

补骨脂素和氯吡格雷对人肝微粒体中环泊酚代谢的影响

Effects of psoralen and clopidogrel on the metabolism of ciprofol in human liver microsomes

路明¹, 何文娟¹, 尹晓玉²,
李文利¹, 张甜甜¹, 张志清¹

(1. 河北医科大学第二医院 药学部, 河北 石家庄 050000; 2. 河北省人民医院 药学部, 河北 石家庄 050051)

LU Ming¹, HE Wen - juan¹,
YIN Xiao - yu², LI Wen - li¹,
ZHANG Tian - tian¹,
ZHANG Zhi - qing¹

(1. Department of Pharmacy, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China; 2. Department of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei Province, China)

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划基金资助项目(20241993)

作者简介: 路明(1990 -), 男, 主管药师, 主要从事体内药物分析和药物相互作用的相关研究

通信作者: 张志清, 主任药师, 硕士生导师
MP: 15803210627

E - mail: 26500007@hebmu.edu.cn

摘要:目的 探究补骨脂素和氯吡格雷对人肝微粒体中环泊酚代谢的影响。方法 建立人肝微粒体孵育体系中环泊酚浓度的高效液相色谱串联质谱检测方法。考察该方法的专属性、标准曲线、定量下限、精密度、回收率、基质效应和稳定性。测定系列质量浓度的环泊酚与人肝微粒体共同孵育后的剩余量, 并代入 GraphPad Prism 8 软件中计算得到环泊酚在人肝微粒体中的酶促反应动力学参数; 将补骨脂素和氯吡格雷分别与环泊酚在孵育体系中共同孵育, 计算得到 2 种细胞色素 P450 2B6 (CYP2B6) 灭活药的半数抑制浓度 (IC₅₀), 进一步考察对环泊酚代谢的影响。结果 环泊酚在 1.00 ~ 100.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 呈线性关系, 标准曲线方程为 $y = 0.15x - 0.11$ ($r = 0.9992$), 定量下限为 1.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 批内及批间精密度的相对标准偏差小于 7%, 相对误差不超过 $\pm 5\%$, 回收率为 92.69% ~ 99.62%, 基质效应在 94.77% ~ 101.84%, 样品经 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h 或室温放置 8 h, 处理后置于自动进样器 24 h 稳定性良好。环泊酚在人肝微粒体孵育体系中的米氏常数 (K_m) 为 37.81 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 最大反应速率 ($V_{\max}$) 为 41.54 $\text{ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$, 固有清除率 (CL_{int}) 为 0.91 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。补骨脂素和氯吡格雷对环泊酚的代谢呈剂量依赖性抑制作用, IC₅₀ 值分别为 30.25 和 2.09 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 表现出轻度和中度抑制作用。结论 补骨脂素和氯吡格雷可降低人肝微粒体中环泊酚的代谢。

关键词: 环泊酚; 补骨脂素; 氯吡格雷; 药物相互作用; 人肝微粒体

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.11.019

中图分类号: R971.2 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)11-1608-06

Abstract: Objective To explore the effects of psoralen and clopidogrel on metabolism of ciprofol in human liver microsomes. **Methods** A high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry method for the detection of ciprofol concentrations in human liver microsomes was established, and the specificity, linearity and lower limit of quantitation, precision, recovery rate, matrix effect and stability of this method were investigated. A series of remaining concentrations of ciprofol after co - incubation of with human liver microsomes were detected, and the results were substituted into GraphPad Prism 8 software to calculate the kinetic parameters of the enzymatic reaction of ciprofol in human liver microsomes. Afterwards, psoralen and clopidogrel were co - incubated with ciprofol, respectively, and the median inhibitory concentrations (IC₅₀) were calculated to investigate the effects of the two cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) inactivators on ciprofol metabolism.

Results Ciprofol was linear in the range of $1.00 - 100.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The standard curve equation was $y = 0.15x - 0.11$ ($r = 0.9992$); the lower limit of quantification was $1.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The relative standard deviation (RSD) values for intra-day and inter-day precision were less than 7%, with relative error not exceeding $\pm 5\%$. The extraction recoveries and matrix effects were 92.69%–99.62% and 94.77%–101.84%, respectively. In addition, the samples exhibited satisfactory stabilities incubated in a water bath at 37°C for 2 h, stored at room temperature for 8 h or processed and placed in the autosampler for 24 h. The Michaelis constant (K_m), maximum reaction rate ($V_{\max}$) and intrinsic clearance (CL_{int}) of ciprofol were $37.81 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $41.54 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$ and $0.91 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$, respectively. Psoralen and clopidogrel inhibited the metabolism of ciprofol in human liver microsomes in a dose-dependent manner with IC_{50} values of 30.25 and $2.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, showing mild and moderate inhibition of the metabolism of ciprofol, respectively. **Conclusion** Psoralen and clopidogrel can reduce the metabolism of ciprofol in human liver microsomes.

Key words: ciprofol; psoralen; clopidogrel; drug–drug interactions; human liver microsomes

环泊酚是一种新型 2,6-二异丙基苯酚衍生物类短效静脉麻醉药^[1],主要经细胞色素 P450 2B6 (cytochrome P450 2B6, CYP2B6) 和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (uridine diphosphate glucuronyltransferase 1A9, UGT1A9) 代谢^[2–3]。研究表明,环泊酚与 CYP2B6 诱导药、UGT1A9 抑制药/诱导药以及由 CYP2B6 酶代谢的药物合用时不需要额外的预防措施^[4–5]。补骨脂素和氯吡格雷已被证实对 CYP2B6 酶均具有不可逆转的抑制作用,分别为中等和高效的 CYP2B6 灭活药^[6–7]。本研究旨在通过建立环泊酚在人肝微粒体中的孵育体系,用高效液相色谱串联质谱 (high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry, HPLC – MS/MS) 技术分别考察 2 种 CYP2B6 灭活药对环泊酚代谢的影响,为环泊酚相关药物–药物相互作用 (drug–drug interactions, DDIs) 研究和围术期安全合理用药提供参考。

材料与方法

1 材料

药品与试剂 环泊酚对照品,规格:每瓶 500 mg,纯度:99.9%,批号:11220202,环泊酚–d6 对照品(内标),规格:每瓶 10 mg,纯度:99.8%,批号:202005006–001,均购自海思科制药(眉山)有限公司;环泊酚注射液,规格:每支 20 mL/50 mg,批号:20230809,批准文号:国药准字 H20200013,购自辽宁海思科制药有限公司;补骨脂素对照品,规格:每支 20 mg,纯度:99.6%,批号:110739–201918,硫酸氢氯吡格雷对照品,规格:每支 100 mg,纯度:99.8%,批号:100819–201906,均购自中国食品药品检定研究院。混合男性人肝微粒体原液 ($20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、还原型烟酰胺腺嘌呤

二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 发生系统 (A 液、B 液)、磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7.4$),均由武汉普莱特生物医药有限公司生产。

仪器 LC–20AD 高效液相色谱仪,日本岛津公司产品;API 4000+ 三重四级杆质谱仪,美国 AB Sciex 公司产品。

2 测定条件与溶液配制

色谱条件 色谱柱: Symmetry C₁₈ ($4.6 \text{ mm} \times 150.0 \text{ mm}, 3.5 \mu\text{m}$);柱温: 40°C ;流动相:含有 0.01% 氨水的 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液 (A) 和乙腈 (B);梯度洗脱程序: $0 \sim 1.0 \text{ min}, 70\% \rightarrow 95\% \text{ B}$; $1.0 \sim 5.5 \text{ min}, 95\% \text{ B}$; $5.5 \sim 6.5 \text{ min}, 95\% \rightarrow 70\% \text{ B}$;流速: $0.70 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;自动进样器温度: 4°C ;进样量: $2 \mu\text{L}$ 。

质谱条件 电喷雾电源,用多反应监测的负离子模式。碰撞气: 62 kPa ;气帘气: 207 kPa ;离子源喷射电压: -4500 V ,离子源温度: 500°C ;环泊酚和环泊酚–d6 的碰撞电压分别为 -28 和 -30 V ,去簇电压分别为 -85 和 -83 V ,检测离子对分别为 m/z 203.2 $\rightarrow$ 175.1 和 m/z 209.3 $\rightarrow$ 181.3。

对照品溶液 精密称取适量环泊酚、环泊酚–d6、补骨脂素和硫酸氢氯吡格雷对照品,用 50% 乙腈溶液溶解,制成质量浓度分别为 10.00 、 9.30 、 4.20 和 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的储备液。取环泊酚储备液适量,用 50% 乙腈溶液稀释成质量浓度分别为 0.10 、 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.50 、 5.00 、 $10.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列环泊酚工作液和 0.10 、 0.25 、 1.00 、 $7.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的定量下限和低、中、高 4 个质量浓度的环泊酚质控溶液。分别取补骨脂素和硫酸氢氯吡格雷储备液适量,用 50% 乙腈溶液稀释成摩尔浓度为 1.25 、 2.50 、 5.00 、 7.50 、 10.00 、 15.00 和 $20.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列补骨脂

素溶液和 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.50 和 5.00 mmol · L⁻¹ 的系列硫酸氢氯吡格雷溶液。

含内标的反应终止液 取环泊酚-d6 储备液适量,用 50% 乙腈溶液稀释成质量浓度为 5 μg · mL⁻¹ 的反应终止溶液,置于 4 °C 冷藏箱,现配现用。

空白温孵液 男性人肝微粒体原液经高温灭活后,用 PBS 稀释为蛋白质量浓度为 0.5 mg · mL⁻¹ 的空白温孵液。

3 肝微粒体温孵实验与样品处理

温孵条件 肝微粒体孵育体系总体积为 200 μL,包括底物环泊酚注射液,男性人肝微粒体原液 5 μL, NADPH 发生系统 12 μL (A 液 10 μL、B 液 2 μL),其余体积为 PBS。将以上试剂分别在 37 °C 水中预热 5 min 后混合得到孵育体系,并以 37 °C 继续恒温水浴 60 min。每个样品平行孵育 3 次。

样品处理 将孵育体系取出后立即加入 4 倍体积(800 μL)的反应终止液,涡旋 2 min 充分混匀,以 1.09×10^4 r · min⁻¹ 离心 15 min 后取上清液进样分析。

4 方法学考察

本研究方法学建立和生物样本检测由河北医科大学第二医院药学部实验室完成。

专属性 取空白孵育体系,环泊酚对照品溶液,环泊酚-d6 对照品溶液,含有环泊酚注射液的真实孵育体系,分别按照“样品处理”项下方法处理后进样分析,考察人肝微粒体孵育体系中物质对环泊酚和内标的干扰。

标准曲线与定量下限 取系列环泊酚工作液 2 μL,加空白温孵液至 200 μL,配制成质量浓度分别为 1.00、2.50、5.00、10.00、25.00、50.00 和 100.00 μg · mL⁻¹ 的样品溶液,按照“样品处理”项下方法处理并测定。以环泊酚质量浓度(x)为横坐标,环泊酚与内标峰面积的比值(y)为纵坐标,用加权最小二乘法进行线性回归(权重系数: $1/x^2$),得到标准曲线方程。定量下限为标准曲线中质量浓度的最低点。

精密度与回收率 分别取环泊酚质控溶液 2 μL,加空白温孵液至 200 μL,配制成定量下限和低、中、高(1.00、2.50、10.00、75.00 μg · mL⁻¹)4 个质量浓度的质控样品溶液各 5 份,于同 1 d 内按“样品处理”项下方法处理并测定,计算批内精密度和准确度;连续 3 d 处理并测定,计算批间精密度和准确度。制备低、中、高质量浓度(2.50、10.00、75.00 μg · mL⁻¹)质控样品溶液,按“样品处理”项下方法处理并测定,记录环泊酚的峰面积 A 。另取空白温孵液按“样品处理”

项下方法处理后得到空白基质溶液,加入环泊酚质控工作液得到与理论质量浓度相同的低、中、高质量浓度环泊酚空白基质样品各 5 份,进样测定得到空白基质中环泊酚峰面积的均值 $\bar{B}$ 。计算环泊酚在肝微粒体中的提取回收率 = $A/\bar{B} \times 100\%$ 。

基质效应 配制低、中、高质量浓度环泊酚空白基质样品各 5 份,进样测定记录环泊酚的峰面积 B 。取低、中、高质量浓度的环泊酚质控溶液,加 50% 乙腈稀释得到与质控样品的理论质量浓度一致的溶液各 5 份,进样测定记录环泊酚峰面积的均值 $\bar{C}$,环泊酚在肝微粒体中基质效应 = $B/\bar{C} \times 100\%$ 。

稳定性 配制低、中、高质量浓度的质控样品溶液各 3 组,每个质量浓度 5 份,一组 37 °C 恒温水浴 2 h 后按“样品处理”项下方法处理并测定,一组室温 8 h 放置后处理并测定,另一组处理后置于自动进样器中保存 24 h 后进样测定,分别考察样品在孵育条件下、室温条件下以及经处理后在自动进样器放置的稳定性。

5 实验方法^[8]

最佳孵育时间 设定孵育体系中环泊酚的质量浓度为 37.5 μg · mL⁻¹,肝微粒体蛋白质量浓度为 0.5 mg · mL⁻¹,分别在 37 °C 条件下孵育 0、10、20、30、40、60、80、100 和 120 min 后取出,按“样品处理”项下方法处理并测定,平行操作 3 份。根据环泊酚剩余质量浓度的下降趋势确定最佳孵育时间。

最佳蛋白质量浓度 设定孵育体系中环泊酚的质量浓度为 37.5 μg · mL⁻¹,加入不同体积人微粒体原液,使孵育体系中蛋白质量浓度分别为 0、0.1、0.2、0.3、0.5、0.7 和 1.0 mg · mL⁻¹,37 °C 孵育 60 min 后取出,并按“样品处理”项下方法处理并测定,平行操作 3 份。根据蛋白质量浓度对环泊酚剩余质量浓度的影响,确定孵育体系中最佳蛋白质量浓度。

酶促反应动力学 设定孵育体系中蛋白质量浓度为 0.5 mg · mL⁻¹,向孵育体系中加入不同体积的环泊酚注射液,使环泊酚初始质量浓度(C_0)依次为 4.0、8.0、16.0、32.0、48.0 和 80.0 μg · mL⁻¹,37 °C 孵育 60 min 后按“样品处理”项下方法测定,平行操作 3 份,计算环泊酚减少量(ΔC)。

补骨脂素和氯吡格雷对环泊酚代谢的影响 向条件优化后的孵育体系加入系列补骨脂素溶液 2 μL 使体系中补骨脂素的摩尔浓度依次为 0、12.5、25.0、50.0、75.0、100.0、150.0 和 200.0 μmol · L⁻¹;另配制孵育体系并加入系列硫酸氢氯吡格雷溶液 2 μL,使体系中氯吡格雷的摩尔浓度依次为 0、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 μmol · L⁻¹。上述体系置

于 37 ℃ 水浴预孵育 10 min 后加入环泊酚注射液 3 μL 使体系质量浓度为 37.5 μg · mL⁻¹, 混匀后继续孵育 60 min。按照“样品处理”项下方法处理并测定, 平行操作 3 份, 计算 ΔC。

6 统计学处理

根据底物消除法, 将 C₀ 和 ΔC 代入 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计处理, 计算环泊酚在人肝微粒体孵育体系中的酶促反应动力学参数, 得到最大反应速率 (maximum velocity, V_{max})、米氏常数 (Michaelis constant, K_m) 和固有清除率 (intrinsic clearance, CL_{int})。并进一步分别计算得到补骨脂素和氯吡格雷对环泊酚在人肝微粒体中代谢的半数抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC₅₀)。

结 果

1 方法学评价

专属性 如图 1 所示, 环泊酚及其内标环泊酚 - d6 的性质极其相似, 保留时间彼此接近, 分别为 4.45 和 4.46 min。结果表明, 人肝微粒体孵育体系中物质对分析物均无干扰, 专属性良好。

标准曲线与定量下限 环泊酚在 1.00 ~ 100.00 μg · mL⁻¹ 质量浓度范围内线性关系良好, 标准曲线方程为 $y = 0.15x - 0.11$ ($r = 0.999\ 2$), 定量下限为 1.00 μg · mL⁻¹。

精密度与回收率 环泊酚在人肝微粒体中的批内及批间精密度的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 均小于 7%, 相对误差 (relative error, RE) 不超过 ±5%, 提取回收率为 92.69% ~ 99.62%, 表明该方法符合生物样本分析要求, 且重现性好, 结果见表 1。

基质效应 环泊酚在人肝微粒体中的基质效应在 94.77% ~ 101.84%, RSD 小于 8%, 符合分析要求。

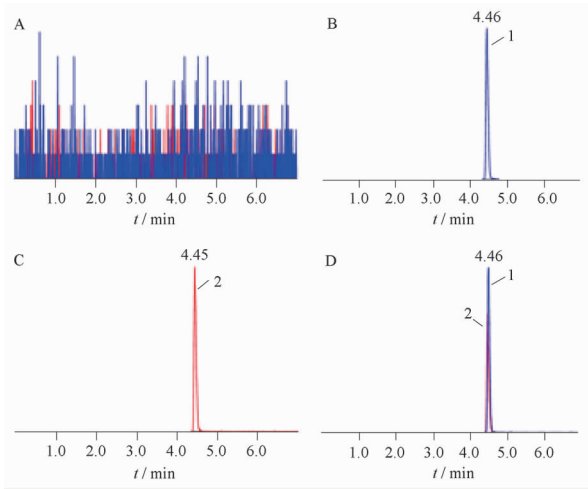


图 1 环泊酚(1)和环泊酚 - d6(2)的典型色谱图
Figure 1 The typical chromatogram of ciprofol (1) and ciprofol - d6 (2)
A: Blank incubation system solution; B: Standard solution of ciprofol;
C: Standard solution of ciprofol - d6; D: Sample of actual incubation system.

稳定性 环泊酚质控样品经 37 ℃ 水浴 2 h, 室温放置 8 h 以及处理后置于自动进样器 24 h 均保持稳定, RSD 均小于 10%, 表明在上述条件下稳定性良好。

2 环泊酚代谢酶促反应动力学

最佳孵育时间 环泊酚在人肝微粒体中的剩余质量浓度随时间延长而显著下降, 60 min 后下降速率较前减慢, 见图 2A。因此, 选择 60 min 为反应的最佳孵育时间。

最佳蛋白质量浓度 孵育体系中肝微粒体蛋白质量浓度为 0 ~ 0.5 mg · mL⁻¹ 时, 环泊酚的剩余质量浓度随蛋白质量浓度增加呈线性下降; 而增加至 0.5 ~ 1.0 mg · mL⁻¹ 时, 变化曲线趋于平缓, 见图 2B。因此, 选择 0.5 mg · mL⁻¹ 为反应的最佳蛋白质量浓度。

表 1 用高效液相色谱串联质谱 (HPLC - MS/MS) 法测定环泊酚在人肝微粒体中的精密度、准确度和提取回收率
Table 1 Precision, accuracy and extraction recovery of ciprofol in human liver microsomes by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (HPLC - MS/MS) method

Concentration (μg · mL ⁻¹)	Intra - day (n = 5)			Inter - day (n = 15)			Extraction recovery (% , $\bar{x} \pm s$)
	Measured	RSD	RE	Measured	RSD	RE	
	(μmol · L ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	(μmol · L ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
1.00	1.04 ± 0.06	6.10	4.02	1.01 ± 0.05	4.82	0.86	-
2.50	2.45 ± 0.06	2.56	-1.85	2.48 ± 0.08	3.39	-0.98	97.19 ± 10.86
10.00	10.08 ± 0.50	5.00	0.76	10.26 ± 0.70	6.84	2.64	99.62 ± 6.86
75.00	74.73 ± 2.73	3.65	-0.35	77.12 ± 3.33	4.32	2.83	92.69 ± 8.09

RSD: Relative standard deviation; RE: Relative error.

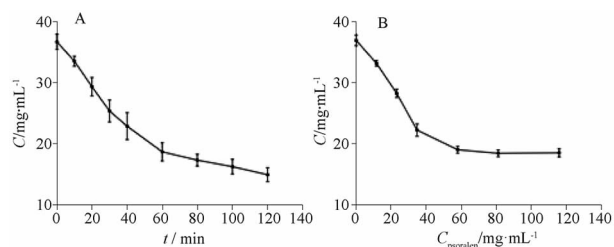


图2 孵育时间和蛋白质质量浓度对人肝微粒体中环泊酚代谢的影响

Figure 2 Effects of incubation time and concentration of protein on the metabolism of ciprofol in human liver microsomes

A: Various incubation times; B: Various concentrations of protein.

酶促反应动力学参数 环泊酚在人肝微粒体中代谢的 K_m 为 $37.81 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 95% 置信区间 (confidence interval, CI) 为 $37.50 \sim 46.60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; $V_{\max}$ 为 $41.54 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$, 95% CI 为 $30.15 \sim 47.95 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$; CL_{int} 为 $0.91 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

3 CYP2B6 灭活药对环泊酚代谢的影响

结果表明,补骨脂素和氯吡格雷可呈浓度依赖性抑制环泊酚在人肝微粒体中的代谢,见图 3A 和图 3C,其中,补骨脂素和氯吡格雷对环泊酚代谢的 IC_{50} 值分别为 30.25 和 $2.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,见图 3B 和图 3D,表现出轻度和中度抑制作用。

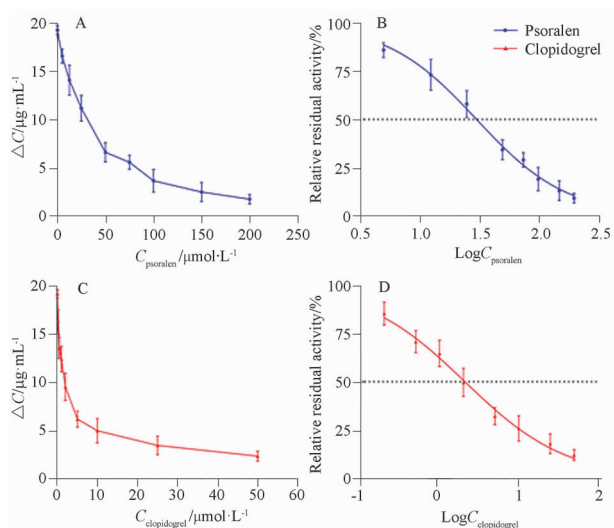


图3 细胞色素 P450 2B6 灭活药对环泊酚在人肝微粒体中代谢的影响

Figure 3 Effects of cytochrome P450 2B6 inactivators on the metabolism of ciprofol in human liver microsomes

A: Effects of psoralen on ΔC of ciprofol; B: Effects of psoralen on the activity of metabolic enzymes; C: Effects of clopidogrel on ΔC of ciprofol; D: Effects of clopidogrel on the activity of metabolic enzymes.

讨 论

环泊酚是我国自主研发的国家一类新药^[9-10]。本课题组曾建立测定环泊酚浓度的高效液相色谱分析方法,可应用于该药体外实验研究^[10-11]。但在该检测条件下,环泊酚与硫酸氢氯吡格雷出峰时间重合,且难以通过调整流动相的比例或 pH 实现分离,不适用于本研究中的测定。故建立 HPLC-MS/MS 分析方法,通过设定待测物的离子对,可以解决专属性上的问题。环泊酚与丙泊酚类似,常温条件下呈油状液体,极性较弱,完全溶解于甲醇和乙腈,不溶于水。用蛋白沉淀法,简便快捷,适用于大批量样品的处理。通过比较,乙腈作为沉淀蛋白剂的提取效率更高,且无杂峰干扰,比甲醇更具优势。此外,由于体外孵育样品数量较多,实验终止反应过程中逐个加入内标后再加入沉淀剂难以做到平行操作,样品之间的孵育时间差异较大。为此,本实验提前配制含有内标的反应终止液,不仅可以简化操作,减少孵育时间误差,也可以使内标的精密度显著提升。此外,4 倍孵育体系体积的冷反应终止溶液不仅可以充分沉淀蛋白,提高环泊酚的回收率,也能够更好地对环泊酚乳剂注射液实现破乳,经高速离心 15 min 后取上清液,即可达到进样要求。

既往实验曾基于大鼠肝微粒体孵育体系证明了补骨脂素对环泊酚代谢的抑制作用^[11],对环泊酚相关 DDIs 研究具有一定的参考价值。然而由于物种差异,大鼠体内的药物代谢酶可能和人体内显著不同^[12-13]。因此需要提供更为充分的证据来进一步评估 CYP2B6 灭活药与环泊酚在人体内的药物相互作用。参考国内外药物相互作用指导原则规定,建议首先用人肝细胞或肝微粒体在体外实验评估药物相互作用的潜力^[14-15]。因此,本文以既往研究为基础,选用人肝微粒体作为生物材料进行实验,避免了种属差异对实验结论可能产生的误导,提供了更具临床意义的理论依据。有研究曾选用 CYP2B6 探针药物安非他酮作为代谢底物,分别证明了补骨脂素和氯吡格雷能够中度和高度抑制重组人 CYP2B6 酶的活性^[5-6]。而本实验选择混合男性人肝微粒体,能够更为真实地反映肝中各代谢酶的组成,研究结果显示,补骨脂素和氯吡格雷能够对环泊酚代谢分别产生轻度和中度的影响。2 种 CYP2B6 灭活药对环泊酚和安非他酮代谢产生不同程度的影响可能与肝微粒体组成和底物经 CYP2B6 代谢比例的差异有关。

本实验通过建立环泊酚在人肝微粒体孵育体系中的代谢模型,分别考察了补骨脂素和氯吡格雷对环泊酚代谢的影响。结果表明 2 种药品可不同程度的抑制 CYP2B6 介导的环泊酚代谢,提示 CYP2B6 灭活药与环泊酚合并用药时可能使环泊酚的代谢减慢,导致体内药物暴露量增加,从而延长苏醒时间,增加术后并发症。拟用环泊酚注射液进行手术或检查的患者,如果正在接受补骨脂素或氯吡格雷治疗,临床应对此加强监护。本实验在肝微粒体孵育体系模拟了药物在肝的代谢过程。然而,考虑到体内外代谢环境存在较大差异,药物在体内的实际代谢过程比体外实验更复杂^[16-17],该实验结果仍存在一定的局限性。因此,仍有必要在临床研究中环泊酚相关 DDIs 做进一步验证。

参考文献:

- [1] QIN L L, REN L, WAN S L, *et al.* Design, synthesis, and evaluation of novel 2,6-disubstituted phenol derivatives as general anesthetics [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(9):3606—3617.
- [2] BIAN Y C, ZHANG H, MA S, *et al.* Mass balance, pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous HSK3486, a novel anaesthetic, administered to healthy subjects [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87(1):93—105.
- [3] ZHOU Y, DONG H, FAN J, *et al.* Cytochrome P450 2B6 and UDP-glucuronosyltransferase enzyme-mediated clearance of ciprofol (HSK3486) in humans: The role of hepatic and extrahepatic metabolism [J]. *Drug Metab Dispos*, 2024, 52(2):106—117.
- [4] YANG D, HU Y, RUAN Z, *et al.* Drug-drug interaction of ciprofol injectable emulsion with mefenamic acid capsules in healthy subjects [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2023, 89(10):3165—3174.
- [5] HOU L, ZHAO Y, ZHAO S, *et al.* Ciprofol is primarily glucuronidated by UGT1A9 and predicted not to cause drug-drug interactions with typical substrates of CYP1A2, CYP2B6, and CYP2C19 [J/OL]. *Chem Biol Interact*, 2024, 387: 110811. 2024-01-04 [2024-06-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37993078/>.
- [6] JI L, LU D, CAO J, *et al.* Psoralen, a mechanism-based inactivator of CYP2B6 [J/OL]. *Chem Biol Interact*, 2015, 240: 346—352. 2015-10-30 [2024-06-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26335194/>.
- [7] NISHIYA Y, HAGIHARA K, ITO T, *et al.* Mechanism-based inhibition of human cytochrome P450 2B6 by ticlopidine, clopidogrel, and the thiolactone metabolite of prasugrel [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(3):589—593.
- [8] 何文娟, 赵永红, 刘秀菊, 等. 姜黄素在大鼠和人肝微粒体中对细胞色素 P450 2C8 活性的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(7):683—687.
- [9] WHITE R E. High-throughput screening in drug metabolism and pharmacokinetic support of drug discovery [J/OL]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, 40:133—157. 2000-04-30 [2024-06-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10836130/>.
- [10] LU M, LIU J, WU X K, *et al.* Ciprofol: A novel alternative to propofol in clinical intravenous anesthesia? [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2023, 2023: 7443226. 2023-01-19 [2024-06-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36714027/>.
- [11] 路明, 李珊, 刘新岗, 等. 基于细胞色素 P450 2B6 酶的补骨脂素对环泊酚代谢的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(9): 1297—1301.
- [12] THOMAS J H. Rapid birth-death evolution specific to xenobiotic cytochrome P450 genes in vertebrates [J/OL]. *PLoS Genet*, 2007, 3(5):e67. 2007-05-11 [2024-06-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17500592/>.
- [13] FUJIWARA R, YODA E, TUKEY R H. Species differences in drug glucuronidation: Humanized UDP-glucuronosyltransferase 1 mice and their application for predicting drug glucuronidation and drug-induced toxicity in humans [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 33(1):9—16.
- [14] SUDSAKORN S, BAHADDURI P, FRETLAND J, *et al.* 2020 FDA Drug-drug interaction guidance: A comparison analysis and action plan by pharmaceutical industrial scientists [J]. *Curr Drug Metab*, 2020, 21(6):403—426.
- [15] 国家药品监督管理局 药品审评中心. 药物相互作用研究技术指导原则(试行) [EB/OL]. 2021-01-26 [2024-03-25]. <http://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/5a15b727e605482c1cf594c689bb994b>.
- [16] MIGLIORATI J M, LIU S, LIU A, *et al.* Absorption, distribution, metabolism, and excretion of US food and drug administration-approved antisense oligonucleotide drugs [J]. *Drug Metab Dispos*, 2022, 50(6):888—897.
- [17] LAI Y, CHU X, DI L, *et al.* Recent advances in the translation of drug metabolism and pharmacokinetics science for drug discovery and development [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(6): 2751—2777.

(收稿日期 2024-12-01)