

# 普罗帕酮和利多卡因在大白鼠肝匀浆中合用时的代谢<sup>1</sup>

唐跃年, 张尧陵 (上海第二医科大学附属新华医院药剂科, 上海200092, 中国)

刘璐, 王振钱 (上海医科大学药学院药理教研室, 上海200032, 中国)

R969-1

## Metabolism of propafenone and lidocaine in combination in rat liver supernatant<sup>1</sup>

TANG Yue-Nian, ZHANG Wan-Ling  
(Department of Pharmacy, Xin-Hua Hospital of Shanghai Second Medical University, Shanghai 200092, China)

LIU Lu, WANG Zhen-Yue  
(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China)

**ABSTRACT** Propafenone (Pro) and lidocaine (Lid) were incubated with rat liver supernatant and coenzyme factor. The competitive oxidations with each other were established. The original drug concentration of Pro and Lid were increased 0.7 and 0.5 times, respectively; and the metabolite dimethylglycinexylide (DGX) of Lid to be formed was decreased about 2/3 of that produced when administered alone. It was suggested that 1) they were metabolized by the same cytochrome P<sub>450</sub> ■ A<sub>4</sub> and the isozyme could be saturated, 2) the convulsive toxicity due to DGX will be decreased with its diminished formation, and 3) the combination of Lid and Pro would be beneficial for treatment of arrhythmias.

**KEY WORDS** propafenone; lidocaine; metabolism; drug combinations; liver

**A 摘要** 验证 Pro 和 Lid 结构中 N 原子上的烷

Received 1992-07-12

Accepted 1994-07-05

<sup>1</sup> Project supported by the Youth Scientific Foundation of the Ministry of Public Health of China, No 91067.

基受类似同功酶催化。采用肝匀浆上清液孵育法, 观察到 Pro 和 Lid 合用后, 原药浓度随其代谢的相互制约, 可分别提高 0.7 和 0.5 倍, DGX 生成减少 2/3。提示: 1) 两药均由细胞色素 P<sub>450</sub> ■ A<sub>4</sub> 同功酶催化, 并呈饱和现象。2) 由于 DGX 生成减少, 可降低由此引起的毒性。3) 两药合用有益于抗心律失常的治疗。

**关键词** 普罗帕酮; 利多卡因; 代谢; 合并用药; 肝

—— 联合用药

我们用电生理技术证实普罗帕酮(propafenone, Pro)和利多卡因(lidocaine, Lid)在一定的浓度下, 两药的合用对保护离体豚鼠心脏, 由哇巴因诱发的心律失常, 显示出协同作用<sup>[1]</sup>。鉴于 Pro 和 Lid 两药均在肝内由细胞色素 P<sub>450</sub> 酶系催化氧化代谢<sup>[1,2]</sup>, 推测 Pro 的 N-dealkylation 可能为 Lid 的 N-dealkylation 细胞色素 P<sub>450</sub> ■ A<sub>4</sub> 同功酶所催化。为了验证这一假设, 我们采用大白鼠肝匀浆的上清液孵育, 观察两药合用时的原形药物浓度及代谢产物的生成是否相互制约, 探讨其合用与代谢的相互关系。

## MATERIALS AND METHODS

**药品** Lid 由上海海普药厂提供; 单乙基甘氨酸二甲基苯酰胺(monoethyl-dimethylglycinexylide, MDGX)和甘氨酸二甲基苯酰胺(dimethylglycinexylide, DGX)由上海医科大学药物教研室周智善教授提供; Pro 由广州医药工业研究所提供, 批号 900240; 5-羟基普罗帕酮(5-hydroxypropafenone, 5-OHPro)和 N-去丙基普罗帕酮(N-depropylpropafenone, NDPro)由德国 Dr

Margarete Fischer-Bosch-Institut for Clinic Pharmacology, Dr H K Kroemer 提供; 内标安定 (diazepamum) 和扑米酮 (primidonum) 分别由上海黄河制药厂和江苏南通药厂生产。

**试剂**  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{CuSO}_4$ , 异丙醇, 正己烷, 酒石酸钠钾, 市售酚试剂, 均为 AR, MeOH 为 HPLC 淋洗剂, 水为双蒸馏水, 牛血清白蛋白, *D*-葡萄糖-6-磷酸单钠盐, 辅酶 I, 均为生化纯试剂。

**大白鼠** Wistar ♂, 60 只,  $197 \pm 35$  g 由上海医科大学实验动物中心提供。

**仪器** Beckman 338 型 HPLC (包括 406 控制器, 166 UV 检测仪, 110B 双泵, 427 积分仪); 上海医科大学仪器厂, XW-80 型旋涡混合器; 上海医用分析仪器厂, GF-1 控时调速式高速分散器; 江苏太仓县医疗器械厂, SHZ-82 型水浴恒温振荡器; 日立 20PR-52D 自动高速冷冻离心机。

**肝匀浆** 经 12 h 断食供水的大鼠, 断头放血, 取出肝脏, 放入磷酸缓冲溶液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4), 去除周围的脂肪及结缔组织, 用滤纸吸干称重后重新放入磷酸缓冲溶液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。把肝脏剪成碎块, 用磷酸缓冲溶液配制成 25% 的肝组织液, 打成肝匀浆。4 °C 下  $10\,000 \times g$  离心 20 min。吸出上清液放  $-20$  °C 保存。上述操作均在冰水浴中进行。

**蛋白含量** 按酚试剂法<sup>[9]</sup>测定。

**辅助因子** 按  $\text{pH} = \text{pKa} - \lg[\text{H}^+]/[\text{M}^+]$  公式配制磷酸缓冲溶液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4), 然后再配制含氯化钾的磷酸缓冲溶液  $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用磷酸缓冲溶液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4) 配制 *D*-葡萄糖-6-磷酸单钠盐  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 辅酶 II  $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{MgCl}_2$   $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 组成辅助因子。

**药物代谢的反应体系** 采用肝匀浆上清液孵育法<sup>[4]</sup>, 简言之: 取 20 ml 试管, 1-6 为空白及对照管, 7-16 管中分别加入 Pro 0.2, 0.5, 1, 2, 4  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 在 A-J 管中除加入同上述量的 Pro 外每管再加入 Lid 2  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  作为干扰物。17-30 管中分别加入 Lid 0.5, 1, 2, 3, 5  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 在 K-T 管中除加入同上述量的 Lid 外每管再加入 Pro 2  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  作为干扰物。为了说明在不同的干扰浓度下两药物合用的变化, 本实验用了三个干扰浓度, 具体操作如下: 编号 1-30 管, 1-6 为空白管, 7-30 管分别加入 Pro 1, 2, 4  $\mu\text{g}$

$\cdot \text{ml}^{-1}$ , 其中 13-30 管分别加入 Lid 0.5, 1, 2  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  作为干扰物。每管中加 2 ml 肝匀浆上清液及 2 ml 辅助因子组成药物代谢反应体系, 每一浓度作一复管, 所有试管的总体积约为 4 ml。同理, 编号 31-60 管, 31-36 管为空白, 37-60 管中分别加入 Lid 2, 3, 5  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 其中, 43-60 管分别加入 Pro 0.5, 1, 2  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  作为干扰物, 2 ml 肝匀浆上清液及 2 ml 辅助因子组成药物代谢反应体系。上述各管除对照管不孵育外, 均 37 °C 孵育 4 h, 孵育结束后立即放入冰浴中停止反应。然后分别用有机溶剂提取。

**Pro 及其活性代谢产物的测定** 取上述孵育结束的肝匀浆 Pro 测定管, 加入内标物安定的甲醇液 ( $50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 10  $\mu\text{l}$ , 用 10 ml 乙醚, 分二次提取; 振荡,  $3000 \times g$  离心 20 min。合并有机层, 50 °C 水浴, 氮流下吹干, 残渣加甲醇 0.1 ml 溶解, 20  $\mu\text{l}$  HPLC 进样。色谱条件: 柱 4.6 mm  $\times$  250 mm, 填料 Ultrasphere-ODS, 5  $\mu\text{m}$ ; 检测波长 254 nm, 灵敏度 0.01 AUFS, 流动相磷酸缓冲液  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 2.7); 甲醇 = 43:57, 流速  $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ; Pro, 5-OHPro, NDPro 及内标的保留时间分别为 7.67, 4.36, 5.14, 13.69 min。Pro, 5-OHPro, NDPro 的相对校正因子 (RF) 值分别为 2.20, 1.30, 0.87; 各药物的分子量分别为 341.4, 357.4, 297.5。

**Lid 及其活性代谢产物的测定** 取上述孵育结束的肝匀浆 Lid 测定管, 加入内标物扑米酮的甲醇溶液 ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 10  $\mu\text{l}$ , 用 10 ml 混合溶剂 (氯仿:正己烷:异丙醇 = 60:30:10), 分二次提取; 振荡,  $3000 \times g$  离心 20 min。合并有机层, 50 °C 水浴, 氮流下吹干, 残渣加 0.1 ml 甲醇溶解, 20  $\mu\text{l}$  HPLC 进样。色谱条件: 柱及填料同上, 检测波长为 229 nm, 灵敏度 0.01 AUFS, 流动相磷酸缓冲液  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 2.7); 甲醇 = 75:25, 流速  $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ; Lid, MDGX, DGX 及内标的保留时间分别为: 4.79, 6.09, 9.64, 14.82 min。Lid, MDGX, DGX 的相对校正因子分别为 3.51, 1.29, 1.50。各药物的分子量为 234.3, 205.1, 176.0。

## RESULTS

**肝匀浆上清液中蛋白含量与代谢率** 取 4 批大鼠的肝匀浆, 分别测定其蛋白含量。肝匀浆中蛋白含量与 Lid, Pro 的代谢成线性关

系(Fig 1).

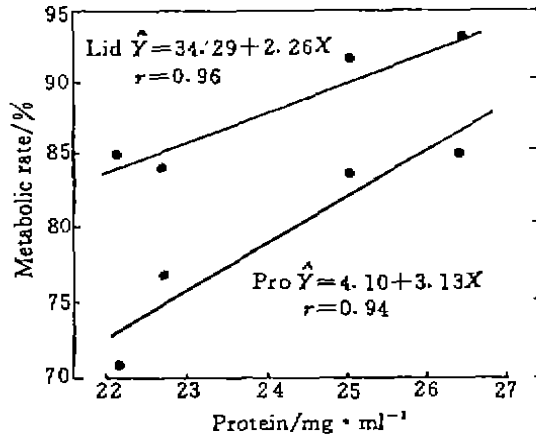


Fig 1. Protein contents in liver supernatant and drug metabolic rates.

**孵育时间的选择** 在上述药物代谢的反应体系中, 分别加入 Lid 和 Pro 各  $3 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . 在肝匀浆中,  $37^\circ\text{C}$  分别孵育 1, 2, 4 h. Lid 的浓度百分率分别为 65%, 36%, 33%; MDGX 为 35%, 53%, 9%; DGX 为 0%, 11%, 58%. 结果表明 4 h 孵育时间对 Lid 的代谢影响最为明显 (Fig 2). Pro 的浓度为 92%, 85%, 72%; 5-OHPro 为 8%, 14%, 26%; NDPro 为 0%, 1%, 2%.

**Lid 与 Pro 合用前后浓度的变化** 测算每管中各原形药物及其代谢产物的总摩尔浓度:

$$C_m = \frac{H_{\text{drug}} \times RF \times 1000}{H_{\text{in}} \times M_r}$$

$C_m$ : 药物浓度 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$H_{\text{drug}}$ : 药物的色谱峰高

$H_{\text{in}}$ : 内标物的色谱峰高

$RF$ : 该药物的相对校正因子

$M_r$ : 该药物的分子量

从 Tab 1 观察到两药合用后的原形药物及其代谢产物的变化: Pro 和 Lid 原形药物的浓度分别升高 0.7 和 0.5 倍, MDGX 增加 0.8 倍,

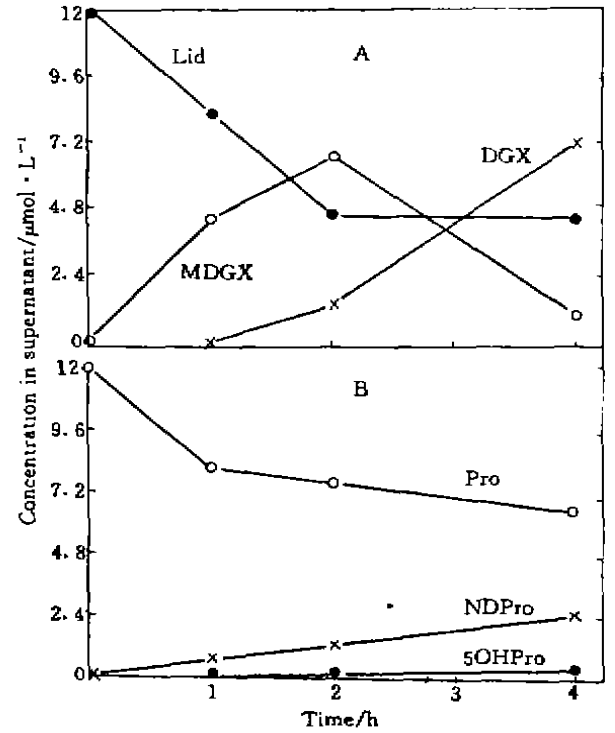


Fig 2. Lidocaine (A), propafenone (B) and their metabolites during incubation with rat liver supernatant.  $n=2$ .

DGX 减少 2/3. 另外, 对 Pro 和 Lid 在不同浓度下两药物相互作用与代谢的关系进行观察. Tab 2 的实验结果发现: 三个干扰浓度对 Pro 与 Lid 合用后的代谢无显著性差异.

Tab 1. Lidocaine, propafenone, and their metabolites in rat liver supernatant.  $n=5, \bar{x} \pm s, ^*P > 0.05, ^\circ P < 0.01$  vs alone.

	Concentration in supernatant/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
	Alone	Combination
Lid	$9.06 \pm 0.04$	$13.37 \pm 0.36^\circ$
MDGX	$2.62 \pm 0.16$	$4.61 \pm 0.31^\circ$
DGX	$21.31 \pm 0.83$	$7.09 \pm 0.37^\circ$
Pro	$6.63 \pm 0.09$	$11.13 \pm 1.08^\circ$
NDPro	$0.88 \pm 0.05$	$0.82 \pm 0.04^*$
5-OHPro	$0.71 \pm 0.26$	$0.92 \pm 0.17^*$

**Tab 2. Effects of interference on drug metabolism.**  
*n* = 3,  $\bar{x} \pm s$ . <sup>a</sup>*P* > 0.05, <sup>b</sup>*P* < 0.05, <sup>c</sup>*P* < 0.01 vs control.

Drug conc/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Lid	MDGX	DGX
Propafenone interference/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$			
Control	1.41 ± 0.03	3.76 ± 1.29	4.46 ± 0.31
0.5	2.74 ± 0.11 <sup>c</sup>	8.26 ± 0.84 <sup>c</sup>	3.55 ± 0.05 <sup>c</sup>
1.0	1.80 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.92 ± 1.72 <sup>b</sup>	3.01 ± 0.06 <sup>c</sup>
2.0	2.48 ± 0.12 <sup>c</sup>	8.91 ± 1.82 <sup>b</sup>	3.15 ± 0.08 <sup>c</sup>
Drug conc/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Pro	NDPro	5-OHPro
Lidocaine interference/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			
Control	0.70 ± 0.06	0.11 ± 0.01	1.63 ± 0.35
0.5	1.08 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.08 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.84 ± 0.45 <sup>a</sup>
1.0	0.87 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.10 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.46 <sup>a</sup>
2.0	1.80 ± 0.15 <sup>c</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.25 <sup>a</sup>

## DISCUSSION

本文采用大白鼠肝匀浆上清液孵育法, 取得了 Pro 和 Lid 合用时药动学试验的一系列数据, 从药酶学上验证了 Pro *N* 原子上的丙基氧化代谢是 Lid *N* 原子上二乙基氧化代谢相同的氧化酶, 即细胞色素 P<sub>450</sub> II A<sub>4</sub> 所催化。Pro 与 Lid 合用后两原形药物浓度均显著升高, 总代谢率明显下降。其中, Lid 的原形药物浓度提高 0.5 倍, DGX 的生成降低 2/3, 表明两者合用, Lid 的疗效提高, 毒性降低。同时实验也显示两药物在高浓度合用时, Pro *N*-去丙基代谢可被饱和, 说明细胞色素 P<sub>450</sub> II A<sub>4</sub> 酶具有饱和性。

由于抗心律失常药物对心脏都具有不同程度的抑制作用, 抗心律失常药物的临床联合使

用是十分谨慎的, 但近年的临床研究表明抗心律失常药物的联合应用可提高药物的疗效<sup>[5]</sup>, Feld 等人<sup>[6]</sup>报道了 Lid 和 Pro 合用时人体血流动力学与电生理变化, 认为此两药合用虽然能使负收缩效应轻度累加, 但可逆转 Pro 与 Lid 合用可适当减少两药物的剂量, 而且由于 DGX 的大大下降, 可减少 DGX 引起的神经毒性, 降低由此而引起的不良反应。最后应当指出, 由于动物与人体的肝脏药酶存在一定的差异性, 所以本实验的结论应进一步在人体的肝脏实验中加以证实后, 才能用于临床治疗。

## REFERENCES

- 1 Wang ZY, Liu L, Qian XR, Lu ZC. Observation on the comparative pharmacodynamics of lidocaine and propafenone in combination and alone for the isolated heart of guinea pig. Acta Acad Med Shanghai. In press.
- 2 Bargetzi MJ, Aoyama T, Gonzalez FJ, Meyer UA. Lidocaine metabolism in human liver microsome by cytochrome P<sub>450</sub> II A<sub>4</sub>. Clin Pharmacol Ther 1989; 46: 521-7.
- 3 Kroemer HK, Funck-Brentano C, Silberstein DJ, Wood AJ, Eichelbaum M, Woosley RL, et al. Stereoselective disposition and pharmacologic activity of propafenone enantiomers. Circulation 1989; 79: 1068-76.
- 4 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-75.
- 5 Curry SH, Whelpton R. Manual of laboratory pharmacokinetics. New York: Wiley, 1983.
- 6 Levy S. Combination therapy for cardiac arrhythmias. Am J Cardiol 1988; 61: 95A-101A.
- 7 Feld GK, Nademanee K, Singh BN, Kirsten E. Hemodynamic and electrophysiologic effects of combined infusion of lidocaine and propafenone in humans. J Clin Pharmacol 1987; 27: 52-9.