

瓜蒌皮注射液对人肝微粒体 CYP450 酶 4 种亚型的影响

邹凯杰¹, 石壬伟¹, 袁传顺², 陆再华¹, 罗立波^{3*}

1. 常州市第七人民医院 药剂科, 江苏 常州 213000

2. 常州市第七人民医院 科教科, 江苏 常州 213000

3. 常州市第七人民医院 心内科, 江苏 常州 213000

摘要: 目的 研究瓜蒌皮注射液对人肝细胞色素 P450 (CYP450) 酶 4 种亚型 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 和 CYP2D6 的体外抑制作用。方法 瓜蒌皮注射液 8 个不同浓度 (2%、1%、0.2%、0.05%、0.01%、0.005%、0.002%、0.000 5%) 的工作液分别与 4 种 CYP450 酶亚型的探针底物混合, 即非那西丁 (CYP1A2)、安非他酮 (CYP2B6)、双氯芬酸 (CYP2C9)、右美沙芬 (CYP2D6), 用维拉帕米作为内标, 在人肝微粒体中孵育, 采用高效液相色谱法检测 4 种探针底物的剩余浓度, 计算半数抑制浓度 (IC₅₀)。结果 瓜蒌皮注射液对 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 和 CYP2D6 的 IC₅₀ 值均大于临床常用量。结论 正常用量下, 瓜蒌皮注射液对人 CYP450 酶的 4 亚型无明显影响。

关键词: 瓜蒌皮注射液; 细胞色素 P450; 人肝微粒体; 半数抑制浓度

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2018)11-2769-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.11.002

Effects of Gualoupi Injection on 4 subtypes of human liver CYP450

ZOU Kai-jie¹, SHI Ren-wei¹, YUAN Chuan-shun², LU Zai-hua¹, LUO Li-bo³

1. Department of Pharmacy, The No. 7 People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, China

2. Science and Education Division, The No. 7 People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, China

3. Department of Cardiology, The No. 7 People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, China

Abstract: Objective To study inhibitory effects of Gualoupi Injection on 4 subtypes of human liver cytochrome P450s (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, and CYP2D6). **Methods** Eight different doses of Gualoupi Injection (2%, 1%, 0.2%, 0.05%, 0.01%, 0.005%, 0.002%, and 0.000 5%) were incubated with human liver microsomes in 4 kinds of specific probe substrates, including phenacetin (CYP1A2), amfebutamone (CYP2B6), diclofenac (CYP2C9), and dextromethorphan (CYP2D6). Verapamil was used as internal reference to calculate other specific probe substrates. HPLC-UV method was used to analyze the residual concentration of specific probe substrates and calculate the IC₅₀ values. **Results** IC₅₀ values of Gualoupi Injection with CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, and CYP2D6 were higher than the therapeutic dose. **Conclusion** Gualoupi Injection might not has significant effect on 4 subtypes of human CYP450s within curing dose.

Key words: Gualoupi Injection; cytochrome P450; human liver microsomes; IC₅₀

瓜蒌皮注射液是从瓜蒌皮中提取有效成分制成的注射液, 主要成分为香草酸葡萄糖苷、芦丁、异槲皮苷、柯伊利素葡萄糖苷、长链脂肪酸等, 临床主要用于辅助治疗冠心病心绞痛^[1]。随着中药注射液临床的广泛应用, 特别是在与化学药物合用的过程中可能存在潜在的药物相互作用, 继而引发不良反

应, 因而联合用药过程中因药物相互作用引发的不良反应已越来越引起重视。肝脏是药物代谢的重要器官, 临床上使用的大部分药物都经由肝脏代谢, 而细胞色素 P450 酶 (CYP450) 在药物代谢中则扮演着重要角色, 它的活性的抑制或诱导往往是导致药物相互作用的重要原因^[2-3]。其中 CYP1A2 (8.9%)、

收稿日期: 2018-05-04

基金项目: 常州市科技计划项目 (1130)

作者简介: 邹凯杰 (1988—), 男, 江苏常州人, 药师, 硕士, 从事心血管药理学方向研究。E-mail: zhou816012@163.com

*通信作者 罗立波, 教授, 主任医师, 研究方向为心血管内科。Tel: (0519) 69806328 E-mail: llb213001@163.com

CYP2B6(7.2%)、CYP2C9(12.8%)、CYP2D6(20%)这4个酶参与的药物代谢约占总药物代谢的50%^[4]。已有大量的研究表明,临床上使用的中药注射液几乎都是多种成分的混合物,能在不同程度上影响药物代谢酶的活性^[5]。如丹红注射液可在正常剂量下抑制CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9的活性,提示其在联合用药过程中需特别注意药物相互作用^[6]。Cocktail 探针底物法是目前常用的检测药物代谢机制的有效手段,可同时使用多种探针底物同时检测表达信息,减少个体差异,具有经济、高效、方便简单的特点^[7]。因此本研究利用HPLC-UV检测结合cocktail法研究瓜蒌皮注射液对人肝CYP450酶4种亚型CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6的抑制作用,为临床合理用药提供参考。

1 实验材料

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪,日本岛津UV2700紫外分光光度计。XW-80A涡旋混合器(其林贝尔仪器制造有限公司),Forma 725超低温冷冻冰箱(美国Thermo),XSE105DU分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司),Eppendorf 5810R高速冷冻多用途离心机(德国)。

1.2 药品与试剂

瓜蒌皮注射液(上海第一生化药业有限公司,规格4 mL/支,批号1503403),盐酸安非他酮(质量分数99.9%,中国食品药品检定研究院,批号100671-200301),氢溴酸右美沙芬(质量分数95.1%,中国食品药品检定研究院,批号100201-201204),双氯芬酸钠(质量分数99.9%,中国食品药品检定研究院,批号100334-200302),非那西丁(质量分数98%,Sigma,批号101637181),维拉帕米(质量分数99%,中国食品药品检定研究院,批号100223-200102),葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH, Sigma,批号V900924-1G),葡萄糖-6-磷酸(G-6-P, Sigma,批号G5885-200UN),烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADP^+ , Sigma,批号I5036-200UN), α -萘黄酮(Sigma,批号N5757-1G),塞替派(Sigma,批号T6069-1G),磺胺苯吡唑(Sigma,批号M70800-5G),奎尼丁(质量分数99%,上海甄准生物科技有限公司,批号2R-15129),实验用水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

1.3 微粒体

混合人肝微粒体(上海瑞德肝脏疾病研究有限

公司)。

2 方法与结果

2.1 分组

本实验分4组,分别为瓜蒌皮组、空白组(同等体积生理盐水)、对照组(同等体积生理盐水)和阳性抑制剂组。

2.2 待测药物的溶液制备

将瓜蒌皮注射液用PBS缓冲液(100 mmol/L, pH 7.4)稀释,终浓度分别为2%、1%、0.2%、0.05%、0.01%、0.005%、0.002%、0.000 5%。

2.3 人肝微粒体孵育体系的制备^[6]

4℃条件下配制体外人肝微粒体孵育体系250 μL ,包含不同浓度的待测药物或阳性抑制剂,1.0 mg/mL人肝微粒体蛋白,5 mmol/L MgCl_2 ,1 U/mL G-6-PDH,5 mmol/L G-6-P,100 mmol/L PBS,混合探针底物(20 $\mu\text{mol/L}$ 非那西丁、15 $\mu\text{mol/L}$ 安非他酮、5 $\mu\text{mol/L}$ 双氯芬酸钠和10 $\mu\text{mol/L}$ 右美沙芬),所有有机溶剂的体积分数需要控制在总体积的1%以内。

将体外人肝微粒体孵育体系溶液于37℃水浴中孵育5 min,迅速加入 NADP^+ 溶液25 μL (10 mmol/L),启动反应(空白组不加 NADP^+ ,替换成同等体积生理盐水,不启动反应,以求最大底物浓度),并于37℃水浴孵育10 min。于冰面上用225 μL 维拉帕米(10 $\mu\text{mol/L}$,内标)的甲醇-乙腈(1:1)终止液终止反应,沉淀蛋白。涡旋混合1 min后,于4℃用离心机以10 000 r/min的速度离心20 min,并取上清液100 μL ,进样检测。每个样品均平行操作3次。

2.4 检测方法

2.4.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-醋酸铵缓冲液(55:45,乙酸调pH 5.0)(A)-甲醇-醋酸铵缓冲液(95:5,乙酸调pH 5.0)(B)。采用梯度洗脱,0~10 min,75% A;10~15 min,75%~0% A;15~20 min,0% A;20~25 min,0%~75% A;25~30 min,75% A;检测波长:220 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:20 μL 。

2.4.2 标准曲线制备和定量限 分别将探针底物配制成7组不同浓度的混合底物溶液,每组平行做3份,7组混合底物分别为非那西丁、安非他酮、双氯芬酸、右美沙芬浓度60、45、15、30、50、37.5、12.5、25、40、30、10、20、20、15、5、10、5、

7.5、2.5、5、2.5、3.75、1.25、2.5、1.25、1.875、0.625、1.25 $\mu\text{mol/L}$ 。将25 μL 人肝微粒体加入248 μL PBS 缓冲液(pH 7.4)中,并加热至60 $^{\circ}\text{C}$ 灭活,冷却至室温后,分别加入相应浓度2 μL 混合探针底物溶液,于冰面加入225 μL 含维拉帕米(10 $\mu\text{mol/L}$,内标)的甲醇-乙腈(1:1)终止液沉淀蛋白。涡旋混合1 min后,于4 $^{\circ}\text{C}$ 用离心机以10 000 r/min离心20 min,并取上清液100 μL 进样检测。以探针底物浓度为横坐标,探针底物与内标峰面积比值为纵坐标,进行线性回归,用信噪比 ≥ 10 计算定量下限。每个样品平行操作6次。结果显示,各底物峰面积/内标峰面积比与浓度呈良好的线性关系,见表1。各底物的定量限分别为:非那西丁0.2 $\mu\text{mol/L}$,安非他酮0.5 $\mu\text{mol/L}$,双氯芬酸0.5 $\mu\text{mol/L}$,右美沙芬0.4 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.4.3 系统适用性试验 取空白人肝微粒体溶液、空白人肝微粒体加各探针底物和内标溶液、探针底物和内标溶液,孵育15 min后终止反应,离心,进样检测,结果见图1。本实验条件下测得人肝微粒体、各探针药物、内标基线分离,内源性物质不干扰测定,方法可行。

表1 各探针底物的标准曲线方程

Table 1 Standard curve equations for probe substrates			
底物	标准曲线方程	r	线性范围/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
非那西丁	$Y=0.0338X+0.0101$	0.9988	1.05~60
安非他酮	$Y=0.0910X+0.0045$	0.9984	1.88~45
双氯芬酸	$Y=0.0503X+0.0068$	0.9991	0.63~15
右美沙芬	$Y=0.0624X+0.0075$	0.9976	1.25~30

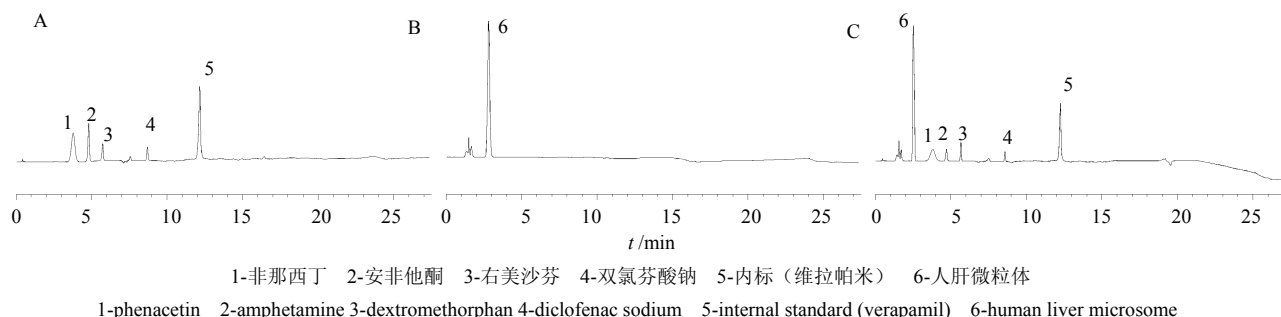


图1 混合探针底物+内标溶液(A)、空白人肝微粒体(B)和空白人肝微粒体+混合探针底物+内标溶液(C)的HPLC图谱
Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed probe substrate + internal standard solution (A), blank liver microsome (B) and blank liver microsome + mixed probe substrate + internal standard solution (C)

2.4.4 精密度试验 分别制备3个浓度的混合探针底物溶液,非那西丁、安非他酮、双氯芬酸、右美沙芬40、30、10、20 $\mu\text{mol/L}$,20、15、5、10 $\mu\text{mol/L}$,1、1、1、1 $\mu\text{mol/L}$,进行处理和分析,分别于日内、日间测定5次,计算日内、日间精密度。结果显示,日内精密度RSD值小于8%,日间精密度小于9%,仪器精密度满足实验要求,见表2。

2.4.5 回收率试验 将混合探针底物溶液进行一次进样并处理分析,记录底物峰面积。再将制备的混合探针底物溶液不加处理,直接作为对照品溶液一次进样,记录峰面积,按绝对回收率=底物峰面积/对照品峰面积计算绝对回收率。将测得的探针底物溶液峰面积与内标峰面积比值代入标准曲线方程,计算出相应底物浓度,按方法回收率=底物浓度/理论浓度计算方法回收率。结果显示,探针底物的方法回收率RSD值小于9%,绝对回收率小于

10%,满足实验要求,见表3。

2.4.6 稳定性试验 制备混合探针底物溶液,每个浓度6个样本,分别放置于温室及-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。放置于室温的样品检测时间为24、48 h,-20 $^{\circ}\text{C}$ 样品检测时间为3、7 d,每个样本测定5次,考察其稳定性,见表4。结果非那西丁、安非他酮、双氯芬酸、右美沙芬置于室温的样品24、48 h的浓度变化值RSD值小于7%,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱的3、7 d的浓度变化值RSD值小于6%。表明各探针底物在室温48 h内及-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻7 d内稳定。

2.5 阳性抑制剂对CYP450酶的抑制作用

将4种CYP450酶阳性抑制剂 α -萘黄酮、塞替派、磺胺苯吡唑、奎尼丁分别配制成终浓度为10、20、50、50 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液,对照组为同等体积生理盐水。分别加入至混合底物孵育体系,孵育,检测混合探针底物浓度。利用阳性抑制剂抑制CYP450

表 2 精密度试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Results of precision test ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

底物	加入量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	日内精密度		日间精密度	
		测得量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/%	测得量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/%
非那西丁	1	1.01 $\pm$ 0.08	7.82	1.08 $\pm$ 0.06	5.30
	20	20.09 $\pm$ 0.16	0.80	21.40 $\pm$ 1.76	8.22
	40	39.84 $\pm$ 0.40	1.01	40.23 $\pm$ 0.30	0.75
安非他酮	1	0.98 $\pm$ 0.07	7.58	1.07 $\pm$ 0.07	6.80
	15	15.20 $\pm$ 0.55	3.64	14.87 $\pm$ 1.23	8.29
	30	30.98 $\pm$ 1.28	4.12	31.50 $\pm$ 1.99	6.33
双氯芬酸	1	0.99 $\pm$ 0.07	6.84	1.07 $\pm$ 0.07	6.23
	5	5.41 $\pm$ 0.22	4.07	5.24 $\pm$ 0.18	3.36
	10	10.34 $\pm$ 0.27	2.61	9.79 $\pm$ 0.20	2.05
右美沙芬	1	1.07 $\pm$ 0.07	6.21	1.04 $\pm$ 0.05	4.83
	10	10.64 $\pm$ 0.57	5.32	10.59 $\pm$ 0.30	2.81
	20	20.29 $\pm$ 0.82	4.03	20.84 $\pm$ 0.47	2.27

表 3 回收率试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Results of recovery test ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

底物	加入量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	方法回收率		绝对回收率	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
非那西丁	1	101.52 $\pm$ 9.07	8.93	87.51 $\pm$ 4.94	5.64
	20	95.68 $\pm$ 0.65	0.68	89.53 $\pm$ 1.01	1.13
	40	98.22 $\pm$ 0.84	0.86	85.49 $\pm$ 0.55	0.64
安非他酮	1	98.64 $\pm$ 9.62	8.75	88.37 $\pm$ 8.26	9.34
	15	96.54 $\pm$ 3.30	3.41	95.27 $\pm$ 7.62	8.00
	30	97.28 $\pm$ 3.48	3.58	95.69 $\pm$ 5.71	5.97
双氯芬酸	1	103.97 $\pm$ 6.84	6.58	90.83 $\pm$ 5.30	5.83
	5	95.66 $\pm$ 3.08	3.22	93.24 $\pm$ 4.85	5.20
	10	95.12 $\pm$ 2.01	2.11	94.43 $\pm$ 1.39	1.47
右美沙芬	1	112.31 $\pm$ 7.1	6.32	90.28 $\pm$ 4.52	5.01
	10	95.28 $\pm$ 4.95	5.20	92.24 $\pm$ 2.31	2.50
	20	89.60 $\pm$ 3.22	3.59	86.52 $\pm$ 1.15	1.33

酶 4 个亚型的活性检测实验方法的合理性, 见表 5。结果表明, α -萘黄酮、塞替派、磺胺苯吡唑、奎尼丁分别对 CYP1A2、2B6、2C9、2D6 的活性有明显的抑制作用, 与对照组比较差异具有显著性 ($P < 0.01$)。

2.6 瓜蒌皮注射液对 CYP450 酶亚型的抑制作用

将 4 种探针底物非那西丁、安非他酮、双氯芬

酸、右美沙芬的峰面积与内标峰面积的比值代入各标准曲线中, 计算出各探针底物浓度, 并计算各 CYP450 酶亚型在不同药物浓度作用下的酶活性。使用 SPSS 20.0 统计软件分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。使用软件 GraphPad Prism 5.0 按非线性回归拟合作图, 并计算 IC_{50} 值。

酶活性 = (总底物浓度 - 剩余浓度) / 总底物浓度

表4 稳定性试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 4 Results of stability test ($\bar{x} \pm s, n=6$)

底物	加入量/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	室温		-20℃	
		测定浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%	测定浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%
非那西丁	1	1.01±0.04	3.58	1.13±0.07	5.89
	20	22.32±0.50	2.23	20.69±0.83	4.02
	40	3.87±0.10	2.57	40.34±1.82	4.50
安非他酮	1	1.03±0.04	3.91	1.08±0.053	4.89
	15	15.13±1.03	6.78	15.40±1.04	6.84
	30	29.54±0.92	3.11	29.27±1.67	5.70
双氯芬酸	1	1.00±0.03	3.00	1.08±0.05	4.31
	5	5.15±0.08	1.57	5.06±0.14	2.75
	10	10.27±0.25	2.44	10.87±0.28	2.61
右美沙芬	1	0.97±0.02	2.21	0.92±0.04	4.27
	10	9.91±0.17	1.71	10.20±0.35	3.43
	20	20.11±0.40	2.00	19.82±0.48	2.41

表5 阳性抑制剂对 CYP450 酶的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 Inhibitory effects of positive inhibitors on CYP450 enzyme ($\bar{x} \pm s, n=3$)

亚型	阳性抑制剂	抑制率/%	对照组抑制率/%
CYP1A2	A-萘黄酮	42.78±1.17**	80.68±2.12
CYP2B6	塞替派	55.70±1.80**	80.17±1.58
CYP2C9	磺胺苯吡唑	56.47±3.74**	85.84±2.69
CYP2D6	奎尼丁	60.21±3.16**	71.53±1.31

与对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

瓜蒌皮注射液对 CYP450 酶 4 亚型的抑制作用中, 对 CYP1A2 的 IC_{50} 大于 500%, 对 CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6 的 IC_{50} 分别为 56.86%、0.56%、131.0%。瓜蒌皮注射液临床常用剂量为静脉注射极量 8 mL/d, 静脉滴注极量 12 mL/d, 按照临床每日

用药剂量与人体血液的比值, 计算得其日用体积分数分别为 0.16%、0.24%。因此瓜蒌皮注射液对该 4 种 CYP450 酶亚型 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6 的影响均超出正常剂量使用范围。不同浓度的瓜蒌皮注射液对 CYP450 酶 4 个亚型 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6 的抑制作用见图 2, 瓜蒌皮注射液的 IC_{50} 值见表 6。

表6 瓜蒌皮注射液的 IC_{50} 值

Table 6 IC_{50} values of Gualoupi Injection

CYPs	特异性探针底物	IC_{50} 值/%
CYP1A2	非那西丁	>1 000
CYP2B6	安非他酮	56.86
CYP2C9	双氯芬酸	0.56
CYP2D6	右美沙芬	131.00

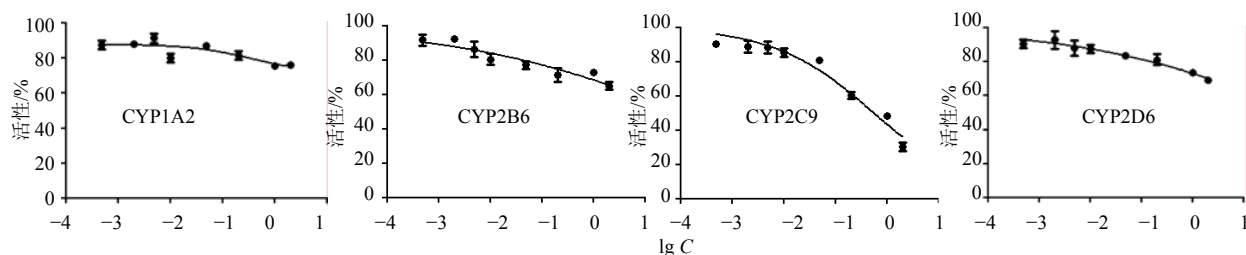


图2 瓜蒌皮注射液对 CYP450 酶 4 个亚型的抑制效果 ($n=3$)
Fig.2 Inhibitory effect of Gualoupi Injection on 4 subtypes of CYP450 enzyme ($n=3$)

3 讨论

Cocktail 探针底物法目前已广泛应用于检测药物对代谢酶活性的影响。目前常用来检测酶活性的方法主要有 LC/MS 和 HPLC-UV 法。由于 LC/MS 检测费用较为昂贵,而且对样品处理、流动相等要求严格^[8-9],故本研究采用更为方便、仪器普及性更高的 HPLC-UV 法来检测酶活性底物^[10]。本研究分别用 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6 酶的抑制剂 α -萘黄酮、塞替派、磺胺苯吡唑、奎尼丁验证实验的合理性,结果表明抑制剂均分别对相应的酶产生明显的抑制作用。同时通过日内、日间精密度、回收率、稳定性实验的结果,表明本实验方法合理可行。

CYP1A2 在肝脏中特异性表达,主要参与代谢芳胺、杂环胺和含卤烃化合物等,它可以将一些多环芳烃代谢为致癌中间体,同时也参与代谢咖啡因、茶碱、黄曲霉素 B1、扑热息痛、奥氮平等,而临床上用于抗心绞痛的药物普萘洛尔也是经由其参与代谢^[11]。CYP1A2 的活性升高与否是一面双刃剑,一方面它可以激活致癌物质,另一方面它能清除体内有害物质,又能参与药物的代谢,对人体新陈代谢起到重要的作用。但临床上很多药物,CYP1A2 都有参与代谢,如茶碱、扑热息痛、扑热息痛等,而这些药物也存在与瓜蒌皮注射液共用的情况,所以笔者认为在中西药广泛合用的情况下,研究瓜蒌皮注射液对 CYP1A2 的影响有着重要的意义^[12]。本研究表明,瓜蒌皮注射液临床剂量下并不会对 CYP1A2 活性产生影响,故在正常使用瓜蒌皮注射液时,与经 CYP1A2 代谢的药物联用,并不会影响药物的疗效。CYP2B6 作为一种单氧酶,能参与代谢胆固醇、类固醇和其他脂质代谢,同时它还参与代谢抗癌药物环磷酰胺^[13]。本实验表明瓜蒌皮注射液在临床上使用时,对 CYP2B6 无影响,经其参与代谢的药物也不会影响其疗效。CYP2C9 含量在肝脏中约占 CYP450 酶系的 18%,是一种十分重要的酶,它参与代谢的药物也十分广泛,如华法林、苯妥英钠,还有一些常规药物,如甲苯磺丁脲、洛沙坦、格列吡嗪和一些非甾体抗炎药等^[14]。CYP2C9 在内源性和外源性的代谢过程中也起着十分重要的作用。它的作用广泛性还在于参与代谢 β 受体阻滞药、抗高血压药等,如普萘洛尔、卡托普利、美托洛尔等药物。上述这些药物几乎都是临床上能经常与瓜蒌皮注射液联合用药治疗疾病的^[15]。本实验研

究结果表明,瓜蒌皮注射液临床剂量下对 CYP2C9 无明显影响,不会影响经 CYP2C9 代谢的药物。CYP2D6 是一种在人体内分布广泛的酶,不但在肝脏中有表达,在中枢神经系统也有高表达,不但如此,CYP2D6 也负责参与代谢近 25% 的临床药物,因此,研究瓜蒌皮注射液对 CYP2D6 的影响无疑有着重要的意义^[16]。本研究结果提示瓜蒌皮注射液在临床剂量下对 CYP2D6 活性影响较小,不会对经 CYP2D6 代谢的药物产生影响。

综上所述,瓜蒌皮注射液对 4 种 CYP450 酶亚型的 IC_{50} 范围均超过临床常用的日用体积分数 0.24%,提示其在临床上联合用药过程中对常用的经该 4 种酶代谢的药物产生的影响较小,可以忽略药物可能存在的相互作用的风险。但瓜蒌皮注射液是否能影响其他 CYP450 酶亚型,进而影响联合用药过程中其他药物的代谢,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 刘金娜,温春秀,刘 铭,等. 瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(5): 843-848.
- [2] Behrendorff J B, Huang W, Gillan E M. Directed evolution of cytochrome P450 enzymes for biocatalysis: exploiting the catalytic versatility of enzymes with relaxed substrate specificity [J]. *Biochem J*, 2015, 467(1): 1-15.
- [3] Lundemo M T, Woodley J M. Guidelines for development and implementation of biocatalytic P450 processes [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(6): 2465-2483.
- [4] Zanger U M, Schwab M. Cytochrome P450 enzyme in drug metabolism: regulation of gene expression, enzymes activities, and impact of genetic variation [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138(1): 103.
- [5] Jin S E, Ha H, Shin H K. Effects of traditional herbal formulae on human CYP450 isozymes [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(1): 62-69.
- [6] 刘丽雅,韩永龙,余 奇,等. 10 种心血管类中药注射剂对人细胞色素 P450 7 种亚型的体外抑制作用 [J]. 中国药房, 2014, 25(11): 990-993.
- [7] Li G, Huang K, Nikolic D, et al. High-throughput cytochrome P450 cocktail inhibition assay for assessing drug-drug and drug-botanical interactions [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(11): 1670-1678.
- [8] Alden P G, Plumb R S, Jones M D, et al. A rapid ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric methodology for the *in vitro* analysis of pooled and cocktail cytochrome P450 assays [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010, 24(1): 147-154.
- [9] Lazarova I, Simeonova R, Vitcheva V. Hepatoprotective

- and antioxidant potential of *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract in experimental models *in vitro/in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 10(83): 70-78.
- [10] Witt L, Suzuki Y, Hohmann N, *et al.* Ultrasensitive quantification of the CYP2E1 probe chlorzoxazone and its main metabolite 6-hydroxychlorzoxazone in human plasma using ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry after chlorzoxazone microdosing [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1027: 207-213.
- [11] Santes-Palacios R, Ornelas-Ayala D, Cabañas N, *et al.* Regulation of human cytochrome P4501A1 (hCYP1A1): A plausible target for chemoprevention? [J]. *Biomed Res Int*, 2016: 5341081.
- [12] Fleming I. The pharmacology of the cytochrome P450 epoxigenase/soluble epoxide hydrolase axis in the vasculature and cardiovascular disease [J]. *Pharmacol Rev*, 2014, 66(4): 1106-1140.
- [13] Rao L K, Flaker A M, Friedel C C, *et al.* Role of cytochrome P4502B6 polymorphisms in ketamine metabolism and clearance [J]. *Anesthesiology*, 2016, 125(6): 1103-1112.
- [14] Rettie A E, Jones J P. Clinical and toxicological relevance of CYP2C9: drug-drug interactions and pharmacogenetics [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005, 45: 477-494.
- [15] Mo S L, Liu Y H, Duan W. Substrate specificity, regulation, and polymorphism of human cytochrome P4502B6 [J]. *Curr Drug Metab*, 2009, 10(7): 730-753.
- [16] Wang B, Yang L P, Zhang X Z, *et al.* New insights into the structural characteristics and functional relevance of the human cytochrome P450 2D6 enzyme [J]. *Drug Metab Rev*, 2009, 41(4): 573-643.