

苦碟子注射液对大鼠肝微粒体 CYP450 酶 5 个亚型的体外抑制作用

姚泓¹, 张秀平¹, 李玮婕¹, 王菲¹, 刘颖^{2*}, 卢建秋^{3*}

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102

2. 北京中医药大学 中医药研究院, 北京 100029

3. 北京中医药大学 图书馆, 北京 100029

摘要: 目的 研究苦碟子注射液对大鼠肝微粒体 CYP450 酶的体外抑制作用。方法 制备大鼠肝微粒体。将苦碟子注射液分别与混合探针药物非那西丁、甲苯磺丁脲、奥美拉唑、睾酮和氯唑沙宗共同孵育, UPLC-MS/MS 法检测各探针药物的代谢物。结果 在测定浓度范围内, 苦碟子注射液对 CYP2E1、CYP2C9 和 CYP2C19 的活性抑制率小于 50%; 对 CYP1A2、CYP3A4 的 IC₅₀ 值分别为 12.68%、8.11%, 远高于临床日用药浓度 0.20%~0.80%。结论 在正常剂量下, 苦碟子注射液对大鼠 CYP2E1、CYP2C9、CYP2C19 几乎不显示抑制作用, 对 CYP1A2、CYP3A4 几乎没有抑制作用。

关键词: 苦碟子注射液; 肝微粒体; CYP450 酶; 探针药物; UPLC-MS/MS

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2018)06-1312-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.06.005

Inhibitory effects of Kudiezi Injection on five isoforms of rat liver microsome CYP450 enzyme *in vitro*

YAO Hong¹, ZHANG Xiu-ping¹, LI Wei-jie¹, WANG Fei¹, LIU Ying², LU Jian-qiu³

1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. Library, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To study the inhibitory effect of Kudiezi Injection on rats liver microsomes CYP450 enzyme *in vitro*. **Methods** Rat liver microsomes were prepared. Kudiezi Injection was incubated with mixed probe substrates (phenacetin, tolbutamide, omeprazole, testosterone, and chlorzoxazone) in the liver microsome incubation system, respectively. The quantitation of metabolites of substrates were determined by UPLC-MS/MS method. **Results** In the range of measured concentrations, the activity inhibition rates of Kudiezi Injection on CYP2E1, CYP2C9, and CYP2C19 were less than 50%. The IC₅₀ values to CYP1A2 and CYP3A4 were 12.68%, 8.11%, which were exceeded the daily clinical dose concentrations of Kudiezi Injection from 0.20% to 0.80%. **Conclusion** At the normal doses, Kudiezi Injection has almost no inhibitory effect on CYP2E1, CYP2C9, and CYP2C19 in rats, and nearly no inhibitory effect on CYP1A2 and CYP3A4.

Key words: Kudiezi Injection; liver microsomes; CYP450; cocktail probe drug; UPLC-MS/MS

苦碟子注射液是以苦碟子为原料提取精制而成的静脉注射液, 具有活血清热、止痛化瘀等功效^[1-2]。统计分析显示, 苦碟子注射液临床需求巨大, 其中在活血化瘀类中药注射剂使用量中排名前 5 位^[3], 因而常出现联合用药情况^[4], 如与灯盏细辛注射液

等的联用^[5], 会导致药效降低、病情延误等后果^[6-7]。据文献报道, 东北、华北、长江中下游及珠江三角洲等地 1994—2015 年均超过百余例的苦碟子注射液临床不良反应, 时间跨度大, 地域涉及广, 轻则导致过敏性休克, 重者可致死^[8-9]。然而, 有关苦

收稿日期: 2018-02-01

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81503244); 北京中医药大学基本科研业务费资助项目 (2015-JYB-JSMS042)

作者简介: 姚泓 (1994—), 女, 辽宁人, 硕士生, 研究方向为药物分析。E-mail: jpyaohong@126.com

*通信作者 刘颖 (1979—), 女, 辽宁人, 副研究员, 博士, 从事药动学研究。Tel: (010)64287540 E-mail: liuyingtcn@gmail.com

卢建秋 (1964—), 男, 黑龙江人, 研究员, 博士, 从事中药质量控制研究。Tel: (010)64287502 Email: lujq@vip.sina.com

碟子注射液的过敏反应机制尚不明确, 现有的研究基础薄弱, 因此研究苦碟子注射液联合用药和安全性问题对指导其临床合理应用十分必要。细胞色素P450 (CYP450) 酶是一类参与代谢外源物和内源物最重要的酶系^[10-11], 当多种药物合用时药物间可发生相互作用, 主要通过诱导或抑制从而加速或减缓底物的代谢^[12]。本研究选择了大鼠肝脏中5种主要代谢酶, 采用Cocktail法通过相应探针药物与大鼠肝微粒体离体孵育实验评价苦碟子注射液对大鼠CYP450酶的抑制作用, 可以有效避免苦碟子注射液在临床上可能因药物相互作用而带来的不良反应, 为临床安全、有效、合理地联合用药提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

美国 Thermo Scientific 公司 Accela600 pump 高效液相色谱仪、LTQ-Orbitrap 质谱仪, 配有电喷雾离子源 (ESI)、Xcalibur2.1 工作站; R200D 型 1/10 万电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); TTM-1 型旋涡混合器 (日本 SIBATA 公司); DY89-1 型电动玻璃匀浆机 (宁波新芝电器研究所); FRESCO 21 微量离心机、-80 °C 超低温冷冻储藏箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Millipore Synergy UV 型超纯水机 (美国 Millipore 公司)。

1.2 药品和试剂

苦碟子注射液 (规格 10 mL, 吉林通化华夏药业有限责任公司, 批号 141209); 非那西丁 (质量分数 >98%, 阿拉丁试剂有限公司, 批号 1108926); 甲苯磺丁脲、睾酮, 质量分数均 >98%, 购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, 批号分别为 C17589900、C17322500; 6 β -羟基睾酮, 质量分数 >98%, 美国 Sigma 公司, 批号 H2898; 4-羟基甲苯磺丁脲, 质量分数 >98%, 美国 Cerilliant 公司, 批号 FN061311-01; 6-羟基氯唑沙宗、5-羟基奥美拉唑, 质量分数均 >98%, 购自加拿大 Toronto Research Chemicals 公司, 批号分别为 2-WHH-100-2、6-QFY-28-2; 对乙酰氨基酚、奥美拉唑、氯唑沙宗、多奈哌齐 (内标), 质量分数均 >98%, 购自中国食品药品检定研究院, 批号分别为 100218-201408、100367-201104、100364-201302、100560-201301; α -萘黄酮、噻氯匹定、磺胺苯吡唑、伊曲康唑均购自天津一方科技有限公司; 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾为 AR 级, 北京化学试剂公司。

1.3 动物

SD 大鼠, 雄性, SPF 级, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 6 只, 购自北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2015-0005, 饲养于屏障环境实验动物室, 温度为 (24 $\pm$ 2) °C, 湿度为 (70 $\pm$ 5) %。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 称取适量甲苯磺丁脲、非那西丁、睾酮、氯唑沙宗和奥美拉唑, 溶解于甲醇, 制备 2.500、25.000、1.250、5.000、12.500 mmol/L 的对照品储备溶液。

2.1.2 内标溶液的制备 精密称取内标多奈哌齐适量, 溶于甲醇, 配制成 1 g/L 的内标液。

2.1.3 磷酸盐缓冲液的制备 精密称取 KH₂PO₄ 13.6 g, 用超纯水溶解, 配制得 1 mol/L KH₂PO₄ 溶液; 称取 K₂HPO₄·3H₂O 22.8 g, 用超纯水溶解, 配制得 1 mol/L K₂HPO₄ 溶液; 精密移取 1 mol/L K₂HPO₄ 8.02 mL、1 mol/L KH₂PO₄ 1.98 mL, 用超纯水溶解, 配制得 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液。

2.1.4 NADPH 的制备 精密称取适量的 NADPH, 用磷酸盐缓冲液配制得浓度为 10 mmol/L 的溶液。

2.1.5 MgCl₂ 溶液的制备 精密称取 MgCl₂ 适量, 用磷酸盐缓冲液配制得浓度为 50 mmol/L 的溶液。

2.2 大鼠肝微粒体的制备^[13]

大鼠禁食不禁水 12 h 后, 股动脉放血处死, 迅速剪开腹腔, 经肝门静脉注入生理盐水溶液 (预冷 4 °C) 灌洗肝脏, 剪开心脏便于液体流出, 持续灌洗肝脏至土黄色, 取出肝脏。将新鲜肝脏用冰冷的生理盐水冲洗, 用滤纸擦干并称重、剪碎。按 1:4 加入 Tris-HCl 缓冲液, 在冰浴中制成肝匀浆。4 °C 下, 10 000 $\times$ g 离心 20 min, 取出上清液, 合并上清液; 转移至超速离心管中, 105 000 $\times$ g 离心 60 min, 弃上清液, 沉淀即为微粒体。微粒体重悬于 Tris-HCl 中, 均匀分散后分装于 EP 管中, 并在 -80 °C 下保存, 备用。

2.3 肝微粒体孵育体系

实验分为 9 组, 分别为空白组、实验组 (与总孵育体积比分别为 0.25%、1%、2%、4%、6%、8%、10%、15%)^[14]。总孵育模型体积为 1 000 μ L, 其中肝微粒体 (0.5 mg/mL)、磷酸缓冲液 (0.1 mol/L)、MgCl₂ 溶液 (50 mmol/L), 混合探针底物非那西丁 50 μ mol/L、甲苯磺丁脲 100 μ mol/L、奥美拉唑 100

$\mu\text{mol/L}$ 、睾酮 $50 \mu\text{mol/L}$ 和氯唑沙宗 $50 \mu\text{mol/L}$ ，室温下氮气吹干。将上述孵育模型低速混匀 1 min， 37°C 水浴下孵育 5 min，再加入 10 mmol/L NADPH 启动反应。30 min 后，吸取 $200 \mu\text{L}$ ，立即加入冰冷乙腈（含 0.01 ng/mL 多奈哌齐） $400 \mu\text{L}$ ，涡旋混匀 1 min 后， 4°C 、 $15\,000 \text{ r/min}$ 离心 20 min，上清液即是肝微粒体样品，取其 $5 \mu\text{L}$ 注入 UPLC-MS/MS 分析检测。

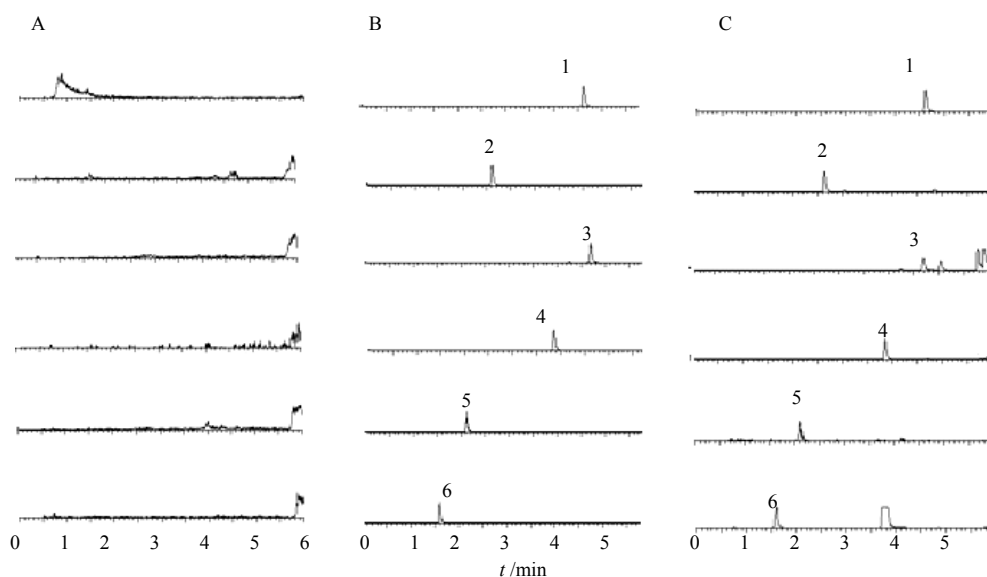
2.4 方法学试验

2.4.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱（ $50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$ ， $1.7 \mu\text{m}$ ）；流动相：0.1%甲酸水（A）- 乙腈（1:1）（B）；梯度洗脱：0~0.5 min（5% B），0.5~0.8 min（5%~28% B），0.8~3.0 min（28% B），3.0~3.5 min（28%~35% B），3.5~5.0 min（35% B），5.0~5.5 min（35%~80% B），5.5~6.0 min（80%~5% B）；进样体积 $5 \mu\text{L}$ ；体积流量 0.4 mL/min ；柱温： 40°C 。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子源（ESI），检测模式

为正离子；去溶剂气温度 400°C ；去溶剂气流量 800 L/h ；多反应离子监测模式（MRM）检测。各代谢产物、内标的裂解离子对、裂解电压、碰撞电压分别为：对乙酰氨基酚 m/z 151.97、110.14、12 V、16 eV；6 β -羟基睾酮 m/z 305.36、269.27、36 V、44 eV；4-羟基甲苯磺丁脲 m/z 287.19、89.10、10 V、36 eV；5-羟基奥美拉唑 m/z 362.21、214.15、46 V、12 eV；6-羟基氯唑沙宗 m/z 185.83、130.04、66 V、24 eV；多奈哌齐（内标） m/z 380.37、91.10、66 V、36 eV。

2.4.3 特异性试验 取适量煮沸失活后的肝微粒体与 MgCl_2 溶液、磷酸缓冲液混合，加乙腈使蛋白沉淀后取上清液，作为空白孵育样品。将空白孵育样品、5 种探针底物代谢产物的混合对照品加内标溶液与肝微粒体孵育样品的多反应离子检测图进行比较，见图 1。结果表明，肝微粒体孵育基质对探针底物代谢产物、内标的测定无干扰，且各待测组分具有较高特异性。各成分均仅在 6 min 内出峰，且峰形分离良好。



1-多奈哌齐（内标） 2-5-羟基奥美拉唑 3-6 β -羟基睾酮 4-4-羟基甲苯磺丁脲 5-6-羟基氯唑沙宗 6-对乙酰氨基酚
1- donepezil (internal standard) 2-5-hydroxy omeprazole 3- 6 β -hydroxy testosterone 4-4-hydroxy tolbutamide 5-6-hydroxy chlorzoxazone 6-acetaminophen

图1 空白孵育样品（A）、空白孵育样品+探针药+内标（B）、大鼠肝微粒体孵育样品+内标（C）的MRM色谱图
Fig. 1 MRM Chromatograms of blank samples of incubation (A), blank samples of incubation + probe drugs + internal standard (B), and samples of rat liver microsomal incubation + internal standard (C)

2.4.4 标准曲线的制备 按照分析条件对各代谢产物进行定量分析，以其质量浓度对响应值进行加权最小二乘法计算，进行线性回归分析，建立标准曲线方程，见表1。

2.4.5 精密度和准确度试验 将空白肝微粒体孵育体系分别制备成高、中、低、检测限（LOD）质量浓度的混合对照品溶液，每个质量浓度平行制备6份，考察日内、日间的精密度和准确度，见表2。

2.4.6 基质效应和回收率试验 将空白肝微粒体孵育体系分别制备成低、中、高3个不同质量浓度混合对照品溶液,每个质量浓度平行制备6份,计算出待测代谢产物的基质效应和提取回收率,见表3。可见基质效应、回收率在80%~119%,无明显

的基质效应。

2.4.7 稳定性试验 将空白肝微粒体孵育体系分别配制成低、中、高3个浓度的混合对照品溶液,每个浓度平行制备6份,考察10℃下放置12h和-20℃下放置9d后的稳定性。结果见表4。

表1 各代谢产物的标准曲线和线性范围
Table 1 Calibration curve and linear range for metabolites

探针药	曲线方程	<i>r</i>	线性范围/(pg·mL ⁻¹)
对乙酰氨基酚	$Y=0.11X+0.0047$	0.999	0.60~50.00
6-羟基氯唑沙宗	$Y=5.8\times 10^{-4}X+5.5\times 10^{-4}$	0.999	6.00~1000.00
5-羟基奥美拉唑	$Y=0.15X+0.0014$	0.999	0.60~50.00
4-羟基甲苯磺丁脲	$Y=0.15X+0.0026$	0.999	0.07~50.00
6β-羟基睾酮	$Y=0.014X+0.0044$	0.999	6.00~500.00

表2 各代谢产物精密度和准确度试验结果 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Results of precision and accuracy for metabolites ($\bar{x}\pm s$)

代谢产物	加入质量浓度/(pg·mL ⁻¹)	日内 (<i>n</i> = 6)			日间 (<i>n</i> = 18)		
		测得质量浓度/(pg·mL ⁻¹)	准确度 RE/%	精密度 RSD/%	测得质量浓度/(pg·mL ⁻¹)	准确度 RE/%	精密度 RSD/%
对乙酰氨基酚	0.20	0.18±0.02	-12.17	8.56	0.18±0.01	-8.03	5.91
	0.60	0.55±0.07	6.62	-6.58	0.56±0.05	-6.71	8.70
	3.13	2.99±0.12	3.53	13.54	3.23±0.23	3.50	7.05
	25.00	24.43±1.20	5.61	16.22	25.73±1.54	2.90	5.99
6-羟基氯唑沙宗	2.00	2.34±0.22	2.21	3.57	2.13±0.21	6.30	10.05
	6.00	6.77±0.35	6.25	4.80	6.61±0.25	10.11	3.82
	125.00	118.66±5.72	-5.07	5.12	123.41±3.90	-1.27	13.63
	1 000.00	1 034.15±3.80	3.41	10.43	1 007.0±7.88	0.71	12.03
5-羟基奥美拉唑	0.20	0.17±0.01	-14.17	4.21	0.17±0.01	-16.14	4.22
	0.60	0.60±0.01	-0.08	1.51	0.59±0.02	-1.14	3.18
	3.13	3.32±0.10	6.26	2.85	3.26±0.19	4.19	5.88
	25.00	25.88±1.66	3.50	6.42	25.75±1.87	3.00	7.25
4-羟基甲苯磺丁脲	0.02	0.03±0.00	3.13	6.90	0.03±0.00	6.55	11.14
	0.07	0.08±0.00	14.71	6.37	0.07±0.01	7.16	7.11
	3.13	3.27±0.06	4.53	1.72	3.17±0.36	1.46	11.50
	25.00	25.40±1.79	1.60	7.03	25.81±2.16	3.22	8.37
6β-羟基睾酮	2.00	1.95±0.11	-2.74	3.47	1.99±0.10	-0.51	4.87
	6.00	5.91±0.25	-1.55	3.79	5.90±0.17	-1.68	2.94
	31.25	30.63±0.32	-2.00	1.05	29.45±1.51	-5.75	5.12
	250.00	245.27±4.28	-1.89	7.92	250.1±5.14	0.05	14.92

表3 各代谢产物的基质效应和回收率试验结果 (n=6)

Table 3 Results of matrix effect and recovery test for metabolites (n=6)

化合物	质量浓度/(pg·mL ⁻¹)	回收率试验		基质效应	
		回收率/%	RSD/%	数值/%	RSD/%
对乙酰氨基酚	0.60	85.88±6.16	7.17	92.65±8.92	9.63
	3.13	84.94±4.58	5.39	82.47±4.86	5.90
	25.00	85.86±9.05	10.54	92.71±12.81	13.82
6-羟基氯唑沙宗	6.00	85.30±14.00	1.14	86.63±13.14	10.44
	125.00	86.70±10.40	12.00	96.62±7.19	7.44
	1 000.00	101.75±7.12	7.00	94.02±7.33	7.78
5-羟基奥美拉唑	0.60	84.96±6.53	7.69	108.53±9.48	8.73
	3.13	83.09±5.35	6.44	110.97±10.48	9.45
	25.00	83.30±10.33	12.40	118.81±12.38	10.42
4-羟基甲苯磺丁脲	0.07	88.02±9.61	10.92	105.61±10.24	9.69
	3.13	85.09±5.90	6.94	108.98±9.76	8.96
	25.00	86.40±10.90	12.61	112.52±11.66	10.37
6β-羟基睾酮	6.00	80.11±6.18	7.71	113.15±6.05	5.35
	31.25	84.66±6.19	7.31	111.07±12.83	11.55
	250.00	88.21±10.78	12.22	114.10±10.03	8.80

表4 各代谢产物的稳定性试验结果 (n=6)

Table 4 Results of stability test of metabolites (n=6)

代谢产物	质量浓度/ (pg·mL ⁻¹)	0 h		10 °C下 12 h		-20 °C下 9 d	
		测得质量浓度/ (pg·mL ⁻¹)	RSD/%	测得质量浓度/ (pg·mL ⁻¹)	RSD/%	测得质量浓度/ (pg·mL ⁻¹)	RSD/%
对乙酰氨基酚	0.60	0.410±0.003	5.3	0.560±0.120	8.7	0.410±0.002	3.4
	3.13	2.834±0.130	3.7	3.576±0.192	4.2	3.560±0.107	3.2
	25.00	23.140±1.611	4.2	26.250±0.843	3.1	28.049±1.885	5.6
6-羟基氯唑沙宗	6.00	4.823±0.171	4.5	4.703±0.203	8.4	4.694±0.309	10.7
	125.00	118.663±7.911	5.1	118.663±7.911	5.1	141.063±11.177	6.7
	1000.00	870.276±104.688	8.2	851.031±123.932	9.0	1 113.379±100.410	7.3
5-羟基奥美拉唑	0.60	0.420±0.003	4.6	0.590±0.020	3.2	0.430±0.001	2.3
	3.13	2.887±0.182	4.2	3.557±0.216	4.9	3.375±0.140	4.8
	25.00	22.659±2.274	5.5	28.361±4.283	9.6	27.283±1.904	6.0
4-羟基甲苯磺丁脲	0.068	0.042±0.002	2.6	0.073±0.008	7.1	0.041±0.004	9.4
	3.13	2.935±0.115	2.8	3.540±0.487	13.2	3.421±0.338	9.3
	25.00	24.051±1.994	6.0	27.502±4.920	13.9	27.267±3.322	10.0
6β-羟基睾酮	6.00	4.190±0.032	6.1	5.900±0.293	2.9	4.010±0.005	7.5
	31.25	30.579±0.278	1.1	27.771±1.785	4.1	33.550±3.144	8.7
	250.00	245.274±24.191	7.9	218.440±14.203	5.5	283.160±37.845	8.3

2.5 苦碟子注射液对大鼠肝微粒体 CYP450 酶的抑制作用

在评价某种药物对 CYP450 体外抑制程度时, IC_{50} 表示药物对酶在产生 50% 抑制作用时的药物浓度, 用各模型底物代谢物的生成速率反映微粒体孵育体系中各 CYP450 亚型酶的活性, 设不加苦碟子注射液的代谢底物的孵育体系中各酶活性为 100%。作为对照组, 样品组中代谢物的生成速率相对于对照组生成速率的比率作为各亚型酶的剩余活性。根据 GraphPad Prism 软件计算, 在测定浓度范围内, 苦碟子注射液对大鼠 CYP2E1、CYP2C9、CYP2C19 3 种肝微粒体的抑制率均小于 50%; 对 CYP1A2、CYP3A4 的 IC_{50} 值分别为 12.68%、8.11%。苦碟子注射液不同质量浓度对 CYP1A2、CYP3A4 活性的抑制作用见图 2。

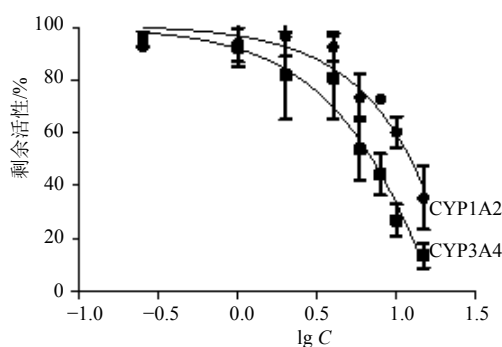


图 2 不同浓度苦碟子注射液对 CYP1A2 和 CYP3A4 活性的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effects of different concentrations of Kudiezi Injection on enzyme activities of CYP1A2 and CYP3A4 ($n=3$)

3 讨论

苦碟子注射液成分复杂且通过静脉注射给药, 与传统口服药相比更加迅速作用于各靶器官, 除具有发挥药效作用快速、显著以外, 缺少了经胃肠道消化系统代谢吸收, 增加了其原型成分本身的毒效不确定性以及与其他常用联合药物的不良反应, 对患者生命健康造成了极大威胁。如苦碟子注射液与灯盏细辛注射液均具有活血功效, 临床常联合用药, 但却造成许多不良反应。文献报道^[13], 灯盏细辛注射液具有明显抑制大鼠 CYP3A 酶的活性, IC_{50} 值仅为 0.40%, 这使得当苦碟子注射液与其联合用药时, 肝微粒体酶对药物代谢的能力被抑制, 加大两者药物在体内的存留和相互作用的时间。两者虽然功效一致, 但药性却相反, 苦碟子注射液性微寒,

灯盏细辛注射液性温, 适用于不同证候的心血管疾病患者 (热者寒之, 寒者热之), 因此不宜联用, 医生应在中医辩证的指导下合理用药, 以免相互影响, 降低药效, 延误病情。

苦碟子注射液说明书中规定的临床每日用药剂量为 10~40 mL, 将其与人体中血液 5 L 计算比值, 得到临床日用药浓度 0.20%~0.80%^[15]。CYP1A2、CYP3A4 的 IC_{50} 值在 8.11%~12.68%, 远高于临床日用药浓度 0.20%~0.80%; CYP2E1、CYP2C9、CYP2C19 的活性抑制率小于 50%。结果显示, 苦碟子注射液对大鼠 CYP2E1、CYP2C9、CYP2C19 几乎不显示抑制作用; 在正常剂量下, 对 CYP1A2、CYP3A4 几乎没有抑制作用。

本研究依据 FDA 的指导原则^[16], 结合探针药物法, 建立了快速灵敏的 UPLC-MS/MS 分析方法, 利用各探针底物的裂解碎片信息, 同时对其进行高效、准确、快速的测定, 用以评价多个 CYP450 酶亚型活性。经方法学验证表明, 该分析方法灵敏度较高、稳定性良好, 满足生物样品分析方法指导原则。本研究采用探针药物法探究了苦碟子注射液对大鼠肝脏 5 种代谢酶的抑制作用, 并且说明其对大鼠肝微粒体酶没有明显抑制作用, 安全用药剂量范围内不会对机体肝微粒体酶产生抑制作用, 当存在联合用药情况时, 尚不会因影响其他药物的代谢而造成药物在机体内的滞留而导致其相互作用, 产生潜在的毒副作用。但苦碟子注射液临床用药过程中, 尤其是急症应用中, 尚存在超剂量用药现象, 这造成了苦碟子注射液对肝微粒体酶的作用的不确定性, 也对苦碟子注射液的安全性、可靠性造成了极大的不稳定性。

本研究为中药注射液临床使用过程中产生毒副作用的内在机制提供了参考依据, 为提高苦碟子注射液的有效性、安全性提供了实验数据支持, 促进了中药安全性评价体系的完善与发展。

参考文献

- [1] 陈春光, 贾洪丽, 吕首旭, 等. 苦碟子注射液对大鼠急性脑缺血-再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(3): 196-199.
- [2] 廖星, 曾宪斌, 谢雁鸣, 等. 基于苦碟子注射液 HIS 数据临床实效研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(17): 2723-2726.
- [3] 刘辽, 周渝敏, 程玲, 等. 苦碟子注射液的临床应用分析 [J]. 海峡药学, 2017, 29(2): 237-239.

- [4] 廖 星, 曾宪斌, 谢雁鸣, 等. 回顾分析真实世界中苦碟子注射液治疗冠心病和脑梗死的联合用药 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(18): 3110-3115.
- [5] 陈 涛, 陈 杰. 50 例苦碟子注射液不良反应文献的回顾分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(1): 81-82.
- [6] 孙博喻, 曹建华, 李光辉, 等. 我院活血化淤类中药注射剂临床用药分析 [J]. 现代中药研究与实践, 2016(5): 72-74.
- [7] 严寓均, 董乃清, 刘秀坤. 苦碟子注射液不良反应 1 例 [J]. 临床合理用药, 2012, 5(12B): 95-96.
- [8] 于 倩, 赵阿娜, 付秀娟. 多中心非干预前瞻性开放的 3000 例苦碟子注射液应用情况及不良反应集中监测 [J]. 中国药物应用与监测, 2015(3): 167-170.
- [9] 刘一奇. 苦碟子注射液临床应用及不良反应调查分析 [D]. 吉林大学, 2015.
- [10] Zhou S, Gao Y, Jiang W, *et al.* Interactions of herbs with cytochrome P450 [J]. *Drug Metab Rev*, 2003, 35(1): 35-98.
- [11] Wang Y, Wu S, Chen Z, *et al.* Inhibitory effects of cytochrome P450 enzymes CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1 and CYP3A4 by extracts and alkaloids of *Gelsemium elegans* roots [J]. *J Ethnopharmacology*, 2015, 166:66-73.
- [12] 谢敏珠, 林 娇, 宋丹军, 等. 天然药物诱导和抑制细胞色素 P450 酶的研究进展 [J]. 中成药, 2017, 39(1): 147-151.
- [13] 韩永龙, 余 奇, 孟祥乐, 等. 灯盏细辛注射液对大鼠肝微粒体 CYP3A 的抑制作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(8): 891-895.
- [14] 于伟凡. 双黄连注射液对大鼠 CYP 的影响 [D]. 郑州: 郑州大学, 2009.
- [15] 刘丽雅, 韩永龙, 余 奇, 等. 消癌平注射液等 4 种抗肿瘤中药注射剂对人肝微粒体中 CYP450 酶种亚型的体外抑制作用研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(5): 522-527.
- [16] U. S. FDA. *Guidance for Industry-Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labelling* [S]. 2006.