大鼠血浆中氯吡格雷及其代谢物的测定方法建立与药动学研究Δ

易　欢*，苗　兰，任常英，林　力，孙明谦，彭　勍，张　颖#，刘建勋（中国中医科学院西苑医院基础医学研究所/北京市中药药理重点实验室，北京　100091）

中图分类号　R969.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）13-1599-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.13.08

摘　要　目的　建立大鼠血浆中氯吡格雷（CLP）、氯吡格雷羧酸（CLP-C）、氯吡格雷酰基-β-D-葡糖醛酸（CLP-G）以及含巯基的氯吡格雷活性代谢产物（CAM）的含量测定方法，并研究其体内药动学特征。**方法**　以Shisedo CAPCELL ADME为色谱柱，水和乙腈（均含0.1%甲酸）为流动相进行梯度洗脱，流速为0.4 mL/min，柱温为20 ℃，进样量为2 μL；质谱检测采用电喷雾离子源，在正离子模式下进行多反应监测，离子对分别为*m/z* 322.1→211.9（CLP）、*m/z* 308.1→197.9（CLP-C）、*m/z* 322.1→154.8（CLP-G）、*m/z* 504.1→154.9[外消旋CAM衍生物（CAMD）]。取6只大鼠单次灌胃CLP（10 mg/kg），分别于给药前和给药后0.08、0.33、0.66、1、2、4、6、10、23、35 h时收集血样，采用上述建立的方法检测血清中各成分含量，并利用WinNonlin 6.1软件计算药动学参数。**结果**　CLP、CLP-C、CAMD的质量浓度分别在0.08～20.00、205.00～8 000.00、0.04～25.00 ng/mL范围内线性关系良好（r≥0.990），日内、日间精密度试验的RSD均小于15%，准确度的RE为－11.68%～14.40%，基质因子的变异系数均小于15%，符合生物样品分析方法要求。药动学研究结果显示，单次灌胃CLP后，大鼠血浆中原型CLP暴露量极低，其药-时曲线下面积（$AUC_{0\text{-}35\,h}$）、峰浓度均小于或低于各代谢物；活性代谢物CAM的$AUC_{0\text{-}35\,h}$约为CLP的43倍，但半衰期较短（2.53 h）；无活性代谢物CLP-C的暴露量最高，但达峰最迟且清除缓慢；CLP-G的$AUC_{0\text{-}35\,h}$约为CAM的4倍，其半衰期与CLP-C近似。**结论**　本研究成功建立了测定CLP及其3种代谢产物含量的液相色谱串联质谱法，并揭示了其在大鼠体内的药动学特征，即原型药物CLP可被迅速清除，而无活性代谢物CLP-C与CLP-G均呈长半衰期特性，活性代谢物CAM呈短暂暴露模式。

关键词　氯吡格雷；代谢产物；液相色谱串联质谱法；药动学；血药浓度

Determination method of clopidogrel and its metabolites in rat plasma and its pharmacokinetic study

YI Huan, MIAO Lan, REN Changying, LIN Li, SUN Mingqian, PENG Qing, ZHANG Ying, LIU Jianxun (Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica/Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a method for determining the contents of clopidogrel (CLP), clopidogrel carboxylate (CLP-C), clopidogrel acyl-β-D-glucuronide (CLP-G) and contents of clopidogrel active metabolite (CAM) in rat plasma, and to investigate their *in vivo* pharmacokinetic characteristics. **METHODS** The Shisedo CAPCELL ADME column was used with a mobile phase consisting of water and acetonitrile (both containing 0.1% formic acid) in a gradient elution. The flow rate was 0.4 mL/min, and the column temperature was maintained at 20 ℃. The injection volume was 2 μL. The analysis was performed in positive ion mode using electrospray ionization with multiple reaction monitoring. The ion pairs for quantitative analysis were *m/z* 322.1→211.9 (for CLP), *m/z* 308.1→197.9 (for CLP-C), *m/z* 322.1→154.8 (for CLP-G), *m/z* 504.1→154.9 [for racemic CAM derivative (CAMD)]. Six rats were administered a single intragastric dose of CLP (10 mg/kg). Blood samples were collected before medication and at 0.08, 0.33, 0.66, 1, 2, 4, 6, 10, 23 and 35 hours after medication. The established method was used to detect the serum contents of various components in rats. Pharmacokinetic parameters were then calculated using WinNonlin 6.1 software. **RESULTS** The linear ranges for CLP, CLP-C and CAMD were 0.08-20.00, 205.00-8 000.00, and 0.04-25.00 ng/mL, respectively (r≥0.990). The relative standard deviations for both intra-day and inter-day precision tests were all less than 15%, and the relative errors for accuracy ranged from －11.68% to 14.40%. The coefficients of variation for the matrix factors were all less than 15%, meeting the requirements for bioanalytical method validation. The results of the pharmacokinetic study revealed that, following a single intagastric administration of CLP in rats, the exposure to the parent CLP in plasma was extremely low. Both the area under the drug concentration-time curve ($AUC_{0\text{-}35\,h}$) and the peak concentration of the parent CLP were lower than those of its metabolites. The $AUC_{0\text{-}35\,h}$ of the active metabolite CAM was approximately 43 times that of CLP, though it had a shorter half-life (2.53 h). The inactive metabolite CLP-C exhibited the highest exposure level, but it reached its peak concentration the latest and was eliminated slowly. The $AUC_{0\text{-}35\,h}$ of CLP-G was about four times that of CAM, and its half-life was similar to that of CLP-C. **CONCLUSIONS** This study successfully established

Δ**基金项目**　国家自然科学基金项目（No.81873179）；北京市研究型病房卓越临床研究计划平行项目（No.BRWEP2024Z014170102）；中国中医科学院科技创新工程项目（No.CI2021A04906）

＊**第一作者**　博士研究生。研究方向：药物代谢动力学。E-mail：cathrine97@163.com

#**通信作者**　教授，博士生导师，博士。研究方向：药物代谢动力学。E-mail：zhyingde@sina.com

an liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of CLP and its three metabolites, and revealed their pharmacokinetic characteristics in rats. Specifically, the parent drug CLP was rapidly eliminated, while the inactive metabolites CLP-C and CLP-G exhibited long half-lives, and active metabolite CAM displayed a transient exposure pattern.
KEYWORDS clopidogrel; metabolites; liquid chromatography-tandem mass spectrometry method; pharmacokinetics; plasma concentration

氯吡格雷(clopidogrel,CLP)是一种噻吩并吡啶类抗血小板药物,在急性冠脉综合征预防、经皮冠状动脉介入治疗及缺血性脑卒中血栓防治中具有重要临床意义。该药说明书指出,约85%的CLP通过羧酸酯酶Ⅰ水解为无活性代谢物氯吡格雷羧酸(clopidogrel carboxylate,CLP-C),随后经Ⅱ相代谢生成氯吡格雷酰基-β-D-葡糖醛酸(clopidogrel acyl-β-D-glucuronide,CLP-G),且只有约15%的CLP经过细胞色素P450酶(cytochrome P450,CYP450)转化为含巯基的氯吡格雷活性代谢产物(clopidogrel active metabolite,CAM);后者通过与血小板表面P2Y12受体结合,抑制血小板聚集,从而发挥抗血小板作用[1-2]。

CLP的药动学特征非常复杂,其原型药物在血浆中的浓度较低,其代谢产物CLP-C在血浆中的浓度较高[3]。虽然早期研究表明,CLP-C与CLP临床药效的相关性较弱[4-5],但另有研究指出,羧酸酯酶Ⅰ的活性变化会影响CLP-C的浓度,从而间接影响CLP的临床疗效[6]。由此可见,对CLP原型药物及其活性/无活性代谢物的浓度变化进行同时监测,对于阐明其体内代谢规律、优化给药方案及评估临床疗效至关重要。目前,虽然已有关于CLP的代谢研究[7-9],但是关于CLP、CLP-C、CLP-G及CAM的暴露特征及药动学参数的研究仍然缺乏,而这一研究对连接基础研究与临床转化具有重要作用。基于此,本研究拟建立同时测定CLP、CAM、CLP-C及CLP-G含量的液相色谱串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry,LC-MS/MS)法,并基于该方法分析上述成分在大鼠体内的代谢特征,以期为CLP的临床应用提供实验参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用质谱系统为API 4000 QTRAP,配有Turbo V™离子源仓、离子喷雾和大气压电离离子源以及Analysis 1.4.2数据处理系统,购自美国Applied Biosystems公司;液相色谱系统为Agilent 1200,配有G1379B脱气机、G1312A二元泵等,购自美国Agilent公司;DW-FL362型超低温冰箱购自长虹美菱股份有限公司;MS205DU型电子分析天平购自瑞士Mettler Toledo公司。

1.2 药品与试剂

CLP对照品(批号100819-201504,纯度99.9%)、氯雷他定(loratadine,LTD)对照品(内标,批号100615-201404,纯度99.9%)购自中国食品药品检定研究院;CLP-C对照品(批号11-ZCA-53-1,纯度98.0%)、外消旋CAM衍生物(racemic CAM derivative,CAMD)对照品(批号5-MNZ-188-22,纯度98.0%)均购自加拿大Toronto Research Chemicals公司;2-溴-3′-甲氧基苯乙酮(2-bromo-3′-methoxyacetophenone,MPB;批号STBF4711V,纯度98.0%)购自美国Sigma-Aldrich公司;硫酸氢氯吡格雷片(批号7A505,规格75 mg)购自赛诺菲(杭州)制药有限公司;质谱纯甲酸购自美国J.T.Baker公司;色谱纯甲醇和乙腈购自美国Thermo Fisher Scientific公司;其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠,体重(180±10)g,购自北京维通利华生物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2021-0006。所有大鼠均饲养于中国中医科学院西苑医院动物室,实验期间自由进食、饮水。本研究经中国中医科学院西苑医院医学伦理委员会批准,伦理批件号为2024XLC005-2。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品储备液

精密称取CLP、CLP-C、CAMD对照品各1 mg,分别加入乙腈溶解成质量浓度为1 mg/mL的单一对照品储备液,置于−35 ℃冰箱中保存,待用。

2.1.2 内标溶液

精密称取LTD对照品1 mg,加入乙腈溶解成质量浓度为1 mg/mL的内标储备液;取内标储备液适量,以乙腈稀释,制成质量浓度为25 ng/mL的内标溶液。

2.2 标准血浆样品和质控血浆样品的制备

分别取CLP、CAMD对照品储备液适量,以乙腈稀释,得到质量浓度均为20 μg/mL的单一对照品溶液。取上述单一对照品溶液及CLP-C对照品储备液适量,置于同一容量瓶中,以乙腈稀释,制成CLP、CAMD、CLP-C质量浓度分别为0.20、0.25、80 μg/mL的标准混合工作液。取上述标准混合工作液适量,以空白血浆(提前加入4%MPB)稀释10倍,混匀,得到各成分质量浓度分别为20.00、25.00、8 000.00 ng/mL的标准血浆样品。另取空白血浆适量,加入不同质量浓度的标准混合工作液,配制成各成分定量下限和低、中、高质量浓度的质控血浆样品(即QC样品)。

2.3 血浆样品的前处理

将血浆样品在37 ℃下解冻,精密量取50 μL,加入200 μL内标溶液,涡旋2 min,于4 ℃条件下以12 000 r/min离心5 min,取上清液进样分析。

2.4 色谱与质谱条件

2.4.1 色谱条件

本研究所用色谱柱为Shisedo CAPCELL ADME（2.1 mm×100 mm，5 μm）；流动相A相为水（含0.1%甲酸），B相为乙腈（含0.1%甲酸），采用梯度洗脱（0～0.5 min，40%B→75%B；0.5～2.0 min，75%B；2.0～2.1 min，75%B→40%B；2.1～5.5 min，40%B）；流速为0.4 mL/min；柱温为20 ℃；进样器温度为4 ℃；进样量为2 μL。

2.4.2 质谱条件

采用电喷雾离子源，在正离子模式下进行多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）；气帘气体压力为20 psi；源内温度为550 ℃，源内气体GS1压力为40 psi，源内气体GS2压力为40 psi；离子喷射电压为5 000 V；碰撞气为Medium。用于定量分析的离子对（由于CLP-G没有市售对照品，故笔者根据文献报道[5]设定了CLP-G的离子对信息）和相应质谱参数如表1所示。

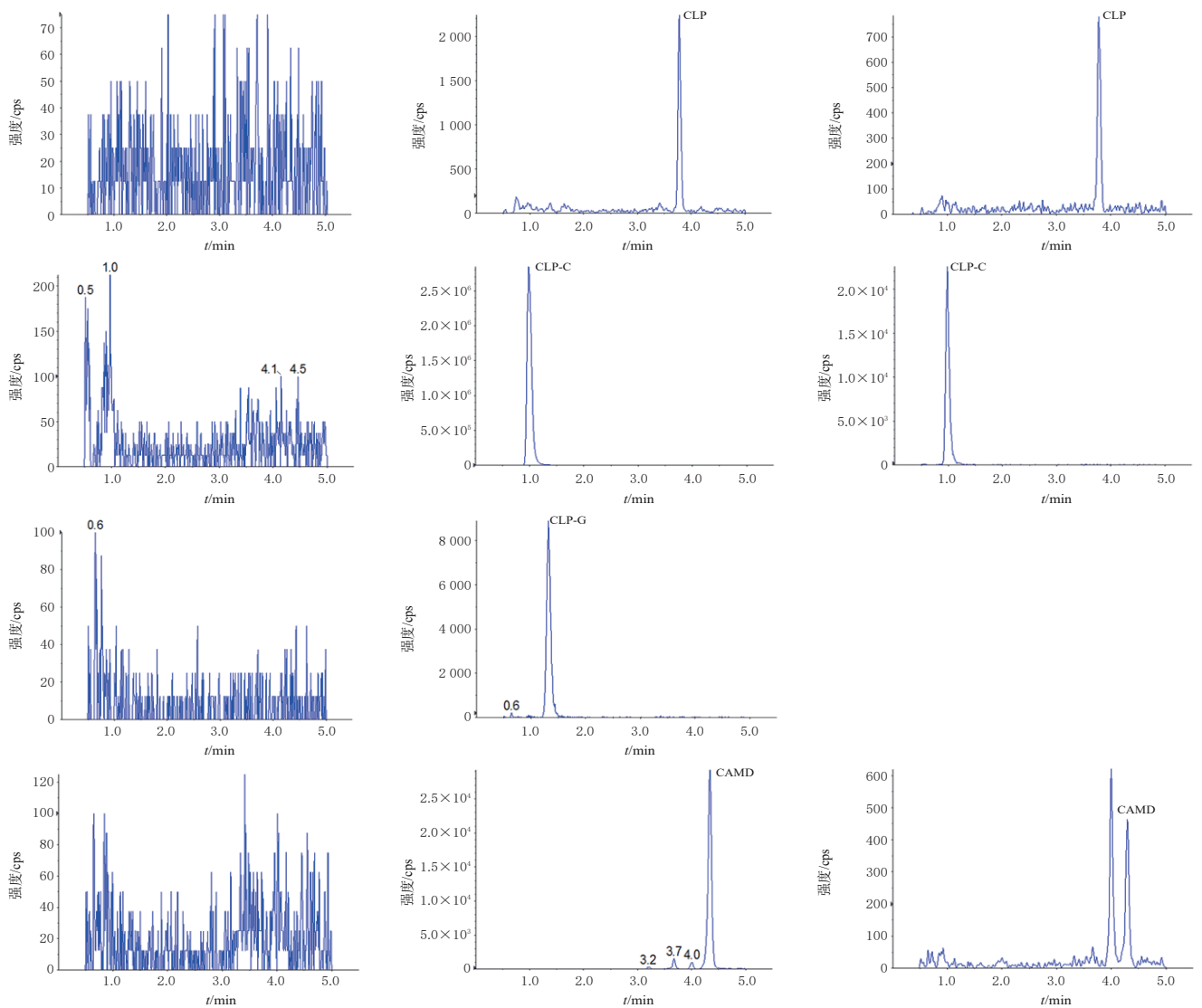
表1 待测成分和内标的MRM离子对及主要质谱参数

分析物/内标	母离子*m/z*	子离子*m/z*	去簇电压/V	碰撞电压/V	出口电压/V
CLP	322.1	211.9	61	61	16
CLP-C	308.1	197.9	61	61	14
CAMD	504.1	154.9	96	96	12
CLP-G	322.1	154.8	65	65	11
LTD	383.1	336.9	106	106	10

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察

按“2.3”项下方法分别处理大鼠空白血浆、空白血浆+定量下限工作溶液（CLP、CLP-C、CAMD质量浓度分别为0.08、205.00、0.04 ng/mL）、大鼠给药后（给药后40 min）血浆样品，其中在处理空白血浆时不加内标溶液。取上述各样品，按“2.4”项下色谱与质谱条件进样分析，记录MRM图。结果显示，各待测成分的峰形和分离效果均较好，空白血浆的内源性物质不干扰CLP、CLP-C、CLP-G和CAMD的测定，表明该分析方法专属性良好。结果见图1（由于CLP-G无市售对照品，因此图1中缺少CLP-G的相关图谱；内标图谱略）。



A.空白血浆　B.大鼠给药后血浆样品　C.空白血浆+定量下限工作溶液

图1 CLP及其代谢物和内标的LC-MS/MS图谱

2.5.2　线性关系考察

取“2.2”项下标准血浆样品适量，逐级稀释后，获得系列浓度的线性标准血浆样品，然后按“2.4”项下条件进样分析，以待测成分质量浓度为横坐标（x）、待测成分与内标的峰面积比值为纵坐标（y）进行回归分析，结果见表2。结果显示，各待测成分均在各自质量浓度范围内具有良好的线性关系（r≥0.990），CLP、CLP-C和CAMD的定量下限分别为0.08、205.00、0.04 ng/mL。

表2　CLP及其代谢产物的线性关系考察结果

待测成分	标准曲线	r	线性范围/(ng/mL)
CLP	y=0.010 60x+0.000 334	0.996	0.08～20.00
CLP-C	y=0.003 03x+0.000 430	0.990	205.00～8 000.00
CAMD	y=0.010 81x+0.000 308	0.991	0.04～25.00

2.5.3　精密度和准确度考察

取“2.2”项下各成分定量下限和低、中、高质量浓度的QC样品，按“2.3”项下方法处理，平行制备5份，测定3日，根据当日标准曲线，分别计算QC样品的实测质量浓度，以相对标准偏差（RSD）评价测定方法的日内和日间精密度，以实际质量浓度与理论质量浓度的相对误差（RE）考察准确度[10]，结果见表3。结果显示，除定量下限QC样品外，各成分低、中、高质量浓度的QC样品的日内、日间精密度的RSD均小于15%，准确度的RE为−11.68%～14.40%，符合生物样品分析要求。

表3　大鼠血浆中待测成分的精密度和准确度结果

待测成分	理论质量浓度/(ng/mL)	日内(n=5)			日间(n=3)		
		实测质量浓度($\bar{x}\pm s$)/(ng/mL)	RSD/%	RE/%	实测质量浓度($\bar{x}\pm s$)/(ng/mL)	RSD/%	RE/%
CLP	0.08	0.09±0.01	8.23	6.73	0.08±0.01	9.08	5.49
	0.51	0.53±0.05	8.73	4.35	0.54±0.04	7.10	6.30
	3.20	3.16±0.20	6.19	−1.31	3.08±0.18	5.71	−3.75
	20.00	19.26±1.23	6.41	−3.70	18.94±0.87	4.61	−5.30
CLP-C	205.00	172.40±7.40	4.29	−15.90	185.07±12.53	6.77	−9.72
	512.00	582.20±31.61	5.43	13.71	579.87±24.52	4.23	13.26
	1 280.00	1 440.00±44.72	3.11	12.50	1 443.33±52.33	3.63	12.76
	8 000.00	7 102.00±134.80	1.90	−11.23	7 066.00±191.56	2.71	−11.68
CAMD	0.04	0.04±0.01	18.61	6.13	0.04±0.01	15.81	1.52
	0.10	0.11±0.01	7.18	14.40	0.11±0.01	9.56	9.80
	4.00	4.08±0.53	13.00	1.90	3.96±0.35	8.93	−1.07
	25.00	22.90±3.25	14.19	−8.40	23.38±2.23	9.53	−6.48

2.5.4　基质效应

取来自6只不同大鼠的空白血浆，按“2.3”项下方法处理后（不加内标）得到空白基质样品，再加入内标溶液和不同质量浓度的标准混合工作液，制得低、中、高质量浓度的基质样品，然后按“2.4”项下条件进样分析，测得待测成分与内标的峰面积；同法进样分析含相同待测成分和内标的纯溶液，通过计算基质样品与纯溶液中各成分的峰面积比值，计算待测成分和内标的基质因子，经内标归一化后评价基质效应，结果见表4。结果显示，低、中、高质量浓度的各待测成分经内标归一化后，其基质因子的变异系数均小于15%，说明基质效应较小，符合生物样品分析方法要求。

2.5.5　稳定性考察

按照“2.2”项下方法配制各待测成分低、高质量浓度的QC样品，每一质量浓度平行制备3份，按“2.3”项下方法处理，考察处理后的QC样品在室温放置2 h、进样器放置24 h、−35 ℃下反复冻融3次及−35 ℃下储存7周的稳定性。结果显示，样品中CLP、CLP-C和CAMD在上述条件下的RSD均小于15%，满足生物样本分析的要求。

表4　大鼠血浆中各待测成分的基质效应考察结果

待测成分	质量浓度/(ng/mL)	基质因子($\bar{x}\pm s$)	变异系数/%
CLP	0.51	0.67±0.06	8.47
	3.20	0.63±0.06	10.23
	20.00	0.64±0.07	10.26
CLP-C	512.00	1.22±0.11	8.90
	1 280.00	1.00±0.04	3.52
	8 000.00	1.00±0.06	5.72
CAMD	0.10	0.88±0.11	12.61
	4.00	0.77±0.05	6.99
	25.00	0.68±0.06	8.58

2.6　大鼠体内CLP、CAM、CLP-C和CLP-G的药动学研究

2.6.1　给药与样品收集

实验前大鼠禁食不禁水1 d。取6只大鼠单次灌胃CLP（10 mg/kg，剂量根据临床等效剂量设置），分别于给药前和给药后0.08、0.33、0.66、1、2、4、6、10、23、35 h时，从大鼠眼眶后静脉丛取血约0.1 mL至肝素化离心管（管中预先加入3 μL质量浓度为500 mmol/L的MPB），立即摇匀，于4 ℃条件下以3 500 r/min离心10 min，取上清液冻存，待分析。

2.6.2　药动学数据处理与分析

采用WinNonlin 6.1软件中的非房室模型计算各待测成分的药动学参数，并绘制药-时曲线，具体见图2；采用半衰期（$t_{1/2}$）、峰浓度（c_{max}）、达峰时间（t_{max}）、药-时曲线下面积（AUC_{0-t}）描述药动学行为，结果以$\bar{x}\pm s$表示，具体见表5。

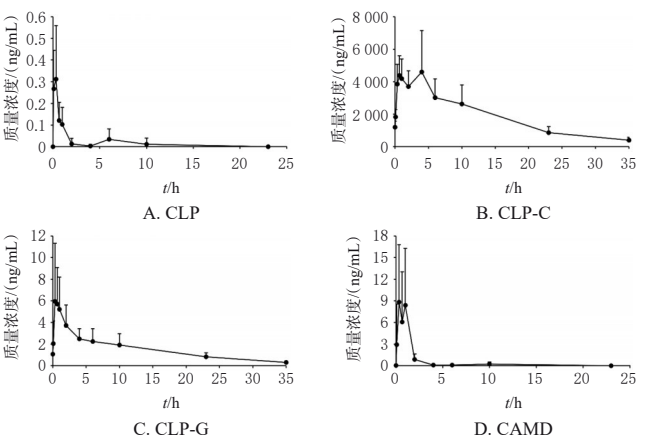


图2　大鼠血浆中CLP及其代谢产物的药-时曲线（n=6）

由图2可见，单次灌胃CLP后，大鼠血浆中原型CLP暴露量极低，其$AUC_{0-35\,h}$、c_{max}均小于或低于各代谢物；活性代谢物CAM（以CAMD计）的$AUC_{0-35\,h}$约为CLP的43倍，但$t_{1/2}$较短（2.53 h）；无活性代谢物CLP-C的暴露量最高，但达峰最迟且清除缓慢；CLP-G的$AUC_{0-35\,h}$约为CAM的4倍，其$t_{1/2}$与CLP-C近似。

表5　大鼠血浆中CLP及其代谢产物的药动学参数比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

待测成分	$t_{1/2}$/h	t_{max}/h	c_{max}/(ng/mL)	$AUC_{0-35\,h}$/(ng·h/mL)
CLP	—	0.36±0.34	0.39±0.21	0.32±0.22
CLP-C	9.55±1.71	1.11±1.42	5 418.33±2 388.51	65 246.74±21 334.44
CLP-G	10.21±2.12	0.61±0.33	6.79±4.83	53.40±26.61
CAM	2.53±1.89	0.68±0.40	13.57±8.51	13.80±9.58

—：原型CLP的血药浓度较低，部分个体未获得完整的药-时曲线，因此未得出其$t_{1/2}$数据。

3　讨论

CLP作为临床广泛应用的抗血小板药物，其复杂的代谢特征决定了对其多种代谢成分同步检测的重要性。活性代谢物CAM可直接反映药效动力学行为；非活性代谢物CLP-C和CLP-G是药物在体内的主要暴露形式，是评估CLP生物利用度和整体代谢转化的重要指标。因此，同步检测CLP及其多种代谢物是解析CLP体内过程的关键。然而，由于代谢物浓度低且极不稳定，现有方法多检测CLP或其单一代谢物[8—9]，对于解析CLP的体内过程仍较为局限。基于此，本研究建立了LC-MS/MS法以同步分析CLP及其多种代谢物的体内过程。

CLP-G在甲醇中易转化为CLP[3]，因此本研究全程使用乙腈作为溶剂，以避免甲醇对测定准确度的影响。活性代谢产物CAM因存在游离巯基，在血浆中极不稳定[11]，因此，本研究在血浆中预先加入MPB进行衍生化，通过MPB中的溴原子与CAM中的巯基发生亲核取代反应，生成较稳定的衍生产物CAMD。CAMD对照品中存在峰面积比为1∶1的异构体（2个异构体的保留时间分别为4.0、4.3 min），但大鼠体内仅检出保留时间为4.3 min的主峰，故本研究在对CAMD定量时，以主峰的含量进行表征。另外，由于未能获得CLP-G的市售对照品，故本研究参考文献设置了其离子对信息，并基于CLP-G与CLP-C核心结构相似的特性，将CLP-G峰面积代入CLP-C的标准曲线进行定量分析。

本研究药动学结果显示，CLP在大鼠体内暴露量较低且被迅速清除，无活性代谢物CLP-C为其主要的暴露形式，与相关研究结果相似[5]。活性代谢物CAM的$AUC_{0-35\,h}$约为CLP的43倍，但半衰期较短（2.53 h），由于其具有不可逆抑制二磷酸腺苷与P2Y12受体结合的活性[1—2]，故其快速生成与清除的特性有助于其在发挥抗血小板聚集药效的同时减少副反应。羧酸酯酶Ⅰ是CLP代谢过程中的主要代谢酶，当CLP与辛伐他汀等羧酸酯酶Ⅰ底物联用时会因为竞争性抑制作用而干扰CLP的代谢过程[12]，笔者推测这可能与CLP-G与CLP-C的半衰期较长（均超过9 h），易在体内产生蓄积有关。

综上所述，本研究成功建立了测定CLP及其3种代谢产物含量的LC-MS/MS法，并揭示了其在大鼠体内的药动学特征：原型药物CLP可被迅速清除，而无活性代谢物CLP-C与CLP-G均呈长半衰期特性，活性代谢物CAM呈短暂暴露模式。

参考文献

[1] PRADHAN A，BHANDARI M，VISHWAKARMA P，et al. Clopidogrel resistance and its relevance：current concepts[J]. J Family Med Prim Care，2024，13(6)：2187-2199.

[2] ZHANG Y J，LI D J，LI Z Y，et al. Influence of genetic polymorphisms in P2Y12 receptor signaling pathway on antiplatelet response to clopidogrel in coronary heart disease[J]. BMC Cardiovasc Disord，2022，22(1)：575.

[3] PEJČIĆ Z，TOPIĆ VUČENOVIĆ V，MILJKOVIĆ B，et al. Integrating clopidogrel's first-pass effect in a joint semi-physiological population pharmacokinetic model of the drug and its inactive carboxylic acid metabolite[J]. Pharmaceutics，2024，16(5)：685.

[4] SHUTEVSKA K，KADIFKOVA P T，ZHIVIKJ Z，et al. *In vitro* analysis of AKR1D1 interactions with clopidogrel：effects on enzyme activity and gene expression[J]. Balkan J Med Genet，2025，27(2)：69-75.

[5] SUN D，LIU Y Z，ZHU L，et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic assessment of the structural refinement of clopidogrel focusing on the balance between bioactivation and deactivation[J]. Drug Metab Dispos，2024，52(7)：654-661.

[6] LIU Y P，LI J P，ZHU H J. Regulation of carboxylesterases and its impact on pharmacokinetics and pharmacodynamics：an up-to-date review[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol，2024，20(5)：377-397.

[7] WANG Y N，LIU Y R，YAO H W，et al. Decreased plasma exposure of clopidogrel active metabolite in rats after long-term treatment with clopidogrel[J]. Biopharm Drug Dispos，2023，44(2)：129-136.

[8] LI L J，TAN J X，DU Y J，et al. A pharmacokinetics interaction study of antiplatelet agents aspirin and clopidogrel combined with dl-3-n-butylphthalide in rats by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Biomed Chromatogr，2023，37(9)：e5668.

[9] ZHENG D Y，LI X，CHU Y，et al. Interaction study of salvianolic acids for injection on pharmacokinetics of clopidogrel in rats using LC-MS/MS[J]. Biomed Chromatogr，2022，36(11)：e5463.

[10] U. S. Food and Drug Administration. M10 bioanalytical method validation and study sample analysis[EB/OL]. [2025-03-04]. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m10-bioanalytical-method-validation.

[11] XU L，LI R，LI J，et al. Simultaneous determination of clopidogrel，2-oxo-clopidogrel，and the thiol metabolite of clopidogrel in human plasma by LC-MS/MS[J]. J Biomed Res，2022，36(2)：109-119.

[12] LAIZURE S C，HU Z Y，POTTER P M，et al. Inhibition of carboxylesterase-1 alters clopidogrel metabolism and disposition[J]. Xenobiotica，2020，50(3)：245-251.

（收稿日期：2025-02-19　修回日期：2025-06-04）

（编辑：唐晓莲）