

## 异鼠李素对人肝微粒体 CYPs 活性及大鼠原代肝细胞毒性作用研究

梁容佳<sup>1</sup>, 陈俊秀<sup>1</sup>, 只德贤<sup>1</sup>, 樊耀文<sup>1</sup>, 刘文莉<sup>1</sup>, 何新<sup>1,2\*</sup>

1. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193

2. 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193

**摘要:** **目的** 研究异鼠李素对肝脏 6 种 CYPs 的体外抑制作用, 以及对大鼠原代肝细胞的毒性作用。**方法** 采用人肝微粒体 (HLMs) 体外温孵法研究异鼠李素对 6 种细胞色素 P450 酶 (CYPs)——CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4、CYP2E1、CYP1A2 和 CYP2C9 的体外抑制作用; 使用 HPLC-MS/MS 法检测异鼠李素和 HLMs 共同孵育后的代谢产物; 利用体外培养的低 CYPs 活性的大鼠原代肝细胞, 考察不同剂量异鼠李素对细胞培养液中乳酸脱氢酶 (LDH)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的影响。**结果** 50  $\mu\text{mol/L}$  的异鼠李素对 CYP2E1 和 CYP1A2 有一定的抑制作用, 抑制率分别为 59.48% 和 39.91%; 异鼠李素和 HLMs 共同孵育后, 产生去甲基化代谢产物 3, 3', 4', 5, 7-羟基黄酮, 转化为极性和水溶性较高的代谢物; 30、100、300  $\mu\text{mol/L}$  的异鼠李素会使大鼠原代肝细胞培养液中的 ALT 和 LDH 显著上升 ( $P < 0.01$ ), 100、300  $\mu\text{mol/L}$  异鼠李素使 AST 显著上升 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 呈浓度相关性。**结论** 异鼠李素在体外主要经 HLMs 代谢, 同时对 CYP2E1 和 CYP1A2 有一定的抑制作用, 可能会使 CYP2E1 和 CYP1A2 的底物药物在体内的浓度产生变化, 导致一系列药物的相互作用; 大量使用异鼠李素可能会造成一定程度的肝细胞损伤, 且呈现浓度相关性。临床应用应合理设置剂量, 并注意潜在的药物之间的相互作用。

**关键词:** 异鼠李素; 大鼠原代肝细胞; 细胞色素 P450 酶 (CYPs); 人肝微粒体 (HLMs); 肝细胞损伤

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)05-0627-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.05.008

## Effects of isorhamnetin on human liver microsomes CYPs and rat primary hepatocytes

LIANG Rong-jia<sup>1</sup>, CHEN Jun-xiu<sup>1</sup>, ZHI De-xian<sup>1</sup>, FAN Yao-wen<sup>1</sup>, LIU Wen-li<sup>1</sup>, HE Xin<sup>1,2</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To study the inhibitory effects of isorhamnetin on six kinds of CYPs of liver *in vitro*, and the toxic effect on rat hepatocytes **Methods** This report uses warm incubation of human liver microsomes *in vitro* to investigate the inhibition of isorhamnetin on 6 kinds of CYPs (CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP2E1, CYP1A2 and CYP2C9), and using HPLC-MS/MS to detect product of metabolism as well as analysing of the pathways of metabolic. At the same time, using rat primary hepatocytes which has low CYPs activity *in vitro* to explore whether the use of isorhamnetin will cause effects on the ALT, AST and LDH of hepatocytes. **Results** Isorhamnetin has inhibition effects on CYP2E1 and CYP1A2, the inhibition rate were 59.48% and 39.91%, respectively. Methylated metabolite is produced after incubating of isorhamnetin and HLMs. The isorhamnetin becomes high polarity and water solubility metabolite 3, 3', 4', 5, 7-hydroxyflavone. Isorhamnetin of 30, 100 and 300  $\mu\text{mol/L}$  cause a significant rise of ALT and LDH in primary cultured rat hepatocytes cultured ( $P < 0.01$ ). isorhamnetin of 100  $\mu\text{mol/L}$  cause a rise of AST in primary cultured rat hepatocytes cultured ( $P < 0.05$ ) and 300  $\mu\text{mol/L}$  cause a significant rise ( $P < 0.01$ ). It was a dose-dependent manner. **Conclusion** Isorhamnetin *in vitro* mainly metabolized by HLMs, and at the same time have a certain inhibitory effect on CYP2E1 and CYP1A2, which may cause the drugs which are metabolized by CYP2E1 and CYP1A2 *in vivo* accumulation that lead to a series of drug interactions. The results also indicate that heavy use of isorhamnetin cause some adverse effects on hepatocytes, and it was a dose-dependent manner. Individuals need to pay attention to the dose of isorhamnetin and the potential drug interactions.

**Key words:** isorhamnetin; rat primary hepatocytes; cytochrome P450 (CYPs); human liver microsomes (HLMs); hepatocyte damage

收稿日期: 2017-03-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373890); 教育部“创新团队发展计划” (IRT\_14R41)

作者简介: 梁容佳 (1991—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为药理学。E-mail: liangrongjiatj@163.com

\*通信作者 何新, 女, 汉族, 教授, 博士生导师。E-mail: hexintn@163.com

黄酮类化合物 (flavonoids) 是一类存在于自然界的、具有 2-苯基色原酮 (flavone) 结构的化合物, 广泛存在于多种药用植物中<sup>[1]</sup>。异鼠李素 (3, 4', 5, 7-四羟基-3'-甲氧基黄酮), 存在于沙棘、银杏、短叶红豆杉等多种植物中, 其中在沙棘鲜果中含量最高, 约为 359.3  $\mu\text{g/g}$ <sup>[2]</sup>。异鼠李素具有多种生物活性, 能清除自由基、抑制血小板聚集、抗低密度脂蛋白氧化和抗肿瘤等<sup>[3-4]</sup>。广泛应用于药品及保健品中, 如三七痛经胶囊、复方沙棘颗粒<sup>[5-6]</sup>。

肝脏是机体排毒的重要器官。细胞色素 P450 酶 (CYPs), 是一类亚铁血红素—硫醇盐蛋白的超家族, 是人类最重要的肝脏微粒体混合功能酶系统, 能作用于不同结构的外源化合物, 使其在肝脏内进行生物转化<sup>[7]</sup>。三个亚家族的 CYPs (CYP1、CYP2 和 CYP3) 参与 80% 的药物在肝脏内的代谢, CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4、CYP2E1、CYP1A2 和 CYP2C9 是主要的代谢酶<sup>[8]</sup>。CYPs 酶是一种主要的与代谢性药物相互作用 (DDI) 相关的酶系<sup>[9]</sup>, 临床上 90% 以上的代谢性药物相互作用都是由 CYP450 酶活性的改变引起的<sup>[10]</sup>。黄酮类化合物能通过抑制或诱导 CYPs 活性来影响合用药物成分的代谢和消除, 这可能会造成它们在体内蓄积并引发一系列的相互作用<sup>[11]</sup>。

本实验利用体外培养的低 CYPs 活性的大鼠原代肝细胞考察异鼠李素的毒性作用, 通过检测乳酸脱氢酶 (LDH)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平变化, 探究异鼠李素是否会对肝细胞造成不利影响。人肝微粒体 (HLMs) 体外温孵法研究异鼠李素对 CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4、CYP2E1、CYP1A2 和 CYP2C9 的体外抑制作用; 应用 HPLC-MS/MS 法检测异鼠李素和 HLMs 共同孵育后的代谢产物, 分析代谢产物产生的途径。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

美国应用生物系统公司液质联用系统 API 4000 Qtrap, SER. N: AR26221101 (含 2 台岛津 LC-20AD 泵、SIL-20AC 恒温自动进样器、CTO-20A 柱温箱、CBM-20A 控制器、ESI 离子源、Analyst Software 1.5.2 色谱工作站); 海尔—86  $^{\circ}\text{C}$  超低温保存箱 (青岛海尔股份有限公司); AX205 十万分之一天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); PHSJ-4A PH 计 (上海精密科学仪器有限公司); WZ-2A 微量振荡器 (金坛市

恒丰仪器制造有限公司); WH-3 微型旋涡混合仪 (上海沪西分析仪器厂有限公司); Millipore Milli-Q/30L 超纯水机 (法国 Millipore 公司); Allegra 64R 高速离心机 (美国 Beckman 公司); FlexStation 酶联免疫检测仪 (美国 Molecular Devices 公司); HERACELL150i 型  $\text{CO}_2$  培养箱 (Thermo Scientific); 生物洁净工作台 (AIR TECH); 倒置式生物显微镜 (Nikon Eclipse TE300); 电子恒温水浴锅 (天津市泰斯特仪器有限公司); BP121S 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); 25  $\text{cm}^2$ 、75  $\text{cm}^2$  培养瓶, 15、50 mL 离心管, 96 孔培养板 (美国 Corning 公司)。

### 1.2 药品与试剂

异鼠李素、非那西丁、对乙酰氨基酚、甲苯磺丁脲、4-羟基甲苯磺丁脲、右美沙芬、去甲右美沙芬、咪达唑仑、1-羟基咪达唑仑、氯唑沙宗、6-羟基氯唑沙宗、美芬妥因、4-羟基美芬妥因、卡马西平 (内标), 均购自中国食品药品检定研究院; 还原型辅酶 II (NADPH)、二甲基亚砜 (DMSO)、IV 型胶原、Hank's 平衡盐粉末、胰酶 (0.25% Trypsin-0.02% EDTA)、非必需氨基酸、DMSO, 购自于美国 Sigma 公司; 人肝微粒体, 购自瑞德肝脏疾病研究 (上海) 有限公司; DMEM 培养基, 购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清 (FBS), 青霉素-链霉素、地塞米松, 购于美国 GIBCO 公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 购于天津康科德科技发展有限公司; 其他溶剂和化学试剂均为分析纯或以上。

## 2 方法

### 2.1 对人肝微粒体 CYPs 酶活性的影响

**2.1.1 Cocktail 探针药物法的建立** “Cocktail” 探针药物法是同时给予 2 种或以上的相对低剂量的探针药物, 测定生物样本中每个探针药物的代谢率或者其它代谢类型的指标, 以获得多个代谢酶的表型信息。其中 CYP1A2 的底物为非那西丁 (10  $\mu\text{mol/L}$ ), CYP2C9 的底物为甲苯磺丁脲 (100  $\mu\text{mol/L}$ ), CYP2C19 的底物为美芬妥因 (20  $\mu\text{mol/L}$ ), CYP3A4 的底物为咪达唑仑 (5  $\mu\text{mol/L}$ ), CYP2E1 的底物为氯唑沙宗 (20  $\mu\text{mol/L}$ ), CYP2D6 的底物为右美沙芬 (2.5  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[12-13]</sup>。

色谱柱为 Agilent Zorbax XDB-C<sub>18</sub> (50 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5  $\mu\text{mol/L}$ , SN: USHP004037); 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 检测波长 280 nm; 体积流量 0.45 mL/min; 流动相为 0.1% 甲酸 (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 98% A; 0.5~1 min, 98%~2% A; 1~2.5

min, 2% A; 2.5~2.51 min, 98% A; 2.51~4.0 min, 98% A。离子源: 电子轰击式离子源 (ESI); 离子源参数: CurtainGas 为 20 psi; IonSprayVoltage 5000

V (ESI<sup>+</sup>)、-4200V (ESI<sup>-</sup>); IonSource Gas 1 和 IonSource Gas 2 分别为 55 psi 和 50 psi, 离子源温度为 550 °C。待测成分和内标的质谱检测参数见表 1。

表 1 CYP450 酶各亚型代谢产物和内标卡马西平的质谱检测参数

Table 1 Mass spectrometric detection parameters of metabolites of CYPs and carbamazepine

| 被测物质               | 扫描方式             | 定量离子 ( <i>m/z</i> ) | 子离子 ( <i>m/z</i> ) |
|--------------------|------------------|---------------------|--------------------|
| 对乙酰氨基酚 (CYP1A2)    | ESI <sup>+</sup> | 152.1               | 110.1              |
| 右美沙芬 (CYP2D6)      | ESI <sup>+</sup> | 258.1               | 199.1              |
| 1-羟基咪达唑仑 (CYP3A4)  | ESI <sup>+</sup> | 342.1               | 203.1              |
| 4-羟基美芬妥因 (CYP2C19) | ESI <sup>+</sup> | 235.1               | 150.1              |
| 4-羟基甲苯磺丁脲 (CYP2C9) | ESI <sup>-</sup> | 284.8               | 185.7              |
| 6-羟基氯唑沙宗 (CYP2E1)  | ESI <sup>-</sup> | 184.2               | 120.0              |
| 卡马西平 (内标)          | ESI <sup>+</sup> | 237.1               | 194.1              |

**2.1.2 人肝微粒体孵育反应** 所有的孵育反应均在 37 °C 水浴上进行。实验组预孵育体系的总体积为 200  $\mu$ L, 包含 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液 (pH 7.4)、2 mg/mL 人肝微粒体蛋白、异鼠李素 (终浓度 50、5  $\mu$ mol/L), 在加入 NADPH (浓度 1 mmol/L) 的情况下预孵育 30 min。然后对预孵育 30 min 的样品进行 10 倍稀释, 即取 20  $\mu$ L 预孵育样品加入到含有 100  $\mu$ L NADPH (1 mmol/L) 和 80  $\mu$ L 混合探针底物 [非那西丁、甲苯磺丁脲、右美沙芬、氯唑沙宗、咪达唑仑、美芬妥因 (10、100、2.5、20、5、20  $\mu$ mol/L)] 的体系中, 孵育 15 min 后, 加入 400  $\mu$ L 冰甲醇 (含有内标卡马西平, 75 ng/mL) 终止反应。10 000 $\times$ g 离心 5 min, 取上清液, 应用“2.1.1”项的 Cocktail 探针药物法定量分析相应的 6 种代谢产物: 对乙酰氨基酚、4-羟基甲苯磺丁脲、去甲右美沙芬、6-羟基氯唑沙宗、1-羟基咪达唑仑、4-羟基美芬妥因。设置对照组, NADPH 用 PBS 代替, 其他条件与异鼠李素组相同。以实验组与对照组代谢产物的生成量之比计算酶活性。抑制率 (%) = 100% - 相对酶活率 (%)。

## 2.2 异鼠李素与人肝微粒体孵育后的主要代谢产物的研究

**2.2.1 代谢产物研究流程** 实验组: 50  $\mu$ mol/L 异鼠李素与 HLMs (1 mg/mL) 37 °C 预孵育 5 min 后, 加入 NADPH (终浓度 1 mmol/L) 启动反应, 于 37 °C 水浴锅中孵育 2 h 后, 2 倍体积的冰甲醇终止反应, 4 °C, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10  $\mu$ L HPLC-MS/MS 分析; 对照组: NADPH 用 PBS 代替, 其他条件与实验组相同。

**2.2.2 代谢产物检测方法** 异鼠李素及代谢产物 HPLC-MS/MS 检测条件: Acquity HPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu$ m); 流动相为水相 (0.1% 甲酸) - 有机相 (100% ACN), 为梯度洗脱: 0 min 时 90:10, 3 min 时 90:10, 14 min 时 10:90, 至 17 min 时 10:90, 17.01 min 时迅速恢复为 90:10, 持续至 20 min。柱温 50 °C, 进样量: 10  $\mu$ L。电喷雾负离子源 (ESI<sup>-</sup>); 毛细管电压: 3.2 kV/2.8 kV (+/-); 源温 120 °C; 脱溶剂气温度 350 °C; 锥孔气 50 L/h; 脱溶剂气 600 L/h; 相对分子质量 100~1 500; 获得二级碎片离子, 碰撞能量 35 eV; 采用全扫描模式; 柱温 50 °C。

## 2.3 异鼠李素对大鼠原代肝细胞毒性的研究

**2.3.1 大鼠原代肝细胞的获取与培养** 参照二步胶原酶灌注技术分离获取大鼠原代肝细胞<sup>[14]</sup>。取体质量 220 g 左右的雄性 SD 大鼠, 麻醉后仰卧位固定, 酒精棉球擦拭消毒 3 次, 打开腹腔, 游离肝脏并从肝门静脉插管。先灌入氧气饱和的无钙缓冲液 40 mL, 待肝脏变为土黄色时, 再换用含钙缓冲液灌注, 消化约 5 min, 取下肝脏, 将肝脏置于冰冷烧杯内, 移至细胞房超净台内操作。烧杯内加入 10 mL, 4 °C 的 Hank's 溶液, 去肝包膜, 用刀片轻轻梳理收集肝细胞, 将肝细胞收集入 4 °C 的 Hank's 溶液中重悬; 200 目筛网过滤, 4 °C 高速离心机内细胞反复离心 3 次: 30 $\times$ g、5 min, 50 $\times$ g、3 min, 50 $\times$ g、3 min。弃去上清, 沉淀用培养基重悬, 轻缓吹打均匀, 即得肝细胞悬液。台盼兰排斥试验检测细胞存活率, 取存活率 > 90% 者用于实验。

将肝细胞悬液稀释密度至  $1.5 \times 10^5$ /mL, 每孔



400  $\mu\text{L}$  接种于鼠尾胶包被的 48 孔透明细胞培养板, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、湿度 100% 的培养箱中培养。4 h 后换液, 用预热的 PBS 清洗 2 次, 加入 400  $\mu\text{L}$  待测试药物溶液, 浓度为 30、100 和 300  $\mu\text{mol/L}$  (3 孔平行操作), 对照组不加药物, 孵育 24 h。24 h 后, 吸取细胞培养上清。

**2.3.2 测定指标与方法** ALT、AST、LDH 在细胞死亡后会被释放进细胞培养基内, 释放到上清的 ALT、AST、LDH 水平反映肝细胞受损程度。上清指标测定: 酶动力学法于自动生化仪上测定 ALT、AST、LDH, 具体步骤按试剂盒说明操作。

### 3 结果

#### 3.1 对人肝微粒体 CYP450 酶活性的影响

给予异鼠李素后各微粒体酶活性见图 1。结果表明, 异鼠李素在 50  $\mu\text{mol/L}$  时对 CYP2E1 和 CYP1A2 有一定抑制作用, 抑制率为 59.48% 和 39.91%; 对 CYP2C9 和 CYP2C19 的抑制率为 31.80% 和 24.03%; 在 5  $\mu\text{mol/L}$  时对 CYP2C9、CYP2E1 和 CYP2C19 的抑制率为 24.84%、15.36% 和 5.04%; 在不同浓度均对 CYP2D6 和 CYP3A4 没有抑制作用, 结果见图 1。

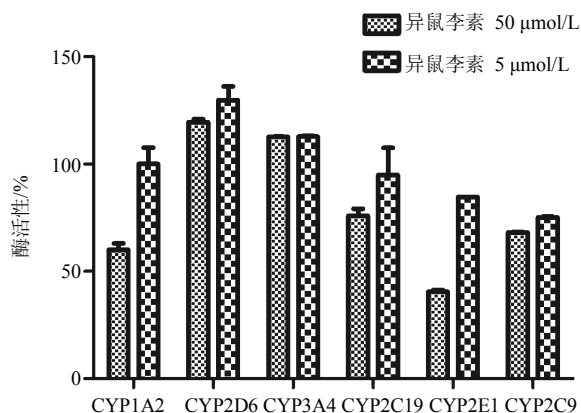


图 1 异鼠李素对 6 种 CYPs 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 1 Effect of isorhamnetin on 6 kinds of CYPs activity ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

#### 3.2 与人肝微粒体孵育后的主要代谢产物的结构确定

代谢反应, 包括氧化、去甲基化、水解反应, 非极性和脂溶性化合物会代谢为有极性的、高水溶性的和低活性的代谢产物。有报道显示, 对异鼠李素等黄酮及衍生物, 负离子检测模式比正离子检测要灵敏约 10 倍, 因此, 以下实验均采用负离子检测模式。

加入 NADPH 后, 50  $\mu\text{mol/L}$  的异鼠李素和

HLMs 共同孵育, 产生了一种去甲基化的代谢产物 M1, HPLC-MS/MS 提取负离子流图见图 2, A 为对照组, B 为代谢产物 M1。与对照组相比, M1 的保留时间是 14.34 min,  $m/z$  为 301。

图 3 展示在所有的碰撞能量下 M1 的主要碎片。来源于 M1 的信号在  $m/z$  273 的离子碎片, 相当于 M1 丢失掉 CO 片段  $[\text{M}-28]^-$ 。信号在  $m/z$  179 和 121 的离子碎片是从 M1 断裂开的两部分。 $m/z$  151 的离子碎片是由  $m/z$  179 的离子碎片丢失掉 CO 片段  $[\text{M}-28]^-$  而来, 同时,  $m/z$  107 的离子碎片是由  $m/z$  179 的离子碎片丢失掉 CO 和  $\text{CO}_2$  片段而来。由此推断, M1 可能是异鼠李素的去甲基代谢产物 3, 3', 4', 5, 7-五羟基黄酮<sup>[15-16]</sup>。

#### 3.3 异鼠李素对大鼠原代肝细胞毒性的研究

ALT 主要分布在肝细胞浆, ALT 升高反映了肝细胞膜的损伤; AST 主要分布在肝细胞浆和肝细胞线粒体中, 它的升高提示肝细胞损伤到了细胞器的水平; LDH 是存在于细胞浆内参与糖酵解最后一步, 即丙酮酸和乳酸相互转化时的一种催化酶, 进行离体细胞培养时, 如果培养的细胞受损, ALT、AST 和 LDH 会由细胞漏出至培养液中。肝细胞的损伤程度可以由培养液内 ALT、AST 和 LDH 的水平变化所反映。由图 4 可知, 异鼠李素与细胞共孵育 24 h 后, 原代大鼠肝细胞的 ALT 和 LDH 漏出量增加, 且呈浓度相关性, 与对照组比较, 30、100、300  $\mu\text{mol/L}$  均差异显著 ( $P<0.01$ )。与对照组比较, 30  $\mu\text{mol/L}$  组 AST 漏出量没有发生显著改变, 100、300  $\mu\text{mol/L}$  组的 AST 漏出量显著增加 ( $P<0.05$ 、0.01), 呈浓度相关性。

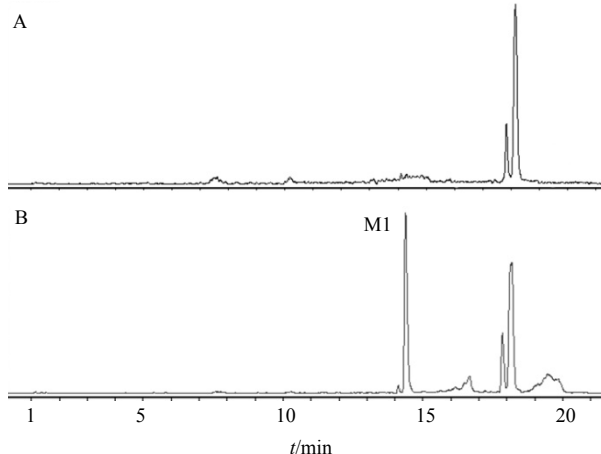


图 2 对照组 (A) 和实验组 (B) 在  $m/z$  301 提取离子流图  
Fig. 2 Extracting ion flow diagram at  $m/z$  301 from control (A) and experimental (B) group

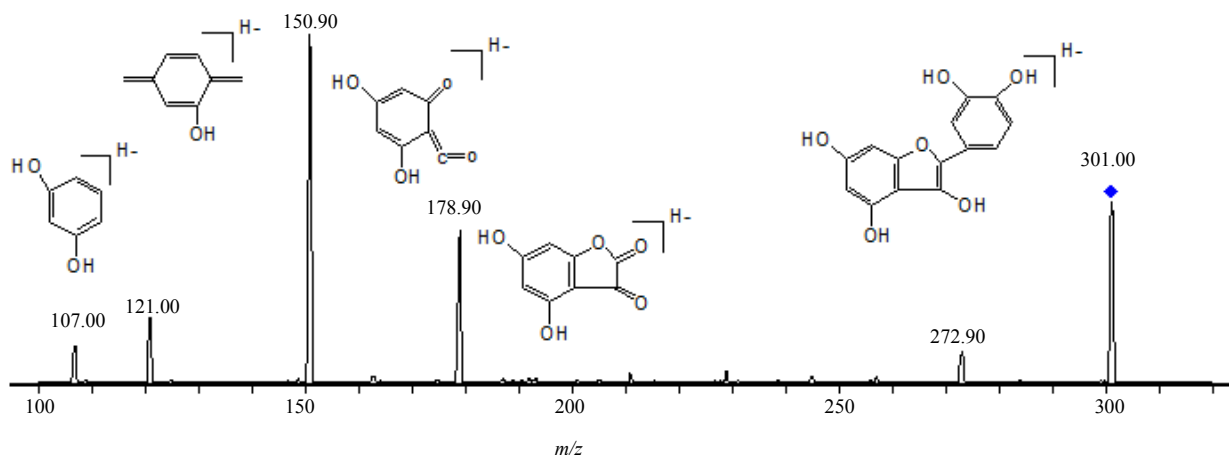


图3 异鼠李素代谢产物 M1 的 MS/MS 质谱图

Fig. 3 MS/MS spectrogram of M1 which metabolized from isorhamnetin

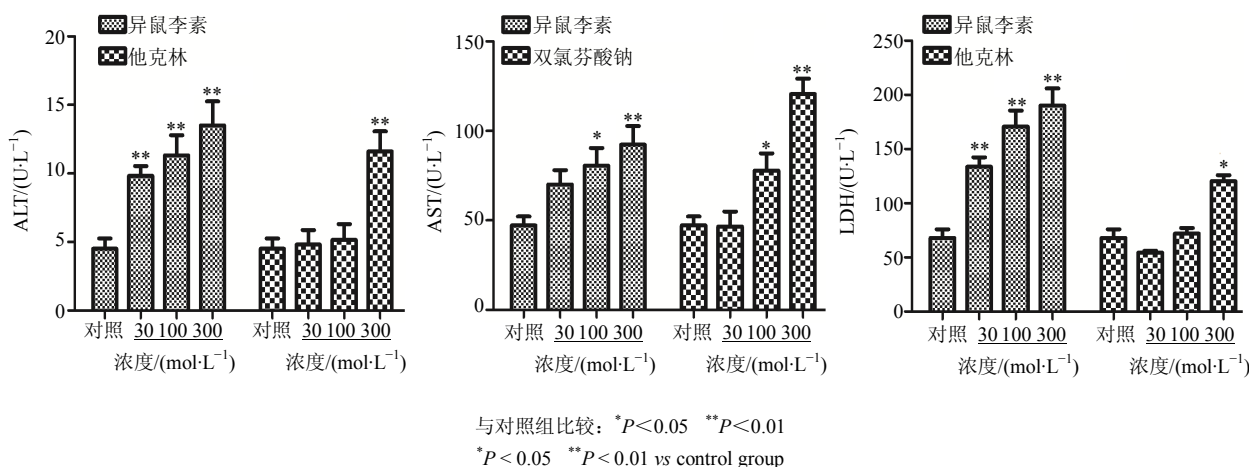


图4 异鼠李素对原代大鼠肝细胞培养液中的 ALT、AST 和 LDH 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effects of isorhamnetin on concentrations of ALT, AST and LDH in primary rat hepatocyte culture medium ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

我国植物药与化学药共同使用的现象非常普遍,因此发生植物药-化学药相互作用的几率大大增加<sup>[17]</sup>。异鼠李素存在于多种药用植物和保健品之中,在保护心脑血管系统,抑制脂肪细胞分化、耐缺氧、抗肿瘤、降糖、抗炎、抗病毒等方面有着广阔的前景<sup>[18-20]</sup>。

CYP2E1 和 CYP1A2 是人肝内 CYPs 的两个重要亚型, CYP2E1 占 CYPs 总量的 7%, 外源性底物超过 70 余种, 大部分具有中性、相对分子质量低(< 100) 及亲脂性较高的特点, 同时也包含参与代谢和糖异生相关的多种内源性物质(酮体和脂肪酸)。CYP1A2 占 CYPs 总量的 13%, 参与咖啡因(90% 以上的咖啡因由该酶介导清除)、醋氨酚、非那西丁、

普萘洛尔、奥美拉唑等 20 多种临床常用药物的代谢, 并且在十几种前致癌物的激活或灭活中发挥重要作用<sup>[21-23]</sup>。异鼠李素能抑制肝脏中 CYP2E1 和 CYP1A2 的活性, 这可能会使 CYP2E1 和 CYP1A2 的底物药物在体内的浓度产生变化, 导致一系列药物的相互作用。高浓度异鼠李素(30、100、300  $\mu\text{mol/L}$ )使大鼠原代肝细胞培养液中的 ALT 和 LDH 水平显著上升( $P < 0.01$ ), 100、300  $\mu\text{mol/L}$  异鼠李素使 AST 水平显著性上升( $P < 0.05$ 、0.01), 并且呈浓度依赖性。这说明随着剂量的增加, 异鼠李素造成肝细胞损伤的程度也有所增加, 长期大量的使用可能会造成肝损伤。提示在临床使用异鼠李素时需合理使用剂量, 并注意潜在的药物之间相互作用的发生。

## 参考文献

- [1] Morris M E, Zhang S. Flavonoid-drug interactions: Effects of flavonoids on ABC transporters [J]. Life Sci, 2006, 78(18): 2116-2130.
- [2] 樊鑫梅, 申雪丽, 闫丽丽, 等. 高效液相色谱法同时测定沙棘果中槲皮素、山柰酚和异鼠李素的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(17): 1343-1346.
- [3] Kong C S, Kim J A, Qian Z J, et al. Protective effect of isorhamnetin 3- O - $\beta$ - D -glucopyranoside from *Salicornia herbacea*, against oxidation-induced cell damage [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(8): 1914-1920.
- [4] Zhang N, Pei F, Wei H, et al. Isorhamnetin protects rat ventricular myocytes from ischemia and reperfusion injury [J]. Exp Toxicol Pathol, 2011, 63(1-2): 33-38.
- [5] 卢佳, 孙成均, 叶利明, 等. HPLC 测定保健品及中药中的多种黄酮类化合物 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(2): 168-170.
- [6] 乌兴荣. 高效液相色谱法测定复方沙棘颗粒中异鼠李素的含量 [J]. 中国民族医药杂志, 2014, (3): 56-57.
- [7] Nielsen T L, Rasmussen B B, Flinois J P, et al. *In vitro* metabolism of quinidine: the (3S)-3-hydroxylation of quinidine is a specific marker reaction for cytochrome P-4503A4 activity in human liver microsomes [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 289(1): 31-37.
- [8] Huang Y, Jiang B, Nuntanakorn P, et al. Fukinolic acid derivatives and triterpene glycosides from black cohosh inhibit CYP isozymes, but are not cytotoxic to Hep-G2 cells *in vitro* [J]. Curr Drug Saf, 2010, 5(2): 118-124.
- [9] 周权, 姚彤炜, 曾苏. 代谢性药物的相互作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2001, 17(4): 313-318.
- [10] Zhang D, Wang L, Chandrasena G, et al. Involvement of multiple cytochrome P450 and UDP-glucuronosyl-transferase enzymes in the *in vitro* metabolism of muraglitazar [J]. Drug Metab Dispos, 2007, 35(1): 139-149.
- [11] Galati G, O'Brien P J. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties [J]. Free Radic Biol Med, 2004, 37(3): 287-303.
- [12] 马叶涛, 俸珊, 赵瑾怡, 等. 单针与混合探针底物法在细胞色素 P450 酶底物酶促动力学中的比较研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(4): 206-210.
- [13] Dinger J, Meyer M R, Maurer H H. Development of an *in vitro* cytochrome P450 cocktail inhibition assay for assessing the inhibition risk of drugs of abuse [J]. Toxicol Lett, 2014, 230(1): 28-35.
- [14] Zhuang X M, Shen G L, Xiao W B, et al. Assessment of the roles of P-glycoprotein and cytochrome P450 in triptolide-induced liver toxicity in sandwich-cultured rat hepatocyte model.[J]. Drug Metab Dispos, 2013, 41(12): 2158-2165.
- [15] Geng P, Zhang R, Aisa H A, et al. Fast profiling of the integral metabolism of flavonols in the active fraction of *Gossypium herbaceum*, L. using liquid chromatography/multi-stage tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21(12): 1877-1888.
- [16] Ablajan K, Abliz Z, Shang X Y, et al. Structural characterization of flavonol 3,7-di- O -glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2006, 41(3): 352-360.
- [17] Ding L L, Zhang J J, Dou W. Effects of isorhamnetin on CYP3A4 and herb-drug interaction [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2012, 47(8): 1006-1010.
- [18] Sun J, Sun G, Meng X, et al. Isorhamnetin protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity *in vivo* and *in vitro* [J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64526.
- [19] Li C, Yang X, Chen C, et al. Isorhamnetin suppresses colon cancer cell growth through the PI3K-Akt-mTOR pathway [J]. Mol Med Rep, 2014, 9(3): 935-940.
- [20] 刘知远, 沈廷明, 吴仲玉. RP-HPLC 法同时测定福建产金线莲中槲皮素、山柰素、异鼠李素的量 [J]. 中草药, 2015, 46(3): 432-434.
- [21] 胡道德, 姚慧娟, 顾磊, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠肝微粒体 CYP1A2、CYP3A4 和 CYP2E1 活性的影响 [J]. 中国药学(英文版), 2008, 17(2): 167-169.
- [22] Vasanathan P, Taboureau O, Oostenbrink C, et al. Classification of cytochrome P450 1A2 inhibitors and noninhibitors by machine learning techniques [J]. Drug Metab Dispos, 2009, 37(3): 658-664.
- [23] 陈霞. 茶多酚对小鼠细胞色素 P450 和 b 含量及 CYP2E1 和 CYP1A2 表达的影响 [D]. 大连: 大连医科大学, 2008.