

雷公藤多苷对大鼠与人肝微粒体CYP3A酶活性的体外抑制作用^Δ

夏 军^{1*}, 夏宗玲²(1. 江苏大学附属武进医院, 江苏常州 213002; 2. 常州市第一人民医院, 江苏常州 213003)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0473-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.14

摘要 目的: 建立液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法测定大鼠和人肝微粒体中1'-羟基咪达唑仑的含量, 研究雷公藤多苷对体外大鼠与人肝微粒体细胞色素P₄₅₀(CYP)3A酶活性的抑制作用。方法: 将不同质量浓度的雷公藤多苷(0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0 μg/ml)分别与大鼠和人肝微粒体(0.4 mg/ml)共同孵育20 min后终止反应, 采用LC-MS/MS法测定孵育液中咪达唑仑的代谢产物1'-羟基咪达唑仑的浓度以评价CYP3A酶活性并计算酶活性抑制率, 采用GraphPad Prism 5.0软件进行拟合并计算半数抑制浓度(IC₅₀)。色谱柱为Agilent Eclipse XBD-C₁₈, 流动相为水-甲醇(梯度洗脱), 流速为0.3 ml/min, 柱温为30 ℃, 进样量为2 μl。采用电喷雾电离(ESI), 定量离子为m/z 342.01→324.1(1'-羟基咪达唑仑)、m/z 383.01→337.2(内标氯雷他定)。结果: 1'-羟基咪达唑仑检测浓度在0.01~3 μmol/L范围内与其和内标物峰面积比值呈良好线性关系; 精密度试验RSD均小于10%, 提取回收率为97.92%~101.65%, 方法回收率为96.70%~104.10%, 稳定性试验RSD均小于10%。雷公藤多苷对大鼠和人微粒体中CYP3A的IC₅₀分别为(48.610 ± 1.32) μg/ml和(4.754 ± 1.12) μg/ml; 在0.5~100.0 μg/ml范围内雷公藤多苷对CYP3A酶活性有抑制作用, 且与质量浓度呈正相关。结论: 所建立的LC-MS/MS法可用于检测大鼠和人肝微粒体中1'-羟基咪达唑仑的含量。雷公藤多苷对体外大鼠和人肝微粒体药物代谢酶CYP3A均存在抑制作用, 且对人肝微粒体CYP3A的抑制作用明显强于大鼠。

关键词 雷公藤多苷; 体外代谢模型; 肝微粒体; 液相色谱-串联质谱; 细胞色素P₄₅₀3A; 1'-羟基咪达唑仑

Inhibitory Effects of Tripterygium Glycosides on CYP3A Activity of Rat and Human Liver Microsomes *in vitro*

XIA Jun¹, XIA Zong-ling²(1. The Affiliated Wujin Hospital of Jiangsu University, Jiangsu Changzhou 213002, China; 2. Changzhou First People's Hospital, Jiangsu Changzhou 213003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish LC-MS/MS method for the content determination of 1'-hydroxymethylmidazolam in rat and human liver microsomes, and to study the inhibitory effects of tripterygium glycosides on the activity of P₄₅₀(CYP)3A activity of rat and human liver microsomes. METHODS: Tripterygium glycosides (0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 50.0, 100.0 μg/ml) were incubated *in vitro* with rat and human liver microsomes (0.4 mg/ml), and 20 min later the reaction was terminated. The concentration of midazolam metabolite 1'-hydroxymethylmidazolam was determined by LC-MS/MS to evaluate the activity of CYP3A and calculate inhibitory rate of it to enzyme. IC₅₀ was fitted by GraphPad Prism 5.0 software. The determination was performed on Agilent Eclipse XBD-C₁₈ with mobile phase consisted of water-methanol (gradient elution) at the flow rate of 0.3 ml/min. Column temperature was 30 ℃, and the sample size was 2 μl. MS condition was as follows; ESI, m/z 342.01→324.1 for 1'-hydroxymethylmidazolam, m/z 383.01→337.2 for internal standard loratadine. RESULTS: The linear range of 1'-hydroxymethylmidazolam was 0.01-3 μmol/L. RSD of precision test was lower than 10%; extraction recoveries were 97.92%-101.65%, and method recoveries were 96.70%-104.10%; RSD of stability test was lower than 10%. The IC₅₀ of tripterygium glycosides to CYP3A in rat and human microsomes were (48.610 ± 1.32) μg/ml and (4.754 ± 1.12) μg/ml. Tripterygium glycosides (0.5-100.0 μg/ml) inhibited the activity of CYP3A in concentration-dependent manner. CONCLUSIONS: LC-MS/MS could be used to detect the contents of 1'-hydroxymethylmidazolam in rat and human liver microsomes. Tripterygium glycosides could inhibit CYP3A in rat and human liver microsomes *in vitro*, especially stronger in human liver microsomes than in rat liver microsomes.

KEYWORDS Tripterygium glycosides; Metabolism model *in vitro*; Liver microsomes; LC-MS/MS; CYP3A; 1'-hydroxymethylmidazolam

雷公藤多苷(Tripterygium glycosides, 又称雷公藤总苷)为雷公藤根经提取、纯化而成的中药制剂, 其主要药理作用为免疫调节和抗炎作用。临床上主要用于类风湿性关节炎、肾脏疾病、白塞氏病、麻风反应、肝脏疾病、皮肤病、黏膜病、系统

性红斑狼疮等疾病的治疗, 应用较广泛。临床应用雷公藤多苷片时, 常与依那普利、苯那普利、双嘧达莫、卡托普利、环磷酰胺、糖皮质激素、钙拮抗药等药物合用。如果雷公藤多苷能够影响细胞色素P₄₅₀(CYP)酶系某个亚型的活性, 就会影响由该亚型参与代谢的其他合并用药物的药动学特性, 从而影响该药的疗效和不良反应, 产生药物间的相互作用。

雷公藤多苷片的主要活性成分为雷公藤内酯醇和雷公藤

Δ 基金项目: 常州市科技计划项目(No. CY20119024)

* 副主任药师。研究方向: 临床药学。电话: 0519-85579117。

E-mail: xj@info51.net

内酯甲,成分较复杂。经前期实验研究表明雷公藤多苷片对大鼠体内CYP2E1酶活性影响较小,而对CYP3A酶活性有抑制作用^[1]。国内文献仅有雷公藤内酯醇在大鼠和人体外羟基化代谢的研究和雷公藤内酯醇对大鼠肝微粒体体外蛋白表达的研究^[2-3],以及雷公藤活性成分对大鼠体内CYP活性的影响^[4],不足以说明雷公藤多苷对CYP的抑制作用。经国内文献检索尚未见有关雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体体外代谢影响的相关报道。因此,本课题组进一步开展了雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体CYP3A代谢活性影响的研究。

本课题组分别建立大鼠和人肝微粒体体外代谢模型以及1'-羟基咪达唑仑含量测定的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测方法,以咪达唑仑作为代谢底物,研究雷公藤多苷对CYP3A酶活性的抑制作用。

1 材料

1.1 仪器

1290/6460型液相色谱仪串联三联四级杆质谱仪(美国Agilent公司);电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];Optima MAX-XP超速离心机(美国Beckman Coulter公司);低温冰箱(日本Sanyo公司);XW-80A型漩涡混合器(上海医科大学仪器厂);DKZ-2型恒温振荡水槽(上海精宏仪器设备有限公司);FM70型雪花制冰机(北京长流科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

雷公藤多苷原料药[浙江得恩德制药有限公司,批号:1304701,含量:4.86 mg/g(以雷公藤内酯甲计)];咪达唑仑对照品(批号:171250-201002,纯度:>99.8%)、氯雷他定对照品(批号:100615-200602,纯度:99%)购自中国食品药品检定研究院;1'-羟基咪达唑仑对照品(浙江大学药物分析与代谢研究室余露山教授馈赠,纯度:99.5%);氧化型辅酶II(β -NADP)、还原型辅酶II(NADPH)、枸橼酸、枸橼酸脱氢酶均购于美国Sigma公司;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为国产分析纯,水为18 M Ω 水。

1.3 动物

清洁级SD大鼠,月龄1.5个月, δ ,体质量200~250 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物使用许可证号:SCXK(沪)2003-0003]。

1.4 肝微粒体

混合人肝微粒体[10个个体混合,瑞德肝脏疾病研究(上海)有限公司,蛋白质量浓度:20 mg/ml,规格:1 ml/包];大鼠肝微粒体(10只大鼠混合微粒体)由笔者采用钙离子沉淀法制备(蛋白质量浓度:20 mg/ml,规格:1 ml/包)^[5-7]。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XBD-C₁₈(50 mm \times 2.1 mm,3.5 μ m);流动相:水(A)-甲醇(B),梯度洗脱;流速:0.3 ml/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:2 μ l。流动相比比例变化见表1。

2.2 质谱条件

离子源:电喷雾电离(ESI);扫描方式:多反应监测(MRM);喷雾气压:45 psi;雾化器温度:350 $^{\circ}$ C;电喷雾电压:3 500 V;喷头电压:500 V;气流速度:5 L/min;扫描时间:6

min。定量离子与质谱参数见表2。

表1 流动相比比例变化

时间, min	A, %	B, %
0.00	80	20
3.00	5	95
5.00	5	95
5.10	80	20
6.00	80	20

表2 定量离子与质谱参数

对照品	母离子, m/z	子离子, m/z	碎裂电压, V	碰撞能量, eV
1'-羟基咪达唑仑	342.01	324.1	160	30
氯雷他定(内标)	383.01	337.2	160	18

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取咪达唑仑和1'-羟基咪达唑仑对照品适量,分别用二甲基亚砜(DMSO)制备成1 mmol/L的溶液作为贮备液,然后采用逐级稀释的方法,制备系列混合对照品溶液,4 $^{\circ}$ C贮藏,备用。

2.3.2 内标溶液的制备 精密称取氯雷他定对照品适量,用DMSO制备成质量浓度为8 mg/ml的内标溶液,4 $^{\circ}$ C贮藏,备用。

2.3.3 质控样品的制备 分别取不同浓度的混合对照品系列溶液10 μ l与内标溶液10 μ l,加入100 μ l空白肝微粒体中,得高、中、低(3、0.3、0.03 μ mol/L)3个浓度的质控样品,4 $^{\circ}$ C贮藏,备用。

2.4 肝微粒体样品的处理

分别精密吸取大鼠与人肝微粒体适量,以下操作均在4 $^{\circ}$ C冰浴中进行:用新鲜配制的枸橼酸-枸橼酸脱氢酶再生系统稀释成肝微粒体蛋白质量浓度为0.4 mg/ml的混悬液;取此混悬液0.2 ml,加入底物咪达唑仑使其终浓度为5 μ mol/L,并同时分别加入不同质量浓度的雷公藤多苷溶液,使其终质量浓度分别为0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0 μ g/ml(该孵育体系中含有有机溶剂为0.5%),混匀,于37 $^{\circ}$ C预孵育5 min;加 β -NADP/NADPH的0.1%NaHCO₃溶液(临用新配,置于冰浴中, β -NADP、NADPH的终浓度分别为0.25、0.1 mmol/L)启动反应,并开始计时;37 $^{\circ}$ C下孵育20 min后,加入2倍体积的含80 ng/ml内标氯雷他定的冰冷乙腈溶液沉淀蛋白,终止反应,涡旋1 min,16 000 \times g离心15 min,取上清液进样2 μ l,测定咪达唑仑代谢产物1'-羟基咪达唑仑质量浓度。

2.5 方法学考察

2.5.1 方法专属性 分别取空白微粒体、标准样品、孵育液样品(雷公藤多苷质量浓度为10 μ g/ml),按“2.4”项下方法处理样品后,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定。结果,1'-羟基咪达唑仑和内标物的保留时间分别为2.94、3.6 min左右,肝微粒体中所含的内源性物质不干扰被测物和内标的测定,且二者峰形良好。图谱见图1。

2.5.2 标准曲线的制备 按“2.3”项下方法制备混合对照品系列液(0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、3 μ mol/L),按“2.4”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定。以1'-羟基咪达唑仑质量浓度(x)为横坐标、1'-羟基咪达唑仑与内标物峰面积比值(y)为纵坐标,进行线性回归分析,得大鼠、人肝

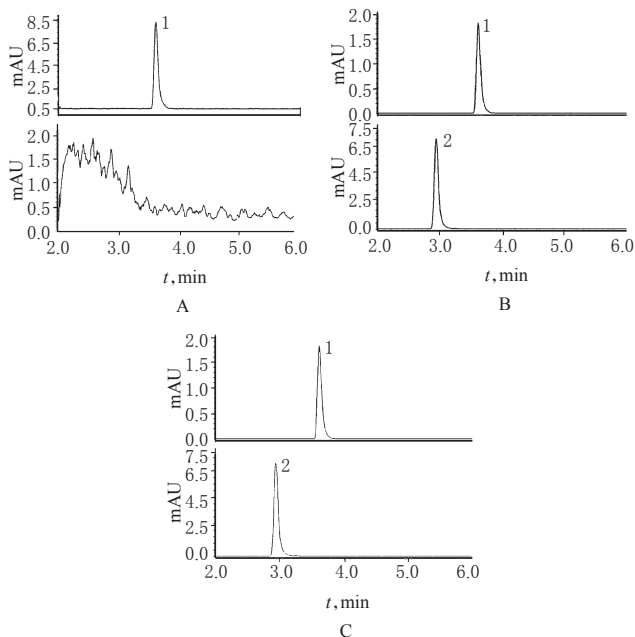


图1 液相色谱-串联质谱图

A. 空白微粒体; B. 标准样品; C. 孵育液样品; 1. 内标; 2. 咪达唑仑

Fig 1 LC-MS/MS chromatograms

A. blank microsomes; B. standard samples; C. incubation fluid samples; 1. internal standard; 2. midazolam

微粒体线性回归方程分别为 $y=1.055\ 806x+0.076\ 414$ ($r=0.990\ 5$), $y=83.621x+3.168$ ($r=0.999\ 0$)。结果表明,在大鼠、人肝微粒体中 1'-羟基咪达唑仑检测浓度在 $0.01\sim 3\ \mu\text{mol/L}$ 范围内与其和内标物峰面积比值呈良好线性关系;定量限为 $0.01\ \mu\text{mol/L}$ ($\text{RSD}<13\%$, $n=5$)。

2.5.3 精密度试验 按“2.3”项下方法制备高、中、低浓度的质控样品各 5 份,按“2.4”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件考察日内精密度(5次)、日间精密度(3 d)。精密度试验结果见表 3。

表3 日内、日间精密度和回收率试验结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Results of the precision test and the recovery test ($\bar{x}\pm s$)

质量浓度, $\mu\text{mol/L}$	精密度		方法回收 率, %	提取回收 率, %
	日内RSD, %	日间RSD, %		
0.03	6.9	8.3	96.70 ± 6.67	101.65 ± 6.93
0.30	6.9	7.4	104.10 ± 7.18	98.72 ± 5.25
3.00	3.9	2.3	103.50 ± 4.04	97.92 ± 2.89

2.5.4 回收率试验 按“2.3”项下方法制备高、中、低浓度的标准质控样品各 5 份,按“2.4”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件测定。将测得峰面积比值代入回归方程,计算测定值并与加入量比较,计算提取回收率。测得峰面积比值与同浓度对照品溶液直接进样所得峰面积比值进行比较,计算方法回收率。回收率试验结果见表 3。

2.5.5 样品稳定性考察 取“2.3”项下高、中、低浓度的质控样品各 5 份,在 $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育 0、1 h 后,按“2.4”项下方法处理后进样测定,考察 $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育样品的稳定性;取“2.3”项下高、中、低浓度的质控样品各 5 份,于 $4\ ^\circ\text{C}$ 放置 24 h 后测定,考察 $4\ ^\circ\text{C}$ 进样器中放置样品的稳定性。结果, RSD 均小于 10%, 表明样品在 $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育 1 h 及 $4\ ^\circ\text{C}$ 进样器中放置稳定。

2.6 抑制率及半数抑制浓度 (IC_{50}) 的计算^[8]

在孵育体系中加入不同浓度的待测药物,分别求得其代谢抑制率,采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行非线性回归,并得到本试验条件下待测药物的 IC_{50} 。药物对 CYP3A 的抑制作用采用 1'-羟基咪达唑仑生成速率的降低(即抑制率)表示,抑制率参照下式计算:

$$\text{抑制率} = (m_0 - m_1) / m_0 \times 100\%$$

式中: m_0 为空白溶剂对照时探针药物代谢物(1'-羟基咪达唑仑)的生成量; m_1 为加入系列浓度待测药物后探针药物代谢物(1'-羟基咪达唑仑)的生成量。

本试验用抑制率来表示药物对酶代谢抑制作用的强弱,数值越高表示抑制作用越强。

2.7 雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体 CYP3A 酶活性的抑制率检测结果

由检测结果发现,随着雷公藤多苷质量浓度的增加,其对酶活性的抑制作用逐渐增强。雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体 CYP3A 酶活性抑制率的检测结果见表 4。

表4 雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体 CYP3A 酶活性抑制率的检测结果($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab 4 Inhibition rate of tripterygium glycosides on the activity of CYP3A in rats and human liver microsomal enzyme ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

质量浓度, $\mu\text{g/ml}$	代谢抑制率, %	
	大鼠	人
0.5	19.34 ± 7.80	1.17 ± 2.30
1.0	26.35 ± 2.63	10.06 ± 1.15
2.0	20.23 ± 3.92	29.58 ± 3.07
5.0	20.36 ± 2.78	57.44 ± 3.12
10.0	28.48 ± 5.78	68.57 ± 6.39
50.0	49.75 ± 8.03	86.08 ± 0.83
100.0	63.50 ± 5.14	90.27 ± 0.79

2.8 雷公藤多苷 IC_{50} 的测定结果

经 GraphPad Prism 5.0 软件计算结果发现,雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体均有明显抑制作用,对大鼠微粒体中 CYP3A 的 IC_{50} 为 $(48.610\pm 1.32)\ \mu\text{g/ml}$, 对人微粒体中 CYP3A 的 IC_{50} 为 $(4.754\pm 1.12)\ \mu\text{g/ml}$ 。雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体 CYP3A 酶活性的抑制作用曲线见图 2。

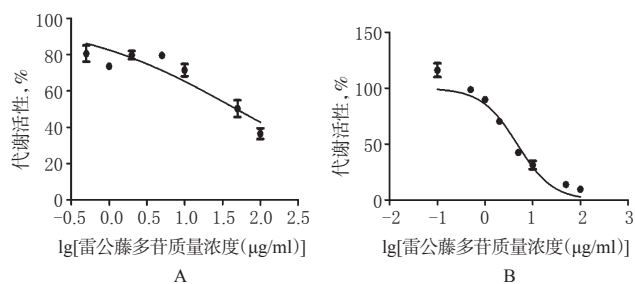


图2 雷公藤多苷对大鼠和人肝微粒体 CYP3A 酶活性的抑制作用曲线

A. 大鼠; B. 人

Fig 2 Inhibition curve of tripterygium glycosides on the activity of CYP3A in rat and human liver microsomes

A. rat; B. human

3 讨论

3.1 分析方法的确定

由方法学结果可见,本实验室建立的LC-MS/MS方法专属性好、测定速度快;在此色谱条件下代谢物、内标出峰良好,且系统耐用性也较好,试验条件的微小差异不会影响其分离测定。在内标物的选择上,笔者考虑到内标物和待测物结构、物理性质及化学性质相近的原则^[8-9],选择了同样含有七元环、理化性质相似的氯雷他定作为内标物。其与1'-羟基咪达唑仑出峰时间相近,不会延长测定时间,且能较好地分离。

3.2 代谢模型的选择

目前常用的体外代谢模型中肝微粒体模型含有肝脏表达的所有参与药物代谢的CYP酶,且易于制备和保存而被广泛用于药物的氧化代谢研究,已被美国FDA认可用于新药代谢途径和对CYP酶抑制或诱导作用的研究^[10]。因此本研究选择肝微粒体模型研究雷公藤多苷对CYP3A的抑制作用。

3.3 抑制作用的判定

对于化学药品常用IC₅₀评判其对肝药酶抑制能力的大小:若IC₅₀<1 μmol/L,则初步表明药物对该CYP抑制能力强;若IC₅₀>50 μmol/L,则表明药物对该CYP抑制能力弱。根据IC₅₀的大小可以初步了解药物对CYP是否有强抑制作用^[11]。但对于分子质量不明确的中药尤其是中药复方制剂对CYP酶抑制作用的强弱还没有公认的评判依据。有文献提到有关抑制作用的评判依据,认为加入待测药物后代谢产物的生成速率超过10%被认为是具有明显影响^[12]。由本试验大鼠肝微粒体CYP3A酶活性的抑制率数据可见,当雷公藤多苷质量浓度超过0.5 μg/ml时,即表现出对CYP3A酶活性的抑制作用;同样人肝微粒体CYP3A酶活性的抑制率亦表现出对酶的抑制作用,且随质量浓度的增大,抑制作用明显增强。

3.4 种属差异

虽然大鼠肝微粒体与人类相似度极高,但是仍存在一定的种属差异,这就可能导致药物在这两个种属体内的代谢途径和代谢产物的差异。因此,本课题组选择同时用大鼠和人肝微粒体体外代谢模型进行研究,在研究雷公藤多苷对CYP3A酶活性影响的同时,考察雷公藤多苷代谢的种属差异,减少因种属差异而造成试验结果的误差。

本研究分别选用了大鼠和人的肝微粒体体外代谢模型来研究雷公藤多苷对药物代谢酶CYP3A的影响,以氯雷他定作为内标,采用LC-MS/MS法测定咪达唑仑主要代谢产物1'-羟基咪达唑仑的生成量的变化,以此评价药物对CYP3A酶活性的影响。经GraphPad Prism 5.0软件拟合计算得到雷公藤多苷对大鼠微粒体中CYP3A的IC₅₀为(48.610±1.32) μg/ml,对人微粒体中CYP3A的IC₅₀为(4.754±1.12) μg/ml。结果显示,雷公藤多苷对不同种属体内CYP3A的抑制作用不同,对人的抑制作用明显强于大鼠,存在种属差异。这种差异也可能是由于大鼠和人体中CYP3A含量的差异引起的。

雷公藤多苷含有多种成分且成分较为复杂,通过研究雷公藤在大鼠体内、体外及人体外肝微粒中对CYP酶活性的影响,可为临床医师科学、安全、合理使用雷公藤多苷片提供理论依据。本研究结果提示临床医师在联合使用雷公藤多苷片和CYP3A参与代谢的药物时,前者可使后者药动学特性发生明显的变化;应适当减少后者的给药剂量,以避免严重不良反应的发生。

参考文献

- [1] 夏军,樊宝才,谢文明,等.雷公藤多苷片对大鼠药物代谢酶CYP2E1和CYP3A4活性的影响[J].中国药师,2012,20(11):1529.
- [2] 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.
- [3] Li W, Liu Y, He YY, et al. Characterization of triptolide hydroxylation by cytochrome P₄₅₀ in human and rat liver microsomes[J]. *Xenobiotica*, 2008, 38(12):1551.
- [4] 刘史佳,刘子修,周玲,等.雷公藤活性成分对大鼠体内P₄₅₀酶活性的影响[J].中国药理学通报,2011,27(2):276.
- [5] Xia ZL, Xu JP, Zou SL. The determination of CYP3A4 activity by probe drug [J]. *Pharm Clin Res*, 2010, 18(2):14244.
- [6] 刘颖,焦建杰,姜建石.“Cocktail”探针药物法的研究进展[J].中国药理学与治疗学,2006,11(11):1225.
- [7] Redmile-Gordon MA, Armenise E, White RP, et al. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts[J]. *Soil Biol Biochem*, 2013, 67(100):166.
- [8] 和凡,钟国平,赵立子,等.LC-MS/MS法研究黄酮类化合物对人肝微粒体细胞色素P₄₅₀酶6种亚型的体外抑制作用[J].中国新药杂志,2009,18(24):2341.
- [9] 和凡,钟国平,赵立子,等.复方毛冬青颗粒对大鼠肝微粒体细胞色素P₄₅₀酶的诱导作用研究[J].临床合理用药杂志,2012,5(1C):134.
- [10] Bjornsson TD, Callaghan JT, Einolf HJ, et al. The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective[J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(7):815.
- [11] 徐文,孙术红,刘涛,等.金银花提取物及主要活性成分对药物代谢酶CYP3A4的活性抑制作用的研究[J].中国执业药师,2012,9(2):3.
- [12] 徐斌,赵刚,位华,等.20味中成药对5个人肝微粒体酶活性的影响[J].药学实践杂志,2009,27(5):353.

(收稿日期:2014-03-27 修回日期:2014-05-29)

(编辑:张静)