

· 研究简报 ·

五味子提取物对大鼠肝 CYP3A 酶的双重作用

陈 倩, 吴育晶[#], 程能能^{*}, 李雅琳, 王永铭

(复旦大学药学院药理学教研室, 上海 201203)

关键词: 五味子; 五味子甲素; 五味子乙素; 五味子醇乙; 南五味子素; CYP3A; 肝微粒体; 原代肝细胞

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 09-1194-05

Dual effects of extract of *Schisandra chinensis* Baill on rat hepatic CYP3ACHEN Qian, WU Yu-jing[#], CHENG Neng-neng^{*}, LI Ya-lin, WANG Yong-ming

(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

Abstract: This study is to investigate the effects of aqueous extract of *Schisandra chinensis* Baill (WWZ), kadsurin, schisandrin A, schisandrin B and schisandrol B on rat hepatic CYP3A. Rats received a daily gavage of aqueous extract of WWZ for different times. The livers were harvested after gavage and subjected to microsome preparation. Microsomal CYP3A activity was determined by measuring the amount of the metabolite of testosterone (6β -hydroxytestosterone) with HPLC. Aqueous extract of WWZ, kadsurin and schisandrin A were incubated with microsomes obtained from rat. Microsomal CYP3A activity was determined by HPLC. Primary hepatocytes were separated and extracted from rat, then were treated with aqueous extract of WWZ, schisandrin A, schisandrin B and schisandrol B. Then, the expression of CYP3A1 mRNA was analyzed by RT-PCR. As for the *in vivo* assay, aqueous extract of WWZ significantly inhibited the enzyme activity of CYP3A after 12 h gavage. The inhibitory effect was converted to inductive effect after 3-day gavage. Aqueous extract of WWZ could induce the enzyme activity of CYP3A after 6-day gavage. Aqueous extract of WWZ and kadsurin showed a dose-dependent inhibition of CYP3A (IC_{50} of $487.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $6.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, separately). In rat primary hepatocytes, aqueous extract of WWZ ($2.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), schisandrin A ($0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), schisandrin B ($0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and schisandrol B ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) increased significantly the expression of CYP3A1 mRNA by 23%, 55%, 42% and 27%, respectively. Aqueous extract of WWZ could show dual effect on the enzyme activity of CYP3A in rat *in vivo*. Meanwhile, kadsurin showed a dose-dependent inhibition of the enzyme activity of hepatic CYP3A *in vitro*. And schisandrin A, schisandrin B and schisandrol B showed significant inductive effect on the expression of rat CYP3A1 mRNA.

Key words: *Schisandra chinensis* Baill; schisandrin A; schisandrin B; schisandrol B; kadsurin; CYP3A; hepatic microsome; primary hepatocyte

细胞色素 P450 酶的抑制和诱导是产生药物相互作用最常见的原因^[1, 2]。在 P450 酶中, 以 CYP3A 酶的含量最多, 底物也最广泛。研究发现, 很多中药可以改变 CYP3A 酶活性^[3-5]。五味子 [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill] 为木兰科多年生落叶植物果

实, 是常用中药之一, 其木脂素成分具有保肝、降酶等多种活性^[6]。据报道, 五味子水提取物以 1 或 $3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 连续灌胃给药 3 天, 可使大鼠的肝微粒体 P450 水平显著提高^[7]。同时, Iwata 等^[5, 8]发现, 5 种五味子木脂素成分在人肝微粒体实验体系中可以抑制 CYP3A4 酶活性。Mu 等^[9]发现, 五味子甲素 (schisandrin A) 在 CV-1 人源化细胞中作用于 PXR, 对 CYP 酶有诱导作用; 而 Pei 等^[10]发现, 给大鼠整体灌胃五味子甲

收稿日期: 2010-03-22.

^{*}通讯作者 Tel / Fax: 86-21-51980041, E-mail: nncheng@gmail.com[#]该作者现工作于安徽医科大学临床药理研究所

素后有浓度依赖性抑制作用; 两者结论相互矛盾, 需进一步明确其作用机制。同时有文献^[11]指出, 五味子乙素 (schisandrin B) 对肝损害的保护作用是由其明显诱导肝微粒体药酶系统而引起的, 提示五味子乙素有诱导 CYP 酶的作用。最近有文献^[12]报道, 五味子提取物在短期给药时可抑制大鼠 CYP3A 酶底物咪达唑仑的代谢, 而长期给药 (14 天) 后出现诱导作用, 但未阐明其具有诱导作用的木脂素组分。从上述研究可知, 五味子水提物中已明确 5 种木脂素组分具有抑制 CYP3A 酶活性的作用, 而起诱导作用的组分尚未得到明确证实, 同时需探讨木脂素各组分产生抑制和诱导作用的构效关系, 进一步阐明五味子水提物对 CYP3A 酶产生不同作用的机制。本研究采用大鼠肝微粒体体系, 分别在整体和离体条件下, 以特异性底物睾酮的代谢产物 6 β -羟基睾酮的生成来研究五味子水提物对肝 CYP3A 酶活性的影响; 且在离体大鼠肝微粒体中测定南五味子素和五味子甲素对 CYP3A 酶的作用; 采用大鼠原代肝细胞体系, 研究五味子水提物以及五味子甲素、乙素和醇乙对 CYP3A1 mRNA 表达的影响 (图 1)。

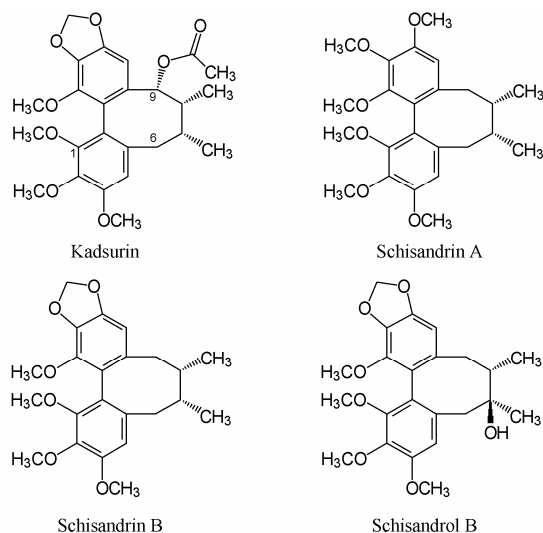


Figure 1 Chemical structures of four lignans

材料与方法

实验动物 雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, (200 $\pm$ 20) g, 清洁级, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供 [许可证号: SCXK(沪)2007-00051]。饲养条件: 温度 22~25 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 45%~55%, 光照大约 12 h 明暗周期, 早上投食, 自由饮水。

药品和试剂 北五味子 (购自上海养和堂中药饮片有限公司, 批号 080519); 五味子水提物 (得率

25%), 由上海中医药大学科技中心中药制药实验室制备^[13, 14]。南五味子素 (kadsurin) 由复旦大学药学院教研室提供 (白色粉末)。五味子甲素 (schisandrin A) 和五味子乙素 (schisandrin B) 购于中国药品生物制品检定所 (批号分别为 110764-200408 和 110765-200609)。五味子醇乙 (schisandrol B) 购于上海顺勃生物工程技术有限公司。睾酮、6 β -羟基睾酮 (Sigma 公司), DMEM 干粉培养基 (Gibco 公司), 胎牛血清 (杭州四季青生物工程材料有限公司), Trizol、M-MLV First Strand cDNA Synthesis Kit、即用 PCR 扩增试剂盒 (上海生工生物工程技术公司), DNA Ladder Marker (Takara 公司)。CYP3A1 和 GAPDH 引物由上海生工生物工程技术公司合成, GAPDH 引物 (373 bp): 上游 5'-TTCAACGGCACAGTCAAGG-3', 下游 3'-CATGGACTGTGGTCATGAG-5'; CYP3A1 引物 (579 bp): 上游 5'-ATCCGATATGGAGATCAC-3', 下游 3'-GAAGAAGTCCTTG TCGC-5'。

实验仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪; Hitachi CP100MX 超速离心机; 保定兰格 BT300-2J 蠕动泵; MJ Research PTC-100 扩增仪; EPS-300A 电泳仪、H6-1 型电泳槽 (上海天能科技有限公司)。

色谱条件 Hypersil BDS 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 20 : 80 (v/v); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 247 nm; 进样量: 40 μL ; 流速: 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$ 。

大鼠肝微粒体制备 大鼠麻醉后放血处死, 取出肝脏, 除去血红蛋白, 匀浆 (整个过程均在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下进行)。匀浆液 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 $\times g$ 离心 15 min, 取上清液 105 000 $\times g$ 离心 70 min, 弃上清液, 沉淀即为肝微粒体^[15]。用 BCA 蛋白检测试剂盒 (上海生工生物工程技术服务有限公司) 测定大鼠肝微粒体蛋白浓度, 并将蛋白浓度调至 20 g $\cdot$ L $^{-1}$ 。-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

灌胃给药对大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性的影响 取大鼠按体重随机分组 ($n = 5$), 五味子水提物 1 和 3 g $\cdot$ kg $^{-1}$ 两个剂量 (生药剂量, 溶剂为生理盐水) 组分别灌胃处理 12 h、3 d、6 d。每个时间设置一个空白溶剂对照组。按照“大鼠肝微粒体制备”法制备肝微粒体。大鼠肝微粒体反应体系 0.5 mL, 包括大鼠肝微粒体 0.8 g $\cdot$ L $^{-1}$, 100 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ Tris-HAc (pH 7.4), 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ NADPH, 100 $\mu\text{mol} \cdot$ L $^{-1}$ 睾酮, 空白溶剂对照组不加待测药物。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 冰甲醇终止反应, 离心, 取上清液用 0.45 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 检测^[8]。

离体给药大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性测定 大鼠肝微粒体反应体系及 HPLC 检测同“灌胃给药对

大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性的影响”, 五味子水提取物终质量浓度为 $15 \sim 1\,500\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 南五味子素、五味子甲素的终浓度为 $0.01 \sim 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。阴性对照组不加待测药物。每个药物浓度设 3 个平行管。

大鼠原代肝细胞分离和培养 采用两步胶原酶灌注法^[16]分离肝细胞。取大鼠麻醉后, 门静脉插管, 灌注前灌流液 5 min 后, 用含 0.03% I 型胶原酶的灌流液灌流 10 min 左右, 收集肝细胞悬液, 加 Ficoll 液纯化, 预冷 DMEM 再洗涤 2 次。台盼蓝染色法计算细胞活力, 达 80% 以上。37 °C、5% CO₂ 培养。

MTT 法测定药物毒性 将肝细胞悬液 (细胞数 $2 \times 10^4/\text{mL}$) 接种于 96 孔板, 每个药物浓度设 3 个平行孔。490 nm 处测量各孔的吸收度值。同时设置调零孔和对照孔。

RT-PCR 测定大鼠原代肝细胞 CYP3A1 mRNA 的表达 将肝细胞悬液 (细胞数 $3 \times 10^5/\text{mL}$) 接种于 6 cm 培养皿, 加入五味子水提取物培养 2 天和 3 天, 而五味子甲素、乙素和醇乙 (溶剂为 DMEM 培养基) 均培养 2 天, 按照 Trizol 说明书提取细胞总 RNA。反转录和 PCR 反应均按照试剂盒说明书进行。将 PCR 产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外显影。空白对照组不加待测药物。

数据处理 酶活性结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以空白溶剂对照组 (或阴性对照组) 的代谢产物量作为酶活性 100%, 其他各浓度药物组的代谢产物量与它的比值作为相对酶活性, 计算 CYP3A 的酶相对活性百分比, 并用 SPSS 软件计算酶相对活性百分比为对照组 50% 的待测药浓度 (IC_{50}) 和 95% 置信区间。

RT-PCR 结果也以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以空白对照组的条带亮度作为 1, 其他各浓度药物组的条带亮度与它的比值作为 CYP3A1 mRNA 的相对表达量, 并用 SAS 软件进行方差分析。

结果

1 五味子水提取物灌胃给药对大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性的双重作用

首次给药后 12 h, 五味子水提取物 (1 和 $3\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 分别使 CYP3A 酶活性抑制了 51% 和 60%, 并且两者间的差异有统计学意义, 显示五味子水提取物灌胃给药对大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性的抑制作用具有剂量依赖性。重复给药 3 天后, 五味子水提取物两个剂量组与空白溶剂 (生理盐水) 对照组比较无显著差异; 但与 12 h 相比, 酶活性显著增加, 显示酶抑制作用消失而呈现酶诱导趋势。反复给药 6 天后, 五味子水提取物两个剂量组分别使 CYP3A 酶活性增加了 36% 和 58%, $3\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组与对照组相比差异有统计学意义; 在同一剂量水平显示诱导效应呈现时间依赖性 (图 2)。

2 五味子水提取物和南五味子素、五味子甲素对大鼠肝微粒体 CYP3A 酶活性的影响

在大鼠肝微粒体孵育体系中, CYP3A 酶的相对活性百分比减小到 50% 时五味子水提取物的浓度 (IC_{50}) 为 $487.8\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。南五味子素具有较强的抑制能力 ($\text{IC}_{50} < 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而五味子甲素的 IC_{50} 大于 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 抑制能力较弱 (图 3)。

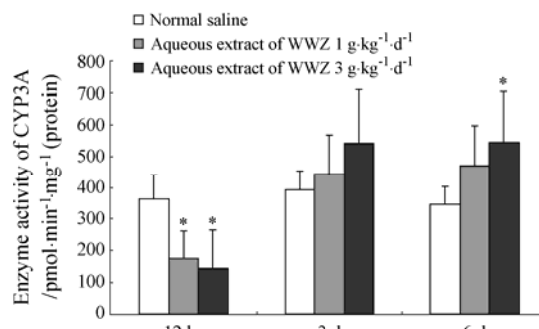


Figure 2 The dual effect of aqueous extract of WWZ on rat liver microsomal CYP3A activity *in vivo* ($n = 5$). * $P < 0.05$ vs normal saline group

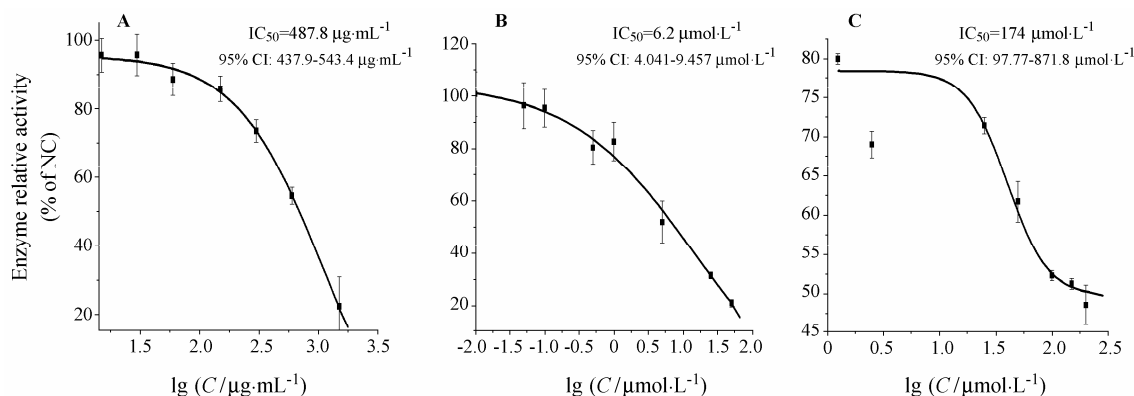


Figure 3 Inhibition profile on CYP3A in rat microsomal incubations ($n = 3$). A: Aqueous extract of WWZ; B: Kadsurin; C: Schisan-drin A; NC: Negative control

3 五味子水提取物及五味子甲素、乙素和醇乙对大鼠原代肝细胞的影响

MTT 法检测表明, 五味子水提取物的浓度范围为 $0.075 \sim 7.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 五味子甲素、乙素和醇乙的浓度范围为 $0.01 \sim 10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对大鼠原代肝细胞均无毒性作用。

4 五味子水提取物对大鼠原代肝细胞 CYP3A1 mRNA 表达的影响

大鼠原代肝细胞中, 五味子水提取物高浓度 ($2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 作用 2 天后, 可使 CYP3A1 mRNA 的表达增加 16% (图 4); 作用 3 天后, 表达增加了 23%。同时, 五味子水提取物低浓度 ($0.625 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对表达没有影响。

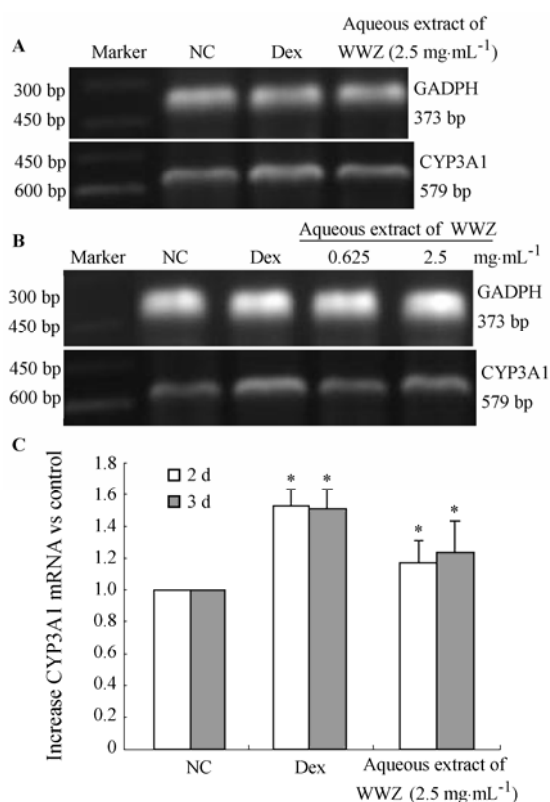


Figure 4 CYP3A1 mRNA expression in rat primary hepatocytes with aqueous extract of WWZ in 2 and 3 days ($n = 5$). * $P < 0.05$ vs NC group. A: Image of CYP3A1 RT-PCR in rat primary hepatocytes after adding aqueous extract of WWZ in 2 days; B: Image of CYP3A1 RT-PCR in rat primary hepatocytes after adding aqueous extract of WWZ in 3 days; C: Comparison of CYP3A1 mRNA expression after 2-day and 3-day incubation. NC: Negative control; Dex: Dexamethasone ($50 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

5 五味子甲素、乙素和醇乙对大鼠原代肝细胞 CYP3A1 mRNA 表达的影响

五味子甲素低浓度 ($0.01 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 给药 2 天后, 大鼠原代肝细胞中 CYP3A1 mRNA 表达增加 17%, 而

高浓度 ($0.1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 可显著增加 55%。且五味子乙素低浓度 ($0.01 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 给药 2 天后, 使得 CYP3A1 mRNA 表达增加了 21%, 而高浓度 ($0.1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著增加了 42%。同样五味子醇乙低浓度 ($5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 给药 2 天后, 对 CYP3A1 mRNA 表达无影响, 而高浓度 ($10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 使表达显著增加了 27% (图 5)。

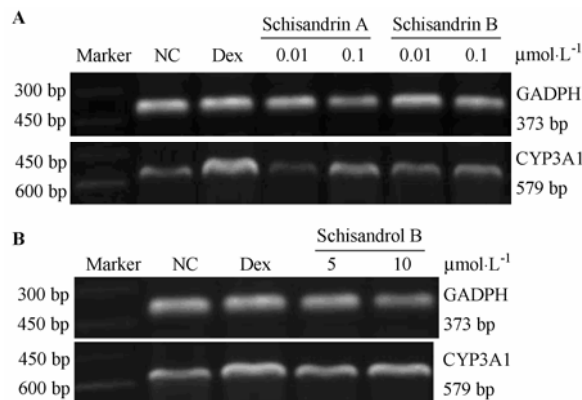


Figure 5 Image of CYP3A1 RT-PCR in rat primary hepatocytes after adding schisandrin A, B and schisandrol B ($n = 5$). A: Image of CYP3A1 RT-PCR in rat primary hepatocytes after adding schisandrin A and B in 2 days; B: Image of CYP3A1 RT-PCR in rat primary hepatocytes after adding schisandrol B in 2 days. NC: Negative control; Dex: Dexamethasone ($50 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

讨论

实验观察发现, 随着五味子给药时间增加 ($0.5 \sim 6$ 天), 大鼠 CYP3A 酶活性呈现由抑制到诱导的作用, 与文献^[12]报道一致, 但文献报道在 14 天看到 CYP3A 酶活性的诱导, 而本研究在整体给药后第 6 天就发现五味子水提取物对 CYP3A 酶活性的显著诱导作用; 且文献^[12]中还提到给予五味子提取物 3 天后, CYP3A 酶活性的抑制作用逐渐恢复到正常水平, 和本实验在第 3 天观察到的现象完全一致。本研究结合文献^[12]证实, 五味子提取物对大鼠 CYP3A 酶活性在时间上呈现先抑制后诱导的双重作用。

在大鼠肝微粒体孵育体系中, 按照五味子水提取物的得率换算, 五味子水提取物的 IC_{50} 相当于 $1.95 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 生药浓度; 且在整体给药 12 h 后, 五味子 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组可以降低 CYP3A 酶活性到 50% 左右, 按照体外 IC_{50} 值推算给药剂量, 即使只有 50% 的药物吸收, 此剂量组也可产生抑制酶活性作用, 说明整体与离体实验结果高度相关。

在离体大鼠肝微粒体中, 除了 Iwata^[8]发现的 5 种木脂素组分外, 本实验还发现南五味子素具有强抑制 CYP3A 酶活性的作用, 且 $\text{IC}_{50} < 10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 同时未见五味子甲素有显著抑制作用 ($\text{IC}_{50} > 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

CYP3A1 亚型是大鼠肝脏 CYP3A 亚族中的主要同工酶, 在药物代谢过程中起重要作用^[17]。在离体大鼠原代肝细胞中, 本研究发现五味子甲素、乙素和醇乙均能显著诱导 CYP3A1 mRNA 表达, 与 Mu 等^[9]发现的这 3 种组分诱导人 CYP3A4 mRNA 酶表达的结果一致。表明这 3 种木脂素组分都具有诱导 CYP3A 酶活性的作用。

Iwata 等^[8]报道, 含有联苯环辛烯结构的木脂素中在 6 位具有亚甲二氧基 (methylenedioxy) 或大的官能团或亲脂基是抑制 CYP3A 酶的先决条件, 而本实验发现南五味子素在 9 位上也有官能团取代 (图 1), 且同样具有较强抑制 CYP3A 酶活性的作用。因此作者可以提出在联苯环辛烯结构上的 6、9 位上有亲脂基或者大基团取代时, 该木脂素组分可具有抑制 CYP3A 酶活性。将五味子甲素、乙素和醇乙的化学结构与发现的抑制组分结构作比较, 发现诱导组分的化学结构中均不具备酯基取代基 (图 1), 这可能是导致不同木脂素组分产生抑制和诱导不同作用的原因。

本研究结果提示, 五味子中具有抑制和诱导 CYP3A 酶活性的成分是独立共存的两类化合物, 即抑制组分和诱导组分, 其中抑制组分主要是直接发生作用于酶蛋白水平, 发生效应较快, 且表现为快速的浓度依赖性抑制酶活性作用, 所以给药早期 (12 h 以内) 五味子整体上表现为抑制 CYP3A 酶活性, 且在离体肝微粒体中也见到了酶活性被抑制的现象。而随着给药时间逐渐增加 (6 天之后), 整体上 CYP3A 酶活性的增加才显现出来, 因此长期给药后最终在整体上表现为诱导 CYP3A 酶活性, 并且作者又观察到给予五味子水提取物 2 天后, 离体肝细胞中 CYP3A1 mRNA 表达已有增加趋势, 第 3 天显著增加, 故表明五味子中的诱导组分通过作用于 PXR 增强 CYP3A 酶的 DNA 转录水平、增加其 mRNA 或 (和) 蛋白翻译效率, 最终对其产生诱导作用^[9]。

因此本研究表明, 五味子水提取物在整体上具有先抑制后诱导的双重作用, 离体上采用不同的体系 (肝微粒体和肝细胞体系) 也可见到短时间抑制长时间诱导的不同作用。所以在临床上当五味子制剂及含有五味子的中药复方与 CYP3A 底物类药物合用时, 应考虑到短期和长期联合用药可能会发生相反的药物相互作用。

References

- [1] Rommel GT, David GB. Herbal product-drug interactions mediated by induction [J]. *Bri Clin Pharmacol*, 2006, 61: 677–681.
- [2] Hu Z, Yang X, Ho PC, et al. Herb-drug interactions: a literature review [J]. *Drugs*, 2005, 65: 1239–1282.
- [3] Xu JH, Li SM. Comparative study of effect of the extract of *Glycyrrhiza uralensis* and glycyrrhizic acid on metabolism of antipyrine in mice [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2007, 29: 1673–1675.
- [4] Di YM, Li CG, Xue CC, et al. Clinical drugs that interact with St. John's wort and implication in drug development [J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14: 1723–1742.
- [5] Iwata H, Tezuka Y, Usia T. Inhibition of human liver microsomal CYP3A4 and CYP2D6 by extracts from 78 herbal medicines [J]. *J Tradit Med*, 2004, 21: 281.
- [6] Panossian A, Wikman G. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: an overview of Russian research and uses in medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 118: 183–212.
- [7] Zhang JN, Li YW, Xu YX, et al. Induction effects of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch and *Schisandra chinensis* Baill on the hepatic microsomal cytochrome P450 in rats [J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2002, 37: 424.
- [8] Iwata H. Identification and characterization of potent CYP3A4 inhibitors in schisandra fruit extract [J]. *Drug Metab Dispos*, 2004, 32: 1351–1358.
- [9] Mu Y, Zhang JN, Zhang SM, et al. Traditional Chinese medicines Wu Wei Zi (*Schisandra Chinensis* Baill) and Gan Cao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) activate pregnane X receptor and increase warfarin clearance in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316: 1369–1377.
- [10] Pei B, Cai X, Niu XH, et al. Effect of schizandrin A on the activity of cytochrome 3A in rats [J]. *Chin Hepatol (肝脏)*, 2006, 11: 261–263.
- [11] Huang Li. Recent advances of pharmacological research of schizandrin B [J]. *Gansu Med J (甘肃医药)*, 2008, 27: 8–9.
- [12] Li L, Hao HP, Wang Q, et al. Effects of short-term and long-term pretreatment of schisandra lignans on regulating hepatic and intestinal CYP3A in rat [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 2399–2407.
- [13] Li YL, Liu J, Du XW. Studies on HPLC finger-print chromatogram of decoction of *Schisandra chinensis* [J]. *J Chin Mod Tradit Chin Med (中华现代中医学杂志)*, 2005, 1: 97–100.
- [14] Xu LM, Yan CJ, Li JP, et al. HPLC determination of deoxyschizandrin and schizandrin B in *Schisandra chinensis* extracts [J]. *Anal Instrum*, 2008, 2: 15–17.
- [15] Jin KT, Wang YG, Xu P, et al. HPLC progress determination microsome cytochrome P450 activity of rat liver [J]. *Chin J Pharm Anal (药物分析杂志)*, 2006, 26: 415–419.
- [16] Seglen PO. Preparation of isolated rat liver cells [J]. *Methods Cell Biol*, 1976, 13: 29–83.
- [17] Ingenman SM. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2004, 25: 193–200.