

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.07.020

# CYP2D6 抑制剂对艾瑞昔布大鼠体内药代动力学的影响\*

何文娟<sup>1</sup>, 王伟美<sup>2</sup>, 贡莹<sup>1</sup>, 张志清<sup>1△</sup>

(1. 河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000; 2. 哈励逊国际和平医院, 河北 衡水 053000)

**摘要:**目的 考察 CYP2D6 抑制剂帕罗西汀对艾瑞昔布在大鼠体内药代动力学的影响。方法 选用甲苯磺丁脲为内标, 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-甲酸(85:15:0.1, V/V/V), 等度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30℃。将 40 只健康雄性 SD 大鼠随机分为实验组和对照组, 各 20 只, 实验组大鼠灌胃帕罗西汀溶液 2 mg/kg, 对照组大鼠灌胃等量 1% 羧甲基纤维素溶液, 1 次/日, 连续给予 7 d。两组大鼠均于第 8 天灌胃艾瑞昔布灌胃液(20 mg/kg), 并按时取血, 测定血药浓度, 采用 DAS 2.1.1 软件拟合药-时曲线(AUC), 并计算药代动力学参数, 采用 SPSS 13.0 统计学软件分析。结果 实验组的 0-∞ 药时曲线下面积(AUC<sub>0-∞</sub>)为(1 730.4±606.5) mg/(h·L) 明显高于对照组的(1 331.3±592.6) mg/(h·L) (P<0.05); 实验组的峰浓度(C<sub>max</sub>)为(192.1±70.8) mg/L, 明显高于对照组的(162.2±53.0) mg/L (P<0.05); 实验组的清除率(CL)为(0.01±0.01) L/(kg·h), 明显优于对照组的(0.02±0.01) L/(kg·h) (P<0.05)。结论 CYP2D6 抑制剂帕罗西汀预处理的大鼠, 其体内艾瑞昔布的暴露量增大, 清除率减小。CYP2D6 抑制剂减慢了艾瑞昔布在大鼠体内的代谢, 推断 CYP2D6 参与了艾瑞昔布的代谢。

**关键词:** 艾瑞昔布; CYP2D6; 药代动力学; 帕罗西汀

中图分类号: R965; R977.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)07-0071-04

## Effect of an Inhibitor of CYP2D6 on the Pharmacokinetic of Imrecoxib in Rats

HE Wenjuan<sup>1</sup>, WANG Weimei<sup>2</sup>, GONG Ying<sup>1</sup>, ZHANG Zhigang<sup>1</sup>

(1. The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050000; 2. Harrison International Peace Hospital, Hengshui, Hebei, China 053000)

**Abstract: Objective** To study the effect of CYP2D6 on the pharmacokinetic of imrecoxib in rats. **Methods** Tolbutamide was selected as the internal standard. The samples were separated on a chromatographic column of Diamonsil C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm) and a mobile phase consisting of acetonitrile-water-formic acid(85:15:0.1, V/V/V) was used at a flow rate of 1.0 mL/min and a column temperature of 30℃. Forty healthy male SD rats were randomly divided into the test group and control group, 20 in each group. The test group were pretreated with paroxetine(2 mg/kg) and the control group with the same dosage of 1% carboxymethylcellulose, once a day, for consecutive 7 days, respectively. On day 8, imrecoxib was administered orally at a dose of 20 mg/kg to all rats. Blood samples from plexus venous at fundus oculi were collected and detected. The Area Under Curve(AUC) and pharmacokinetics were calculated with DAS 2.1.1 software and analyzed with SPSS 13.0 software. **Results** AUC<sub>0-∞</sub> of imrecoxib in the test group was (1 730.4±606.5) mg/(h·L), which was significantly higher than(1 331.3±592.6) mg/(h·L) in the control group(P<0.05). C<sub>max</sub> in the test group was(192.1±70.8) mg/L, which was significantly higher than(162.2±53.0) mg/L in the control group(P<0.05). Clearance rate(CL) in the test group was(0.01±0.01) L/(kg·h), which was significantly higher than(0.02±0.01) L/(kg·h) in the control group(P<0.05). **Conclusion** The metabolism of imrecoxib is slowed down in rats pretreated with paroxetine with increased exposure and decreased clearance. We infer that CYP2D6 is involved in the metabolism of imrecoxib.

**Key words:** imrecoxib; CYP2D6; pharmacokinetic; paroxetine

艾瑞昔布为环氧合酶(COX)-2 抑制剂, 为我国自主研发的化学药品 1.1 类新药<sup>[1]</sup>。其通过抑制 COX-2 mRNA 的表达而发挥抗炎作用<sup>[2-3]</sup>, 用于缓解骨关节炎的疼痛症状。CHEN 等<sup>[4]</sup>研究表明, 艾瑞昔布具有与罗非昔布相当的抗炎作用。帕罗西汀作为一种选择性 5-羟色胺(5-HT)再摄取抑制剂, 广泛用于治疗抑郁症和强迫症等疾病<sup>[5-6]</sup>。帕罗西汀既是细胞色素 P450 酶(CYP)2D6 的底物, 又是其强抑制剂, 但对其他 P450 酶很少产生影响。因此常作为 CYP2D6 的选择性抑制剂用于药物相互作用的研究<sup>[7-10]</sup>。目前, 有关艾瑞昔布体内

代谢机制的研究尚不完善。本研究中选择帕罗西汀作为 CYP2D6 的选择性抑制剂, 比较合用帕罗西汀前后艾瑞昔布在大鼠体内药代动力学的变化, 考察 CYP2D6 抑制剂对艾瑞昔布在大鼠体内药代动力学的影响, 进一步考察艾瑞昔布是否通过 CYP2D6 进行代谢, 从而完善艾瑞昔布体内代谢机制的研究。现报道如下。

### 1 仪器、试药与动物

#### 1.1 仪器

API 4000 Plus 型液相色谱-三重四级杆质谱联用仪, 配有电喷雾离子化源和 Analyst 1.6.1 数据处理系

\*基金项目: 河北省自然科学基金资助项目[H2016206538]。

第一作者: 何文娟, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为体内药物分析及药物相互作用, (电子信箱)15100315871@163.com。

△通信作者: 张志清, 女, 博士研究生, 主任药师, 研究方向为体内药物分析、药物相互作用及药代动力学, (电子信箱)777yyy@sina.cn。

统(AB Sciex 公司);Prominence CBM-20A 型液相色谱仪,配有二元梯度泵、在线脱气机、自动进样器和柱温箱(日本岛津公司)。

## 1.2 试药

艾瑞昔布对照品(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号为 66311003,纯度 99.6%);甲苯磺丁脲对照品(大连美仑生物技术有限公司,批号为 20110601,纯度 99.4%);艾瑞昔布片(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号为 13052151,规格为每片 0.1 g);盐酸帕罗西汀片(葛兰素史克有限公司,批号为 13060410,规格为每片 20 mg);甲酸和乙腈为色谱纯,乙酸乙酯为分析纯,水为屈臣氏蒸馏水。

## 1.3 动物

健康雄性 SD 大鼠 40 只,清洁级,体质量( $220 \pm 20$ )g,由河北省动物实验中心提供,动物合格证号为 1401040。所有实验操作均符合动物实验伦理学要求。

# 2 方法与结果

## 2.1 色谱条件

色谱柱:Diamondsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:30℃;流动相:甲醇-水-甲酸(85:15:0.1, V/V/V);等度洗脱;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL。

## 2.2 质谱条件

离子化方式:电喷雾离子化源(ESI);监测方式:正离子监测;扫描方式:多反应监测(MRM);离子源喷射电压(IS):5500 V;离子源温度:550℃;气帘气(CUR)压力:15 psi;雾化气(GS1, N<sub>2</sub>)压力:40 psi;辅助气(GS2, N<sub>2</sub>)压力:40 psi;碰撞气压力:6 psi;艾瑞昔布的 DP 和 CE 值分别为 100 V 和 45 eV,甲苯磺丁脲的 DP 和 CE 值分别为 22 V 和 32 eV;用于定量分析的离子反应分别为  $m/z$ : 370.1→236.2(艾瑞昔布)和  $m/z$ : 270.1→155.2(甲苯磺丁脲)。

## 2.3 灌胃液制备

艾瑞昔布灌胃液:将艾瑞昔布片研成粉末,取约 550 mg(相当于艾瑞昔布 110 mg),精密称定,溶于 1%羧甲基纤维素溶液 25 mL 中,得质量浓度约为 4.40 mg/mL 的艾瑞昔布灌胃液。

帕罗西汀灌胃液:将帕罗西汀片研成粉末,取帕罗

西汀粉末约 50 mg(相当于帕罗西汀 3.1 mg),精密称定,溶于 1%羧甲基纤维素溶液 7 mL 中,得质量浓度约为 0.44 mg/mL 的帕罗西汀灌胃液。

## 2.4 血浆样品处理

取血浆 200 μL,置 5 mL 离心管中,加内标溶液 20 μL,涡旋混匀,加提取剂乙酸乙酯 1 mL,涡旋混匀 2 min,4 500×g 离心 6 min,取上清液置 1.5 mL 离心管中,40℃水浴氮气吹干,400 μL 流动相复溶,10 μL 进样测定。

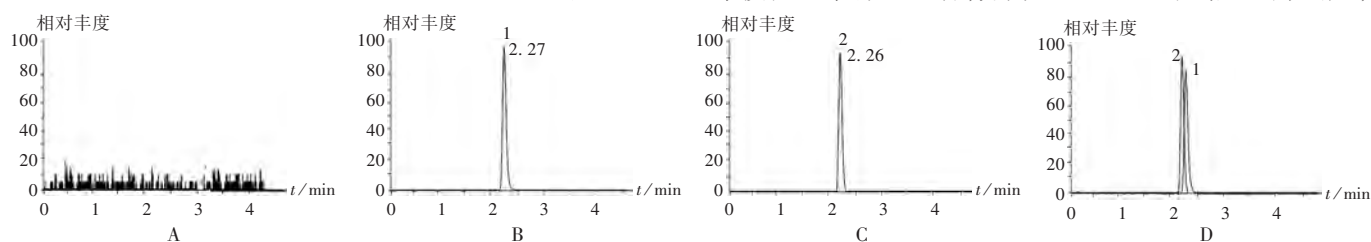
## 2.5 方法学考察

专属性试验:取艾瑞昔布对照品溶液和内标溶液分别进样,得艾瑞昔布和内标甲苯磺丁脲色谱图;分别取空白血浆、大鼠给药后 1 h 的血浆样品各 200 μL,按 2.4 项下方法处理(其中空白血浆不加内标),进样,得空白血浆色谱图及血浆样品色谱图。详见图 1。结果表明,内源性杂质对艾瑞昔布和内标的测定无影响。

线性关系考察和最低定量限确定:制备艾瑞昔布质量浓度依次为 10,20,40,80,160,200,400 ng/mL 的模拟血浆样品,按 2.4 项下方法处理,按拟订色谱条件进样测定,记录艾瑞昔布和甲苯磺丁脲峰面积,以峰面积比值(Y)为纵坐标、艾瑞昔布血浆浓度(X)为横坐标进行线性回归,得回归方程  $Y=0.016X+0.072$ ,  $r=0.9997$ ( $n=7$ )。结果表明,艾瑞昔布质量浓度线性范围为 10~400 ng/mL,最低定量限为 10 ng/mL。

回收试验和精密度试验:取空白血浆 15 份,分为 3 组,分别制备低、中、高(20,80,320 ng/mL)3 种质量浓度的艾瑞昔布模拟血浆样品各 5 份,按 2.4 项下方法处理并分析,记录艾瑞昔布和甲苯磺丁脲峰面积,并根据线性回归方程计算艾瑞昔布的质量浓度,该质量浓度与理论质量浓度的比值即方法回收率;于同日内处理并测定,考察日内精密度;连续 5 d 处理并测定,考察日间精密度。另取等量的艾瑞昔布和甲苯磺丁脲对照品溶液各 20 μL,进样测定,记录峰面积;模拟血浆样品中药物峰面积与等量对照品溶液峰面积的比值,即提取回收率。结果见表 1。

稳定性试验:制备质量浓度为 80 ng/mL 的艾瑞昔布模拟血浆样品 6 份,分为两组。一组即刻处理并测定,



1. 艾瑞昔布 2. 甲苯磺丁脲  
A. 空白血浆 B. 艾瑞昔布对照品溶液 C. 甲苯磺丁脲对照品溶液 D. 血浆样品

图1 高效液相色谱质谱图

表1 回收试验和精密度试验结果( $\bar{X} \pm s, n=5$ )

| 名称   | 质量浓度<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | RSD(%) |      | 方法回收率<br>( $\bar{X} \pm s, \%$ ) | 提取回收率<br>(%)     |
|------|-------------------------------------|--------|------|----------------------------------|------------------|
|      |                                     | 日内     | 日间   |                                  |                  |
| 艾瑞昔布 | 20                                  | 1.81   | 1.13 | 102.2 $\pm$ 8.07                 | 61.65 $\pm$ 1.79 |
|      | 80                                  | 2.21   | 2.38 | 98.71 $\pm$ 2.76                 | 65.33 $\pm$ 3.27 |
|      | 320                                 | 5.90   | 8.19 | 97.01 $\pm$ 1.84                 | 72.57 $\pm$ 2.39 |
| 内标   | 500                                 |        |      |                                  | 51.84 $\pm$ 1.71 |

一组反复冻融3次后处理并测定,考察其反复冻融的稳定性;一组即刻处理并测定,一组于 $-40^{\circ}\text{C}$ 保存30d后处理并测定,考察低温保存的稳定性;一组按2.4项下方法处理后即刻进样测定,另一组按2.4项下方法处理后于 $4^{\circ}\text{C}$ 放置12h进样测定,考察处理后的放置稳定性。结果的RSD分别为2.1%,3.9%,2.1% ( $n=3$ ),表明在上述条件下艾瑞昔布的稳定性良好。

## 2.6 药代动力学试验

将健康雄性SD大鼠40只随机分为两组,各20只,实验组连续7d灌胃帕罗西汀灌胃液( $2\text{ mg}/\text{kg}$ ),对照组灌胃1%羧甲基纤维素溶液,每天固定时间给药。第8天,每只大鼠灌胃艾瑞昔布( $20\text{ mg}/\text{kg}$ ,给药前12h禁食不禁饮),分别于给药前(0 min)和给药后10,20,30,45 min及1,1.5,2,3,4,6,8,12,24 h时眼底静脉丛取血0.5 mL,置肝素钠抗凝离心管中, $6500 \times g$ 离心5 min,取血浆 $-40^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

待测血浆室温自然解冻,按2.4项下方法对血浆样品进行处理,根据当日随行标准曲线计算每只大鼠各时间点的血药浓度,绘制平均药-时曲线(AUC)。详见图2。采用DAS 2.1.1软件对血药浓度进行统计矩拟合,并计算相关药代动力学参数。详见表2。采用SPSS 13.0统计学软件对两组大鼠的主要药代动力学参数进行统计学分析。结果显示,合用帕罗西汀后,艾瑞昔布的 $AUC_{0-12\text{h}}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ , 峰浓度( $C_{\text{max}}$ )均显著升高,清除率(CL)显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明帕罗西汀可抑制艾瑞昔布的代谢,CYP2D6参与了艾瑞昔布的代谢。

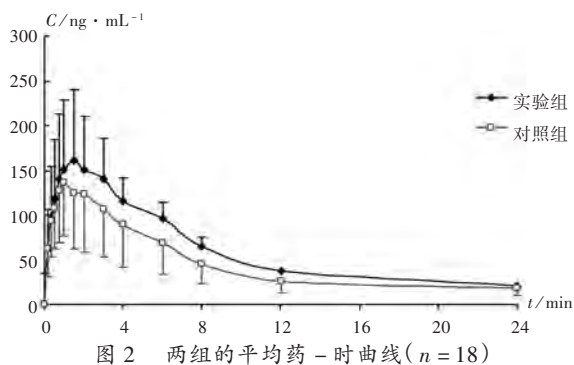


图2 两组的平均药-时曲线( $n=18$ )

## 3 讨论

CYP2D6在体内的含量仅次于CYP3A,分布于多个

表2 两组大鼠艾瑞昔布药代动力学参数( $\bar{X} \pm s, n=18$ )

| 药代动力学参数                                                        | 实验组                | 对照组                | P值   |
|----------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|------|
| $AUC_{0-24\text{h}}$ [ $\text{mg}/(\text{h} \cdot \text{L})$ ] | 1485.5 $\pm$ 480.3 | 1125.1 $\pm$ 457.6 | 0.02 |
| $AUC_{0-\infty}$ [ $\text{mg}/(\text{h} \cdot \text{L})$ ]     | 1730.4 $\pm$ 606.5 | 1331.3 $\pm$ 592.6 | 0.05 |
| $t_{1/2}(\text{h})$                                            | 7.3 $\pm$ 5.2      | 7.4 $\pm$ 3.8      | 0.96 |
| $T_{\text{max}}(\text{h})$                                     | 1.5 $\pm$ 0.7      | 1.5 $\pm$ 0.6      | 0.89 |
| $\text{CL}[\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$               | 0.01 $\pm$ 0.01    | 0.02 $\pm$ 0.01    | 0.03 |
| $V(\text{L}/\text{kg})$                                        | 0.12 $\pm$ 0.06    | 0.17 $\pm$ 0.07    | 0.10 |
| $C_{\text{max}}(\text{mg}/\text{L})$                           | 192.1 $\pm$ 70.8   | 162.2 $\pm$ 53.0   | 0.04 |

注: $t_{1/2}$ 为半衰期, $T_{\text{max}}$ 为达峰时间,CL为清除率,V为表观分布容积。

器官,如肝脏、大脑和骨骼肌等,代谢20%~25%的药物<sup>[11-12]</sup>。因此,研究某一药物与CYP2D6的作用关系对于研究该药物的相互作用具有非常重要的意义。目前,只有体外研究结果显示,肝微粒体酶CYP2D6参与艾瑞昔布的体外代谢过程。帕罗西汀为体内CYP2D6的强抑制剂,且帕罗西汀与以CYP2D6酶系为代谢途径的药物联用时,可影响其代谢,升高血药浓度,甚至引起不良反应<sup>[13]</sup>。故本研究中探讨了CYP2D6是否参与艾瑞昔布的体内代谢过程。

本研究结果显示,与对照组相比,经CYP2D6抑制剂帕罗西汀预处理的大鼠,其体内艾瑞昔布的 $C_{\text{max}}$ 增大为原来的1.18倍,表明艾瑞昔布在大鼠体内的吸收速度变快; $AUC$ 升高为原来的1.32倍,表明艾瑞昔布在大鼠体内的暴露量增加,生物利用度增加;CL降低为原来的65%,表明艾瑞昔布的代谢减慢。综合分析,帕罗西汀抑制了艾瑞昔布在大鼠体内的代谢,从而使其吸收增加、清除减慢,增大了艾瑞昔布在大鼠体内的生物利用度。考虑帕罗西汀作为CYP2D6的特异性抑制剂,因而推断CYP2D6参与了艾瑞昔布在大鼠体内的代谢。该结果与体外大鼠肝微粒体酶实验<sup>[14]</sup>和重组人源肝微粒体酶研究<sup>[15]</sup>所得结果均一致,为CYP2D6参与艾瑞昔布的代谢提供了理论支持。

由于大鼠与人之间存在种属差异,且实验中仅考察了帕罗西汀对艾瑞昔布在大鼠体内代谢的影响,具有一定的局限性。故艾瑞昔布在人体内的代谢途径仍有待进一步研究,以为临床合理用药提供更有力的依据。

本研究中选用帕罗西汀药品而非对照品作为CYP2D6的选择性抑制剂,主要基于以下考虑。首先,在人体的临床研究中,受试者服用的均为药品制剂,为保证和后续临床研究的一致性,从而选择帕罗西汀药品而非对照品;其次,考虑到药用辅料对提高给药对象的安全性及减少不良反应的发生具有一定作用,对实验动物而言,更符合伦理要求;最后,药品辅料属商业机密,获得帕罗西汀的辅料非常困难,且考虑到辅料的安全性已