

雷公藤甲素通过抑制细胞色素 P450 3A4 酶增强肝损伤研究

杨新华^{1,2} 夏宏光¹ 金涌¹

摘要 目的 研究雷公藤甲素诱导细胞色素 P450 3A4 (CYP3A4) 表达下调在其引发肝损伤中的作用。方法 将 L-02 细胞和 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 4 组,分别为正常组(C)、雷公藤甲素(TP)组、雷公藤甲素(TP)+卡马西平(CBZ)组、雷公藤甲素(TP)+氨氯地平(AML)组,24 h 后收集培养基,C57BL/6 雄性小鼠 2 周后安乐死,取血和肝脏。流式细胞仪观察用药后各组细胞的凋亡率,小鼠肝脏进行组织染色观察肝细胞损伤情况。试剂盒检测细胞上清液和小鼠血清的丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase,ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase,AST)。通过 Western blot 法和 RT-PCR 法检测细胞和小鼠肝脏 CYP3A4 的 mRNA 和蛋白表达水平,应用高效液相色谱法检测细胞培养基中和小鼠血清中雷公藤甲素的含量。结果 流式细胞仪检测的细胞凋亡结果和小鼠肝脏病理照片结果显示,TP 组明显比 C 组严重,加入 P450 3A4 诱导剂的 TP+CBZ 组则明显减轻,而加入 P450 3A4 抑制剂的 TP+AML 组的细胞进一步加剧。体内外 ALT 和 AST 检测结果显示,TP 组明显高于 C 组,TP+CBZ 组则明显降低,TP+AML 组进一步增加。Western blot 法和 RT-PCR 结果显示,TP 组 CYP3A4 表达量明显低于 C 组,TP+CBZ 组的 CYP3A4 表达量则明显升高,TP+AML 组的 CYP3A4 表达量更低。高效液相色谱法检测结果显示,TP+CBZ 组中 TP 的含量低于 TP 组,而 TP+AML 组中 TP 的含量则相反。结论 TP 通过抑制其主要代谢酶 CYP3A4 来减慢自身代谢,可能是其产生肝损伤的机制之一。

关键词 L-02 细胞;雷公藤甲素;细胞色素 P450 3A4;卡马

西平;氨氯地平;肝脏

中图分类号 R 657.3;R 977.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)04-0496-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.003

雷公藤(tripterygium wilfordii hook f, TWHF) 是一种藤本植物, TWHF 的粗提物已被广泛用作治疗自身免疫性疾病和炎症性疾病的处方^[1], 如类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、IgA 肾病、狼疮性肾炎、肾小管间质性肾炎、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE) 并对组织和器官移植有益^[2]。雷公藤甲素(triptolide, TP) 又称雷公藤内酯醇, 是从 TWHF 的粗提取物中分离的复合三环氧化物二萜。作为 TWHF 的主要生物活性成分之一, 它在体外和体内均具有独特的生物活性。然而在 TP 达到其临床潜力之前, 仍然需要克服众多问题, 如水溶性差、治疗窗口狭窄和多器官毒性(包括损害消化系统、泌尿生殖系统、血液循环系统以及骨髓)。长期使用可导致严重的不良事件, 如肝肿大、丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST) 升高等^[3]。目前 TP 诱发肝脏损伤的确切作用机制尚不明确。细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP450) 是一组结构和功能相关的超家族基因编码的同工酶, 主要存在于生物体的内质网内, 是混合功能氧化酶中最重要的一种酶系^[4]。CYP3A 酶有 3A4、3A5、3A7 和 3A43 4 个亚型^[5], 成人 CYP3A 酶分别占肝脏和小肠总 P450 酶的 40% 和 80%, 以 3A4 为主^[6]。CYP3A 酶参与机体内源性物质和外源性物质的生物转化, 在调节机体与外环境的相互作用以及保持机体内环境稳态中发挥重要作用^[7]。CYP3A 酶活

2019-12-20 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1808085MH284)

作者单位: ¹安徽医科大学药学院, 合肥 230032

²合肥市第八人民医院药剂科, 合肥 238000

作者简介: 杨新华, 男, 硕士研究生;

金涌, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: jinyong

@ahmuina.edu.cn

lower hippocampal GluR1 levels (all $P < 0.01$). The difference had statistical significance. Correlation analysis showed that only the hippocampal level of GluR1 in the 15-month mice negatively correlated with swimming distance and positively correlated with the percentage of swimming distance in target quadrant. **Conclusion** The results suggest that the middle-aged CD-1 mice decrease GluR1 content of hippocampus which correlates with impaired ability of spatial learning and memory, and maternal exposure to inflammation in the late pregnancy accelerate this change.

Key words aging; lipopolysaccharide; learning and memory; glutamate receptor 1

性受多种因素影响,例如遗传多态性、机体生理或病理状态以及合并用药情况,尤以遗传多态性最为显著。TP在大鼠肝微粒体中代谢主要由CYP3A4介导。该文主要研究TP对其主要代谢酶CYP3A4的影响以及与肝损伤之间的关联性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株与动物 L-02细胞购自中国科学院上海细胞库。生长于含10%胎牛血清培养液中,在37℃、5% CO₂恒温恒湿培养箱内换液传代培养,实验均采用对数期细胞。24只C57BL/6雄性小鼠(6~8周,18~20g)购自安徽医科大学动物实验中心,小鼠的饲养环境为SPF级动物房,室温20~25℃,湿度为40%~60%,每笼2只。

1.1.2 主要试剂 TP(成都普思生物);卡马西平(carbamazepine, CBZ)(上海阿拉丁)、氨氯地平(amlodipine, AML)(上海阿拉丁)、甲醇(色谱纯)购自上海化学试剂总厂;RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司;胎牛血清购自杭州四季青公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自美国Sigma公司;β-actin抗体和山羊抗兔IgG均购自北京博奥森科技有限公司;CYP3A4抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;BCA蛋白浓度试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;ALT、AST检测试剂盒购自南京建成公司。

1.1.3 主要仪器 全波长酶标仪(美国Biotek公司);显影仪(上海欧翔科学仪器有限公司);色谱柱:Shim-pack ODS C₁₈柱 A, 6 mm × 250 mm, 高效液相色谱仪(日本岛津)。

1.2 方法

1.2.1 MTT法筛选 CBZ(CYP3A4酶诱导剂)、AML(CYP3A4酶抑制剂)^[8]和TP对L-02细胞株的生长抑制率。取消化后的L-02细胞,以每孔 1×10^4 个细胞密度接种于96孔板。观察细胞贴壁后加入药物CBZ,浓度分别为25、50、60、70、80、90、100、110、120 μmol/L,每组做6个复孔,再取消化后的L-02细胞,以每孔 1×10^4 个细胞密度接种于96孔板。观察细胞贴壁后加入药物AML,浓度分别为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 μmol/L,每组做6个复孔,再取消化后的L-02细胞,以每孔 1×10^4 个细胞密度接种于96孔板。观察细胞贴壁后加入药物TP,浓度分别为23、24、25、26、27、28、29、30、31 nmol/L,每组做6个复孔。加药刺激24 h。并于实

验结束后均加入MTT(5 mg/ml) 20 μl并继续培养4 h。将上清液倒掉,每孔再加入DMSO 200 μl,震荡至溶解完全,以酶标仪测定490 nm吸光度。

1.2.2 细胞实验分组及对肝细胞存活的影响 取消化后L-02细胞,以每孔 5×10^5 个细胞密度接种于6孔板。观察细胞贴壁后将细胞分为C组、TP组、TP+CBZ组、TP+AML组。C组加入少量DMSO作空白对照,TP组加入23 nmol/L的TP,TP+CBZ组加入23 nmol/L的雷公藤甲素和25 μmol/L的CBZ,TP+AML组加入23 nmol/L的TP和10 μmol/L的AML,作用24 h。贴壁细胞的收集用不含乙二胺四乙酸(Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)的胰酶消化(胰酶消化的时间不易过长,否则易引起假阳性),1 000 r/min离心5 min后收集,用PBS洗涤细胞3次,收集细胞 $(1 \sim 5) \times 10^5$ 个,然后加入100 μl的Binding Buffer悬浮细胞,再加入5 μl Annexin V-FITC混匀后,最后加入2 μl Propidium Iodide,充分混匀。避光、室温37℃、反应时间5~15 min,在1 h内,使用流式细胞仪进行检测。并单独收集各组细胞的培养液用于检测。

1.2.3 动物实验分组 取24只C57BL/6雄性小鼠(6~8周),喂养1周适应环境后分别喂食正常饲料、TP(0.6 mg/kg/d)、TP(0.6 mg/kg/d)+AML(1.0 mg/kg/d)、TP(0.6 mg/kg/d)+CBZ(24 mg/kg/d),喂养2周后安乐死,取血清、肝脏。

1.2.4 小鼠苏木精-伊红(HE)染色 将活组织用4%多聚甲醛溶液固定后包埋在石蜡中。将切片(4 μm)用苏木精(5%)染色10 min。首先将组织切片在蒸馏水中漂洗、酸化,然后在伊红中染色5 min。脱水和盖玻片安装后,在明视野显微镜下观察组织切片。

1.2.5 ALT、AST的检测 按照试剂盒说明书用酶标仪测定各组L-02细胞上清液和小鼠血清中AST、ALT的含量。

1.2.6 CYP3A4 mRNA的检测 采用RT-PCR法,首先按照takara试剂盒说明书提取4组L-02细胞及小鼠肝脏的RNA,根据逆转录试剂盒说明书操作合成cDNA。使用qPCR试剂盒进行扩增反应,反应体系为20 μl。

CYP3A4上游引物:5'-GCACCGAGTGGATTTCCTTC-3';下游引物:5'-CGTGGTTTCATAGCCAGCAA-3'。β-actin上游引物:5'-AGTGTGACGTTGACATCCGT-3',下游引物:5'-TGCTAGGAGCCAGAGCAGTA-3'。以β-actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算

mRNA 表达量,实验重复 3 次。

1.2.7 CYP3A4 的 Western blot 分析 采用 Western blot 法,收取 4 组 L-02 细胞和小鼠肝脏并加入 RIPA 细胞裂解液提取蛋白质,1:4 加入 5X 上样缓冲液。沸水浴加热 10 min 冷却后上 SDS-PAGE 电泳分离蛋白质,半干转法将蛋白质转移至 PVDF 膜;5% 脱脂奶粉封闭;滴加 CYP3A4 一抗(CYP3A4 抗体,兔,武汉三鹰,1:1 000;β-actin 抗体,小鼠,中杉金桥,1:1 000) 4℃ 过夜;加入适当稀释度的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP) 标记的二抗(山羊抗兔辣根过氧化物酶,中杉金桥,1:5 000) 室温孵育 2 h,然后 TBST 洗涤 3 次;加入 ECL 曝光液,曝光显影后,使用 Image J 软件进行条带分析。

1.2.8 TP 含量检测 取 L-02 细胞上清液和小鼠血清,加入地西洋溶液作为内标溶液,溶剂为甲醇,流动相为甲醇:水(50:50),流速 1 ml/min,柱温 40℃,检测波长 217 nm。精密吸取 200 μl 内标液(0.5 μg/ml)于玻璃试管中,40℃ 氮气吹干。先后于此玻璃管中加入 2 ml 培养液,涡旋混合 3 min,1 200 r/min 离心 5 min,取上清液后加入 1 ml 乙酸乙酯,静置分层后,12 000 r/min 离心 30 min,离心后取上清液,用氮气吹干,溶解于 100 μl 甲醇中,取 20 μl 进样。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行分析,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组均数比较采用 t 检验,3 组均数比较采用方差分析,定性资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 实验结果 不同浓度的 CBZ 对 L-02 细胞的抑制率如图 1A 所示,不同浓度的 AML 对 L-02 细胞的抑制率如图 1B 所示,不同浓度的 TP 对 L-02 细胞的抑制率如图 1C 所示,但在选择药物对细胞作用的最佳浓度时,应考虑到细胞存活率这个影响因素,若细胞存活率过低,提示药物对细胞造成过度损伤,过度损伤的细胞再用药物进行作用,效果不明显。故本研究最终选择 CBZ 的药物作用浓度为 25 μmol/L,AML 的药物作用浓度为 10 μmol/L,TP 的药物作用浓度为 23 nmol/L,因为这个药物浓度对 L-02 细胞的损伤作用较小,L-02 细胞的存活率较高。

2.2 药物联合应用后各组细胞凋亡率 如图 2 所示,在 L-02 细胞中单独加入 TP 后与正常组相比细

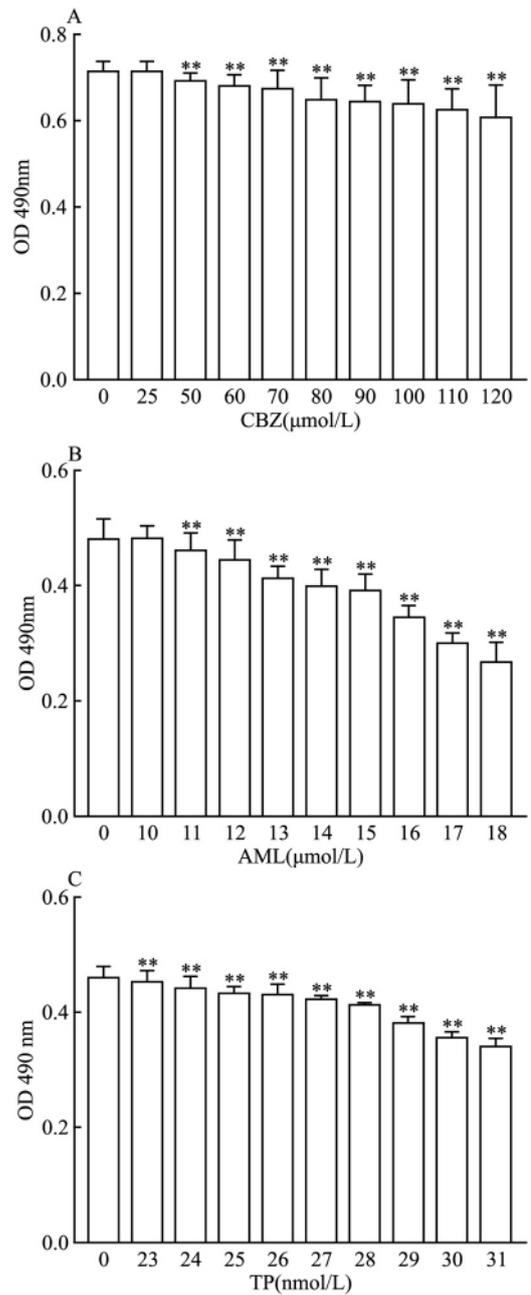


图 1 MTT 实验结果

A: CBZ; B: AML; C: TP; 0 nmol/L 比较: ** $P < 0.01$

胞凋亡率升高,加入 CYP3A4 酶诱导剂 TP + CBZ 组细胞凋亡率与 TP 组相比有所降低,但仍高于正常组的凋亡率,CYP3A4 酶抑制剂的 TP + AML 组细胞凋亡率与 TP 组相比有所升高。

2.3 各组细胞上清的 ALT、AST 含量 使用试剂盒检测细胞培养液中的 ALT、AST 结果如图 3 所示,在图中可以看出 TP + AML 且中的 AST、ALT 含量最高,说明抑制剂组的 L-02 细胞损伤最为严重,其次是 TP 组,再然后是 TP + CBZ 组。

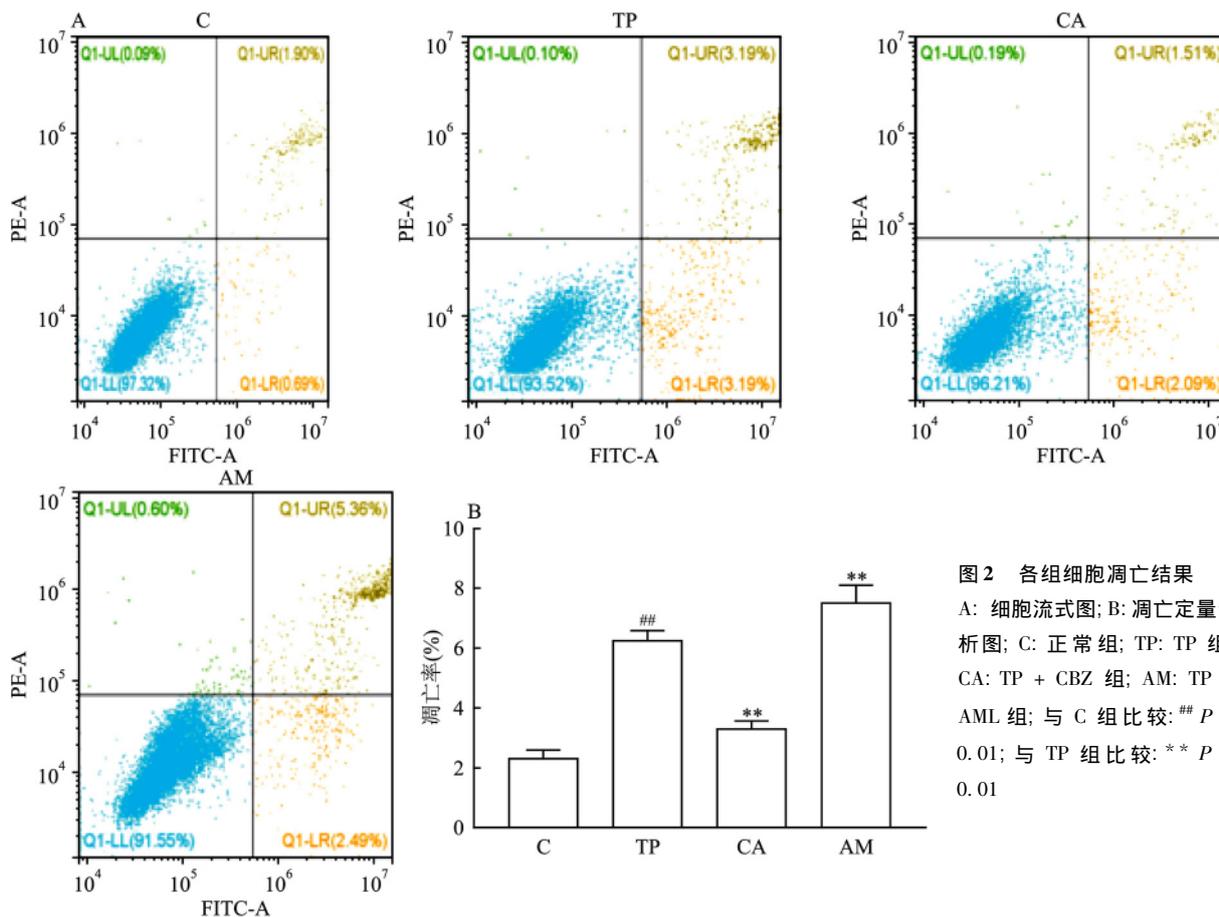


图2 各组细胞凋亡结果
A: 细胞流式图; B: 凋亡定量分析图; C: 正常组; TP: TP组; CA: TP + CBZ组; AM: TP + AML组; 与C组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与TP组比较: ^{**} $P < 0.01$

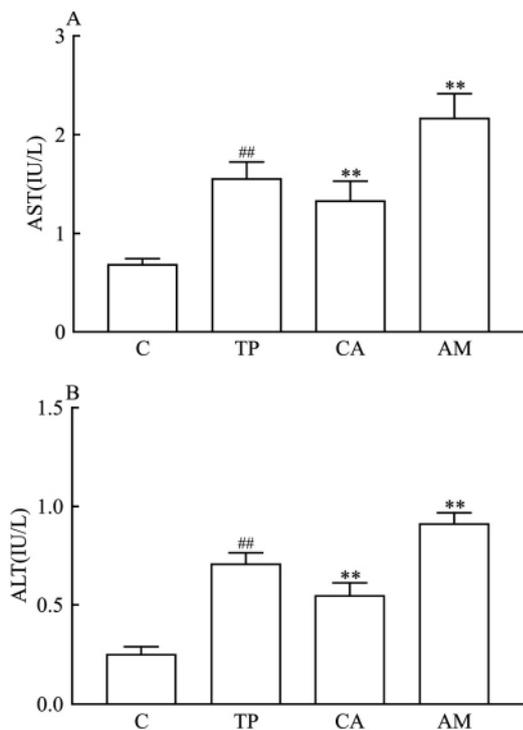


图3 各组细胞上清AST和ALT含量

A: 各组细胞上清AST含量; B: 各组细胞上清ALT含量; C: 正常组; TP: TP组; CA: TP + CBZ组; AM: TP + AML组; 与C组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与TP组比较: ^{**} $P < 0.01$

2.4 各组肝脏细胞 CYP3A4 mRNA 和蛋白质表达水平 定量PCR结果表明,TP明显下调肝脏细胞CYP3A4 mRNA表达,CBZ显著拮抗TP对肝脏细胞CYP3A4 mRNA表达的下调效应,而AML进一步加剧TP对肝脏细胞CYP3A4 mRNA表达的下调效应(图4A)。Western blot结果显示,TP明显下调肝脏细胞CYP3A4蛋白质表达,CBZ显著拮抗TP对肝脏细胞CYP3A4蛋白质表达的下调效应,而AML进一步加剧TP对肝脏细胞CYP3A4蛋白质表达的下调效应(图4B)。

2.5 各组细胞上清中TP的含量 高效液相色谱结果显示,该方法的校正曲线公式为 $Y = 503.5X - 0.564$ ($R^2 = 0.999$)。高效液相色谱图结果如图5,各组培养基中剩余TP的含量如表1,结果显示TP + AML组中TP的含量最高,TP + CBZ组中TP的含量最低。

表1 各组中剩余TP含量(ng/ml $n = 6 \bar{x} \pm s$)

组织	TP组	TP + CBZ组	TP + AML组
细胞	8.43 ± 0.71	5.37 ± 0.83 [*]	10.52 ± 0.42 [*]
小鼠	54.60 ± 6.20	24.50 ± 6.20 [*]	77.10 ± 8.30 [*]

与TP组比较: ^{*} $P < 0.05$

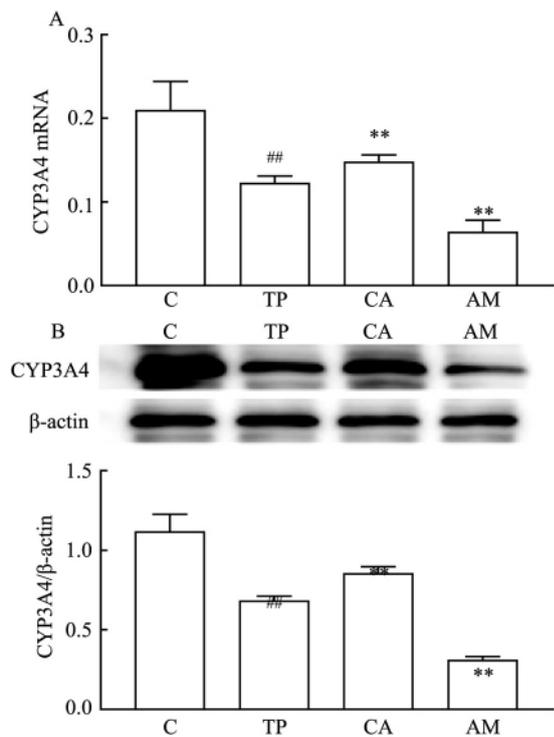


图4 联合用药后各组 CYP3A4 mRNA 和蛋白表达水平

A: CYP3A4 mRNA 水平; B: CYP3A4 蛋白表达水平; C: 正常组; TP: TP 组; CA: TP + CBZ 组; AM: TP + AML 组; 与 C 组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与 TP 组比较: ^{**} $P < 0.01$

2.6 小鼠肝脏 HE 染色结果与血清 AST、ALT 的含量 HE 染色结果显示 TP + AML 组肝脏损伤最为严重,AST 及 ALT 的含量最高。其次是 TP 组 程度最轻的是 TP + CBZ 组。见图 6。

2.7 各组小鼠肝脏中 CYP3A4 的 mRNA 及蛋白表达水平 结果显示 TP + AML 组的 CYP3A4 的 mRNA 及蛋白表达最低,其次是 TP 组,降低最少的是 TP + CBZ 组。见图 7。

2.8 各组小鼠血清中 TP 的含量 高效液相色谱结果显示各组小鼠血清中 TP 的含量如表 1,结果显示 TP + AML 组中 TP 的含量最高,TP + CBZ 组中 TP 的含量最低。

3 讨论

既往研究^[9]表明,TP 可通过多种机制引起肝损伤,如诱导细胞凋亡、诱导氧化应激、诱导诱导型一氧化氮合酶表达、引起免疫损伤等,其中 CYP450 代谢异常是药物性肝损伤的主要发病机制之一^[10]。一项关于肝脏小鼠模型的研究^[11]报道,肝脏 CYP450 的失活抑制了肝脏中的 TP 代谢,导致该化合物的生物利用度和毒性增加。

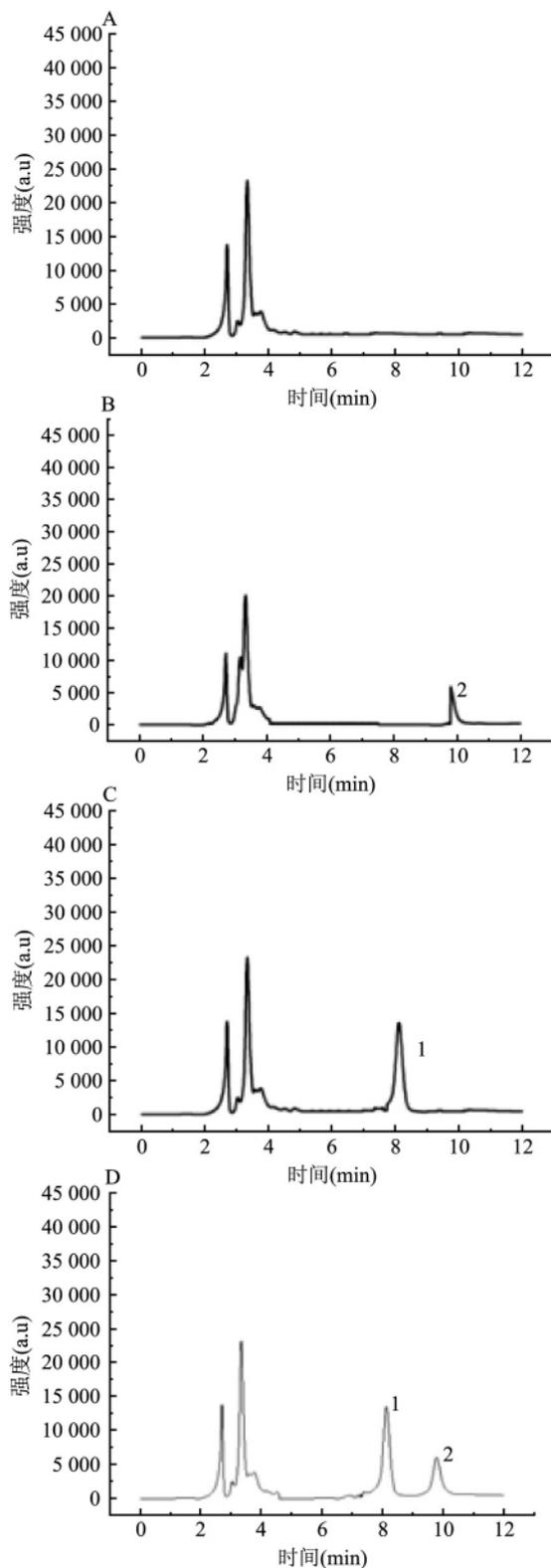


图5 高效液相色谱图

A: 未添加; B: 添加 TP; C: 添加地西泮; D: 添加地西泮和 TP; 1: 地西泮(内标); 2: TP

CYP450 酶参与大多数异生化合物的生物转化^[12]。CYP3A4 是 CYP450 的一种亚型,TP 主要被

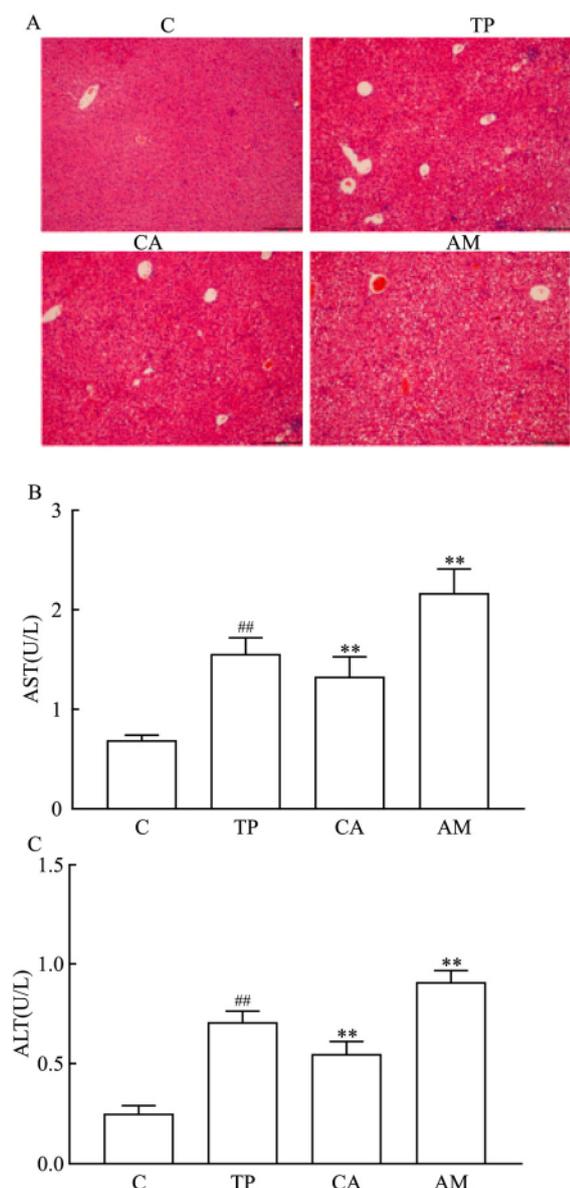


图6 肝脏 HE 染色结果与血清 AST、ALT 的含量

A: HE 染色结果 $\times 200$ (空泡代表肝脏损伤); B: 小鼠血清中 AST 含量; C: 小鼠血清中 ALT 含量; C: 正常组; TP: TP 组; CA: TP + CBZ 组; AM: TP + AML 组; 与 C 组比较: $## P < 0.01$; 与 TP 组比较: $** P < 0.01$

CYP3A4 代谢^[10]。CYP3A4 不仅参与了 TP 的代谢, TP 对它还有一定的抑制作用^[13]。本研究以正常肝细胞 L-02 和 C57BL/6 雄性小鼠为对象,探讨 CYP3A4 在 TP 对肝损伤中的作用。

本研究的体内外实验结果显示 TP 对 L-02 细胞和 C57BL/6 雄性小鼠的 CYP3A4 的表达均有明显的抑制作用,与此同时,TP 对 L-02 细胞和 C57BL/6 小鼠肝脏均有损伤作用。加入 CYP3A4 抑制剂 AML 后,CYP3A4 的表达进一步减少,TP 含量明显增加,提示 TP 代谢降低,其结果是 TP 对 L-02 细胞

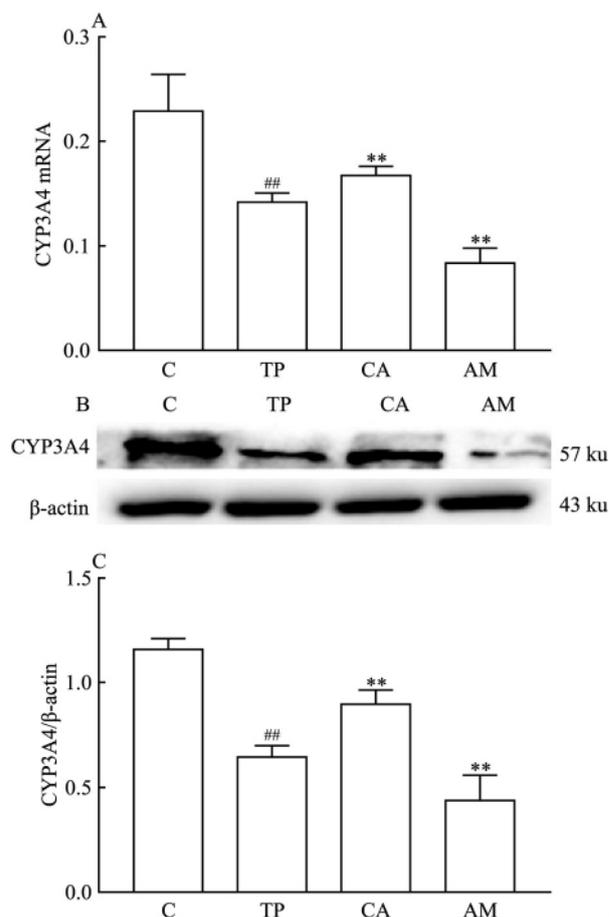


图7 联合用药后各组 CYP3A4 的蛋白及 mRNA 结果

A: CYP3A4 mRNA 水平; B: CYP3A4 蛋白表达水平; C: CYP3A4/ β -actin; C: 正常组; TP: TP 组; CA: TP + CBZ 组; AM: TP + AML 组; 与 C 组比较: $## P < 0.01$; 与 TP 组比较: $** P < 0.01$

以及小鼠肝脏的损伤增大;与之相反,加入 CYP3A4 诱导剂 CBZ 后,CYP3A4 的表达明显增加,TP 含量明显降低,提示 TP 代谢加速,产生的结果是 TP 对 L-02 细胞和小鼠肝脏的损伤则显著降低。

由上述结果可能得出结论,TP 通过抑制了 CYP3A4 的表达,减慢自身代谢,因而造成对肝脏的损伤,但是否是产生肝损伤的主要机制还有待下一步的实验证明。

参考文献

- [1] Wang Q, Meng J, Dong A, et al. The pharmacological effects and mechanism of tripterygium wilfordii hook F in central nervous system autoimmunity [J]. J Altern Complement Med, 2016, 22(7): 496-502.
- [2] Peng A, Gu Y, Lin S Y. Herbal treatment for renal diseases [J]. Ann Acad Med Singapore, 2005, 34(1): 44-51.
- [3] 周玉燕,孙玉,李萍,等.莫诺昔通过抗氧化应激保护雷公藤甲素所致肝细胞凋亡[J].南方医科大学学报,2018,38

- (8): 949–55.
- [4] 赵春梅, 宓穗卿. 肝微粒体细胞色素 P450 研究概况 [J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(5): 334–7.
- [5] 朱桑, 张凤, 高守红, 等. CYP3A 酶内源性标志物的研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2016, 34(5): 385–8 402.
- [6] Paine M F, Hart H L, Ludington S S, et al. The human intestinal cytochrome P450 "pie" [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(5): 880–6.
- [7] Shoun H, Fushinobu S. Physiological function, reaction mechanism, and structure of cytochrome P450nor [J]. *Seikagaku*, 2008, 80(6): 560–8.
- [8] 钟雪, 张亚同, 纪立伟, 等. 辛伐他汀和阿托伐他汀与 CYP3A4 酶抑制剂/诱导剂在心内科患者中联用情况调查 [J]. 中国药物应用与监测, 2013, 10(4): 189–92.
- [9] 于淑静, 魏彩冰, 陶崑, 等. 雷公藤甲素致小鼠肝损伤的机制研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(3): 472–6.
- [10] 魏婕, 顾一煌, 李广林, 等. 雷公藤甲素肝毒性作用机制研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2012, 31(9): 693–5.
- [11] Xue X, Gong L, Qi X, et al. Knockout of hepatic P450 reductase aggravates triptolide-induced toxicity [J]. *Toxicol Lett*, 2011, 205(1): 47–54.
- [12] Sheweta S A, Mubark J, Doenhofe M J, et al. Changes in the expression of cytochrome P450 isozymes and related carcinogen-metabolizing enzyme activities in *Schistosoma mansoni*-infected mice [J]. *J Helminthol* 2002, 76(1): 71–8.
- [13] 姚金成, 饶健, 曾令贵, 等. 雷公藤甲素单次及多次给药对大鼠肝药酶活性的影响 [J]. 中国药房, 2010, 21(11): 961–4.

Triptolide enhances liver injury by inhibiting its metabolic enzyme cytochrome P450 3A4

Yang Xinhua^{1,2}, Xia Hongguang¹, Jin Yong¹

(¹College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Pharmacy Dept, The 8th People's Hospital of Hefei, Hefei 238000)

Abstract Objective To investigate the role of triptolide-induced down-regulation of cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) expression in causing liver injury. **Methods** L-02 cells and C57BL/6 male mice were randomly divided into 4 groups respectively, including normal group (C), triptolide (TP) group, triptolide (TP) + carbamazepine (CBZ) group and triptolide (TP) + amlodipine (AML) group. After 24 h, the medium was collected, and C57BL/6 male mice were euthanized and taken blood and liver 2 weeks later. The apoptosis rate of each group was detected by flow cytometry, while the damage of mice liver cells was observed by hematoxylin-eosin staining. The kit was used to detect the level of ALT and AST in cell supernatant and mouse serum. The mRNA and protein expression levels of CYP3A4 in cells and mouse liver were tested by Western blot and RT-PCR. The content of triptolide in cell culture medium and mouse serum was detected by HPLC. **Results** The results showed that the TP group significantly had more apoptosis and hepatocyte injury than the normal group. However, compared to the TP group, the apoptosis and liver cell injury of the TP + CBZ group significantly relieved, while the TP + AML group aggravated. The levels of ALT and AST *in vitro* and *in vivo* of the TP group were significantly higher than the normal group, and the lower level was observed in the TP + CBZ group and higher level was observed in the TP + AML group. The expression of CYP3A4 in TP group and TP + AML group significantly declined compared with group C, while the expression of in the TP + CBZ group significantly higher. The results of HPLC showed that the TP content in the TP + CBZ group was lower than that in the TP group, while it was opposite in the TP + AML group. **Conclusion** TP can slow down cells metabolism by inhibiting its main metabolic enzyme CYP3A4, which may be one of the underlying mechanisms of liver damage.

Key words L-02 cell; triptolide; cytochrome P450 3A4; carbamazepine; amlodipine; liver