

## · 综述 ·

## 丙戊酸钠基因组学的研究进展

周 浔<sup>1</sup>, 谭落娇<sup>2</sup>, 赵宏宇<sup>3</sup>, 高守红<sup>4</sup>(1. 海军军医大学附属长海医院药学部, 上海 200433; 2. 北京卫戍区驻京老干部局第四保障中心, 北京 100191; 3. 解放军 65589 部队, 黑龙江 大庆 163712; 4. 海军军医大学附属长征医院药学部, 上海 200003)

**【摘要】** 丙戊酸钠是临床常用广谱抗癫痫药物。该药治疗窗窄、代谢个体差异大, 体内代谢受多种因素影响, 其中, 药物代谢酶的遗传多态性是影响该药代谢的重要因素。通过查阅相关文献, 总结了基因组学对丙戊酸钠临床用药的影响, 为丙戊酸钠临床个体化给药提供参考。

**【关键词】** 丙戊酸钠; 基因组学; 群体药代动力学; 个体化治疗

**【中图分类号】** R965.3

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1006-0111(2020)01-0014-04

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1006-0111.201906018

## Research progress of valproic acid genomics

ZHOU Xun<sup>1</sup>, TAN Luojiao<sup>2</sup>, ZHAO Hongyu<sup>3</sup>, GAO Shouhong<sup>4</sup>(1. Department of Pharmacy, Changhai hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Fourth Comprehensive Support Center, Bureau of Retired Veteran Cadres in Beijing, Garrison District, Beijing 100191, China; 3. 65589 Troops of PLA, Daqing 163712, China; 4. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200003, China)

**【Abstract】** Valproic acid is a commonly used and broad-spectrum antiepileptic drug in clinical practice with a narrow therapeutic window. Valproic acid has a great individual difference in its metabolism which is influenced by many factors. The gene polymorphism of drug metabolic enzymes is one of the critical factors. Through consulting relevant articles, the affection of genomics and clinical treatment on valproic acid clinical application were reviewed in this paper, which provided a reference for clinical individualized treatment.

**【Key words】** valproic acid; genomics; population pharmacokinetic; individual treatment

癫痫是一组由大脑神经元异常放电引起的慢性脑部疾病, 具有突然发生、反复发作等特点。全世界癫痫患者约有 5 000 万人, 我国的总体患病率约 2.89%, 儿童为好发人群<sup>[1-3]</sup>。目前癫痫治疗仍以抗癫痫药物治疗为主, 患者需要长期甚至终身服药治疗。

丙戊酸钠(valproic acid, VPA)作为临床常用的一线抗癫痫药物, 对各种类型的癫痫均有疗效, 且广泛应用于其他神经系统性疾病<sup>[4]</sup>。VPA 由于起效快、复发率低、不良反应相对较少、单药治疗就可控制病情<sup>[5]</sup>等优点使其在癫痫的药物治疗中占有重要地位。但是, VPA 剂量和血药浓度存在个体差异大、治疗窗范围窄, 有效治疗浓度为 50~100 μg/ml,

常规用药可导致不同患者出现不同的临床疗效, 部分患者即使应用较小剂量, 其血药浓度仍会超过有效治疗浓度, 用药剂量和血药浓度之间不呈正相关<sup>[6-7]</sup>。此外, 肝毒性是 VPA 较严重的不良反应, 长期使用存在潜在的危害, 甚至会引发急性肝坏死<sup>[8]</sup>。大量研究证明, VPA 的血药浓度及肝毒性都与其体内代谢过程相关, VPA 体内代谢受多种因素影响, 而药物代谢酶的遗传多态性是导致药物血药浓度差异、影响 VPA 给药剂量的重要因素<sup>[9]</sup>。药物代谢酶的基因多态性对药物动力学的影响已成为研究的热点, 将药物基因组学应用到临床用药决策之中, 患者按照不同基因型分组, 分别施药, 可提高药物疗效, 降低不良反应的发生, 为临床实现真正意义上“量体裁衣”式的个体化给药提供参考。

### 1 VPA 在体内的代谢过程

VPA 是短链脂肪酸, 口服吸收迅速, 生物利用度>80%, 与蛋白结合率为 85%~95%。VPA 在体内

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81302856); 上海市科学技术委员会计划项目(13ZR1413800)

**【作者简介】** 周 浔, 药师, Email: 41396868@qq.com

**【通讯作者】** 高守红, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 药物分析与临床药学, Tel: (021)51322403, Email: gaoshouhong@126.com

约 97% 在肝脏内代谢, 主要有 3 条代谢途径: 40% 是在线粒体内进行 I 相  $\beta$ -氧化; 50% 是通过 II 相结合反应被尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGT) 酸化代谢成无活性的产物, UGT 主要的代谢酶为 UGT1A9、UGT1A6 及 UGT2B7; 仅 10% 是

通过参与细胞色素 P450(CYP450) 介导的  $\omega$ -氧化代谢被催化为各种衍生物, 1%~3% 以原型药的形式从肾脏排出, 少量经胆汁、肠道和呼吸排出<sup>[10-12]</sup>。对 VPA 的代谢产物途径与相关代谢酶及部分代谢产物总结如表 1 所示。

表 1 VPA 的部分代谢途径与相关代谢酶及部分代谢产物

代谢途径	主要相关代谢酶	代谢产物
$\beta$ -氧化	过氧化物酶(线粒体内)	2-烯-丙戊酸钠, 3-羟基-丙戊酸钠,
	CYP2C9, CYP2A6, CYP2B6	4-烯-丙戊酸钠
	CYP2A6, CYP2C9, CYP2B6	5-羟基-丙戊酸钠
$\omega$ -氧化代谢	CYP2A6	3-羟基-丙戊酸钠
	CYP2A6, CYP2C9, CYP2B6	4-羟基-丙戊酸钠
	UGT1A9, UGT2B7, UGT1A6	丙戊酸钠-G
UGT酸化		

## 2 基因多态性对 VPA 血药浓度的影响

### 2.1 CYP450 酶对 VPA 血药浓度的影响

CYP450 酶主要在肝脏内表达且是 VPA 的重要代谢酶<sup>[13-14]</sup>, 目前研究的热点是 CYP450 酶的遗传多态性, 不同基因型可造成血药浓度的差异。韩瑞玲<sup>[15]</sup> 在 177 例癫痫患者的研究中发现: 携带 CYP2C9\*3 野生型患者的 VPA 标准化血药浓度显著低于携带杂合子突变型, 携带 CYP2C19 野生型基因 (\*1/\*1) 患者 (40.7%) 其标准化血药浓度为 (2.69±0.48)  $\mu\text{g/ml}$ , 携带 CYP2C19 突变型基因 (\*1/\*2 和 \*1/\*3, 43.5%) 和 (\*2/\*2、\*2/\*3 和 \*3/\*3, 15.8%) 患者的标准血药浓度分别为 (2.71±0.33)  $\mu\text{g/ml}$  和 (3.78±1.08)  $\mu\text{g/ml}$ ; 此结果在一项 228 例服用 VPA 的癫痫患儿研究中得到重现<sup>[16]</sup>。Tan<sup>[17]</sup> 等在 179 例服用 VPA 癫痫患者的研究中也发现: 携带 CYP2C9\*3 野生型患者的 VPA 标准化血药浓度显著低于携带杂合子突变型; 谭喜莹<sup>[18]</sup> 等对 40 例癫痫患者基因多态性的研究中得出同样结果。廖清船<sup>[19]</sup> 等在研究 CYP2C9 和 CYP2C19 时发现, 携带突变型基因的患者血药浓度高于野生型患者。Tan<sup>[17]</sup> 等发现携带 CYP2A6\*4 等位基因的患者其 VPA 血药浓度比非携带者高, 同时, 该研究还显示 CYP2B6\*6 野生型携带者其 VPA 血药浓度显著低于纯合子突变型携带者; 孙妍萍<sup>[20]</sup> 等研究也显示 CYP2A6\*4 (25.5%) 等位基因血药浓度高于野生型患者, 携带等位基因患者使用剂量应低于常规剂量, 避免发生不良反应。此外, 谭兰<sup>[21]</sup> 在研究中发现 CYP2A6\*4 等位基因携带者血药浓度明显高于非等位基因携带者, CYP2B6\*6 (24.3%) 等位基因

(4.12±0.34)  $\text{mg/ml}$  明显比野生型 (3.07±0.28)  $\text{mg/ml}$  携带者高。

虽然 VPA 只有 10% 的代谢途径 CYP450 酶, 但 CYP450 酶基因多态性对 VPA 的血药浓度影响较大, 对服用 VPA 的癫痫患者应考虑基因型是否突变, 对携带基因突变的患者应适当降低用药剂量以避免不良反应的发生。

### 2.2 UGT 酶对 VPA 血药浓度的影响

在 VPA II 相代谢中, 最主要的酶是 UGT 酶, 它广泛分布于各种组织, 肝脏中此酶的活性最高, 许多药物都是由 II 相反应被 UGT 酶代谢, VPA 经 UGT 酶催化结合生成 VPA-G, 然后经肾脏滤过尿液排出体外<sup>[22]</sup>。由于 UGT1A3、UGT1A4、UGT1A9 对 VPA-G 的贡献较小, 所以对这些基因多态性的研究甚少, 而 UGT1A6 和 UGT2B7 在 VPA 代谢中起非常重要的作用, 因此对后两种酶的研究较多<sup>[23-24]</sup>。

谭喜莹<sup>[25]</sup> 等在对 40 例癫痫患者 UGT1A6 基因多态性与血药浓度关系中得出, UGT1A6 552A>C 等位基因的突变率为 26.25%, 携带突变基因型的患者标准血药浓度明显低于野生型患者, 该突变导致 VPA 血药浓度降低; Guo 等<sup>[26]</sup> 的研究也发现 UGT1A6 位点 (552A>C/19T>G/541A>G) 中携带等位突变型患者标准化血药浓度 (2.02±1.01)  $\mu\text{g/ml}$  显著低于野生型 (4.01±2.10)  $\mu\text{g/ml}$ 。Inoue 等<sup>[27]</sup> 研究 UGT2B7 -161C>T 中揭示携带突变型基因 (CT、TT) 的患者血药浓度 (5.10±1.32)  $\mu\text{g/ml}$ 、(6.19±2.00)  $\mu\text{g/ml}$  明显高于携带野生型 (CC) 的患者 (4.59±1.58)  $\mu\text{g/ml}$ ; 孙银香等<sup>[28]</sup> 对 102 例癫痫患者, 研究 UGT2B7 802C>T 基因多态性对 VPA 血药浓度影响中发现: 携带突变基因 (CT、TT, 23.5%) 的标准

化血药浓度(2.11±1.26)μg/ml、(2.31±1.25)μg/ml 与野生型(CC)(3.02±1.32)μg/ml 比较显著偏低;马虹英等<sup>[29]</sup>在一项 248 名患者的研究中也揭示了 UGT2B7 268A>G(69.95%)影响患者血药浓度,与上述研究结果一致。

以上研究表明:UGT 酶多个家族不同位点对 VPA 的血药浓度都有显著影响。因此,临床上针对癫痫患者给予 VPA 时,也需要考虑患者的 UGT 基因多态性对药物代谢的影响,适当调整给药剂量以避免不良反应的发生。

### 3 基因多态性与肝毒性的研究

VPA 常见不良反应为肝损害及神经系统副作用,少数患者甚至出现肝坏死。目前诱发肝毒性的机制尚不清楚,有研究证实 VPA 的肝毒性与代谢产物 4-ene-VPA 有关,4-ene-VPA 能通过抑制线粒体脂肪酸的 β-氧化,还能通过各种代谢途径与谷胱甘肽反应,使其大量消耗降低机体的抗氧化能力,进而产生肝毒性<sup>[30]</sup>。课题组前期在对 VPA 及其代谢产物对体外肝细胞的研究中发现,VPA 及其 3 个代谢产物(4-ene-VPA、3-OH-VPA 和 5-OH-VPA)都与肝毒性有关,且随着 VPA 及其 3 个代谢产物的浓度增加,对肝细胞的抑制也逐渐增加<sup>[31]</sup>。CYP450 酶系和 UGT 酶系是 VPA 的主要代谢酶,遗传因素对 VPA 代谢的影响也受到重视。

Zhao 等<sup>[32]</sup>在一项 CYP2C9 对 VPA 肝毒性代谢产物的影响研究中发现,纯合子和杂合子 CYP2C9\*2 和 CYP2C9\*3 基因型可能会损害肝脏中 VPA 的生物转化。李新林等<sup>[33]</sup>选取 79 例单用 VPA 肝功能异常的癫痫患者,200 例单用 VPA 肝功能正常的癫痫患者,结果发现肝功能异常组 CYP2A6 突变率高于正常对照组,两组患者中,CYP2A6\*4 突变患者标准化 VPA 血药浓度高于野生型携带者,结果具有统计学意义,说明 CYP2A6 基因突变可能与 VPA 肝毒性有关;有研究表明:体内肉毒碱和辅酶 A 缺陷都是 VPA 产生肝毒性代谢产物的可能原因<sup>[34-35]</sup>。Saruwatari 等<sup>[36]</sup>在一项包含 207 例患者的临床研究中发现,超氧化物歧化酶(SOD2)rs4880 C>T 位点中,患者 SOD2 基因型为 Val/Val,则在使用 VPA 时存在较高的 γ-谷氨酰胺转移酶升高风险;陈卓佳等<sup>[37]</sup>在一项包含 91 例单用 VPA 的癫痫患者研究中发现:携带脂酰辅酶 A 中链家族 2A (ACSM 2A) 突变型患者的 4-烯-VPA 标准稳态谷浓度低于野生型患者,且发生肝毒性的风险较小,携带肉毒碱棕榈酰转移酶 IA

(CPT 1A) 突变型患者 4-烯-VPA 标准稳态谷浓度高于野生型患者。

以上研究表明:基因多态性与肝毒性有重要的相关性,对服用 VPA 的患者进行相关基因检测,适当增加或降低给药剂量可有助于保证患者疗效,对预警肝毒性不良反应的发生,指导临床安全用药具有重要意义。

### 4 基因多态性与个体化给药研究

VPA 在体内的代谢主要是经 CYP450 酶和 UGT 酶介导,药物代谢酶的遗传多态性是导致个体差异的重要因素,因此将基因多态性应用于群体药代动力学(PPK)参数中,根据不同基因型进行个体化给药的研究也成为一种热点,建立 PPK 模型,考察基因型、体重、年龄等对清除率(CL/F)的影响,估算出清除率等 PPK 参数,为临床个体化给药提供依据。

目前已有研究者建立了包含基因型为固定效应因素的丙戊酸钠 PPK 模型。王化明等<sup>[38]</sup>回顾性收集 111 例服用 VPA 的癫痫患者资料,考察固定效应因素对 VPA 清除率的影响,发现 CYP2A6 野生型比 CYP2A6 突变型患者的 VPA 清除率高,用非线性效应混合模型(NONMEM)建立了包含 CYP2A6 基因型的最终 PPK 模型:

$$CL/F = 0.363 \times DDO^{0.525} \times 1.29^{GYENE\ CYP2A6}$$

Jiang 等<sup>[39]</sup>收集了包含 287 例服用 VPA 的癫痫患者,用 NONMEM 法建立了包含 CYP2C19\*2/\*3 和 CYP2C9\*3 基因型的 PPK 最终模型:

$$CL/F = 0.0951 \times [1 + e^{0.0267 \times (3 - genotype)}] + 0.0071 \times \text{年龄} (L/h)$$

用 NONMEM 软件可以更准确的得出 CYP2C9 和 CYP2C19 对 VPA 的代谢有显著影响。有研究还发现 VPA 在体内的代谢可能与 CYP2D6、UGT1A3、UGT1A4 及 UGT1A9 等基因多态性有关,但由于这方面研究较少,因此,将这些基因多态性作为影响因素引入 PPK 模型的有关研究尚未见报道。

### 5 小结

VPA 作为临床上常用的一线广谱抗癫痫药,由于其治疗窗窄、个体差异大,超过有效治疗血药浓度易发生不良反应,需要进行治疗药物监测,其目的就是实现临床个体化给药,PPK 的研究是设计个体化给药方案的有效方法。将药物基因多态性



因素引入 PPK 模型, 不仅能研究一般生物学特征对药物代谢的影响, 还能定量考察基因多态性对药物代谢的影响, 指导临床开出“基因合适”的处方, 使患者得到最佳治疗效果, 预警患者发生肝损伤不良反应, 从而达到真正的“个体化用药”目的。现在大部分研究集中在 CYP2C9、CYP2C19、CYP2A6、CYP2B6、UGT2B7 和 UGT1A6 等基因多态性对 VPA 代谢的影响, 而将基因多态性引入到 PPK 模型中的研究较少, 对影响 VPA 药物代谢的 CYP450 酶和 UGT 酶的遗传多态性在 VPA 疗效和不良反应还有待更进一步深入的研究, UGT 代谢酶基因多态性的研究及将药物基因组学引入 PPK 模型中是未来值得研究的热点。

### 【参考文献】

- [1] 张小伟. 新型抗癫痫药物的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(33): 180-181.
- [2] 陈玲, 苗苗, 刘俊. 癫痫患者丙戊酸血清浓度监测及与临床疗效的关联性分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2015, 15(12): 1613-1616.
- [3] SONG P G, LIU Y Z, YU X W, et al. Prevalence of epilepsy in China between 1990 and 2015: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Glob Health*, 2017, 7(2): 020706.
- [4] TOMSON T, BATTINO D, PERUCCA E. The remarkable story of valproic acid[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(2): 141.
- [5] 闫秋艳, 朱乐亭, 赵志刚, 等. 233例丙戊酸血药浓度监测结果分析[J]. *中国药师*, 2018, 21(2): 264-267.
- [6] 朱明媚, 景霞, 孙芳, 等. CYP2C9、CYP2A6基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(1): 40-43, 47.
- [7] WANG W Z, WU J Z, LI S C, et al. Sodium valproate for epilepsy in rural China: an efficacy and safety assessment in primary care[J]. *Epilepsy Res*, 2012, 102(3): 201-205.
- [8] 王灿, 马虹英, 王方杰, 等. 丙戊酸肝毒性的早期预警及预防研究状况[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(2): 150-154.
- [9] KOUGA T, SHIMBO H, IAI M, et al. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome[J]. *Brain Dev*, 2015, 37(2): 243-249.
- [10] 沈建玲, 李惠英, 任丹阳, 等. 丙戊酸的相关代谢酶基因多态性研究进展[J]. *海峡药学*, 2019, 31(4): 100-103.
- [11] GHODKE-PURANIK Y, THORN C F, LAMBA J K, et al. Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2013, 23(4): 236-241.
- [12] 储小曼, 郭岑, 张丽芳. 丙戊酸的代谢特征与其肝毒性的相关性[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(19): 1611-1614.
- [13] DORADO P, LÓPEZ-TORRES E, PEÑAS-LLEDÓ E M, et al. Neurological toxicity after phenytoin infusion in a pediatric patient with epilepsy: influence of CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genetic polymorphisms[J]. *Pharmacogenomics J*, 2013, 13(4): 359-361.
- [14] SABIN O, TRIFA A P, BRUSTUREAN E, et al. Study of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Romanian epilepsy population[J]. *Human Veterin Med*, 2013, 5(3): 77-81.
- [15] 韩瑞玲, 李艳, 吴薇. 癫痫患者CYP2C19基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. *神经损伤与功能重建*, 2015, 10(4): 295-297.
- [16] 冯亚娟, 周建华, 刘科兰, 等. 丙戊酸代谢相关CYP2C19基因多态性在癫痫患儿体内的分布及治疗个体化研究[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(5): 49-52.
- [17] TAN L, YU J T, SUN Y P, et al. The influence of cytochrome oxidase CYP2A6, CYP2B6, and CYP2C9 polymorphisms on the plasma concentrations of valproic acid in epileptic patients[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2010, 112(4): 320-323.
- [18] 谭喜莹, 张宇, 王淑云, 等. CYP2C9与CYP2C19基因多态性与癫痫患者丙戊酸血药浓度关系研究[J]. *药学与临床研究*, 2011, 19(2): 123-126.
- [19] 廖清船, 史菁菁, 张永, 等. 细胞色素P450酶2A6、2B6、2C9及2C19基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. *中华神经科杂志*, 2013, 46(2): 82-86.
- [20] 孙妍萍, 谭兰, 宋敬卉. CYP2A6基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. *中华神经科杂志*, 2006, 39(11): 745-747.
- [21] 谭兰, 郁金泰, 欧江荣, 等. 细胞色素P450等位基因多态性与丙戊酸钠血药浓度的相关性[J]. 临床神经病学杂志, 2009, 22(3): 168-171.
- [22] 文志鹏, 肖坚, 陈小平. 丙戊酸的药物基因组学研究进展[J]. *中南药学*, 2016, 14(5): 526-531.
- [23] CHATZISTEFANIDIS D, GEORGIU I, KYRITSIS A P, et al. Functional impact and prevalence of polymorphisms involved in the hepatic glucuronidation of valproic acid[J]. *Pharmacogenomics*, 2012, 13(9): 1055-1071.
- [24] MEI S H, FENG W X, ZHU L T, et al. Effect of CYP2C19, UGT1A8, and UGT2B7 on valproic acid clearance in children with epilepsy: a population pharmacokinetic model[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2018, 74(8): 1029-1036.
- [25] 谭喜莹, 张小萍, 邱召娟. UGT1A6基因多态性与癫痫患者丙戊酸血药浓度相关性研究[J]. *药学与临床研究*, 2014, 22(4): 299-301.
- [26] GUO Y J, HU C, HE X J, et al. Effects of UGT1A6, UGT2B7, and CYP2C9 genotypes on plasma concentrations of valproic acid in Chinese children with epilepsy[J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2012, 27(5): 536-542.
- [27] INOUE K, SUZUKI E, YAZAWA R, et al. Influence of uridine diphosphate glucuronosyltransferase 2B7 -161C >T polymorphism on the concentration of valproic acid in pediatric epilepsy patients[J]. *Ther Drug Monit*, 2014, 36(3): 406-409.
- [28] 孙银香, 卓文燕, 林虹, 等. UGT2B7 C802T和G211T基因多态性对癫痫患者丙戊酸代谢的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(3): 216-219.
- [29] 马虹英, 张婷, 龚志成, 等. UGT2B7基因多态性对丙戊酸血药浓度的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2013, 38(8): 766-772.
- [30] SURENDRADOSS J, CHANG T K, ABBOTT F S. Assessment of the role of *in situ* generated(E)-2, 4-diene-valproic acid in the toxicity of valproic acid and(E)-2-ene-valproic acid in sandwich-cultured rat hepatocytes[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264(3): 413-422.

正交试验结果显示,其最佳提取工艺参数为超声提取时间 10 min, 超声温度 60 ℃, 乙醇比例 50%; 响应曲面法则通过回归模型对复方金钱草颗粒提取工艺参数进行预测, 得到其预测的最佳参数为: 超声提取时间 10 min, 超声温度 55 ℃, 乙醇比例 55%, 通过两种试验方法得到的参数基本一致, 且通过响应曲面法预测得到的峰面积之和更大。综上所述, 我们选择工艺参数为: 超声提取时间 10 min, 超声温度 55 ℃, 乙醇比例 55%, 并在此提取条件下进行验证, 其 UHPLC-TOF/MS 图谱中峰面积之和平均值为 77 978 123.33, 说明该模型稳定可靠, 可以用于复方金钱草颗粒的提取。

由于前期采用水提法提取复方金钱草颗粒, 导致水溶性小的成分没有被完全提取出来, 故而改进方法, 采用一定比例的乙醇溶液为提取溶剂, 并且优化了最佳提取时间和温度, 使得其指标性有效成分都能被有效提取, 并为后续复方金钱草的药效和药理研究提供可靠的方法依据。

### 【参考文献】

[1] 甘星, 许远斌, 马治平, 等. 复方金钱草颗粒治疗急性输尿管结石临床研究[J]. 河南中医, 2015, 35(10): 2539-2541.  
 [2] 朱陈辉, 黄海文, 高绍青, 等. 体外冲击波联合复方金钱草颗粒、哈乐在治疗经皮肾镜碎石术后残石的临床疗效分析[J]. 中国医药科学, 2019, 9(2): 226-230.  
 [3] 周军, 韦桂宁, 吴超伟, 等. 复方金钱草颗粒对肾结石的影响及其利尿、解痉、抗炎作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 206-209.

[4] 崔建敏, 裴保方. 广金钱草多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 新乡医学院学报, 2014, 31(12): 986-989.  
 [5] 刘学, 崔健, 陈新. 广金钱草现代研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2006, 22(4): 84-85.  
 [6] 范文昌, 梅全喜, 赖海标. 广金钱草的药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(31): 2961-2963.  
 [7] 张雪芹, 曲玮, 梁敬钰. 车前草化学成分和药理作用研究进展[J]. 海峡药学, 2013, 25(11): 1-8.  
 [8] 钟鸣, 柴玲. 广金钱草化学成分及药理作用研究进展[J]. 广西医学, 2018, 40(1): 80-82.  
 [9] 李锐. 广金钱草化学成分及分析方法的研究进展[J]. 中国药业, 2009, 18(16): 86-87.  
 [10] MALINI M M, LENIN M, VARALAKSHMI P. Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal-induced peroxidative changes in experimental urolithiasis[J]. Pharmacol Res, 2000, 41(4): 413-418.  
 [11] ZHOU J F, JIN J, LI X, et al. Total flavonoids of *Desmodium styracifolium* attenuates the formation of hydroxy-L-proline-induced calcium oxalate urolithiasis in rats[J]. Urolithiasis, 2018, 46(3): 231-241.  
 [12] 李惠芝, 庄利民. 广金钱草抑制一水草酸钙结晶生长有效成分的研究[J]. 沈阳药学院学报, 1992, 9(3): 194-195.  
 [13] 杨蓉, 郑虎占. 中药煎煮法的现代研究概况[J]. 中国医药科学, 2012, 2(17): 44-46.  
 [14] 李婷, 陈文学, 田娟娟, 等. 加热回流法提取草果中抗氧化成分的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(8): 23-26.  
 [15] 王秋红, 赵珊, 王鹏程, 等. 半仿生提取法在中药提取中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(18): 187-191.  
 [16] 郭澄, 张纯, 林厚文, 等. 正交试验在中药制剂研究中应用[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(4): 360-362.

【收稿日期】 2019-10-08 【修回日期】 2019-12-05

【本文编辑】 李睿旻

(上接第 17 页)

[31] 谢新芳, 温燕, 高守红, 等. 丙戊酸钠及其代谢产物的体外肝毒性研究[J]. 药学实践杂志, 2017, 35(1): 43-47, 53.  
 [32] ZHAO M M, ZHANG T, LI G F, et al. Associations of CYP2C9 and CYP2A6 polymorphisms with the concentrations of valproate and its hepatotoxic metabolites and valproate-induced hepatotoxicity[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2017, 121(2): 138-143.  
 [33] 李新林, 张媿, 周敬凯, 等. CYP2A6基因多态性对丙戊酸肝毒性的影响[C]/第四届全国治疗药物监测学术年会论文集. 长沙, 2014: 44.  
 [34] JAFARIAN I, ESKANDARI M R, MASHAYEKHI V, et al. Toxicity of valproic acid in isolated rat liver mitochondria[J]. Toxicol Mech Methods, 2013, 23(8): 617-623.  
 [35] CHEN Z J, WANG X D, WANG H S, et al. Simultaneous determination of valproic acid and 2-propyl-4-pentenoic acid for the prediction of clinical adverse effects in Chinese patients

with epilepsy[J]. Seizure, 2012, 21(2): 110-117.

[36] SARUWATARI J, DEGUCHI M, YOSHIMORI Y, et al. Superoxide dismutase 2 Val16Ala polymorphism is a risk factor for the valproic acid-related elevation of serum aminotransferases[J]. Epilepsy Res, 2012, 99(1-2): 183-186.  
 [37] 陈卓佳, 王雪丁, 王红胜, 等. ACSM 2A和CPT 1A基因多态性与丙戊酸所致不良反应的相关性研究[C]. 第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议论文集, 2012: 232-233.  
 [38] 王化明, 赖萍, 谢娟. 用NONMEM法建立癫痫患者丙戊酸群体药代动力学模型[J]. 今日药学, 2012, 22(1): 1-6.  
 [39] JIANG D C, BAI X R, ZHANG Q X, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed-effect modeling[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2009, 65(12): 1187-1193.

【收稿日期】 2019-06-10 【修回日期】 2019-10-11

【本文编辑】 李睿旻