

中,DNA 损伤可以启动分子级联反应,使细胞进入细胞周期的 S 期从而为修复损伤的 DNA 提供时间,此系统依赖于 p53 蛋白和 PCNA 蛋白的活化及在细胞核内积聚,以便参与 DNA 修复和/或细胞周期阻滞。继之 NER 的内切步骤、DNA 修复和转录过程均需要 p53 参与<sup>[7]</sup>;内切后是损伤链的外切,最后复制因子、DNA 聚合酶和 DNA 连接酶相互作用完成修复<sup>[3,4]</sup>。

本实验采用免疫组织化学方法检测了 UVB 辐射后 HaCaT 细胞自然产生和清除光产物 CPDs 的情况,并观察了川芎嗪对 HaCaT 细胞光产物 CPDs 的影响。从结果可以看出,与非照光组和阴性对照组相比,UVB 辐射可以导致细胞 DNA 损伤而产生 CPDs,免疫组化法可以检测到细胞核棕褐色着色的阳性细胞。UVB 辐射后 CPDs 产生和清除的时效作用表现为:照射 UVB 后细胞即开始产生 CPDs,0.5 h 左右达到高峰。同时细胞也在清除 CPDs,在开始的 4 h 内清除速率较快,辐射后 4~24 h,CPDs 清除速率减慢,表现为阳性细胞数减少不明显。

川芎中的阿魏酸能有效地抑制氧自由基产生,保护膜脂质不被氧化,防止 DNA 损伤发生,还可能抑制肿瘤细胞的增殖生长<sup>[6]</sup>。川芎嗪为其主要的活性成分。本实验中在 UVB 辐射后加入川芎嗪与细胞共同孵育后阳性细胞数明显少于单纯照射组,证实了川芎嗪的光保护作用在于加药可以降低细胞培养体系中 CPDs 的量,此效应可能与加速照光后已生成的 CPDs 的清除有关,进一步推测可能与前述的抗炎、抗氧化等机制有关。

通过 RT-PCR 法和 Western blotting 法比较了单纯 UVB 辐射 HaCaT 细胞中 p53 和 PCNA 的 mRNA 和蛋白表达水平以及加用川芎嗪后对这些

调控基因表达的影响。从结果中可以看出,30 mJ/cm<sup>2</sup> UVB 辐射后,HaCaT 细胞 p53 和 PCNA 的 mRNA 和蛋白表达增加,经 UVB 照射再加川芎嗪处理后,两种调控分子的 mRNA 和蛋白表达水平均较单纯 UVB 照射组低,说明川芎嗪降低细胞中 CPDs 水平的光保护作用机制可能与下调这些相关修复基因的 mRNA 和蛋白表达有关。

总之,HaCaT 细胞对 UVB 照射所致光产物 CPDs 的清除存在快速期及慢速期;川芎嗪可降低光产物 CPDs 水平。川芎嗪的光保护作用可能与其下调修复相关调控分子 p53 和 PCNA 基因和蛋白表达有关。

References:

- [1] Hoeijmakers J H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer [J]. *Nature*, 2001, 411: 366-374.
- [2] You Y H, Lee D H, Yoon J H, et al. Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells [J]. *Biol Chem*, 2001, 276: 44688-44694.
- [3] Tornaletti S, Pfeifer G P. UV damage and repair mechanisms in mammalian cells [J]. *Bioessays*, 1996, 18: 221-228.
- [4] Ford J M, Hanawalt P C. Expression of wild-type p53 is required for efficient global genomic nucleotide excision repair in UV-irradiated human fibroblasts [J]. *Biol Chem*, 1997, 272: 28073-28080.
- [5] Luo D, Min W, Lin X F, et al. Experimental study of photo-protection of hydroxychloroquine and TCMS on human keratinocytes damages from ultraviolet irradiation [J]. *Chin Cosm Med* (中国美容医学), 2003, 12(4): 355-358.
- [6] Zhang H J, Yan Y L, Zhang Z X, et al. Apoptosis of human small cell lung cancer H446 cells induced by tetramethylpyrazine [J]. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治研究), 2003, 30(6): 452-454.
- [7] Levine A J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division [J]. *Cell*, 1997, 88: 323-331.
- [8] Carr A M, Hoekstra M F. The cellular responses to DNA damage [J]. *Trends Cell Biol*, 1995, 5: 32-40.
- [9] Li G, Ho V C. p53-dependent DNA repair and apoptosis respond differently to high-and low-dose ultraviolet radiation [J]. *Br J Dermatol*, 1998, 139(1):3-10.

## 丹参酮 II<sub>A</sub> 在大鼠肝微粒体酶中的代谢动力学

毕惠婷<sup>1</sup>, 和 凡<sup>1</sup>, 温莹莹<sup>1</sup>, 陈 孝<sup>2</sup>, 黄 民<sup>1\*</sup>

(1. 中山大学药学院临床药理研究所, 广东 广州 510080; 2. 中山大学附属第一医院 药学部, 广东 广州 510080)

**摘要:**目的 研究丹参酮 II<sub>A</sub> 在大鼠肝微粒体酶中的代谢, 以及选择性细胞色素 P450 (CYP) 酶抑制剂对其代谢的影响。方法 超速离心法制备大鼠肝微粒体, 采用高效液相-质谱联用方法测定孵育液中丹参酮 II<sub>A</sub> 原形药物的

收稿日期: 2006-06-10

基金项目: 广州新药临床前评价研究技术平台 (广州市重大项目, 2004Z1-E4051)

作者简介: 黄 民 (1963-), 男, 中山大学药学院院长, 教授, 博士生导师, 研究方向为药物代谢与药理学、遗传药理学。

Tel: (020) 87334521 Fax: (020) 87334718 E-mail: huangmin@mail.sysu.edu.cn

\* 通讯作者 黄 民

浓度。研究丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的酶促动力学,推导出药物米氏常数( $K_m$ )和最大反应速度( $V_{max}$ );并计算体外酶对药物的清除率( $CL_{int}$ )。同时观察不同浓度和不同种类的 CYP 酶特异性抑制剂对丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>代谢的影响。结果 丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>在大鼠肝微粒体酶中的  $V_{max}$  为  $(1.20 \pm 0.18)$  nmol/(min · mg);  $K_m$  为  $(4.35 \pm 0.67)$  nmol/mL;  $CL_{int}$  为  $(0.28 \pm 0.06)$  mL/(min · mg)。噻氯匹啉和酮康唑能够显著抑制丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的代谢,奎尼丁对丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的代谢也有一定的抑制作用,而其他 CYP 酶抑制剂对丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的代谢无明显影响。结论 CYP2C19 和 CYP3A1 主要参与了丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的代谢,CYP2D6 也起到了部分代谢作用;这些 CYP 酶的抑制剂可能使丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的代谢受到抑制,造成药物药效或毒性的增加。

关键词:丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>; 代谢; 肝微粒体; 细胞色素 P450 (CYP)

中图分类号:R285.61 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)06-0882-05

## Metabolic kinetics of tanshinone II<sub>A</sub> in rat liver microsomal enzyme

BI Hui-chang<sup>1</sup>, HE Fan<sup>1</sup>, WEN Ying-ying<sup>1</sup>, CHEN Xiao<sup>2</sup>, HUANG Min<sup>1</sup>

(1. Institute of Clinical Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080 China; 2. Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract: Objective** To study the metabolic kinetics of tanshinone II<sub>A</sub> and the effects of selective CYP450 inhibitors on the metabolism of tanshinone II<sub>A</sub> in rat liver microsomal enzyme. **Methods** Rat liver microsomes were prepared by using ultracentrifugation method. Tanshinone II<sub>A</sub> concentration in the incubation pool was determined by LC/LC/MS method. The Michaelis-Menten parameters  $K_m$  and  $V_{max}$  in rat liver microsomes were initially estimated by analyzing Lineweave-Brurk plot. The clearance ( $CL_{int}$ ) was calculated for *in vitro* enzyme to tanshinone II<sub>A</sub>. Various selective CYP inhibitors were used to investigate their inhibitory effects on the metabolism of tanshinone II<sub>A</sub> and the principal CYP isoforms involved in tanshinone II<sub>A</sub> metabolic ring. **Results** The  $V_{max}$ ,  $K_m$ , and  $CL_{int}$  of tanshinone II<sub>A</sub> were  $(1.20 \pm 0.18)$  nmol/(min · mg),  $(4.35 \pm 0.67)$  nmol/mL, and  $(0.28 \pm 0.06)$  mL/(min · mg), respectively. The metabolism of tanshinone II<sub>A</sub> was significantly inhibited by ticlopidine and ketoconazole. Quinidine could inhibit the metabolism of tanshinone II<sub>A</sub>, while the other inhibitors showed little inhibitory effect on the metabolism of tanshinone II<sub>A</sub>. **Conclusion** It is shown that CYP2C19 and CYP3A1 are involved in the metabolism of tanshinone II<sub>A</sub> and CYP2D6 contribute to the metabolism to some extent. Their selective CYP inhibitors may have potential inhibition on metabolism of tanshinone II<sub>A</sub> and make the efficacy or toxicity increased.

**Key words:** tanshinone II<sub>A</sub>; metabolism; liver microsomes; CYP

丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>(tanshinone II<sub>A</sub>)是丹参根中的二萜醌类脂溶性有效成分,经大量药理及临床观察研究证明,丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>具有多种药理作用,如心血管作用、抗肿瘤、抗氧化、抗菌消炎作用等<sup>[1~3]</sup>。尤其在心血管作用方面,其具有扩张冠状动脉、增加心肌收缩力等作用,是临床治疗冠心病的常用药物,具有良好的新药开发前景<sup>[4,5]</sup>。有关丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>在大鼠肝微粒体中的代谢动力学及参与其代谢的细胞色素酶 P450 (CYP) 亚型,国内外尚未见报道。本实验旨在研究丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>在大鼠肝微粒体中的代谢以及参与其代谢的主要 CYP 亚型,为进一步研究该药的代谢性相互作用奠定基础。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物:SD 大鼠,雄性,体重  $(250 \pm 25)$  g,由中山大学实验动物中心提供,动物合格证号:0008513。实验前禁食 12 h。

1.2 药物及试剂:丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>由中山大学药学院药

物化学教研室提取,质量分数大于 99.8%;氯雷他定购于中国药品生物制品检定所,质量分数为 99.4%。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH),Roch 公司; $\alpha$ -萘磺酮,磺胺苯吡唑,噻氯匹啉,奎尼丁,4-甲基吡唑,酮康唑均购自 Sigma 公司;甲醇为色谱-质谱纯,美国 Tedia 公司;其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 实验仪器:美国 Finnigan TSQ-QUANTUM 型三重四极杆液相色谱-质谱系统,配有电喷雾离子化源、Surveyor 输液泵及自动进样器以及 Xcalibur 1.3 数据采集软件、Lcquan 数据处理软件。德国 Beckman 公司 Avanti J-E 型高速离心机、Optima LE-80K 型超速离心机。

1.4 色谱-质谱条件:采用液相色谱-质谱法测定丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>。离子源为电喷雾电离源(ESI);正离子方式检测;电喷雾电压为 3 500 eV;加热毛细管温度为 350 °C;鞘气( $N_2$ )压力为 103.425 kPa,辅气

(N<sub>2</sub>) 压力为 6.895 kPa, 碰撞气 (Ar) 压力为 0.133 Pa; 碰撞诱导解离 (CID) 电压分别为 15 eV (丹参酮 I<sub>A</sub>) 和 22 eV (氯雷他定); 碰撞能量分别为 20 eV (丹参酮 I<sub>A</sub>) 和 41 eV (氯雷他定); 扫描方式为选择反应监测 (SRM), 用于定量分析的离子反应分别为  $m/z$  295→249 (丹参酮 I<sub>A</sub>) 和  $m/z$  383→266 (氯雷他定)。色谱分析柱为 Hypersil BDS C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 5 μm, 大连依利特科学仪器有限公司); 流动相为甲醇-水 (90:10) (水中含 1% 甲酸), 体积流量为 300 μL/min, 柱温为 30 °C。分析时间为 2 min。

1.5 肝微粒体制备: 大鼠断头处死后, 立即取出肝脏, 称质量。迅速放入 0~4 °C 冰浴中剪碎, 用冰冷的蔗糖溶液 (0.25 mmol/L, pH 7.4) 洗涤数次至没有血色后制成匀浆, 在 16 000×g、4 °C 离心 20 min; 取上清液, 100 000×g、4 °C 离心 60 min; 取沉淀用焦磷酸钾溶液 (0.1 mol/L, pH 7.4) 洗涤 1 次, 混悬均匀, 再次 100 000×g、4 °C 离心 60 min。弃上清, 沉淀用含 20% 甘油的 Tris-HCl 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 7.4) 重悬, -80 °C 保存备用。Lowry 法<sup>[4]</sup>测定肝微粒体蛋白质浓度。

1.6 孵育条件: 孵育体系总体积 500 μL, 反应体系中包含 NADPH (1 mmol/L), 微粒体蛋白 (0.4 mg/mL), 磷酸盐缓冲液 (0.1 mol/L, pH 7.4)。丹参酮 I<sub>A</sub> 及各种抑制剂用不同比例的甲醇配制, 反应体系中甲醇终体积分数小于 1%。反应在 37 °C 水浴中进行, 预孵 5 min, 加入 NADPH 启动反应, 一定时间后, 加冰乙醚 1.5 mL 终止反应, 按 1.7 项下处理并进样分析。

1.7 样品处理: 0.5 mL 孵育液中加冰乙醚 1.5 mL, 加入 5 μL (5 μg/mL) 内标氯雷他定溶液, 混匀, 涡旋 1 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取有机相于真空干燥箱挥干后加 500 μL 甲醇-水 (90:10) 溶解, 移入进样管, 进样 10 μL 进行色谱-质谱分析。

1.8 代谢抑制实验: 研究选择性的 CYP 酶抑制剂对丹参酮 I<sub>A</sub> 代谢的影响。孵育条件同前。孵育体系中丹参酮 I<sub>A</sub> 浓度为 2 μmol/L, 微粒体蛋白质量浓度为 0.4 mg/mL, 孵时间为 5 min (根据酶促动力学实验结果确定)。实验中所用的选择性抑制剂为 α-萘磺酮 (CYP1A2, 0.5~2 μmol/L), 磺胺苯吡唑 (CYP2C9, 2.5~10 μmol/L), 噻氯匹啉 (CYP2C19, 1.25~40 μmol/L), 奎尼丁 (CYP2D6, 0.5~2 μmol/L), 4-甲基吡唑 (CYP2E1, 5~20 μmol/L), 酮康唑 (CYP3A1, 0.1~4 μmol/L), 对照

组用等量的溶剂代替抑制剂。抑制程度按抑制剂浓度为 0 时代谢量为 100% 计算。

## 2 结果

2.1 方法的专属性与线性: 在选定的检测条件下, 由色谱图 (图 1) 可见, 本方法具有良好的专属性, 丹参酮 I<sub>A</sub> 和内标氯雷他定峰形良好, 无内源性杂质干扰, 各种抑制剂的加入也不干扰丹参酮 I<sub>A</sub> 的检测。丹参酮 I<sub>A</sub> 在 0.5~16 μmol/L 线性良好, 代表性标准曲线方程:  $Y=15.46C+8.78$  ( $R^2=0.9974$ )。

2.2 回收率与精密度: 丹参酮 I<sub>A</sub> 在肝微粒体酶中浓度分别为 1、4、16 μmol/L 时, 提取回收率 ( $n=5$ ) 分别为 (65.0±1.0)%、(70.9±0.5)%、(64.2±1.3)%, 呈非浓度依赖关系; 批内精密度 RSD ( $n=5$ ) 分别为 8.7%、2.9%、3.2%; 批间精密度 RSD ( $n=5$ ) 分别为 7.6%、3.0%、4.1%。符合生物样品的检测要求。

2.3 孵育时间对丹参酮 I<sub>A</sub> 代谢的影响: 在含有 0.4 mg/mL 大鼠肝微粒体酶中加入丹参酮 I<sub>A</sub> (2 μmol/L), 在 37 °C 水浴中孵育不同时间 (1~40 min)。结果显示, 在 1~10 min 内丹参酮 I<sub>A</sub> 呈线性消除。

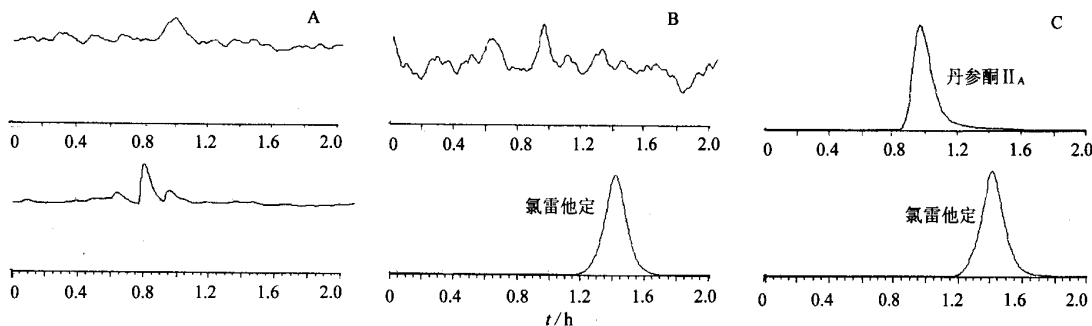
2.4 肝微粒体蛋白质量浓度对丹参酮 I<sub>A</sub> 代谢的影响: 在不同蛋白质量浓度 (0.05~0.8 mg/mL) 的微粒体酶中加入丹参酮 I<sub>A</sub> (2 μmol/L), 在 37 °C 水浴中孵育 5 min。结果显示, 在 0.05~0.4 mg/mL 内, 随着蛋白质量浓度的增加, 丹参酮 I<sub>A</sub> 消除呈线性增加。

2.5 微粒体酶对不同浓度丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢: 在蛋白质量浓度为 0.4 mg/mL 的肝微粒体酶中, 分别加入不同量的丹参酮 I<sub>A</sub> (终浓度为 0.5、1、2、4、8、16 μmol/L), 37 °C 水浴中孵育 5 min。根据 Lineweaver-Burk 双倒数曲线, 使用 GraphPad Prism 4.0 软件来求算米氏常数 ( $K_m$ ) 和最大反应速率 ( $V_{max}$ ), 其截距的倒数即为  $V_{max}$  值, 斜率与  $V_{max}$  的乘积即为  $K_m$  值,  $V_{max}/K_m$  即为  $CL_{int}$  (体外酶对药物的清除率), 从而得出样品的酶促动力学参数<sup>[5,6]</sup>。结果  $V_{max}$  为 (1.20±0.18) nmol/(min·mg),  $K_m$  为 (4.35±0.67) nmol/mL,  $CL_{int}$  为 (0.28±0.06) mL/(min·mg)。

2.6 选择性 CYP 抑制剂对丹参酮 I<sub>A</sub> 代谢的影响: 不同酶抑制剂能对 CYP 酶不同亚家族产生特异性的抑制, 借此可以研究药物的代谢途径以及药物的代谢规律。以抑制剂的浓度为横坐标, 药物的代谢率为纵坐标 (按抑制剂浓度为 0 时代谢量为

100% 计算) 作图, 结果见图 2。结果表明, CYP2C19 的特异性抑制剂噻氯匹啉在 1.25  $\mu\text{mol/L}$  时就可以明显抑制肝微粒体酶对丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢 ( $P < 0.01$ ), 降低丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢速率; 同样 CYP3A1 的特异性抑制剂酮康唑在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  时就可明显抑制肝微粒体酶对丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢 ( $P < 0.01$ )。CYP2D6 的特异性抑制剂奎尼丁虽然也在 1  $\mu\text{mol/L}$

L 对丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢有明显的抑制作用 ( $P < 0.01$ ), 但作用远小于噻氯匹啉和酮康唑, 其最高浓度 (2  $\mu\text{mol/L}$ ) 时对酶的抑制作用也远小于噻氯匹啉和酮康唑的抑制作用。所以, 噻氯匹啉和酮康唑可以显著抑制丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢速率; 奎尼丁对药物的代谢也呈现一定程度的抑制, 而其他抑制剂对丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢无明显的影响。



A-空白大鼠肝微粒体 B-空白肝微粒体加入内标(氯雷他定) C-加入丹参酮 I<sub>A</sub> 孵育 5 min 的肝微粒体样品

A-blank rat microsomes B-rat liver microsomes with IS (loratadine) C-rat microsomes incubated with tanshinone I<sub>A</sub> for 5 min

图 1 丹参酮 I<sub>A</sub>(A、B、C 中的上图) 及内标 (A、B、C 中的下图) 的高效色谱-质谱

Fig. 1 Representative chromatograms of tanshinone I<sub>A</sub>(up A, B, and C) and IS (loratadine, down A, B, and C)

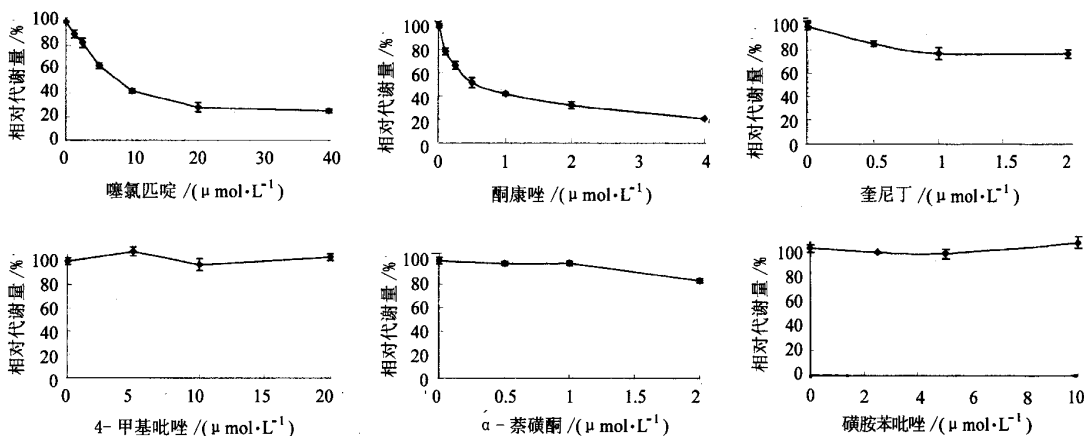


图 2 CYP 选择性抑制剂对大鼠肝微粒体代谢丹参酮 I<sub>A</sub>(2  $\mu\text{mol/L}$ ) 作用的影响 ( $n=3$ )

Fig. 2 Effects of various CYP selective inhibitors on metabolism of tanshinone I<sub>A</sub> (2  $\mu\text{mol/L}$ ) in rat liver microsomes ( $n=3$ )

### 3 讨论

本实验建立的测定肝微粒体酶中丹参酮 I<sub>A</sub> 的色谱-质谱方法, 经回收率、精密性及标准曲线等方法学验证项目考察, 表明此分析方法具有灵敏、准确、快速的特点, 能成功应用于丹参酮 I<sub>A</sub> 在大鼠肝微粒体酶中的代谢研究。研究结果显示, 丹参酮 I<sub>A</sub> 在大鼠肝微粒体中被迅速代谢; 在温孵时间 (1~10 min) 以及蛋白质量浓度 (0.05~0.4 mg/mL), 丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢呈线性变化。当丹参酮 I<sub>A</sub> 浓度大于

2  $\mu\text{mol/L}$  时, 其代谢速率不再随底物浓度的增加而增加, 反而表现速率下降的特性。通过研究不同酶抑制剂对药物代谢的影响, 可以了解药物的代谢规律以及可能产生的药物相互作用。噻氯匹啉和酮康唑为 CYP2C19 和 CYP3A1 的特异性抑制剂, 在本实验中可以显著抑制丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢; 奎尼丁 (CYP2D6) 对药物的代谢也呈现一定程度的抑制, 而其他抑制剂对丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢无明显的影响。这说明 CYP3A1 和 CYP2C19 主要参与了丹参酮

I<sub>A</sub> 的代谢,是丹参酮 I<sub>A</sub> 代谢的一个关键步骤; CYP2D6 也部分参与了药物的代谢。由于药物间代谢性相互作用是影响药物在体内浓度水平的一个重要因素,因此抑制丹参酮 I<sub>A</sub> 上述的代谢途径将会降低其代谢速率,提高丹参酮 I<sub>A</sub> 在体内的水平。提示 CYP2C19、CYP3A1、CYP2D6 的抑制剂与丹参酮 I<sub>A</sub> 之间有潜在的药物相互作用,前者可以降低丹参酮 I<sub>A</sub> 的代谢速率。本研究对丹参酮 I<sub>A</sub> 的体外代谢作了初步的探讨,为进一步药物相互作用研究和进行人体试验提供参考和依据。

References:

[1] Wu H, He Z B, Wu H B. Review on tanshinones' pharmacological actions [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West*

*Med* (现代中西医结合杂志), 2005, 14(10): 1832-1885.  
 [2] Shi N Y, Dong H M, Huang H J. Pharmacological and clinical applications of tanshinones [J]. *J Chin Phys* (中国医师杂志), 2001, 3(2): 150-151.  
 [3] Liang Y, Yang Y M, Yuan S L. Review on tanshinones' pharmacological actions and clinical applications [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(4): 304-306.  
 [4] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265-275.  
 [5] Bjornsson T D, Callaghan J T, Einolf H J, et al. The conduct of *in vitro* and *in vivo* drug-drug interaction studies: a pharmaceutical research and manufactures of America (PhRMA) perspective [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 518-832.  
 [6] Donato M T, Castell J V. Strategies and molecular probes to investigate the role of cytochrome P450 in drug metabolism [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2003, 42: 153-178.

### β-榄香烯对人膀胱癌 BIU-87 细胞磷脂膜功能及 Bcl-2 表达的影响

李传刚<sup>1</sup>, 李墨林<sup>2</sup>, 周 琴<sup>3</sup>, 舒晓宏<sup>3\*</sup>, 刘用禔<sup>1</sup>, 韩国柱<sup>3</sup>

(1. 大连医科大学附属第二医院 泌尿外科, 辽宁 大连 116023; 2. 大连医科大学 病理生理教研室, 辽宁 大连 116027; 3. 大连医科大学药学院, 辽宁 大连 116027)

**摘要:**目的 探讨 β-榄香烯对人膀胱癌 BIU-87 细胞磷脂膜功能及 Bcl-2 表达的影响。方法 [<sup>32</sup>P]Pi 同位素参入,提取细胞磷脂进行 HPTLC 分析细胞磷脂(PC 及 PE)代谢,考马斯亮蓝法测定细胞膜蛋白水平,分析细胞膜流动性及流式细胞仪测定 Bcl-2 表达的变化。结果 随着 β-榄香烯浓度的增加,[<sup>32</sup>P]Pi 参入细胞 PC、PE 量明显降低,膜蛋白水平及 Bcl-2 表达明显降低,其最大抑制率分别为:41.1%、43.3%、43%、50%,呈明显的量效关系(P<0.05);β-榄香烯明显降低 BIU-87 细胞膜脂流动性。结论 β-榄香烯可以明显抑制 BIU-87 细胞磷脂代谢、Bcl-2 表达及脂膜流动性,提示磷脂(PC 及 PE)及 Bcl-2 与膀胱癌 BIU-87 细胞凋亡有密切关系。

**关键词:**β-榄香烯; 人膀胱癌; 磷脂; HPTLC; Bcl-2

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)06-0886-04

### Effects of β-elemene on phosphatide membrane function and Bcl-2 expression of human bladder carcinoma BIU-87 cells

LI Chuan-gang<sup>1</sup>, LI Mo-lin<sup>2</sup>, ZHOU Qin<sup>3</sup>, SHU Xiao-hong<sup>3</sup>, LIU Yong-ji<sup>1</sup>, HAN Guo-zhu<sup>3</sup>

(1. Department of Urinary Surgery, second Affiliated Hospital, Dalian Medical University, Dalian 116023, China; 2. Department of Pathophysiology, Dalian Medical University, Dalian 116027, China; 3. School of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of β-elemene on the phosphatide membrane function and Bcl-2 expression of human bladder carcinoma BIU-87 cells. **Methods** Phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) contents were measured by the methods of [<sup>32</sup>P]Pi incorporation and HPTLC separation, the level of membrane protein was determined by Coomassie brilliant blue, the expression of Bcl-2 was observed by flow cytometry, and the membrane fluidity of the BIU-87 cells was examined. **Results** Comparing with the control, the β-elemene could markedly inhibit the level of PC, PE, membrane protein, and Bcl-2 expression in a dose-dependent manner, the maximum inhibition rates are 41.1%, 43.3%, 43%, and 50% (P<0.05), respectively, as well as the membrane fluidity of the

收稿日期:2006-11-24

基金项目:辽宁省科技厅自然科学基金计划资助项目(20062156)

作者简介:李传刚(1967—),男,大连人,辽宁省中西医结合学会理事,博士,教授,硕士生导师,从事中西医结合防治膀胱肿瘤的临床及科研工作,已发表论文 20 余篇。Tel: 13591397759 E-mail: chuanguang\_li@hotmail.com

\* 通讯作者 舒晓宏 E-mail: schuxh@yahoo.com.cn

# 丹参酮IIA在大鼠肝微粒体酶中的代谢动力学

作者: [毕惠嫦](#), [和凡](#), [温莹莹](#), [陈孝](#), [黄民](#), [BI Hui-chang](#), [HE Fan](#), [WEN Ying-ying](#), [CHEN Xiao](#), [HUANG Min](#)

作者单位: [毕惠嫦,和凡,温莹莹,黄民,BI Hui-chang,HE Fan,WEN Ying-ying,HUANG Min\(中山大学药学院临床药理研究所,广东,广州,510080\)](#), [陈孝,CHEN Xiao\(中山大学附属第一医院,药学部,广东,广州,510080\)](#)

刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年,卷(期): 2007,38(6)

被引用次数: 7次

## 参考文献(6条)

1. [Wu H;He Z B;Wu H B](#) [Review on tanshinones' pharmacological actions](#) 2005(10)
2. [Shi N Y;Dong H M;Huang H J](#) [Pharmacological and clinical applications of tanshinones](#)[期刊论文]-[中国医师杂志](#) 2001(02)
3. [Liang Y;Yang Y M;Yuan S L](#) [Review on tanshinones' pharmacological actions and clinical applications](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2000(04)
4. [Lowry O H;Rosebrough N J;Farr A L](#) [Protein measurement with the Folin phenol reagent](#) 1951
5. [Bjornsson T D;Callaghan J T;Einolf H J](#) [The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies:a pharmaceutical research and manufactures of America \(PhRMA\) perspective](#) 2003
6. [Donato M T;Castell J V](#) [Strategies and molecular probes to investigate the role of cytochrome P450 in drug metabolism](#)[外文期刊] 2003(2)

## 本文读者也读过(4条)

1. [高凯](#), [余伟](#), [杨静](#), [段徐华](#), [GAO Kai](#), [WEI Yu](#), [YANG Jing](#), [DUAN Xu-hua](#) [大鼠肝微粒体CYP3A1/2和CYP2C9/10参与甘草酸羟化代谢](#)[期刊论文]-[中国临床药理学与治疗学](#)2007, 12(11)
2. [刘艳](#), [王海霞](#), [黄丽军](#), [张一飞](#), [徐静](#), [田玮](#), [LIU Yan](#), [WANG Hai-xia](#), [HUANG Li-jun](#), [ZHANG Yi-fei](#), [XU Jing](#), [TIAN Wei](#) [大鼠肝微粒体法测定3种中药对CYP3A4亚型的作用](#)[期刊论文]-[医药导报](#)2011, 30(3)
3. [阿拉腾其木格](#), [YANG Xiu-wei](#), [ALATENGQIMUGE](#), [YANG Xiu-wei](#) [去氢土莫酸在大鼠体外肝微粒体体系中的生物转化研究](#)[期刊论文]-[中国新药杂志](#)2008, 17(15)
4. [魏玉辉](#), [秦红岩](#), [段好刚](#), [李波霞](#), [武新安](#), [WEI Yu-hui](#), [QIN Hong-yan](#), [DUAN Hao-gang](#), [LI Bo-xia](#), [WU Xin-an](#) [六味地黄丸对大鼠肝微粒体代谢酶P450活性的影响](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#)2008, 28(19)

## 引证文献(8条)

1. [和凡](#), [钟国平](#), [赵立子](#), [毕惠嫦](#), [黄民](#) [丹参酮IIA对大鼠细胞色素P450酶的诱导作用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009(6)
  2. [曹露晔](#), [谢黛](#), [杜敏](#) [中药药代动力学研究意义及现状](#)[期刊论文]-[亚太传统医药](#) 2008(4)
  3. [蔡巧玲](#), [王莹](#), [崔波](#), [安徽](#), [王新宏](#), [马越鸣](#) [半夏泻心汤及不同配伍对大鼠肝微粒体中黄芩苷和黄芩素代谢的影响](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2012(8)
  4. [廖乃顺](#), [陈文列](#) [细胞色素氧化酶P450家族在中药毒性研究中的应用进展](#)[期刊论文]-[中国药理学与毒理学杂志](#) 2012(3)
  5. [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](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#) 2011(1)
- [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](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#)

2011(1)

7. [孙敏](#), [刘鹏](#), [付晓丽](#), [徐为人](#) [植物成分与细胞色素P450相互作用的研究进展](#) [期刊论文] - [药物评价研究](#) 2012(6)
8. [陈焕文](#) [大鼠肝微粒体细胞色素P450酶活性研究方法概括](#) [期刊论文] - [医药前沿](#) 2012(11)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200706036.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706036.aspx)