

基于孕烷受体-细胞色素 P450 3A4 通路 筛选复方丹参中的效应成分实验研究

肖 勇^{1,2} 马增春² 王宇光² 谭洪玲² 刘浩生² 张娴颀²
陆倍倍² 梁乾德² 汤响林² 肖成荣² 高 月^{1,2}

摘要 目的 采用孕烷受体-细胞色素 P450 3A4 (pregnane X receptor-cytochrome P450 3A4, PXR-CYP3A4) 工程细胞株筛选复方丹参中诱导或抑制 PXR-CYP3A4 通路的化学成分。方法 利用实验室构建的 PXR-CYP3A4 稳定转染人肝母细胞癌 (human hepatoblastoma G2, HepG2) 工程细胞株结合报告基因技术, 筛选复方丹参中诱导或抑制 PXR-CYP3A4 通路的化学成分, 并从酶活性水平进行确证。实验分为阳性对照组 (RIF, 10 $\mu\text{mol/L}$)、溶剂对照组 (DMSO, 0.1%)、药物处理各剂量组 (人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re, 丹参酮 I, 异龙脑 5、10、25、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$), 每种药物设置 6 个复孔, 加药 36、48 及 60 h 后吸取细胞培养液上清, 测定 CYP3A4 活性, 计算诱导倍数。结果 与溶剂对照组比较, 人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re, 丹参酮 I, 异龙脑 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 处理 30、48 和 60 h 时, 诱导倍数均升高 ($P < 0.05$), 其中药物浓度 200 $\mu\text{mol/L}$ 组处理 48 和 60 h 时, 人参皂苷 Rb2、Rg2、F1 组诱导倍数均显著高于 RIF 阳性对照组 ($P < 0.05$)。人参皂苷 48 h 时 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 组 CYP3A4 酶活性提高 ($P < 0.05$)。结论 复方丹参中的人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1, 丹参酮 I 及异龙脑可以诱导 CYP3A4 酶。

关键词 细胞色素 P450 3A4; 孕烷受体; 复方丹参; 相互作用

Screening Active Components in Compound Danshen Based on PXR-CYP3A4: an Experimental Study XIAO Yong^{1,2}, MA Zeng-chun², WANG Yu-guang², TAN Hong-ling², LIU Hao-sheng², Zhang Xian-xie², LU Bei-bei², TANG Xiang-lin², LIANG Qian-de², XIAO Cheng-rong², and GAO Yue^{1,2} 1 School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha (410013), China; 2 Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing (100850), China

ABSTRACT Objective To screen active components in Compound Danshen (CD) based on pregnane X receptor-cytochrome P450 3A4 (PXR-CYP3A4). Methods By using PXR-CYP3A4 stable transfection human hepatoblastoma G2 (HepG2) cell lines engineering cell strain combined reporter genes technology, active components that induce or inhibit PXR-CYP3A4 paths in CD were screened, and confirmed at the level of enzymic activities. The experiment was divided into the positive control group (RIF 10 $\mu\text{mol/L}$), the DMSO group (DMSO 0.1%), each dose of treatment groups (ginsenoside Rc, Rf, Rb2, Rg2, F2, F1, tanshinone I, isoborneol 5, 10, 25, 50, 100, and 200 $\mu\text{mol/L}$; each with six duplicates). Cells medium was removed 36, 48, and 60 h after treatment. The activity of CYP3A4 was then determined in the supernatant and the fold induction was calculated. Results Compared with the DMSO group, the fold induction increased when ginsenoside Rc, Rf, Rb2, Rg2, F2, F1, tanshinone I, and isoborneol 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$ was respectively intervened for 36, 48, and 60 h ($P < 0.05$). When cells were treated with isoborneol 200 $\mu\text{mol/L}$ for 48 and 60 h, the fold induction of ginsenoside Rb2, Rg2, and F1 was significantly higher than that of the RIF group ($P < 0.05$). Enzymic activity results showed that ginsenoside Rc, Rf, Rb2, F2, and F1 could increase the enzyme activity of CYP3A4 at 48 h ($P < 0.05$). Con-

基金项目: 国家 973 计划项目 (No. 2012CB518402; No. 2011CB505304); 国家自然科学基金资助项目 (No. 81274127); 北京市自然科学基金资助项目 (No. 7112110)

作者单位: 1. 中南大学药学院 (长沙 410013); 2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所 (北京 100850)

通讯作者: 高 月, Tel: 010-66931312, E-mail: gaoyue@nic.bmi.ac.cn

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 05. 0606

clusion Ginsenoside Rc, Rf, Rb₂, F₂, F₁, tanshinone I, and isoborneol in DC could induce CYP3A4 enzymes.

KEYWORDS cytochrome P450 3A4; pregnane X receptor; Compound Danshen; drug interaction

中药复方往往因其复杂多样而容易发生药物间相互作用^[1]。这种相互作用可发生在化学、药代、药效等各层次,而细胞色素 P450 (CYP450) 酶主要参与药物体内代谢,是药物间发生相互作用的主要原因^[2]。药物在体内的代谢包含两相反应:第一步 I 相代谢反应是药物在体内被代谢酶氧化、还原或水解,其中最重要的是肝微粒体中的 CYP450 酶;第二步 II 相代谢反应是药物与一些内源性的物质结合。CYP3A4 是细胞 CYP450 的重要亚型,参与 50% 以上临床用药的氧化代谢,在药物代谢和药物相互作用方面发挥了重要作用^[3]。

复方丹参由丹参、三七和冰片组成,具有活血化瘀、理气止痛之功效,是临床治疗冠心病、胸闷、心绞痛的常用中药处方。丹参中水溶性部分主要为酚性化合物,脂溶性部分主要为丹参酮 I 等二萜类化合物。三七主要成分为人参皂苷和三七皂苷,其中人参皂苷 Rb₂、Rc、Re、Rf、F₁、F₂、Rg₂、Ro 为三七中主要有效单体成分^[4]。为此本实验选取三七中人参皂苷 Rb₂、Rc、Re、Rf、F₁、F₂、Rg₂、Ro,丹参中脂溶性成份丹参酮 I 以及冰片中的异龙脑作为研究对象。利用本实验室前期构建的含 CYP3A4 新颖的双远端增强子和近端启动子线性串联的分泌型荧光素酶报告基因稳定转染人肝母细胞癌 (human hepatoblastoma G2, HepG2) 工程细胞株细胞,建立基于孕烷受体-细胞色素 P450 3A4 (Pregnane X Receptor-Cytochrome P450 3A4, PXR-CYP3A4) 通路的药物相互作用快速筛选技术,对复方丹参方中成分之间的相互作用进行研究^[5]。本研究基于 PXR-CYP3A4 通路的药物相互作用快速筛选技术,发掘复方丹参中对 CYP3A4 有诱导或抑制的化学成分,为复方丹参的配伍规律和临床合用药物提供科学依据。

材料与方法

1 细胞 PXR-CYP3A 稳定转染 HepG₂ 工程细胞株由本实验室构建并保存^[5], HepG₂ 由本实验室保存。

2 药物 人参皂苷 Rb₂, 20 mg, 批号: 11374 - 200603; 人参皂苷 Rc, 20 mg, 批号: 11641 - 200802; 人参皂苷 Re, 20 mg, 批号: 11179 - 200702; 人参皂苷 Rf, 20 mg, 批号: 11789 -

200603; F₁, 20 mg, 批号: 11274 - 200703; 人参皂苷 F₂, 20 mg, 批号: 11773 - 200606; 人参皂苷 Rg₂, 20 mg, 批号: 11779 - 200801; 人参皂苷 Ro, 20 mg, 批号: 11183 - 200604; 丹参酮 I, 20 mg, 批号: 11823 - 200605; 异龙脑, 20 mg, 批号: 11631 - 200906 购于中国药品生物制品检定所; 利福平 (RIF), 1 g, 批号: B74218, 美国 Merck 公司产品。

3 试剂及仪器 MEM 培养基 (批号: NWE0403)、EDTA 胰酶 (批号: SLBC7668)、非必需氨基酸 (NEAA, 批号: AWG16123)、胎牛血清 (批号: NXA0544) 均为美国 Hyclone 公司产品; Guisssia 荧光检测试剂盒 (批号: 0451201) 为美国 NEB 公司产品; Victor X5 微板读数为美国 PerkinElmer 公司产品; P450-Glo™ CYP3A4 Assay with Luciferin-IPA, (批号: 0000009296) 购于美国 Promega 公司。

4 检测指标及方法 PXR-CYP3A 稳定转染 HepG₂ 工程细胞株由本实验室构建并保存, 培养基为 MEM, 10 % 活性炭吸附 FBS, 1 % NEAA; 人肝癌细胞系 HepG₂ 为本室传代保存, 细胞在含 10 % 灭活胎牛血清的 MEM 完全培养基中。以上两种细胞均放入 37 °C, 5 % CO₂ 孵箱中按常规方法培养, 并取对数生长期的细胞用于实验, 利用酶标仪对化学发光值进行检测。

4.1 CYP3A4 荧光素酶报告基因检测 给药前一天, 0.25 % 胰酶消化工程细胞并计数, 再以 1×10^5 / 孔接种于 96 孔板中, 37 °C、5 % CO₂ 孵箱培养。次日, 不同浓度的受试中药成分加入至含有双抗培养基的 96 孔板中, 轻摇混匀, 37 °C 5 % CO₂ 孵箱培养^[5]。选取复方丹参方中的多种成分, 利用建立的稳定转染细胞株进行 PXR 激活特性筛选, 筛选药物成分的浓度梯度为 5、10、25、50、100、200 μmol/L, 设置阳性对照组 (RIF, 10 μmol/L), 溶剂对照组 (DMSO, 0.1 %), 每种药物设置 6 个复孔。在加药 36 h 及 60 h 后吸取细胞培养液上清, 进行荧光测定。CYP3A4 荧光素酶活性测定采用 NEB BioLux Gaussia Luciferase Assay Kit 检测试剂盒, 在 BioLux Gluc Assay Buffer 1 mL 中加入 BioLux Gluc Substrate 10 μL, 颠倒混匀即为荧光检测试剂。吸取 20 μL 细胞培养基上清至检测板孔中, 然后每孔加入 50 μL 荧光检测试剂, 迅速混匀。然后用酶标仪进行化学发光检测, 并记录化学发光数值。药物处理组的荧光素酶活性与溶

剂对照的 CYP3A4 荧光素酶活性的比值称为诱导倍数(fold induction)。诱导倍数用于反映测试药物激活 PXR 能力的强弱,以此预测其对 CYP3A4 的诱导效应。

4.2 复方丹参方中有效成分对 CYP3A4 酶活性的影响检测 为进一步验证复方丹参方化学成分对 PXR-CYP3A4 通路的影响,选取了人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 进行实验,用 HepG₂ 细胞在细胞水平检测 CYP3A4 的活性。在预实验中药物处理后分别于 24、36、48、60 h 对 CYP3A4 酶活性进行检测,发现 48 h 有良好的检测结果。因此在正式实验时只在 48 h 进行检测。细胞种板、培养条件、阳性对照和溶剂对照均设置均与前文相同。药物处理 48 h 之后,在加 Luciferin-IPA 底物前用培养基清洗细胞,用含有 3 μ L Luciferin-IPA 的新鲜培养基替换。空孔中加入 Luciferin-IPA 底物检测背景荧光。37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min,

每孔吸取 50 μ L 培养基至白板,加入 50 μ L 荧光检测试剂,开始反应。室温孵育 20 min,然后用酶标仪进行化学发光检测,并记录化学发光数值。

5 统计学方法 用 SPSS 10.0 统计软件进行 *t* 检验,各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组各时间点诱导倍数比较(表 1) 与溶剂对照组比较,人参皂苷 Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re 及丹参酮 I、异龙脑 10 μ mol/L 组各时间点诱导倍数升高,人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re 及丹参酮 I、异龙脑 50、100 μ mol/L 组各时间点诱导倍数升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与阳性对照组比较,人参皂苷 Rb2、Rg2、F1 200 μ mol/L 组处理 48 和 60 h 后诱导倍数升高($P < 0.05$)。

表 1 各组各时间点诱导倍数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	时间	5 μ mol/L	10 μ mol/L	25 μ mol/L	50 μ mol/L	100 μ mol/L	200 μ mol/L
阳性对照	6	30 h	—	7.41 $\pm$ 0.63 *	—	—	—	—
		48 h	—	7.98 $\pm$ 0.75 *	—	—	—	—
		60 h	—	9.42 $\pm$ 1.48	—	—	—	—
溶剂对照	6	30 h	1	1	1	1	1	1
		48 h	1	1	1	1	1	1
		60 h	1	1	1	1	1	1
人参皂苷 Rc	6	30 h	0.64 $\pm$ 0.09	0.89 $\pm$ 0.11	1.12 $\pm$ 0.10	1.611 $\pm$ 0.200 *	2.49 $\pm$ 0.13 *	3.277 $\pm$ 0.060 *
		48 h	1.21 $\pm$ 0.36	1.59 $\pm$ 0.13	2.45 $\pm$ 0.42	2.940 $\pm$ 0.180 *	3.77 $\pm$ 0.29 *	5.746 $\pm$ 0.080 *
		60 h	1.72 $\pm$ 0.57	2.63 $\pm$ 0.96	3.16 $\pm$ 0.38 *	4.363 $\pm$ 0.190 *	5.41 $\pm$ 0.41 *	6.157 $\pm$ 0.810 *
人参皂苷 Rf	6	30 h	2.07 $\pm$ 0.04 *	1.95 $\pm$ 0.26	1.92 $\pm$ 0.22	2.601 $\pm$ 0.940 *	2.48 $\pm$ 0.17 *	2.871 $\pm$ 0.150 *
		48 h	1.94 $\pm$ 0.09	2.04 $\pm$ 0.16	2.27 $\pm$ 0.31	2.414 $\pm$ 0.460 *	2.51 $\pm$ 0.11 *	4.730 $\pm$ 0.170 *
		60 h	1.78 $\pm$ 0.09	1.73 $\pm$ 0.04 *	2.46 $\pm$ 0.54 *	2.426 $\pm$ 0.130 *	2.93 $\pm$ 0.16 *	5.712 $\pm$ 0.530 *
人参皂苷 Rb2	6	30 h	1.78 $\pm$ 0.21 *	1.73 $\pm$ 0.24 *	2.37 $\pm$ 0.40 *	2.937 $\pm$ 0.300 *	3.84 $\pm$ 0.39 *	6.154 $\pm$ 0.760 *
		48 h	1.71 $\pm$ 0.16 *	1.76 $\pm$ 0.25 *	2.50 $\pm$ 0.46 *	3.270 $\pm$ 0.260 *	4.61 $\pm$ 0.55 *	9.110 $\pm$ 0.290 * Δ
		60 h	1.74 $\pm$ 0.26	1.76 $\pm$ 0.04 *	2.47 $\pm$ 0.86 *	3.392 $\pm$ 0.180 *	5.00 $\pm$ 0.26 *	10.293 $\pm$ 0.400 * Δ
人参皂苷 Rg2	6	30 h	3.21 $\pm$ 0.05 *	3.23 $\pm$ 0.08 *	3.50 $\pm$ 0.48 *	3.800 $\pm$ 0.330 *	4.54 $\pm$ 0.64 *	5.000 $\pm$ 0.170 *
		48 h	3.36 $\pm$ 0.09 *	3.58 $\pm$ 0.19 *	4.47 $\pm$ 0.52 *	4.270 $\pm$ 0.620 *	5.59 $\pm$ 0.18 *	10.740 $\pm$ 0.570 * Δ
		60 h	3.21 $\pm$ 0.21 *	3.90 $\pm$ 0.51 *	5.77 $\pm$ 0.72 *	4.700 $\pm$ 0.250 *	6.40 $\pm$ 0.26 *	12.020 $\pm$ 0.420 * Δ
人参皂苷 F2	6	30 h	2.10 $\pm$ 0.15 *	2.33 $\pm$ 0.31 *	3.40 $\pm$ 0.97 *	4.103 $\pm$ 0.480 *	5.46 $\pm$ 1.47 *	5.759 $\pm$ 0.190 *
		48 h	2.61 $\pm$ 0.19 *	3.57 $\pm$ 0.16 *	5.66 $\pm$ 0.35 *	6.810 $\pm$ 0.250 *	8.73 $\pm$ 0.72 *	8.710 $\pm$ 0.240 *
		60 h	2.83 $\pm$ 0.21 *	4.05 $\pm$ 0.24 *	6.46 $\pm$ 2.48 *	7.714 $\pm$ 1.550 *	10.10 $\pm$ 0.10 *	9.979 $\pm$ 0.740 *
人参皂苷 F1	6	30 h	2.73 $\pm$ 0.17 *	3.60 $\pm$ 0.48 *	5.02 $\pm$ 0.43 *	5.191 $\pm$ 0.210 *	6.77 $\pm$ 0.92 *	10.272 $\pm$ 0.640 * Δ
		48 h	3.26 $\pm$ 0.26 *	4.13 $\pm$ 0.31 *	5.21 $\pm$ 0.21 *	5.240 $\pm$ 0.160 *	6.27 $\pm$ 0.18 *	14.690 $\pm$ 1.100 * Δ
		60 h	3.36 $\pm$ 0.13 *	1.68 $\pm$ 0.06 *	5.27 $\pm$ 0.20 *	5.815 $\pm$ 0.220 *	6.03 $\pm$ 1.37 *	15.261 $\pm$ 1.220 * Δ
人参皂苷 Re	6	30 h	1.19 $\pm$ 0.06	1.54 $\pm$ 0.20 *	1.74 $\pm$ 0.15 *	1.867 $\pm$ 0.010 *	2.52 $\pm$ 0.06 *	3.475 $\pm$ 0.140 *
		48 h	1.10 $\pm$ 0.07	2.96 $\pm$ 0.15 *	1.81 $\pm$ 0.24	1.892 $\pm$ 0.190 *	2.59 $\pm$ 0.16 *	3.710 $\pm$ 0.210 *
		60 h	1.10 $\pm$ 0.21	3.80 $\pm$ 0.06 *	1.76 $\pm$ 0.29 *	2.088 $\pm$ 0.180 *	2.83 $\pm$ 0.25 *	3.911 $\pm$ 0.350 *
异龙脑	6	30 h	3.62 $\pm$ 0.65 *	3.78 $\pm$ 0.39 *	3.52 $\pm$ 0.54 *	5.789 $\pm$ 0.420 *	6.61 $\pm$ 0.89 *	6.613 $\pm$ 0.890 *
		48 h	3.70 $\pm$ 0.81 *	3.82 $\pm$ 0.14 *	4.38 $\pm$ 0.17 *	6.230 $\pm$ 0.290 *	7.57 $\pm$ 0.94 *	5.380 $\pm$ 0.130 *
		60 h	3.75 $\pm$ 0.10 *	3.80 $\pm$ 0.06 *	5.61 $\pm$ 0.27 *	6.915 $\pm$ 0.400 *	8.64 $\pm$ 1.19 *	4.710 $\pm$ 0.014 *
丹参酮 I	6	30 h	3.53 $\pm$ 0.43 *	3.63 $\pm$ 0.40 *	4.69 $\pm$ 0.64 *	3.803 $\pm$ 0.870 *	3.53 $\pm$ 0.15 *	1.337 $\pm$ 0.430
		48 h	3.59 $\pm$ 0.45 *	3.71 $\pm$ 0.27 *	5.14 $\pm$ 0.61 *	4.080 $\pm$ 0.490 *	3.65 $\pm$ 0.36 *	1.850 $\pm$ 0.410
		60 h	3.64 $\pm$ 0.09 *	3.81 $\pm$ 0.04 *	5.91 $\pm$ 1.22 *	4.386 $\pm$ 0.520 *	3.74 $\pm$ 0.03 *	2.465 $\pm$ 0.670

注:溶剂对照组设置为 1,数据以比值显示;与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$;与阳性对照组比较, $\Delta P < 0.05$

2 各有效成分组 48 h CYP3A4 诱导倍数比较(表 2) 与溶剂对照组比较,人参皂苷 Rf、Rb2、F2、F1 组诱导倍数升高,人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 的 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 组诱导倍数升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 各有效成分组 48 h CYP3A4 诱导倍数比较 ($\bar{x} \pm s$)					
化合物	n	5 $\mu\text{mol/L}$	10 $\mu\text{mol/L}$	25 $\mu\text{mol/L}$	50 $\mu\text{mol/L}$
阳性对照	6	—	4.23 $\pm$ 0.22 *	—	—
溶剂对照	6	—	0.99 $\pm$ 0.03	—	—
人参皂苷 Rc	6	1.07 $\pm$ 0.06	1.04 $\pm$ 0.03	1.28 $\pm$ 0.14 *	1.591 $\pm$ 0.115 *
人参皂苷 Rf	6	1.00 $\pm$ 0.10	1.22 $\pm$ 0.04 *	1.57 $\pm$ 0.03 *	1.986 $\pm$ 0.372 *
人参皂苷 Rb2	6	1.19 $\pm$ 0.01	1.52 $\pm$ 0.07 *	1.64 $\pm$ 0.10 *	1.791 $\pm$ 0.029 *
人参皂苷 F2	6	1.18 $\pm$ 0.01	2.28 $\pm$ 0.06 *	2.45 $\pm$ 0.19 *	2.637 $\pm$ 0.086 *
人参皂苷 F1	6	1.18 $\pm$ 0.11	1.61 $\pm$ 0.11 *	1.72 $\pm$ 0.05 *	1.966 $\pm$ 0.147 *

注:溶剂对照组设置为 1,数据以比值显示;与溶剂对照组比较,* $P < 0.05$

讨 论

复方丹参方以丹参活血定痛、三七活血补气、冰片引药入经为配伍特点。丹参化学成分水溶性部分主要为酚性化合物:丹参素、咖啡酸、原儿茶酸、原儿茶醛、丹酚酸 A、B、C、D、E、F、G 以及紫草酸和迷迭香酸等,脂溶性部分主要为二萜类化合物:隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A 等,此外还含有甾醇、糖和黄酮等^[6,7]。

CYP 酶被抑制或被诱导是导致代谢性药物相互作用的主要原因,由于一种活性成分通过诱导或抑制某种代谢酶特定的亚型,从而改变了另一种成分的代谢清除特征,导致了其活性成分-成分间产生相互作用,从而影响主要活性成分的血药浓度,增强或减弱整体复方的药效活性,严重时甚至引起毒性反应^[8,9]。通过研究中药对 CYP 的调控作用可以预测中药的某些临床疗效和部分作用机制,揭示中药之间及中西药并用的相互作用,从而指导临床合理用药,避免药物相互作用的发生,提高中药使用的安全性和有效性^[10]。CYP 酶根据其基因序列和同源性在人体内已有 16 个基因家族和 29 个亚家族被确认,对外源物变异和代谢起主要的作用。CYP3A4 是表达量最大的异构体,约占人体肝脏 CYP 的 30%~40%,有 50% 的药物通过其进行代谢^[11,12]。

本实验室前期建立了基于分泌型 Gaussia 荧光素酶报告基因 pGLuc-Basic 系统,将报告基因载体和人 PXR 表达载体共转染 HepG2 细胞,通过 G418 抗性筛选获得稳定转染细胞株,该细胞株具有使用分泌型荧光素酶载体,检测方便,具备高通量潜力;采用双远端增强子模式,实现可能的高诱导、高灵敏度;获得

稳定转染 HepG2 细胞株,简化筛选步骤的特点,从而大大提高了筛选的通量及效率^[5]。本研究基于 PXR-CYP3A4 通路的药物相互作用快速筛选技术,发现复方丹参中人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re,丹参酮 I,异龙脑对 CYP3A4 有诱导作用,CYP3A4 酶活性研究结果表明人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 可以增加 CYP3A4 酶活性。人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 是人参和三七中的重要成分,其药理作用表现多样。不同人参皂苷对神经系统、小肠传送功能、内分泌系统、免疫系统、信号传导、抗衰老、溶血、烧伤面愈合、抗肿瘤增效、药物代谢酶、降血糖方面均有显著影响^[13]。在临床用药中与其他药物合用时,由于人参皂苷 Rc、Rf、Rb2、F2、F1 对药物代谢酶 CYP3A4 有激活作用,这就有可能影响其他药效成分的体内过程从而产生药物间相互作用。有报道采用体外人肝微粒体共温孵体系对丹参制剂及丹参主要成分对人体 CYP 亚型的调节作用进行研究,结果发现丹参酮 I、丹参酮 II A 和隐丹参酮是 CYP1A2 的竞争性抑制剂,丹参素是 CYP2C9 的竞争性抑制剂,隐丹参酮是中等的 CYP2C9 的混合型抑制剂^[14-16]。

明确复方丹参中化学成分对 CYP450 酶的影响作用是中药复方丹参代谢研究的基础。单一活性成分对 CYP450 酶系的影响可能与单味或复方用药时大不相同,明确单味和复方中药与代谢酶的关系,对临床用药更加实用。下一步工作将用底物探针法及体外人肝微粒体共温孵体系对复方丹参及其配伍对人体 CYP 亚型的调节作用进行系统研究。

参 考 文 献

[1] 肖红斌,刘艳秋,王莉,等.基于成分相互作用的中药复方组分配伍研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2011,13(2):240-243.

[2] 李翔,吴磊宏,范晓辉,等.复方丹参方主要活性成分网络药理学研究[J].中国中药杂志,2011,36(21):2911-2914.

[3] Vignati LA, Bogni A, Grossi P, et al. A human and mouse pregnane X receptor reporter gene assay in combination with cytotoxicity measurements as a tool to evaluate species-specific CYP3A induction[J]. Toxicology, 2004, 199(1):23-33.

[4] 张伯礼,高秀梅,商洪才,等.复方丹参方的药效物质及作用机理研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2003,5(5):14-19.

[5] 陆倍倍.液质联用及药物筛选技术在中药毒性研究中的

- 应用探索[D].北京:军事医学科学院, 2011.
- [6] Zhang YJ, Wu L, Zhang QL, et al. Pharmacokinetics of phenolic compounds of Danshen extract in rat blood and brain by microdialysis sampling[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 136(1): 129-136.
- [7] Song M, Zhang S, Xu X, et al. Simultaneous determination of three *Panax notoginseng* saponins at sub-nanograms by LC-MS/MS in dog plasma for pharmacokinetics of Compound Danshen Tablets[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2010, 878(32): 3331-3337.
- [8] Shukla SJ, Sakamuru S, Huang R, et al. Identification of clinically used drugs that activate pregnane X receptors[J]. Drug Metab Dispos, 2011, 39(1): 151-159.
- [9] Istrate MA, Nussler AK, Eichelbaum M, et al. Regulation of CYP3A4 by pregnane X receptor: the role of nuclear receptors competing for response element binding[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 393(4): 688-693.
- [10] Pal D, Mitra AK. MDR-and CYP3A4-mediated drug-herbal interactions[J]. Life Sci, 2006, 78(18): 2131-2145.
- [11] LeCluyse EL. Pregnane X receptor: molecular basis for species differences in CYP3A induction by xenobiotics[J]. Chem Biol Interact, 2001, 134(3): 283-289.
- [12] Hariparsad N, Chu X, Yabut J, et al. Identification of pregnane-X receptor target genes and coactivator and corepressor binding to promoter elements in human hepatocytes[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(4): 1160-1173.
- [13] 王海南. 人參皂苷药理研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(11): 1201-1206.
- [14] Yu C, Ye S, Sun H, et al. PXR-mediated transcriptional activation of CYP3A4 by cryptotanshinone and tanshinone II A[J]. Chem Biol Interact, 2009, 177(1): 58-64.
- [15] Qiu F, Zhang R, Sun J, et al. Inhibitory effects of seven components of Danshen extract on catalytic activity of cytochrome P450 enzyme in human liver microsomes[J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36(7): 1308-1314.
- [16] Wang X, Yeung JH. Investigation of cytochrome P450 1A2 and 3A inhibitory properties of Danshen tincture[J]. Phytomedicine, 2012, 19(3-4): 348-354.

(收稿:2012-12-12 修回:2013-07-09)

中国中西医结合学会生殖医学专业委员会成立暨学术交流会征文通知

为了促进中医药与现代生殖医学的交流和合作,充分发挥中西医结合生殖医学的优势,积极推动国内生殖医学的进步和繁荣,定于2014年6月20—22日在上海市召开中国中西医结合学会生殖医学专业委员会成立暨学术交流会。本次会议为国内同道加强沟通与合作搭建平台,也为您提供与本领域著名专家面对面的交流机会。诚挚地邀请各位生殖医学同道踊跃投稿并参加会议。现将征文有关事项通知如下。

征文内容 生殖健康与生殖障碍的中西医研究进展。

征文要求 未公开发表的论文,以论文摘要形式投稿,摘要应包括:题目、作者、单位及地址、邮编、目的、方法、结果及结论,字数800~1200字,不含图标。会议采用网上投稿,投稿邮箱:zsyy007@163.com,请注明会议投稿。大会收到投稿后,将回复邮件确认(为方便反馈信息,请在稿件最后注明联系地址、电子信箱和联系电话)。请自留底稿,恕不退稿。

截稿时间 2014年4月30日。

联系方式 通讯地址:温州市梧慈路481号(邮编325014),联系人:周国栋,电话:0577-86726120,13506668895,传真:0577-56895859;负责人:程涇,电话:0577-86722522,13017889992。