

并发展为慢性胃炎,因此,今后需进一步延长 *H. pylori* 的定植时长,建立出稳定的炎症模型。

参考文献:

[1] 陈 瑶,刘庆义,叶 晖,等. 幽门螺杆菌相关性胃病中医证型及证候要素演变规律的多中心研究[J]. 现代中医临床, 2015,22(2):12-16.

[2] 张学智,纪宝安,陈宝雯. 炎症因子与十二指肠溃疡寒热辨证的关系[J]. 中国中西医结合杂志,1999,19(5):267.

[3] 张学智,纪保安,陈宝雯,等. 幽门螺杆菌、炎症、白介素-8 与十二指肠溃疡的寒热辨证[J]. 中医杂志,1998,39(10):616-618.

[4] 于 靖,叶 晖,李 江,等. 复方清热化湿制剂对幽门螺杆菌的体外抗菌作用研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016,24(4):245-248.

[5] 叶 晖,李 宁,于 靖,等. 昆明小鼠感染幽门螺杆菌动物模型的建立[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2015,24(3):284-286.

[6] 刘文忠,谢 勇,成 虹,等. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 胃肠病学,2012,17(10):618-625.

[7] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9

(9):1069-1072.

[8] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见[J]. 胃肠病学,2013,18(1):24-36.

[9] 谢 勇,吕农华. 幽门螺杆菌相关性胃炎和胃癌前期病变的发病机制[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2008,17(7):536-539.

[10] Beutler B. Science review: key inflammatory and stress pathways in critical illness-the central role of the Toll-like receptors[J]. Crit Care,2003,7(1):39-46.

[11] 王绪霖,缴稳玲,吕宗舜,等. 抑制幽门螺旋菌中药的初步筛选[J]. 中国中西医结合杂志,1994,14(9):534-536.

[12] 徐 艺,叶 柏,单兆伟,等. 中草药单味与复方对幽门螺杆菌抑菌作用研究[J]. 中国中西医结合脾胃杂志,2000,8(5):292-293.

[13] 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染诊疗指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2013.

[14] 叶 晖,李 宁,于 靖,等. 荆花胃康胶丸对幽门螺杆菌感染小鼠胃黏膜核因子 κ B p65 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2015,22(2):60-63.

[15] 田雪飞,范学工,张 艳,等. C57BL/6 小鼠幽门螺杆菌感染动物模型的建立[J]. 世界华人消化杂志,2004,12(6):1313-1316.

欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝 CYP450 的影响

王笃军¹, 王 硕², 严 峰³, 王国斌³, 许海玉⁴, 欧阳 臻^{1,2}, 魏 渊^{2*}
(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 3. 江苏吉贝尔药业股份有限公司, 江苏 镇江 212009; 4. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要: **目的** 探究欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝细胞色素 P450 表达的影响以及对小鼠肝毒性作用。**方法** 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和给药组, 分别灌胃给予相应药物 2 周。荧光定量 PCR 技术考察药物对 P450 主要亚型 mRNA 表达的影响; 蛋白质印迹法检测 P450 表达。试剂盒检测血清中谷丙转氨酶 (GPT)、谷草转氨酶 (GOT) 和总胆红素 (TBIL) 水平, HE 染色法观察肝组织变化。**结果** 与对照组相比, 40 mg/kg 欧前胡素对 P450 亚型 1a2 (*Cyp1a2*) 的 mRNA 表达有显著上调作用, 异欧前胡素对 P450 酶亚型 2c37 (*Cyp2c37*) 的 mRNA 的表达有显著上调作用。蛋白质印迹结果显示, 欧前胡素对 CYP1A2 表达有显著上调作用, 异欧前胡素对 P450 亚型 2C (CYP2C) 和 P450 酶亚型 2E1 (CYP2E1) 表达有显著上调作用。血液生化指标显示, 40 mg/kg 异欧前胡素能够导致 GOT 和 TBIL 水平显著升高。病理分析发现, 两种化合物 20 mg/kg 和 40 mg/kg 下均能导致肝脏出现一定程度水肿。**结论** 欧前胡素是 CYP1A2 的诱导剂, 而异欧前胡素是 CYP2C 和 CYP2E1 的诱导剂。两种化合物在 20 mg/kg 和 40 mg/kg 剂量下对小鼠肝脏有损伤作用, 而且异欧前胡素的毒性比欧前胡素强。

关键词: 欧前胡素; 异欧前胡素; 细胞色素 P450; 表达水平; 毒性

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)01-0014-07

收稿日期: 2016-05-20
基金项目: 国家自然科学基金项目 (81102522, 81373480, 81202793); 江苏省自然科学基金项目 (BK2011473); 江苏省博士后科研资助计划 (1201081C)
作者简介: 王笃军 (1988—), 男, 博士生, 从事中药药理和毒理学研究。E-mail: wangdj009@163.com
*** 通信作者:** 魏 渊 (1981—), 男, 副教授, 博士, 从事药物代谢和毒理学研究。Tel: (0511) 88791526, E-mail: ywei@ujs.edu.cn

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.01.003

Effects of imperatorin and isoimperatorin on liver cytochrome P450s in mice

WANG Du-jun¹, WANG Shuo², YAN Feng³, WANG Guo-bin³, XU Hai-yu⁴, OUYANG Zhen^{1,2}, WEI Yuan^{2*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 3. Jiangsu Jibeier Pharmaceutical Co., Ltd., Zhenjiang 212009, China; 4. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of imperatorin and isoimperatorin on the expression of mouse liver cytochrome P450s and hepatic toxicity in mice. **METHODS** C57BL/6 mice were randomly divided into control and administration groups, which were treated with imperatorin or isoimperatorin by intragastric administration for two weeks. The effects of two compounds on mRNA expressions of major P450s isoforms were analyzed by RT-PCR. The P450 expression was determined by Western blot. The serum levels of glutamic-pyruvic transaminase (GPT), glutamic-oxalacetic transaminase (GOT) and blood total bilirubin (TBIL) were detected by kits. The change of liver tissue was observed with HE staining. **RESULTS** The *Cyp1a2* mRNA expression was significantly induced by 40 mg/kg imperatorin as compared with the control group. For isoimperatorin, the *Cyp2c37* mRNA expression was significantly induced. Western blot results showed that CYP1A2 expression was significantly induced by imperatorin. For isoimperatorin, the CYP2C and CYP2E1 expressions were significantly induced. Blood biochemical indices showed that 40 mg/kg isoimperatorin led to increased serum GOT and TBIL levels. Pathological analysis showed that both compounds (at the doses of 20 mg/kg and 40 mg/kg) could cause liver edema to a certain degree. **CONCLUSION** Imperatorin is the inducer of CYP1A2, while isoimperatorin is the inducer of CYP2C and CYP2E1. These two compounds (at the doses of 20 mg/kg and 40 mg/kg) can lead to damage for mouse liver. The toxicity of isoimperatorin is stronger than that of imperatorin.

KEY WORDS: imperatorin; isoimperatorin; cytochrome P450s; expression level; toxicity

香豆素类化合物欧前胡素 (imperatorin) 和异欧前胡素 (isoimperatorin) 存在于伞形科植物白芷、独活、羌活、当归、北沙参等常用中药中, 属于 6, 7-呋喃香豆素, 其药理作用广泛, 具有镇痛^[1]、抗炎^[2]、抗菌^[3]、抗肿瘤^[4]、舒张血管^[5]等多方面的生物活性。欧前胡素和异欧前胡素在临床上应用普遍, 主要用于治疗感冒头痛、鼻塞、鼻渊、眉棱骨痛、牙痛、疮疡肿痛和白带等病症^[6], 是元胡止痛片、龙葵银消片、藿香正气水、通窍鼻炎片等中药复方制剂的重要成分, 古代名方九味羌活汤、藿香正气散等皆有其入药^[7]。

中药复方制剂中有效成分之间以及中药与西药之间药物-药物相互作用 (drug-drug interaction, DDI) 受到广泛的关注^[8]。P450 酶系在外源性物质的转化过程中起着非常重要的作用, 其表达能被多种药物诱导或抑制是造成药物-药物相互作用的主要原因^[9]。明确中药主要有效成分与 P450 的关

系将为中药药理提供佐证, 促进药物联用达到优势互补, 减少不良反应的发生。有报道指出, 采用体外孵育法研究欧前胡素和异欧前胡素对人和 SD 大鼠肝微粒体活性, 结果表明其对 P450 的活性有广泛的抑制作用, 是 CYP1A2 和 P450 酶亚型 2B6 (CYP2B6) 酶活性的强抑制剂^[10]。李超等^[11]采用体外大鼠肝微粒体孵育研究发现欧前胡素和异欧前胡素对 CYP1A2 和 CYP2E1 的活性抑制作用呈剂量依赖性。刘志峰等^[12]运用人肝微粒体进行体外活性研究发现, 欧前胡素和异欧前胡素高浓度时会抑制 CYP2A6 的活性, 对 CYP1A2 和 CYP2E1 的活性有普遍抑制作用。然而, 欧前胡素和异欧前胡素在体内对 P450 酶表达的影响鲜有报道。本研究主要考察了欧前胡素和异欧前胡素在体内对 P450 酶主要亚型 mRNA 和蛋白表达作用, 旨在探索出其与 P450 酶主要亚型的作用关系, 为欧前胡素和异欧前胡素在临床上安全合理用药提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器 欧前胡素 (imperatorin) 和异欧前胡素 (isoimperatorin) (含有量≥98%) 来自中国中医科学院中药研究所; 谷丙转氨酶 (glutamic-pyruvic transaminase, GPT)、谷草转氨酶 (glutamic-oxalacetic transaminase, GOT)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 检测试剂盒购买于南京建成生物工程研究所; BCA 蛋白浓度检测试剂盒购于中国碧云天生物技术研究所; 逆转录试剂盒购于 Thermo scientific (Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit); 荧光定量试剂盒购于罗氏公司 (Fast Start Essential DNA Green Master)。P450 酶亚型抗体: 兔抗人 CYP1A1 (H-70), sc-20772; 鼠抗人 CYP1A2 (D1tk5), sc-53241; 兔抗人 CYP2A (H-110), sc-33214; 鼠抗人 CYP2B (9.14), sc-73546; 兔抗人 CYP3A (H-300), sc-25845; 鼠抗人 CYPOR (F-2), sc-55477, 以上 6 种一抗均购于美国 Santa Cruz 公司。兔抗人 CYP2C (EPR6576) ab137015 购于美国 Abcam 公司; 兔抗人 CYP2D (PAB19502) 购于台湾 Abnova 公司; 兔抗人 CYP2E1 (BML-CR3271) 购于美国 Enzo 公司, 以上抗体均能用于人、大鼠、小鼠的蛋白免疫反应。羊抗鼠和羊抗兔 HRP 二抗 IgG (H+L) 购于碧云天生物工程公司; 荧光定量 PCR 仪 (LC-96, 罗氏公司, 瑞士)。

1.2 实验动物及分组 健康 SPF 级 2 月龄 C57BL/6 雄性小鼠, 30 只, 体质量 (20±2) g, 购于南京大学模式动物研究所, 动物许可证号 SKXK (苏) 2010-0001。购买后在实验室适应性饲养 1 周, 室

温 22~25 ℃, 相对湿度 65%, 12 h 明暗交替照明, 自由进食、饮水。

将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组, 欧前胡素 20、40 mg/kg 给药组, 异欧前胡素 20、40 mg/kg 给药组, 每组 10 只。精密称取药品, 溶于 0.3% CMC-Na 中, 给药时间为 2 周, 每 48 h 灌胃给药 1 次。对照组采用 0.3% CMC-Na, 按体质量给予相当量的溶剂对照液。末次给药后, 隔天禁食 12 h, 二氧化碳窒息法处死小鼠。

1.3 荧光定量 PCR (RT-PCR) 检测小鼠肝细胞色素 P450 酶 mRNA 的表达 按照总 RNA 提取说明书提取小鼠肝脏总 RNA, 紫外分光光度计法测定 RNA 的 A₂₆₀/A₂₈₀ 比值, 电泳分析 18S 和 28S 条带, 判定 RNA 片段的完整性。取总 RNA 1 μg, 分别加入逆转录试剂至总体积 20 μL 混合均匀。逆转录条件为 42 ℃ 60 min, 70 ℃ 5 min, 反应产物 -20 ℃ 保存待用。逆转录产物 2 μL 加入 RT-PCR 试剂至总体积 20 μL, 以 β-actin 作为内参基因, 进行荧光定量, 特异性引物序列 (表 1) 由上海生工生物公司设计合成。RT-PCR 反应条件: 95 ℃ 300 s; 95 ℃ 15 s, 61 ℃ 20 s, 72 ℃ 30 s; 65 ℃ 30 s, 95 ℃ 15 s; 37 ℃ 30 s; 35 个循环。实验重复 3 次。

mRNA 的表达水平采用比较阈值法进行分析, 目的基因扩增的倍数值表示为 2^{-ΔΔCt}。ΔΔCt = 实验组 ΔCt (目的基因 Ct 值 - 内参基因 Ct 值) - 对照组 ΔCt (目的基因 Ct 值 - 内参基因 Ct 值)。Ct 值为荧光信号开始由本底进入指数增长阶段的阈值所对应的循环次数。

表 1 荧光定量 PCR 引物
Tab. 1 Primers of RT-PCR

基因	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')
β-actin	AGAACATCATCCTGCATCC	ACCCGTGTTGCTGTAGCCATA
Cyp1a2	GTCACCTCAGGGAATGCTGTG	GTTGACAATCTTCTCCTGAGG
Cyp3a11	ACAAACAAGCAGGGATGGAC	GGTAGAGGAGCACCAAGCTG
Cyp2c37	ATACTCTATATTTGGGCAGG	GTTCTCCACAAGGCAAC
Cyp2d9	AAGGCTGGCTGACAAGGCC	TCGGGGTGCTTGACAGGGT

1.4 Western 蛋白质印迹法测定 P450 酶中 CYPOR、CYP1A1、CYP1A2、CYP2A、CYP2B、CYP3A、CYP2C、CYP2D、CYP2E1 的表达 随机抽取对照组、20、40 mg/kg 剂量组各 3 只小鼠, 将小鼠肝取出剔除脂肪组织及筋膜称重, 用冰冷的 0.15 mol/L KCl 冲洗, 吸水纸吸干, 称取 0.5 g 肝组织剪碎, 加入 50 mmol/L PBS 溶液 (含 KCl 150 mmol/L, 蔗糖 250 mmol/L, pH7.5), 制成 5% 的组织匀浆。9 000 × g 冷冻离心 20 min, 取上清液, 100 000 × g 冷

冻超速离心 60 min, 沉淀为肝微粒体。取出沉淀手动匀浆加入 80 mmol/L PBS 溶液悬浮, -80 ℃ 保存。微粒体中蛋白浓度由 BCA 法准确测定。按照 Western 蛋白质印迹法测定细胞色素 P450 酶亚型的表达^[13]。采用 ImageJ 软件分析免疫荧光条带的积分吸光度值 (integrated absorbance, IA), 比较细胞色素 P450 酶亚型表达的相对变化 (微粒体组分中不含有 GAPDH 或 β-Actin 等常用蛋白内参)。

1.5 血清生化指标的测定 实验结束后, 将小鼠以

二氧化碳窒息法处死。心脏取血,室温放置 30 min, 900 × g 离心 10 min 收集血清,测定其 GPT、GOT 及 TBIL 水平。

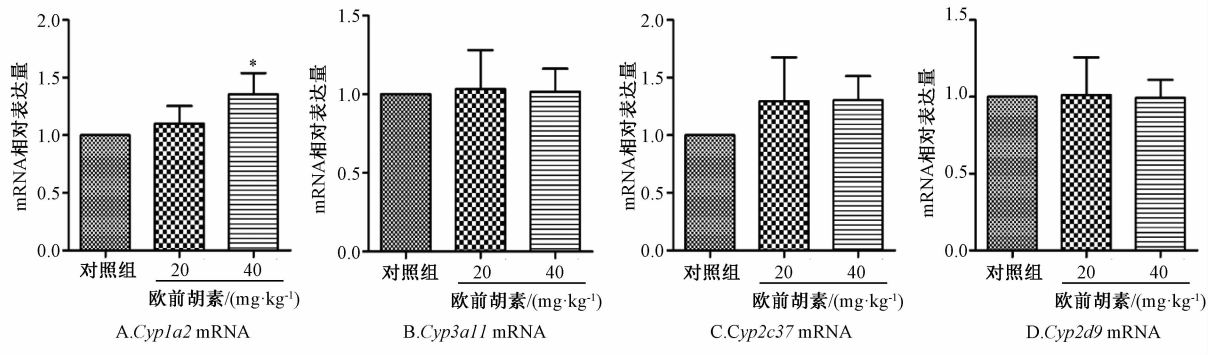
1.6 组织病理切片观察 取肝右叶组织,放入 10% 甲醛中浸泡固定,在常规取材后,石蜡包埋,切片,HE 染色,光学显微镜观察肝组织形态变化。

1.7 数据统计学分析 各项参数应用 IBM SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)。数据采用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用

单因素方差分析, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝脏 4 种细胞色素 P450 亚型 mRNA 表达水平的影响 如图 1A 所示,欧前胡素对 *Cyp1a2* 的 mRNA 表达有上调作用,且 40 mg/kg 剂量组较对照组表达显著上调($P < 0.05$),说明欧前胡素能够诱导 *Cyp1a2* 的 mRNA 表达增加;对 *Cyp2c37*、*Cyp3a11* 和 *Cyp2d9* 的 mRNA 表达无明显调节作用($P > 0.05$)。如图 1B ~ D 所示。



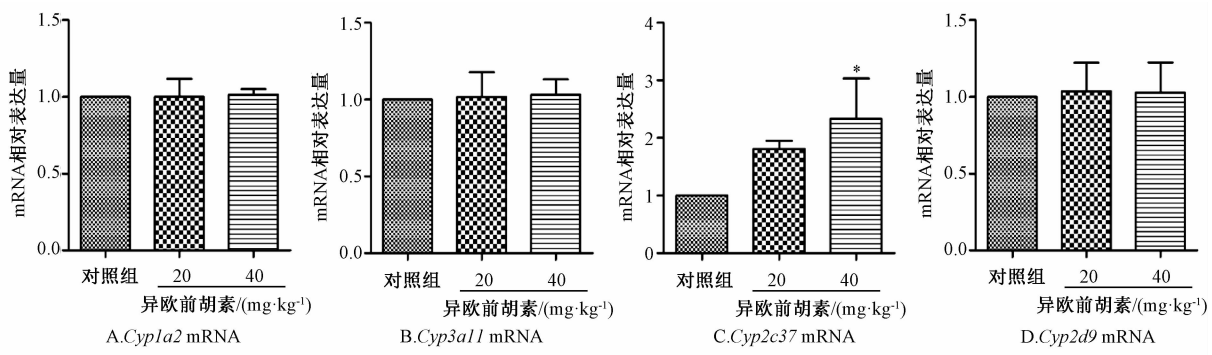
注:与对照组比较, * $P < 0.05$

图 1 欧前胡素对小鼠肝脏 P450 主要亚型 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of imperatorin on the mRNA expressions of major P450s isoforms in mouse liver($\bar{x} \pm s, n = 10$)

如图 2C 所示,异欧前胡素对 *Cyp2c37* 的 mRNA 的表达有显著上调作用($P < 0.05$),说明异欧前胡素能够诱导 *Cyp2c37* 的 mRNA 表达增加;异欧前胡

素对 *Cyp1a2*、*Cyp3a11*、*Cyp2d9* 的 mRNA 的表达无明显调节作用($P > 0.05$)。如图 2A、B、D 所示。



注:与对照组比较, * $P < 0.05$

图 2 异欧前胡素对小鼠肝脏 P450 主要亚型 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effects of isoimperatorin on the mRNA expressions of major P450s isoforms in mouse liver($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.2 欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝脏主要 P450 亚型蛋白表达水平的影响 通过免疫荧光结果结合吸光度值分析(图 3 和表 2),欧前胡素对 CYP1A2 蛋白的表达有诱导作用,且能诱导 CYP1A2 表达显著升高($P < 0.05$),说明欧前胡素能够显著诱导 CYP1A2 蛋白的表达,是 CYP1A2 蛋白的诱导剂;对 CYP2E1 蛋白有一定的诱导作用,但统计学上无显

著意义($P > 0.05$)。欧前胡素对 CYPOR、CYP1A1、CYP2A、CYP2B、CYP3A、CYP2C、CYP2D 几种蛋白亚型均无诱导或抑制作用($P > 0.05$)。

图 4 和表 3 结果显示,异欧前胡素对 CYP2C 和 CYP2E1 蛋白的表达有诱导作用,能使两种蛋白显著增高($P < 0.05, P < 0.01$),说明异欧前胡素能够显著诱导 CYP2C 和 CYP2E1 蛋白的表达,是 CYP2C

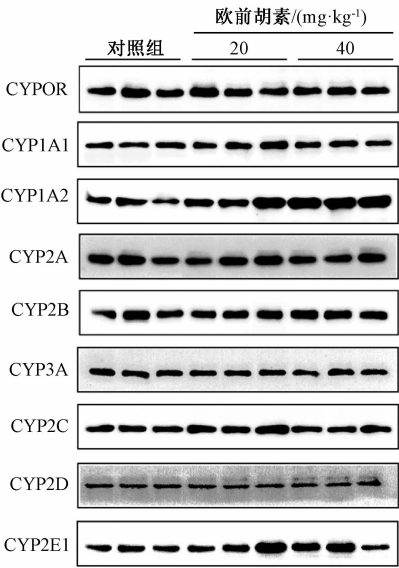


图 3 欧前胡素对小鼠肝脏 P450 酶主要亚型蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effects of imperatorin on the protein expressions of major P450s isoforms in mouse liver ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 2 欧前胡素积分吸光度 (IA) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 2 IA of imperatorin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

P450 酶亚型	对照组	欧前胡素 (20 mg/kg)	欧前胡素 (40 mg/kg)
CYPOR	2.29 ± 0.05	2.27 ± 0.12	2.33 ± 0.03
CYP1A1	2.11 ± 0.14	2.15 ± 0.16	2.15 ± 0.14
CYP1A2	1.99 ± 0.13	2.34 ± 0.07	2.49 ± 0.02 *
CYP2A	1.79 ± 0.03	1.87 ± 0.21	1.94 ± 0.06
CYP2B	1.81 ± 0.18	1.85 ± 0.06	2.08 ± 0.07
CYP3A	2.27 ± 0.01	2.26 ± 0.04	2.25 ± 0.10
CYP2C	2.31 ± 0.02	2.38 ± 0.11	2.33 ± 0.03
CYP2D	2.29 ± 0.05	2.28 ± 0.01	2.28 ± 0.03
CYP2E1	2.01 ± 0.13	2.28 ± 0.08	2.21 ± 0.21

注：与对照组比较，* $P < 0.05$

和 CYP2E1 蛋白的诱导剂，对 CYPOR、CYP1A1、CYP1A2、CYP2A、CYP2B、CYP3A、CYP2D 几种蛋白亚型无诱导或抑制作用 ($P > 0.05$)。

2.3 欧前胡素和异欧前胡素对小鼠血液生化指标的影响 如表 4 结果所示，欧前胡素对小鼠血清中 GPT、GOT、TBIL 的影响与对照组相比，三者差异均无显著统计学意义 ($P > 0.05$)，提示肝损伤程度低。异欧前胡素对小鼠血清中 GPT 无明显影响 ($P > 0.05$)，而 40 mg/kg 异欧前胡素可使 GOT、TBIL 水平升高，与对照组相比，差异有显著统计学意义 ($P < 0.05$)，提示异欧前胡素 40 mg/kg 剂量时存在一定程度肝损伤。

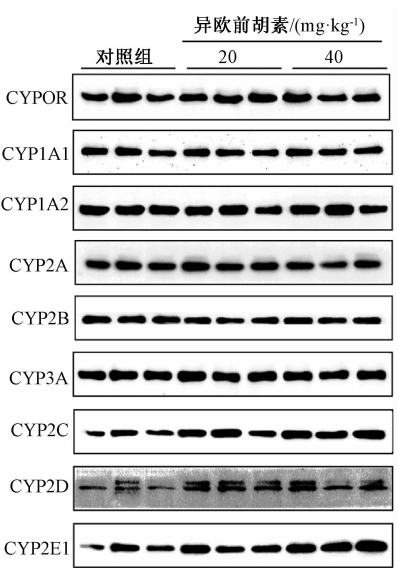


图 4 异欧前胡素对小鼠肝脏 P450 酶主要亚型蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effects of isoimperatorin on the protein expressions of major P450s isoforms in mouse liver ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 3 异欧前胡素积分吸光度 (IA) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 3 IA of isoimperatorin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

P450 酶亚型	对照组	异欧前胡素 (20 mg/kg)	异欧前胡素 (40 mg/kg)
CYPOR	2.09 ± 0.14	2.10 ± 0.09	2.07 ± 0.16
CYP1A1	1.97 ± 0.12	1.95 ± 0.05	2.04 ± 0.13
CYP1A2	2.03 ± 0.06	2.01 ± 0.11	2.05 ± 0.12
CYP2A	1.99 ± 0.02	2.11 ± 0.02	2.10 ± 0.07
CYP2B	1.87 ± 0.16	2.13 ± 0.10	2.24 ± 0.11
CYP3A	2.17 ± 0.03	2.12 ± 0.05	2.15 ± 0.09
CYP2C	1.82 ± 0.19	2.18 ± 0.06	2.23 ± 0.13 *
CYP2D	1.53 ± 0.13	1.72 ± 0.03	1.73 ± 0.08
CYP2E1	1.77 ± 0.22	2.08 ± 0.11	2.39 ± 0.05 **

注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

2.4 欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝脏组织形态的影响 如图 5 肝组织切片 HE 染色结果所示，欧前胡素和异欧前胡素给药组与对照组比较，随着给药剂量的升高，小鼠肝脏均出现明显的细胞水肿（箭头所示），且发生范围广，细胞核周围包浆颜色变淡，部分透明。图 5 中正方形所示为对照组肝脏静脉周区和肝窦，欧前胡素和异欧前胡素给药组与对照组比较，肝脏门静脉周区和肝小叶中间部分肝窦变窄，部分汇管区的限界板消失，因细胞水肿导致肝索的放射状排列不明显，且异欧前胡素给药组损伤情况较欧前胡素给药组更为严重。切片结果中没有发现大量炎症细胞聚集，表明未出现明显炎症。

欧前胡素和异欧前胡素毒性研究表明, 异欧前胡素 40 mg/kg 组小鼠血清 GOT、TBIL 有显著变化, 其对小鼠肝损伤的作用略强于欧前胡素, GOT 的变化表明小鼠可能出现药物中毒性损伤, 而 TBIL 的变化可能由于肝细胞损伤后出现水肿, 肝细胞清除能力降低, 排泄减少, 水肿细胞压迫胆管胆道, 阻碍了胆红素的代谢, 表明肝功能受损。本实验结果提示, 病人长期过高剂量服用时可能产生肝毒性作用, 因此临床使用应该注意剂量和用药时间。

综上所述, 本研究提示欧前胡素和异欧前胡素分别是 CYP1A2 和 CYP2C、CYP2E1 的诱导剂, 能够诱导相应的 P450 酶在体内的表达增多。高剂量使用欧前胡素和异欧前胡素时会对小鼠肝脏造成一定的损伤作用, 实验结果为后续这两种化合物相关的 DDI 研究提供了更多数据。但本实验对于欧前胡素和异欧前胡素的探索仅限于小鼠肝脏 P450 酶主要亚型表达水平的研究, 这两种化合物对某种具体药物代谢的影响还有待进一步的实验验证。

参考文献:

[1] 王梦月, 贾敏如, 马逾英, 等. 白芷中四种线型呋喃香豆素类成分药理作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22 (3): 485-489.

[2] 杨小花, 胡 晓. 欧前胡素与异欧前胡素的药理学研究进展[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2012, 52(3): 95-97.

[3] Abad M J, Heras B, Silvan A M, *et al.* Effects of furocoumarins from *Cachrys trifida* on some macrophage functions[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(8): 1163-1168.

[4] Okuyama T, Takata M, Nishino H, *et al.* Studies on the antitumor-promoting activity of naturally occurring substances. II. Inhibition of tumor-promoter-enhanced phospholipid metabolism by umbelliferous materials[J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(4): 1084-1086.

[5] 李振坤, 刘玫琦, 杨洪军. 伞形科辛味中药主要化学成分对离体血管作用观察 [C] //第六次全国中西医结合中

年学术研讨会论文集, 2008: 410-414.

[6] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997: 77-81.

[7] 徐 术, 胡晋红, 全山丛. 白芷的活性成分研究与临床应用进展[J]. 中国药房, 2005, 16(6): 467-469.

[8] 杨鑫宝, 刘建勋. 近 10 年中药与药物代谢酶相互作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 871-877.

[9] Han Y L, Li D, Ren B, *et al.* Evaluation of impact of *Herba Erigerontis* injection, a Chinese herbal prescription, on rat hepatic cytochrome P450 enzymes by cocktail probe drugs[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 104-109.

[10] 曹 艳, 钟玉环, 原 梅, 等. 欧前胡素和异欧前胡素对人和大鼠肝微粒体细胞色素 P450 酶活性的抑制作用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8): 1237-1241.

[11] 李 超. 五种 6, 7-呋喃香豆素对大鼠肝微粒体细胞色素 P4501A2 和 2E1 活性的影响 [D]. 泰安: 泰山医学院, 2009.

[12] 刘志锋. 香豆素类化合物对人体 CYP 酶活性的影响[D]. 长沙: 中南大学, 2009.

[13] Gu J, Weng Y, Zhang Q Y, *et al.* Liver-specific deletion of the NADPH-cytochrome P450 reductase gene impact on plasma cholesterol homeostasis and the function and regulation of microsomal cytochrome P450 and heme oxygenase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(28): 25895-25901.

[14] Or P M, Lam F F, Kwan Y W, *et al.* Effects of *Radix Astragali* and *Radix Rehmanniae*, the components of an anti-diabetic foot ulcer herbal formula, on metabolism of model CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1 and CYP3A4 probe substrates in pooled human liver microsomes and specific CYP isoforms[J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(6): 535-544.

[15] Pan Y, Abd-Rashid B A, Ismail Z, *et al.* *In vitro* modulatory effects of *Andrographis paniculata*, *Centella asiatica* and *Orthosiphon stamineus* on cytochrome P450 2C19 (CYP2C19) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2): 881-887.

[16] 伍忠奎, 谢红光. 细胞色素 P4502E1 的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 1997, 13(1): 57-62.

[17] 田玉军, 邵洪梅, 朱立国. 中西药相互作用小结[J]. 中华中西医杂志, 2005, 6(8): 6.

[18] 张贵寅. 药物基因组学研究进展[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(5): 9-11.