%~90.3%, 日内、日间RSD均<11%。结论: HPLC法可用于人血浆中氟罗沙星的浓度测定。

关键词 氟罗沙星; 血浆; 高效液相色谱法; 血药浓度; 药动学

Determination of Fleroxacin Concentration in Human Plasma by HPLC

WU Gan-bin¹, ZHANG Jun¹, ZHOU Jian-hua¹, LI Xiao-tian²(1. Dept. of Clinical Pharmacy, Western Medicine Division, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, China; 2. College of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of fleroxacin concentration in human plasma. METHODS: HPLC method was adopted to determine the plasma concentration of fleroxacin after treated with methanol. Zorbax Eclipse XDB C₁₈ column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-phosphoric acid buffer (containing 0.1% triethylamine, pH adjusted to 2.5 using phosphoric acid (20:80, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The sampling size was 20 μl, and the column temperature was 35 °C. The excitation wavelength of detector was set at 290 nm, and emission wavelength was set at 458 nm. RESULTS: The linear range of fleroxacin were 50-2 000 ng/ml. The average recoveries were 87.9%-90.3%, and RSD of intra-day and inter-day were all lower than 11%. CONCLUSIONS: The method can be used to determine the concentration of fleroxacin in human plasma.

KEY WORDS Fleroxacin; Plasma; HPLC; Plasma concentration; Pharmacokinetics

表2 3种基因型受试者单剂量口服比索洛尔主要药动学参数($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of bisoprolol in 3 different genotypes of healthy volunteers after oral administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

基因型	$t_{1/2}, h$	t_{max}, h	$c_{max}, \mu g/L$	$AUC_{0-32h}, \mu g \cdot h/L$
CC	8.25 ± 1.80	2.44 ± 0.32	41.69 ± 11.22	394.38 ± 104.70
CT	7.70 ± 1.18	2.31 ± 0.37	37.69 ± 6.53	380.04 ± 84.04
TT	8.19 ± 1.86	2.38 ± 0.44	43.14 ± 5.85	414.08 ± 104.40

3组受试者口服比索洛尔后的药-时曲线经3p97软件分析, 符合一级动力学和一房室模型。表2中3种基因型 $t_{1/2}$ 、 c_{max} 、 AUC_{0-32h} 两两之间进行 t 检验, CC与CT比较的 P 值分别为0.49、0.39、0.77, CC与TT比较的 P 值分别为0.95、0.75、0.71, CT与TT比较的 P 值分别为0.54、0.10、0.48。3种基因型数据比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 讨论

本研究通过选取不同CYP2D6*10基因型的健康志愿者进

Δ 基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目(No.092102310275); 郑州市科技局科研项目(No.CZSYJJ13007)

* 副主任药师, 硕士。研究方向: 临床药理学。电话: 0371-63974693。

E-mail: wganbin521@sina.com

通信作者: 副教授, 硕士研究生导师, 博士后。研究方向: 药动学。

E-mail: lixt@zzu.edu.cn

行比索洛尔的药动学试验, 以探讨在中国人群中比索洛尔是否与其同类药物美托洛尔一样受CYP2D6*10不同基因型的影响。由图2可见, 不同基因型的受试者药-时曲线基本无差异; 由表2可见, 3种基因型在 $t_{1/2}$ 、 c_{max} 、 AUC_{0-32h} 基本无差异($P>0.05$), 即CYP2D6*10基因多态性对比索洛尔的代谢无影响。此结果与文献^[1]报道相符。因此在临床使用比索洛尔时, 可以不必考虑CYP2D6*10基因多态性对其代谢的影响。

参考文献

- [1] 韩璐, 刘洁. CYP2D6基因多态性及对药物代谢的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(1): 105.
- [2] 李芹, 王睿, 郭雅, 等. 中国人CYP2D6基因多态性对美托洛尔药代动力学的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(7): 796.
- [3] Horikiri Y, Suzuki T, Mizobe M. Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol enantiomers in humans[J]. *J Pharm Sci*, 1998, 87(3): 289.
- [4] Nozawa T, Taguchi M, Tahara K, et al. Influence of CYP2D6 genotype on metoprolol plasma concentration and beta-adrenergic inhibition during long-term treatment: a comparison with bisoprolol[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46(5): 713.

(收稿日期: 2013-05-15 修回日期: 2013-06-16)