

探针药物法评价厚朴酚、和厚朴酚对大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用

黄戔, 吴桐, 刘春明*, 李赛男, 王乐奇, 侯万超(长春师范大学中心实验室, 长春 130032)

摘要: 目的 研究厚朴中的主要成分厚朴酚、和厚朴酚对 CYP450 酶的 7 种亚型酶活性的影响, 预测可能的药物间相互作用, 为中药的临床应用提供理论依据。方法 采用 Cocktail 探针方法, 将厚朴酚、和厚朴酚和 CYP450 酶 7 种亚型的特异性探针底物: 甲苯磺丁脲(CYP2C)、香豆素(CYP2A6)、右美沙芬(CYP2D6)、氯唑沙宗(CYP2E1)、睾酮(CYP3A)、非那西丁(CYP1A2)、安非他酮(CYP2B6)与大鼠肝微粒体进行孵化反应, 结合 UPLC-MS/MS 的多反应监测技术, 测定对应的 7 种代谢产物(4-羟基甲苯磺丁脲、7-羟基香豆素、右啡烷、6-羟基氯唑沙宗、6 β -羟基睾酮、对乙酰氨基酚和羟基丙酮)的峰面积, 通过与对照组比较, 确定厚朴酚、和厚朴酚对以上 7 种酶活性的影响, 计算相应的 IC₅₀, 评价是否有抑制作用。结果 厚朴酚、和厚朴酚对大鼠肝微粒体中的 4 种亚型酶(CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6)活性均有抑制作用, 且随化合物浓度和预温育时间增加而增加机械抑制; 另外 3 种亚型酶(CYP2A6、CYP3A4 和 CYP1A2)则不呈现此抑制规律。结论 厚朴在与以上 4 种酶(CYP2C、CYP2D6、CYP2E1、CYP2B6)代谢的药物联合用药时, 易产生药物相互作用, 抑制药物代谢。本研究也为中药厚朴的临床应用以及新药研发提供重要的数据支持。

关键词: 细胞色素 P450 酶; 厚朴; 代谢; 抑制作用

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2019)04-0392-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.04.002

引用本文: 黄戔, 吴桐, 刘春明, 等. 探针药物法评价厚朴酚、和厚朴酚对大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(4): 392-396.

Probe Drug Assay for the Inhibitory Effect of Magnolol and Honokiol on CYP450 Enzymes in Rat Liver Microsomes

HUANG Yu, WU Tong, LIU Chunming*, LI Sainan, WANG Yueqi, HOU Wanchao(The Central Laboratory, Changchun Normal University, Changchun 130032, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of magnolol and honokiol on the 7 subtypes of CYP450 enzymes in Magnoliae Officinalis Cortex, and to predict the possible drug-drug interactions. To provide theoretical basis for the clinical application of traditional Chinese medicine. **METHODS** Used the Cocktail probe method, magnolol, honokiol and CYP450 enzyme specific substrates for 7 subtypes: Tolbutamide (CYP2C), Coumarin (CYP2A6), Dextromethorphan (CYP2D6), Chlorzoxazone (CYP2E1), Testosterone (CYP3A), Phenacetin (CYP1A2), Bupropion (CYP2B6) incubation reaction with rat liver microsomes, combined with UPLC-MS/MS multiple reaction monitoring technology, Determination of the peaks of the corresponding 7 metabolites (4-hydroxytoluidine, 7-hydroxycoumarin, dextrorphan, 6-hydroxy chlorzoxazone, 6-hydroxytestosterone, acetaminophen, and hydroxyacetone) area. By comparing with the control group, the effect of magnolol and honokiol on the activity of the above 7 enzymes was determined, and the corresponding IC₅₀ was calculated to evaluate whether there is an inhibitory effect. **RESULTS** Magnolol and honokiol had inhibitory effects on the activity of 7 isoforms (CYP2C, CYP2D6, CYP2E1 and CYP2B6) in rat liver microsomes. And that was an increase in mechanical inhibition with increasing compound concentration and pre-incubation time. However the subtypes of enzymes (CYP2A6, CYP3A4 and CYP1A2) did not exhibit this inhibition pattern. **CONCLUSION** It is likely to inhibit drug metabolism and produce drug-drug interactions, during the combination of magnolia and drugs metabolized by 4 enzymes (CYP2C, CYP2D6, CYP2E1 and CYP2B6). This study also provides very important data support for the clinical application of Chinese herbal medicine

基金项目: 国家自然科学基金项目(31500279, 31670358); 吉林省科技发展计划项目(20170520038JH); 长春师范大学 2017 年度研究生教育创新计划项目(cscxy2017020)

作者简介: 黄戔, 女, 硕士生 Tel: 17843179347 E-mail: 935305353@qq.com *通信作者: 刘春明, 女, 博士, 教授 Tel: (0431)86168777 E-mail: chem_lab@sina.cn

细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP450)酶是肝脏中重要的 I 相药物代谢酶,主导着大部分的外源性及内源性物质的生物转化。CYP450 酶活性会直接影响药效和安全性。活性的改变有 3 种机制:可逆性抑制、基于机制抑制和诱导^[1]。其中,基于机制抑制是 CYP450 酶催化药物产生的活性代谢产物与酶结合后,使酶不可逆地失活^[2]。这种抑制效果作用时间较长,极有可能引起严重的药物-药物相互作用(drug-drug interaction, DDI)^[3],因此基于机制抑制的药酶抑制研究有助于预测药物在体内潜在的 DDI,对中药复杂成分及其配伍合理性研究具有重要意义。

目前, CYP450 在临床上影响>50%的药物代谢。在人体中, CYP2A6、CYP2E1、CYP2D6 分别占总 CYPs 的 4%, 13%和 2%。CYP2C 参与包括胺碘酮、阿莫地喹、双氯芬酸和曲格列酮在内的多种药物的代谢以及酶的功能改变; CYP2E1 负责药物及毒物的活性转化,例如亚硝胺等前致癌物、前毒物以及临床药物等^[4]; CYP2D6 参与 30%的临床药物代谢,包括各种抗高血压药物、三环类抗抑郁药和解热镇痛药等^[5]。另外, CYP2B6 对环磷酰胺、可卡因和摇头丸等一系列药物的代谢起到主导作用; CYP3A4 是最重要的 CYP450 酶之一,环孢菌素 A、二氢吡啶、炔雌醇、咪达唑仑、特非那定和三唑仑等 50%的临床药物均由 CYP3A4 代谢^[6]; CYP1A2 含量占 CYP450 酶系的 12%,可介导芳香胺、多环芳烃、咖啡因的物质代谢,代谢激活多环芳烃、芳香硝基化合物以及黄曲霉素 B1,导致其化学致癌性^[7]。酶的活性很容易被药物诱导或抑制,可能影响其催化的药物代谢,从而导致药物不良反应和毒性的加重。因此,调查药物对酶的影响,对减少药物不良反应非常重要。

厚朴,本品为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.)或凹叶厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils.)的干燥干皮、根皮及枝皮,对食积气滞、腹胀便秘、湿阻中焦、癌症等疾病有治疗作用。其作为主要成分的中药制剂在中国药典 2015 年版中收录的有近 100 种。厚朴树皮中含木脂体类化合物(如

厚朴酚、和厚朴酚等)、单萜木脂体类化合物、生物碱、挥发油等,主要药理活性成分是厚朴酚、和厚朴酚^[8-9]。

肖娟等研究了厚朴酚、和厚朴酚对 4 种主要 CYP450 酶(CYP1A2、CYP2E1、CYP2C、CYP3A)的抑制作用^[10]。本研究在此基础上,采用 Cocktail 混合探针法探究厚朴酚、和厚朴酚对大鼠肝微粒体中 7 种负责药物代谢的主要亚型酶(CYP2C、CYP2A6、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A、CYP1A2 和 CYP2B6,均符合或接近人体药物代谢的亚型酶)的抑制作用及其相关机制,高度模拟体内环境,以便于了解药物间相互作用与药效间的内在联系,为组方配伍和临床合理用药提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

厚朴酚、和厚朴酚(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 KS0912CB14、T2806B5149, HPLC≥98%); 甲苯磺丁脲(美国 Sigma 公司,批号: SLBR5486V); 睾酮、右美沙芬(德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH,批号分别为 50213、104728); 氯唑沙宗、非那西丁、香豆素、安非他酮(梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号分别为 8SB8A-DB、OOJVD-PI、KFPEF-IE、WZGEG-MC); 甲醇、乙腈(Solarbio 公司,批号分别为 721L023、20161212,色谱纯); 使用 Milli-Q 水系统(美国 Millipore)获得纯净水(电阻率: 18.2 MΩ)。

1.2 肝微粒体

雄性 SD 大鼠(混合)肝微粒体购自瑞德肝脏疾病研究(上海)有限公司。

1.3 仪器

Xevo TQ-S 三重四极杆质谱仪(配有 Acquity UPLC 系统、Waters Masslynx V4.1 数据工作站,美国 Waters); Sanorius BS110S 型分析天平(北京赛多利斯有限公司); Sigma 1-14 型离心机(德国 Sigma); DW-86L486 型超低温冰箱(Haier 公司)。

2 方法与结果

2.1 体外孵育反应体系

150 μL 酶反应系统,含有 0.5 mg·mL⁻¹ 肝微粒体蛋白^[11]、100 mmol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)、NADPH 再生系统(3.3 mmol·L⁻¹ 葡萄糖-6-

磷酸、1.3 mmol·L⁻¹ NADP、0.4 U·mL⁻¹ 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 3.3 mmol·L⁻¹ MgCl₂)、混合探针底物(0.2 mmol·L⁻¹ 甲苯磺丁脲、0.2 mmol·L⁻¹ 香豆素、0.1 mmol·L⁻¹ 右美沙芬、0.05 mmol·L⁻¹ 氯唑沙宗、0.2 mmol·L⁻¹ 睾酮、0.2 mmol·L⁻¹ 非那西丁和 0.1 mmol·L⁻¹ 安非他酮)。厚朴酚、和厚朴酚溶解于甲醇中, 通过控制药物浓度以及反应体系的体积, 保证最终甲醇含量<0.1%^[12]。肝微粒体与厚朴酚、和厚朴酚在 37 °C 下预温育 5 min 后, 通过加入 NADPH 再生系统启动反应。设立空白组为加入等体积的甲醇, 实验组为加入不同浓度的厚朴酚、和厚朴酚(5, 10, 25, 50 μmol·L⁻¹)。37 °C 孵育反应 90 min。

测试 CYP450 特异性底物代谢产物的含量: CYP2C(4-羟基甲苯磺丁脲)、CYP2A6(7-羟基香豆素)、CYP2D6(右啡烷)、CYP2E1(6-羟基氯唑沙宗)、CYP3A(6β-羟基睾酮)、CYP1A2(对乙酰氨基酚)和 CYP2B6(羟基安非他酮), 计算出 CYP2C、CYP2A6、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A、CYP1A2 和 CYP2B6 的 IC₅₀, 用以评价厚朴酚、和厚朴酚对 CYP450 活性的影响。

2.2 样品处理

加入含有 40 μg·mL⁻¹ 甘草素内标的 150 μL 冰乙腈溶液终止反应。涡旋样品, 4 °C, 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。通过使用液相色谱串联质谱分析上清液。

2.3 色谱条件和质谱条件

UPLC BEH Shield RP 18 柱(150 mm×4.6 mm, 1.7 μm), 流动相 A 是乙腈, 流动相 B 是 0.1%甲酸-水。洗脱条件: 0~5 min, 10%A→40%A; 5~5.5 min, 40%A→50%A; 5.5~6 min, 50%A; 6.5~ 8 min, 100%A。流速为 0.3 mL·min⁻¹, 柱温为 28 °C。

电喷雾离子源, 除 6-羟基氯唑沙宗采用负离子电离模式外, 其他化合物均采用正离子电离模式。采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)方式定量, 喷雾电压设定为 3.5 kV, 毛细管温度为 350 °C, 脱溶剂气体(N₂)流量为 700 L·h⁻¹, 锥孔气(N₂)流量为 50 L·h⁻¹, 碰撞气体(Ar)流速为 0.15 mL·min⁻¹。

2.4 统计分析

以 IC₅₀ 值为指标。IC₅₀ 为药物在产生 50%抑制作用时的药物浓度, 其值越小, 表明药物的抑制作用越强, 本实验的抑制按照文献[13]方法计

算。IC₅₀ 值利用 OriginPro 8 软件拟合求得。对于机制性抑制实验结果, 分别用配对 *t* 检验分析预孵 0 min 组和预孵 30 min 组间酶的活性差异, 用统计学软件 SPSS v13.0 进行统计分析, 各酶的活性变化用均值[95%置信区间]表示。

2.5 UPLC-MS/MS 测定特异性底物代谢产物及内标

根据文献报道, 对所有探针底物、代谢产物以及内标进行母离子及产物离子扫描^[14], 选择丰度最大的产物离子进行 MRM 监测。6-羟基氯唑沙宗在负离子模式下具有最高灵敏度, 其他化合物在正离子模式下检测。各化合物的 MRM 参数见表 1。对混合探针底物在大鼠肝微粒体孵育之后的样品进行分析, 得到的离子色谱图显示在图 1 中。6-羟基氯唑沙宗、6β-羟基睾酮、4-羟基甲苯磺丁脲、右啡烷、羟基安非他酮、7-羟基香豆素和对乙酰氨基酚的保留时间分别为 2.34, 6.97, 7.70, 6.04, 4.59, 4.97, 5.05 min。样品峰附近基本没有内源性物质干扰。

表 1 UPLC-MS/MS 测得的 CYP450 特异性底物代谢产物的 MRM 质谱参数(n=3)

Tab. 1 MRM transitions and fragmentation parameters for the specific probe products and internal standard(n=3)

CYP450 亚型酶	探针代谢产物	离子对 (m/z)	离子源	裂解电压/eV	碰撞电压/eV
-	甘草素(内标)	255>135	ESI ⁻	28	30
CYP2C	4-羟基甲苯磺丁脲	287>109	ESI ⁺	30	30
CYP2A6	7-羟基香豆素	163>119	ESI ⁺	30	20
CYP2D6	右啡烷	258>171	ESI ⁺	30	36
CYP2E1	6-羟基氯唑沙宗	184>120	ESI ⁻	28	20
CYP3A4	6β-羟基睾酮	305>184	ESI ⁺	30	10
CYP1A2	对乙酰氨基酚	152>110	ESI ⁺	60	25
CYP2B6	羟基安非他酮	256>130	ESI ⁺	30	48

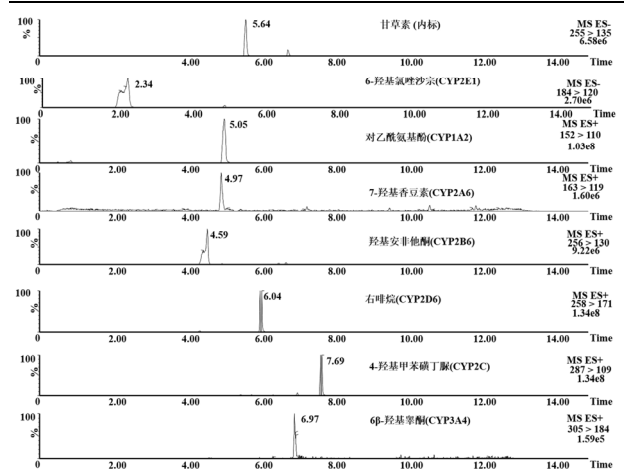


图 1 指标化合物及内标的正离子 MRM 谱图

Fig. 1 MRM spectrum of index compound and internal standard measured

2.6 厚朴中木质素成分对 CYP450 酶活性的抑制作用

在“2.1”项下孵育体系中,将预孵时间延长至 30 min,计算 CYP450 亚型酶的抑制率。

结果显示,厚朴酚对 CYP2C 酶催化甲苯磺丁脲的羟基化反应有抑制作用,IC₅₀ 值为 41.48 μmol·L⁻¹;对 CYP2D6 催化右美沙芬的羟基化反应和 CYP2E1 催化氯唑沙宗的羟基化反应有较弱的抑制作用,其 IC₅₀ 值分别为 65.42, 67.93 μmol·L⁻¹;抑制由 CYP3A4 催化睾酮的羟基化反应,IC₅₀ 值为 52.36 μmol·L⁻¹;对 CYP2B6 催化安非他酮的羟基化反应的 IC₅₀ 值为 28.69 μmol·L⁻¹,说明厚朴酚对于 CYP2B6 亚型酶的活性有较强的抑制作用。和厚朴酚对 CYP2C 和 CYP2D6 的活性具有抑制作用,IC₅₀ 值分别为 41.86, 43.43 μmol·L⁻¹。但和厚朴酚对 CYP2E1 和 CYP2B6 的活性抑制作用相对较低,IC₅₀ 值分别为 58.10, 53.22 μmol·L⁻¹。结果见表 2。

表 2 孵育后厚朴酚、和厚朴酚对 CYP450 亚型酶的抑制 IC₅₀ 值

Tab. 2 The IC₅₀ values of magnolol and honokiol on CYP450 subtype enzyme inhibition after incubation

CYP450 亚型酶	特异性 探针底物	代谢产物	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
			厚朴酚	和厚朴酚
CYP2C	甲苯磺丁脲	4-羟基甲苯磺丁脲	41.48±5.13	41.86±4.24
CYP2A6	香豆素	7-羟基香豆素	>100	>100
CYP2D6	右美沙芬	右啡烷	65.42±4.46	43.43±2.34
CYP2E1	氯唑沙宗	6-羟基氯唑沙宗	67.93±9.51	58.10±3.02
CYP3A4	睾酮	6β-羟基睾酮	52.36±17.32	>100
CYP1A2	非那西汀	对乙酰氨基酚	97.80±3.83	95.24±7.81
CYP2B6	安非他酮	羟基安非他酮	28.69±1.46	53.22±0.66

2.7 厚朴中木质素成分对 CYP450 酶活性的机制

在“2.1”的孵育体系中,分别在 37 °C 预孵育 0, 30 min,并分别加入 5, 10, 25, 50 μmol·L⁻¹ 厚朴酚、和厚朴酚,计算并比较 CYP450 亚型酶的抑制率,测试每种化合物对特定底物的抑制作用。

结果显示,以加入 50 μmol·L⁻¹ 厚朴酚,预孵育 30 min 为例,与预孵育 0 min 相比,厚朴酚对 CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 的抑制作用分别增加 7.8%, 53.95%, 42.58%, 36.16%。同理,和厚朴酚对 CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 亚型酶的抑制率分别提高了 35.97%, 32.82%, 33.76%, 13.12%。与预孵育 0 min 相比,预孵育 30 min 后,CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 亚型酶对应的特异性探针底物的含量

均有不同程度的降低,并随药物浓度的增加呈降低趋势,说明厚朴酚、和厚朴酚对 CYP450 酶活性呈浓度、预孵时间依赖性的抑制作用。而 CYP2A6、CYP3A4 和 CYP1A2 则不呈现此抑制规律,结果见图 2~3。

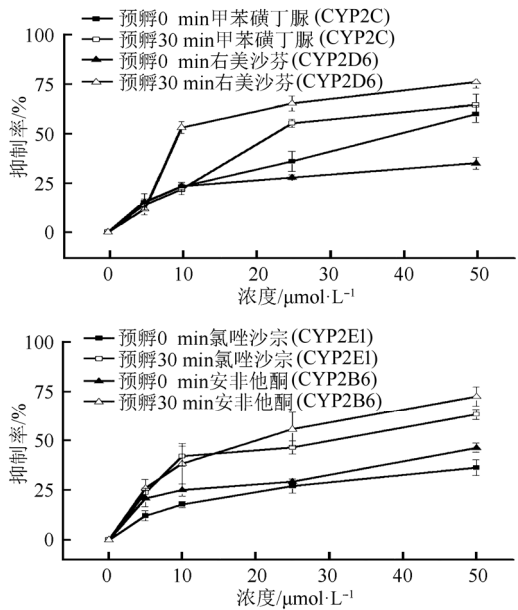


图 2 厚朴酚在肝微粒体中预孵后对 CYP2C、CYP2D6、CYP 2E1、CYP2B6 活性的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of magnolol preincubation in rat liver microsomes on CYP2C, CYP2D6, CYP 2E1, CYP2B6 activity($\bar{x} \pm s, n=3$)

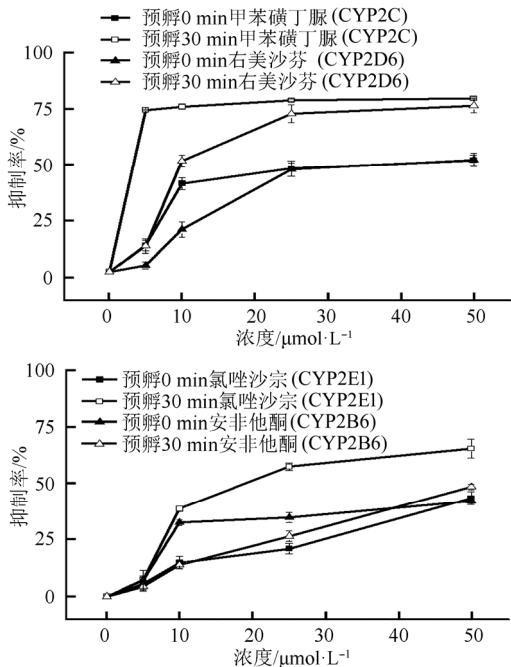


图 3 和厚朴酚在肝微粒体中预孵后对 CYP2C、CYP2D6、CYP 2E1、CYP2B6 活性的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of honokiol preincubation in rat liver microsomes on CYP2C, CYP2D6, CYP2E1, CYP2B6 activity($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 讨论

受代谢酶的控制和影响, 药物在体内的药理学活性、代谢过程、药物相互作用等方面存在显著差异。由药物代谢引起的 DDI 发生率较高, 药物对 CYP450 酶的抑制作用已成为最常见的导致严重 DDI 原因之一^[15-17]。本研究首次采用 Cocktail 混合探针方法, 结合 UPLC-MS/MS 的 MRM 技术, 通过检测 CYP450 各亚型酶特异性底物的代谢产物, 探究厚朴酚、和厚朴酚对 7 种 CYP450 酶活性的影响。将 UPLC-MS/MS 技术的高分离度、高灵敏度、高分辨率与多探针底物的特异性完美结合, 大大缩短了药物对 CYP450 亚型抑制或诱导能力的分析时间。本实验影响因素有很多, 肝微粒体制备方法、探针选择, 以及检测手段等, 若用于临床参考, 需要再对患者体质及其他药物作用等情况进行进一步的研究。

厚朴在临床上主要用作抗肿瘤或抗病毒治疗, 对于其主要活性成分反应机制的研究是十分重要的。本研究结果显示, 2 种药物均对大鼠肝微粒体中的 4 种亚型酶(CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6)有不同程度的抑制作用, 且属于以浓度依赖性的基于机制抑制。而亚型酶 CYP2A6、CYP3A4 和 CYP1A2 则不呈现此抑制规律。因此, 对于经 CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 代谢, 并产生不良反应的药物, 厚朴酚、和厚朴酚可能会抑制其生物转化, 并降低其对身体的不良反应。对于经 CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 代谢的药物, 厚朴酚、和厚朴酚可能会抑制其代谢, 产生酶抑作用, 导致药效增强甚至引起中毒。这提示我们, 在临床厚朴的应用中, 应强烈关注其与 CYP2C、CYP2D6、CYP2E1 和 CYP2B6 的底物、抑制剂或者诱导剂同时使用诱发潜在 DDI 的可能性。本研究也为中药厚朴的临床应用以及新药研发提供非常重要的数据支持。

REFERENCES

- [1] VENKATAKRISHNAN K, OBACH R S, ROSTAMI-HODJEGAN A. Mechanism-based inactivation of human cytochrome P450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions [J]. *Xenobiotica*, 2007, 37(10/11): 1225-1256.
- [2] WATANABE A, NAKAMURA K, OKUDAIRA N, et al. Risk assessment for drug-drug interaction caused by metabolism-based inhibition of CYP3A using automated *in vitro* assay systems and its application in the early drug discovery process [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(7): 1232-1238.
- [3] NISHIYA Y, HAGIHARA K, ITO T, et al. Mechanism-based inhibition of human cytochrome P450 2B6 by ticlopidine, clopidogrel, and the thiolactone metabolite of prasugrel [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(3): 589-593.
- [4] 马瑞芳, 韩国柱. 中药对细胞色素 P450 2E1 影响的研究进展[J]. *中草药*, 2009, 40(11): 1841-1844.
- [5] QU Y Q, LIANG R, SUN D G, et al. Inhibitory effect of diethylstilbestrol on cytochrome P450 3A4 and cytochrome P450 2C9 in human liver microsomes [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*(中国药理学与毒理学杂志), 2011, 25(2): 170-175.
- [6] RENDIC S, DI CARLO F J. Human cytochrome P450 enzymes: A status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors [J]. *Drug Metab Rev*, 1997, 29(1/2): 413-580.
- [7] 潘柳萌. 细胞色素 CYP1A2、CYP3A4 介导的硫杂蒽酮类光引发剂体外代谢[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [8] MUROYAMA A, FUJITA A, LV C, et al. Magnolol protects against MPTP/MPP+-Induced toxicity via inhibition of oxidative stress *in vivo* and *in vitro* models of parkinson's disease [J]. *Parkinson's Dis*, 2012, 2012(4): 985157. Doi: 10.1155/2012/985157.
- [9] ZUO G Y, ZHANG X J, HAN J. *In vitro* Synergism of magnolol and honokiol in combination with antibacterial agents against clinical isolates of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015(15): 425. Doi: 10.1186/s12906-015-0938-3.
- [10] 肖娟. 厚朴酚与和厚朴酚对大鼠肝脏 CYP450 酶活性的影响及抑制类型研究[D]. 武汉: 湖北大学, 2012.
- [11] HANAPI N A, AZIZI J, ISMAIL S, et al. Evaluation of selected malaysian medicinal plants on phase I drug metabolizing enzyme, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 activities *in vitro* [J]. *Int J Pharmacol*, 2010, 6(4): 490-495.
- [12] DE BOCK L, BOUSSERY K, COLIN P. Development and validation of a fast and sensitive UPLC-MS/MS method for the quantification of six probe metabolites for the *in vitro* determination of cytochrome P450 activity [J]. *Talanta*, 2011(89): 209-216.
- [13] CAI T, ZHANG L, WANG H, et al. Assisted inhibition effect of acetylcholinesterase with *n*-octylphosphonic acid and application in high sensitive detection of organophosphorous pesticides by matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 706(2): 291-296.
- [14] OTTEN J N, HINGORANI G P, HARTLEY D P, et al. An *in vitro*, high throughput, seven CYP cocktail inhibition assay for the evaluation of new chemical entities using LC-MS/MS [J]. *Drug Metab Lett*, 2011, 5(1): 17-24.
- [15] 刘彦卿, 洪燕君, 曾苏. 代谢性药物-药物相互作用的研究进展[J]. *浙江大学学报*, 2009, 38(2): 215-224.
- [16] SUN M, TANG Y, DING T, et al. Inhibitory effects of celastrol on rat liver cytochrome P450 1A2, 2C11, 2D6, 2E1 and 3A2 activity [J]. *Fitoterapia*, 2014(92): 1-8.
- [17] CI X Y, LI W, CUI T, ET AL. Establishment and application of a model for cytochrome P450 enzyme induction [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2018, 27(6): 688-694.

收稿日期: 2018-03-29

(本文责编: 蔡珊珊)