

艾迪注射液对体外人和大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用

潘洁^{1,2,3}, 陆苑^{1,2,3}, 孙佳^{1,2}, 董莉^{1,2}, 彭静², 李勇军^{2,4}, 王永林^{1,2*}

(1. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学国家苗药工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550004; 4. 贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004)

摘要: 目的 研究艾迪注射液(斑蝥、人参、黄芪等)对体外人和大鼠肝微粒体中细胞色素 P450 (CYP450) 酶的抑制作用, 并比较种属差异性, 评价其发生药物相互作用的可能性。**方法** 在肝微粒体孵育体系中, 将艾迪注射液分别与混合探针底物(非那西丁/CYP1A2、氯唑沙宗/CYP2E1、右美沙芬/CYP2D6、奥美拉唑/CYP2C19、甲苯磺丁脲/CYP2C9、咪达唑仑/CYP3A4、睾酮/CYP3A4)共同孵育, UPLC-MS/MS 检测各探针底物的代谢物生成量, 采用 GraphPad v5.0 软件计算半数抑制浓度 (IC₅₀)。**结果** 艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体中 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19 和 CYP2C9 的 IC₅₀ 值在 4.101% ~ 10.07% 范围内, 对人和大鼠肝微粒体中 CYP3A4 (咪达唑仑) 的 IC₅₀ 值分别为 169.6% 和 9.133%, 对 CYP3A4 (睾酮) 的 IC₅₀ 值分别为 8.472% 和 49.25%。**结论** 艾迪注射液对 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9 和 CYP3A4 有不同程度的抑制作用, 其中 CYP3A4 具有明显的种属差异性。

关键词: 艾迪注射液; 细胞色素 P450 酶; 抑制作用; 药物相互作用; 种属差异性

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)11-2332-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.11.004

Inhibitory effects of Aidi Injection on cytochrome P450 enzymes of human and rat liver microsomes *in vitro*

PAN Jie^{1,2,3}, LU Yuan^{1,2,3}, SUN Jia^{1,2}, DONG Li^{1,2}, PENG Jing², LI Yong-jun^{2,4}, WANG Yong-lin^{1,2*}

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. National Engineering Research Center of Miao's Medicines, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 4. Ministry of Education Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the inhibitory effects of Aidi Injection (*Mylabris*, *Ginseng Radix et Rhizoma*, *Astragali Radix*, etc.) on cytochrome P450 (CYP450) enzymes of human and rat liver microsomes *in vitro*, and the species difference was compared. In addition, the possibility of drug interaction with Aidi Injection was evaluated. **METHODS** Aidi Injection was incubated with mixed probe substrates (phenacetin/CYP1A2, chlorzoxazone/CYP2E1, dextromethorphan/CYP2D6, omeprazole/CYP2C19, tolbutamide/CYP2C19, midazolam/CYP3A4, testosterone/CYP3A4) in the liver microsome incubation system, respectively. The quantitation of metabolites of substrates was achieved by UPLC-MS/MS, the IC₅₀ values were calculated by GraphPad v5.0 software. **RESULTS**

收稿日期: 2016-03-17

基金项目: 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合 ZY 字 [2013] 3020 号); 贵州省科技厅联合基金项目(黔科合 LH 字 [2015] 7361); 贵阳市科技计划项目(筑科合同 [20141001] 09 号); 大学生创新创业训练计划项目(201510660006); 贵州省研究生卓越人才计划项目(黔教研合 [2014-1871])

作者简介: 潘洁(1992—), 女, 硕士生, 从事中药药效物质基础与药代动力学研究。Tel: (0851) 86908899, E-mail: 1103644970@qq.com

* **通信作者:** 王永林(1954—), 男, 教授, 从事中药活性物质基础与药代动力学研究与药物新剂型、新技术研究。Tel: (0851) 86908899

The IC_{50} values of Aidi Injection on CYP1A2, CYP2E1, CYP2D6, CYP2C19 and CYP2C9 of human and rat liver microsomes were in the range of 4.101% - 10.07%, those on CYP3A4 (midazolam) of human and rat liver microsomes were 169.6% and 9.133%, and those on CYP3A4 (testosterone) were 8.472% and 49.25%, respectively. **CONCLUSION** Aidi Injection shows different degrees of inhibitory effects on CYP1A2, CYP2E1, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and CYP3A4. The obvious species difference exists in CYP3A4.

KEY WORDS: Aidi Injection; cytochrome P450 enzymes; inhibition; drug interaction; species difference

细胞色素 P450 (CYP450) 酶主要存在于肝脏中, 是肝微粒体混合功能氧化酶 (肝药酶) 中最重要的一族^[1], 主要参与药物的水解、氧化和还原反应, 其中 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2E1、CYP2D6 和 CYP3A4 是 CYP450 酶最主要的 6 种亚型, 含有量约占肝内 CYP450 酶总量的 80% 以上, 且临床 90% 以上的药物主要由这 6 种 CYP450 酶亚型代谢^[2-3]。引起代谢性药物相互作用的主要原因是 CYP450 酶的抑制或诱导, 约 70% 的代谢性药物相互作用主要由药物代谢酶被抑制所介导^[4]。因此, 研究药物对 CYP450 的抑制作用, 对临床合理用药, 避免潜在的药物相互作用具有重要的指导意义。

艾迪注射液是以斑蝥为君药, 佐以人参、黄芪、刺五加为臣药, 精炼提制而成的中药注射剂^[5], 具有清热解毒、消瘀散结之功效, 临床广泛用于治疗原发性肝癌、肺癌、直肠癌、恶性淋巴瘤以及妇科恶性肿瘤等^[6], 该制剂已上市销售多年, 并在临床广泛应用。近年来, 有关艾迪注射液的不良反应报道逐年增多^[7-10], 而该制剂与其他药物联用是否会产生代谢性相互作用, 从而导致不良反应增加, 尚未引起足够的重视。

本实验采用 Cocktail 探针药物法, 选择较为典型的 7 种探针药物 (非那西丁、氯唑沙宗、右美沙芬、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、咪达唑仑、睾酮) 分别作为 CYP450 酶亚型酶 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4 (咪达唑仑和睾酮) 所对应的特异性底物^[11-12], 测定艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体中 CP450 酶活性的影响, 比较种属差异性, 预测与其他药物联合应用是否存在潜在的代谢性药物相互作用, 为艾迪注射液临床合理用药提供科学依据。

1 实验仪器与材料

1.1 仪器 ACQUITY 超高液相色谱-三重四级杆质谱联用仪 (美国沃特世公司); Allegra 64R 低温高速离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); 700 系列超低温冰箱 (美国 Thermo 公司); CS501A 超级

恒温水浴箱 (中国重庆银河试验仪器有限公司)。

1.2 试药 艾迪注射液 (规格 10 mL, 批号 20150627) 由贵州益佰制药股份有限公司提供; 非那西丁、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、睾酮、右美沙芬 (批号分别为 81105、90925、20321、10519、090M1298V) 购于美国 Sigma 公司; 咪达唑仑注射液 (批号 20150120, 江苏恩华药业股份有限公司); 氯唑沙宗、对乙酰氨基酚 (批号分别为 100364-200301、100018-200408) 购于中国食品药品检定研究院; 右啡烷 (批号 FK-J1795) 购于上海樊克生物科技有限公司; 羟基甲苯磺丁脲、5-羟基奥美拉唑、6-羟基氯唑沙宗和 6 β -羟基睾酮 (批号分别为 1-PSB-27-2、1-PSB-27-2、6-QFY-28-2、KIT0635) 购于加拿大 TRC 公司; α -羟基咪达唑仑 (批号 FN101512-07) 购于美国 Cerilliant 公司; 混合人肝微粒体购于美国 BD 公司; NADP⁺ 购于 Roche 公司, 6-磷酸葡萄糖、6-磷酸葡萄糖脱氢酶购于美国 Sigma 公司。乙腈购于德国默克试剂公司; 其他无机盐均为分析纯; 甲醇为色谱纯。

1.3 实验动物 SD 大鼠, 体质量 (220 \pm 10) g, 雄性, 由湖南长沙天勤生物技术有限公司提供, SPF 级, 实验动物质量合格证许可证号 SCXK (湘) 2014-0011。

2 方法及结果

2.1 大鼠肝微粒体的制备 采用钙盐沉淀法^[13] 提取 6 只雄性大鼠肝微粒体, 混合均匀, 考马斯亮蓝试剂盒测定蛋白浓度后, 分装, 于液氮中保存。

2.2 混合探针底物的配制 分别精密称取非那西丁、氯唑沙宗、右美沙芬、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、咪达唑仑和睾酮各 10 mg, 甲醇定容至 10 mL, 作为贮备液。临用前, 精密吸取各底物贮备液于 5 mL 量瓶中, 氮气吹干, 加入 20 μ L DMSO 和 80 μ L 甲醇溶解混合底物, 最后用 PBS 缓冲溶液 (pH 7.4, 0.1 mol/L) 定容至 5 mL, 37 $^{\circ}$ C 预热待用。此时, 非那西丁、氯唑沙宗、右美沙芬、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、咪达唑仑和睾酮的浓度分别为 1 000、1 500、1 000、250、1 000、500、500 μ mol/L。

2.3 肝微粒体体外孵育体系^[14] 孵育体系终体积为200 μL, 包括40 μL肝微粒体蛋白(终质量浓度为0.5 mg/mL), 30 μL NADPH再生系统(NADP⁺、6-磷酸葡萄糖、MgCl₂和6-磷酸葡萄糖脱氢酶终浓度分别为3.3、8.25、8.25 mmol/L和1 U/mL), 30 μL艾迪注射液/特异性抑制剂(用PBS缓冲溶液稀释至不同体积分数), 80 μL PBS缓冲溶液。37℃预孵育3 min, 加入20 μL混合探针底物开始反应(非那西丁、氯唑沙宗、右美沙芬、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、咪达唑仑和睾酮的终浓度分别为100、150、100、25、100、50、50 μmol/L)^[15], 有机溶剂体积分数小于1%。反应完毕后, 加入100 μL冰甲醇终止反应, 再加入100 μL冰内标溶液(葛根素2 μg/mL), 涡旋混合, 超声3 min, 15 000 r/min离心10 min, 用于UPLC-MS/MS定量分析。

2.4 UPLC-MS/MS分析条件^[16]

2.4.1 液相条件 Waters BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm)色谱柱; 体积流量0.35 mL/min; 柱温45℃; 流动相为0.1%甲酸乙腈(A)-0.1%甲酸(B), 检测7种专一性代谢产物的梯度洗脱条件为0~3.0 min, 5%~65% A; 3.0~3.5 min, 65%~90% A; 3.5~4.5 min, 10% A; 进样体积2 μL。

2.4.2 质谱条件 电喷雾电离源(ESI); 毛细管电压3 kV; 离子源温度120℃; 去溶剂气温度350℃; 去溶剂气N₂, 体积流量为650 L/h; 反吹气N₂, 体积流量为50 L/h; 碰撞气Ar, 体积流量为0.16 mL/min; 质谱数据采集及处理软件为MassLynx V4.1工作站, 扫描方式为多反应离子监测模式(MRM), 离子对条件见表1。

表1 质谱仪条件

Tab. 1 Mass spectrometer conditions

检测物	电离源模式	母离子	子离子	锥孔电 压/V	碰撞电 压/eV
		m/z	m/z		
对乙酰氨基酚	+	152.0	110.0	30	15
6-羟基氯唑沙宗	-	183.8	120.0	30	20
羟基甲苯磺丁脲	-	285.0	186.0	35	18
6β-羟基睾酮	+	305.3	269.3	35	15
α-羟基咪达唑仑	+	342.0	324.0	35	20
5-羟基奥美拉唑	+	362.2	214.0	20	15
右啡烷	+	258.4	199.0	25	25
葛根素(内标)	+	417.0	267.0	40	30

2.5 孵育条件的优化 同“2.3”项下方法操作, 考察不同人/大鼠肝微粒体蛋白质量浓度(0、0.125、0.25、0.5、1 mg/mL)和不同孵育时间

(0、5、10、20、40、60 min)与代谢物生成量的线性关系, 以确定适合本实验的最佳蛋白质量浓度和孵育时间。综合考虑, 确定各探针底物的孵育条件如表2所示。

表2 孵育条件

Tab. 2 Incubation conditions

探针	微粒体蛋白/(mg·mL ⁻¹)	孵育时间/min
非那西丁	0.5	60
氯唑沙宗	0.5	60
甲苯磺丁脲	0.5	60
奥美拉唑	0.5	60
右美沙芬	0.5	60
咪达唑仑	0.5	10
睾酮	0.5	10

2.6 特异性抑制剂对人和大鼠肝微粒体中CYP450酶6个亚型的抑制作用 选取6个亚型(CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4)所对应的特异性抑制剂(α-萘黄酮、氯美噻唑、奎尼丁、噻氯匹定、磺胺苯吡啶和酮康唑), 按“2.3”项下方法操作, 将抑制剂与探针底物共同孵育, 测定代谢物生成量, 采用GraphPad v5.0软件拟合曲线并计算IC₅₀值。结果显示, 在人肝微粒体中的IC₅₀分别为1.247、10.9、0.514 6、1.362、0.783、0.697 μmol/L, 大鼠肝微粒体中的IC₅₀值同文献[15], 分别为0.421、11.430、1.234、0.604、2.524、0.942 μmol/L, 即特异性抑制剂对人和大鼠肝微粒体中CYP450酶6个亚型均表现出明显的抑制作用, 说明该孵育体系适用于后续实验。

2.7 艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体中CYP450酶6个亚型的抑制作用 用PBS溶液将艾迪注射液稀释至5个体积分数, 使其加入孵育体系后的最终值分别为0.5%、2.5%、5%、7.5%、10%。同“2.3”项下方法操作, 分别与混合探针底物共同孵育, 每个浓度平行操作5次, 测定代谢物生成量。以空白溶剂组代谢物生成量为V₀, 其余不同体积分数艾迪注射液作用下各探针代谢物生成量为V_x, 剩余酶活性 $I = V_x/V_0 \times 100\%$, 然后以剩余酶活性为纵坐标, 艾迪注射液体积分数的对数值为横坐标, 通过GraphPad v5.0软件拟合曲线, 并计算IC₅₀值。结果如图1和表3所示, 可见艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体中CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19和CYP2C9的IC₅₀值均在4.101%~10.07%范围内, 对人和大鼠CYP3A4(咪达唑仑)的IC₅₀值分别为169.6%和9.133%,

对 CYP3A4 (睾酮) 的 IC_{50} 值分别为 8.472% 和 49.25% , 表明可见艾迪注射液对 CYP450 存在一

定的弱抑制作用 , 而且 CYP3A4 在人和大鼠体内存在较大的种属差异。

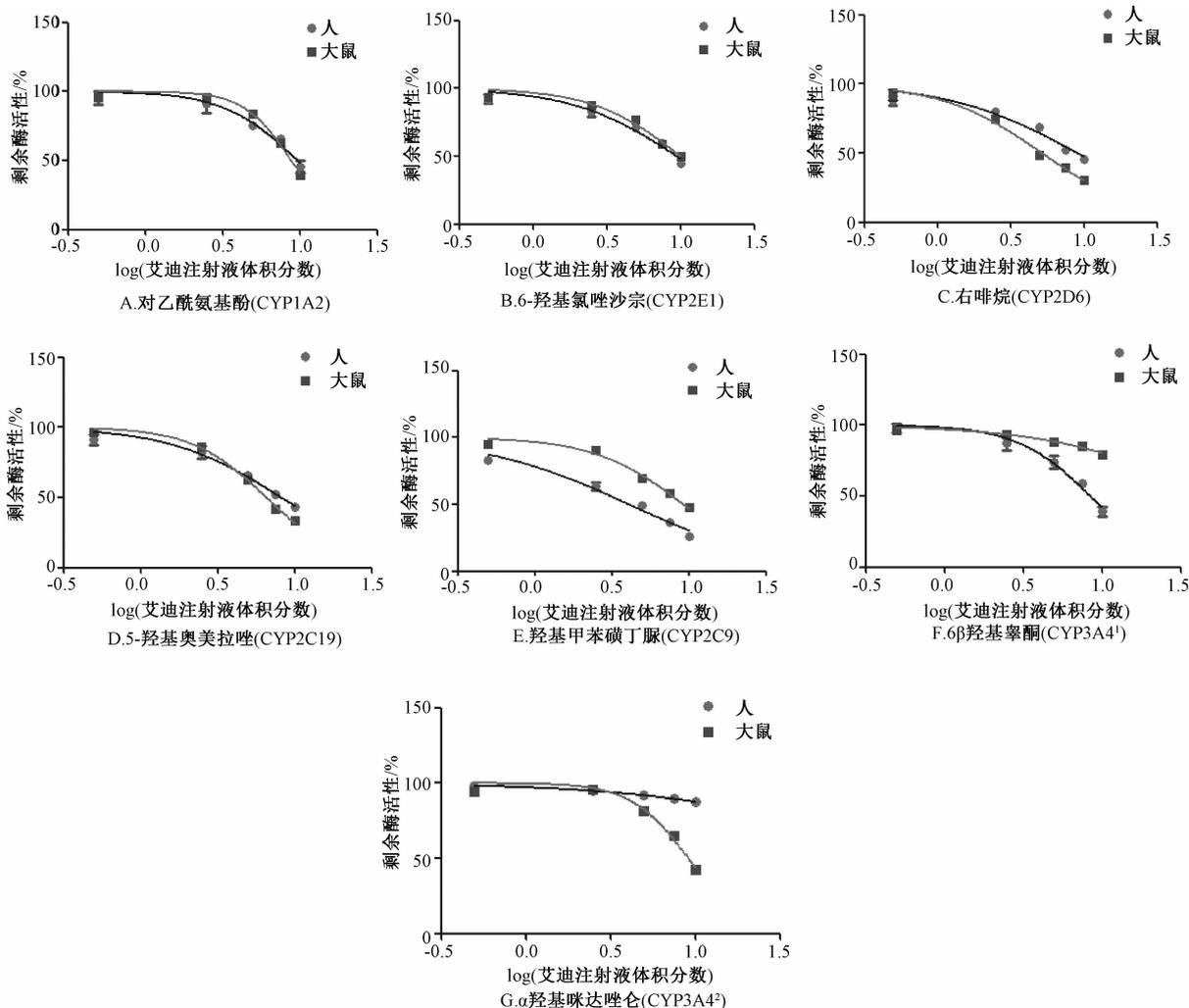


图 1 艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体 CYP450 酶 7 个亚型的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Inhibitory effects of Aidi Injection on seven CYP450 isoforms in human and rat liver microsomes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 3 艾迪注射液对人和大鼠肝微粒体 CYP450 酶 7 个亚型的 IC_{50} 值

Tab. 3 IC_{50} values of Aidi Injection on seven CYP450 isoforms in human and rat liver microsomes

亚型酶	探针	$IC_{50}/\%$	
		大鼠肝微粒体	人肝微粒体
CYP1A2	非那西丁	8.804	9.686
CYP2C9	甲苯磺丁脲	9.273	4.101
CYP2C19	奥美拉唑	6.581	8.231
CYP2D6	右美沙芬	5.193	9.069
CYP2E1	氯唑沙宗	10.070	9.527
CYP3A4	咪达唑仑	9.133	169.600
CYP3A4	睾酮	49.250	8.472

3 讨论

3.1 肝微粒体孵育条件的确定 根据刘治军等^[15]

对 2006 年版《美国食品和药品监督管理局技术研究指南 (草案)》的解读 , 体外 CYP450 抑制试验需考虑的因素较多 , 主要有 : (1) 探针底物应低于米氏常数 (K_m) 值。因此 , 参考美国食品和药品监督管理局 (FDA) 指南 , 所选择的 7 种探针药物 (非那西丁、氯唑沙宗、右美沙芬、奥美拉唑、甲苯磺丁脲、咪达唑仑和睾酮) 浓度均低于理论 K_m 值。(2) 微粒体蛋白质量浓度一般小于 1 mg/mL , 酶浓度与产物的生成量也应成线性关系。考察人/大鼠肝微粒体最佳蛋白质量浓度时 , 在 0 ~ 0.5 mg/mL 范围内 , 6 β -羟基睾酮和 5-羟基奥美拉唑的生成量呈线性关系 ; 在 0 ~ 1.0 mg/mL 范围内 , 其余 5 种代谢物生成量线性关系良好。综合考虑 , 选择 0.5 mg/mL 作为最佳蛋白孵育质量浓

度。(3) 缓冲液的类型、离子强度及 pH 值都能影响 K_m 值的测定, 建议实验条件标准化。(4) 底物和抑制剂的损耗量最好控制在 10% ~ 30% 的范围内。(5) 时间和产物的生成量应呈线性关系。考察最佳孵育时间时, 6 β -羟基睾酮在 0 ~ 10 min 内, α -羟基咪达唑仑在 0 ~ 20 min 内, 其余 5 种探针药物在 0 ~ 60 min 内时间和产物的生成量成线性关系。综合考虑, 考察 CYP3A4 剩余酶活性时孵育 10 min, 其余 5 种亚型孵育 60 min。(6) 任何有机溶剂的体积分数应小于 1%, 因为其对酶的活性产生影响。

3.2 酶抑制作用的评判 用探针代谢物生成量来表示剩余酶活性的方法虽然研究成本高, 但是较探针底物原型减少量的方法更具科学性, 更能直接表示酶剩余活性, 其应用越来越广泛^[17-19]。评判药物对肝微粒体酶的抑制作用时, 应对于化学药物有统一的评判标准^[20], 但成分复杂的中药注射剂尚未有统一的评判标准。目前, 刘丽雅^[21-23]和曾超^[24]等用中药注射剂在血液中的体积分数换算成临床剂量, 考察临床剂量下注射液对 CYP450 的抑制作用。艾迪注射液的单次使用剂量为 50 ~ 100 mL, 一般正常成人血液总量有 4 ~ 5 L, 相当于 1% ~ 2.5% 艾迪注射液为临床使用剂量。本实验考察不同体积分数 (0.5%、2.5%、5%、7.5%、10%) 艾迪注射液对 CYP450 的抑制作用 (涵盖临床使用剂量), 结果显示其对人和大鼠肝微粒体中 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19 和 CYP2C9 的 IC_{50} 值在 4.101% ~ 10.07% 范围内, 艾迪注射液对人和大鼠 CYP3A4 (咪达唑仑) 的 IC_{50} 值分别为 169.6% 和 9.133%, 对 CYP3A4 (睾酮) 的 IC_{50} 值分别为 8.472% 和 49.25%。因此, 临床剂量下艾迪注射液对 CYP450 存在一定的弱抑制作用。

3.3 种属差异 由于研究条件的限制, 通常研究药物对 CYP450 酶活性影响的体内外实验大多采用动物模型, 但存在基因表达的差异, CYP450 酶亚型酶有明显的种属差异, 同一种药物在不同种属体内的代谢途径和代谢产物可能不同。考虑到亚型酶的同源性, 人的 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4/5 与大鼠的 CYP1A2、CYP2C6/11、CYP2C11/12、CYP2D2/4、CYP2E1、CYP3A1/2 可建立间接的对应关系^[25]。其中, CYP2D6、CYP2C9/19 和 CYP3A4 具有遗传多态性, 个体差异及种属差异较大, 并以 CYP3A^[26] 差异最大。同时, 由于 CYP3A4 有底物依赖性, 即体

外抑制剂—CYP3A4 探针底物相互作用并不能真正代表它与其他 CYP3A4 底物相互作用的情况^[25], 故在进行 CYP3A4 体外抑制试验时, 必须使用至少 2 种探针底物。以上 2 点原因可能导致本实验人和大鼠 CYP3A4 的底物咪达唑仑和睾酮的 IC_{50} 值不一致的情况。因此, 不能完全用动物肝微粒体的研究结果直接推至人体, 建议如果实验条件允许, 应尽可能使用人肝微粒体考察体外抑制试验。

参考文献:

- [1] 魏春燕, 吴逢波, 徐 珽. CYP450 与药物相互作用[J]. 中国药业, 2014, 23(6): 18-20.
- [2] 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): 165-167.
- [3] 卢 崑. 与细胞色素 P450 亚型酶代谢相关的药物[J]. 北方药学, 2015, 12(1): 113.
- [4] 刘晓强, 袁淋文, 臧 敏, 等. 评价 HPPH 对细胞色素 P450 酶体外代谢活性的影响[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(1): 29-33.
- [5] 徐晓卫, 潘柔和, 胡思一, 等. 高效液相色谱法同时测定艾迪注射液中 3 种活性成分的含量[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(3): 1673-7717.
- [6] 徐 洁, 居文政, 谈恒山. 艾迪注射液药理作用及临床应用研究概况[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(1): 48-52.
- [7] 王 敏, 张 力, 孙震晓. 艾迪注射液的不良反应及合理使用[J]. 中国药物警戒, 2008, 5(3): 171-174.
- [8] 纪彩香. 艾迪注射液致肿瘤患者不良反应临床分析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(18): 46-48.
- [9] 赵晓娟. 艾迪注射液不良反应的文献分析[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(3): 1315-317.
- [10] 刘云鹤. 艾迪注射液联合吉西他滨/顺铂治疗晚期非小细胞肺癌 80 例[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(20): 89-90.
- [11] 侯丛颂, 杨志宏, 孙晓波. “cocktail” 探针药物法及其在研究中药对细胞色素 p450 影响中的应用进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(03): 445-450.
- [12] Zhao Q, Li Y, Hu J P, et al. LC-MS-MS method to simultaneously determine six probe drugs for CYP450 isozymes in human liver microsomes [J]. *Chromatographia*, 2014, 77(13): 913-922.
- [13] Katia Roberta A, Belaz, Regina V. Oliverira. HPLC-fluorescence determination of EROD activity in wistar rat liver microsomes obtained by two different extraction procedures[J]. *Curr Pharm Anal*, 2013, 9: 43-53.
- [14] 陆 苑, 潘 洁, 谢玉敏, 等. 头花蓼水提取物对 CYP450 酶诱导和抑制作用研究[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(8): 1147-1152.
- [15] 刘治军, 傅得兴, 汤 光. FDA 药物相互作用研究指南(草案) 2006 版解读[J]. 国际药学研究杂志, 2008, 35(1): 50-58.
- [16] 陆 苑, 谢玉敏, 潘 洁, 等. 超高效液相色谱法检测 6 种

- 探针底物代谢产物并评价人细胞色素 P450 同工酶活性 [J]. 贵阳医学院学报, 2015, 40(6): 560-565.
- [17] 叶 娜, 罗红丽, 李 容, 等. 丹参注射液对大鼠肝微粒体 CYP450 亚型酶体外抑制作用[J]. 中成药, 2015, 37(5): 948-953.
- [18] 叶 娜, 万 丽, 杨秋楠, 等. 丹参注射液对人肝微粒体酶 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 体外抑制作用的研究[J]. 药物评价研究, 2014, 37(6): 502-506.
- [19] Duan J, Xiao J, Chen Y, *et al.* Inhibition of magnolol and honokiol on cytochrome P450 enzymes in rat and human liver microsomes[J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(2): 167-172.
- [20] 徐 文, 孙术红, 刘 涛, 等. 金银花提取物及主要活性成分对药物代谢酶 CYP3A4 的活性抑制作用的研究[J]. 中国执业药师, 2012, 9(2): 3-5, 15.
- [21] 韩永龙, 余 奇, 孟祥乐, 等. 灯盏细辛注射液对大鼠肝微粒体 CYP3A 的抑制作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(8): 891-895.
- [22] 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.
- [23] 刘丽雅, 韩永龙, 余 奇, 等. 消癌平注射液等 4 种抗肿瘤中药注射剂对人肝微粒体中 CYP450 酶种亚型的体外抑制作用研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(5): 522-527.
- [24] 曾 超, 刘 艳, 刘高峰, 等. 刺五加注射液对大鼠肝微粒体四种 CYP450 亚型酶活性的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2012, 17(2): 164-170.
- [25] 孙冰婷, 居文政, 谈恒山. Cocktail 法研究 CYP450 酶活性影响因素的探讨[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(6): 558-562.
- [26] 刘恩溢, 李玉珍, 方 翼. CYP3A5 基因多态性与肿瘤耐药和治疗的的相关性研究现状[J]. 中国药房, 2011, 22(42): 4002-4005.

扶正消瘤方对 H₂₂ 荷瘤小鼠抑癌及其化疗减毒作用

苏 洁¹, 张益勋¹, 吕圭源^{1*}, 南中兴², 陈素红³

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江东日药业有限公司, 浙江 温州 325113; 3. 浙江工业大学, 浙江 杭州 310014)

摘要: **目的** 考察扶正消瘤方(人参、黄芪、猪苓等)抗肝癌作用及其减轻环磷酰胺引起的毒性。**方法** ICR 小鼠采用右前肢皮下接种造 H₂₂ 荷瘤模型, 灌胃给予扶正消瘤方后, 检测生命延长率、瘤重、抑瘤率、T 淋巴细胞增殖率、血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)水平。H₂₂ 荷瘤小鼠腹腔注射环磷酰胺(50 mg/kg), 测定扶正消瘤方给药后血液学指标、血清溶血素水平及抗体形成细胞数。**结果** 扶正消瘤方可明显抑制肿瘤生长, 升高血清 SOD 活性, 减少 MDA 水平, 促进 T 淋巴细胞增殖。而且, 它还能拮抗环磷酰胺引起的白细胞及血小板数量下降, 并升高抗体形成细胞数。**结论** 扶正消瘤方具有良好的抗肝癌作用, 并能减轻化疗所致的毒性, 可能与增强机体抗氧化和免疫能力有关。

关键词: 扶正消瘤方; 肝癌; 环磷酰胺; 免疫; H₂₂ 荷瘤小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)11-2337-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2016.11.005

Antitumor effect of Fuzheng Xiaoliu Decoction on H₂₂ tumor-bearing mice and its attenuation of chemotherapy-induced toxicity

SU Jie¹, ZHANG Yi-xun¹, LÜ Gui-yuan^{1*}, NAN Zhong-xing², CHEN Su-hong³

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. Zhejiang East-sun Pharmaceutical Co., Ltd., Wenzhou 325113, China; 3. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

收稿日期: 2016-01-11

基金项目: 浙江省重大科技专项(优先主题)社会发展项目(2008C13038-2); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目(浙卫发[2010]190号)

作者简介: 苏 洁(1985—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药药理学研究。Tel: (0571) 86613602, E-mail: sujie198169@126.com

* **通信作者:** 吕圭源(1954—), 男, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: (0571) 86613601, E-mail: lv.gy@263.net