

沃诺拉赞在急性肝损伤模型大鼠与正常大鼠体内 药代动力学比较研究

谷世寅, 仲云熙, 彭 英, 金孝亮, 常青青, 王广基*, 孙建国*

(中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 肝脏疾病目前已成为我国高发性疾病之一, 胃肠道出血是肝脏疾病常见的并发症之一, 现临床常用质子泵抑制剂类药物进行治疗。沃诺拉赞作为一种新型的质子泵抑制剂, 可能可以替代目前常用的兰索拉唑作为临床有效抑制胃酸的药物。本实验主要探索并研究了沃诺拉赞在四氯化碳诱导的急性肝损伤大鼠血浆中的经时过程及其主要代谢物的生成情况。结果表明, 在急性肝损伤大鼠体内, 沃诺拉赞暴露量显著高于正常大鼠, 代谢物生成速率降低, 这可能是由于肝损伤影响了酶活性及转运体活性导致的。本研究为今后临床对肝脏疾病患者的用药调整提供了一定的理论依据。

关键词: 急性肝损伤; 沃诺拉赞; 四氯化碳; 药代动力学

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 08-1276-06

Comparative pharmacokinetic study of vonoprazan in acute hepatic injury rats and normal rats

GU Shi-yin, ZHONG Yun-xi, PENG Ying, JIN Xiao-liang, CHANG Qing-qing,
WANG Guang-ji*, SUN Jian-guo*

(Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Hepatic disease is one of the high-prevalence diseases in China, of which gastrointestinal bleeding is a common complication treated by proton pump inhibitors. Vonoprazan is a novel proton pump inhibitor which acts better than lansoprazole in pharmacokinetics and pharmacodynamics. In this study, the pharmacokinetics of vonoprazan was compared between acute hepatic injury and normal condition in rats. Results showed that the exposure (AUC) of vonoprazan was significantly higher in rats with acute hepatic injury than in normal rats, and the metabolites formation rates of vonoprazan also slowed down, which might be due to the change of activity of enzymes and transporters. This find may provide a theoretical basis for the dose regulation of vonoprazan in patients with hepatic injury.

Key words: acute hepatic injury; vonoprazan; CCl₄; pharmacokinetics

近年来, 中国肝脏疾病的发病率逐年增高且肝病患病率居世界首位, 仅慢性乙肝病毒感染者就多达

9 300 万人次^[1]。胃肠道出血是肝脏疾病患者伴随疾病发展出现的常见并发症之一, 包括急性食管胃底静脉曲张、溃疡性出血以及慢性的门静脉高压胃病和胃血管扩张综合征导致的出血。患有该类并发症的患者通常通过联合使用质子泵抑制剂类药物降低内窥镜结扎治疗导致的死亡率^[2]。然而近期研究表明, 目前临床常用的质子泵抑制剂类药物也存在加重细菌

收稿日期: 2017-02-18; 修回日期: 2017-04-10.

基金项目: 江苏省药物代谢动力学研究重点实验室项目.

*通讯作者 Tel: 86-25-83271128, E-mail: guangjiwang@hotmail.com;

Tel: 86-25-83271176, E-mail: jgsun@cpu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0145

性腹膜炎的风险, 从而增加肝病患者的死亡率^[3,4]。

沃诺拉赞以富马酸盐形式成药, 是一种新型的钾离子竞争性酸阻滞剂, 通过与 H^+K^+ATP 酶表面的 K^+ 离子位点非共价结合, 从而抑制通过 H^+K^+ATP 酶进行的 H^+ 的外排, 达到抑制胃酸分泌入胃腔的目的^[5], 其结构如图 1 所示。前期研究表明, 沃诺拉赞在大鼠体内生物利用度约为 10%^[6], 主要通过 CYP3A 及硫酸转移酶等非氧化性酶系代谢, CYP2C19 对其代谢影响不大^[7]。肝脏代谢是沃诺拉赞在大鼠体内消除的主要途径, 小肠部位代谢较少, 且其代谢物为主要排泄形式。在大鼠血浆及体外微粒体温孵样品中可鉴定得到氧化代谢产物 (M-I)、M-I 的次级代谢产物 (M-II) 及少量氮氧化代谢产物 (M-III)、硫酸结合代谢产物 (M-IV-Sul)、M-I 的葡糖醛酸结合物 (M-I-G) 和 M-II 的葡糖醛酸结合物 (M-II-G) 等其他代谢物, 其中 M-I 含量最高, 主要以葡糖醛酸结合物的形式经胆汁排泄^[8], 主要代谢物结构如图 1 所示。富马酸沃诺拉赞已于 2014 年 12 月被批准在日本上市, 用于治疗消化性溃疡等一系列相关疾病, 疗效优于兰索拉唑, 同时具有良好的耐受性和安全性^[9], 2016 年 11 月由 CFDA 批准在国内进行临床试验。因此沃诺拉赞可能也可以用于肝病患者胃肠道并发症的治疗。由于肝病患者对药物的代谢与非肝病患者相比可能存在一定的差异, 因此在给药方案与剂量上可能需要重新设计。

四氯化碳 (CCl_4) 是一种常用的建立大鼠急性或慢性肝损伤模型的化学物质^[10,11], 本文通过使用灌胃给予 CCl_4 诱导的急性大鼠肝损伤模型探究了沃诺拉赞在肝损伤情况下的代谢与其正常代谢的区别, 期望为今后沃诺拉赞临床应用于肝病患者提供理论支持与科学依据。

材料与方法

试剂 富马酸沃诺拉赞对照品 (批号: 20140602, 纯度: 99.6%, 分子式 $C_{21}H_{20}FN_3O_6S$) 与富马酸沃诺拉

赞结构类似物 KFP-H008 对照品 (批号: LF20160113, 纯度: 99.4%, 分子式 $C_{22}H_{25}FN_2O_4S$) 均由江苏柯菲平医药股份有限公司提供; CCl_4 分析纯溶液 (批号: 20121014, 纯度: 100%) 与橄榄油溶液 (批号: 20150211, 纯度: 100%) 均购自上海凌峰化学试剂有限公司; 谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (AKP)、乳酸脱氢酶 (LDH)、总胆红素 (TBIL) 试剂盒均购自南京建成生物有限公司; 甲醇、乙腈均为色谱纯, 购自 Merck 公司; 其余试剂均为市售分析纯。

仪器 日本岛津公司 LC-20A 型高效液相色谱仪; 美国 Sciex 公司 API 5500 质谱系统 (配有电喷雾离子源, Analyst 1.5.1 工作站); 美国 Sciex 公司 API 5600 质谱系统 (配有电喷雾离子源, Analyst TF 1.6 工作站); 日本岛津 AUW120D 电子分析天平; Thermo Sorvall 高速冷冻离心机; GENIE VORTEX-2 涡旋混合装置; 美国 Millipore Inc 公司 Milli-Q Gradient A1 超纯水机。

血浆样品中沃诺拉赞测定色谱和质谱条件 色谱柱: Waters Xbridge[®] BEH C_{18} 2.5 μm , 3.0 mm \times 50 mm Column XP。流动相: 水相 (A) 为含 2 mmol $\cdot L^{-1}$ 甲酸铵及 0.1% 甲酸的超纯水溶液, 有机相 (B): 甲醇。梯度洗脱: 0~0.1 min (10% B)、0.1~3.5 min (10%~90% B)、3.5~4.5 min (90% B)、4.5~5.0 min (90%~10% B)、5.0~5.5 min (10% B)。辅助气化电喷雾离子源 (ESI); 多反应离子监测 (MRM) 正离子检测模式, 监测离子对分别为: m/z (沃诺拉赞) 346.3 \rightarrow 315.2, 去簇电压 (DP) 70 V, 碰撞电压 (CE) 16 eV; m/z (KFP-H008) 433.4 \rightarrow 402.1, 去簇电压 (DP) 40 V, 碰撞电压 (CE) 16 eV。

血浆样品中代谢物测定色谱和质谱条件 色谱柱: Zorbax Eclipse Plus C_{18} Narrow Bore RR 150 mm \times 2.1 mm 3.5-Micron; 流动相: 水相 (A) 为含 0.05% 甲酸的超纯水溶液, 有机相 (B) 为乙腈。梯度洗脱: 0~1 min (2% B)、1~3 min (2%~8% B)、3~7 min

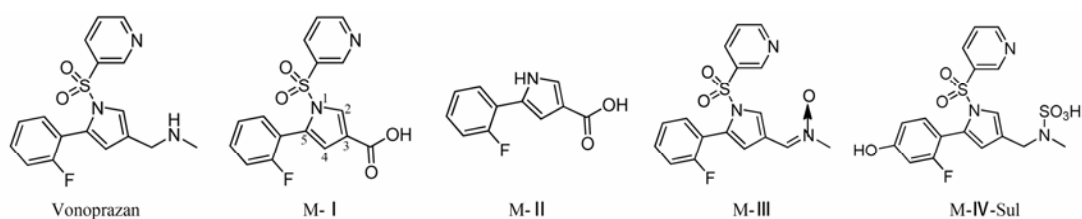


Figure 1 Chemical structures of vonoprazan and its four reported major metabolites. M-I: 5-(2-Fluorophenyl)-1-(pyridine-3-ylsulfonyl)-1H-pyrrole-3-carboxylic acid; M-II: 5-(2-Fluorophenyl)-1H-pyrrole-3-carboxylic acid; M-III: N-[(Z)-[5-(2-Fluorophenyl)-1-(pyridine-3-ylsulfonyl)-1H-pyrrol-3-yl]methylidene]-N-methylamine oxide; M-IV-Sul: N-[[5-(2-Fluoro-4-hydroxyphenyl)-1-(pyridine-3-ylsulfonyl)-1H-pyrrol-3-yl]methyl]-N-methylsulfamic acid

(8%~15% B)、7~19 min (15%~80% B)、19~22.5 min (80% B)、22.5~23 min (80%~2% B)、23~30 min (2% B)。辅助气化电喷雾离子源 (ESI); 正离子扫描 (SCAN) 检测模式。子离子扫描方式为正离子 IDA 模式。

实验动物与分组 SD 雄性大鼠 (SPF 级) 32 只, 体重 (244 ± 10) g, 上海西普尔-必凯有限公司提供, 许可证号: SCXK (沪) 2013-0016, 质量合格证号: 2008001663544。饲养温度、湿度符合实验动物饲养要求, 12 h 昼夜交替, 实验前适应性喂养 1 周, 自由摄食饮水, 给药前 12 h 禁食。实验动物随机分为模型组与对照组, 模型组共 16 只, 其中 4 只仅造模不给药, 剩余 12 只随机分为灌胃及静脉注射两种给药方式进行实验; 对照组共 16 只, 其中 4 只仅造模不给药, 剩余 12 只随机分为灌胃及静脉注射两种给药方式进行实验。

动物造模方法 将橄榄油与 CCl₄ 纯溶液按照 1:1 比例混合, 模型组于给药前 24 h 灌胃给予 4 mL·kg⁻¹ CCl₄ 的橄榄油溶液^[12,13]进行造模, 对照组同时灌胃给予等量的橄榄油溶液。

给药溶液配制及给药方法 模型组和对照组中大鼠的给药方式分为灌胃和静脉注射两种。灌胃给药剂量为 2 mg·kg⁻¹, 静脉注射给药剂量 0.75 mg·kg⁻¹。取适量富马酸沃诺拉赞粉末溶于无水乙醇中, 加入 0.5% CMC-Na 配制成 0.4 mg·mL⁻¹沃诺拉赞混悬液用于灌胃给药。取适量富马酸沃诺拉赞粉末溶于无水乙醇中, 加入适量生理盐水配制成 0.15 mg·mL⁻¹沃诺拉赞真溶液用于静脉注射给药。模型组及对照组大鼠均于造模后 24 h 灌胃及静脉注射给予沃诺拉赞。

生物样品采集 对给药大鼠, 于给药前及给药后不同时间点 (2、5、10、20、30 和 45 min、1、2、4、6、8、12、24 和 48 h) 经大鼠眼底静脉丛采集全血约 100 μL, 置于肝素钠抗凝处理过的离心管中, 8000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 置 -80 °C 冰箱保存待测。共 8 只仅造模未给药大鼠造模 24 h 后直接处死, 采集肝左叶中部横截面组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定。

血浆样品处理方法 取适量造模后给药前血浆样品, 严格按试剂盒说明书进行相关生化因子指标测定。另取血浆样品 20 μL, 加蛋白沉淀剂 200 μL 沉淀蛋白, 涡旋振荡 30 s, 于 18000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液 150 μL 于 18000 r·min⁻¹ 再次离心 5 min, 取上清液 80 μL 进样分析。

数据分析 沃诺拉赞原型药物数据采集应用

Analyst 1.5.1 工作站, 在大鼠血浆中药动力学参数应用 Winnolin 6.4 软件 (Phoenix 64) 统计软件运算处理, 应用 Graphpad Prism 5 绘制经时过程曲线。运用 SPSS 19.0 统计软件进行 Mann-Whitney 检验, 检验水平 $\alpha=0.05$ 。血浆代谢物应用 Analyst TF 1.6 工作站采集的峰面积进行相对定量, 应用 Graphpad Prism 5 绘制经时过程曲线。

结果

1 血浆样品中沃诺拉赞测定方法学考察

经过色谱及质谱条件优化, 沃诺拉赞及内标 KFP-H008 的质谱碎裂规律见图 2, 沃诺拉赞及内标 KFP-H008 的特征色谱图见图 3。线性范围为 1~300 ng·mL⁻¹, 定量下限为 1 ng·mL⁻¹, 回归方程及相关系数为 $y=0.0193x-0.00222$ ($r=0.9997$)。残留、准确度及精密度、基质效应、稳定性及方法学质控均满足生物样品分析要求, 该方法可用于沃诺拉赞在大鼠血浆中的定量分析。

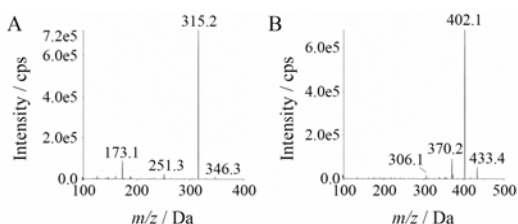


Figure 2 MS/MS product ion mass spectra of vonoprazan (A) and KFP-H008 (B, internal standard/IS)

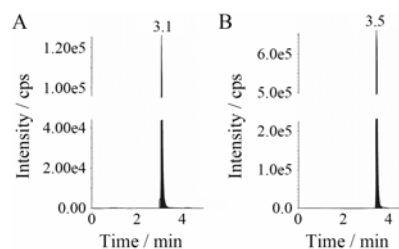


Figure 3 Representative extract ion MRM chromatography of vonoprazan (A) and IS (B)

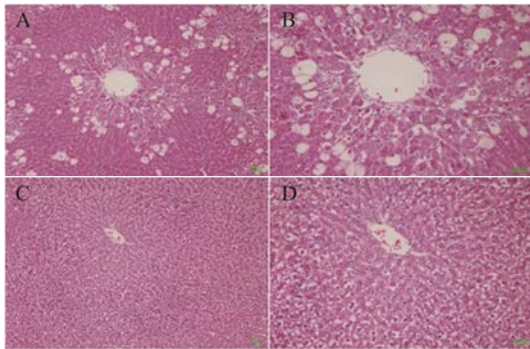
2 SD 大鼠急性肝损伤模型建立

2.1 生化指标测定 取造模 24 h 后给药前空白血浆, 按照试剂盒说明书对大鼠血浆中肝损伤相关生化指标进行测定。经 Mann-Whitney 检验, AST、ALT、AKP、LDH 在模型组与对照组大鼠血浆中的含量有极显著性差异 ($P < 0.001$), TBIL 在模型组与对照组大鼠血浆中的含量具有显著性差异 ($P < 0.05$)。结果列于表 1。血浆生化指标测定结果表明, CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤模型造模成功。

Table 1 Plasma biochemical indicator of rats in model and control groups. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs control group

Plasma biochemical indicator	Control group	Model group
Aspartate transaminase (AST) /U·L ⁻¹	33.4 ± 12.0	311.4 ± 122.6***
Alanine aminotransferase (ALT) /U·L ⁻¹	2.8 ± 2.6	107.1 ± 20.2***
Alkaline phosphatase (AKP) /U·L ⁻¹	2 393.4 ± 274.0	3 635.6 ± 154.2***
Lactic dehydrogenase (LDH) /U·L ⁻¹	21.8 ± 3.7	42.5 ± 16.1***
Total bilirubin (TBIL)/μmol·L ⁻¹	16.0 ± 6.1	23.1 ± 11.6*

2.2 HE 染色 造模 24 h 后直接处死的大鼠的肝脏组织石蜡包埋后进行 HE 染色, 在电镜下对染色切片进行观察, 大鼠肝脏病理学改变见图 4。切片结果显示模型组大鼠肝小叶中央区及周边区肝细胞呈退行性病变, 主要表现为肝细胞气球样变、肝细胞坏死、脂肪变性及肝细胞胞浆凝聚等改变。该结果提示 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤模型造模成功。

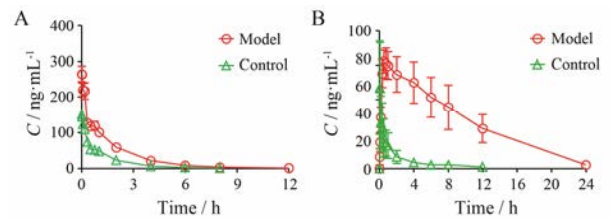
**Figure 4** Histopathology of rat liver tissue with HE stain: (A) model group*100 fold electron microscope; (B) model group*200 fold electron microscope; (C) control group*100 fold electron microscope; (D) control group*200 fold electron microscope

3 模型组与对照组大鼠体内沃诺拉赞经时过程比较

应用已建立的 LC-MS/MS 检测方法对大鼠血浆样品进行测定, 所得沃诺拉赞药时曲线如图 5 所示, 经 Winnolin 6.4 软件计算, 沃诺拉赞在体内经时过程满足二房室模型, 所得主要药动力学参数列于表 2 及表 3。静脉注射及灌胃给药后模型组与对照组 t_{max} 、AUC 及绝对生物利用度等参数均有统计学差异。

4 模型组与对照组大鼠血浆中沃诺拉赞血浆代谢物差异比较

应用 Q-TOF 对模型组及对照组大鼠血浆样品进行扫描, 对大鼠血浆中沃诺拉赞的代谢物进行相对定量。前期文献报道, 正常大鼠血浆中沃诺拉赞代谢物主要包括 4 种^[8, 14], 该 4 种代谢物在模型组及对照组

**Figure 5** Mean plasma concentration-time curves of vonoprazan in model and control groups after intravenous injection with 0.75 mg·kg⁻¹ (A) and intra-gastrical administration with 2 mg·kg⁻¹ (B)**Table 2** Pharmacokinetic parameters of vonoprazan after intravenous injection with 0.75 mg·kg⁻¹ in rat plasma. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group

Parameter	Control group	Model group
C_0 /ng·mL ⁻¹	160.7 ± 22.0	298.4 ± 64.8**
$t_{1/2}$ /h	1.5 ± 0.28	1.7 ± 0.40
AUC _{0-8h} /ng·h·mL ⁻¹	152.9 ± 25.3	348.8 ± 82.2***
AUC _{0-∞} /ng·h·mL ⁻¹	155.8 ± 25.1	362.0 ± 85.9***
K_{10} /h ⁻¹	1.1 ± 0.16	0.84 ± 0.16
K_{12} /h ⁻¹	2.2 ± 0.87	2.3 ± 0.62
K_{21} /h ⁻¹	2.6 ± 0.49	3.2 ± 0.46

Table 3 Pharmacokinetic parameters of vonoprazan after intra-gastrical administration with 2 mg·kg⁻¹ in rat plasma. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group

Parameter	Control group	Model group
C_{max} /ng·mL ⁻¹	49.2 ± 66.6	66.9 ± 21.2
t_{max} /h	0.10 ± 0.12	1.5 ± 1.3*
$t_{1/2}$ /h	3.3 ± 1.4	4.6 ± 1.5
AUC _{0-12h} /ng·h·mL ⁻¹	50.1 ± 67.6	507.5 ± 291.6**
AUC _{0-∞} /ng·h·mL ⁻¹	56.6 ± 65.9	693.9 ± 444.4**
F /%	13.6 ± 0.16	71.9 ± 0.46*
K_{01} /h ⁻¹	80.6 ± 115.4	6.3 ± 8.4
K_{10} /h ⁻¹	0.48 ± 0.52	0.14 ± 0.13
K_{12} /h ⁻¹	1.8 ± 2.9	0.25 ± 0.24
K_{21} /h ⁻¹	0.66 ± 0.85	0.19 ± 0.21

大鼠血浆中均存在且具有相对完整的经时过程, 4 种主要代谢物在大鼠血浆中经时过程曲线如图 6 所示。

讨论

本文采用 CCl₄ 对大鼠进行急性肝损伤造模, CCl₄ 作为一种被普遍应用的造模手段可快速高效地制备大鼠急性与慢性肝损伤模型。参考文献^[12, 13]方法, 本实验采用灌胃给予 4 mL·kg⁻¹ CCl₄ 造模 24 h 制备大鼠急性肝损伤模型, 生化指标测定及病理切片结果表明, 本次实验造模成功。其次, 本文建立的大鼠血浆中沃诺拉赞定量检测的 LC-MS/MS 方法简便快捷, 一步蛋白沉淀定量下限即可达 1 ng·mL⁻¹, 且经全面

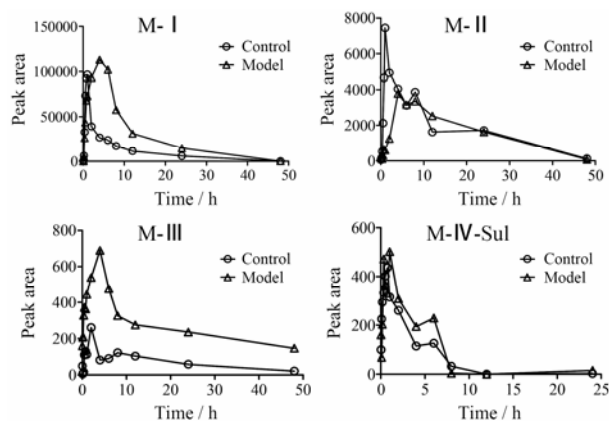


Figure 6 Concentration-time curves of four reported major metabolites of vonoprazan in rat plasma

考证, 所建分析方法符合 2015 版药典生物样品定量分析方法指导原则, 满足生物样品分析要求。应用该方法对给药后大鼠血浆样本进行定量检测, 得到沃诺拉赞在急性肝损伤模型及正常对照组大鼠体内的经时过程曲线, 二者在静脉注射与灌胃给药两种方案下均存在明显差异。结合药动力学参数分析发现, 与对照组相比, 沃诺拉赞在急性肝损伤模型大鼠体内暴露量 AUC 显著增加, 其中静脉注射给药 AUC 增加约 2.2 倍, 灌胃给药 AUC 增加约 12.6 倍, 口服生物利用度增加约 5.3 倍, 提示在急性肝损伤模型下口服给予沃诺拉赞可能需要调整用药剂量。其次, 沃诺拉赞在肝损伤模型中灌胃给药后血浆药物 C_{\max} 增加, t_{\max} 延长, 消除半衰期 ($t_{1/2}$) 延长, 表明急性肝损伤状态下沃诺拉赞在大鼠体内的吸收和消除均受到影响。根据文献调研, 质子泵抑制剂是摄取转运体有机阴离子转运体家族 (organic anion transporters, OATs) 及有机阳离子转运体家族 (organic cation transporters, OCTs) 的抑制剂, 其中 OCT1 主要存在于肝细胞基侧膜, 与肝细胞对有机阳离子底物的摄取有关^[15–17], CCl_4 诱导的急性肝损伤会导致大鼠体内 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A2、CYP2C11 等多种代谢酶及多种转运体表达和活性降低^[18–24], 因此消除减慢, 体内暴露量增加, 绝对生物利用度升高。该部分推测需进一步实验证实。灌胃给药 AUC 增加倍数远高于静脉注射给药可能是由于沃诺拉赞灌胃给药后存在肝脏首过效应, 急性肝损伤模型导致肝脏首过效应影响减弱, 因此 AUC 变化更加显著。在模型组与对照组大鼠血浆中代谢物种类无明显差别, 模型组中代谢物响应较对照组高, 同一代谢物在模型组体内达峰时间较对照组有所延长, 说明代谢物的生成减慢, 即原形药物代谢变缓, 消除减慢。体外研究表明, M-I、

M-III 主要通过 CYP3A 代谢生成, M-IV-Sul 主要通过 SULT2A1 及 CYP2C9 代谢生成^[14], 因此该 4 种主要代谢物在急性肝损伤状态下的变化差异可能是由于肝损伤后 CYP 酶不同亚型的表达及活性变化差异导致。因此对于肝病患者, 在联用沃诺拉赞时应注意剂量的调整, 防止出现不良反应。进一步实验将通过沃诺拉赞在慢性肝损伤模型中的相关研究为其应用于慢性肝病晚期患者提供理论支持及临床前数据参考。

References

- [1] Wu QM, You H. Hepatitis B-related liver cirrhosis: research updates in China [J]. *Chin J Viral Dis (中国病毒病杂志)*, 2014, 4: 7–10.
- [2] Dultz G, Piiper A, Zeuzem S, et al. Proton pump inhibitor treatment is associated with the severity of liver disease and increased mortality in patients with cirrhosis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 41: 459–466.
- [3] Jang WS, Shin HP, Lee JI, et al. Proton pump inhibitor administration delays rebleeding after endoscopic gastric variceal obturation [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 17127–17131.
- [4] Miura K, Tanaka A, Yamamoto T, et al. Proton pump inhibitor use is associated with spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis [J]. *Intern Med*, 2014, 53: 1037–1042.
- [5] Otake K, Sakurai Y, Nishida H, et al. Characteristics of the novel potassium-competitive acid blocker vonoprazan fumarate (TAK-438) [J]. *Adv Ther*, 2016, 33: 1140–1157.
- [6] Hori Y, Matsukawa J, Takeuchi T, et al. A study comparing the antisecretory effect of TAK-438, a novel potassium-competitive acid blocker, with lansoprazole in animals [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 337: 797–804.
- [7] Kagami T, Sahara S, Ichikawa H, et al. Potent acid inhibition by vonoprazan in comparison with esomeprazole, with reference to CYP2C19 genotype [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43: 1048–1059.
- [8] Kogame A, Takeuchi T, Nonaka M, et al. Disposition and metabolism of TAK-438 (vonoprazan fumarate), a novel potassium-competitive acid blocker, in rats and dogs [J]. *Xenobiotica*, 2017, 47: 255–266.
- [9] Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, et al. Vonoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker, as a component of first-line and second-line triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a phase III, randomised, double-blind study [J].

- Gut, 2016, 65: 1439–1446.
- [10] Shen N, Huang XD, Li ZW, et al. Effects of hemerocallis citrine baroni flavonoids on CCl₄-induced liver fibrosis of rats [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2015, 50: 547–551.
- [11] Pang JY, Bai ZF, Niu M, et al. The toxic and protective effects of *Polygonum multiflorum* on normal and liver injured rats based on the symptom-based prescription theory [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2015, 50: 973–979.
- [12] Janakat S, Al-Merie H. Optimization of the dose and route of injection, and characterisation of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2002, 48: 41–44.
- [13] Lee CP, Shih PH, Hsu CL, et al. Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) against CCl₄-induced oxidative damage in rats [J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45: 888–895.
- [14] Yamasaki H, Kawaguchi N, Nonaka M, et al. *In vitro* metabolism of TAK-438, vonoprazan fumarate, a novel potassium-competitive acid blocker [J/OL]. Xenobiotica, 2016-01-08 [2016-07-14]. <http://dx.doi.org/10.1080/00498254.2016.1203505>.
- [15] Ikemura K, Hamada Y, Kaya C, et al. Lansoprazole exacerbates pemetrexed-mediated hematologic toxicity by competitive inhibition of renal basolateral human organic anion transporter 3 [J]. Drug Metab Dispos, 2016, 44: 1543–1549.
- [16] Nies AT, Hofmann U, Resch C, et al. Proton pump inhibitors inhibit metformin uptake by organic cation transporters (OCTs) [J]. PLoS One, 2011, 6: e22163.
- [17] Chioukh R, Noel-Hudson MS, Ribes S, et al. Proton pump inhibitors inhibit methotrexate transport by renal basolateral organic anion transporter hOAT3 [J]. Drug Metab Dispos, 2014, 42: 2041–2048.
- [18] Geier A, Kim SK, Gerloff T, et al. Hepatobiliary organic anion transporters are differentially regulated in acute toxic liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. J Hepatol, 2002, 37: 198–205.
- [19] Xu BB, Xu ZS, Zheng SL, et al. Effect of colchicine on rat hepatic cytochrome P450 enzymes by cocktail probe drugs [J]. Pharmazie, 2014, 69: 43–47.
- [20] Yokogawa K, Watanabe M, Takeshita H, et al. Serum aminotransferase activity as a predictor of clearance of drugs metabolized by CYP isoforms in rats with acute hepatic failure induced by carbon tetrachloride [J]. Int J Pharm, 2004, 269: 479–489.
- [21] Nakatsukasa H, Silverman JA, Gant TW, et al. Expression of multidrug-resistance genes in rat-liver during regeneration and after carbon-tetrachloride intoxication [J]. Hepatology, 1993, 18: 1202–1207.
- [22] Khemawoot P, Maruyama C, Tsukada H, et al. Influence of chronic hepatic failure on disposition kinetics of valproate excretion through a phase II reaction in rats treated with carbon tetrachloride [J]. Biopharm Drug Dispos, 2007, 28: 331–338.
- [23] Huang ZH, Murakami T, Okochi A, et al. Expression and function of P-glycoprotein in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic failure [J]. J Pharm Pharmacol, 2001, 53: 873–881.
- [24] Geier A, Dietrich CG, Voigt S, et al. Effects of proinflammatory cytokines on rat organic anion transporters during toxic liver injury and cholestasis [J]. Hepatology, 2003, 38: 345–354.