

清开灵注射液及其主要成分黄芩苷和栀子苷对人肝微粒体 CYP450 酶 6 种亚型的体外抑制作用研究

韩永龙^{1,2}, 孟祥乐^{1,3}, 李丹¹, 周志勇¹, 余奇¹, 李颜¹, 郭澄^{1*} (1. 上海交通大学附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 2. 大庆油田总医院临床药学科, 黑龙江 大庆 163001; 3. 河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

摘要: 目的 研究清开灵注射液及其主要成分黄芩苷和栀子苷对人肝微粒体 CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 的体外抑制作用。方法 采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)同时测定对乙酰氨基酚、6 α -羟基紫杉醇、4-羟基双氯芬酸、4-羟基美芬妥英、右啡烷、1-羟基咪达唑仑和 6 β -羟基睾酮, 分别代表 CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 的活性; 清开灵注射液、黄芩苷、栀子苷和 7 种混合探针底物在人肝微粒体中共同孵育, 并计算其 IC₅₀ 值表示对 CYP450 酶的抑制程度。结果 在人肝微粒体体外孵育体系中, 清开灵注射液对 CYP1A2 的 IC₅₀ 值为 0.6%, 对其他亚型的 IC₅₀ 值从 1.1% 到 6.0%; 黄芩苷和栀子苷对 CYP450 酶 6 种亚型的 IC₅₀ 值均大于 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 在正常剂量下, 清开灵注射液对人肝微粒体 CYP1A2 可能有抑制作用, 对人肝微粒体 CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 无明显抑制作用; 黄芩苷和栀子苷对 CYP450 酶 6 种亚型均无抑制作用。

关键词: 清开灵注射液; 黄芩苷; 栀子苷; 细胞色素 P450 酶; 抑制作用; 药物相互作用

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2011)19-1486-05

In Vitro Inhibition of Six Cytochrome P450 Isoforms in Human Liver Microsomes by Qingkailing Injection and Its Two Active Components (Baicalin and Geniposide)

HAN Yonglong^{1,2}, MENG Xiangle^{1,3}, LI Dan¹, ZHOU Zhiyong¹, YU Qi¹, LI Yan¹, GUO Cheng^{1*} (1. Department of Pharmacy, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China; 2. Department of Clinical Pharmacy, Daqing Oilfield General Hospital, Daqing 163001, China; 3. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Henan College of TCM, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the *in vitro* inhibition effects of Qingkailing injection and its two active components (Baicalin and Geniposide) on 6 cytochrome P450 isoforms (CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4) in human liver microsomes for predicting the herb-drug interactions in clinical application. **METHODS** Seven cytochrome P450 probe substrates including paracetamol for CYP1A2, 6 α -Hydroxypaclitaxel for CYP2C8, 4-Hydroxydiclofenac for CYP2C9, 4-Hydroxymephenytoin for CYP2C19, dextropropofol for CYP2D6, 6 β -Hydroxytestosterone and 1-Hydroxymidazolam for CYP3A4, and their metabolites were simultaneously measured by LC-MS/MS. Qingkailing injection and its two active components (Baicalin and Geniposide) were incubated with human liver microsomes in the presence of 7 probe substrates of CYP450 isoforms, and the inhibitory effects were evaluated with IC₅₀ values. **RESULTS** IC₅₀ value of Qingkailing injection on CYP1A2 was 0.6%, and the other IC₅₀ values were from 1.1% to 6.0%; IC₅₀ values of Baicalin and Geniposide were above 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. **CONCLUSION** Qingkailing injection shows inhibitory effect on CYP1A2, but minor inhibitory effects on CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4 under normal dosage; Baicalin and Geniposide don't show inhibitory effect on CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4.

KEY WORDS: Qingkailing injection; baicalin; geniposide; cytochrome P450; inhibition; herb-drug interactions

流行病学的数据显示, 需要住院治疗的药物不良反应(adverse drug reaction, ADR)病例中大约有 5% ~ 20% 是由药物相互作用(drug-drug interactions, DDI)所导致的; 考虑严重 ADR 的发生率, 大

约 1/200 的住院患者会出现 DDI 所致的严重 ADR, 大约 1/10 000 的住院患者的死因与 DDI 有关^[1]。DDI 作为药物安全性评价的内容之一^[2-3], 已经引起了欧美、日本等国的高度重视, 均发布了相关的研究

基金项目: “十一五”国家科技重大专项(2009ZX09502-021); 上海交通大学医学院科研基金(JYY0909); 上海市第六人民医院级课题(1146)

作者简介: 韩永龙, 男, 博士, 副主任药师 研究方向: 药物代谢与临床药学 * 通讯作者: 郭澄, 男, 教授, 主任药师, 博士生导师 研究方向: 中药学与临床药理学 Tel: (021) 64369181-8098 E-mail: gboss@sina.com

指导原则。细胞色素 P450(CYP450) 酶被抑制或被诱导是导致代谢性 DDI 的主要原因, 其中酶抑制作用所致 DDI 的临床意义远大于酶诱导作用, 约占代谢性 DDI 的 70%; 酶促进作用占 23%; 其他 7%。至 2003 年就有特非那丁、米非地尔、溴芬酸、格帕沙星、阿司咪唑、西伐他汀等新药因 CYP450 酶介导的 DDI 可导致严重的副作用而从市场撤出^[4-6]。

中药注射剂是我国独创的新剂型, 目前有部颁标准的中药注射剂有 70 个品种, 有国家药品监督管理局批准文号的中药注射剂品种有 109 种^[7-8]。中药注射剂成分复杂, 其药效的物质基础大多数仍要通过药物代谢酶代谢, 或对药物代谢酶产生抑制或诱导, 从而影响其他药物的代谢而产生 DDI, 近年来的研究已发现一些中药注射剂(如红花注射液、灯盏细辛注射液、血塞通注射液、血栓通注射液和参麦注射液等) 确实能对药物代谢酶 CYP450 酶产生影响^[9-13]。我们的前期研究^[14] 也发现, 临床广泛使用的清开灵注射剂等 5 种中药注射剂对 SD 大鼠肝微粒体 CYP3A 有抑制作用, 为了排除种属间的差异, 特在此基础上采用人肝微粒体研究清开灵注射液及其主要成分黄芩苷和栀子苷对人肝微粒体细胞色素 P450 酶 6 种亚型的体外抑制作用。

1 材 料

1.1 药品与试剂

清开灵注射液(吉林省集安益盛药业股份有限公司, 规格: 每支 10 mL, 批号: 0802241); 黄芩苷(中国药品生物制品检定所, 批号: 110715 200514); 栀子苷(中国药品生物制品检定所, 批号: 110749-200714); 非那西丁、双氯芬酸、咪达唑仑、右美沙芬、对乙酰氨基酚、呋拉茶碱、奎尼丁、1-羟基咪达唑仑、右啡烷、磺胺苯吡唑、吉非贝齐、丁螺环酮(美国 Sigma 公司); 紫杉醇、S-美芬妥英、4-羟基美芬妥英、S(+)-N-benzylrivanol、孟鲁司特、酮康唑(加拿大

TRC 公司); 睾酮(比利时 Acros 公司); 6β-羟基睾酮(美国 IL 公司); 6-羟基紫杉醇(美国 Calbiochem 公司)、4-羟基双氯芬酸(美国 BD Gentest 公司); 葡萄糖 6-磷酸脱氢酶(美国 Calbiochem 公司); 6-磷酸葡萄糖、氧化型辅酶 II 二钠(上海美季生物); 混合人肝微粒体(美国 BD Gentest 公司, 批号: 32556); 其他无机盐均为分析纯; 有机溶剂均为色谱纯; 实验用水为超纯水。

1.2 仪器

API 4000 型液相色谱-三重四极杆质谱联用仪, 配有电喷雾离子化源(ESI 源), Analyst1.5 软件(加拿大 AB 公司); LC-20A 型液相色谱系统, 包含 LC-20AB 型二元梯度泵、DGU-20A 型在线脱气机、SIL-20A 型自动进样器、CTO-20A 型柱温箱(日本 Shimadzu 公司); BP211D 型电子天平(德国赛多利斯集团); BR 4i 高速冷冻离心机(法国 Jouan 公司); MDF-U32V 型超低温冰箱(日本 SANYO 公司); Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司); DKZ-1 电热恒温振荡水槽(上海一恒科技有限公司)。

2 方 法

2.1 样品的配制

清开灵注射液及其主要成分黄芩苷和栀子苷等溶液的配制见表 1。

2.2 人肝微粒体体外孵育体系

终体积为 60 μL 的体外孵化体系包括人微粒体蛋白(0.3 mg · mL⁻¹)、MgCl₂(4 mmol · L⁻¹)、G-6-PDH(1 unit · mL⁻¹)、G-6-P(10 mmol · L⁻¹)、水、pH 为 7.4 的磷酸缓冲液(100 mmol · L⁻¹)、混合探针底物(探针底物分别为非那西丁、紫杉醇、双氯芬酸、S-美芬妥英、右美沙芬、咪达唑仑、睾酮, 以上底物最终浓度分别为 10, 5, 5, 200, 5, 2, 50 μmol · L⁻¹) 和不同浓度的样品, 在 37 °C 水浴中预孵化 15 min 后加入 NADP⁺(1 mmol · L⁻¹) 启动反应, 孵化

表 1 测试样品和阳性对照药的母液及在孵育液中系列终浓度

Tab.1 The concentrations of the stock solutions of test samples and positive control drugs and their final concentrations in incubation

Sample	Stock concentration/mmol · L ⁻¹	Stock solvent	Serial final concentrations(volume percentage or μmol · L ⁻¹) in incubation
Qingkailing Injection	Injection		10.0%, 5.0%, 2.5%, 1.25%, 0.63%, 0.31%, 0.16%, 0.08%
Baicalin	50	DMSO	100, 30, 10, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1, 0.03
Geniposide	50	DMSO	100, 30, 10, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1, 0.03
Furafylline	10	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10
Montelukast	10	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10
Sulfaphenazole	10	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10
S(+)-N-Benzylrivanol	10	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10
Quinidine	5	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10
Ketoconazole	10	Methanol	0.05, 0.3, 1.0, 3.0, 10(CYP3A4_M); 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3.0 (CYP3A4_T)

30 min, 整个孵育体系控制有机溶剂的体积百分浓度在2% 以内。用60 μL 含内标(吉非贝齐、丁螺环酮)的冰乙腈终止反应, 然后3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min。取等体积上清液和甲醇水混合物(1:1) 混匀后, 取混合液20 μL 进样。生成相应的7 种代谢物对乙酰氨基酚/6 α -羟基紫杉醇/4-羟基双氯芬酸/4-羟基美芬妥英/右啡烷/1-羟基咪达唑仑/6 β -羟基睾酮用LC-MS/MS 定量分析。为了评价实验方法的合理性, 我们在测定药物对CYP450 酶的6 个亚型抑制作用的同时也测定了阳性对照药的抑制作用。

2.3 色谱条件及质谱条件

色谱柱: Waters Nova-Pak C₁₈ 柱(3.9 mm $\times$ 150 mm, 4 μm); 流动相 A: 乙腈-甲醇-甲酸(50:50:1), 流动相 B:5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵; 采用梯度洗脱条件:0 $\rightarrow$ 2.0 min, 95% $\rightarrow$ 85% (A); 2.0 $\rightarrow$ 3.3 min, 85% $\rightarrow$ 20% (A); 3.3 $\rightarrow$ 3.6 min, 20% $\rightarrow$ 10% (A); 3.6 $\rightarrow$ 4.0 min, 10% (A); 4.0 $\rightarrow$ 7.0 min, 10% $\rightarrow$ 85% (A); 7.0 $\rightarrow$ 9.0 min, 85% $\rightarrow$ 95% (A); 流速:0.7 mL $\cdot \text{min}^{-1}$; 柱温:25 $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱采用ESI 源, 选择极性切换方式进行正负离子同时扫描, 电喷雾电压正离子模式为5 500 V, 负离子模式为4 500 V; 加热毛细管温度为400 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气为氮气, 雾化压力为344.75 kPa。采用多级反应监测(MRM) 模式对各个代谢产物及内标浓度进行测定, 监测参数见表2。

2.4 阳性对照药 IC₅₀ 的测定

将5 个不同浓度(表1) 的阳性对照药呋拉茶碱、孟鲁司特、磺胺苯吡唑、S(+)-N-benzylirvanol、奎尼丁和酮康唑分别与混合底物共同孵化, 对照组加入等体积的纯化水代替, 每个样品平行操作3 次, 余下孵育处理程序同“2.2”项下, 测定方法同

表2 7 个探针药物的代谢产物及内标的多级反应监测质谱参数

Tab.2 MRM transitions and fragmentation parameters for the metabolites of seven probe drugs and internal standards

Isoform	Metabolite	Polarity	Pre-cursor <i>m/z</i>	Product <i>m/z</i>
CYP1A2	Paracetamol	ESI+	152.0	110.1
CYP2C8	6 α -Hydroxypaclitaxel	ESI+	870.2	286.3, 525.6
CYP2C9	4-Hydroxydiclofenac	ESI-	309.7	266
CYP2C19	4-Hydroxymephenytoin	ESI-	233.2	189.9
CYP2D6	Dextrophan	ESI+	258.1	157
CYP3A4	1-Hydroxymidazolam	ESI+	342	324
CYP3A4	6 β -Hydroxytestosterone	ESI+	305	269
Internal standard	Bupirone	ESI+	386.2	122.4
Internal standard	Gemfibrozil	ESI-	249.1	120.9

“2.3”项下。使用 GraphPad Prism v5.0 软件按照非线性回归, 作图并计算 IC₅₀ 值。

2.5 清开灵注射液的 IC₅₀ 的测定

将8 个不同体积百分浓度(表1) 的清开灵注射液分别与混合底物共同孵化, 对照组加入等体积的纯化水代替, 每个样品平行操作3 次, 余下孵育处理程序同“2.2”项下, 测定方法同“2.3”项下。使用 GraphPad Prism v5.0 软件按照非线性回归, 作图并计算 IC₅₀ 值。

2.6 黄芩苷和栀子苷 IC₅₀ 的测定

将8 个不同浓度的黄芩苷和栀子苷(表1) 分别与混合底物共同孵化, 对照组加入等体积的纯化水代替, 每个样品平行操作3 次, 余下孵育处理程序同“2.2”项下, 测定方法同“2.3”项下。使用 GraphPad Prism v5.0 软件按照非线性回归, 作图并计算 IC₅₀ 值。

3 结 果

3.1 阳性对照药对 CYP450 酶 6 个亚型活性的抑制作用

结果表明, CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4 的阳性对照药呋拉茶碱、孟鲁司特、磺胺苯吡唑、S(+)-N-benzylirvanol、奎尼丁和酮康唑对相应酶型均表现出明显的抑制作用(各 IC₅₀ 值见表3)。

3.2 清开灵注射液、黄芩苷和栀子苷对 CYP450 酶的 6 个亚型活性的抑制作用

实验结果表明, 清开灵注射液对 CYP1A2 的抑制作用最强, 其次依次是 CYP2C8、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4_M 和 CYP3A4_T(图1); 黄芩苷和栀子苷对 CYP450 酶的 6 个亚型活性的抑制作用非常弱, 均大于 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 具体数值见表4。

表3 阳性对照药的半数抑制浓度

Tab.3 IC₅₀ values of positive control drugs

Isoform	Positive control drugs	IC ₅₀ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Reported IC ₅₀ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
CYP1A2	Furafylline	2.08	1.8 [15]
CYP2C8	Montelukast	1.67	2 [16]
CYP2C9	Sulfaphenazole	0.19	0.27 [15]
CYP2C19	S(+)-N-Benzylirvanol	0.15	0.4 [15]
CYP2D6	Quinidine	0.064	0.058 [17]
CYP3A4	Ketoconazole	1.37	1.8 [18]
CYP3A4	Ketoconazole	0.09	0.07 [18]

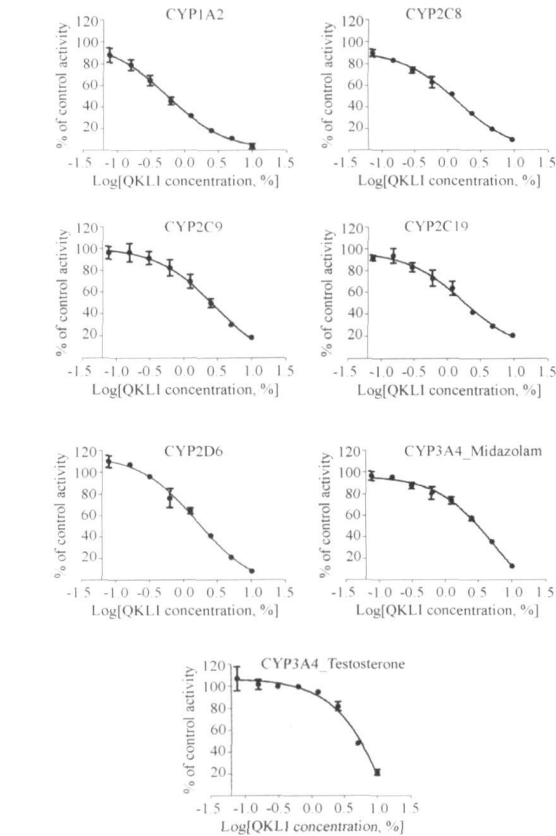


图1 清开灵注射液(QKLI)对人肝微粒体细胞色素P450酶6种亚型的体外抑制效果。 $n=3$, $\bar{x} \pm s$

Fig.1 *In vitro* inhibitory effects of Qingkailing injection(QKLI) on 6 CYP450 isoforms in human liver microsomes. $n=3$, $\bar{x} \pm s$

表4 黄芩苷和栀子苷的半数抑制浓度

Tab.4 IC_{50} of baicalin and geniposide

Isoform	Qingkailing injection (volume percentage, %)	Baicalin / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Geniposide / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
CYP1A2	0.6	>100	>100
CYP2C8	1.1	>100	>100
CYP2C9	2.6	>100	>100
CYP2C19	2.0	>100	>100
CYP2D6	1.9	>100	>100
CYP3A4_T	6.0	>100	>100
CYP3A4_M	2.9	>100	>100

4 讨论

应用人肝微粒体研究药物对CYP450酶的体外抑制作用,进而预测药物相互作用是国外常用的方法^[19-20]。近年来出现的“Cocktail”探针药物法能对多种同工酶同时进行测定进而同时获得多个CYP450酶亚型的信息,省时、经济,且个体间差异减小^[21-22]。本实验中选择的6种CYP450酶已知的

特异性抑制剂,分别与混合探针底物共同孵化,计算得到的 IC_{50} 值与文献^[16-19]报道值具有较好的一致性,表明我们建立的“Cocktail”探针药物法可以用于研究药物对CYP450酶6种亚型的体外抑制作用。

文献^[10, 12]采用在体外微粒体孵育体系中直接加入不同体积比的注射液去评估其对细胞色素P450酶各亚型的影响,并计算出了相应的 IC_{50} (以加入中药注射液体积占孵育体系的总体积的体积百分浓度表示)。因此我们也采用此方法计算出了清开灵注射液对CYP450酶的6个亚型的 IC_{50} 值。清开灵注射液临床常用剂量为 $20 \sim 40 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$,粗略地按人体中血液为5 L计算,清开灵注射液在血液中的体积百分比浓度最多为 $0.4\% \sim 0.8\%$,而上述方法计算得到的清开灵注射液对CYP1A2的 IC_{50} 值为 0.6% ,初步提示在正常剂量下,清开灵注射液对人肝微粒体CYP1A2可能有抑制作用,对人肝微粒体CYP2C8、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4_M和CYP3A4_T无明显抑制作用。于卫江等^[23]采用Wistar大鼠肝微粒体体外快速筛选平台,初筛后认为清开灵注射剂对CYP2D6有抑制作用;刘艳等^[24]进一步通过Wistar大鼠体内、体外实验,发现清开灵注射剂对CYP1A2和CYP2D6的活性均没有影响;笔者前期采用SD大鼠肝微粒体体外孵育法初筛了5种中药注射剂,发现清开灵注射液对CYP3A表现出一定的抑制作用,其 IC_{50} 为 1.0% ^[14]。这些结果与现有结果有一定的差异,可能是由于种属间差异导致的,最终结果还需临床试验进一步验证。

通常化合物的 IC_{50} 值大于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 即被认为是弱抑制剂^[25],从我们的实验中发现清开灵注射液中的两个有效成分黄芩苷和栀子苷的 IC_{50} 值均远大于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,表明它们对人肝微粒体CYP450酶的6个亚型均无明显的抑制作用。侯艳宁等^[26-27]研究发现,黄芩苷可显著诱导小鼠肝细胞色素P450的含量和活性,对其亚家族的诱导以1A1、2B1及2C11为主,对细胞色素b5含量及3A2、2D1和2E1 3种同功酶无诱导作用。Kang等^[28]研究发现,栀子苷可抑制大鼠CYP3A的活性,而对大鼠CYP1A和CYP2E无明显作用。我们的研究同时对全面评价黄芩苷和栀子苷对细胞色素P450酶的作用进行了有益的补充。

总之,通过我们现有的研究发现清开灵注射液在正常剂量下,在体外对人肝微粒体CYP1A2有抑制作用,而它的主要有效成分黄芩苷和栀子苷不是

产生这一作用的效应物质。有研究^[29,30]表明,注射剂中常用的一些表面活性剂(如聚氧乙烯氢化蓖麻油和聚山梨酯20)能抑制CYP3A4的活性。清开灵注射液由胆酸、珍珠母(粉)和猪去氧胆酸等八味中药组成,所含化学成分复杂,再加上制剂过程可能会加入一些辅料,其抑制人肝微粒体CYP1A2活性的化学成分有待进一步研究。在临床应用中,一些通过CYP1A2代谢的药物要尽可能不与清开灵注射液联合使用,以避免产生代谢性药物相互作用而导致药物不良反应。

REFERENCES

- [1] ASTRAND B. Avoiding drug-drug interactions[J]. *Chemotherapy*, 2009, 55(4): 215-220.
- [2] LI A P. A comprehensive approach for drug safety assessment[J]. *Chem Biol Interact*, 2004, 150(1): 27-33.
- [3] ZHANG L, REYNOLDS K S, ZHAO P, *et al.* Drug interactions evaluation: An integrated part of risk assessment of therapeutics[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 243(2): 134-145.
- [4] CHEN G R. FDA Publication of drugs canceled from USA market in 1980~2001[J]. *Chin J Pharmacoevidemiol* (药物流行病学杂志), 2002, 11(4): 209-214.
- [5] WIENKERS L C, HEATH T G. Predicting *in vivo* drug interactions from *in vitro* drug discovery data[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(10): 825-833.
- [6] LIU Y Q, HONG Y J, ZENG S. Recent advances in metabolism-based drug-drug interactions[J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)* (浙江大学学报:医学版), 2009, 38(2): 215-224.
- [7] ZHOU C F, XU Z L, LIN Y H. Review and prospect of chinese materia medica injection[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31(24): 2094-2096.
- [8] LIANG A H, LI L D. Current situation and existing problem of chinese materia medica injection[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32(11): 1118-1120.
- [9] LIU G F, GUO X L, HUANG L J. Inhibition of Honghua injection on CYP2D6 in rats[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2008, 39(12): 1829-1832.
- [10] HAN Y L, YU Q, MENG X L, *et al.* Inhibition of Dengzhanxin injection on rat liver microsomal CYP3A[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2009, 14(8): 891-895.
- [11] LIU S J, JU W Z, CHEN W K, *et al.* Influence of xueshuantong injection on P450 activities using a cocktail method[J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2010, 45(2): 115-118.
- [12] XIA C H, SUN J G, WANG G J, *et al.* Herb-drug interactions: *in vivo* and *in vitro* effect of Shenmai injection, a herbal preparation, on the metabolic activities of hepatic cytochrome P450 3A1/2, 2C6, 1A2, and 2E1 in rats[J]. *Planta Med*, 2010, 76(3): 245-250.
- [13] HAN Y L, LI D, MENG X L, *et al.* *In vitro* inhibition potential of Xuesaitong injection on rat liver microsomal CYP3A[J]. *China Pharmacist* (中国药师), 2010, 13(5): 642-644.
- [14] HAN Y L, MENG X L, LI D, *et al.* The *in vitro* inhibition of five traditional chinese medicine injections on rat liver microsomal

- CYP3A[J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2011, 36(4): 492-495.
- [15] WALSKY R L, OBACH R S. Validated assays for human cytochrome P450 activities[J]. *Drug Metab Dispos*, 2004, 32(6): 647-660.
- [16] WALSKY R L, OBACH R S, GAMAN E A, *et al.* Selective inhibition of human cytochrome P4502C8 by montelukast[J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33(3): 413-418.
- [17] KENWORTHY K E, BLOOMER J C, CLARKE S E, *et al.* CYP3A4 drug interactions: correlation of 10 *in vitro* probe substrates[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1999, 48(5): 716-727.
- [18] TURPEINEN M, UUSITALO J, JALONEN J, *et al.* Multiple P450 substrates in a single run: rapid and comprehensive *in vitro* interaction assay[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 24(1): 123-132.
- [19] BJORNSSON T D, CALLAGHAN J T, EINOLF H J, *et al.* The conduct of *in vitro* and *in vivo* drug-drug interaction studies: a PhRMA perspective[J]. *J Clin Pharmacol*, 2003, 43(5): 443-469.
- [20] HUANG S M, STRONG J M, ZHANG L, *et al.* New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process[J]. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48(6): 662-670.
- [21] LIU Y, JIAO J J, LOU J S. Progress of "Cocktail" probe substrates approaches[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2006, 11(11): 1225-1229.
- [22] FAN H R, HE F, LIU C X. Recent advances on "Cocktail" probe drugs which is used to assess the effect of CYP450[J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2006, 41(14): 1045-1048.
- [23] YU W J, HUANG L J, ZHU D L. Screening of Chinese materia medica possessed inhibitory effect on cytochrome P4502D6 in liver microsomes of rats[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38(3): 397-401.
- [24] LIU Y, WANG J, BAO Y Y, *et al.* Effect of Qingkailing injection on rat CYP1A2 and CYP2D6 activity[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32(19): 2044-2047.
- [25] WHITE R E. High throughput screening in drug metabolism and pharmacokinetic support of drug discovery[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, 40: 133-157.
- [26] HOU Y N, CHENG G F, ZHU X Y. Effects of baicalin on liver microsomal cytochrome P450 system[J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 2000, 35(12): 890-892.
- [27] HOU Y N, ZHU X Y, CHENG G F. Effects of baicalin on liver microsomal cytochrome P450 system[J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药理学学报), 2000, 16(2): 68-71.
- [28] KANG J J, WANG H W, LIU T Y, *et al.* Modulation of cytochrome P450 dependent monooxygenases, glutathione and glutathione S-transferase in rat liver by geniposide from *Gardenia jasminoides*[J]. *Food Chem Toxicol*, 1997, 35(10): 957-961.
- [29] REN X H, SI L Q, CAO L, *et al.* Effect of polyoxyethylene surfactants on the activity of cytochromes P450 3A in rats *in vivo*[J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 2008, 43(5): 528-534.
- [30] REN X H, MAO X L, CAO L, *et al.* Nonionic surfactants are strong inhibitors of cytochrome P450 3A biotransformation activity *in vitro* and *in vivo*[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 36(4): 401-411.

(收稿日期: 2011-01-25)