

## 中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用

马增春, 王宇光, 谭洪玲, 梁乾德, 肖成荣, 汤响林, 高月

### 背景资料

中药体内过程不清, 中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用受到广泛的关注, 本文在建立中药配伍与肝脏药物代谢酶的相互作用技术基础上, 探索建立基于肝脏代谢酶的方剂整体性研究新模式.

马增春, 王宇光, 谭洪玲, 梁乾德, 肖成荣, 汤响林, 高月, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京市 100850

马增春, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药药理与药代的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81274127, 81130067  
国家重点基础研究发展计划基金资助项目,  
No. 2012CB518402

作者贡献分布: 马增春实验总结、论文写作; 王宇光、谭洪玲、梁乾德、汤响林及肖成荣完成相关实验, 高月审校.

通讯作者: 马增春, 研究员, 100850, 北京市太平路27号, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所. mazchun@139.com  
电话: 010-66932201

收稿日期: 2015-12-04  
修回日期: 2016-01-11  
接受日期: 2016-01-19  
在线出版日期: 2016-03-08

### Interactions between drug metabolizing enzymes and traditional Chinese medicine

Zeng-Chun Ma, Yu-Guang Wang, Hong-Ling Tan, Qian-De Liang, Cheng-Rong Xiao, Xiang-Lin Tang, Yue Gao

Zeng-Chun Ma, Yu-Guang Wang, Hong-Ling Tan, Qian-De Liang, Cheng-Rong Xiao, Xiang-Lin Tang, Yue Gao, Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81274127 and 81130067; the National Basic Research Program of China ("973" Project), No. 2012CB518402

Correspondence to: Zeng-Chun Ma, Researcher, Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, 27 Taiping Road, Beijing 100850, China. mazchun@139.com

Received: 2015-12-04

Revised: 2016-01-11

Accepted: 2016-01-19

Published online: 2016-03-08

### Abstract

Drug metabolizing enzymes are key in determining the fate of drugs, and their inhibitory or inducing effects are the primary mechanism of drug interactions. In this paper, we discuss the method for detecting the interactions between drug metabolizing enzymes and traditional Chinese medicine; identify the possible substrates of drug metabolizing enzymes at the level of active ingredients, effective group and decoction pieces; analyze the effect of traditional Chinese medicine on drug metabolizing enzymes at the levels of mRNA, protein and the enzyme activity, as well as the inhibitory or inducing effects of chemical components on metabolizing enzymes; identify the specific subtype; and clarify the metabolic processes, the basis of compatibility, and interactions between drug metabolizing enzyme and traditional Chinese medicine, with an aim to provide the basis for compatibility and rational administration in clinical practice.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Traditional Chinese medicine; Drug metabolizing enzyme; Compatibility; Interaction

Ma ZC, Wang YG, Tan HL, Liang QD, Xiao CR, Tang XL, Gao Y. Interactions between drug metabolizing enzymes and traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(7): 994-1001 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/994.asp> DOI:

### 同行评议者

孙学刚, 教授, 南方医科大学中医药学院; 孟立娜, 教授, 主任医师, 浙江中医药大学附属第一医院消化科; 周本杰, 主任药师, 南方医科大学珠江医院药学部

<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i7.994>

## 摘要

肝脏药物代谢酶是决定中药复方体内过程的关键因素, 复方中化学成分对药物代谢酶的抑制或诱导作用是中药复方在药动学层次上产生相互作用的主要机制. 本文首先建立中药配伍与肝脏药物代谢酶的相互作用技术, 在有效组分、有效部位和饮片三个层次发现中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用, 筛选发现中药复方中对肝脏药物代谢酶的诱导或抑制成分, 探索肝脏药物代谢酶对中药成分代谢作用的具体亚型, 结合中药复方作用的体内过程, 系统阐述中药成分与机体之间的相互作用, 为中药配伍、药效和安全性评价提供理论依据, 为建立基于肝脏代谢酶表达方剂整体性研究的新模式提供技术支撑.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 中药; 肝脏药物代谢酶; 配伍; 相互作用

**核心提示:** 肝脏药物代谢酶是决定中药复方体内过程的关键因素, 建立中药配伍与肝脏药物代谢酶的相互作用技术, 阐明中药成分与机体之间的相互作用, 本文总结了本室在肝脏药物代谢酶方面的研究进展.

马增春, 王宇光, 谭洪玲, 梁乾德, 肖成荣, 汤响林, 高月. 中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用. 世界华人消化杂志 2016; 24(7): 994-1001 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/994.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i7.994>

## 0 引言

中药作用是由多种有效成分的有机组合, 与多种疾病相关靶点综合影响而产生的两个复杂体系之间的相互作用<sup>[1,2]</sup>. CYP450酶系统在药物相互作用方面发挥重要作用, 在CYP450酶这个大家族中参与机体内多数药物代谢的P450同工酶主要有CYP1A2、CYP3A4、CYP2D6、CYP2B6、CYP2C19、CYP2C9、CYP2E1, 约95%的临床药物经由这些亚型在体内完成生物转化<sup>[3-5]</sup>. 作为机体对药物或外源物代谢的最主要功能蛋白, 对机体代谢外来有害物质有重要作用, 特别是当中药配伍使用过程中, 一方面对靶点的改变与君臣佐使的配伍

规律相联系, 另一方面可能由于其代谢特征的改变而使其对机体的毒性发生改变, 因此有必要从P450酶系统的角度对方剂的君臣佐使和配伍减毒规律进行研究, 有助于拓展中药方剂配伍规律和中药毒理学的研究, 为临床组方用药提供科学依据<sup>[6-9]</sup>.

## 1 基于药物代谢酶建立药物间相互作用技术

细胞色素P450酶对中药成分间相互作用有重要影响, 其中一个重要表现是一种药物通过诱导或抑制P450酶特定亚型, 从而改变了另一种药物的代谢清除, 影响其血药浓度<sup>[10,11]</sup>. 我们将P450酶引入中药相互作用的研究, 建立了基于药物代谢酶的药物相互作用平台.

**1.1 药物代谢酶活性成分筛选技术** 核受体对CYP450的表达具有重要的调控作用, 其中孕烷X受体(pregnane X receptor, PXR)、组成型雄甾烷受体(constitutive androstane receptor, CAR)和芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)是CYP450的主要转录调控因子<sup>[12]</sup>. 报告基因法正是基于核受体对CYP450的调控机制发展起来. 报告基因技术是将目的基因的调控序列与萤火虫荧光素酶的编码基因接合在一起构建报告基因质粒并导入细胞中. 本实验室前期已将构建的pcDNA3.1-PXR与pGL4.17-CYP3A4共同转染HepG2细胞, 通过G418压力筛选得到单克隆细胞, 扩大化培养后通过PCR鉴定, 成功构建PXR-CYP3A4稳转细胞株. 利用此工程细胞株可实现中药单体成分的高通量筛选. 但由于中医用药特点为合并用药, 复方为主, 故易同时对药物代谢酶多种亚型产生影响, 本实验室将pcDNA3.1-CAR3与pGL4.17-CYP2B6, pcDNA3.1-AhR与pGL4.17-CYP1A1分别转染HepG2细胞, 成功构建CAR3-CYP2B6和AhR-CYP1A1稳定转染细胞株. 已通过此体外筛选细胞模型完成人参皂苷类、乌头碱类等近200种中药化学成分单体的筛选实验, 获得了具有潜在CYP450诱导和抑制能力的目标化合物, 为进一步分析中药配伍后毒性成分代谢的变化与中药配伍毒性关系研究提供了重要线索. 以上技术平台的建立, 为基于体内药物相互作用的中药毒性研究提供了新的思路和方法<sup>[13,14]</sup>.

**1.2 Cocktail探针药物法测定药物对代谢酶的影响** 目前研究CYP450酶活性多采用体内探

## ■ 研究前沿

基于中药与肝脏药物代谢酶的相互作用, 阐明中药毒性成分、有效成分在体内吸收代谢过程, 是中药配伍研究的关键科学问题.

### ■ 相关报道

有个别报告基于细胞色素P450酶诱导的药物相互作用, 但未见将方法建立、系统筛选、相互作用等相结合的系统研究。

针和体外探针两种方法, 体外探针是指用肝微粒体中CYP450与特异性底物作用, 通过测定代谢产物的变化来分析酶活性的变化<sup>[15]</sup>。体内探针法是指体内注射特异性探针药物后通过检测生物样本中的探针药物的血浆动力学来获取代谢酶的活性信息<sup>[16]</sup>。目前研究多采用的是在单一探针法的基础上发展起来的“Cocktail”探针法, Cocktail探针药物法一般是通过尾静脉注射探针药物, 通过测定单个时间点血样中探针药物的含量, 计算探针药物的药动学参数或代谢分型, 本实验室建立了Cocktail探针药物肝微粒体体外孵育和体内实验的平台, 并用于考察多种药物对酶活性影响<sup>[17]</sup>。

1.3 基于药物代谢酶的药物相互作用平台的建立 首次创建了“三明治夹心法”和Cocktail探针法体外评价肝微粒体中CYP450亚酶活性的技术。“三明治夹心法”通过分步分离大鼠肝细胞, 与鼠尾胶原溶液混合接种于培养板, 可观察培养大鼠肝细胞的形态学特征和生化指标。此方法特点是混合胶原凝胶培养能保留体内的细胞功能和活性, 特别是保留药物代谢酶的活性而有利于药物评价<sup>[18,19]</sup>。综合建立了基于RT-PCR、Western blot检测大鼠P450亚酶的测定方法和药物相互作用平台, 评价药物在mRNA、蛋白和酶活性表达水平影响<sup>[20]</sup>。

1.4 基于凝胶电泳和生物质谱的P450同工酶的分离和鉴定 鉴于细胞色素P450酶是内膜蛋白, 而常用的蛋白质分离技术对膜蛋白的分离能力差, 膜蛋白甚至在双向凝胶电泳图谱上缺失等特点, 通过分析比较双向电泳在研究差异蛋白质组学中的特殊作用及P450蛋白的特征, 采用了ESI-MS/MS和MALDI-TOF/MS相结合的方法, 优化了蛋白裂解液的配方<sup>[21]</sup>, 首次建立了大鼠肝脏微粒体细胞色素P450同工酶的分离鉴定方法。用单向凝胶电泳技术分离和生物质谱技术确认了大鼠肝脏微粒体中P450蛋白亚型, 并确定了有重要临床意义的同工酶如CYP1A2、CYP2E1和CYP3A2等进行深入研究。

1.5 定量检测肝微粒体中细胞色素P450 采用QconCAT方法定量人肝微粒体中细胞色素P450, 可以同时定量数十个肝脏药物代谢酶, 这为药物代谢性相互作用的研究提供了一种新的高通量研究方法<sup>[22-24]</sup>。通过定量检测药物

作用前后肝药酶的浓度, 可以得到药物作用后对肝药酶产生诱导或抑制作用大小, 这对研究药物间的相互作用具有十分重要的意义<sup>[25]</sup>。我们运用QconCAT结合MRM方法对人肝微粒体中的肝药酶进行高通量的精确定量, 总共合成了包含41个肝药酶的4个QconCAT质粒, 成功纯化的3个QconCAT质粒中共包含31个蛋白的88条肽段, 其中66肽段被鉴定到。对方法的精确度和准确度、动态范围和线性进行了评价。该方法的动态范围达到2个数量级, 线性都>0.98。在复杂基质中的回收率>90%, 在这几个指标上都呈现很好的结果。

## 2 中药对肝脏药物代谢酶的影响

当P450酶亚型的活性被某种药物改变后, 由该亚型代谢的物质其药动参数将会发生相应的变化, 即某个药物抑制或诱导一种P450酶亚型后, 作为其底物的另一种药物的代谢相应的减慢或加速, 这种药物间的相互作用受到广泛的关注, 因此, 研究药物对P450酶活性的影响也显得日渐重要<sup>[26-28]</sup>。

2.1 参附方及配伍对大鼠肝细胞色素P450酶主要亚型的影响 取SD大鼠, 给予受试药物后, 采用cocktail体外孵育法结合液质联用技术对大鼠肝中1A2、2B、2C和3A各亚酶的酶活性进行测定, 并利用RT-PCR技术对上述亚型的mRNA水平表达进行检测。参附注射液组可以显著诱导CYP2B、2C11酶活性, 对1A2和3A酶活性具有抑制作用。在mRNA水平上, 参附注射液可以显著诱导2B和2C11的基因表达, 对1A2和3A出现抑制作用, 与酶活性水平具有一致性。基于临床用量的参附注射液对大鼠肝脏P450特定亚型在酶活性水平具有调控作用, 并且这种作用可能起始于转录环节, 可能与参附注射液配伍增效有关, 当与其他药物合用有可能产生药物相互作用<sup>[29]</sup>。

2.2 参麦方及配伍对大鼠肝细胞色素P450酶主要亚型的影响 取SD大鼠, 给予受试药物后, 采用Cocktail体外孵育法结合液质联用技术对大鼠肝中1A2、2B、2C和3A各亚酶的酶活性进行测定, 并利用RT-PCR技术对上述亚型的mRNA水平表达进行检测。结果表明: 参麦注射液组可以显著诱导CYP1A2、CYP2B、2C11酶活性。在mRNA水平上, 参麦注射液可以显著诱导CYP1A2、CYP2B、2C11的基因



表达,与酶活性水平具有一致性.基于临床用量的参麦注射液对大鼠肝脏P450特定亚型在酶活性水平具有调控作用,并且这种作用可能起始于转录环节,可能与参麦注射液配伍增效有关,并与其他药物合用有可能产生药物相互作用<sup>[30]</sup>.

**2.3 复方丹参方及配伍对大鼠肝细胞色素P450酶主要亚型的影响** SD大鼠连续灌胃诱导处理28 d后取各处理组大鼠肝微粒体,将6种亚酶特异性底物探针与所提取微粒体共孵育并结合液质联用技术分别测定CYP1A2、2B6、2C9、2C19、2D6和3A4酶活性,同时用RT-PCR方法检测5种亚酶CYP1A1、2B1/2、2C11、2E1和3A1在 mRNA水平表达的变化.结果表明:在酶活性方面,复方丹参抑制了CYP1A2、2B6的酶活性,提高了CYP2D6的酶活性;丹参组抑制了CYP1A2、2B6的酶活性;三七组抑制了CYP1A2、2B6、2C19、2D6的酶活性;冰片组抑制了CYP1A2、2B6、2C9、2C19、2D6的酶活性.复方丹参方中各单药对酶的影响强于单方对酶的影响,其中以冰片对药物代谢酶的影响最为显著,复方使药物间产生相互作用的概率减少,有利于安全用药,从侧面反映出复方组合理性<sup>[31]</sup>.

**2.4 四物汤及配伍对大鼠肝细胞色素P450酶主要亚型的影响** 肝微粒体体外孵育实验表明四物汤复方提高了CYP1A2的酶活性,抑制了CYP2B6的酶活性.熟地+白芍,当归+白芍,当归+川芎,白芍+川芎四对配伍组对CYP1A2的酶活性具有抑制作用,熟地+白芍,当归+白芍,川芎+白芍,当归+川芎4个配伍组均不同程度的抑制了CYP2C19的酶活性,白芍+川芎组对CYP2C9酶活性具有诱导作用,熟地+当归组对CYP2C9酶活性也具有上调趋势,果糖对CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6酶活性具有抑制作用,阿魏酸对CYP2C9、CYP2C19、CYP2B6酶活性具有抑制作用,川芎嗪对CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2B6的酶活性具有抑制作用.芍药苷对CYP1A2酶活性具有诱导作用,对CYP2D6、CYP2B6酶活性具有抑制作用.阿魏酸、果糖、芍药苷组对CYP2B1 mRNA的表达具有抑制作用,与酶活性水平一致.4种单体成分抑制了CYP2B1蛋白的表达的影响<sup>[32,33]</sup>.

**2.5 决明子水提液对大鼠肝脏CYP450酶的影响** 研究决明子水提液对大鼠肝脏CYP450酶

活性、mRNA及蛋白表达水平的影响.取SD大鼠,口服灌胃受试药物后,处死,用冰冷生理盐水灌流肝脏,提取大鼠肝脏微粒体,肝脏总RNA和总蛋白,采用Cocktail外孵育法结合液质联用(LC-MS)技术对大鼠肝脏中CYP1A2、2B1、2C11、2D2、2E1和3A1各亚酶的酶活性进行测定,并应用荧光定量PCR技术和Western blot对上述亚型的mRNA和蛋白表达水平进行检测.结果表明:酶活性方面,决明子水提液组与空白组比较可明显诱导CYP1A2、2B1、2C11、2D2、2E1和3A1的酶活性,其中决明子低剂量组对CYP2D2有明显的抑制作用,中、高剂量组对CYP2D2有明显的诱导作用,且都呈剂量依赖性增加,但对CYP3A1的诱导不呈剂量依赖性;mRNA表达方面,决明子水提液对CYP1A2、2C11、2D2和2E1 mRNA的表达具有显著诱导作用,其中对CYP1A2、2D2和2E1诱导作用呈剂量依赖性,与酶活性水平具有一致性,对CYP2B1、3A1没有明显作用.决明子水提液对CYP450同工酶不同程度诱导或抑制作用,特别是对于CYP2C11、2E1亚型酶,酶活性与mRNA、蛋白表达水平具有一致性,提示当与这些酶底物合并用药时,尤其是与CYP2C11、2E1代谢有关的药物合用时,应充分考虑到潜在的有益和不利的药物相互作用.

**2.6 川楝子对大鼠肝脏CYP450酶的影响** 探讨川楝子对CYP450酶的影响,进而指导川楝子和其他药物合理应用, Q-PCR检测CYP450酶各亚酶mRNA的表达,体外Cocktail探针法检测CYP450酶各亚酶的酶活性, Western blot检测CYP450酶各亚酶的蛋白表达.川楝子各剂量组对CYP1A2、CYP3A1 mRNA的表达具有显著上调作用且呈剂量依赖性,对CYP2B1 mRNA、CYP2C11 mRNA的表达无明显影响.川楝子各剂量组可诱导CYP3A1的酶活性且呈剂量依赖性,川楝子可诱导CYP3A1的活性,CYP3A1占肝脏中CYP450酶总量的30%,50%-60%的药物通过此亚型代谢,在联合用药时要充分考虑可能出现的药物相互作用或潜在风险.

**2.7 中药“十八反”对大鼠肝细胞色素P450酶主要亚型的影响** 首次从P450酶活性、mRNA及蛋白表达水平,结合毒性成分变化

#### ■创新盘点

系统筛选中药对肝脏药物代谢酶作用的诱导或抑制成分,探索对肝脏药物代谢酶作用的具体亚型,了解中药及成分间的相互作用、变化规律及与药效学之间的内在联系等,揭示传统中药配伍理论科学内涵.

**应用要点**

建立基于肝脏代谢酶表达方剂整体性研究的新模式, 为揭示传统中药配伍理论科学内涵和临床合理配伍用药提供直接依据。

探求了中药“十八反”配伍禁忌的科学内涵。中药乌头与半夏、贝母、白蔹、瓜蒌、白及配伍研究表明: 瓜蒌、半夏、白及、贝母与乌头合用时, 对CYP3A和CYP1A2均产生不同程度抑制作用, 特别是瓜蒌、半夏在蛋白和酶活性水平影响一致<sup>[34-36]</sup>; 而乌头碱主要由CYP3A和CYP1A2代谢, 因此抑制了CYP3A和CYP1A2会降低乌头碱的消除速率, 使其在体内的暴露量增加毒性增强, 产生相反的配伍禁忌<sup>[37]</sup>。基于P450酶和物质基础两个层面一致的为瓜蒌、半夏、白及, 相反配伍的机制可能为合用导致毒性生物碱溶出增加和代谢抑制。仅在代谢酶层面相反的为乌头与贝母, 仅在物质基础层面相反的为乌头与白蔹。人参、藜芦合用时同时诱导了CYP1A酶活性, 与mRNA水平一致<sup>[38-42]</sup>。基于P450酶和物质基础两个层面一致的为人参和藜芦, 毒性生物碱溶出增加是配伍禁忌的主要原因<sup>[43-45]</sup>。丹参、苦参仅在酶活性水平上对CYP3A抑制作用; 细辛、南沙参、玄参在物质基础层面具有相反作用<sup>[46]</sup>。海藻、大戟、芫花与甘草配伍后, 促进了CYP3A的mRNA的表达, 提高了CYP3A的酶活性。以甘遂和甘草为例, 首次揭示了两药配伍后肝脏毒性增强的原因是通过增加CYP1A2、CYP2E1酶活性和含量, 而CYP1A2、CYP2E1主要激活前致癌物或前毒物, 与许多癌症的发病密切相关, 提示合用后增加了罹患肿瘤的几率。此为临床合理用药提供了重要依据<sup>[47-50]</sup>。

### 3 肝脏药物代谢酶对中药的影响

美国食品药品监督管理局发布的药物相互作用指导原则要求对主要的药物代谢酶进行评估, 以鉴定P450介导的药物相互作用, 这些酶包括CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6、CYP3A。如果某一P450亚酶对新化合物的代谢清除贡献率>25%, 则此新化合物与该亚酶的诱导剂或抑制剂之间很可能发生药物相互作用。选择相互作用的药物进行体内评价也很重要, 因为这样可以确定由于基因多态性对酶活性和药物处置的影响, 已确定是否选用多种抑制剂进行研究。

3.1 丹参酮II A代谢物的结构鉴定 利用体外代谢实验, 在人肝微粒体中孵育丹参酮II A, 利用UPLC-TOF-MS技术, 对分析所得到的色谱

图、一级质谱和二级质谱进行分析, 根据丹参酮II A的代谢转化规律, 例如常见的氧化、还原、水解等反应规律, 鉴定出丹参酮II A代谢产物的结构, 阐明丹参酮II A在动物体内的代谢过程, 从而为临床和毒理学研究提供依据。丹参酮II A的保留时间为15.04 min, 其准分子离子峰的质荷比为295.1334, 其分子式为C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>, 主要特征二级碎片离子有280、277、249、262、235<sup>[51]</sup>。

3.2 寻找参与代谢丹参酮II A的P450亚酶 将人肝微粒体与丹参酮II A共同孵育, 测定丹参酮II A的代谢产物。化学抑制实验显示丹参酮II A在人肝微粒体中的代谢主要由CYP3A4介导, CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1亦有一定贡献, 而CYP1A2几乎不参与丹参酮II A的代谢。已有研究<sup>[51]</sup>报道冰片可以影响CYP3A4介导的药物代谢, 丹参酮II A本身也同时影响CYP3A4的活性和CYP3A4介导的药物转运等。

### 4 基于PXR-CYP3A4稳定转染细胞株筛选相关成分

利用分泌型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压力筛选获得稳定转染细胞株。通过阳性药物验证实验, 以及条件优化, 建立药物相互作用体外快速筛选体系, 筛选影响PXR-CYP3A4通路的活性成分。

4.1 人参中皂苷成分的孕烷X受体激动特性筛选 为深入研究人参对CYP3A4底物类药物代谢影响及可能产生相互作用提供线索。采用PXR-CYP3A4稳定转染工程细胞株结合报告基因技术, 对13种皂苷成分进行PXR激动特性筛选; 应用RT-PCR技术检测Rg1对CYP3A4 mRNA表达影响。结果显示: 13种皂苷成分在筛选终浓度为10 μmol/L时, 20(S)-人参皂苷F2、20(S)-原人参皂苷三醇激活了PXR-CYP3A4, 其余11种皂苷成分均不同程度对PXR产生了拮抗效应或未见明显效应; Rg1能浓度依赖性下调CYP3A4表达, 与报告基因筛选结果具有一致性。人参皂苷成分对PXR激动和拮抗效应可能影响CYP3A4底物类药物的代谢而产生药物相互作用<sup>[52,53]</sup>。

4.2 筛选复方丹参中诱导或抑制PXR-CYP3A4通路的化学成分 利用实验室构建的

PXR-CYP3A4稳定转染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. 结果表明报告基因技术筛选的研究结果表明, 人参皂苷Rc、Rf、Rb2、Rg2、F2、F1、Re、丹参酮I、异龙脑显著激活了PXR-CYP3A4. 人参皂苷Rc、Rf、Rb2、F2、F1显著提高CYP3A4的酶活性. 复方丹参中的皂苷类、丹参酮I、异龙脑等成分可以诱导CYP3A4酶, 临床合并用药时可能存在相互作用<sup>[54]</sup>.

4.3 hPXR介导的CYP3A4报告基因筛选附中成分 成功构建了基于hPXR的CYP3A4药物诱导的报告基因, 并应用该体外筛选体系进行参附方中药活性成分体外诱导或抑制研究. 运用PXR的阳性诱导剂利福平和抑制剂酮康唑验证报告基因模型构建成功后, 考察乌头碱、中乌头碱、次乌头碱、乙酰乌头碱和乌头原碱6种乌头类生物碱通过hPXR途径对CYP3A4的调节作用. 筛选发现乌头碱、中乌头碱、次乌头碱能够通过激活hPXR, 具有潜在抑制CYP3A4作用. PCR确证实验发现, 在转录水平乌头碱、中乌头碱和次乌头碱对3A4有抑制作用<sup>[55]</sup>.

## 5 结论

中药方剂的配伍规律研究所面临的主要问题不是现代科学技术和方法方面的问题, 主要是研究思路的创新, 即如何找到中药方剂配伍研究的最佳切入点, 将有特色的研究技术、方法以及众多的研究结果有机地结合起来, 同时紧紧围绕中医药理论体系, 发现中药方剂配伍规律, 并初步揭示其本质<sup>[56]</sup>. 基于中药方剂在临床上被广泛应用, 特别是在治疗中医消化疾病方面也有着确切的临床疗效和广泛使用, 阐明中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用, 一方面通过中药复方对CYP450酶活性的影响为临床合理联合用药提供实验依据, 另一方面期望发现中药复方在药物代谢酶层面的配伍规律, 阐释中药复方配伍理论的科学内涵, 推动中药复方的现代化.

## 6 参考文献

- 肖红斌, 刘艳秋, 王莉, 王龙星. 基于成分相互作用的中药复方组分配伍研究. 世界科学技术-中医药现代化 2011; 13: 240-243

- 马增春, 高月, 谭洪玲, 梁乾德, 王升启. 用分子中药组学技术研究四物汤补血的作用机理. 世界科学技术-中医药现代化 2005; 7: 24-8
- Wanwimolruk S, Prachayasittikul V. Cytochrome P450 enzyme mediated herbal drug interactions (Part 1). *EXCLI J* 2014; 13: 347-391 [PMID: 26417265]
- Wanwimolruk S, Phopin K, Prachayasittikul V. Cytochrome P450 enzyme mediated herbal drug interactions (Part 2). *EXCLI J* 2014; 13: 869-896 [PMID: 26417310]
- Bjornsson TD, Callaghan JT, Einolf HJ, Fischer V, Gan L, Grimm S, Kao J, King SP, Miwa G, Ni L, Kumar G, McLeod J, Obach RS, Roberts S, Roe A, Shah A, Snikeris F, Sullivan JT, Tweedie D, Vega JM, Walsh J, Wrighton SA. The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 815-832 [PMID: 12814957]
- 郝海平, 郑超楠, 王广基. 多组分、多靶点中药整体药代动力学研究的思考与探索. 药学报 2009; 44: 270-275
- 王宇光, 马增春, 梁乾德, 刘明, 陆倍倍, 谭洪玲, 肖成荣, 高月. 基于药物代谢酶的中药十八反研究. 世界科学技术-中医药现代化 2011; 13: 36-40
- 张伯礼, 王永炎. 方剂关键科学问题的基础研究—以组分配伍研制现代中药. 中国天然药物 2005; 3: 258-263
- 罗国安, 梁琼麟, 刘清飞. 整合化学物质组学的整体系统生物学—中药复方配伍和作用机制研究的整体方法论. 世界科学技术-中医药现代化 2007; 9: 10-16
- Ong CE, Pan Y, Mak JW, Ismail R. In vitro approaches to investigate cytochrome P450 activities: update on current status and their applicability. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2013; 9: 1097-1113 [PMID: 23682848 DOI: 10.1517/1742525.2013.800482]
- Sevrioukova IF, Poulos TL. Understanding the mechanism of cytochrome P450 3A4: recent advances and remaining problems. *Dalton Trans* 2013; 42: 3116-3126 [PMID: 23018626 DOI: 10.1039/c2dt31833d]
- Chen Q, Zhang T, Wang JF, Wei DQ. Advances in human cytochrome p450 and personalized medicine. *Curr Drug Metab* 2011; 12: 436-444 [PMID: 21453272]
- 王宇光, 张娴颢, 李晗, 陆倍倍, 周建明, 刘浩生, 胡东华, 周涛, 张亚欣, 马增春, 梁乾德, 汤响林, 肖成荣, 谭洪玲, 高月. 以PXR受体为靶点的中药活性成分筛选及相关药理学研究. 中国中药杂志 2015; 17: 3444-3449
- 艾常虹, 李桦, 董德利. 基于细胞色素P450酶诱导的药物相互作用及评价. 国际药学研究杂志 2011; 38: 52-57
- 苏静华, 孙建国, 王广基. 药物诱导CYP450的体外检测方法研究进展. 中国临床药理学与治疗学 2010; 15: 954-960
- 卜明华, 张颖, 刘建勋, 刘东春. 细胞色素P450酶诱导/抑制的研究方法及在药物研究中的应用. 中国临床药理学与治疗学 2011; 16: 579-585
- 朱冠秀, 王宇光, 李飞, 马增春, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 张伯礼, 高月. Cocktail探针法测定南沙参与藜芦配伍对大鼠CYP450亚酶活性的影响. 中

## ■名词解释

CYP450: 细胞色素P450(CYP450)作为外源性化合物的主要代谢酶, 是重要的药物I相代谢酶, 可以催化多种外源性化合物的氧化和还原代谢, 人体内约有75%的药物代谢通过CYP450酶进行, 这对解释药物在机体内的清除过程有非常重要的意义.



# 同行评价

本文内容全面, 具有较高科学性和创新性, 系统介绍了中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用。

- 18 谭洪玲, 杨明会, 王宇光, 马增春, 高月. 大鼠原代肝细胞培养方法的建立. 中国应用生理学杂志 2006; 22: 509-512
- 19 王宇光, 杨明会, 马增春, 梁乾德, 谭洪玲, 肖成荣, 高月. 18 $\beta$ -甘草酸和18 $\alpha$ -甘草酸对大鼠原代肝细胞CYP3A酶表达的影响. 中国中药杂志 2009; 34: 307-311
- 20 陈艳进, 王宇光, 马增春, 肖成荣, 谭洪玲, 梁乾德, 汤响林, 赵永红, 王东根, 高月. 三七总皂苷对大鼠肝脏药物代谢酶活性、mRNA及蛋白表达的影响. 中国中药杂志 2014; 19: 3824-3828
- 21 Burkhardt T, Letzel T, Drewes JE, Grassmann J. Comprehensive assessment of Cytochrome P450 reactions: A multiplex approach using real-time ESI-MS. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1850: 2573-2581 [PMID: 26409144 DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.09.016]
- 22 Wei J, Ding C, Zhang J, Mi W, Zhao Y, Liu M, Fu T, Zhang Y, Ying W, Cai Y, Qin J, Qian X. High-throughput absolute quantification of proteins using an improved two-dimensional reversed-phase separation and quantification concatenamer (QconCAT) approach. *Anal Bioanal Chem* 2014; 406: 4183-4193 [PMID: 24760396 DOI: 10.1007/s00216-014-7784-x]
- 23 Pratt JM, Simpson DM, Doherty MK, Rivers J, Gaskell SJ, Beynon RJ. Multiplexed absolute quantification for proteomics using concatenated signature peptides encoded by QconCAT genes. *Nat Protoc* 2006; 1: 1029-1043 [PMID: 17406340]
- 24 Brownridge PJ, Harman VM, Simpson DM, Beynon RJ. Absolute multiplexed protein quantification using QconCAT technology. *Methods Mol Biol* 2012; 893: 267-293 [PMID: 22665307 DOI: 10.1007/978-1-61779-885-6\_18]
- 25 Russell MR, Achour B, McKenzie EA, Lopez R, Harwood MD, Rostami-Hodjegan A, Barber J. Alternative fusion protein strategies to express recalcitrant QconCAT proteins for quantitative proteomics of human drug metabolizing enzymes and transporters. *J Proteome Res* 2013; 12: 5934-5942 [PMID: 24124648 DOI: 10.1021/pr400279u]
- 26 魏春燕, 吴逢波, 徐珽. CYP450与药物相互作用. 中国药业 2014; 23: 17-20
- 27 董宇, 王阶, 杨庆, 王怡薇, 朱晓新. CYP450酶与中药代谢相互作用关系研究概况. 中国中医药信息杂志 2011; 18: 100-103
- 28 王崇, 刘克辛. 外排型转运体与CYP450酶所介导的药物相互作用. 药学报 2014; 49: 590-595
- 29 李晗, 王宇光, 马增春, 周思思, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 李桦, 沈国林, 张伯礼, 高月. 基于临床用量的参附注射液对大鼠肝脏主要药物代谢酶的影响. 药学报 2013; 48: 728-733
- 30 张红曦, 王宇光, 马增春, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 李桦, 沈国林, 董志, 张伯礼, 高月. 参麦注射液对大鼠肝脏CYP450酶的影响. 中国新药杂志 2013; 22: 2529-2533
- 31 胡东华, 王宇光, 陈志武, 马增春, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 张伯礼, 高月. 复方丹参方对大鼠心脏细胞色素P450酶的影响. 中草药 2013; 44: 75-80
- 32 梁淼, 马增春, 易剑峰, 王宇光, 谭洪玲, 肖成荣, 梁乾德, 汤响林, 李桦, 沈国林, 高月. 四物汤及其配伍对大鼠肝脏P450酶活性及mRNA表达的影响. 中国中药杂志 2013; 38: 51-54
- 33 马增春, 梁淼, 赵佳伟, 王宇光, 谭洪玲, 梁乾德, 汤响林, 肖成荣, 高月. 四物汤及其有效成分对大鼠肝脏主要药物代谢酶的影响. 中国药理学通报 2015; 31: 1319-1323
- 34 王宇光, 高月. 中草药对细胞色素P-450酶调控研究进展. 中草药 2003; 34: 96-98
- 35 王宇光, 高月. 中药十八反药理毒理研究进展. 中国实验方剂学杂志 2003; 9: 60-63
- 36 肖成荣, 陈鹏, 王宇光, 谭洪玲, 温怀青, 高月. 半楼贝蕊及配伍乌头对大鼠肝细胞色素P450酶含量的影响. 天津中医药 2004; 21: 311-314
- 37 Wang Y, Wang S, Liu Y, Yan L, Dou G, Gao Y. Characterization of metabolites and cytochrome P450 isoforms involved in the microsomal metabolism of aconitine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 844: 292-300 [PMID: 16949890]
- 38 Ye X, Wang Y, Yang M, Wang Q, Liang Q, Ma Z, Zhang B, Gao Y. Investigating the in vitro metabolism of veratridine: characterization of metabolites and involved cytochrome P450 isoforms. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009; 877: 141-148 [PMID: 19097948 DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.11.041]
- 39 Wang Y, Ye X, Ma Z, Liang Q, Lu B, Tan H, Xiao C, Zhang B, Gao Y. Induction of cytochrome P450 1A1 expression by ginsenoside Rg1 and Rb1 in HepG2 cells. *Eur J Pharmacol* 2008; 601: 73-78 [PMID: 19022240 DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.10.057]
- 40 周建明, 王宇光, 杨明会, 马增春, 梁乾德, 谭洪玲, 肖成荣, 高月. 苦参、藜芦合用对大鼠肝P450酶活性及mRNA表达的调控作用. 中国中药杂志 2010; 35: 1845-1849
- 41 王宇光, 高月, 柴彪新, 陈鹏, 谭洪玲, 赵永红, 肖成荣, 孙圆媛, 朱力军. 中药人参与藜芦合用对大鼠肝P450酶活性及mRNA表达的调控作用. 中国中药杂志 2004; 29: 366-370
- 42 王宇光, 陈强, 李晗, 马增春, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 高月. 人皂苷Rg1对TCDD致HepG2细胞CYP1A1诱导的抑制作用. 中国药理学通报 2013; 29: 1382-1386
- 43 李飞, 王宇光, 杨亮, 朱冠秀, 梁乾德, 马增春, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 高月. UPLC-Q-TOF/MS分析不同比例丹参配伍藜芦毒性生物碱变化规律. 化学学报 2012; 70: 1284-1290
- 44 杨亮, 王宇光, 梁乾德, 马增春, 肖成荣, 谭洪玲, 高月. 藜芦与人参配伍毒性生物碱成分变化的相关性研究. 中草药 2012; 43: 1574-1579
- 45 杨亮, 王宇光, 梁乾德, 刘浩生, 马增春, 肖成荣, 谭洪玲, 汤响林, 张伯礼, 高月. 不同配比人参配伍藜芦对毒性成分溶出及动物毒性影响. 质谱学报 2012; 33: 257-264
- 46 朱冠秀, 王宇光, 马增春, 梁乾德, 肖成荣, 谭洪玲. 北沙参与藜芦配伍对大鼠体内细胞色素P450酶活性的影响. 中药药理与临床 2013; 29: 107-111
- 47 肖成荣, 王宇光, 代方国, 马增春, 谭洪玲, 高月. 芫花、甘遂配伍甘草对大鼠肝细胞色素P-450酶的影响. 中国实验方剂学杂志 2006; 12: 48-50
- 48 夏成云, 高月, 周京国, 刘福, 赵淑芝. 大戟配伍甘草对大鼠肝功能及肝脏微粒体中P450的影响. 中国中医急症 2006; 15: 1013-1015
- 49 代方国, 罗仁, 王宇光, 夏成云, 谭洪玲, 肖成荣, 赵

- 永红, 高月. 甘遂配伍甘草对大鼠肝脏CYP2E1表达及活性的影响. 第三军医大学学报 2005; 27: 742-7442
- 50 代方国, 罗仁, 王宇光, 夏成云, 谭洪玲, 肖成荣, 赵永红, 高月. 甘草、甘遂合用对大鼠肝CYP3A2的影响. 第四军医大学学报 2005; 26: 951-953
- 51 张璠璠, 王宇光, 梁乾德, 马增春, 汤响林, 谭洪玲, 肖成荣, 赵永红, 高月. 基于UPLC-TOF-MS研究冰片对丹参酮 II A在大鼠体内药代动力学的影响. 中国药理学通报 2014; 30: 862-866
- 52 油文亭, 周涛, 马增春, 梁乾德, 汤响林, 肖成荣, 谭洪玲, 肖勇, 王宇光, 高月. 人参皂苷F1通过激活孕烷X受体诱导CYP3A4的表达. 中国药理学通报 2015; 31: 1536-1540
- 53 王宇光, 刘浩生, 张嫋嫋, 肖勇, 陆倍倍, 马增春, 梁乾德, 汤响林, 肖成荣, 谭洪玲, 张伯礼, 高月. 人参中皂苷成分的孕烷X受体激动特性筛选. 药学报 2013; 48: 144-148
- 54 肖勇, 马增春, 王宇光, 谭洪玲, 刘浩生, 张嫋嫋, 陆倍倍, 梁乾德, 汤响林, 肖成荣, 高月. 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. 中国中西医结合杂志 2014; 34: 606-610
- 55 毕云枫, 刘舒, 李雪, 刘志强, 宋凤瑞. 乌头类生物碱组分在CYP450中的代谢指纹图谱及对CYP450活性的影响. 高等学校化学学报 2013; 34: 2084-2089
- 56 高月, 马增春, 张伯礼. 中药大品种二次开发的安全性关注及再评价意义. 中国中药杂志 2012; 37: 1-4

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

