

实验研究

制何首乌对大鼠肝 CYP1A2 酶活性及 mRNA 表达的抑制作用

吴 双 杨红莉 李 浩 孙震晓

(北京中医药大学中药学院,北京,100102)

摘要 目的:考察制何首乌水提取物对大鼠肝细胞色素 P450 酶亚型 CYP1A2 的酶活性及 mRNA 表达的影响。方法:水回流提取得制何首乌水提取物,HPLC 确定主要成分并测定其含量。大鼠随机分为空白对照组、制何首乌水提取物组(2 g/kg 和 20 g/kg),给药组每天按 10 mL/kg 量灌胃给予制何首乌水提取物,连续 7 d。取肝分离肝微粒体,HPLC 测定肝微粒体对 CYP1A2 酶的底物非那西丁的代谢消除率,考察肝微粒体 CYP1A2 酶活性;实时荧光定量 PCR 技术检测肝组织中 CYP1A2 基因 mRNA 的表达。结果:与空白对照组相比,制何首乌水提取物 20 g/kg 组大鼠肝 CYP1A2 酶活性和 mRNA 的表达均明显降低(CYP1A2 酶活性, $P < 0.01$;CYP1A2 的 mRNA 表达, $P < 0.05$)。结论:制何首乌水提取物 20 g/kg 对大鼠肝 CYP1A2 酶活性和 mRNA 的表达有明显抑制作用。

关键词 制何首乌水提取物;CYP1A2;大鼠肝微粒体;酶活性;mRNA 表达

Prohibitive Effect of Processed Polygonum Multiflorum on CYP1A2 Activities and mRNA Expressions of Rats

Wu Shuang, Yang Hongli, Li Hao, Sun Zhenxiao

(College of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract Objective: To observe the effects of water extraction of processed Polygonum multiflorum on enzymatic activities and mRNA expressions of CYP1A2 in rats. **Methods:** The water extraction of processed Polygonum multiflorum was obtained through extraction with water and vacuum drying and the main components were detected by HPLC. Rats were randomly divided into the blank control group and 2 g/kg BW and 20 g/kg BW the water extraction of processed Polygonum multiflorum group. The administration group was continuously given with water extraction of processed Polygonum multiflorum 10 mL/kg a day, and the blank control group was given the same volume distilled water. After successive administration of 7 d, the liver microsomes were prepared from isolated rat liver, and metabolism elimination rates of phenacetin of CYP1A2 enzyme substrate were assayed by HPLC to determine CYP1A2 enzyme activities in rat liver microsomes of each group. Meanwhile, total RNA of rat liver were extracted to determine the mRNA expressions of CYP1A2 in rat liver by qRT-PCR. **Results:** Compared with those in blank control group, the enzymatic activities and the mRNA expressions of CYP1A2 in 20 g/kg water extraction of processed Polygonum multiflorum treated group were significantly decreased (enzymatic activities of CYP1A2, $P < 0.01$; mRNA expressions of CYP1A2, $P < 0.05$). **Conclusion:** 20 g/kg water extraction of processed Polygonum multiflorum has significant inhibitory effect on the enzymatic activities and the mRNA expressions of CYP1A2 in rat's liver microsomes.

Key Words Water extraction of processed Polygonum multiflorum; CYP1A2; Rat liver microsome; Enzymatic activities; mRNA expressions

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.03.028

细胞色素 P450 酶(Cytochrome P450, CYP450)是生物界普遍存在的血红素单加氧酶超家族,参与许多结构各异的外源化合物(药物、毒物等)以及内源性物质(甾体、脂肪酸等)的氧化代谢^[1]。CYP450

通常表现底物特异性和抑制剂敏感性,其活性容易在药物的作用下受到抑制或激活^[2]。已有研究表明,CYP450 抑制是有害的药物间相互作用(Drug-drug Interactions, DDIs)产生的主要原因,占代谢性

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81473418)

作者简介:吴双(1992.08—),女,北京中医药大学中药学院硕士研究生;杨红莉(1987.04—),女,北京中医药大学中药学院硕士研究生,为共同第一作者

通信作者:孙震晓(1967.01—),女,博士,教授,研究方向:主要从事中药分子药理及毒理学研究,Tel:(010)84738646,E-mail:sunzxcn@hotmail.com

DDIs 的 70%^[3]。

在人 P450s 超家族中 CYP1 ~ 3 是参与药物代谢的主要家族,参与 70% ~ 80% 的临床药物的生物转化,P450s 的表达有种属特异性^[4]。CYP1A2 主要在肝中表达,约占肝 CYP450 总量的 13%,参与约 8% 的药物 I 相代谢反应,在许多临床药物的代谢中起着重要作用^[5]。由于人和大鼠的 CYP1A2 具有较高的同源性:基因同源性高达 80%^[6],同源氨基酸达 70%^[7],故动物的实验结果可以外推到人,药物对其活性及表达的研究有助于了解药物的相互作用或对药物可能的毒性等做出预测。

中药何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,制何首乌则为其炮制加工后的产品,功在补肝肾,益精血,乌须发,强筋骨,化浊降脂^[8]。临床上制何首乌常与其他药物配伍使用。本研究以制何首乌水提物为研究对象,考察其对大鼠肝 CYP1A2 的酶活性和 mRNA 表达的影响,有助于预测制何首乌与临床其他药物之间可能存在的 DDIs,从而指导其临床合理用药,避免不良反应的产生,降低潜在的风险。

1 材料与方法

1.1 药物 非那西丁(CYP1A2 底物)、NADP⁺、D-葡萄糖-6-磷酸二钠、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶均购自北京拜耳迪生物技术有限公司;2,3,5,4'-二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(批号:140317)、大黄素(批号:140422)、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷(批号 140822)、大黄素甲醚(批号:140211)标准品均购自四川维克奇生物技术有限公司;内标五味子醇甲(批号:110857201010)购自中国食品药品检定研究院;

1.2 试剂及仪器 考马斯亮蓝 G-250 购自 Sigma 公司;无核酶水购自 QIAGEN 公司;总 RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司;SYBR® Select Master Mix 购自 ABI 公司;PrimeScript™第一链反转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司;乙腈和甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。实验所用制何首乌(批号:701001039)购自北京同仁堂饮片有限责任公司,由北京中医药大学中药学院张贵君教授鉴定为正品。Waters 高效液相色谱仪(1525 型二元高压梯度泵系统,2487 型二级管阵列检测器,1500 型柱温控制系统),Waters SymmetryShield™ C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm,5.0 μm);Agilent1100 高效液相色谱仪,迪马(钻石)C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm,5.0 μm);F8 型超细匀浆机(德国 FLUKO 公司);CU-420 电热恒温水浴箱(上海一恒科学仪器公司);荧光定量 PCR 仪

(美国 ABI 公司);超低温冰箱(美国 REVCO 公司);低温高速台式离心机(美国 Kendro 公司)。

2 方法

2.1 制何首乌水提物制备及其主要成分含测 准确称取 400 g 制何首乌,稍粉碎后回流提取。第 1 次加 10 倍量蒸馏水,回流提取 2 h,纱布过滤留滤液;第 2 次加 8 倍量蒸馏水,回流提取 1.5 h,过滤留滤液。合并两次所得水提液,旋转蒸发至少量,转移后水浴蒸干,减压干燥得制何首乌水提物(Water Extract of Processed *Polygonum multiflorum*,PWE)粉末。分别取制何首乌水提物与 2,3,5,4'-二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(THSG)、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷(PMEG)、大黄素、大黄素甲醚标准品适量,精密称定,甲醇溶解,0.45 μm 微孔滤器过滤制成储备液。参考文献^[9-10],HPLC 方法学考察后测定制何首乌水提物图谱(图 1),与标准品比对知 1、2、3、4 分别为 THSG、PMEG、大黄素与 大黄素甲醚。根据测得制何首乌水提物高效液相图谱峰高选择 THSG、PEMG、大黄素进行含量测定,建立标准曲线(峰面积 Y,质量 x)用外标一点法测其主要成分的含量。结果如表 1 所示,在相应范围内,峰面积 Y 与质量 x 线性良好。

表 1 各主要成分标准曲线及含量测定

标准品	回归方程	r	含量(g/kg)
THSG(0.1 ~ 2 μg)	Y = 787584x + 364747	0.999 2	3.08 ± 0.189
PMEG(0.024 ~ 0.8 μg)	Y = 593285x - 171592	0.999 6	0.34 ± 0.002
大黄素(0.032 ~ 0.8 μg)	Y = 1868012x - 20949	0.999 1	0.45 ± 0.001

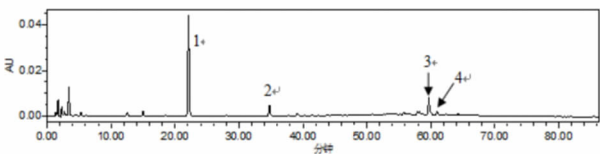


图 1 制何首乌水提物 HPLC 色谱图

2.2 动物及分组 雄性 SD 大鼠,体质量(200 ± 10)g(动物合格证号:SCXK 2011-0012),购自维通利华。随机分为 3 组,每组 5 只。空白对照组、PWE 2 和 20 g/kg(相当人临床用药量的 10 和 100 倍)。灌胃给予,空白组给予生理盐水。给药 1 次/d,连续给药 7 d。

2.3 HPLC 检测大鼠肝微粒体 CYP1A2 酶活性
2.3.1 大鼠肝微粒体的制备 参考文献^[11],制何首乌灌胃实验结束后大鼠禁食 12 h,麻醉处死,将肝脏用冰生理盐水冲洗干净后取出剪碎,加入 3 倍量匀浆液匀浆(冰上操作)。将匀浆 6 500 r/min 离心 15 min(4 ℃),取上清液再次离心。所得上清在 4

℃,以 1 200 r/min 离心 60 min,弃上清液得到粉红色沉淀,重悬缓冲液重悬即制得大鼠肝微粒体(可分装后于-80 ℃冻存)。取少量 Bradford 法测定蛋白含量。

2.3.2 HPLC 方法学验证 参考文献^[12],HPLC 条件为:流动相:A:磷酸氢二铵缓冲盐(pH 3.6),B:乙腈;梯度洗脱:B 液含量 32% 保持 4 min,由 32% 线性增长至 55%(4~25 min),再由 55% 降至 32%(25~35 min);检测波长:230 nm;流速:1 mL/min;柱温:40 ℃。精密量取不同浓度非那西丁溶液于 EP 管中,氮吹,加 (NH₄)₂HPO₄ 复溶,离心取上清进行 HPLC 分析。各浓度设立 3 组平行,建立工作曲线,并计算非那西丁和内标物的峰面积比(Y)对非那西丁的浓度(X)的回归方程。选择低、中、高 3 个浓度的非那西丁,与空白对照组大鼠肝微粒体制成质量控制样品。每个浓度取 3 份样品,按前述方法连续测定 5 d,考察其精密度和准确度。根据峰面积比与底物浓度,求得方程为 $Y = 0.122\ 3X - 0.007\ 9$ ($r = 0.999\ 9$),表明非那西丁在 0.687 5~22.00 μg/mL 浓度范围内线性良好。测得 3 种浓度下回收率为 96.57%~100.6%,RSD 为 0.79%~3.14%,精密度为 1.53%~5.68%,大鼠肝微粒体内源性杂质对样品的测定没有影响,稳定性和日内精密度符合实验要求(RSD≤10%),HPLC 方法可行,高效。

2.3.3 CYP1A2 酶活性的测定^[13] 孵育体系(反应总体积 200 μL):非那西丁(25 μmol/L),大鼠肝微粒体蛋白(2 g/L),磷酸缓冲溶液(0.1 mol/L,PH 7.4)。37 ℃水浴中振荡 3 min,加入 NADPH 发生体系:NADP⁺(2 mmol/L),D-葡萄糖葡萄糖-6-磷酸二钠(40 mmol/L)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(4 UI/L)、MgCl₂(40 mmol/L),37 ℃反应 30 min。取出,立即加入冰乙腈终止反应,加入 10 μL 内标五味子醇甲(0.06 g/L),1 200 r/min 离心 20 min(4 ℃)。吸取上清液,氮吹,加 200 μL (NH₄)₂HPO₄ 复溶,9 400 r/min 离心 15 min,取上清液进行 HPLC 分析(进样量 30 μL)。按下列公式计算底物代谢清除百分率:

探针底物代谢清除百分率 = $\frac{\text{加入探针底物的量} - \text{测得探针底物的量}}{\text{加入探针底物的量}} \times 100\%$

2.4 实时荧光定量 PCR 考察大鼠肝 CYP1A2 mRNA 表达

2.4.1 肝组织总 RNA 的提取 用 Trizol 试剂盒提取各组大鼠肝组织总 RNA,操作严格按照说明书进行。

2.4.2 RNA 的质量检测 分别吸取 5 μL 各组大鼠肝总 RNA 样品与 1 μL 6 × 上样缓冲液(Loading

Buffer)充分混匀,在制备的 1% 琼脂糖凝胶上点样,使 RNA 由负极向正极电泳(180 V,10 min)。结束后,在紫外透射检测仪上观察电泳结果并拍照。取 4 μL RNA 与 196 μL 无核酶水混匀,加入微量比色杯中,紫外分光光度计测 RNA 吸收值。如图 2,提取的总 RNA 中 28 s 亮度为 18 s 两倍,说明完整性好; A_{260}/A_{280} 值在 1.8~2.0 之间, A_{260}/A_{230} 值大于 2.0,说明所得总 RNA 纯度较高,酶抑制物残留少,符合后续实验要求。

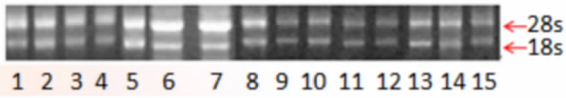


图 2 各组大鼠肝脏总 RNA 琼脂糖凝胶电泳
注:1~5:空白对照组;6~10:制何首乌 2 g/kg 组;11-15:制何首乌 20 g/kg 组

2.4.3 引物特异性验证 Rat-CYP1A2 与 β-肌动蛋白(内参)引物由上海生物工程技术服务有限公司设计合成,引物序列见表 2。内参 β-肌动蛋白与目的基因的溶解曲线由 MiniOptin™ Real-Time PCR System 软件自带的溶解曲线程序测得,其中横坐标表示温度,纵坐标则表示对应的荧光强度,波峰的个数代表扩增产物的特异性。图 3 为 CYP1A2 基因的 cDNA 的实时荧光定量 PCR 测定的溶解曲线,可知在 80~90 ℃呈现单一特异性峰,说明引物特异性好,即实时荧光定量 PCR 中所测荧光均为扩增目的基因 cDNA 得到的 DNA 双链发出。

表 2 PCR 引物序列

基因	引物序列	PCR 产物 /bp
Rat-CYP 1A2	上游引物:5'-GTGGAATCGGTGGCTAATG-3'	100
	下游引物:5'-CACAAAGTCCTTGCTGCTC-3'	
β-actin	上游引物:5'-TGAGCGCAAGTACTCTGTGTGGAT-3'	129
	下游引物:5'-TAGAAGCATTTGCGGTGCACGATG-3'	

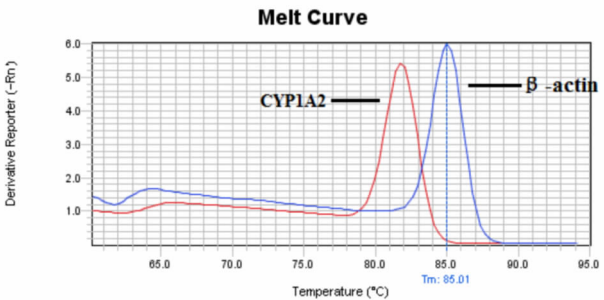


图 3 大鼠 CYP1A2(目的基因)和 β-actin(内参基因)实时荧光定量 PCR 的溶解曲线

2.4.4 CYP1A2 mRNA 表达量测定 以 1.5.1 记述方法提取的大鼠肝组织总 RNA 为模板,逆转录合成第 1 条互补脱氧核糖核酸链(cDNA)。然后通过特

异性引物 PCR 扩增 CYP1A2 基因和内参管家基因 β -actin,PCR 反应体系包含:2 μ L cDNA,10 μ L Power SYBR[®] Green PCR Master Mix 和上、下游引物各 0.54 μ L。无核酶水补足至总体积 20 μ L。反应程序均设定为:预变性 95 $^{\circ}$ C,10 min;变性 95 $^{\circ}$ C,15 s;退火延伸 60 $^{\circ}$ C,1 min。循环 40 次。用 PCR 仪自带软件进行荧光定量分析,得出 Ct 值,结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 的表达量。

2.5 数据处理及统计学分析 资料统计结果用($\bar{x} \pm s$)表示。各组实验数据用 SPSS Statistics 17.0 统计软件进行单因素 ANOVA 分析,方差不齐采用非参数检验, $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

3 结果

3.1 制何首乌水提取物对大鼠肝微粒体 CYP1A2 酶活性的影响 如表 3 所示,对比空白对照组与各给药组的大鼠肝微粒体对底物非那西丁代谢消除百分率,可知人临床用药 100 倍剂量(20 g/kg)的制何首乌水提取物能显著抑制大鼠肝 CYP1A2 酶的活性($P < 0.01$)。

表 3 制何首乌水提取物对大鼠肝微粒体 CYP1A2 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	代谢清除率/%
空白对照	19.8 $\pm$ 2.0
PWE(2 g/kg)	17.0 $\pm$ 2.8
PWE(20 g/kg)	13.2 $\pm$ 1.6**

注:与空白对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3.2 制何首乌水提取物对大鼠肝微粒体 CYP1A2 mRNA 表达的影响 如表 4 所示,对比给药组与空白对照组的大鼠肝 CYP1A2 mRNA,制何首乌水提取物 20 g/kg 组大鼠肝 CYP1A2 mRNA 的表达受到明显抑制($P < 0.05$)。

表 4 制何首乌水提取物对大鼠肝微粒体 CYP1A2 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	CYP1A2 mRNA 相对表达量($2^{-\Delta\Delta C_t}$)
空白对照	1.00 $\pm$ 0.01
PWE(2 g/kg)	0.78 $\pm$ 0.04
PWE(20 g/kg)	0.70 $\pm$ 0.02*

4 讨论

本研究发现,20 g/kg 制何首乌水提取物(约临床用药 100 倍剂量)能显著抑制大鼠肝微粒体 CYP1A2 酶活性及 CYP1A2 mRNA 的表达,提示 PWE 可以在基因转录水平上下调 CYP1A2 的表达,从而影响其酶活性,这与课题组前期何首乌水提取物 10 g/kg(相当于人临床用药量的 100 倍)灌胃大鼠

可以抑制大鼠肝 CYP1A2 酶活性及 CYP1A2 mRNA 的表达的研究结果一致^[14]。

CYP1A2 不仅是人肝 P450s 主要成员之一,该酶在人群中表达也具有遗传多态性,可产生 2 种药物代谢差异表型:慢代谢型、快代谢型。CYP1A2 除了参与代谢包括非那西丁、咖啡因、华法林等药物之外,还涉及代谢活化前致癌物和毒素的过程^[15]。这些药物中有些治疗窗较窄(如华法林 2.0 ~ 3.0 ng/mL),极易达到中毒剂量。Nishimura^[16] 等研究表明,P450s 抑制是临床治疗药物的 DDIs 主要的成因之一,药物对 CYP450s 抑制使其血药浓度升高,如果药物治疗窗较窄,可能致使协同药物产生毒性。因此,当 CYP1A2 抑制剂与经其代谢的药物联用时,CYP1A2 被抑制,尤其是慢代谢者,对被代谢药物的代谢减慢,清除率降低,将会使得药物在体内蓄积,从而产生 DDIs,引发一系列严重的不良反应或毒副作用。

制何首乌因其乌发补益之功效,在临床上得到广泛使用。近年来,有文献报道制何首乌可导致不良反应,特别是存在肝毒性,造成肝损伤^[17]。对于制何首乌的肝毒性研究也在不断深入^[18-19],但对于其产生毒性的机制还有待进一步明确。探究制首乌导致肝毒性的机制,有助于防范制何首乌引起的不良反应。制何首乌抑制 CYP1A2 酶活性与 mRNA 的表达,因此临床上需注意制何首乌与药物联用时可能产生的不良后果。研究制首乌与肝脏药物代谢酶 CYP1A2 的相互作用,不仅为临床安全用药提供依据,也为揭示制何首乌相关肝毒性提供思路。最近临床研究表明,何首乌相关的肝损伤患者的 CYP1A2 的遗传多态性表现与正常对照组人群的不同,表现 CYP1A2*1C 比例显著升高,意味着何首乌引起肝损伤患者的 CYP1A2 酶活性降低^[20]。由此推测,制何首乌相关的肝毒性可能与人群中 CYP1A2 遗传多态性及制何首乌双重作用下的 CYP1A2 酶活性急剧下降,造成制何首乌中某些肝毒性成分在肝脏中积聚有关,相关结论需要进一步临床及实验数据支持。另外,制何首乌中何种成分可以抑制 CYP1A2 酶活性,以及制何首乌导致肝毒性的分子作用机制,都还有待进一步的研究。

参考文献

[1] Huang Q, Deshmukh RS, Ericksen SS, et al. Preferred binding orientations of phenacetin in CYP1A1 and CYP1A2 are associated with isoform-selective metabolism[J]. Drug Metab Dispos, 2012, 40(12): 2324-2331.

- 中医临床研究,2014,6(36):27-29.
- [2] Makinde T, Murphy RF, Agrawal DK. The regulatory role of TGF- β in airway remodeling in asthma[J]. Immunol Cell Biol, 2007, 85(5): 348-356.
- [3] Kenyon N J, Ward R W, McGrew, et al. TGF- β 1 causes airway fibrosis and increased collagen I and III mRNA in mice[J]. Thorax, 2003, 58(9): 772-777.
- [4] Watson AM, Benton AS, Rose MC, Freishtat RJ. Cigarette smoke alters tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 9 levels in the basolateral secretions of human asthmatic bronchial epithelium in vitro[J]. J Invest Med, 2010, 58(5): 725-729.
- [5] Mehra D, Sternberg DI, et al. Altered lymphocyte trafficking and diminished airway reactivity in transgenic mice expressing human MMP-9 in a mouse model of asthma[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 298(2): 189-196.
- [6] 牛建昭, 贾长恩. 器官纤维化基础及中医药防治[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 11.
- [7] 赵文娟, 韩妮萍. 生三七粉调节哮喘小鼠气道炎症及 Th 亚群相关细胞因子的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(12): 1296-1299.
- [8] Eynott P R, Nath P, Leung S Y, et al. Allergen-induced inflammation and airway epithelial and smooth muscle cell proliferation: role of Jun N-terminal kinase[J]. Br J Pharmacol, 2003, 140(8): 1373-1380.
- [9] Donnell MP. Renal tubulointerstitial fibrosis new thoughts on its development and progression[J]. Postgrad Med, 2010, 122(4): 208-219.
- [10] Itoigawa Y, Harada N, Harada S, et al. TWEAK enhances TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in human bronchial epithelial cells[J]. Respir Res, 2015, 16: 48.
- [11] Piirila P, Lauhio A, Majuri MI, et al. Matrix metalloproteinases-7, -8, -9 and TIMP-1 in the follow-up of diisocyanate-induced asthma[J]. Allergy, 2010, 65: 61-68.
- [12] Ma HP, Li W, Liu XM. Matrix metalloproteinase 9 is involved in airway inflammation in cough variant asthma[J]. Exp Ther Med, 2014, 8(4): 1197-1200.
- [13] 彭光耀, 刘鑫, 黄艳, 等. TGF- β 1-Smads 通路在哮喘大鼠气道重塑模型中的动态变化[J]. 广东医学, 2010, 31(5): 557-560.
- [14] McMillan SJ, Xanthou G, Lloyd CM. Manipulation of allergen-induced airway remodeling by treatment with anti-TGF- β antibody: effect on the smad signaling pathway[J]. J Immunol, 2005, 174(9): 5774-5780.
- [15] 田金娜, 李建保. 丹龙定喘汤对哮喘小鼠气道重塑及血清 TGF- β 1 的影响研究[J]. 四川中医, 2012, 30(4): 17-19.
- [16] 陈昕芳. 活血化痰法治疗哮喘发作期研究[J]. 长春中医药大学学报, 2013, 29(2): 236-237.
- [17] 陈媛媛, 郭芳, 王文军, 等. 丹参联合川芎嗪对肺纤维化大鼠肺组织 JAK1/STAT1/ICAM-1 表达的影响[J]. 泸州医学院学报, 2012, 35(1): 6-13.

(2015-06-30 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 478 页)

- [2] 于敏, 张双庆, 闻锦. 细胞色素 P450 酶系体外药物代谢研究方法进展[J]. 中国药事, 2013, 27(1): 81-87.
- [3] Kamel A, Harriman S. Inhibition of cytochrome P450 enzymes and biochemical aspects of mechanism-based inactivation (MBI) [J]. Drug Discov Today Technol, 2013, 10(1): 177-189.
- [4] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation[J]. Pharmacol Ther, 2013, 138(1): 103-141.
- [5] Faber MS, Jetter A, Fuhr U. Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when? [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2005, 97(3): 125-134.
- [6] Martignoni ML, Groothuis GM, Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2006, 2(6): 875-894.
- [7] 张晓璐, 乐江. 细胞色素 P450 的工具药选择及种属差异的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(5): 697-701.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 177.
- [9] 罗文, 刘斌, 王伟, 等. 何首乌药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 30(8): 557-560.
- [10] Liang ZT, Chen HB, Yu ZL, et al. Comparison of raw and processed Radix Polygoni Multiflori (Heshouwu) by high performance liquid chromatography and mass spectrometry [J]. Chin Med, 2010, 5(29): 1-9.
- [11] 杨芳. 人和鼠肝微粒体药物代谢检测平台的建立及初步应用研究[D]. 西安: 西北大学, 2008.
- [12] 张艳辉, 于超, 郭延全, 等. 高效液相色谱法测定鼠肝微粒体中 CYP1A2 酶的活性及动力学考察[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(2): 189-193.
- [13] 韦灵玉, 张玉杰, 魏宝红, 等. 黄连黄芩及配伍诱导对大鼠肝微粒体 5 种 CYP450 亚酶活性的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(9): 1426-1429.
- [14] 李浩, 杨红莉, 李登科, 等. 何首乌水提物对大鼠肝脏 CYP1A2, CYP2E1 酶活性及 mRNA 表达抑制作用研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1370-1375.
- [15] Zhou SF, Wang B, Yang LP, et al. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2[J]. Drug Metab Rev, 2010, 42(2): 268-354.
- [16] Nishimura Y, Kurata N, Sakurai E, et al. Inhibitory effect of antituberculosis drugs on human cytochrome P450-mediated activities[J]. J Pharmacol Sci, 2004, 96(3): 293-300.
- [17] 孙震晓, 张力. 何首乌及其制剂相关肝损害国内文献回顾与分析[J]. 药物不良反应杂志, 2010, 12(1): 26-30.
- [18] 张思玉, 朱晓光, 张广平, 等. 制首乌提取液毒理学研究[J]. 毒理学杂志, 2013, 27(4): 261-264.
- [19] 李晓菲, 李娜, 涂灿, 等. 基于内毒素特异质模型的生首乌与制首乌肝毒性比较研究[J]. 中草药, 2015, 46(10): 1481-1486.
- [20] Ma KF, Zhang XG, Jia HY. CYP1A2 polymorphism in Chinese patients with acute liver injury induced by *Polygonum multiflorum* [J]. Genet Mol Res, 2014, 13(3): 5637-5643.

(2015-06-19 收稿 责任编辑: 张文婷)