

应用人肝细胞研究人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片对 CYP450 药物代谢酶 1A2、2B6 和 3A4 的体外诱导作用

孙英辉¹, 慈小燕^{2*}, 李 薇², 谷 元², 曾 勇², 伊秀林², 刘 睿^{1*}, 闫凤英²

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津药物研究院新药评价研究中心, 释药技术与药代国家重点实验室, 天津 300462

摘要: 目的 使用原代培养的人肝细胞研究人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片对细胞色素 P450 酶 (CYP450) 的诱导作用。方法 分别将 3 批次的冷冻原代人肝贴壁细胞进行接种培养, 使用人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片 (30 μmol/L) 对 CYP1A2、CYP2B6 和 CYP3A4 进行诱导, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法测定 CYP450 酶 mRNA 表达水平, 评价 4 种单体成分对 P450 酶的诱导作用。阳性对照为 20 μmol/L 利福平 (CYP3A4 诱导剂)、50 μmol/L 奥美拉唑钠 (CYP1A2 诱导剂) 和 1 mmol/L 苯巴比妥钠 (CYP2B6 诱导剂); 阴性对照组为 10 μmol/L 红霉素。冰片 (30 μmol/L) 与利福平联合给药, 观察冰片对利福平的 CYP1A2、CYP2B6 和 CYP3A4 诱导作用的影响。结果 3 批次人肝细胞的诱导结果显示, 阳性诱导剂奥美拉唑、苯巴比妥、利福平分别显著诱导 CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 的表达, 阴性对照红霉素对 CYP1A2、CYP2B6 及 CYP3A4 的 mRNA 表达水平未见明显影响, 人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片在 30 μmol/L 浓度给药时, 对 3 批次人肝细胞的 CYP1A2、CYP2B6 和 CYP3A4 mRNA 表达水平未见明显影响; 30 μmol/L 冰片与利福平联合给药, 与利福平单独给药比较, 3 批次肝细胞的 CYP2B6、CYP3A4 mRNA 表达水平均减少, 对 CYP3A4 的 mRNA 表达水平影响尤为显著。结论 人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片在 30 μmol/L 浓度给药时, 对 3 批次人肝细胞的 CYP1A2、CYP2B6 和 CYP3A4 均没有诱导作用。冰片与利福平联合用药时, 可以阻断利福平对 CYP2B6 和 CYP3A4 的诱导作用, 对 CYP3A4 的影响尤为显著。

关键词: 细胞色素 P450 酶; 酶诱导; 原代人肝贴壁细胞; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rg₁; 丹参素钠; 冰片

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2021) 01-0038-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.01.006

Study on induction of CYP450 enzyme 1A2、2B6 and 3A4 by ginsenoside Rb₁, Rg₁, danshensu sodium and borneol with human hepatocytes *in vitro*

SUN Yinghui¹, CI Xiaoyan², LI Wei², GU Yuan², ZENG Yong², YI Xiulin², LIU Rui¹, YAN Fengying²

1. Tianjin University of traditional Chinese medicine, Tianjin 301617

2. Center for new drug evaluation, Tianjin Pharmaceutical Research Institute, State Key Laboratory of Drug Release Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300462

Abstract: Objective In this study, human primary cultured hepatocytes were used to study the induction of P450 enzyme by ginsenoside Rb₁, Rg₁, Danshensu Sodium and Borneol. **Methods** The CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 were induced by different inducers, and the real-time RT-PCR method was used to determine the mRNA expression level. The results of CYP450 mRNA expression level was used to evaluate the induction of P450 enzyme. The positive control group was 20 μmol/L rifampicin (CYP3A4 inducer), 50 μmol/L omeprazole sodium (CYP1A2 inducer) and 1 mmol/L phenobarbital sodium (CYP2B6 inducer); the negative control group was 10 μmol/L erythromycin. Borneol (30 μmol/L) combined with rifampicin was used to observe the effect of Borneol on the induction of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 of rifampicin. **Results** The results of three donors of induction showed that the expression of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 was significantly induced by omeprazole, phenobarbital sodium and rifampicin respectively, and the corresponding mRNA expression levels were significantly increased, all > 4; negative control erythromycin which levels of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA were not significantly change. The expression levels of

收稿日期: 2020-03-23

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09304002); 国家自然科学基金青年科学基金项目(81503154)

第一作者: 孙英辉, 女, 硕士。Tel: 18222901679 E-mail: sun18222901679@163.com

*通信作者: 慈小燕, 女, 主要从事药动学研究。Tel: (022)84845243 E-mail: cxy871005@yeah.net

刘 睿, 女, 副教授, 主要从事中药新型给药系统研究。Tel: (022)59596221 E-mail: lr8000@163.com

CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA were not significantly affected by ginsenoside Rb₁, Rg₁, danshensu sodium and borneol at the concentrations of 30 μmol/L. Compared with rifampin alone, when borneol (30 μmol/L) was combined with rifampicin (20 μmol/L), the expression of CYP2B6 and CYP3A4 mRNA in the three batches of hepatocytes decreased, and the effect on the expression of CYP3A4 mRNA was particularly significant. No significant effect of CYP1A2 mRNA expression levels was seen. **Conclusion** The expression levels of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA were not significantly affected by Rb₁, Rg₁, danshensu sodium and borneol at the concentrations of 30 μmol/L. When borneol (30 μmol/L) was combined with rifampicin (20 μmol/L), there was no effect on CYP1A2 in the three batches of hepatocytes, but the induction effect of rifampicin on CYP2B6 and CYP3A4 in three batches of hepatocytes were reduced while the decrease of CYP3A4 is particularly evident.

Key words: CYP450 enzyme; induction models; primary human hepatocytes; qRT-PCR; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rg₁; danshensu sodium; borneol

细胞色素 P450 酶系(CYP450s)为一类亚铁血红素——硫醇盐蛋白的超家族,它参与内源性物质和包括药物、环境化合物在内的外源性物质的代谢,是药物代谢过程中的关键酶。CYP450 酶活性的改变会直接影响经其代谢的药物的药效和用药安全性^[1]。以肝细胞细胞色素 P450 为例,当酶受到抑制时,药物在血液中的浓度会迅速提升,使得药物半衰期在一定程度上延长进而引发药物毒性反应^[2]。CYP450 酶具有可诱导和可抑制性,酶的量 and 活性会受到药物(或其他外源物)的影响,可能会影响药物本身的代谢,并可能会引起代谢性药物相互作用。药物对 CYP450 酶活性的影响(包括诱导和抑制作用)是导致药物相互作用的主要原因之一。因此,了解药物对 CYP450 酶的诱导作用对药物研发及临床合理用药具有重要意义^[3]。P450 酶对诱导剂的反应存在明显的种属差异^[4],人原代培养肝细胞的代谢处理系统基本保留了正常组织内的细胞活性,能全面反映药物进入人体内的真实状态,因此被认为是 P450 酶诱导实验的金标准,并被 FDA 认证为有效的诱导评价工具^[5]。

丹参、冰片、三七是复方丹参滴丸的 3 种组成药物^[6]。复方丹参滴丸依据中医传统理论和现代医学技术研制而成,方中丹参祛瘀止痛、活血养血、清心除烦,为主药;辅以三七活血通脉、化瘀止痛;佐以冰片芳香开窍,行气止痛。诸药相配,共奏活血化瘀,芳香开窍,理气止痛之功,广泛用于心血管系统、消化系统等疾病的治疗^[7-8],是现代中药国际化第一品牌^[9]。近年来研究证明,丹参的水溶性酚酸类化合物为其治疗心血管疾病的主要药效物质基础。丹参素是丹参中一类重要的水溶性酚酸类成分^[10-11];人参皂苷 Rb₁、Rg₁ 是三七的主要活性成分^[12-14];冰片为佐使药,在复方丹参滴丸中起到引经及促透作用。研究表明,复方丹参滴丸对某些代谢酶及其他药物的吸收具有一定影响^[15-17],因此,有必

要进一步对复方丹参滴丸的酶诱导作用进行系统探究,以便为临床应用奠定理论基础。

以往研究复方丹参滴丸成分对 CYP450 酶的诱导作用均使用大鼠^[18-21],存在人鼠种属差异,本研究首次以原代人肝贴壁细胞为研究对象探究复方丹参滴丸中 4 种单体成分人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠和冰片对人 CYP450 酶的诱导作用,解决了种属差异问题。本研究是将冷冻的原代人肝贴壁细胞进行接种培养,使用人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片以及冰片与利福平联合作为诱导剂分别对 CYP1A2、CYP2B6 和 CYP3A4 进行诱导,使用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)方法,通过测定 CYP450 酶 mRNA 表达水平来评价人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片对 CYP 代谢酶 1A2、2B6 和 3A4 的诱导作用,以期以上 4 种成分乃至复方丹参滴丸的临床研究和应用提供数据支持和理论依据。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

奥美拉唑购自 MCE 公司,批号 14841,质量分数 98.03%;利福平购自 MCE 公司,批号 11246,质量分数 98.07%;红霉素购自 MCE 公司,批号 15945,质量分数 >98%;苯巴比妥,批号 Z-171222;冰片,批号 464-43-7,质量分数 >98%;人参皂苷 Rb₁,批号 41753-43-9,质量分数 >98%;人参皂苷 Rg₁,批号 22427-39-0,质量分数 >99%;丹参素钠,批号 67920-52-9,质量分数 >98%,以上 5 种标准品均购自国家标准物质中心网;I 型胶原包被 48 孔培养板购自 Corning 公司;DEPC 水购自北京索莱宝科技有限公司;TRNzol Reagent 购自天根生化科技(北京)有限公司;逆转录试剂盒 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kit 和实时定量试剂盒 Fast Start Universal SYBR Green Master(Rox)均购自 Roche 公司;PCR 引物购自深圳华大基因科技有限公司。冷冻原代人肝细胞 RMH 购自美国 Bioreclamation IVT

公司, HC3-31及HC10-23购自美国Xenotech公司, 复苏缓冲液K8000、种板缓冲液K8200及培养缓冲液K8300购自美国Xenotech公司。

1.2 主要仪器

HERAcell 150i 二氧化碳培养箱(美国 Thermo Scientific); BS124S 型分析天平(德国 Sartorius 公司); Sorvall Legend Micro 17R 高速冷冻离心机(美国 Thermo Scientific 公司); Accu-jet® pro 型自动移液器(德国 Brand 公司); 10 μL/200 μL/1 000 μL/5 000 μL 微量移液管(德国 Eppendorf 公司); TC-96/G/H(b)C 型基因扩增仪(杭州博日科技有限公司); Eppendorf Mastercycler ep Realplex² qPCR 仪(德国 Eppendorf 公司); CKX41 显微镜(日本 Olympus 公司); L500 低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁、丹参素钠、冰片对 CYP450 酶的诱导

将肝细胞复苏,于超净工作台中将细胞悬液移入离心管,加入 K8000,离心弃去上清液,以 K8200 悬浮沉淀细胞,将细胞接种于胶原蛋白包被的培养板中,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。3~6 h 后更换 K8300。24 h 后,更换含诱导剂的 K8300,实验组为含 30 μmol/L^[22] 人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁、丹参素钠及冰片的 K8300;阳性对照分别为含 20 μmol/L 利福平(CYP3A4 诱导剂)、50 μmol/L 奥美拉唑钠(CYP1A2 诱导剂)和 1 mmol/L 苯巴比妥钠(CYP2B6 诱导剂)的 K8300;阴性对照组为含 10 μmol/L 红霉素的 K8300;对照组为空白 K8300。给药持续时间为 48 h,每 24 小时换液 1 次。完成诱导的肝细胞以 TRNzol Reagent(200 μL/孔)裂解,用于 mRNA 检测。分别用 3 批次的肝细胞来重复试验。

2.2 冰片与利福平联合用药对 P450 酶的诱导作用

冰片(30 μmol/L)与利福平(20 μmol/L)联合给药,使用 3 批次的肝细胞重复试验。操作步骤同“2.1”项。

2.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法测定肝细胞中 CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 的 mRNA 表达水平

2.3.1 RNA 的提取 TRNzol Reagent 裂解的肝细胞样品室温放置 5 min, 12 000 r/min(4 °C)离心 10 min, 取 100 μL 上清至另一 EP 管,加入 40 μL 三氯甲烷,剧烈震荡 15 s,室温放置 3 min, 12 000 r/min(4 °C)离心 15 min。将上层水相转移至新的离心管中,加入等体积异丙醇,混匀,室温放置 30 min, 12 000 r/min(4 °C)

离心 10 min,弃上清。加入 400 μL 的 75% 乙醇(DEPC 水配制)溶液洗涤沉淀,5 000 r/min(4 °C)离心 3 min 弃上清,沉淀室温放置晾干。加入 30 μL 的 DEPC 水,反复吹打使 RNA 充分溶解。

2.3.2 RNA 逆转录为 cDNA 根据 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kit 逆转录试剂盒说明书配制逆转录体系,首先按照 Mix1 配制反应体系,65 °C 反应 10 min 后立即置于冰上,加入反应体系的剩余试剂 Mix2,55 °C 反应 30 min,85 °C 反应 5 min, RNA 逆转录为 cDNA。

2.3.3 标准曲线的制作 PCR 引物(β-actin、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4)经 DEPC 水溶解,浓度均为 10 μmol/L。引物序列如表 1 所示,引物由华大基因合成。取 HC3-31 批次利福平样品逆转录的 cDNA 原始浓度为起始,用 DEPC 水 2 倍系列稀释成 6 个梯度(1、1/2、1/4、1/8、1/16、1/32)。以此为模版,根据 Roche 公司实时定量试剂盒 Fast Start Universal SYBR Green Master(Rox)说明书配制反应体系,按照表 2 进行 PCR 反应。横坐标为模版浓度的 log 值,纵坐标为 C_t 值,标准曲线由荧光定量 PCR 仪自动生成。

表 1 引物序列
Table 1 List of primers

引物名称	引物序列(5'—3')	供应商
β-actin-F	GGCATCCTCACCCTGAAGTA	BGI
β-actin-R	GGGGTGTGAAGGTCTAAA	BGI
CYP1A2-F	CTTCCGACACTCCTCCTTCTT	BGI
CYP1A2-R	GCCAAACAGCATCATCTTCTC	BGI
CYP3A4-F	TGTGGGGCTTTTATGATGGT	BGI
CYP3A4-R	GAAGGTTGGAGACAGCCTGA	BGI
CYP2B6-F	CCATACACAGAGGCAGTCATCT	BGI
CYP2B6-R	AGAAAGTGGTCAGGATTGAAGG	BGI

2.3.4 样品 qRT-PCR 检测 以逆转录的 cDNA 为模板,将样品的内参基因 β-actin 分别与 CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 其中一个目的基因同时扩增,比较给药组与对照组样品目的基因的表达差异。根据实时定量试剂盒说明书配制反应体系,按照表 2 进行 PCR 反应。采用 2^{-ΔΔC_t}(Livak 法)计算 mRNA 相对表达量。

2.4 诱导作用评价标准

参照 FDA 2012 年发布的《药物相互作用研究指导原则草案》将阳性对照组与对照组进行比较,CYP 基因 mRNA 表达量提高 4 倍以上表明诱导模型建模成功。

表2 qRT-PCR的反应程序

Table 2 Reaction program of qRT-PCR

步骤	温度/°C	反应时间	循环次数
1	95	10 min	1
2	95	15 s	40
	60*	1 min	
3	95	15 s	1
	60	15 s	
	#	20 min	
	95	15 s	

*-采集信号; #-温度变化

*-acquisition signal; #-temperature change

3 结果

3.1 P450酶诱导模型的验证

3批次的诱导结果表明,奥美拉唑、苯巴比妥钠、利福平均能分别显著诱导CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4的表达,表现出对应的mRNA表达水平明显增加,均>4;阴性对照红霉素对CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 mRNA表达水平未见明显影响。结果表明,P450酶诱导模型建立成功,见图1。

3.2 人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片对P450酶的诱导结果

使用酶诱导模型进行了人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹

参素钠、冰片对3批原代肝细胞P450酶的诱导试验,浓度的选择均为30 μmol/L。以对照组为参照(mRNA诱导倍率为1),3批次的诱导结果表明,人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片对3批次肝细胞的CYP1A2、CYP2B6和CYP3A4均没有诱导作用。结果见图2。

3.3 冰片与利福平联合给药对CYP450酶的诱导结果

研究表明^[21],冰片能明显抑制P-gp的活性,而P-gp和CYP3A4的诱导都是由孕烷X受体(pregnane X receptor, PXR)通路介导的^[4],两者通常能被同一种物质诱导或抑制,因此设立冰片与利福平联合作为诱导剂实验组,初步探究冰片对药酶CYP3A4的诱导作用及机制。如图3所示,在3批肝细胞中,单独使用利福平(20 μmol/L)时,对CYP1A2没有诱导作用,对CYP2B6、CYP3A4有诱导作用;当冰片(30 μmol/L)与利福平联合给药(20 μmol/L)时,对CYP1A2的作用没有影响,但却使利福平对CYP2B6、CYP3A4的诱导作用降低,CYP3A4的诱导作用降低尤为显著。在肝细胞RMH批次中,利福平单独给药对CYP2B6和CYP3A4 mRNA的诱导倍率分别是对照组的15.8和23.4倍,当利福平与冰片联合给药时,对CYP2B6

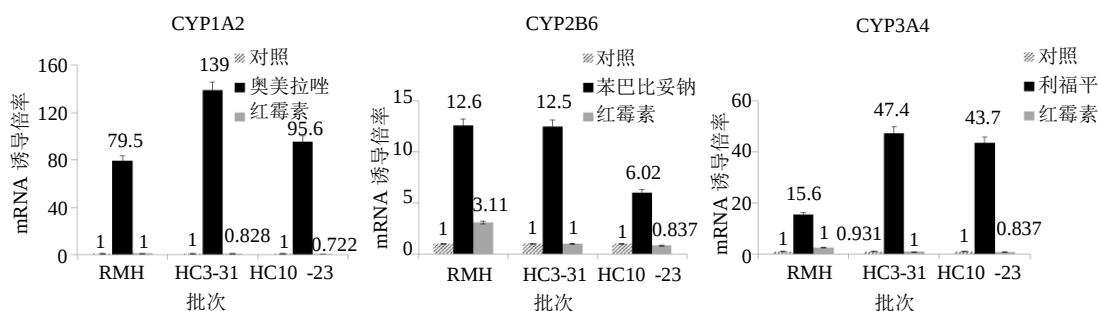
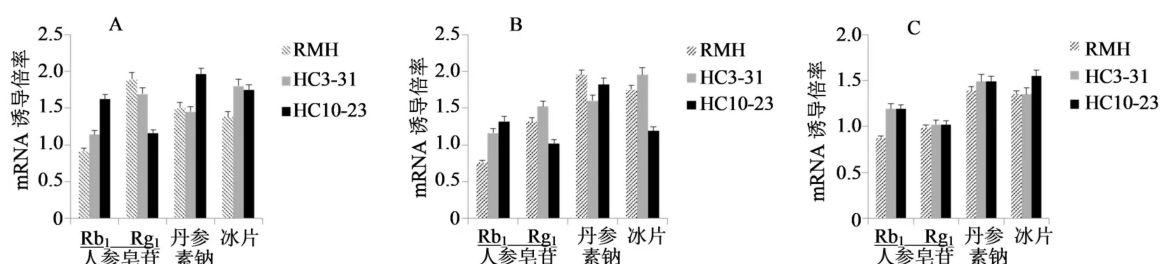


图1 在3批人肝细胞中奥美拉唑、苯巴比妥钠及利福平分别对CYP1A2、CYP2B6和CYP3A4的诱导作用

Fig. 1 Induced magnification of omeprazole, phenobarbital and rifampicin on mRNA of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 in 3 batches of human hepatocytes

图2 在3批肝细胞中人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁、丹参素钠、冰片分别对CYP1A2(A)、CYP2B6(B)和CYP3A4(C)的mRNA的诱导倍率Fig. 2 Induced magnification of Ginsenoside Rb₁, Ginsenoside Rg₁, sodium Danshensu and borneol on mRNA of CYP1A2(A), CYP2B6(B) and CYP3A4(C) in 3 batches of human hepatocytes

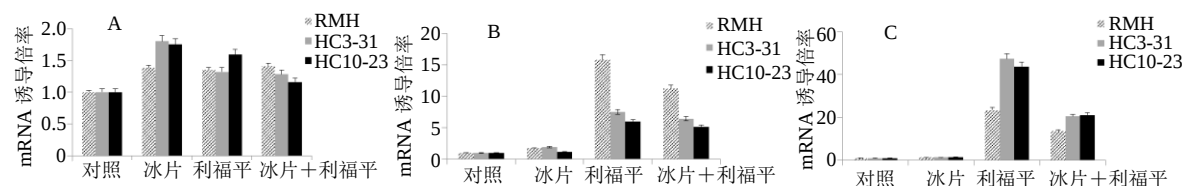


图3 在3批肝细胞中,冰片、利福平、冰片与利福平联合给药分别对CYP1A2(A)、CYP2B6(B)和CYP3A4(C)的mRNA的诱导倍率

Fig. 3 Induced magnification of borneol, rifampicin, borneol combined with rifampicin on mRNA of CYP1A2(A), CYP2B6(B) and CYP3A4(C) in 3 batches of human hepatocytes

mRNA、CYP3A4 mRNA的诱导倍率分别是对照组的11.2、13.6倍;在肝细胞HC3-31批次中,利福平单独使用时对CYP2B6和CYP3A4 mRNA的诱导倍率分别是对照组的7.5、47.4倍,当利福平与冰片联合给药时,对CYP2B6和CYP3A4 mRNA的诱导倍率分别是对照组的6.5、20.5;在肝细胞HC10-23批次中,利福平单独给药CYP2B6和CYP3A4 mRNA的表达分别是对照组的6.0、43.7倍,当利福平与冰片联合给药时,对CYP2B6和CYP3A4 mRNA的诱导倍率分别是对照组的5.2、21.1倍。结果表明,冰片与利福平联合给药,会使利福平对CYP2B6和CYP3A4 mRNA的诱导作用降低,CYP3A4表现得尤为明显。

4 讨论

人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片在30 μmol/L浓度给药时,对3批次肝细胞CYP1A2、CYP2B6和CYP3A4均没有诱导作用,说明人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁、丹参素钠、冰片不会通过药物代谢酶系统影响其他药物的代谢;冰片(30 μmol/L)与利福平(20 μmol/L)联合给药时,对3批次肝细胞的CYP1A2均没有影响,但却使利福平对3批次肝细胞的CYP2B6和CYP3A4的诱导作用降低,对CYP3A4的诱导作用影响尤为明显。

药物主要是作为CYP450的底物、抑制剂或诱导剂。①酶诱导剂可使药酶活性增强,使其本身或其他药物代谢加快,导致药物疗效降低,达不到治疗效果,占代谢性相互作用的23%。②酶抑制剂可以使药酶活性减弱,使其本身或其他药物代谢减慢,血药浓度升高,占代谢性相互作用的70%。因此化合物导致药物相互作用的潜能最终可能成为决定其临床应用前景的重要因素,因此,有必要围绕药物对代谢酶的诱导或抑制作用进行深入的研究。

随着核酸扩增和检测技术的发展,qRT-PCR可以在反应进行过程中进行累积扩增产物的分析和

检测,达到“实时”的效果,可以准确地确定初始模板拷贝数,动态范围宽、灵敏度高^[23]。

本研究应用诱导模型分别对人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片以及冰片与利福平联合给药进行了3批次研究。研究结果显示,人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片在30 μmol/L浓度给药时,对3批次肝细胞CYP1A2、CYP2B6和CYP3A4均没有诱导作用,说明人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片不会通过药物代谢酶系统影响其他药物的代谢;冰片(30 μmol/L)与利福平(20 μmol/L)联合给药时,对3批次肝细胞的CYP1A2均没有影响,但却使利福平对3批次肝细胞的CYP2B6和CYP3A4的诱导作用降低,对CYP3A4的诱导作用影响尤为明显。利福平诱导CYP3A4,同时也诱导P-gp;冰片抑制P-gp活性,而P-gp的活性主要取决于其表达量和与ATP酶的偶联2方面^[24],推断这一结果可能与ATP酶的偶联有关,具体机制仍需进一步研究。CYP3A4是人体含量最丰富的P450酶,大约占人肝CYP450总含量的30%,占肠道CYP450总含量的70%,参与市场上50%以上的药物代谢^[25]。本研究得到的诱导数据人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片不会通过药物代谢酶系统影响其他药物的代谢;当冰片与利福平联合给药时会阻断利福平对CYP3A4的诱导作用,可以为冰片及复方丹参滴丸的临床使用提供借鉴意义,冰片对CYP450其他诱导剂的阻断作用仍需进一步研究。另外,本实验数据均为体外结果,具有一定的局限性;人参皂苷Rb₁和Rg₁、丹参素钠、冰片对CYP450酶的诱导作用需要在体实验加以研究,以便指导4种成分乃至复方丹参滴丸的合理使用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李祥. 探讨细胞色素P450酶系和药物的代谢情况[J]. 海峡药学, 2014, 26(12): 165-166.
- Li X. To investigate the metabolism of cytochrome P450

- enzyme system and drugs [J]. Strait Pharm J, 2014, 26 (12): 165-166.
- [2] 慈小燕, 李薇, 崔涛, 等. 细胞色素P450酶诱导模型的建立及其应用 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(6): 688-694.
- Ci X Y, Li W, Cui T, et al. Establishment and application of a model for cytochrome P450 enzyme induction [J]. Chin New Drugs J, 2018, 27(6): 688-694.
- [3] 吴慧, 陈作忠, 彭向前, 等. 复方丹参滴丸对人肝脏药物代谢酶CYP1A2活性的影响 [J]. 中国药房, 2008, 19 (15): 1182-1184.
- Wu H, Chen Z Z, Peng X X, et al. Effect of Compound Danshen Dripping Pills on cytochrome CYP1A2 activity [J]. China Pharm, 2008, 19(15): 1182-1184.
- [4] Lin J H. CYP Induction-mediated drug interactions: in vitro assessment and clinical implications [J]. Pharm Res, 2006, 23(6): 1089-1116.
- [5] Sinz M, Wallace G, Sahi J. Current industrial practices in assessing CYP450 enzyme induction: preclinical and clinical [J]. Aaps J, 2008, 10(2): 391-400.
- [6] 邹月. 复方丹参滴丸药理作用及代谢研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(3): 162-163.
- Zou Y. Advances in pharmacological action and metabolism of Compound Danshen dropping Pills [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2018, 11(3): 162-163.
- [7] 徐一兰. 天士力复方丹参滴丸完成美国食品药品监督管理局三期临床试验 [J]. 天津中医药, 2017, 34(2): 74-75.
- Xu Y L. Tianshili compound Danshen dripping pill has completed phase III clinical trial of US Food and Drug Administration [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2017, 34 (2): 74-75.
- [8] 张志亮, 吕风华. 复方丹参滴丸联合托伐普坦治疗急性心肌梗死并发心力衰竭的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(2): 234-238
- Zhang Z L, Lv F H. Clinical study on Compound Danshen Dropping Pills combined with tolcaptan in treatment of acute myocardial infarction complicated with heart failure [J]. Drugs Clin, 2015, 46(4): 534-540.
- [9] 颜晶晶, 俸珊, 何丽娜, 等. 延胡索乙素对映体对人肝微粒体细胞色素P450酶抑制作用机制研究 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 534-540.
- Yan J J, Feng S, He L N, et al. Inhibitory mechanism of tetrahydropalmatine enantiomers on cytochrome P450 in human liver microsomes [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2015, 46(4): 534-540.
- [10] 张洪超, 李伟, 马晓慧, 等. 丹参水溶性成分间相互转化及相互作用研究进展 [J]. 医学综述, 2014, 20(9): 1647-1649.
- Zhang H C, Li W, Ma X H, et al. Research progress of transformation and interactions between water-soluble components of Danshen [J]. Med Recap, 2014, 20(9): 1647-1649.
- [11] 赵永跃, 褚扬, 阿基业, 等. 丹参主要水溶性成分的代谢产物研究进展 [J]. 医学综述, 2012, 18(10): 1560-1563.
- Zhao Y Y, Chu Y, A J Y, et al. Advances in research on the metabolites of the major water-soluble components of Danshen [J]. Med Recap, 2012, 18(10): 1560-1563.
- [12] 李慧, 刘若轩, 李阿荣, 等. 人参皂苷Rb₁在心肌缺血大鼠体内的药动学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(2): 163-168.
- Li H, Liu R X, Li A R, et al. Pharmacokinetics of Ginsenoside Rb₁ on ischemia rats after acute myocardial infarction [J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol, 2018, 29 (2): 163-168.
- [13] 宋侠. 三七皂苷药理作用研究进展 [J]. 中国现代药物应用, 2017, 11(14): 174-175.
- Song X. Recent advances in the research of pharmacological activities of *Panax notoginseng* saponins [J]. Chin J Modern Drug Appli, 2017, 11(14): 174-175.
- [14] 赵一懿, 郭洪祝, 陈有根, 等. 基于UPLC-QTOF-MS~E的代谢组学方法研究三七皂苷提取物及注射液的化学组分(英文) [J]. 中国药学: 英文版, 2017, 26(5): 335-345.
- Zhao Y Y, Guo H Z, Chen Y G, et al. Holistic quality evaluation of *Panax notoginseng* extract and injection using an UPLC-QTOF-MSE based metabolomics approach [J]. J Chin Pharm Sci, 2017, 26(5): 335-345.
- [15] 马世堂, 戴国梁, 毕肖林, 等. 基于计算药理学的复方丹参滴丸对氯吡格雷代谢酶的影响 [J]. 中草药, 2015, 38 (5): 1009-1012.
- Ma S T, Dai G L, Bi X L, et al. Computational pharmacological study on clopidogrel metabolism enzymes influenced by Fufang Danshen Dripping Pill [J]. J Chin Med Mater, 2015, 38(5): 1009-1012.
- [16] 贾晨, 刘玉亭, 尹稳, 等. 复方丹参滴丸对卡马西平在正常大鼠及难治性癫痫大鼠脑内分布的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3768-3774.
- Jia C, Liu Y T, Yin W, et al. Effect of Compound Danshen Dripping Pills on distribution of carbamazepine in brain of normal and refractory epilepsy rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(18): 3768-3774.
- [17] 洪雁, 何云燕, 杨元菊, 等. 复方丹参滴丸联合瑞舒伐他汀对伴颈动脉粥样硬化脑梗死患者调节性T细胞水平的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1624-1628.
- Hong Y, He Y Y, Yang Y J, et al. Effect of Compound Danshen Dropping Pills combined with simvastatin treatment on level of regulatory T cells in patients with

- carotid atherosclerotic cerebral infarction [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(8): 1624-1628.
- [18] 施 畅, 吴纯启, 马华智, 等. 复方丹参滴丸对大鼠肝 CYP (450)酶系诱导作用的研究 [J]. 解放军药学报, 2003, 19(5): 344-346.
- Shi C, Wu C Q, Ma H Z, et al. Study on rat liver cytochrome P450 induction effect of Compound Danshen Dripping Pills [J]. Pharm J Chin PLA, 2003, 19(5): 344-346.
- [19] 施 畅, 吴纯启, 马华智, 等. 复方丹参滴丸对大鼠肝 P450 酶系的诱导作用及其助致癌作用研究 [A]// 中国药理学会毒理专业委员会第十次学术会议论文摘要汇编 [C]. 2004.
- Shi C, Wu C Q, Ma H Z, et al. Study on the inducing effect of Compound Danshen dropping pills on rat liver P450 enzyme system and its carcinogenic effect [A]// Summary of papers of the 10th academic Conference of Toxicology Committee of Chinese Pharmacological Society [C]. 2004.
- [20] 胡东华, 王宇光, 陈志武, 等. 复方丹参滴丸对大鼠肝细胞色素 P450 酶的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 678-684.
- Hu D H, Wang Y G, Chen Z W, et al. Effect of compound Danshen Dripping Pills on rat hepatic cytochrome P450 [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2013, 27(4): 678-684.
- [21] 李伟荣, 董 静, 宓穗卿, 等. 复方丹参滴丸对大鼠肝微粒体细胞色素 P450 含量的影响 [J]. 中成药, 2005, 27(9): 1092-1093.
- Li W R, Dong J, Mi H Q, et al. Effect of compound Danshen dropping Pills on the content of somatic pigment P450 in rat liver microsomes [J]. Chin Tradit Patent Med, 2005, 27(9): 1092-1093.
- [22] 王一博, 肖 丹, 李晓宇, 等. 液相色谱-质谱联用技术结合多探针底物法研究人参皂苷 Rb₁ 的体外代谢 [J]. 高等学校化学学报, 2015, 36(10): 46-51.
- Wang Y B, Xiao D, Li X Y, et al. Metabolism of ginsengside rb1 in rat liver microsomal *in vitro* by HPLC-MS and cocktail probe substrats method [J]. Chem J Chin Univ, 2015, 36(10): 46-51.
- [23] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. Nucleic Acids Res, 2001, 29(9): e45.
- [24] 陈艳明, 王宁生. 冰片对 P-糖蛋白的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(2): 96-99.
- Chen Y M, Wang N S. Effects of borneol on P-glycoprotein [J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol, 2003, 14(2): 96-99.
- [25] 谷 元, 司端运, 刘昌孝. CYP3A4 酶介导的人类药物代谢性别差异 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(9): 1121-1124.
- Gu Y, Si D Y, Liu C X. Gender-related differences of cytochrome P450 3A4 activity [J]. Chin Pharmacol Bull, 2009, 25(9): 1121-1124.

[责任编辑 兰新新]