

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.10.003

降脂中药复方的转运性相互作用——体外 MDR1 转运研究*

李燕娜^{1,2} 郭峰^{1,2} 代卉² 毛玉昌² 沈智杰³ 俞桂新⁴王肖龙^{3△} 胡卓汉^{2△}

(1 上海交通大学 上海 200240; 2 瑞德肝脏疾病研究(上海)有限公司 上海 201203;

3 上海中医药大学附属曙光医院 上海 201203; 4 上海中医药大学中药研究所 上海 201203)

摘要 目的: 药物相互作用是影响药物安全和药效的重大因素之一。本文旨在通过体外 MDR1 研究方法——ATP 酶法, 评价降脂中药复方(Fang-2)及其单方 6 个饮片水提取物与 P-gp 的相互作用, 为临床中西药转运性相互作用提供参考。**方法:** 应用标准化制备技术, 制备降脂中药复方及其 6 个饮片水提取物。利用基于 MDR1 膜的 ATP 酶法, 计算 MDR1 细胞膜的 ATP 酶活性, 考察药物与 P-gp 的相互作用。**结果:** 1 mg·mL⁻¹、10 mg·mL⁻¹ 两个浓度中药复方的 ATP 酶活性分别为 27.2、40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹protein, 呈浓度依赖性。6 个单方中, 泽泻、厚朴、夏枯草与 P-gp 作用显著, 其强弱顺序为: 泽泻 > 夏枯草 > 厚朴 (50.6 > 42.6 > 40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹protein)。泽泻单体 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 均与 P-gp 有较强的相互作用, ATP 酶动力学研究显示其 Km 值和 Vmax 值分别为 0.79 ± 0.28 μM, 2.01 ± 0.67 μM 和 50.57 ± 3.72 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹protein, 56.28 ± 29.6 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹protein。**结论:** Fang-2 与 MDR1 存在相互作用, 其中泽泻为主要被 MDR1 转运的饮片, 泽泻的有效组分 23-乙酰泽泻醇 B 和 24-乙酰泽泻醇 A 均是 MDR1 底物。表明该降脂中药与临床上其他降脂药物的联用时应充分考虑 MDR1 介导的转运相互作用, 为临床用降脂药物提供参考和依据。

关键词: 降脂中药; MDR1; 体外; ATP 酶分析法; 转运性相互作用; 泽泻

中图分类号: R285.5, R963 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)10-1813-05

Transporter-mediated Interaction of Lipid-lowering Traditional Chinese Medicine - In Vitro MDR1 Transport Study*

LI Yan-na^{1,2}, GUO Feng^{1,2}, DAI Hui², MAO Yu-chang², SHEN Zhi-jie³, CHOU Gui-xin⁴,WANG Xiao-long^{3△}, HU Zhuo-han^{2△}

(1 Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200240, China;

2 Research Institute of Liver Disease (Shanghai) Co. Ltd, Shanghai, 201203, China;

3 Shanghai Shu Guang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai, 201203, China;

4 Shanghai University of TCM, Shanghai, 201203, China)

ABSTRACT Objective: Drug interaction is one of the major factors that affect the drug safety and efficacy. This paper is aim to evaluate the transporter-mediated interaction of the lipid-lowering Traditional Chinese medicine (Fang-2) and its 6 simple prescriptions through in vitro MDR1 transport research method- ATPase assay, providing a reference for clinical practice in herbal-drug interaction. **Methods:** TCM and its 6 simple prescriptions were prepared using a standardized method. ATPase assay based on H-MDR1 membrane were conducted to calculate the ATPase activity, thus to investigate the interaction between drugs and P-gp. **Results:** The ATPase activity of P-gp at 1 mg·mL⁻¹, 10 mg·mL⁻¹ of TCM was 27.2, 40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein respectively and showed a concentration-dependent manner. In the 6 simple prescriptions, Alisma orientalis, Mangnolia officinalis and Prunella vulgaris had a significantly effect on P-gp. The sequence from strong to weak of this effect is: Alisma orientalis > Prunella vulgaris > Mangnolia officinalis (50.6 > 42.6 > 40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein). Two monomers of Alisma orientalis, Alisol B 23-acetate and Alisol A 24-acetate, have a strong interaction with P-gp. The Km and Vmax values were 0.79 ± 0.28 μM, 2.01 ± 0.67 μM and 50.57 ± 3.72 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein, 56.28 ± 29.6 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein respectively extracted through kinetics studies. **Conclusion:** Both Fang-2 and its simple prescription-Alisma orientalis are proved to be transported by MDR1. Two monomers of Alisma orientalis, Alisol B 23-acetate and Alisol A 24-acetate, are also verified to be the substrates of MDR1, indicating that MDR1-mediated interaction should be fully considered in combination of Fang-2 and other clinical lipid-lowering drugs, thus, providing the reference and basis for the clinical use of lipid-lowering drugs.

* 基金项目: 十一五科技重大专项(2008AX10501)

作者简介: 李燕娜(1988-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 药物转运性相互作用

△ 通讯作者: 胡卓汉, 男, 博士生导师, E-mail: huzh@rild-biotech.com

王肖龙, 男, 硕士研究生导师, E-mail: wxlqy0214@163.com

(收稿日期: 2013-08-17 接受日期: 2013-09-15)

Key words: Cholesterol-reducing TCM; MDR1; ATPase assay; In vitro; Transporter-mediated interaction; *Alisma orientalis*

Chinese Library Classification(CLC): R285.5, R963 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)10-1813-05

前言

多药耐药(multidrug resistance, MDR)基因已成为成功治疗癌症的一个主要障碍^[1,2]。出现多药耐药现象往往与膜蛋白的过度表达有关,这些膜蛋白能够将治疗药物排出抗肿瘤细胞外。这类相对分子质量为130-170 kDa的膜转运蛋白被称为多药耐药蛋白或者P-糖蛋白(P-gp),在人体内这类蛋白主要由多药耐药(multi-drug resistance, MDR)基因MDR1编码^[3]。P-gp药物转运外排作用与ATP的水解息息相关,药物与转运体作用调节其ATP酶活性,Sarkadi等人^[4]首次运用表达MDR1基因的SF9昆虫细胞膜进行了体外ATP酶分析法,通过检测酶水解释放的大量无机磷计算ATP酶活性证实了这一原则,Erik等人^[5]也讨论了MDR1等ABC转运体的转运机制。

由于P-gp的作用底物及体内分布广泛^[6],P-gp通过影响药物的吸收、分布、排泄、代谢等过程产生药物的转运性相互作用,最终引起药物的药效及毒性的改变。近年来,关于中-西药相互作用的研究^[7]已得到很多重视,在过去的几年里,圣约翰草(*St. John's wort*, SJW)^[8]是研究最为普及的草药,SJW和大蒜使茛地那韦和沙奎那韦浓度分别降低到57%和51%^[9]。这种相互作用可以改变抗艾滋病治疗的结果,茛地那韦和沙奎那韦的暴露减少会导致耐药菌株的增加,并最终导致HIV患者的治疗失败,而这一切都将归结于P-gp和CYP3A4的诱导。十日的纯中药成分(金丝桃素,山奈酚,槲皮素和水飞蓟宾)治疗结果引起P-gp的mRNA的表达量的增加^[10],槲皮素和山奈酚也被报道能够诱导P-gp,但是基于P-gp等转运体的中-西药转运性相互作用的研究仍较少,且研究P-gp转运体的科学方法也在不断发展中。本研究以MDR1膜产品为载体,运用ATP酶分析法,确定降脂中药复方是否与P-gp产生相互作用,并对该复方进行拆方确定该复方中能够与P-gp作用的单方,最后循序渐进找出能够与P-gp作用的中药单体,为体外评价中-西药相互作用和临床联合用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

多用途水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂);MK3酶标仪(Thermo公司,美国);96孔板(Nunc公司,丹麦)。

降脂中药复方(Fang-2)及其6个饮片水提物(上海中医药大学附属曙光医院);23-乙酰泽泻醇B(纯度≥98%,上海纯优生物科技有限公司,批号11070801);24-乙酰泽泻醇A(纯度≥98%,上海纯优生物科技有限公司,11122701);H-MDR1细胞膜产品(人MDR1细胞膜产品,日本GenoMembrane公司,批号GM0015 1010Y);Na₃N(叠氮化钠,批号JWF 7959,日本Wako公司);SDS(十二烷基磺酸钠,批号M2E8705日本Nacalai Tesque公司);Tris(批号UG2731LA01,美国Dow公司)。

氯化钾(批号20120604)、氯化镁(批号F20111220)、磷酸二氢钠(批号20120330)均购自国药集团化学试剂有限公司。

乌本苷(批号100M1337V)、DTT(二乙基二硫代氨基甲酸三钠水合物,批号BCBG1182V)、MOPS(批号SLBB4478V)、钼酸铵(S35764-306)、醋酸锌(批号0001440584)、L-抗坏血酸(批号648K0050)、原钒酸钠(批号028k0117)、5'-三磷酸腺苷二钠盐水合物(批号071M7016V)、DMSO(批号SHBB6765V)、EGTA(批号)均购自美国Sigma公司。

1.2 方法

1.2.1 磷酸标曲的建立 NaH₂PO₄溶解于超纯水中,用反应缓冲液(50 mM MOPS-tris (pH7.0), 0.1 mM EGTA, 50 mM KCl, 5 mM Na₃N, 2 mM DTT, 1 mM 乌本苷)配制系列浓度的NaH₂PO₄标曲工作液(0, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mM/mL)。各取60 μL加至96孔板中,加入200 μL显色溶液(临用前配制,混合20 mL 10%抗坏血酸和5 mL 35 mM钼酸铵/15 mM醋酸锌),37℃孵育20 min后,酶标仪检测630 nm处的吸光度值。

1.2.2 ATP酶活性检测 按照Sarkadi^[4]的ATP酶活性分析方法,通过测试无机磷释放量检测H-MDR1细胞膜的ATP酶活性。20 μg蛋白量的H-MDR1细胞膜混悬于10 μL的反应缓冲液中,加入20 μL测试药物溶液(测试药物溶于DMSO中,控制DMSO的终浓度为2%),分别加入10 μL反应缓冲液或者10 μL 12 mM Na₃VO₃溶液(作为原钒酸盐对照)。37℃水浴预孵育3 min后,加入20 μL 12 mM MgATP溶液启动反应,于37℃水浴孵育30 min后,加入30 μL 10% SDS终止反应。最后加入200 μL显色溶液(临用前配制),37℃孵育20 min后,酶标仪检测630 nm处的吸光度值。通过比色法检测无机磷释放量,计算ATP酶活性。

本实验除了钒酸盐对照组,还设立了阳性对照组(PC)、阴性对照组(NC)和空白对照组(BC)。阳性对照组以50 μM维拉帕米作为P-gp的标准底物,以检测P-gp转运体的ATP酶活性。阴性对照组未加底物,以检测P-gp转运体的基础ATP酶活性。空白对照组在加入MgATP启动反应之前先加SDS终止反应,以检测反应缓冲液本身释放的无机磷。

1.2.3 数据分析 根据标准磷酸溶液得到的吸光度值绘制磷酸标准曲线,然后得出磷量和吸光度值的相关方程。根据相关方程确定各孔中产生的无机磷量,无钒酸盐的个孔无机磷量减去钒酸盐对照组的无机磷量,即得钒酸盐敏感的ATP酶活性产生的磷量。根据无机磷量计算ATP酶活性公式如下:ATP酶活性(nmol Pi/min/mg protein)=无机磷量(nmol)/反应时间(min)/蛋白含量(mg)

2 结果

2.1 磷酸标准曲线

磷酸标准曲线为 $Y=0.0208X+0.0949$, $R^2=0.9999$ 。结果表明,磷量与吸光度值线性相关,相关性较好。而含磷量的变化表明ATP酶水解作用释放磷的变化,从而预示ATP酶活性的变化。

2.2 降脂中药复方与P-gp的相互作用

本实验中降脂中药复方以苍术、厚朴为君,泽泻、夏枯草、虎杖为臣,甘草佐助,调和诸药。本实验以 1 mg·mL⁻¹ 和 10 mg·mL⁻¹ 的降脂中药复方(Fang-2)作为测试组,通过 ATP 酶分析法考察该降脂中药复方与 P-gp 的相互作用。结果显示 1、10 mg·mL⁻¹ 测试组的 ATP 酶活性分别为 27.2、40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein(表 1 和图 1),远高于阴性对照组的 13.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein,表明降脂中药复方中存在 P-gp 的作用化合物,且呈一定的浓度依赖性。

表 1 降脂中药复方对 P-gp 的影响(n=4)

Table 1 The effect of Traditional Chinese Medicine on P-gp(n=4)

	ATPase activity /nmol Pi ·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein
Fang-2/1 mg·mL ⁻¹	27.2± 3.3
Fang-2/10 mg·mL ⁻¹	40.0± 4.8 ^a
PC	81.1± 12.2 ^a
NC	13.0± 1.9
BC	-0.42± 0.6

注: a 与阴性对照组(NC)存在极显著性差异(P<0.01)。
Note: a significantly different from the negative control (NC) (P<0.01).

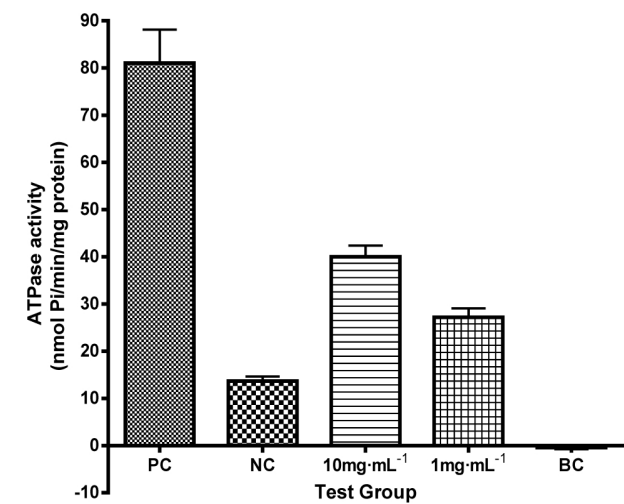


图 1 降脂中药复方对 P-gp 的影响
Fig.1 The effect of Chinese hebal compound on P-gp

2.3 复方中单方与 P-gp 的相互作用

为了确定降脂中药复方的六味单方各饮片与 P-gp 的相互作用,本实验将以各 10 mg·mL⁻¹ 的泽泻、甘草、虎杖、苍术、厚朴、夏枯草以及复方作为测试组,通过 ATP 酶分析法考察其中各单方与 P-gp 的相互作用。结果显示泽泻、厚朴、夏枯草与 P-gp 作用显著(表 2 和图 2),其强弱顺序为:泽泻(50.6 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein)> 夏枯草(42.6 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein)> 厚朴(40.0 nmol Pi·min⁻¹·mg⁻¹ protein)。其中泽泻组消耗的 ATP 最多,显示复方中泽泻与 P-gp 的亲合力最高,预示泽泻中存在 P-gp 的作用单体。

2.4 泽泻单体与 P-gp 的相互作用

泽泻为泽泻科植物泽泻 Alisma orientalis(Sam.) Juzep. 的干燥块茎。近代药理证明泽泻具有抑制动脉粥样硬化和活血化瘀的功效,以及利尿、降低血压、抗脂肪肝等作用^[1]。大量研究证明,泽泻醇类化合物是泽泻药材的调脂活性成分。23- 乙酰泽

表 2 单方对 P-gp 的影响(n=4)

Table 2 The effect of simple prescription on P-gp(n=4)

	ATPase activity/ nmol Pi ·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein
Rhizoma Alismatis 泽泻	50.6± 9.9 ^b
Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae 甘草	23.2± 3.6
Rhizoma Et Radiz Polygoni Cuspidati 虎杖	2.7± 1.2 ^a
Rhizoma Atractylodis 苍术	29.7± 7.4
Cortex Magnoliae Officinalis 厚朴	40.0± 2.2 ^a
Spica Prunellae 夏枯草	42.6± 4.6 ^a
Fang-2 中药降脂复方	46.1± 3.3 ^a
PC	77.0± 3.7 ^a
NC	26.1± 2.5
BC	2.0± 1.9

注: a 与阴性对照组(NC)存在极显著性差异(P<0.01), b 与阴性对照组(NC)存在显著性差异(P<0.05)。
Note: a significantly different from the negative control (NC) (P<0.01). b significantly different from the negative control (NC) (P<0.05).

泻醇 B 和 24- 乙酰泽泻醇 A 等成分为其主要成分,其中以 23- 乙酰泽泻醇 B 的含量最高,24- 乙酰泽泻醇 A 的降胆固醇作用最强。

本实验以 0.1、0.5、2.5、10、15 μM 的 23- 乙酰泽泻醇 B 和 24- 乙酰泽泻醇 A 为测试组通过 ATP 酶分析法考察泽泻单体是否与 P-gp 产生相互作用。为避免 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 与显色溶剂发生作用生成磷而影响结果^[12],本实验将未加 H-MDR1 膜产品的同样浓度梯度的 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 作为药物空白对照,结果显示药物空白对照组的 ATP 酶活相近且不随浓度的变化而变化(表 3),表明 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 与显色剂不发生释放无机磷的化学作用,不影响实验最终结果。表 3 和图 3a,b 的结果同样说明 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 与 P-gp 有很强的相互作用,且呈浓度依赖性,运用 GraphPad Prism 6.0 计算机拟合米氏方程得到 ATP 酶活的 K_m , V_{max} 值(表 4), K_m 的数据显示 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 均与 P-gp 有较高的亲和力和。

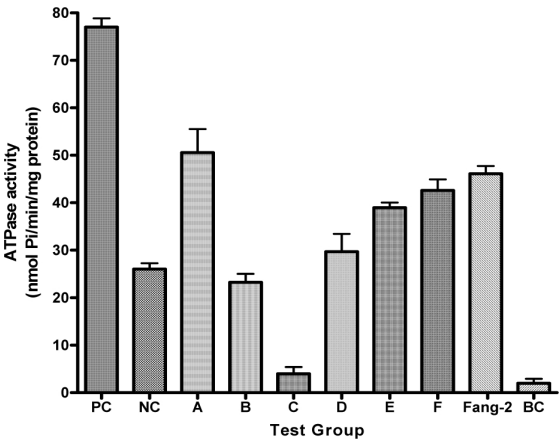


图 2 单方对 P-gp 的影响

Fig.2 The effect of single Chinese hebal drug on P-g

Note: A: Rhizoma Alismati 泽泻 s; B: Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae 甘草; C: Rhizoma Et Radiz Polygoni Cuspidati 虎杖; D: Rhizoma Atractylodis 苍术; E: Cortex Magnoliae Officinalis 厚朴; Spica Prunellae; F: Spica Prunellae 夏枯草)

表 3 泽泻单体 23- 乙酰泽泻醇 B、24- 乙酰泽泻醇 A 对 P-gp 的影响(n=4)
Table 3 The effect of Alisol B 23-acetate, Alisol A 24-acetate on P-gp(n=4)

	ATPase activity/nmol Pi · min ⁻¹ · mg ⁻¹ protein	
	H-MDR1membrane product(+)	H-MDR1membrane product(-)
Alisol B 23-acetate / 0.1 μM	17.5± 6.1	-2.26
Alisol B 23-acetate /0.5 μM	21.8± 1.0	-4.16
Alisol B 23-acetate /2.5 μM	32.1± 5.0	-2.50
Alisol B 23-acetate /10 μM	47.8± 3.5 ^a	-4.26
Alisol B 23-acetate /15 μM	52.8± 1.3 ^a	-2.03
Alisol A 24-acetate / 0.1 μM	9.7± 3.2 ^b	2.29
Alisol A 24-acetate / 0.5 μM	14.2± 3.8	-4.53
Alisol A 24-acetate / 2.5 μM	27.4± 10.4	0.08
Alisol A 24-acetate / 10 μM	43.9± 4.7 ^a	-0.82
Alisol A 24-acetate / 15 μM	52.9± 5.3 ^a	-2.66
PC	71.9± 3.8 ^a	--
NC	17.7± 2.7	--
BC	-0.69± 0.4	--

注: a 与阴性对照组(NC)存在极显著性差异(P<0.01), b 与阴性对照组(NC)存在显著性差异(P<0.05)。
Note: a significantly different from the negative control (NC) (P<0.01). b significantly different from the negative control (NC) (P<0.050).

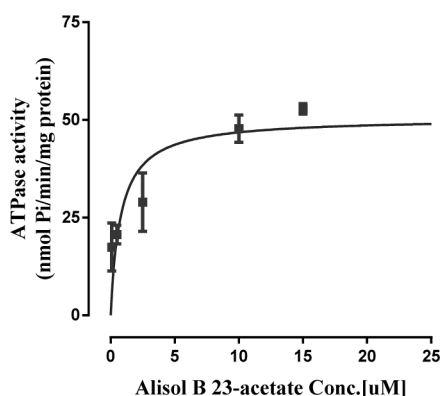
表 4 药物刺激 MDR1 ATP 酶活的 K_m 、 V_{max} 值
Table 4 K_m , V_{max} values of drug-stimulated ATPase activity of MDR1

Drugs	$K_m/\mu\text{M}$	$V_{\text{max}}/\text{nmol Pi} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$
Alisol B 23-acetate	0.79± 0.28	50.51± 3.72
Alisol A 24-acetate	2.01± 0.67	56.28± 4.6

3 讨论

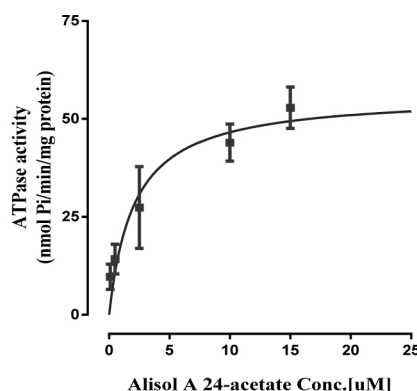
多药耐药(MDR)是指细胞可耐受结构、功能及杀伤机制不同的多种药物的致死量,一旦细胞对某种药物产生耐药性,即可以同时多种药物产生耐药性,MDR 分子机制复杂,P- 糖

蛋白的外排泵机制是其主要机制^[13]。P- 糖蛋白是 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运体蛋白超家族成员之一。体外 ABC 转运体研究主要包括两类:1) 基于表达转运体的完整细胞;2)利用含有转运体的膜产品。其中运用膜产品进行体外转运体评价操作周期短,便于我们深入了解药物与 ABC 转运体



a) 23-乙酰泽泻醇 B 对 P-gp 的影响

a) The effect of Alisol B 23-acetate on P-gp



b) 24-乙酰泽泻醇 A 对 P-gp 的影响

b) The effect of Alisol A 24-acetate on P-gp

图3 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 对 P-gp 的影响

Fig.3 The effect of Alisol B 23-acetate, Alisol A 24-acetate on P-gp

的作用性质,目前此类体外评价方法主要包括三类:1)ATP 酶分析法^[4];2)囊泡转运分析法^[14];3)核苷酸捕获法^[15]。ATP 酶分析法操作简单、重现性高,用于考察药物是否被 P-gp 转运,可用于高通量筛选 P-gp 底物。

许多药物已经被确定为 P-gp 的底物,如长春新碱、紫杉醇、环孢素 A、地高辛等,近来已有文献表明许多天然产物及其衍生物也是 P-gp 底物,运用 MDR1 转染 MDCK 细胞 II、Caco-2 细胞单层模型等转运体研究方法已证实槲皮素、葛根素等黄酮类化合物和生物碱类化合物是 P-gp 的底物^[16],与 P-gp 有着较强的相互作用。本文首次通过 ATP 酶分析法研究中药复方与 P-gp 的作用,发现该中药复方中存在 P-gp 的作用化合物。继而通过拆方研究复方中各六味单方与 P-gp 的作用,发现泽泻、厚朴、夏枯草饮片的 P-gp ATP 酶活较高,其中泽泻的 ATP 酶活最高,进一步显示泽泻中存在 P-gp 的强亲和底物。最后通过泽泻的主要成分 23-乙酰泽泻醇 B 和活性成分 24-乙酰泽泻醇 A 的 P-gp ATP 酶活动力学研究,表明 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 很有可能是 P-gp 的底物。

P-gp 是一种广泛分布于体内组织的外排转运体,联合用药时,P-gp 是许多药物之间相互作用的重要原因,而由于中药成分较复杂,中西药转运性相互作用的研究鲜少,近来,随着临床上中药和西药联用或序贯应用的情况越来越多,考察 MDR1 体外转运情况越来越重要。而本研究所用 ATP 酶分析法操作简单、重复性好,可以检测大多数转运体-药物相互作用,尤其对于复杂中药复方的研究具有非常重要的意义。ATP 酶分析法将会是临床相关药物-转运体相互作用研究的重要筛选工具,用以预测中西药转运性相互作用,对临床指导合理用药具有重要意义。但是,要完整了解药物与转运体作用情况还需要结合更多其他方法,如上述囊泡转运分析法或 Caco-2 单层细胞分析^[17]等,如何结合不同方法系统说明药物相互作用尤其是中西药相互作用情况有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance [J]. Annu Rev Med, 2002, 53: 615-627
- [2] Borst P, Elferink RO. Mammalian ABC transporters in health and dis-

ease[J]. Annu Rev Biochem, 2002, 71:537-592

- [3] Gottesman MM, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter [J]. Annu Rev Biochem, 1993, 62: 385-427
- [4] Sarkadi B, Price EM, Boucher RC, et al. Expression of the human multidrug resistance cDNA in insect cells generates a high activity drug-stimulated membrane ATPase[J]. Biol Chem, 1992, 267 (7):4854-4858
- [5] Erik Procko, Megan L., O'Mara, et al. The mechanism of ABC transporters: general lessons from structural and functional studies of an antigenic peptide transporter[J]. The FASEB Journal, 2009, 23:1287-1302
- [6] 聂昊,王晖. P 糖蛋白在不同组织中的分布与功能研究进展[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(4):456-460
- Nie Hao, Wang Hui. Advances in the expression and function of p-glycoprotein in different human tissues[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2012, 28(4):456-460
- [7] Hafner-Blumenstiel V. Herbal drug-drug interaction and adverse drug reaction[J]. 2011, 68:54-57
- [8] Gul Dulger. Herbal drugs and drug interactions[J]. 2012, 16:9-22
- [9] Piscitelli SC, Burstein AH, Chait D, et al. Indinavir concentrations and St. John's wort[J]. Lancet, 2000, 355:547-548
- [10] Patel J, Buddha B, Dey S, Pal D, et al. In vitro interaction of the HIV protease inhibitor ritonavir with herbal constituents: changes in P-gp and CYP3A4 activity[J]. Am J Ther, 2004, 11:262-277
- [11] 钱丽萍,江月萍,阙慧卿等. 泽泻及复方制剂的化学成分及药理活性的研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(12):8-11
- Qian Li-ping, Jiang Yue-ping, Que Hui-qing, et al. Alisma orientale and the chemical composition of compound preparation and pharmacological activity of progress[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2010, 22(12):8-11
- [12] Shirasaka Y, Onishi Y, Sakurai A, et al. Evaluation of human P-glycoprotein (MDR1/ABCB1) ATPase activity assay method by comparing with in vitro transport measurements: Michaelis-Menten kinetic analysis to estimate the affinity of P-glycoprotein to drugs [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29 (12): 2465-2471

轻心肌损伤。该机制可能是曲美他嗪预防放射性治疗后心肌损伤的重要机制之一,并为放射性心肌损伤的防治提供新颖的思路。但预防放射性心肌损伤是一个系统工程,后期仍需进行大量动物及临床实验提供理论支持。

参考文献(References)

- [1] Borca V C, Franco P, Catuzzo P, et al. Does TomoDirect 3DCRT represent a suitable option for post-operative whole breast irradiation? A hypothesis-generating pilot study [J]. *Radiation Oncology*, 2012, 7(1): 211
- [2] Giraud P, Cosset J M. Radiation toxicity to the heart: physiopathology and clinical data[J]. *Bulletin ducancer*, 2004, 91: 147
- [3] Gustavsson A, Osterman B, Cavallin-ståhl E. A systematic overview of radiation therapy effects in Hodgkin's lymphoma [J]. *Acta oncologica*, 2003, 42(5-6): 589-604
- [4] Schultz-Hector S, Trott K R. Radiation-induced cardiovascular diseases: is the epidemiologic evidence compatible with the radiobiologic data?[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2007, 67(1): 10-18
- [5] Liu H, Xiong M, Xia Y F, et al. Studies on pentoxifylline and tocopherol combination for radiation-induced heart disease in rats[J]. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 2009, 73 (5): 1552-1559
- [6] 陈小平, 郑新萍, 薛伟珍, 等. 依那普利对放射性心肌损伤 cTnT 的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2005, 3(2): 104-106
- [7] Dedkova E N, Seidlmayer L K, Blatter L A. Mitochondria-mediated cardioprotection by trimetazidine in rabbit heart failure [J]. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2013
- [8] Soloviev A I, Tishkin S M, Parshikov A V, et al. Mechanisms of endothelial dysfunction after ionized radiation: selective impairment of the nitric oxide component of endothelium-dependent vasodilation[J]. *British journal of pharmacology*, 2003, 138(5): 837-844
- [9] Heidenreich P A, Kapoor J R. Radiation induced heart disease [J]. *Heart*, 2009, 95(3): 252-258
- [10] Adams M J, Lipshultz S E, Schwartz C, et al. Radiation-associated cardiovascular disease: manifestations and management[C]// *Seminars in radiation oncology*. WB Saunders, 2003, 13(3): 346-356
- [11] Gagliardi G, Constine L S, Moiseenko V, et al. Radiation dose-volume effects in the heart[J]. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 2010, 76(3): S77-S85
- [12] Garot J. Radiation-Induced Heart Disease [J]. *Circulation: Heart Failure*, 2011, 4(1): e1-e2
- [13] Mousavi N, Nohria A. Radiation-Induced Cardiovascular Disease[J]. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, 2013, 15(5): 507-517
- [14] Brosius F C, Waller B F, Roberts W C. Radiation heart disease: analysis of 16 young (aged 15 to 33 years) necropsy patients who received over 3,500 rads to the heart[J]. *The American journal of medicine*, 1981, 70(3): 519-530
- [15] Cummins B, Auckland M L, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction[J]. *American heart journal*, 1987, 113(6): 1333-1344
- [16] Ilva T, Lund J, Porela P, et al. Early markers of myocardial injury: cTnI is enough[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2009, 400(1): 82-85
- Xiaoping C, Xinping Z, Weizhen X. Effect of Enalapril on cTnT in Radiogenic Myocardial Damage[J]. 2005
- [17] Boerma M. Experimental Radiation-Induced Heart Disease: Past, Present, and Future[J]. *Radiation research*, 2012, 178(1): 1-6
- [18] Drabek T, Janata A, Wilson C D, et al. Minocycline attenuates brain tissue levels of TNF- α produced by neurons after prolonged hypothermic cardiac arrest in rats[J]. *Resuscitation*, 2013
- [19] Curato C, Slavic S, Dong J, et al. Identification of noncytotoxic and IL-10 – producing CD8⁺ AT2R⁺ T cell population in response to ischemic heart injury[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(10): 6286-6293
- [20] Cera M, Salerno A, Fragasso G, et al. Beneficial electrophysiological effects of trimetazidine in patients with postischemic chronic heart failure [J]. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 2010, 15(1): 24-30
- (上接第 1817 页)
- [13] Erik procko, Megan L.O'Mara, W.F. Drew Bennett, et al. The mechanism of ABC transporters: general lessons from structural and functional studies of an antigenic peptide transporter [J]. *FASEB*, 2009, 23: 1287-1302
- [14] A Dreiseitel, B Oosterhuis, KV Vukman, et al. Berry anthocyanins and anthocyanidins exhibit distinct affinities for the efflux transporters BCRP and MDR1 [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 158: 1912-1950
- [15] Tip W.Loo, M, Claire Bartlett, David M. Clarke. Processing Mutation Disrupt Interactions between the Nucleotide Binding and Transmembrane Domains of P-glycoprotein and the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) * [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(42): 28190-28197
- [16] 兰珂. P-糖蛋白在醋柳黄酮组分口服吸收中的作用与调控研究[D]. 四川: 四川大学, 2007
- Lan Ke. The role and modulation of P-glycoprotein in the absorption of components in the Total Flavones of Hippophae Rhamnoides L [D]. Si Chuan: Si Chuan University, 2007
- [17] Enoche F, Oga, Shuichi Sekine, Yoshihisa Shitara, et al. P-glycoprotein mediated efflux in Caco-2 cell monolayers: The influence of herbals on digoxin transport[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 144: 612-617