

REFERENCES

- [1] ERCAN D, ZEJNULLAHU K, YONESAKA K, et al. Amplification of EGFR T790M causes resistance to an irreversible EGFR inhibitor [J]. *Oncogene*, 2010, 29(16): 2346-2356.
- [2] JAIN A, TINDELL C A, LAUX I, et al. Epithelial membrane protein-1 is a biomarker of gefitinib resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(33): 11858-11863.
- [3] CHEN L, LV P, PAN J C, et al. Effects of curcumin on adrenal gland, ACTH in serum and immune function in chronically stressed rats [J]. *J Wenzhou Med Coll*(温州医学院学报), 2008, 38(1): 22-24.
- [4] SU B, SU C X, ZHANG H P, et al. Selection and establishment of gefitinib-resistant PC9 cell line and its gene expression profile [J]. *Tumor(肿瘤)*, 2008, 28(7): 552-557.
- [5] SUTANI A, NAGAI Y, UDAGAWA K, et al. Gefitinib for non-small-cell lung cancer patients with epidermal growth factor receptor gene mutations screened by peptide nucleic acid-locked nucleic acid PCR clamp [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95(11): 1483-1489.
- [6] FELIP E, CEDRES S, PERALTA S, et al. Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(suppl 9): ix 143-146.
- [7] PATEL B B, GUPTA D, ELLIOTT A A, et al. Curcumin targets FOLFOX-surviving colon cancer cells via inhibition of EGFRs and IGF-IR [J]. *Antivan Res*, 2010, 30(2): 319-326.
- [8] DOROTHY W, MYSORE S V, KERRY S, et al. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma in vitro and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kB by an AKT-independent pathway [J]. *Clin Can Res*, 2008, 14(19): 6228-6236.
- [9] KIM J H, XU C J, KEUM Y S, et al. Inhibition of EGFR signaling in human prostate cancer PC-3 cells by combination treatment with β -phenylethyl isothiocyanate and curcumin [J]. *Carcin*, 2006, 27(3): 475-482.
- [10] XUE L, BAI Y J. Progress of EGFR mutation and EGFR-targeted therapy [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(4): 311-314.
- [11] JONES H E, GODDARD L, GEE J M, et al. Insulin-like growth factor-1 receptor signaling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839, Iressa) in human breast and prostate cancer cells [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2004, 11(4): 793-814.
- [12] KOKUBO Y, GEMMA A, NORO R, et al. Reduction of PTEN protein and loss of epidermal growth factor receptor gene mutation in lung cancer with natural resistance to gefitinib (Iressa) [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(9): 1711-1719.

收稿日期: 2012-08-05

雷贝拉唑对氯吡格雷在大鼠体内药动学的影响

王军¹, 付翠香¹, 吴伟明¹, 王增寿¹, 胡国新^{2*} (1.温州医学院附属第二医院药学部, 浙江 温州 325027; 2.温州医学院药学院药理学教研室, 浙江 温州 325027)

摘要: 目的 研究雷贝拉唑对氯吡格雷在大鼠体内的药动学的影响。方法 将 16 只大鼠随机分成 2 组, 单独给予氯吡格雷(I 组)和联用雷贝拉唑(II 组), 于给药后不同时间点采集血样, HPLC-DAD 法测定血浆中氯吡格雷代谢产物 SR26334 的浓度, 用 DAS 药动学软件对 SR26334 血药浓度-时间数据采用非房室模型分析, 求得氯吡格雷在大鼠体内主要的药动学参数, 并对其进行分析。结果 与单用组比较, 联用雷贝拉唑组的主要药动学参数($AUC_{(0-48)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $MRT_{(0-48)}$, $t_{1/2}$, CL/F , C_{max}) 差异均无统计学意义($P>0.05$), t_{max} 由 $(1.17 \pm 0.41)h$ 减少为 $(0.58 \pm 0.20)h$ ($P<0.01$)。结论 雷贝拉唑加快氯吡格雷在体内代谢为 SR26334 的速度, 但对于其代谢程度没有显著性影响。

关键词: 氯吡格雷; 雷贝拉唑; SR26334; 药动学

中图分类号: R945.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0364-05

Effects of Rabeprazole on Pharmacokinetics of Clopidogrel in Rats

WANG Jun¹, FU Cuixiang¹, WU Weiming¹, WANG Zengshou¹, HU Guoxin^{2*} (1.Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 2.Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of rabeprazole on pharmacokinetics of clopidogrel in rats. **METHODS** A total of 16 rats were divided into two groups: one was administrated with clopidogrel, and another with the combination of rabeprazole. Concentrations of clopidogrel's metabolite SR26334 in plasma were determined by HPLC-DAD. The plasma

基金项目: 温州市科技计划项目(Y20100262)

作者简介: 王军, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0577)88002652

E-mail: feyzjs@126.com

*通信作者: 胡国新, 男, 教授, 硕士

Tel:

(0577)86689986 E-mail: wzhghx@yahoo.com.cn

concentration-time data of SR26334 were analyzed by DAS program according to non-compartment model. The main pharmacokinetic parameters of SR26334 were obtained and compared with SPSS software between two groups. **RESULTS** There was no significant difference between the single-drug group and the combined rabeprazole group in the main pharmacokinetics parameters of SR26334, such as $AUC_{(0-48)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $MRT_{(0-48)}$, $t_{1/2}$, CL/F , C_{max} ($P>0.05$). Compared with single-drug group, the t_{max} in combined rabeprazole group significantly decreased from $(1.17\pm0.41)h$ to $(0.58\pm0.20)h$ ($P<0.01$). **CONCLUSION** There is no effect of rabeprazole on pharmacokinetics of clopidogrel in rats. But rabeprazole can accelerate clopidogrel metabolism for SR26334 *in vivo*. But it has not significant influence to the degree of metabolism.

KEY WORDS: clopidogrel; rabeprazole; SR26334; pharmacokinetics

氯吡格雷(clopidogrel, CPG)是一种新型噻吩吡啶类衍生物,是目前应用最为广泛的口服抗血小板药物之一,临床应用时常引起胃灼热等消化系统不适症状或增加消化系统出血风险,加用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)已成为临床常规^[1]。但两者合用时可能会竞争 CYP450 同工酶,从而改变 CPG 的药动学,可能导致不利心脏事件增加。CPG 在体内代谢迅速,母体化合物的血浆浓度很低,一般 2 h 后就低于定量限($0.25\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[2-3],一般检测方法难以对其进行准确的定量分析。其在血浆中的主要代谢产物为 SR26334 (约 85%),在体内浓度高,半衰期长,常用于 CPG 药动学的研究。雷贝拉唑为常用的 PPIs 制剂,两药合用,其药动学参数是否受影响尚未见文献报道。本研究主要探讨雷贝拉唑对 CPG 在大鼠体内药动学参数的影响,为两药联合应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 Agilent1100 系列 HPLC 仪,包括 G1322A 在线脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 温控箱, G1315B 二极管阵列检测器(DAD)和 Agilent 化学工作站(Rev B.08.04.[1757])。AB204-A 电子分析天平(梅特勒-托利多上海仪器公司,灵敏度 $0.1\ \text{mg}$); XK96-B 涡旋混合器(姜堰市新康医疗器械有限公司); D10 型氮吹仪(杭州蓝焰科技有限公司)。

1.1.2 药品与试剂 CPG 原料药(浙江车头制药有限公司,批号: 116T63003,纯度: 99.0%); 雷贝拉唑钠肠溶片(四川迪康科技药业股份有限公司,批号: 111002,规格: 20 mg); SR26334 盐酸盐对照品(深圳信立泰制药有限公司提供,批号: 0907003,纯度: 99.2%); 非那西丁对照品(Sigma,批号: 048k1586,纯度: 99.5%)。甲醇和乙腈为一级色谱纯,三氟乙酸(TFA, Sigma,批号: 064K3647),乙酸乙酯、正己烷、盐酸均为分析纯;实验用水为娃哈哈纯净水。

1.2 动物

健康 SD 大鼠 16 只,♂, 体质量 $180\sim230\ \text{g}$,由温州医学院实验动物中心提供,实验动物许可证号: SCXK(浙)2005-0019。试验前动物禁食 12 h,自由饮水。

1.3 实验方案

16 只 SD 大鼠随机分为 2 组,每组 8 只,单用组予 $30\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的 CPG 溶液,联用雷贝拉唑组予 $30\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的 CPG 溶液和 $8\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的雷贝拉唑溶液。2 组均为每天早上 1 次灌胃给药,连续 7 d。实验前大鼠禁食 12 h 但不禁水,给药 2 h 后禁食不禁水,4 h 后统一进食。CPG 用超纯水溶解,雷贝拉唑用 0.5% CMC 溶液配制。在给药后第 5, 6, 7 天早上给药前尾静脉采血 $0.5\ \text{mL}$ 用于测定谷浓度,并于最后一次给药后 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 h 采血 $0.5\ \text{mL}$ 于肝素化 EP 管中。所采集的血样于 $13\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后分离血浆, $-20\ ^\circ\text{C}$ 保存待检。

1.4 样品测定及方法学考察

1.4.1 标准溶液配制 精密称取 SR26334 盐酸盐对照品适量,用甲醇溶解后定容成 $1.0\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SR26334 盐酸盐标准液,于 $4\ ^\circ\text{C}$ 冰箱保存,用时稀释。精密称取非那西丁对照品适量,用甲醇溶解后定容成 $160\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,用时稀释成 $80\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液作为内标溶液。

1.4.2 色谱条件 色谱柱: Zorbax SB-C₁₈($4.6\ \text{mm}\times150\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$); 保护柱: SB-C₁₈ 保护柱($4.6\ \text{mm}\times12.5\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$); 流动相: 水-乙腈-0.1%TFA (56: 24: 20); 流速: $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 230 nm; 进样量: $10\ \mu\text{L}$; 柱温: $40\ ^\circ\text{C}$ 。

1.4.3 血样处理 精密吸取血浆样品 $200\ \mu\text{L}$ 于 $2\ \text{mL}$ EP 管中,先加入 $80\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 非那西丁内标液 $20\ \mu\text{L}$,再加入 $2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸 $20\ \mu\text{L}$,涡旋混匀后加入萃取液乙酸乙酯-正己烷(4: 1) $1\ \text{mL}$,涡旋 2 min,静置 5 min,取上清液氮吹仪吹干,用流

动相 100 μL 复溶, 加到一次性内插管中, 设定 10 μL 进样检测。

1.4.4 专属性考察 取大鼠空白血浆 200 μL , 除不加内标外, 按“1.4.3”项下操作, 得色谱图 1A; 将一定浓度的 SR26334 标准溶液和内标溶液加入

空白血浆中, 同法操作, 得色谱图 1B。取受试大鼠用药后 1 h 的血浆样品, 同法操作, 得色谱图 1C。结果表明, SR26334 的保留时间为 3.865 min, 内标的保留时间为 7.402 min, 空白血浆中内源性物质、合并用药均对测定无干扰。

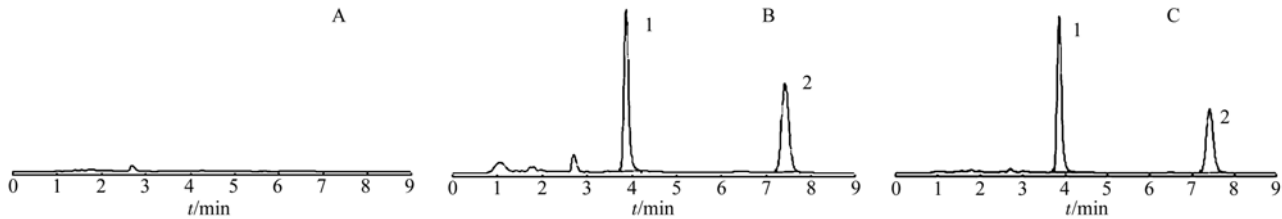


图 1 SR26334 的高效液相色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆加 SR26334(50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)及内标(80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); C-大鼠血浆样品(口服 1 h 后); 1-SR26334; 2-非那西丁

Fig.1 HPLC chromatograms of SR26334

A-blank plasma; B-plasma spiked with SR26334 (50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and internal standard(80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); C-rat plasma sample; 1-SR26334; 2-phenacetin

1.4.5 标准曲线及定量下限 取 2 mL EP 管, 各加空白血浆 200 μL , 定量加入内标溶液 20 μL , 定量加入 SR26334 标准溶液, 分别配成浓度为 0.5, 2.5, 10, 25, 50, 75, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SR26334 血浆标准溶液系列, 再按“1.4.3”项处理后检测, 测定 SR26334 峰面积 A_s 、内标峰面积 A_i , 以 A_s/A_i 为纵坐标, 以所对应各点浓度($C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线。得 SR26334 的标准曲线方程为 $A_s/A_i = 0.0243C - 0.0167$ ($r^2 = 0.9996$)。定量下限为 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($n=6$, $S/N=10$, $\text{RSD}=10.8\%$)。

1.4.6 精密度试验 配制低、中、高 3 种浓度(0.5, 25, 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 SR26334 血浆标准品溶液, 每一个浓度 6 份样品, 按“1.4.3”项下方法处理后, 分别在同一天内连续测定和连续测定 5 d, 每天一次, 计算日内与日间精密度, 结果见表 1。

1.4.7 回收率试验 方法回收率试验: 配制低、中、高 3 种浓度(0.5, 25, 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 SR26334 血浆标准品溶液, 每一个浓度 6 份样品, 再按“1.4.3”项下方法处理后测定, 依据标准曲线计算检测浓度。以检测浓度与加入浓度的比值计算方法回收率, 结果见表 1。

提取回收率试验: 配制低、中、高 3 种浓度(0.5, 25, 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 SR26334 血浆标准品溶液, 每一个浓度 6 份样品; 同时另取空白血浆 200 μL , 除不加 SR26334 标准品溶液和内标溶液外, 其他按“1.4.3”项下操作, 向获得的上清液中加入相应浓度的 SR26334 标准品溶液 20 μL 和内标溶液 20 μL , 涡旋混匀, 氮吹仪吹干, 用流动相溶解后进样分析, 获得相应峰面积。以每一浓度 2 种处理

方法的峰面积比值计算绝对回收率, 结果见表 1。

表 1 血浆中 SR26334 的回收率及精密度($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Recoveries and precisions of SR26334 in rats plasma($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

加入量 ($C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	方法 回收率/%	提取 回收率/%	精密度 RSD/%	
			日内	日间
0.5	102.22 $\pm$ 5.69	70.98 $\pm$ 4.09	5.65	7.76
25	100.92 $\pm$ 4.18	79.20 $\pm$ 6.35	3.95	5.65
75	94.88 $\pm$ 0.76	75.55 $\pm$ 2.50	4.61	5.57

1.4.8 血浆样品稳定性 配制低、中、高 3 种不同浓度(0.5, 25, 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 SR26334 血浆标准品溶液各 9 份, 3 份室温放置, 3 份按“1.4.3”项处理后室温放置, 另 3 份在 $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冰冻保存。其中室温放置和处理后室温放置样品, 每隔 8 h 进样检测 1 次, 每个浓度各 3 份, 结果表明, 血浆样品室温放置和经处理后室温放置 24 h 均稳定性良好, 适合自动化进样检测。冰冻保存血浆样品, 在冰冻第 1, 14, 28 天解冻后, 取低、中、高 3 个浓度各 200 μL , 每个浓度各 3 份, 进样分析, 结果表明, 血浆样品稳定性良好, 在 $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 28 d 基本稳定, 结果见表 2。

表 2 血浆中 SR26334 的稳定性试验结果($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Stability results of SR26334 in plasma under various storage conditions($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

加入量 $C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	未经处理常温		处理后常温		处理后 $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰冻	
	$C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD	$C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD	$C/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD
0.5	0.51 $\pm$ 0.02	4.27	0.51 $\pm$ 0.98	5.53	0.48 $\pm$ 0.03	6.42
25.0	25.39 $\pm$ 0.84	3.31	25.12 $\pm$ 0.98	3.89	23.97 $\pm$ 1.18	4.92
75.0	74.26 $\pm$ 3.25	4.37	74.40 $\pm$ 3.05	4.10	71.94 $\pm$ 3.50	4.87

1.4.9 冻融实验 配制低、中、高 3 种不同浓度(0.5, 25, 75 mg·L⁻¹)的 SR26334 血浆标准品溶液, 每个浓度 2 mL; 放置-65 °C 冰箱 24 h, 取出解冻后再次放入-65 °C 冰箱中, 24 h 取出解冻后再次放入-65 °C 冰箱中。经历 3 次冰冻-解冻循环后, 各取 0.5 mL 检测。RSD 分别为 3.86%, 2.75%, 1.12%。结果显示冻融条件对血浆样品的检测结果没有明显影响。

1.4.10 干扰试验 取空白血浆 200 μL, 共 2 份, 加入 SR26334 标准液 50 mg·L⁻¹, 分别加入 CPG 原药和在临床可能合用的阿司匹林, 按“1.4.3”项下方法操作, CPG 原药、阿司匹林对 SR26334 测定无干扰。

1.5 数据处理

用 DAS 3.0(drug and statistics, version 3.0)药动学软件对血药浓度-时间数据采用非房室模型分析(统计矩法), 求得主要药动学参数, 并对其进行统计检验。

2 结果

2.1 血浆药物浓度-时间曲线

16 只大鼠合并给药与单独给药后, 不同时间的 SR26334 平均血浆浓度-时间曲线见图 2。

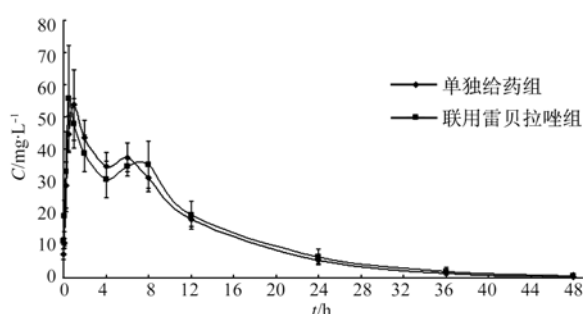


图 2 单独给药组和联用雷贝拉唑组 SR26334 平均血药浓度-时间曲线

Fig 2 Mean blood concentration-time curve of SR26334 for single-drug group and combined rabeprazole group

2.2 药动学参数

单独用药组及联合用药组中, SR26334 药时数据按非房室模型处理, 求得主要动力学参数如表 3。 t_{max} 采用非参数秩和检验, 其余参数采用两组样本独立 t 检验, 采用 SPSS 17.0 统计软件分析。结果表明 2 组 SR26334 动学参数 $t_{1/2}$ 、 $AUC_{(0-48)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、 $MRT_{(0-48)}$ 、 CL/F 、 C_{max} 差异均无统计学意义($P>0.05$), 达峰时间 t_{max} 有统计学意义($P<0.01$)。

表 3 大鼠 SR26334 的主要药动学参数及方差分析结果($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Main pharmacokinetic parameters and variance analysis of SR26334 in rats($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

参 数	单独给药组	联用雷贝拉唑组
$AUC_{(0-48)}/mg \cdot h \cdot L^{-1}$	595.51 $\pm$ 45.89	620.11 $\pm$ 97.68
$AUC_{(0-\infty)}/mg \cdot h \cdot L^{-1}$	598.75 $\pm$ 46.28	625.71 $\pm$ 99.81
$MRT_{(0-48)}/h$	9.50 $\pm$ 0.56	10.16 $\pm$ 1.64
$t_{1/2}/h$	6.18 $\pm$ 0.80	6.39 $\pm$ 1.20
Vz/F	0.45 $\pm$ 0.065	0.45 $\pm$ 0.082
t_{max}/h	1.17 $\pm$ 0.41	0.58 $\pm$ 0.20 ¹⁾
$CL/F/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.051 $\pm$ 0.004	0.049 $\pm$ 0.009
$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	54.28 $\pm$ 10.39	58.16 $\pm$ 13.21

注: 与单独给药相比, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with single-drug group, ¹⁾ $P<0.01$

3 讨论

目前关于血浆 SR26334 的测定方法有 GC-MS^[4]、LC-MS^[5]和 HPLC-UV^[6]方法。本研究采用测定 SR26334 浓度, 间接推断其活性硫酸代谢物的代谢率变化。考虑到血浆样品中 SR26334 的浓度较高, 笔者采用了较为简便、灵敏度高的 HPLC-DAD 法, 在血浆样品提取中比较了采用 75%高氯酸沉淀和有机溶剂萃取法, 发现采用高氯酸沉淀法提取的血样容易污染色谱柱, 多次进样后色谱峰拖尾明显, 于是改用有机溶剂提取法, 提取之前酸化血浆可提高提取回收率。

实验结果表明, 联用雷贝拉唑组 SR26334 主要药动学参数除 t_{max} 外, 两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。 t_{max} 由(1.17 $\pm$ 0.41) h 减少为(0.58 $\pm$ 0.20)h ($P<0.01$), 说明雷贝拉唑加快了 CPG 在体内代谢为 SR26334 的速度, 但对于其代谢程度没有显著性影响。虽然 CPG 和雷贝拉唑代谢均经肝微粒体内进行代谢, 但是二者代谢的酶系可能不同, 相互影响小, 导致合用雷贝拉唑对 CPG 药动学参数无明显影响。本试验已经尽可能做到 2 组动物一致并随机分配, 但由于动物实验的个体差异比较大, 仍不能排除样本含量偏低, 检验效能(power=1- β)偏低, 导致总体中本来存在的差异未能检验出来, 出现了非真实的阴性结果。另外, 人与大鼠在代谢方面的种属差异, 对于人体内两药联用时雷贝拉唑对 CPG 代谢的影响尚需进一步研究。

REFERENCES

- [1] BHATT D L, SCHEIMAN J, ABRAHAM N S, et al. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and

- NSAID use [R]. American Documents Circulation, 2008, 118(18): 1894-1909.
- [2] FAN H W, ZOU J J, LIN S, et al. Simultaneous determination of clopidogrel and its carboxylic acid metabolite in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2008, 27(11): 811-815.
- [3] SINGH S S, SHARMA K, BAROT D, et al. Estimation of carboxylic acid metabolite of clopidogrel in Wistar rat plasma by HPLC and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 821(2): 173-180.
- [4] LAGORCE P, PEREZ P, ORTIZ J, et al. Assay method for the carboxylic acid metabolite of clopidogrel in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 720(1/2):107-117.
- [5] JI H, ZHOU X H, DU S H. Determination of clopidogrel concentration in human plasma by LC-MS/MS and study on its pharmacokinetics [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2009, 29(9): 731-734.
- [6] SINGH S S, SHARMA K, BAROT D, et al. Estimation of carboxylic acid metabolite of clopidogrel in Wistar rat plasma by HPLC and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 821(2): 173-180.

收稿日期: 2012-08-13

黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞毒性研究

陈莹蓉¹, 王翔¹, 闵丽珊¹, 戴利成¹, 杨水新^{2*} (1.湖州市中心医院中心实验室, 湖州市分子医学重点实验室, 浙江 湖州 313000; 2.湖州市中心医院临床药理科, 浙江 湖州 313000)

摘要: 目的 研究黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞的毒性。方法 75%乙醇回流提取得黄药子提取物, 高、中、低剂量作用于 Caco-2 细胞, 以黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用于 HL-7702 和 HepG2 细胞, 进行细胞活性实验, 测定生化指标 ALT、AST、GSH-PX 和 MDA 值。结果 与对照组比, 高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用后, HL-7702 和 HepG2 细胞的存活率显著降低($P<0.01$); 高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 72 h 后, HL-7702 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高($P<0.01$); 高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 和 72 h 后, HepG2 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高($P<0.01$)。高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 和 72 h 后, HL-7702 和 HepG2 细胞上清液中 MDA 显著升高, GSH-PX 显著降低($P<0.01$)。结论 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞有毒性。

关键词: 黄药子; Caco-2 细胞; 肝细胞; 毒性

中图分类号: R991

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0368-05

Toxicity Study of the Uptaking Compositions of *Dioscorea Bulbifera* L Alcohol Extract on HL-7702 and HepG2 Cell

CHEN Yingrong¹, WANG Xiang¹, MIN Lishan¹, DAI Licheng¹, YANG Shuixin^{2*} (1.Laboratory, Huzhou Central Hospital, Huzhou Key Laboratory of Molecular Medicine, Huzhou 313000, China; 2.Department of Clinical Pharmacology, Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the toxicity of the uptaking compositions of *Dioscorea bulbifera* L alcohol extract on HL-7702 and HepG2 cell. **METHODS** After reflux extraction with 75% alcohol, the alcohol extracts of *Dioscorea bulbifera* L at high, middle and low doses were added to Caco-2 cell model. Then the uptaking compositions were added to HL-7702 and HepG2 cell for the determination of the cytoactive and the biochemical indicator of ALT, AST, GSH-PX and MDA. **RESULTS** Compared with the control group, the high and middle dose groups decreased the survival rate of HL-7702 and HepG2 cell ($P<0.01$). The high dose group increased ALT and AST of HL-7702 cell supernatant after 72 h ($P<0.01$). The high dose group increased ALT and AST of HepG2 cell supernatant after 48 h and 72 h ($P<0.01$). MDA were significant increased and GSH-PX were significant decreased in the supernatant of HL-7702 and HepG2 cell at high and middle doses after 48 h and 72 h ($P<0.01$). **CONCLUSION** The result showed that the uptaking compositions of *Dioscorea bulbifera* L alcohol extract had toxic effect in HL-7702 and HepG2 cell.

基金项目: 2011 年湖州市科技局一般科研计划项目(2011YS02)

作者简介: 陈莹蓉, 女, 硕士, 研究实习生 Tel: (0572)2023301-3146 E-mail: chenyingrong2006@163.com *通信作者: 杨水新, 男, 主任药师 Tel: (0572)2023301 E-mail: hz_adr@126.com