

心火必然炎上,耗伤阴血,于是这种刺激所致的神不安藏,多是神伤,为阴血不足所致,故这种神不安藏则宜养而不宜镇。同时,心主血脉,心神不藏则多影响主血脉功能,而出现血行不利。因此,对于应激所致心肌损伤,应当从清心养神着手,兼调血脉。据此,我们研制成中药复方颐心宁。本方主要由黄连、生地、益母草组成,黄连清心火,生地养阴血以安神,辅以益母草活血通脉,诸药相伍,起到清心养神、通调血脉之效。应用于临床治疗心理应激所致的心律失常、心肌缺血等病,初步观察取得良好疗效。

本研究从动物实验的角度,进一步对颐心宁抗应激性心肌损伤的作用进行了观察,结果,中药颐心宁具有降低应激大鼠的心率、改善应激大鼠异常ST-T改变的作用。心率是反映心脏功能的一个敏感指标,心率增加会加大心肌耗氧量,加重心脏负担。ST段水平移位具有病理意义,在正常动物ST段可有轻度上下斜形偏移,如有水平偏移,常为心肌缺血或损伤的表现^[4]。并且,T波的电压也有重要意义,但动物心电图T波变异较大,T波高耸,在大鼠表示有急性心肌缺氧缺血,如果用药后T波由高变为低平或倒置或双相,在排除自发变化后,可认为有

意义^[4]。中药颐心宁组、颐心宁倍量组大鼠心率较模型组明显减慢,ST段移位较模型组明显减轻,T波直立幅度较模型组明显降低且多为双相,这表明颐心宁具有抗应激性心肌损伤、改善心脏功能的作用。有人认为,镇静安神类中药具有抗应激作用,且与下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的调节作用有关^[5],我们观察了中药颐心宁对大鼠血清皮质醇的干预作用,结果颐心宁组、颐心宁倍量组血清皮质醇水平较模型组降低,具有显著性差异。提示中药颐心宁抗应激性心肌损伤的作用可能与降低血清皮质醇水平有关。颐心宁对血清皮质醇的调节作用,可能是其抗应激性心肌损伤的机制之一。

参考文献:

- [1] 李峰,杨维益,梁嵘,等.从中医看肝脏调节应激反应的作用[J].北京中医药大学学报,1998,21(1):20-22
- [2] 赵晓林,李恩,贾漪涛,等.滋补肝肾方药对慢性应激大鼠下丘脑肝脏核糖体聚变的影响[J].中国中医基础医学杂志,1997,3(5):28-30
- [3] 赵晓林,李恩,张元杏,等.滋补肝肾方药对慢性应激大鼠免疫的影响[J].中国中医基础医学杂志,1996,2(5):30-32
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1982
- [5] 王慧,周华珠,李弘磊.养心I号抗心理应激作用的实验研究[J].徐州医学院学报,1996,16(4):417-419

盐酸小檗碱与环孢素 A 合用对小鼠肝药物代谢酶的影响

吴笑春,辛华雯,李馨,仲明远,余爱荣,朱敏,刘幼英*

(广州军区武汉总医院,湖北 武汉 430070)

摘要:目的 阐明盐酸小檗碱与环孢素 A 合用对药物代谢酶的影响。方法 采用分光光度法测定盐酸小檗碱、环孢素 A 及二者合用时小鼠肝微粒体 CYP450 ERD ADM 和 GST 的含量或活性。结果 ig 给药 3 和 6 d,盐酸小檗碱 (200 mg/kg) 对 CYP450 ERD 没有明显的抑制作用,但对 ADM 和 GST 有抑制作用;环孢素 A (45 mg/kg) 对 ERD ADM 和 GST 均有抑制作用;盐酸小檗碱与环孢素 A 合用对 CYP450 ERD ADM 和 GST 均有明显抑制作用。结论 盐酸小檗碱与环孢素 A 的组合是药物代谢酶 CYP450 ERD (CYP3A) ADM (CYP1A1 2B1 2C11) 和 GST 的强抑制剂,其总体抑制水平至少与已知的抑制剂酮康唑和硝苯地平相当甚至更强。

关键词: 盐酸小檗碱;环孢素 A;细胞色素 P450

中图分类号: R969.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)06-0528-04

Effects of coadministration of berberine hydrochloride and cyclosporine A on liver microsomal drug metabolizing enzymes in mice

WU Xiao-chun, XIN Hua-wen, LI Qing, ZHONG Ming-yuan,

YU Ai-rong, ZHU Min, LIU You-ying

(Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Region, Wuhan Hubei 430070, China)

Abstract Object To expound the effects of coadministration of berberine hydrochloride (BBH) and cyclosporine A (CsA) on liver microsomal drug metabolizing enzymes in mice. **Methods** The contents and activities of coadministration of BBH and CsA on hepatic microsomal cytochrome P450 (CYP450), ery-

* 收稿日期: 2001-09-28

作者简介: 吴笑春 (1954-),女,湖北人,主任药师,研究方向为临床药理学, Tel (027) 87879797-78688

thromycin demethylase (ERD), aminopyrene *N*-demethylase (ADM) and glutathione S transferase (GST) were determined by spectrophotometry. **Results** BBH at 200 mg /kg had no significant inhibitory effects on CYP450 and ERD, but it exhibited the inhibitory actions on ADM and GST after ig for 3 or 6 d in mice. CsA at 45 mg /kg could markedly inhibit ERD, ADM and GST. And the significant inhibitory effects on CYP450, ERD, ADM and GST were observed in the coadministration of BBH and CsA, respectively. **Conclusion** The combination of BBH and CsA is a powerful inhibitor on drug metabolizing enzymes such as CYP450, ERD (CYP3A), ADM (CYP1A1, 2B1, 2C11) and GST. Its inhibitory effect is at least equal to (even stronger than) that of Ketoconazole and Nifedipine which are known as the inhibitors of drug metabolizing enzymes.

Key words berberine hydrochloride (BBH); cyclosporine A (CsA); cytochrome P450 (CYP450)

小檗碱即黄连素 (berberine) 有抗微生物 抗心律失常、抗心衰、降血压、降血糖及免疫调节作用。环孢素 A (cyclosporine, CsA) 是器官移植受者普遍应用的免疫抑制剂之一,我们在临床工作中首次发现,合并应用盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride, BBH) 可使 CsA 的血浓度显著提高^[1]。为了阐明 BBH 和 CsA 相互作用的机制,我们研究了 BBH 和 CsA 对小鼠肝脏细胞色素 P450 酶 (cytochrome P450, CYP450) 系的影响

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: BBH 为上海天平制药厂产品,批号 990801; CsA 为华北制药集团有限责任公司生产,批号 960801; 酮康唑为西安杨森制药有限公司产品,批号 000222565; 硝苯地平注射液为武汉滨湖制药厂生产,批号 961218; 地塞米松注射液为江苏板桥药业有限公司生产,批号 9910221; 红霉素 (erythromycin) 氨基比林 (aminopyrine) 6-磷酸葡萄糖二钠 6-磷酸葡萄糖脱氢酶、1-氯-2,4-二硝基苯 (1-chloro-2,4-dinitrobenzene, CDN B)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 均为 Sigma 公司产品。牛血清白蛋白 (BSA)、氧化型辅酶 II (NADP)、甲醛、乙酰丙酮、甲醇等为国产分析纯试剂

1.2 分组及给药: 昆明种雄性小鼠,体重 20~24 g,由本院实验动物中心提供,随机分为阴性对照组、阳性对照组 (酶诱导剂采用地塞米松,酶抑制剂采用硝苯地平或酮康唑)、BBH 组、CsA 组和 BBH 与 CsA 合用组。BBH、CsA、酮康唑 ig 给药,硝苯地平、地塞米松 ip 给药,阴性对照组以相同途径给予等容量的溶媒,分别给药 3、6 d 后处死动物,取肝脏制备微粒体。

1.3 仪器: 分光光度法采用 UV-3000 分光光度计 (日本岛津) 及 HTS7000 多孔板分析仪 (美国 PE 公司)。

1.4 微粒体制备: 采用钙沉淀法制备肝脏微粒

体^[2], -40℃ 保存备用。

1.5 药物代谢酶测定: 细胞色素 P450 含量测定采用 Omura 方法^[3], 红霉素 *N*-脱甲基酶 (aminopyrene *N*-demethylase, ADM) 活性测定用分光光度法^[4], 氨基比林和红霉素的终浓度分别为 0.4, 8 mmol/L。谷胱甘肽 S 转移酶 (glutathione S transferase, GST) 活性测定参照文献^[4]。蛋白含量测定采用 folin 酚试剂法^[5]。

1.6 统计方法: 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并用组间 *t* 检验分析差异的显著性。

2 结果

2.1 BBH 与 CsA 合用 3 d 对小鼠肝微粒体细胞色素 P450 酶的影响: 见表 1。酶诱导剂地塞米松明显增加小鼠肝微粒体 CYP450 酶的含量, 诱导率为 189.3%, 与对照组相比差异非常显著 ($P < 0.01$)。酶抑制剂硝苯吡啶阳性对照组可使小鼠肝微粒体 CYP450 酶活性明显降低 ($P < 0.05$)。BBH (200 mg/kg)、CsA (45 mg/kg) 组 CYP450 酶活性与对照组比较虽有下降, 但统计学上并无明显差异 ($P > 0.05$)。而 BBH 和 CsA 合用 3 d 后 P450 酶活性即明显降低 ($P < 0.01$)。

表 1 BBH 与 CsA 合用对小鼠肝微粒体 P450 酶的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量 (mg/kg)	P450 酶 ($\mu\text{mol/min} \cdot \text{mg}$)	抑制率 (%)
对照	-	0.347 ± 0.081	
地塞米松	150	1.004 ± 0.365 *	-189.30
硝苯地平	5	0.243 ± 0.013	30.00
BBH	200	0.316 ± 0.063	8.93
CsA	45	0.284 ± 0.060	18.16
BBH + CsA	200 + 45	0.214 ± 0.076 *	38.33

与对照组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.2 BBH 与 CsA 合用对小鼠肝微粒体 ERD 酶活性的影响: 见表 2。给药 3 d 后, 酮康唑阳性对照组可使小鼠肝微粒体 ERD 酶活性明显降低 ($P < 0.05$)。BBH (200 mg/kg)、CsA (45 mg/kg) 组

ERD酶活性与对照组比较虽有下降,但统计学上无明显差异 ($P>0.05$)。而 BBH合用 CsA组 ERD活性明显降低 ($P<0.05$)。给药 6 d后,各用药组肝微粒体 ERD酶活性进一步降低,尤以 BBH合用 CsA组降低最为明显 ($P<0.05$)。

表 2 BBH与 CsA合用对小鼠肝微粒体 ERD酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	给药 3 d		给药 6 d	
		ERD	抑制率	ERD	抑制率
		(nmol/min·mg)	(%)	(nmol/min·mg)	(%)
对照	—	0.640±0.236		0.600±0.181	
酮康唑	150	0.407±0.063 [*]	36.41	0.351±0.112	41.5
BBH	200	0.552±0.203	13.75	0.385±0.099	35.83
CsA	45	0.430±0.130	32.81	0.327±0.119 [§]	45.50
BBH+CsA 200+	45	0.253±0.197 [*]	60.47	0.225±0.140 [§]	62.50

与对照组相比: * $P<0.05$

2.3 BBH与 CsA合用对小鼠肝微粒体 ADM酶活性的影响:见表 3 给药 3 d时, BBH CsA及两药合用组小鼠肝微粒体 ADM酶活性与对照组比较均无明显差异 ($P>0.05$)。给药 6 d时, BBH组和 CsA组 ADM酶明显受到抑制 ($P<0.05$),而两药合用组的抑制作用则更加明显 ($P<0.01$),抑制率达 73.86%。酮康唑组给药 3 d时的 ADM酶活性与对照组无明显差异,在给药 6 d时则表现出明显的诱导作用。

表 3 BBH与 CsA合用对小鼠肝微粒体 ADM酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	给药 3 d		给药 6 d	
		ADM	抑制率	ADM	抑制率
		(nmol/min·mg)	(%)	(nmol/min·mg)	(%)
对照	—	0.446±0.094		0.440±0.076	
BBH	200	0.507±0.103	13.68	0.272±0.123 [‡]	38.18
CsA	45	0.418±0.036	6.27	0.247±0.132 [‡]	43.86
BBH+CsA 200+	45	0.393±0.097	11.88	0.115±0.026 [*]	73.86

与对照组相比: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

2.4 BBH与 CsA合用对小鼠肝微粒体 GST酶活性的影响:见表 4 给药 3或 6 d时, BBH CsA BBH+CsA组对 GST酶活性均有明显抑制作用 ($P<0.05$)。

3 讨论

药物间相互作用最重要的机制是药物对 CYP450酶活性的影响,本研究对小鼠肝微粒体 CYP450酶测定结果表明: BBH和 CsA对该酶虽都有不同程度的抑制,但与对照组没有显著差异。但是两者相加,抑制作用似也相加,其抑制率 (38.33%)比阳性对照硝苯吡啶 (30.0%)还高,说明 BBH与 CsA合用对 CYP450酶活性确有抑制作用。

表 4 BBH与 CsA合用对小鼠肝微粒体 GST酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	给药 3 d		给药 6 d	
		GST	抑制率	GST	抑制率
		(nmol/min·mg)	(%)	(nmol/min·mg)	(%)
对照	—	0.498±0.194		0.520±0.201	
酮康唑	150	0.375±0.178	24.70	0.257±0.09 [‡]	50.58
BBH	200	0.276±0.111 [*]	44.58	0.278±0.087 [*]	46.54
CsA	45	0.279±0.133 [*]	43.98	0.260±0.144 [‡]	50.00
BBH+CsA 200+	45	0.251±0.126 [*]	49.60	0.258±0.074 [‡]	50.38

与对照组相比: * $P<0.05$

CYP3A是参与口服药物首过效应的主要酶系,也是造成药物间相互作用的重要原因^[6]。CsA是公认的 CYP3A4底物,主要代谢途径为羟化和 N-去甲基化。CsA的血浓度可因合用 CYP3A抑制剂如酮康唑、红霉素、硫氮革酮、硝苯吡啶、西米替丁等而升高^[7]。亦可因合用 CYP3A诱导剂如糖皮质激素、苯巴比妥、卡马西平、利福平和苯妥英钠而下降。

红霉素脱甲基酶是一种细胞色素 P450同功酶,测定此酶主要反映了 CYP3A的活性^[4]。本研究结果表明 CsA是 CYP3A抑制剂,且给药 6 d比 3 d时抑制作用更强,这与其在临床治疗中表现出的自身抑制现象相符; BBH在 3 d时抑制作用不明显,但在给药 6 d时抑制率也达到 35.83%; BBH和 CsA都表现出时效关系。BBH与 CsA合用抑制效应明显加强,3和 6 d的抑制率均在 60%以上,比阳性对照药酮康唑的抑制率还高许多。

氨基比林 N-脱甲基酶主要反映了 CYP1A2、CYP2C11的活性,本研究结果表明,在给药 3 d时, BBH CsA和两药合用组均与对照组没有显著差异,但在给药 6 d时, BBH和 CsA均表现出明显的抑制作用,而 BBH与 CsA合用组尤其显著,抑制率高达 73.86%,时效作用明显,其机制是否与竞争性结合有关尚需进一步探讨。

GST是一组参与机体解毒功能的同功酶,其主要作用是催化还原型 GSH与亲电性化合物结合,形成无毒的结合物排出体外。GST本身也可以与亲电性化合物结合,促进药物及外源性物质的代谢和清除。本研究结果表明无论是给药 3 d还是 6 d, BBH CsA和两药合用组均对该酶有抑制作用,但时效关系不明显,且 BBH与 CsA合用组也并不比单药的两组抑制作用更强。

CsA与 BBH的相互作用以及 BBH对 CYP450的影响国内外均未见文献报道。本研究表明, BBH与 CsA的组合是药物代谢酶 CYP450

ERD (CYP3A)、ADM (CYP1A1 2B1 2C11) 和 GST 的强抑制剂,其总体抑制水平至少与已知的抑制剂酮康唑和硝苯吡啶相当甚至更强。本研究结论对于阐明 BBH 和 CsA 相互作用机制很有意义,并将为临床合理应用此相互作用提供可靠的药理学依据

致谢: 本文承大连医科大学韩国柱教授审阅并提出指导意见, 诚致衷心的感谢!

参考文献:

[1] 李 馨,吴笑春,辛华雯,等. 肾移植受者环孢素 A 与盐酸小檗碱合用的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2001, 17(2): 114-117.

- [2] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [3] Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes [J]. J Biol Chem, 1964, 239: 2379.
- [4] 张均田. 现代药理实验方法 (下册) [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- [5] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, *et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. J Biol Chem, 1951, 193: 265.
- [6] 鞠美华. 细胞色素 P450 同工酶在外源物代谢中的作用 [J]. 国外医学 药学分册, 1998, 25: 218-224.
- [7] Preskon S H. Clinically relevant pharmacology of selective serotonin reuptake inhibitors. An overview with emphasis on pharmacokinetics and effects on oxidative drug metabolism [J]. Clin Pharmacokinet, 1997, 32 (Suppl 1): 1-21.

黄精根茎与须根的药效学研究

王曙东, 费建红, 宋炳生*

(南京军区南京总医院, 江苏 南京 210002)

摘要: 目的 黄精根茎及须根的药效学对比研究 方法 观察黄精根茎及须根对免疫功能、糖代谢、耐缺氧能力及离体心肌冠脉流量的影响 结果 对免疫功能的影响, 黄精根茎及须根与模型组比较皆有显著差异 ($P < 0.05$)。对糖代谢的影响, 对肾上腺素所致小鼠血糖升高黄精根茎及须根与模型组比较皆有显著差异 ($P < 0.05$)。对四氧嘧啶所致小鼠血糖升高, 须根与模型组比较有显著差异 ($P < 0.05$)。根茎与模型组比较差异不显著。对耐缺氧能力黄精根茎及须根与模型组比较皆有显著差异 ($P < 0.05$)。对离体心肌冠脉流量黄精根茎及须根与生理盐水组比较皆有显著差异 ($P < 0.01$) 结论 黄精须根有类同于根茎的药效学作用。

关键词: 黄精; 免疫功能; 糖代谢; 常压耐缺氧; 离体心肌冠脉流量

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)06-0531-03

Pharmacodynamic studies of rhizome and pogoniasis root of *Polygonatum cyrtonema*

WANG Shu-dong, FEI Jian-hong, SONG Bing-sheng

(Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region, Nanjing Jiangsu 210002, China)

Key words *Polygonatum cyrtonema* Hua; immunofunction; glycometabolism; anoxia-tolerance at ordinary pressure; coronary blood flow of isolated myocardium

黄精须根在采收时常作为杂质除去, 为扩展黄精药用部位, 充分利用药材资源, 我们曾对黄精根茎及须根中微量元素、氨基酸^[1]及多糖^[2]进行过对比研究, 为进一步探讨须根的药用价值, 本研究对其根茎及须根的药效学进行了对比实验

1 材料

1.1 药物: 黄精须根水煎液: 黄精须根粉末用蒸馏水浸没, 浸润约 1 h, 煎煮微沸 30 min, 共 2 次, 合并滤液, 80℃ 恒温水浴浓缩至每毫升含 1 g 生药浓度。另一用药浓度为 0.5 g/mL 黄精根茎水煎液:

制备方法同上, 最终浓度为每毫升含 1 g 生药。黄精须根水提醇沉液: 黄精须根水煎液徐徐加入无水乙醇使乙醇含量为 20%, 沉淀杂质, 测定上清提取液的 pH 值为 7.0~7.5

1.2 试剂: 植物血球凝集素 (PHA): 上海东风生化技术公司产品, 批号 990701, 临用前以生理盐水配成 2 mg/mL; 环磷酰胺 (CY): 上海第十二制药厂产品, 批号 991104, 20000323; 肾上腺素 (Adr): 中国天丰药厂产品, 批号 990420, 4℃ 冷藏备用; 异丙肾上腺素 (Iso): 中国天丰药厂产品, 批号 20001103,

* 收稿日期: 2001-12-25

作者简介: 王曙东 (1965-), 男, 安徽人, 副主任药师, 硕士, 主要从事中药制剂工作。Tel 025-4820173