

## 济泰片对人肝及 Beagle 犬肝中美沙酮代谢活性的影响

老东辉, 严东明, 马 璟

(中国医药工业研究总院 上海医药工业研究院 国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203)

**摘要:** **目的** 评价济泰片对人肝中美沙酮代谢活性潜在的抑制作用及对 Beagle 犬肝中美沙酮代谢活性潜在的诱导作用。**方法** 在人肝微粒体中加入济泰片  $1.5 \sim 150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , CYP3A4 抑制剂酮康唑及 CYP2D6 抑制剂奎尼丁, 再加入美沙酮进行共孵育 30 min。用美沙酮的代谢产物 2-亚乙基-1,5-二甲基-3,3-二苯基吡咯烷(EDDP)的生成速率反映美沙酮的代谢活性, 评价济泰片对美沙酮的抑制作用。Beagle 犬 ig 给予济泰片  $0.1875, 0.625$  和  $1.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 每天 1 次, 共 36 周后制备犬肝微粒体, 在制备的犬肝微粒体中加入美沙酮进行共孵育 30 min, 检测济泰片组美沙酮的代谢产物 EDDP 的生成速率。**结果** 阳性抑制剂酮康唑、奎尼丁能显著抑制人肝微粒体中的美沙酮代谢, 而济泰片未见明显抑制作用。济泰片  $1.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组 Beagle 犬肝微粒体中美沙酮去甲基化反应的反应速率、代谢能力及单位体质量代谢能力均显著高于正常对照组, 分别为  $0.86 \pm 0.17$  vs  $(0.49 \pm 0.10) \text{ cps} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ 蛋白}$ ,  $228 \pm 62$  vs  $(115 \pm 13) \text{ cps} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ 蛋白}$ ,  $10.6 \pm 0.8$  vs  $(24.4 \pm 5.6) \text{ cps} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ 蛋白} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $P < 0.05$ )。**结论** 济泰片对人肝中美沙酮的代谢不会产生抑制作用。济泰片对 Beagle 犬肝中美沙酮代谢具有一定的诱导作用。

**关键词:** 济泰片; 美沙酮; 药物相互作用; 细胞色素 P450 酶系统

**中图分类号:** R969.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2012)06-0876-06

**DOI:** 10.3867/j.issn.1000-3002.2012.06.017

济泰片是根据明清鄂东四大名医之一的杨际泰先生在清道光、同治年间独创的戒断鸦片毒瘾的秘方, 又在汲取传统中医精髓的基础上, 针对当代毒品特性, 运用现代科学技术和工艺流程, 研制而成的纯中药戒毒新品。其主要由延胡索、丹参、珍珠粉、人参和洋金花等 15 味纯中药制成。具有活血行气、散寒止痛、温肾健脾、清心安神和解毒制瘾之功能<sup>[1]</sup>。

美沙酮作为替代药物, 最重要的特点是在使用充分剂量时可以减少或消除依赖者对阿片类药物的渴求; 与同类药物间具有交叉耐受性, 使得随后使用的阿片类药物的作用降低或不能发挥作用。因此, 在服用美沙酮期间可防止再使用海洛因<sup>[2]</sup>。美国 FDA 和麻醉药品与危险药品局联合于 1970 年批准美沙酮维持治疗的实验性治疗。FDA 于 1972 年正式批准美沙酮用于麻醉品依赖治疗。

济泰片在上市后对其单独用药效果观察以及中西医结合用药方面已有不少研究和报道。如李子

红<sup>[3]</sup>, 熊建国等<sup>[4]</sup>分别报道了济泰片在联合美沙酮和洛非西定(lofexidine)用于防复吸时, 可减少西药用量, 疗效加强, 不良反应小等特点。美沙酮维持治疗不能过早被打断。事实上, 其目标就是针对持续数月或数年的药瘾<sup>[5]</sup>。两者均需长期用药, 但其代谢性相互作用尚不明了, 不利于临床用药安全。因此, 有必要评价两者间代谢性相互作用的可能性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂

盐酸美沙酮标准品, 批号:1009008-1, 购自中国药品生物制品检定所; 济泰片粉末, 批号:20090416, 含量 98.42%, 由国家上海中药制剂工程中心提供; 人肝微粒体购自 XenoTech 公司; 酮康唑和奎尼丁购自 Sigma-Aldrich 公司; Pierce BCA 蛋白测定试剂盒购自 ThermoFisher 公司; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)购自 TCI 公司; 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)购自 Amresco 公司; 三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自 J. T. Baker 公司; 氯化钾、焦磷酸钠、乙二胺四乙酸和蔗糖购自国药集团上海化学试剂有限公司; 甲醇和乙腈购自 Merck 公司, 为色谱纯; 甲酸购自 Tedia 公司。

#### 1.2 仪器

液相色谱-质谱联用仪(HPLC-MS/MS)(包括

**基金项目:** 国家科技支撑计划项目(2008BAI49B05); 十二五国家科技重大专项(2012ZX09302002)

**作者简介:** 老东辉(1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事毒物代谢动力学与药物相互作用的研究; 严东明(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事药代动力学研究。

**通讯作者:** 严东明, E-mail: dmyan@ncdser.com

Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪, Premier XE 质谱仪和 MassLynx 4.1 软件) 为美国 Waters 公司产品; ST-16R 高速离心机为美国 ThermoFisher 公司产品; CP100MX 超速离心机为美国 Hitachi 公司产品; 匀浆机为 IKA 公司产品; XW-80C 型涡旋混合器为上海医科大学仪器厂产品; ZHWY-100C 气浴恒温振荡培养器为上海智诚分析仪器公司产品。

### 1.3 溶液的配制

速溶液含 KCl  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 匀浆用缓冲液含 KCl  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Tris  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与 EDTA  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4; 再次悬浮用缓冲液含焦磷酸钠  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与 EDTA  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.25; 微粒体备用缓冲液含蔗糖  $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。终止液为含对乙酰氨基酚  $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的乙腈溶液。济泰片溶液中含济泰片  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  与 Tris-HCl  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 1.4 HPLC-MS/MS 测定方法的建立及美沙酮代谢稳定性考察

#### 1.4.1 HPLC-MS/MS 测定方法

孵育样品中美沙酮与其代谢产物 EDDP 的浓度采用 HPLC-MS/MS 进行分析测定。检测条件如下: 色谱柱为 Waters Symmetry C<sub>18</sub>  $3.5 \mu\text{m}$  柱, 柱温为  $40^\circ\text{C}$ 。流动相为 0.1% 甲酸: 乙腈 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱 (0~0.9 min: 70: 30, 1.0~3.5 min: 20: 80, 3.6~6 min: 70: 30), 流速为  $0.4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量  $5 \mu\text{l}$ 。离子化方式选择电喷雾电离正电子方式。毛细管电压为 2.7 kV, 萃取电压为 2.00 V。干燥气温度为  $300^\circ\text{C}$ , 离子源温度为  $100^\circ\text{C}$ 。干燥气流速为  $600 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ , 锥孔气流为  $50 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。美沙酮、EDDP 和内标对乙酰氨基酚的质谱分析条件见表 1。

Tab. 1 Parameters of mass spectrometry

Analyte	Trace ( $m/z$ )	Cone/V	CE/eV
Methadone	310.16→223.14	15.00	26.00
EDDP	278.00→248.90	20.00	25.00
Acetaminophen	152.00→110.00	25.00	15.00

Acetaminophen is internal standard. CE: collision energy.

#### 1.4.2 美沙酮代谢稳定性测定

孵育体系的总体积为 0.2 ml。含 Tris-HCl 缓冲液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4), 人肝微粒体  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , NADPH  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 美沙酮  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。37°C 条件下气浴孵育 30 min 后加入 200  $\mu\text{l}$  终止液终止反应。同时进行未经孵育, 正常对照 (不含美沙酮) 及阴性对照 (不含 NADPH) 的样品的处理。

以 EDDP 峰面积与内标对乙酰氨基酚峰面积之比求得 EDDP 的响应值, 表示美沙酮代谢的程度。

### 1.5 考察人肝微粒体中济泰片对美沙酮去甲基化代谢抑制作用

#### 1.5.1 分组给药和孵育

孵育体系的总体积为 0.2 ml, 3 份样品平行处理。含 Tris-HCl 缓冲液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4), 人肝微粒体  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , NADPH  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 美沙酮  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 济泰片组含济泰片 1.5, 5, 15, 50 和  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。阳性对照组依次含 CYP3A4 抑制剂酮康唑 0.1, 0.3, 1, 3 和  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、CYP2D6 抑制剂奎尼丁 0.05, 0.15, 0.5, 1.5 和  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  以及混合抑制剂酮康唑 0.1, 0.3, 1, 3 和  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与奎尼丁 0.05, 0.15, 0.5, 1.5 和  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最终的孵育体系中的乙腈含量为 1% (V/V)。

在 37°C 下预孵育 10 min。加入 NADPH 后在 37°C 气浴中振荡孵育 30 min。在相同的条件下进行对照组 (不含济泰片或 NADPH) 的孵育。

#### 1.5.2 样品预处理及 EDDP 的测定

孵育 30 min 后, 加入 200  $\mu\text{l}$  终止液终止反应。涡旋 3 min,  $21\ 913 \times g$  下离心 10 min, 取上清 5  $\mu\text{l}$  进样分析 EDDP 含量。

#### 1.5.3 济泰片对美沙酮代谢抑制作用的测定

人肝微粒体中美沙酮去甲基化代谢的剩余反应活性以不同浓度的抑制剂 (济泰片或各阳性对照) 存在条件下代谢产物 EDDP 的生成速率相对于对照 (无济泰片) 中 EDDP 的生成速率的百分比来表示。使用 GraphPad Prism 5 进行非线性拟合, 并计算 IC<sub>50</sub>。

### 1.6 考察犬体内济泰片对美沙酮去甲基化代谢诱导作用

#### 1.6.1 动物的分组、给药及处理

Beagle 犬分别 ig 给予济泰片 0.1875, 0.625 及  $1.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (分别相当于临床人每日最大用量  $0.245 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的 3, 10 和 30 倍), 每组 4 只, 雌雄各半。每周连续给药 6 d, 每天 1 次, 共 6 d, 周日停药 1 d, 连续 ig 给药 36 周。给药容量为  $7 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。正常对照组 ig 给予去离子水。给药结束后处死犬, 取肝。记录各组 Beagle 犬体质量并计算肝系数 = 肝质量 (mg)/体质量 (g)  $\times 100$ 。

#### 1.6.2 Beagle 犬肝微粒体的制备及蛋白浓度测定

将取得的 Beagle 犬肝组织在碎冰上剪碎。每份肝组织在冰上加入匀浆用缓冲液匀浆后使用匀浆机制备肝匀浆。所得的肝匀浆  $9000 \times g$  离心 25 min。收集上清液, 弃去底部沉淀物。上清液,  $105\ 000 \times g$  离心 70 min, 弃去上清液, 加入再次悬浮用缓冲液重悬浮后  $105\ 000 \times g$  离心 45 min。弃去上清液获得最终沉淀物为制备得到的犬肝微粒体。加

入预冷的微粒体储备用缓冲液,并用匀浆机重新悬浮微粒体,在  $-70^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存<sup>[6]</sup>。使用 Pierce BCA 试剂盒测定制备得的 Beagle 犬肝微粒体蛋白浓度<sup>[7]</sup>。

### 1.6.3 样品孵育及预处理

孵育体系的总体积为 0.2 ml,2 份样品平行处理。含 Tris-HCl 缓冲液  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH 7.4),犬肝微粒体终浓度均至  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,NADPH  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和美沙酮  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。最终的孵育体系中的乙腈含量为 1% (V/V)。在  $37^{\circ}\text{C}$  下预孵育 10 min。加入 NADPH 后在  $37^{\circ}\text{C}$  气浴中振荡孵育 30 min。30 min 后,加入 200  $\mu\text{l}$  终止液终止反应。涡旋 3 min,  $21\ 913 \times g$  下离心 10 min,取上清 5  $\mu\text{l}$  进样分析 EDDP 含量。

### 1.6.4 美沙酮去甲基化代谢能力的计算

以 EDDP 的生成速率,个体动物的代谢能力(代谢能力 = 生成速率  $\times$  肝质量)及单位体质量的代谢能力(单位体质量的代谢能力 = 生成速率  $\times$  肝质量/体质量)

量)来评价在犬中美沙酮去甲基化代谢的反应活性。

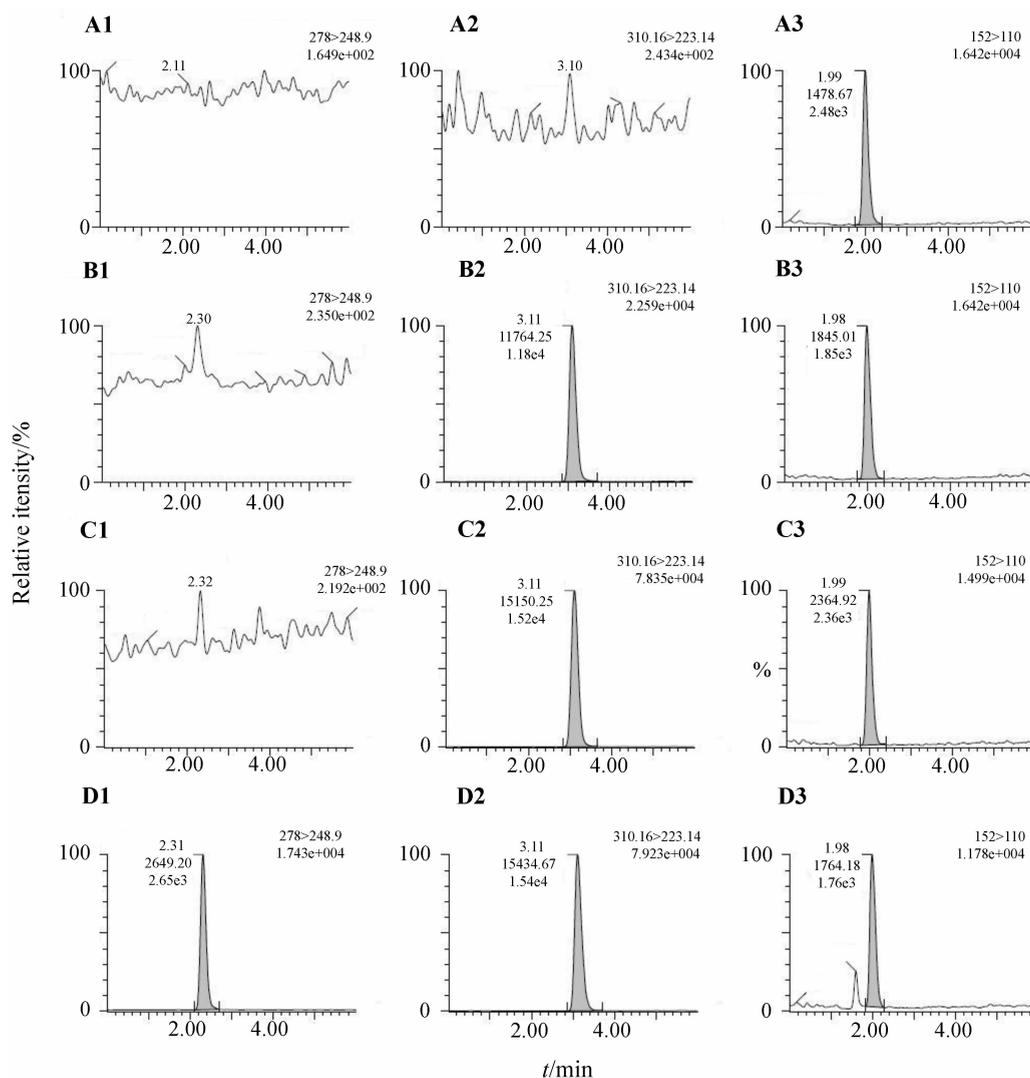
### 1.7 统计学分析

实验结果数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。使用 SAS Enterprise Guide 3.0 软件进行统计分析,分别对 EDDP 的生成速率、代谢能力与单位体质量的代谢能力进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 美沙酮的代谢稳定性

美沙酮代谢稳定性结果见图 1。在孵育 30 min 后,样品中 2.3 min 处出现一个未知峰,而空白对照、阴性对照及孵育 0 min 样品在该时间均见峰。说明该峰为美沙酮的代谢产物。其离子对质荷比为  $278.00 \rightarrow 248.90$ 。与参考文献[8]报道一致,可初步推测该代谢产物为 EDDP。



**Fig. 1** Metabolic stability of methadone and its metabolite EDDP. A: blank, B: negative control (without NADPH), C: sample incubated for 0 min, D: sample incubated for 30 min. 1. metabolite EDDP; 2. methadone; 3. internal standard; acetaminophen.

## 2.2 济泰片对美沙酮去甲基化代谢抑制作用

加入济泰片、酮康唑、奎尼丁、酮康唑与奎尼丁后的美沙酮去甲基化反应的剩余活性见图 2。济泰片组美沙酮去甲基化反应的活性未见显著抑制；而各阳性对照(酮康唑, 奎尼丁, 酮康唑 + 奎尼丁)均发生显著抑制。阳性对照中酮康唑的  $IC_{50}$  为  $1.52 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；奎尼丁的  $IC_{50}$  为  $12.41 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；酮康唑 + 奎尼丁组的  $IC_{50}$  为  $0.83 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (以酮康唑计) 与  $1.65 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (以奎尼丁计)。

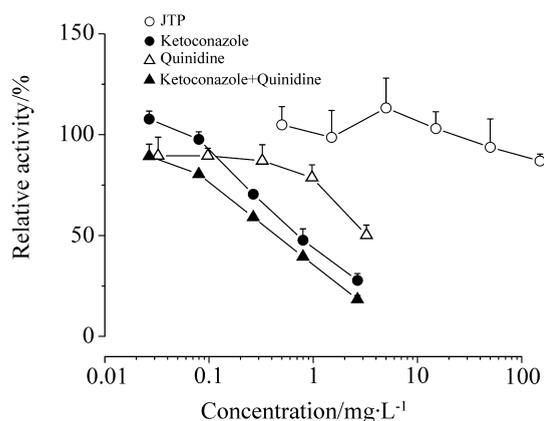


Fig. 2 Inhibition of Jitai tablets (JTP), quinidine and ketoconazole on methadone demethylation.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ .

## 2.3 济泰片对美沙酮去甲基化代谢的诱导作用

### 2.3.1 Beagle 犬肝微粒体的蛋白浓度

Beagle 犬的肝质量、肝系数以及使用 BCA 法测得的 Beagle 犬肝微粒体蛋白浓度如表 2 所示。济泰片  $0.1875, 0.625$  和  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组肝质量及蛋白浓度与溶媒对照组相比无显著性差异。济泰片  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组肝系数为溶媒对照组的  $129\%$ , 显著大于溶媒对照组 ( $P < 0.05$ )；济泰片  $0.1875$  和  $0.625 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组与溶媒对照组相比均有增大的趋势, 但无统计学差异。

Tab. 2 Effect of JTP on liver mass, liver index and protein concentration in Beagle dog liver microsome with methadone

JTP/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Liver mass/ g	Liver index	Protein concentration/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
0	$238 \pm 52$	$2.19 \pm 0.36$	$11.02 \pm 0.48$
0.1875	$219 \pm 23$	$2.61 \pm 0.25$	$12.30 \pm 1.68$
0.625	$241 \pm 4$	$2.72 \pm 0.11$	$13.34 \pm 1.73$
1.875	$263 \pm 37$	$2.82 \pm 0.23^*$	$11.56 \pm 0.15$

Liver index = liver mass (mg)/body mass (g)  $\times 100$ .  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 4$ .

\*  $P < 0.05$ , compared with JPT  $0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  group.

### 2.3.2 济泰片对美沙酮去甲基化代谢的诱导作用

表 3 为济泰片  $0.1875, 0.625$  和  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组 Beagle 犬微粒体中美沙酮代谢产物 EDDP 的生成速率；以及溶媒对照组、济泰片  $0.1875, 0.625$  和  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组 Beagle 犬微粒体中美沙酮去甲基化反应的代谢速率、代谢能力及单位体质量代谢能力。与正常对照组相比, 济泰片  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组的生成速率、代谢速率明显降低 ( $P < 0.05$ )。

JTP  $0.1875$  和  $0.625 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组中美沙酮去甲基化反应的反应速率、代谢能力与单位体质量代谢能力分别为溶媒对照组的  $110\%$  和  $128\%$ ,  $102\%$  和  $132\%$ ,  $133\%$  和  $162\%$ , 与溶剂对照组相比并未见显著性差异；而 JTP  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组中美沙酮去甲基化反应的反应速率、代谢能力与单位体质量代谢能力分别为溶媒对照组的  $175\%$ ,  $198\%$  与  $230\%$ , 与溶剂对照组相比均显著增大 ( $P < 0.05$ )。诱导作用、代谢能力与单位体质量代谢能力均表现出了一定的剂量依赖性。

济泰片体外实验中对人肝中美沙酮去甲基化代谢未观察到抑制作用, 故济泰片在临床上与一线戒毒药美沙酮合用时不太可能发生基于 CYP450 的代谢性抑制作用。Beagle 犬连续给予济泰片  $1.875 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (相当于临床每日最大剂量的 30 倍) 36 周后, 能够诱导其肝微粒体中的美沙酮去甲基化反应。但是否会发生具有临床意义的诱导作用有待进一步研究。

Tab. 3 Effect of JTP on metabolic rate, metabolic ability and metabolic ability per body mass (BM) of methadone demethylation

JTP/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Metabolic rate/ $\text{cps}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	Metabolic ability/ $\text{cps}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	Metabolic ability per BM/ $\text{cps}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro}\cdot\text{g}^{-1}$
0	$0.49 \pm 0.10$	$115 \pm 13$	$10.6 \pm 0.8$
0.1875	$0.54 \pm 0.14$	$117 \pm 26$	$14.1 \pm 3.3$
0.625	$0.63 \pm 0.28$	$151 \pm 66$	$17.2 \pm 7.7$
1.875	$0.86 \pm 0.17^*$	$228 \pm 62^*$	$24.4 \pm 5.6^*$

$\bar{x} \pm s$ ,  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$ , compared with JTP  $0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  group.

## 3 讨论

有大量报道植物药制剂对药酶活性产生影响<sup>[9]</sup>, 说明中药也可能对药酶活性有影响。中药抑制性药物相互作用研究, 通常采用人肝微粒体体系进行实验以确定抑制性相互作用是否会发生<sup>[10-11]</sup>。有关中药诱导性药物相互作用的报道较少, 主要利用肝细胞体系进行细胞培养实验, 也有通过测定

mRNA 的表达调控进行研究<sup>[12-13]</sup>。本研究使用 HPLC-MS/MS 进行检测,灵敏度高,分析速度快,易排除中药复杂组分中的干扰,适用于中药相互作用的研究。本研究中抑制作用研究采用体外人肝微粒体系统,实验操作简便快速,结果无需跨种属外推;诱导作用研究以制备长期给药后 Beagle 犬的肝微粒体作为实验体系,能够反映出整体水平下的酶活性改变情况。

文献报道美沙酮主要通过 CYP3A4 与 CYP2D6 催化的 N-去甲基化反应代谢。CYP2C18 也参与美沙酮的代谢,但并非美沙酮在人体中的主要代谢途径<sup>[14]</sup>。本研究采用 CYP2D6 与 CYP3A4 抑制剂奎尼丁与酮康唑作为阳性对照,以验证实验系统<sup>[15]</sup>。尽管美沙酮代谢途径多,但其主要代谢产物均为 EDDP。故本研究中以 EDDP 的生成情况来评价美沙酮的代谢情况。

根据文献报道,肝微粒体所占肝质量比例为  $52.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ <sup>[16]</sup>,而肝质量占体质量的比例为  $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[17]</sup>。故按体质量计算肝微粒体应为  $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。济泰片在肝微粒体中能达到的最高浓度为  $30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  肝微粒体。济泰片  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,假设其生物利用度为 100% 并完全分布至肝中,则济泰片在肝中所能达到的最高暴露量为  $30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  肝微粒体。本研究中肝微粒体浓度为  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,济泰片的浓度设为  $1.5 \sim 150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,该范围能够涵盖体内可能达到的最大浓度。一般评价抑制的研究需要有明确的指标成分及该成分在体内的吸收情况,本实验在无此类信息的前提下做出上述几个假设,能够确保抑制实验不会出现假阴性结果。美沙酮的有效阻断渴求与防治出现戒断症状的体内浓度为  $150 \sim 200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[18]</sup>,故本研究中诱导研究中美沙酮的终浓度设为  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (约  $345.9 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),与人体内可能达到的实际浓度相当。

本研究济泰片  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度下对美沙酮在人肝微粒体中的代谢无抑制作用,故在体内也不会产生相应的抑制作用。济泰片  $0.1875 \sim 1.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (相当于临床最大给药量的 3 ~ 30 倍) 时,Beagle 犬肝微粒体中显示对美沙酮代谢有一定的剂量依赖性的诱导作用。济泰片在 Beagle 犬中低剂量组中给药剂量为  $0.1875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (相当于临床最大人用剂量的 3 倍),给药 36 周后并未观察到对美沙酮去甲基化代谢反应产生诱导性相互作用。故临床按照说明书服用,不会发生美沙酮去甲基化代谢相关的药物相互作用。因此济泰片同美沙酮合用时不会引起美沙酮的不良反应,长期服用济泰片也

不会降低美沙酮药效。

## 参考文献:

- [1] Chen YA, Yan BY, Deng YP. Pharmacology of Jitai tablets, a traditional Chinese medicine for detoxification [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2010, **19**(14):1229-1233.
- [2] Guo S. Therapeutic protocol of methadone maintenance [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2001, **10**(2):91-94.
- [3] Li ZH, Tang YX, Hua SZ, Wang Y. Efficacy of Jitai for protracted withdrawal symptoms in heroin dependent patients [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2007, **16**(4):284-287.
- [4] Xiong JG, Xiao ZX, Li J, Qin DS, Min MS, Yang JH, et al. Clinical effect of Jitai tablet combined with lofexidine in the treatment of heroin dependence [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2001, **10**(4):290-292.
- [5] Brette RP. HIV and harm reduction for injection drug users [J]. *AIDS*, 1991, **5**(2):125-136.
- [6] Philip, S. [5] *Preparation of microsomes and submicrosomal fractions: Mammalian* [M] // Sidney PC, Nathan OK. *Methods in Enzymology*. Academic Press, 1962: 61-68.
- [7] Walker JM. The bicinchoninic acid (BCA) assay for protein quantitation [J]. *Methods Mol Biol*, 1994, **32**: 5-8.
- [8] Moody DE, Lin SN, Chang Y, Lamm L, Greenwald MK, Ahmed MS. An enantiomer-selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for methadone and EDDP validated for use in human plasma, urine, and liver microsomes [J]. *J Anal Toxicol*, 2008, **32**(3):208-219.
- [9] Hafner-Blumenstiel V. Herbal drug-drug interaction and adverse drug reactions [J]. *Ther Umsch*, 2011, **68**(1):54-57.
- [10] Xu B, Zhao G, Wei H, Qian XF, Li JX, Xu W. Effects of 20 Chinese patent medicines on the catalytic activities of five main cytochrome P450s of human liver microsome [J]. *J Pharm Pract* (药学实践杂志), 2009, **27**(5):353-356.
- [11] Ai CH, Sun HX, Li H, Zhuang XM, Dong DL. *In vitro* inhibition of cytochrome P450 activities by active constituents of Chinese herbal drugs [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2011, **27**(4):519-523.
- [12] Guo YJ, Zhang JJ, Si DY, Gu JK, Zhou H. Effects of the active components of Chinese herbs on CYP related genes expression in HepG2 cells [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2008,

- 19(4):243-246.
- [13] Wang YG, Gao Y, Chai BX, Chen P, Tan HL, Zhao YH, *et al.* Modulation of the activities and mRNA expression of cytochrome P450 isoenzymes in rat liver by *Panax ginseng* and coadministration with *Veratrum nigrum*[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2004, 29(4): 366-370.
- [14] Wang JS, DeVane CL. Involvement of CYP3A4, CYP2C8, and CYP2D6 in the metabolism of (R)- and (S)-methadone *in vitro* [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(6): 742-747.
- [15] Sullivan HR, Due SL. Urinary metabolites of *dl*-methadone in maintenance subjects[J]. *J Med Chem*, 1973, 16(8):909-913.
- [16] Iwatsubo T, Hirota N, Ooie T, Suzuki H, Shimada N, Chiba K, *et al.* Prediction of *in vivo* drug metabolism in the human liver from *in vitro* metabolism data [J]. *Pharmacol Ther*, 1997, 73(2):147-171.
- [17] Boxenbaum H. Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance; extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin [J]. *J Pharmacokinetic Biopharm*, 1980, 8(2):165-176.
- [18] Sees KL, Delucchi KL, Masson C, Rosen A, Clark HW, Robillard H, *et al.* Methadone maintenance for opioid dependence[J]. *JAMA*, 2000, 284(6):694-695.

## Effect of Jitai tablets on metabolic activity of methadone in human and Beagle dog livers

LAO Dong-hui, YAN Dong-ming, MA Jing

(National Shanghai Center for Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Chinese Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China)

**Abstract: OBJECTIVE** To evaluate metabolic inhibition potential of Jitai tablet (JTP) on methadone in human liver and induction potential in Beagle dog liver for predicting drug-drug interactions while coadministering. **METHODS** JTP 1.5 – 150 mg · L<sup>-1</sup>, positive inhibitors of CYP3A4 ketoconazole and positive inhibitor of CYP2D6 quinidine were added into human liver microsome (HLM) incubation system with methadone for coincubation. Formation rate of EDDP (a metabolite of methadone) indicated metabolic activity on methadone for inhibition evaluation. After Beagle dogs were administered by JTP 0, 0.1875, 0.625 and 1.875 g · kg<sup>-1</sup> for 36 weeks, dog liver microsome (DLM) was prepared. Methadone was added in DLM incubation system. EDDP formation rate and metabolic ability in JTP groups were determined for induction evaluation of JTP on methadone. **RESULTS** Significant inhibitory effect on methadone demethylation was found in ketoconazole, quinidine, and ketoconazole + quinidine groups, but there was no inhibitory effect in JTP group. The metabolic rate, metabolic ability and metabolic ability per body mass of methadone demethylation in JTP 1.875 g · kg<sup>-1</sup> group were greater than those in normal control group, and were 0.86 ± 0.17 *vs* (0.49 ± 0.10) cps · min<sup>-1</sup> · mg<sup>-1</sup> protein, 228 ± 62 *vs* (115 ± 13) cps · min<sup>-1</sup> · mg<sup>-1</sup> protein, 10.6 ± 0.8 *vs* (24.4 ± 5.6) cps · min<sup>-1</sup> · mg<sup>-1</sup> protein · g<sup>-1</sup>, respectively (*P* < 0.05). **CONCLUSION** JTP has no inhibitory effect on methadone metabolism in human liver. JTP shows certain inductive effect on methadone metabolism in DLM.

**Key words:** Jitai tablet; methadone; drug interactions; cytochrome P-450 enzyme system

**Foundation item:** The project supported by National Science and Technology Support Program (2008BAI49B05); and Major Projects Foundation of National Science and Technology of China (2012ZX09302002)

**Corresponding author:** YAN Dong-ming, E-mail: dmyan@ncdser.com, Tel: 50800333-305

(收稿日期: 2012-02-17 接受日期: 2012-06-27)

(本文编辑: 付良青)