

# 复方丹参注射液对大鼠肝脏细胞色素 P450 酶不同亚型的影响

薛清丹, 鞠爱霞, 王鹏, 李秋红\*  
(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** **目的:**研究复方丹参注射液对大鼠肝脏细胞色素(cytochrome, CY) P450 酶不同亚型活性的影响。**方法:**大鼠随机分为复方丹参注射液高剂量组、中剂量组、低剂量组和对照组。采用反相高效液相色谱(RT-HPLC)测定探针药物在血浆中的质量浓度,利用 3P97 药动学软件分析数据,计算药动学参数。**结果:**与对照组比较,复方丹参注射液高剂量组可使咖啡因的消除半衰期( $t_{1/2\beta}$ )由 50.492 min 升至 54.456 min,药时曲线下面积(AUC)明显升高,清除率(CL)明显降低;高剂量组可缩短氯唑沙宗的  $t_{1/2\beta}$ ,降低 AUC,显著增加 CL;咖啡因和氯唑沙宗的中、低剂量组主要药动学参数无统计学差异;随着给药剂量的增加,甲苯磺丁脲的  $t_{1/2\beta}$ ,AUC 逐渐增大,CL 逐渐降低;而复方丹参注射液各组对咪达唑仑的药动学参数无显著性差异。**结论:**复方丹参注射液对 CYP2C9 具有一定的抑制作用,且呈剂量依赖型;复方丹参注射液高剂量组对 CYP1A2 有较弱的抑制作用,对 CYP2E1 有较弱的诱导作用,而复方丹参注射液中、低剂量组对 CYP1A2 和 CYP2E1 均无影响;复方丹参注射液高、中、低剂量组对 CYP3A4 的活性无影响。

**[关键词]** 复方丹参注射液; 细胞色素 P450 酶; 探针药物; 咖啡因; 氯唑沙宗; 甲苯磺丁脲; 咪达唑仑

**[中图分类号]** R969.1;R945;R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0071-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140071

## Effects of Compound Danshen Injection on Activity of Different Subtypes of Cytochrome P450 in Rats

XUE Qing-dan, JU Ai-xia, WANG Peng, LI Qiu-hong\* (Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate effect of different doses of compound Danshen injection on rat liver microsomal cytochrome P450 metabolic activity by Cocktail probe drugs. **Method:** Male rats were randomly divided into four groups, including Danshen injection high, middle, low dosage groups and the control group. Reversed phase high performance liquid chromatography (RT-HPLC) is adopted to determine plasma concentration and 3P97 Pharmacokinetic software was employed to compare pharmacokinetic parameters of four specific probe drugs. **Result:** Compared with the control group, elimination half-time ( $t_{1/2\beta}$ ) of caffeine increased from 50.492 min to 54.456 min and the area under concentration-time curve (AUC) was significantly increased, clearance rate (CL) was significantly reduced in compound Danshen injection high-dose group;  $t_{1/2\beta}$  of chlorzoxazone can be shortened, AUC was reduced and CL was significantly increased in high-dose group;  $t_{1/2\beta}$  and AUC of tolbutamide were gradually increased and CL was gradually decreased as the dose. Pharmacokinetic parameters of midazolam were no significant differences of compound Danshen injection of three dose group. **Conclusion:** Compound Danshen injection on the overall level of rat liver micro-body CYP2C9 has a certain extent inhibition, and there is a dose-dependent. There are weak inhibitory effect on CYP1A2 and weak induction on CYP2E1 of high doses of compound Danshen injection, there is not effect on CYP1A2 and CYP2E1 of low and middle dosage of compound Danshen injection. There is not any effect on activity of CYP3A4.

**[Key words]** compound Danshen injection; cytochrome P450 isozyme; probe drugs; caffeine; chlorzoxazone; tolbutamide; midazolam

**[收稿日期]** 20150202(002)

**[基金项目]** 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541740)

**[第一作者]** 薛清丹,在读硕士,从事中药药动学研究,Tel:15244608951,E-mail:280208784@qq.com

**[通讯作者]** \*李秋红,博士,教授,从事临床药理学、中药药动学研究,Tel:0451-87266902,E-mail:liqiu hong64@163.com

复方丹参注射液为《卫生部药品标准》中药成方制剂第17册收录的品种,由君药丹参及使药降香2味中药制备而成,具有增加冠脉血流量、保护心肌缺血缺氧的作用,临床用于预防和治疗心绞痛及急性心肌梗塞<sup>[1]</sup>。目前,关于该制剂的研究主要集中于质量控制及药效学领域<sup>[2-4]</sup>,药动学、代谢方面研究较少<sup>[5]</sup>,仅有其组分丹参中部分活性成分对不同亚型P450酶活性的影响研究<sup>[6-7]</sup>。随着该制剂在临床中被广泛应用,其不良反应和不良事件的相关报道日渐增多<sup>[8-9]</sup>,与其他药物发生相互作用可能是其发生不良反应的原因。药物相互作用分为药效学和药动学2个方面。药动学相互作用表现在吸收、分布、代谢、排泄阶段。其中代谢性药物相互作用占药动学相互作用的40%<sup>[10]</sup>,是药物相互作用发生的一个重要环节。由于大多数中药同化学药品一样,要通过细胞色素(cytochrome, CY)P450酶代谢,所以不良反应的发生可能与诱导或抑制肝脏CYP450酶有密切关系<sup>[11-13]</sup>。本实验拟采用“Cocktail”探针药物法,探索复方丹参注射液对肝药酶活性的影响,为该制剂的临床药理、毒理、不良反应等研究和潜在的药物间相互作用提供参考,提高复方丹参注射液临床用药的有效性和安全性。

## 1 材料

LC-2010AHT型高效液相色谱仪(日本岛津公司),TDL-60B型低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂),TGL16M型高速冷冻离心机(湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司),XW-80A型旋涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司),AG CP225D型电子分析天平(德国赛多利斯集团)。

复方丹参注射液(郎致集团万荣药业有限公司,规格10 mL/支,每1 mL注射液中含有丹参和降香各1 g,批号1204044),咖啡因、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲对照品(大连美仑生物技术有限公司,批号分别为20110601,20110701,20110501,纯度均>99%),咪达唑仑注射液(江苏恩华药业股份有限公司,规格5 g·L<sup>-1</sup>,批号20120302),地西洋对照品(郑州安诚医药有限公司,批号20120118ACSW,纯度>99%),生理盐水(哈尔滨三联药业有限公司,批号20120206),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

清洁级Sprague-Dawley大鼠,体重(250±20)g,周龄8~10周,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(黑)2008-004。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品储备液的配制** 精密称取地西洋10.0 mg,置于10 mL量瓶中,加甲醇定容,得1 g·L<sup>-1</sup>内标储备液。精密移取内标储备液1.00 mL,加水稀释至100 mg·L<sup>-1</sup>,4℃冷藏。精密称取咖啡因、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲对照品各10.0 mg,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇定容,得1 g·L<sup>-1</sup>储备液。移取咪达唑仑注射液2.00 mL置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,得1 g·L<sup>-1</sup>的储备液,置-20℃冰箱中保存待用。

**2.2 给药方案及血液样品采集** 24只大鼠随机分为4组,高(3.6 mL·kg<sup>-1</sup>)、中(1.8 mL·kg<sup>-1</sup>)、低(0.9 mL·kg<sup>-1</sup>)剂量组每日早晨按相应剂量大鼠尾静脉给予复方丹参注射液,连续给药7 d;对照组每日早晨大鼠尾静脉给予相同体积的生理盐水,给药期间各组大鼠正常喂养。第8天时,各组大鼠均经尾静脉缓慢注射混合探针药物溶液5 mL·kg<sup>-1</sup>,包含4种探针药物的剂量分别为咖啡因、甲苯磺丁脲2.5 mg·kg<sup>-1</sup>,氯唑沙宗、咪达唑仑5 mg·kg<sup>-1</sup>。分别于给药前和给药后5,10,20,30 min及1,2,4,8,12,24 h眼静脉丛取血0.8 mL至肝素化离心管中,离心(3 500 r·min<sup>-1</sup>,10 min,下同),得血浆,置-20℃冰箱中保存待用。

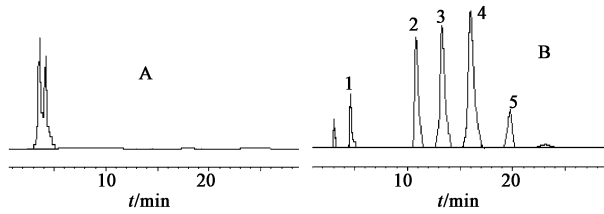
**2.3 血浆样品的处理** 精密移取大鼠血浆样本100 μL,加入100 mg·L<sup>-1</sup>内标溶液20 μL,加三氯甲烷2 mL分2次萃取蛋白,每次涡旋2 min,离心,取下层有机相三氯甲烷层1.3 mL置于玻璃试管中,40℃氮气吹干,加流动相100 μL复溶,涡旋,离心后取20 μL进行HPLC分析。

**2.4 色谱条件** Topsil™ C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-磷酸氢二铵缓冲溶液(56:44),pH 3.4,流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃,检测波长230 nm,进样量20 μL。

**2.5 数据处理** 使用药动学软件3P97拟合血浆中质量浓度-时间数据模型,计算大鼠体内4种探针药物的药动学参数。采用SPSS19.0软件对药动学参数进行统计学分析,药动学参数均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。药动学参数的比较采用配对t检验,P<0.05认为有统计学差异。

**2.6 专属性试验** 分别取空白血浆、给药后的血浆及内标溶液,按2.3项下方法处理后按2.4项下条件测定。结果表明血浆中内源性物质不干扰4种探针药物的测定,4种探针药物间不产生相互干扰,且峰形良好。探针药物咖啡因、氯唑沙宗、甲苯磺丁

腺、咪达唑仑及内标地西洋的保留时间分别为4.608, 10.800, 13.308, 16.033, 19.875 min, 见图1。



A. 空白血浆; B. 供试品; 1. 咖啡因; 2. 氯唑沙宗; 3. 甲苯磺丁脲; 4. 咪达唑仑; 5. 地西洋

图1 大鼠给予复方丹参注射液后血浆样品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of plasma samples after administration of compound Danshen injection

**2.7 灵敏度考察** 以信噪比法( $S/N = 10$ )确定4种探针药物咖啡因、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、咪达唑仑在大鼠血浆中的定量限分别为0.5, 1, 1.5, 0.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.8 标准曲线绘制** 精密移取大鼠空白血浆100  $\mu\text{L}$ , 置于玻璃试管中, 加入混合探针底物系列溶液

50  $\mu\text{L}$ , 配成咖啡因质量浓度为0.5, 1, 2, 5, 10, 20  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 氯唑沙宗质量浓度1, 5, 20, 40, 60, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 甲苯磺丁脲质量浓度1.5, 10, 20, 40, 60, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 咪达唑仑质量浓度0.2, 2, 4, 6, 8, 10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 按2.3项下方法处理, 按2.4项下条件测定, 以待测物峰面积和内标峰面积的比值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 采用加权最小二乘法进行回归, 结果咖啡因、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲及咪达唑仑的标准曲线分别为 $Y = 0.0218X + 0.0761$  ( $r = 0.9996$ ),  $Y = 0.0543X + 0.0096$  ( $r = 0.9995$ ),  $Y = 0.0321X + 0.0543$  ( $r = 0.9997$ ),  $Y = 0.3691X - 0.0045$  ( $r = 0.9990$ ), 线性范围依次为0.5 ~ 20.0, 1.0 ~ 80.0, 1.5 ~ 80.0, 0.2 ~ 10.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.9 精密度与准确度** 分别配置高、中、低质量浓度的4种探针药物的血浆样品( $n = 5$ ), 按2.3项下方法处理, 按2.4项下条件测定, 见表1。结果日内及日间精密度均 $< 10\%$ 。4种探针药物的回收率均在85% ~ 115%, 符合测定要求。

表1 大鼠给予复方丹参注射液后大鼠血浆中4种探针药物的日内、日间精密度及回收率( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Precision and recovery data of four probe drugs after administration of compound Danshen injection in plasma ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 分析物   | 质量浓度<br>/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | 日内精密度                              |        |       | 日间精密度                              |        |       |
|-------|---|------------------------------------|--------|-------|------------------------------------|--------|-------|
|       |   | 测得值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | 回收率/%  | RSD/% | 测得值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | 回收率/%  | RSD/% |
| 咖啡因   | 0.5                                     | 0.47 $\pm$ 0.07                    | 94.00  | 6.9   | 0.53 $\pm$ 0.04                    | 106.00 | 7.7   |
|       | 2.0                                     | 1.87 $\pm$ 0.35                    | 93.50  | 7.2   | 2.21 $\pm$ 0.59                    | 103.50 | 6.2   |
|       | 10.0                                    | 10.43 $\pm$ 1.20                   | 104.30 | 3.8   | 10.78 $\pm$ 0.37                   | 97.80  | 5.1   |
| 氯唑沙宗  | 1.0                                     | 0.99 $\pm$ 0.45                    | 99.00  | 4.8   | 1.05 $\pm$ 0.74                    | 105.00 | 9.0   |
|       | 30.0                                    | 31.67 $\pm$ 1.83                   | 105.57 | 6.3   | 31.82 $\pm$ 2.65                   | 103.73 | 6.4   |
|       | 60.0                                    | 59.28 $\pm$ 4.09                   | 98.80  | 4.7   | 61.77 $\pm$ 3.81                   | 102.95 | 6.3   |
| 甲苯磺丁脲 | 1.5                                     | 1.47 $\pm$ 0.51                    | 98.00  | 6.0   | 1.68 $\pm$ 0.44                    | 102.00 | 7.8   |
|       | 30.0                                    | 31.89 $\pm$ 3.79                   | 106.30 | 8.3   | 28.57 $\pm$ 2.46                   | 95.83  | 6.5   |
|       | 60.0                                    | 61.49 $\pm$ 8.60                   | 102.48 | 4.8   | 59.64 $\pm$ 9.81                   | 99.40  | 3.7   |
| 咪达唑仑  | 0.2                                     | 0.19 $\pm$ 0.05                    | 95.00  | 5.0   | 0.21 $\pm$ 0.04                    | 105.00 | 6.8   |
|       | 4.0                                     | 4.21 $\pm$ 0.38                    | 105.25 | 5.7   | 3.89 $\pm$ 0.76                    | 97.25  | 5.9   |
|       | 8.0                                     | 8.52 $\pm$ 0.84                    | 106.50 | 7.3   | 7.93 $\pm$ 0.55                    | 99.13  | 6.5   |

**2.10 稳定性** 分别配制高、中、低质量浓度(数值同2.9项)的4种探针药物的血浆样品, 分别于室温下保存12 h,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存反复冻融3次和 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存30 d, 按2.3项下方法处理, 按2.4项下条件测定, 见表2。结果显示4种探针药物在各种储存条件下储存均稳定。

**2.11 药代动力学分析** 将各试验组在不同时间点采集的血浆样品经处理后, 利用HPLC测定各探针药物的含量, 经3P97和SPSS19.0软件进行统计学处理, 结果见图2~5和表3~6。 $t_{1/2\alpha}$ 为分布半衰期,  $K_{10}$ 为中央室消除的一级速率常数,  $t_{1/2}$ 为生物半

衰期,  $t_{1/2\beta}$ 为消除半衰期。

### 3 讨论

本文采用“Cocktail”探针药物法探索复方丹参注射液对肝药酶活性的影响, 相比其有效成分对肝药酶活性的影响, 更能客观反映该复方中多种药物或者多种成分的协同作用及其体内动态变化规律, 符合中医药的整体原则。随着复方丹参注射液的研究深入, 关于其对CYP450酶活性影响的体外研究已有报道, 方法简单、操作方便, 但难以全面真实地模拟体内复杂的代谢环境, 同时体外研究缺少药物通过胃肠道时转运蛋白和代谢酶对其的影响, 结果

表 2 大鼠给予复方丹参注射液后大鼠血浆中 4 种探针药物的稳定性 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Stability of four probe drugs after administration of compound Danshen injection in plasma ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 分析物   | 质量浓度<br>/mg·L <sup>-1</sup> | 长期冷冻 30 d                  |           | 反复冻融 3 次                   |           | 室温放置 12 h                  |           |
|-------|-----------------------------|----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
|       |                             | 测得值<br>/mg·L <sup>-1</sup> | RSD<br>/% | 测定值<br>/mg·L <sup>-1</sup> | RSD<br>/% | 测定值<br>/mg·L <sup>-1</sup> | RSD<br>/% |
| 咖啡因   | 0.5                         | 0.53 ± 0.02                | 3.8       | 0.50 ± 0.03                | 6.0       | 0.51 ± 0.02                | 3.9       |
|       | 2.0                         | 2.21 ± 0.11                | 5.0       | 2.17 ± 0.09                | 4.2       | 2.14 ± 0.08                | 3.7       |
|       | 10.0                        | 10.45 ± 0.47               | 4.5       | 10.62 ± 0.31               | 2.9       | 9.94 ± 0.33                | 3.3       |
| 氯唑沙宗  | 1.0                         | 1.00 ± 0.01                | 1.0       | 1.04 ± 0.03                | 2.9       | 1.02 ± 0.05                | 4.9       |
|       | 30.0                        | 30.77 ± 1.31               | 4.3       | 29.42 ± 1.02               | 3.5       | 33.18 ± 1.42               | 4.3       |
|       | 60.0                        | 60.96 ± 2.31               | 3.8       | 62.35 ± 1.93               | 3.1       | 58.57 ± 1.69               | 2.9       |
| 甲苯磺丁脲 | 1.5                         | 1.52 ± 0.04                | 2.6       | 1.68 ± 0.08                | 4.8       | 1.49 ± 0.05                | 3.4       |
|       | 30.0                        | 29.63 ± 1.42               | 4.8       | 31.24 ± 1.23               | 3.9       | 32.57 ± 1.26               | 3.9       |
|       | 60.0                        | 58.01 ± 2.76               | 4.8       | 65.77 ± 2.58               | 3.9       | 58.99 ± 1.81               | 3.1       |
| 咪达唑仑  | 0.2                         | 0.21 ± 0.01                | 4.8       | 0.22 ± 0.01                | 4.6       | 0.19 ± 0.01                | 5.3       |
|       | 4.0                         | 3.94 ± 0.19                | 4.8       | 3.85 ± 0.14                | 3.6       | 4.06 ± 0.11                | 2.7       |
|       | 8.0                         | 7.95 ± 0.28                | 3.5       | 8.13 ± 0.39                | 4.8       | 7.82 ± 0.31                | 4.0       |

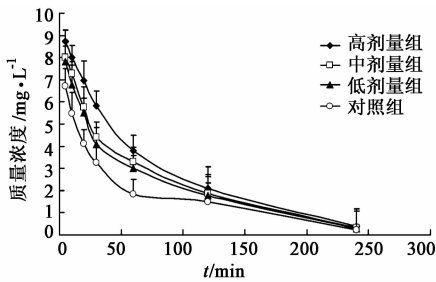


图 2 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中咖啡因的药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curve of caffeine after administration of compound Danshen injection or normal saline

( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

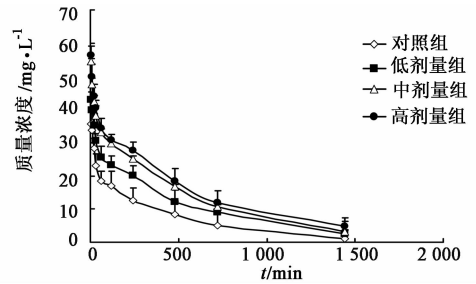


图 4 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中甲苯磺丁脲的药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 4 Mean plasma concentration-time curve of tolbutamide after administration of compound Danshen injection or normal saline

( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

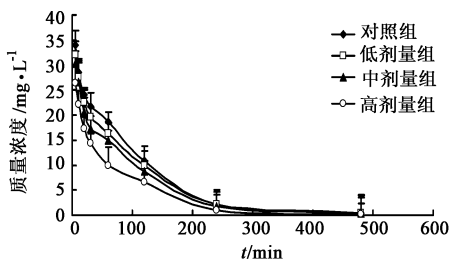


图 3 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中氯唑沙宗的药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 3 Mean plasma concentration-time curve of chlorzoxazone after administration of compound Danshen injection or normal saline

( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

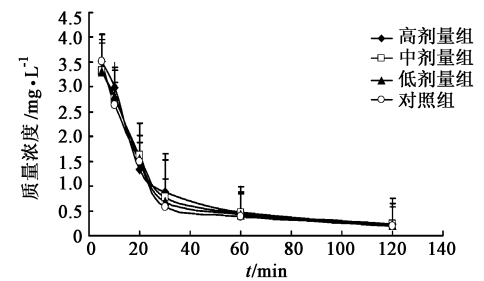


图 5 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中咪达唑仑的药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 5 Mean plasma concentration-time curve of midazolam after administration of compound Danshen injection or normal saline

( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

一般可信度较体内和整体实验低<sup>[14]</sup>。由于各个组分混合后对酶产生的相互影响往往不同于各组分单独对酶的影响,混合物对酶的影响也不是简单的加和过程<sup>[15]</sup>。本文建立了同时测定血浆中 4 个亚酶的探针药物血药浓度的 HPLC,该方法可为其他中

药注射剂的药物代谢酶的研究提供参考。

本文非单次给予复方丹参注射液主要考虑到体内实验药物在短期及长期用药后可能对酶产生不同的影响,一般情况下药物在 5 d 后对酶的作用会产生一种稳定的影响,故选取 7 d 作为实验周期。酶

表 3 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中咖啡因的药代动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 3 Pharmacokinetic parameters of caffeine after administration of compound Danshen injection or normal saline ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 药动学参数           | 单位                               | 对照组            | 低剂量组           | 中剂量组           | 高剂量组                         |
|-----------------|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------------------|
| $t_{1/2\alpha}$ | min                              | 3.855 ± 0.169  | 5.558 ± 0.392  | 4.429 ± 0.831  | 3.651 ± 0.375                |
| $t_{1/2\beta}$  | min                              | 50.492 ± 8.205 | 50.894 ± 5.218 | 51.396 ± 9.035 | 54.456 ± 6.723 <sup>1)</sup> |
| $AUC_{0-t}$     | $g \cdot L^{-1} \cdot \min^{-1}$ | 0.438 ± 0.012  | 0.442 ± 0.023  | 0.514 ± 0.038  | 0.685 ± 0.024 <sup>2)</sup>  |
| $K_{10}$        | $\min^{-1}$                      | 0.021 ± 0.003  | 0.018 ± 0.006  | 0.017 ± 0.004  | 0.013 ± 0.002 <sup>1)</sup>  |
| CL              | $mL \cdot h^{-1}$                | 0.572 ± 0.015  | 0.461 ± 0.027  | 0.403 ± 0.022  | 0.231 ± 0.018 <sup>1)</sup>  |
| $t_{1/2}$       | min                              | 33.134 ± 2.489 | 38.516 ± 5.981 | 40.764 ± 3.766 | 53.307 ± 7.426 <sup>1)</sup> |

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;高、中、低剂量组分别为 3.6, 1.8, 0.9  $mL \cdot kg^{-1}$  (表 4~6 同)。

表 4 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中氯唑沙宗的药代动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 4 Pharmacokinetic parameters of chlorzoxazone after administration of compound Danshen injection or normal saline ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 药动学参数           | 单位                               | 对照组             | 低剂量组             | 中剂量组            | 高剂量组                         |
|-----------------|----------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------------------|
| $t_{1/2\alpha}$ | min                              | 46.220 ± 3.862  | 47.249 ± 1.256   | 46.175 ± 6.538  | 38.035 ± 3.117 <sup>1)</sup> |
| $t_{1/2\beta}$  | min                              | 126.566 ± 8.942 | 108.262 ± 13.029 | 110.868 ± 9.032 | 92.348 ± 1.745 <sup>1)</sup> |
| $AUC_{0-t}$     | $g \cdot L^{-1} \cdot \min^{-1}$ | 3.054 ± 0.026   | 2.981 ± 0.019    | 2.635 ± 0.012   | 1.847 ± 0.035 <sup>1)</sup>  |
| $K_{10}$        | $\min^{-1}$                      | 0.011 ± 0.004   | 0.010 ± 0.002    | 0.011 ± 0.002   | 0.013 ± 0.003                |
| CL              | $mL \cdot h^{-1}$                | 0.164 ± 0.002   | 0.167 ± 0.003    | 0.197 ± 0.005   | 0.370 ± 0.001 <sup>1)</sup>  |
| $t_{1/2}$       | min                              | 63.012 ± 0.124  | 69.305 ± 7.135   | 63.286 ± 0.918  | 53.307 ± 4.156 <sup>1)</sup> |

表 5 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中甲苯磺丁脲的药代动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 5 Pharmacokinetic parameters of tolbutamide after administration of compound Danshen injection or normal saline ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 药动学参数           | 单位                               | 对照组              | 低剂量组             | 中剂量组                           | 高剂量组                           |
|-----------------|----------------------------------|------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| $t_{1/2\alpha}$ | min                              | 11.786 ± 0.479   | 12.567 ± 0.966   | 9.267 ± 0.583                  | 12.659 ± 0.765                 |
| $t_{1/2\beta}$  | min                              | 337.459 ± 21.492 | 367.435 ± 27.315 | 401.303 ± 35.085 <sup>1)</sup> | 482.243 ± 11.683 <sup>1)</sup> |
| $AUC_{0-t}$     | $g \cdot L^{-1} \cdot \min^{-1}$ | 13.678 ± 0.029   | 17.473 ± 0.071   | 22.000 ± 0.026 <sup>1)</sup>   | 25.924 ± 0.023 <sup>2)</sup>   |
| $K_{10}$        | $\min^{-1}$                      | 0.003 ± 0.001    | 0.003 ± 0.002    | 0.003 ± 0.001                  | 0.002 ± 0.001                  |
| CL              | $mL \cdot h^{-1}$                | 0.234 ± 0.013    | 0.203 ± 0.035    | 0.114 ± 0.028 <sup>1)</sup>    | 0.096 ± 0.007 <sup>1)</sup>    |
| $t_{1/2}$       | min                              | 3.508 ± 0.093    | 3.509 ± 0.187    | 3.511 ± 0.259                  | 4.289 ± 0.104 <sup>1)</sup>    |

表 6 大鼠给予复方丹参注射液后血浆中咪达唑仑的药代动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 6 Pharmacokinetic parameters of midazolam after administration of compound Danshen injection or normal saline ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 药动学参数           | 单位                               | 对照组            | 低剂量组           | 中剂量组           | 高剂量组           |
|-----------------|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| $t_{1/2\alpha}$ | min                              | 8.886 ± 0.160  | 8.074 ± 0.386  | 7.554 ± 0.596  | 8.318 ± 0.179  |
| $t_{1/2\beta}$  | min                              | 73.560 ± 0.643 | 76.407 ± 0.872 | 71.134 ± 0.307 | 70.431 ± 1.239 |
| $AUC_{0-t}$     | $g \cdot L^{-1} \cdot \min^{-1}$ | 0.123 ± 0.038  | 0.128 ± 0.012  | 0.120 ± 0.021  | 0.137 ± 0.072  |
| $K_{10}$        | $\min^{-1}$                      | 0.039 ± 0.002  | 0.040 ± 0.001  | 0.045 ± 0.003  | 0.039 ± 0.001  |
| CL              | $mL \cdot h^{-1}$                | 0.037 ± 0.001  | 0.039 ± 0.003  | 0.041 ± 0.002  | 0.036 ± 0.001  |
| $t_{1/2}$       | min                              | 17.769 ± 0.328 | 17.325 ± 0.856 | 15.400 ± 1.758 | 17.583 ± 3.912 |

底物的选择主要参考了美国 FDA 发布的 2010 年版《药物相互作用研究指南》,同时要考虑探针药物的安全性、灵敏度和专属性,且各探针底物间不发生相互作用,故分别选取咖啡因、甲苯磺丁脲、氯唑沙宗、咪达唑仑为探针药物。咪达唑仑为镇静催眠药,咖啡因为中枢神经兴奋剂,氯唑沙宗为肌肉松弛剂,为避免大鼠给药后的不良反应,造成动物死亡,要控制探针药物的剂量,推注不宜过快,且大鼠尾静脉注射给药,一次性注射剂量不宜过大。

随着复方丹参注射液给药剂量的增加,甲苯磺丁脲的药动学参数  $t_{1/2\beta}$  和  $AUC_{0-t}$  逐渐增大,清除率 (CL) 逐渐降低,中、高剂量给药组大鼠的药动学参

数有显著性差异;说明复方丹参注射液在整体水平上对大鼠肝微粒体 CYP2C9 有一定抑制作用,且呈剂量依赖型。推测原因可能是复方丹参注射液中水溶性成分丹参素产生的。已有报道表明丹参素对人肝微粒体 CYP2C9 有抑制作用<sup>[16]</sup>,而复方丹参注射液的其他成分并未减弱丹参素对此酶的活性,但由大鼠 CYP2C9 的实验结果并不能推断人体实验结果,还需进一步研究确认。

由表 3 可知,咖啡因的  $t_{1/2\beta}$  由 50.492 min 升至 54.456 min,  $AUC_{0-t}$  明显升高,CL 明显降低,均具有显著性差异;表明高剂量复方丹参注射液对 CYP1A2 有较弱的抑制作用,推测可能是由于丹参

水提物具有抑制 CYP1A2 的作用<sup>[17]</sup>,有研究脂溶性物质丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 均有诱导 CYP1A2 的作用,而复方丹参注射液主要成分为水溶性物质,因此脂溶性对 CYP1A2 的抑制作用减弱,水提物对此酶的作用突显出来。而丹参注射液对 CYP1A2 不产生影响,推测可能是由于实验动物的种属差异造成的,也可能是复方丹参注射液中另一种成分降香的作用造成的<sup>[18]</sup>。

由表 4 可知,复方丹参注射液高剂量组对 CYP2E1 有较弱的诱导作用,推测可能是脂溶性成分丹参酮对 CYP2E1 产生了较弱的影响,复方丹参注射液在提取过程中不能完全除去脂溶性成分,当给药剂量增加时会导致脂溶性成分的长期累积,产生酶诱导作用。目前,仅有报道表明丹酚酸 A 对此酶不产生影响,而其他水溶性成分的影响尚未见报道<sup>[19]</sup>。

由表 6 可知,复方丹参注射液的高、中、低剂量组对 CYP3A4 的活性均无统计学差异。CYP3A 是十分重要的药物代谢酶,临床中约有 60% 的药物由 CYP3A 进行代谢,而 CYP3A4 是最重要的同工酶<sup>[20-21]</sup>,表明临床上复方丹参注射液可与经 CYP3A4 代谢的药物广泛联用,且不会对酶产生影响。

本文强调临床上使用复方丹参注射液时应关注其对 CYP2C9 的抑制作用,尽量避免与经 CYP2C9 代谢的药物联合应用,如果联用应适当调整合用药物的剂量,避免产生不良反应,长期或者大剂量用药时应注意 CYP1A2, CYP2E1 活性的变化,以提高该制剂临床用药的安全性和有效性。

[参考文献]

[ 1 ] Zhang Y, Bao F, Zhao Z, et al. The stability investigation of compound Danshen injection ( a traditional medicine) with a new high-performance liquid chromatography method [ J ]. Pharmacogn Mag, 2013, 9 ( 36 ): 338-343.  
[ 2 ] 张翠莲, 张伟琪, 杨秀斌, 等. 复方丹参注射液的质量考察 [ J ]. 中国药学杂志, 2003, 38 ( 1 ): 56-58.  
[ 3 ] 陶金成, 钱文, 宋少刚, 等. 不同厂家复方丹参注射液质量考察 [ J ]. 中国药房, 2005, 16 ( 12 ): 937-939.  
[ 4 ] Han J Y, Horie Y, Miura S, et al. Compound Danshen injection improves endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery [ J ]. World J Gastroenterol, 2007, 13 ( 26 ): 3581-3591.  
[ 5 ] 高志娟, 桑柏, 梁杨静, 等. 香丹注射液中 3 种酚酸类成分在大鼠体内的药动学研究 [ J ]. 中国中药杂志, 2011, 36 ( 7 ): 922-925.  
[ 6 ] 刘洁. “Cocktail” 探针药物法评价丹参酮 II<sub>A</sub> 对大鼠

肝微粒体细胞色素 P450 不同亚型体外代谢活性的影响 [ D ]. 天津: 天津医科大学, 2012.

[ 7 ] Wang X, Cheung C M, Lee W Y, et al. Major tanshinones of Danshen ( *Salvia miltiorrhiza*) exhibit different modes of inhibition on human CYP1A2, CYP2C9, CYP2E1 and CYP3A4 activities *in vitro* [ J ]. Phytomedicine, 2010, 17 ( 11 ): 868-875.  
[ 8 ] 李长青, 赵丽霞. 复方丹参注射液联合纳洛酮治疗新生儿缺氧缺血性脑病分析 [ J ]. 中国医疗前沿, 2013, 8 ( 3 ): 61-62.  
[ 9 ] 张丽征, 赵霞. 香丹注射液与盐酸川芎嗪注射液存在配伍禁忌 [ J ]. 解放军护理杂志, 2003, 20 ( 12 ): 35.  
[ 10 ] 刘彦卿, 洪燕君, 曾苏. 代谢性药物-药物相互作用的研究进展 [ J ]. 浙江大学学报: 医学版, 2009, 38 ( 2 ): 215-224.  
[ 11 ] 王崇, 刘克辛. 外排型转运体与 CYP450 酶所介导的药物相互作用 [ J ]. 药学学报, 2014, 49 ( 5 ): 590-595.  
[ 12 ] US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Center for Veterinary Medicine. Guidance for industry: bioanalytical method validation [ EB/OL ]. 2001.  
[ 13 ] 国家食品药品监督管理总局. 化学药物非临床药代动力学研究技术指导原则 [ S ]. 【 H 】 GPT5-1, 2005.  
[ 14 ] 王亮, 郭姣, 石忠峰, 等. “Cocktail” 探针药物法的研究思路与应用 [ J ]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12 ( 11 ): 30-34.  
[ 15 ] 张虹, 范婷婷, 方昱. 细胞色素 P4503A4 的研究进展 [ J ]. 中国医院药学杂志, 2009, 29 ( 4 ): 317-320.  
[ 16 ] Wen J H, Xiong Y Q. The effect of herbal medicine danshensu and ursolic acid on pharmacokinetics of rosuvastatin in rats [ J ]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2011, 36 ( 4 ): 205-211.  
[ 17 ] Kuo Y H, Lin Y L, Don M J, et al. Induction of cytochrome P450-dependent monooxygenase by extracts of the medicinal herb *Salvia miltiorrhiza* [ J ]. J Pharm Pharmacol, 2006, 58 ( 4 ): 521-527.  
[ 18 ] Lee W Y, Zhou X, Or P M, et al. Tanshinone I increases CYP1A2 protein expression and enzyme activity in primary rat hepatocytes [ J ]. Phytomedicine, 2012, 19 ( 2 ): 169-176.  
[ 19 ] 郭海方, 邹晓丽, 许卉, 等. 丹参酚酸 A 对大鼠肝微粒体细胞色素 P450 酶系的影响 [ J ]. 中国中药杂志, 2010, 35 ( 3 ): 348-351.  
[ 20 ] Song X, Li X, Ruiz C H, et al. Imidazopyridines as selective CYP3A4 inhibitors [ J ]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22 ( 4 ): 1611-1614.  
[ 21 ] Mizuno K, Katoh M, Okumura H, et al. Metabolic activation of benzodiazepines by CYP3A4 [ J ]. Drug Metab Dispos, 2009, 37 ( 2 ): 345-351.

[责任编辑 刘德文]