

Cocktail 探针药物法评价半夏泻心汤 及不同配伍组对 CYP450 酶活性的影响

肖娟, 王莹, 蔡巧玲, 王跃, 安睿, 王新宏*
(上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 采用 Cocktail 探针药物法研究半夏泻心汤及不同配伍组对大鼠肝细胞色素 P450 酶活性的影响。方法: 大鼠连续 7 d 灌胃半夏泻心汤全方组, 甘补组, 苦降组和辛组的煎煮液 ($15 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后尾静脉注射 Cocktail 探针药物咖啡因 (CYP1A2)、甲苯磺丁脲 (CYP2C6)、氯唑沙宗 (CYP2E1)、咪达唑仑 (CYP3A1/2)。建立 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中 4 种探针药物的浓度, DAS 2.0 软件计算其药动学参数。结果: 与空白组相比, 全方组中甲苯磺丁脲的 $\text{AUC}_{0-24 \text{ h}}$ 值明显增大, CL 显著减小, 说明全方组对大鼠体内 CYP2C6 起抑制作用, 而氯唑沙宗的 AUC 明显减少, CL 增大, 说明对 CYP2E1 起诱导作用; 而对 CYP1A2, 3A1/2 无显著性差异。同理, 辛开组仅对 CYP2C6 起抑制作用, 对其他的亚型酶无显著性差异; 苦降组对 CYP1A2, CYP2C6 具有显著抑制作用, 对 CYP2E1 有诱导作用, 而对 CYP3A1/2 无显著性差异; 甘补组对 CYP1A2, CYP2E1 有诱导作用, 抑制 CYP2C6, 而对 CYP3A1/2 亦无显著性差异。结论: 半夏泻心汤及不同配伍组对肝脏 CYP450 酶的活性影响不同, 为阐明半夏泻心汤组方配伍的规律用以推测其在联合用药中可能发生的药物相互作用, 指导临床合理用药。

[关键词] Cocktail 探针药物法; 半夏泻心汤; 配伍; 细胞色素 P450

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0181-06

Effects of Components in Banxia Xiexin Decoction Prescription Compatibility on Activities of Cytochrome P450 *in vivo*

XIAO Juan, WANG Ying, CAI Qiao-ling, WANG Yue, AN Rui, WANG Xin-hong*
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[收稿日期] 20120911(011)

[基金项目] 2011 年度上海市教育委员会科研创新重点项目(11ZZ110)

[通讯作者] * 王新宏, 教授、博士生导师, 从事药物分析研究, Tel: 021-51322183, E-mail: wangxinh6020@126.com

[参考文献]

- [1] 唐于平, 吴起成, 丁安伟, 等. 对中药“十八反”、“十九畏”的现代认识[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 79.
- [2] 王付. 经方运用甘遂配甘草的探索与实践[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 298.
- [3] 郑亚玉, 孔云, 建伟. 均匀设计及其在中药民族药研究中的应用[J]. 中国民族医药杂志, 2009(8): 45.
- [4] 唐咏春, 王健平, 毛德军. 血管内皮生长因子研究进展[J]. 齐鲁医学杂志, 2002, 17(3): 276.
- [5] 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 等. 检测恶性腹水中 VEGF、CD44v6、MMP-2、MMP-9 的临床意义[J]. 癌症, 2004, 23(1): 85.
- [6] Nascimento I, Schaer R, Lemaire D, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) levels as a tool to discriminate between malignant and nonmalignant ascites [J]. APMIS, 2004, 112(9): 585.
- [7] Karayiannakis A J, Syrigos K N, Polychronidis A, et al. Serum level of tumor necrosis factor-alpha and nutritional status in pancreatic cancer patients [J]. Anticancer Res, 2001, 21(2B): 1355.
- [8] Yoshida N, Ikemoto S, Narita K, et al. Intedeukin-6, tumour necrosis factor alpha and interleukin-1 beta in patients with renal cell carcinoma [J]. Br J Cancer, 2002, 86(9): 1396.
- [9] 丁天鹏, 周宁, 拓培祥, 等. 胸、腹水肿瘤坏死因子 α 测定及其临床意义[J]. 武警医学, 2000, 11(5): 272.
- [10] 贾绮宾, 梁学亚. 肿瘤坏死因子在良、恶性腹水中的作用[J]. 北京医学, 1999, 21(3): 169.

[责任编辑 李玉洁]

[Abstract] Objective: To evaluate the effects of Banxia Xiexin decoction on P450 activities by Cocktail probe drugs in rats, provide a reference for clinical medication. **Method:** Four probe drugs (caffeine, tolbutamide, chlorzoxazone, midazolam) were simultaneously injected to rats after gavaged decoctions of Banxia Xiexin and its compatibilities for 7 days. The plasma concentrations of the four probes were measured by LC-MS-MS and their corresponding pharmacokinetic parameters were calculated. **Result:** Compared with the control group, the Banxia Xiexin decoction inhibited the expression of CYP2C6, and activated the expression of CYP2E1, but there were no differences on CYP3A1/2, CYP1A2; pungent-swelling group only inhibited CYP2C6; bitter-descending group inhibited of CYP1A2 and CYP2C6 expression, activated CYP2E1, CYP3A1/2 no significant difference; sweet-invigorating group inducted the activity of CYP1A2, CYP2E1, inhibition of CYP2C6, and CYP3A1/2 there is no significant difference. **Conclusion:** Banxia Xiexin decoction and different combinations have different functions on liver CYP450 enzyme activity. In clinic, We must be aware of possible drug-drug interactions when Banxia Xiexin decoction was used with other drugs.

[Key words] Cocktail probe drugs methods; Banxia Xiexin decoction; combinations; CYP450

Cocktail 探针药物法是指同时给予多种相对低剂量的探针药物(即 CYP450 同工酶的特定底物),测定生物样本中各探针药物的代谢率或其他代谢分型指标,获取多个 CYP450 同工酶表型信息的方法^[1]。咖啡因、甲苯磺丁脲、氯唑沙宗和咪达唑仑分别是 CYP1A2, CYP2C6, CYP2E1, CYP3A1/2 的探针底物^[2-4],可特异地反映 4 个亚型酶的活性。中药对亚型酶活性影响研究用于阐明复方配伍的相互协同,以及药物合用方面影响已有一些文献报道^[5-6]。

半夏泻心汤出自东汉张仲景《伤寒杂病论》^[7],方中含有黄连、黄芩、干姜、法半夏、人参、制甘草、大枣 7 味中药,且君臣佐使配伍齐全。方中蕴含着张仲景首创的“辛开苦降甘补”之法,充分体现了药性理论对复方配伍的指导意义,临床多用于胃肠道相关疾病治疗^[8]。通过前期半夏泻心汤及不同配伍组体外肝微粒体亚型酶活性影响研究^[9],发现不同配伍组对各亚型酶的诱导或抑制作用存在差异。本研究进一步以咖啡因、甲苯磺丁脲、氯唑沙宗和咪达唑仑为探针底物考察全方与不同配伍组在体内对 CYP1A2, CYP2C6, CYP2E1, CYP3A1/2 4 种亚型酶的代谢活性影响,以预测半夏泻心汤合并用药时肝药酶的代谢规律,并有利于揭示基于药性理论配伍的半夏泻心汤的科学性。

1 材料

TSQ 型液相色谱-质谱-质谱联用仪(配有 ESI 源及 Xcalibur 4.1 数据处理系统,美国 Thermo Finnigan 公司), LC-20A 高效液相色谱仪(包括 LC20AD 输液泵, Rheodyne 7125 进样阀,日本岛津公司), Eppendorf CENTRIFUGE-5424R 型高速冷冻离心

机(德国 Eppendorf 公司), VX-200 型漩涡混合仪(美国 Labnet 公司), XS105DZ 型电子天平(110 ~ 0.000 01 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

法半夏 *Rhizoma Pinelliae*, 四川产(批号 100907); 黄芩 *Radix Scutellariae*, 河北产(100807); 黄连 *Rhizoma Coptidis Chinensis*, 四川产(100720); 干姜 *Rhizoma Zingiberis*, 山东产(100624); 大枣 *Fructus Jujubae*, 山东产(101019); 以上药物均购自上海康桥中药饮片有限公司; 炙甘草 *Radix et Rhizoma Glycyrrhizae Preparata Cum Melle*, 新疆产(100323); 人参 *Radix et Rhizoma Ginseng*, 辽宁产(090108), 购自上海金桥养和堂药店。上述饮片经陈燕军药师鉴定,符合 2010 年版《中国药典》一部规定。

咖啡因 *caffeine* (100401-201008), 甲苯磺丁脲 *tolbutamide* (100500-200801), 氯唑沙宗 *chlorzoxazone* (100364-200301), 咪达唑仑 *midazolam* (100601-201103), 卡马西平 *carbamazepine* (100142-201004), 均购自中国食品药品检定研究院, 甲醇、乙腈(HPLC 级)购自美国 Merck 公司, 甲酸, 购自国药集团化学试剂有限公司, 纯水由 SZ-93 自动双重纯水蒸馏器制备。

雄性 SD 大鼠, 体重 200 ~ 250 g, 由上海中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(沪)2003-0002。动物观察室室温 20 ~ 25 °C, 相对湿度为 38% ~ 41%, 保持清洁。

2 方法

2.1 贮备液和内标工作液的配制 取探针药物和内标对照品适量, 精密称定后用甲醇溶液定容制得约 1.00 g·L⁻¹ 溶液作为贮备液, 保存于 4 °C 冰箱。

用甲醇稀释贮备液作为不同质量浓度工作液,并稀释制得卡马西平约 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的内标工作液。

2.2 探针药物的配制 取咖啡因,甲苯磺丁脲,氯唑沙宗,咪达唑仑药物适量,精密称定,至同一量瓶中,加入少量无水乙醇溶解后,以 0.9% 氯化钠注射液定容至刻度,质量浓度分别为 0.209, 0.104, 0.103, 0.109 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,贮存于 $-4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱备用。

2.3 药物制备 处方按半夏-干姜-黄芩-黄连-人参-炙甘草-大枣(12:9:9:3:9:9:6)比例,辛温开痞组(辛开组:法半夏-干姜),苦寒降逆组(苦降组:黄芩-黄连),甘滋补益组(甘补组:人参-炙甘草-大枣),法半夏泻心汤全方组分别加入 10 倍量水,煎煮提取 2 次,每次 45 min。滤过,合并药液浓缩至含生药量 $1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,其余配伍组浓缩至相等体积,备用。

2.4 给药方案及血药采集 30 只雄性 SD 大鼠随机分为 5 组,每组 6 只,分别为半夏泻心汤全方组、辛开组、苦降组、甘补组和空白对照组。经灌胃给予不同组方药物 $15 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,及空白组等量的生理盐水,连续 7 d。每组动物均于实验前禁食过夜后,清晨尾 iv 给予“Cocktail”混合探针药物 $0.005 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,剂量分别为咖啡因 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、甲苯磺丁脲 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、氯唑沙宗 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、咪达唑仑 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。于给药 0.083 3, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 大鼠眼眶取血, $6000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 离心 5 min,分离血浆。

2.5 样品处理 $100 \mu\text{L}$ 血浆中加入 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡马西平内标溶液 $10 \mu\text{L}$,涡旋混合 0.5 min,加入 $800 \mu\text{L}$ 乙酸乙酯,涡旋 5 min, $10000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10

min($4\text{ }^\circ\text{C}$),移取 $700 \mu\text{L}$ 上清, N_2 吹干,残留物加入流动相 $100 \mu\text{L}$ 振荡重组, $12000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min($4\text{ }^\circ\text{C}$),取上清液 $10 \mu\text{L}$ 进样。

2.6.2 质谱条件 三重四极杆串联质谱,电喷雾离子源(ESI),正负离子同时检测,选择反应监测模式(SRM);毛细管电压 3.50 kV ;离子源温度 $115\text{ }^\circ\text{C}$;脱溶剂温度 $500\text{ }^\circ\text{C}$;脱溶剂气流量 $600 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ 。探针药物及内标的母离子、子离子及碰撞能量见表 1。

2.6 检测条件

2.6.1 色谱条件 Inertsil C_{18} 色谱柱($2.1 \text{ mm}\times 100 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$),流动相乙腈(含 0.1% 甲酸)-水(含 0.1% 甲酸)55:45,流速 $0.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $35\text{ }^\circ\text{C}$,进样量 $10 \mu\text{L}$ 。

表 1 4 种探针药物和内标的母离子、子离子及碰撞能量

分析物	检测方式	母离子	子离子	碰撞能量
咖啡因	+	212.90	95.10	78
咪达唑仑	+	326.00	291.30	26
卡马西平	+	237.00	194.30	18
氯唑沙宗	-	168.00	132.20	27
甲苯磺丁脲	-	269.00	170.20	31

2.7 方法学考察

2.7.1 专属性 在所选定的条件下,各探针底物及内标均有较高的质谱响应和较好的分离度,全血中杂质不干扰样品测定。如下图 1,表明本法有较高的专属性。

2.7.2 标准曲线与最低定量下限 样品峰面积与内标峰面积之比对浓度线性回归,回归方程线性良好。结果见表 2。

表 2 4 种混合探针底物的标准曲线及最低定量限

探针底物	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	最低定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
咖啡因	$Y = 0.236X + 0.689$	0.999 2	0.49 ~ 1 852.35	0.49
甲苯磺丁脲	$Y = 0.051X + 0.004$	0.999 6	1.06 ~ 3 997.77	1.06
氯唑沙宗	$Y = 0.018X + 0.007$	0.999 3	0.41 ~ 949.24	0.41
咪达唑仑	$Y = 0.253X + 0.011$	0.998 9	0.12 ~ 408.46	0.12

2.7.3 精密密度、方法回收率及基质效应 空白血浆中加入各探针底物低、中、高 3 个浓度,每个浓度 5 份,按 2.5 处理并测定对照品峰面积 A_s ,及内标峰面积 A_i ,连续测定 3 d,通过峰面积比值 A_s/A_i ,计算对照品血浆浓度及 RSD,结果表明日内、日间精密密度良好;另取甲醇配制的探针底物低、中、高 3 个浓度,每个浓度 5 份,同上处理并测定。以日内第 1 天测得的 QC 样品峰面积与甲醇溶的 QC 样品峰面积的比值,即为该探针底物的方法回收率;取空白血浆

样品按 2.5 样品处理,上清液, N_2 吹干,用甲醇低、中、高浓度 QC 样品重组,测定的样品峰面积 $A_{\text{样}}$ 与单独甲醇 QC 样品峰面积 $A_{\text{甲}}$ 之比,即为该探针药物的基质效应,结果表明均符合生物样品范围内,且不受基质效应的干扰。

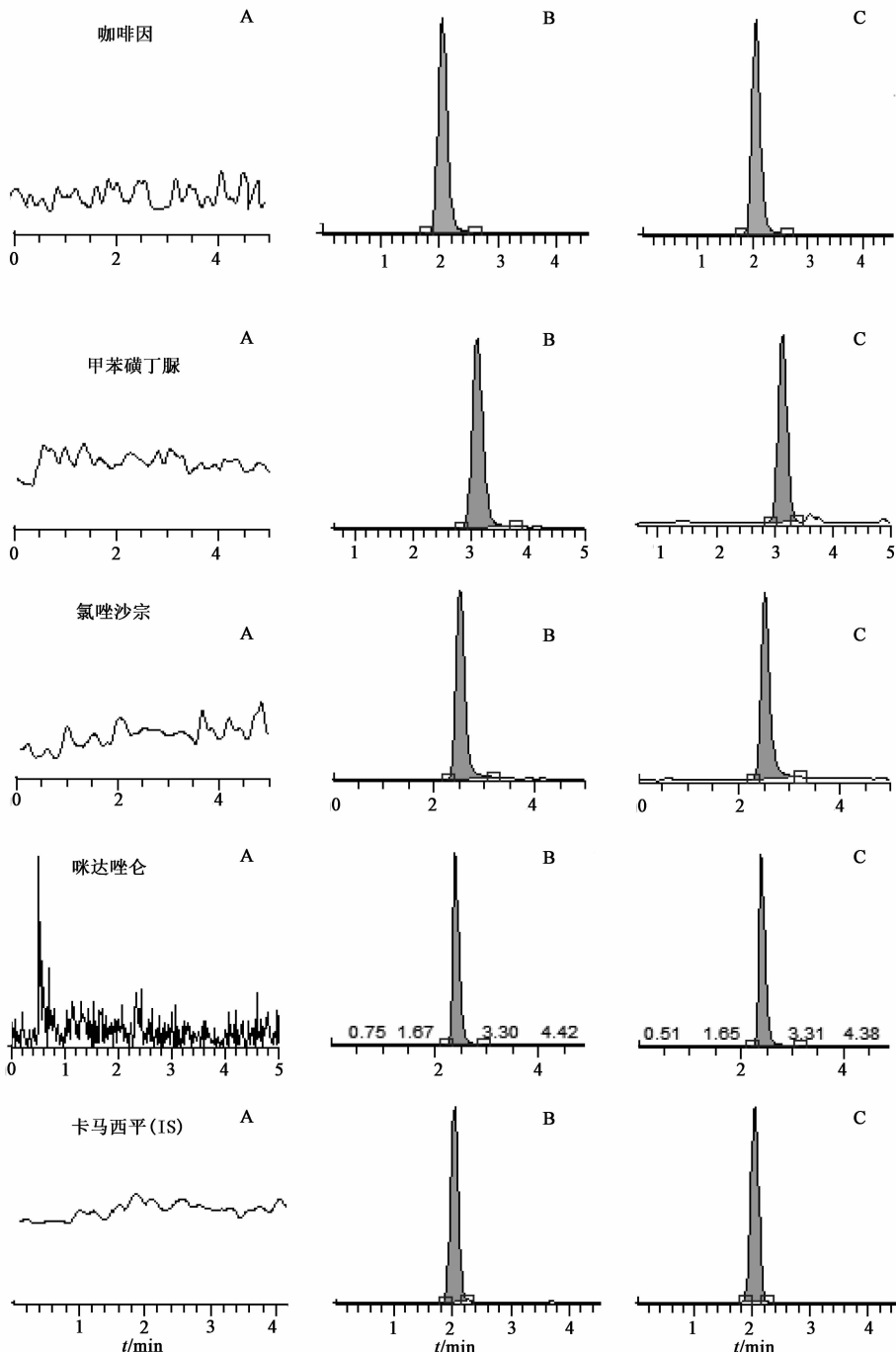
2.7.4 稳定性试验 空白血浆中加入同上的各探针底物低、中、高 3 个浓度,每个浓度 3 份,分别置 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 24 h, $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻放置 1 周,反复冻融 3 次条件下,按 2.5 项下进行样品处理并测定。结果表明各

成分在上述条件下的稳定性在 87.96% ~ 102.93%，符合规定。

2.8 数据处理 经 DAS (Drug and Statistics) 2.0 药代动力学软件进行数据分析, 最小二乘法拟合, 权重为 $1/C^2$, 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 配对 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各探针药物的药-时曲线 样品按 2.5 样品处



A. 空白血浆样品; B. 空白血浆样品添加混合探针药物; C. 大鼠尾静脉注射混合探针药物后 1 h 血浆样品

图 1 混合探针药物及内标大鼠血浆 LC-MS-MS

理方法进行处理, 测定各底物和内标峰面积, 由标准曲线计算各时间段血药浓度, 绘制各给药组的 4 种探针底物的平均药-时曲线, 结果如图 2。

3.2 各探针药物的药动学参数 各血药浓度测定结果用 DAS 2.0 软件进行自动拟合, 求得药动学参数, 各底物的体内过程与与权重为 $1/C^2$ 时双房室模型相符, 结果见表 3。

表 3 各探针药物药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

参数	成分	空白对照组	全方组	辛开组	苦降组	甘补组
咖啡因						
$t_{1/2}/h$		1.67 ± 0.153	2.286 ± 0.584	2.956 ± 0.705	1.968 ± 0.642	2.813 ± 0.576
$AUC(0-t)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		2 777.584 ± 63.699	2 850.34 ± 509.263	2 825.081 ± 616.031	3 524.188 ± 558.205 ¹⁾	1 403.719 ± 324.982 ¹⁾
$AUC(0-\infty)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		2 955.765 ± 675.903	3 140.599 ± 564.813	3 262.099 ± 616.032	3 780.993 ± 521.626	1 562.74 ± 366.376
$CL/mL \cdot h^{-1}$		0.354 ± 0.082	0.327 ± 0.058	0.318 ± 0.074	0.269 ± 0.042 ¹⁾	0.668 ± 0.147 ¹⁾
甲苯磺丁脲						
$t_{1/2}/h$		11.042 ± 1.592	9.002 ± 2.546	7.533 ± 1.958	12.080 ± 2.532	8.920 ± 2.089
$AUC(0-t)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		11 954.323 ± 2 289.868	13 768.395 ± 2 138.4 ¹⁾	19 724.786 ± 1 627.214 ¹⁾	13 217.391 ± 1 139.195 ¹⁾	22 283.283 ± 3 033.095 ¹⁾
$AUC(0-\infty)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		14 108.191 ± 3 359.174	15 430.435 ± 2 513.224	22 008.277 ± 1 729.326	16 127.224 ± 2 071.034	25 495.792 ± 3 490.809
$CL/mL \cdot h^{-1}$		0.038 ± 0.01	0.033 ± 0.006 ¹⁾	0.023 ± 0.002 ¹⁾	0.031 ± 0.004 ¹⁾	0.02 ± 0.003 ¹⁾
氯唑沙宗						
$t_{1/2}/h$		0.323 ± 0.052	0.332 ± 0.070	0.306 ± 0.099	0.537 ± 0.031	1.085 ± 0.203
$AUC(0-t)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		675.579 ± 147.673	477.828 ± 92.127 ¹⁾	695.557 ± 57.38	467.887 ± 107.426 ¹⁾	325.073 ± 110.953 ¹⁾
$AUC(0-\infty)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		754.345 ± 168.48	740.386 ± 106.684	680.445 ± 64.991	517.066 ± 117.045	395.43 ± 110.953
$CL/mL \cdot h^{-1}$		0.689 ± 0.14	0.955 ± 0.186 ¹⁾	0.74 ± 0.072	1.015 ± 0.257 ¹⁾	1.262 ± 0.303 ¹⁾
咪唑达伦						
$t_{1/2}/h$		0.335 ± 0.078	0.502 ± 0.052	0.312 ± 0.021	1.359 ± 0.319	0.718 ± 0.101
$AUC(0-t)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		74.557 ± 25.04	71.452 ± 8.068	68.626 ± 10.356	64.157 ± 5.679	61.599 ± 8.44
$AUC(0-\infty)/\mu g \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$		81.107 ± 29.575	80.009 ± 8.771	80.792 ± 11.726	71.753 ± 7.275	74.665 ± 9.729
$CL/mL \cdot h^{-1}$		3.685 ± 0.833	6.312 ± 0.693	6.307 ± 0.989	7.025 ± 0.67	6.808 ± 1.028

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

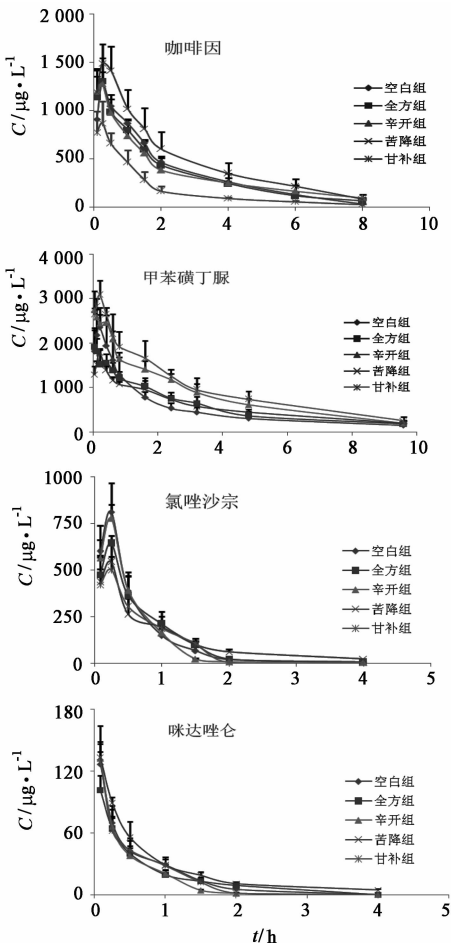


图 2 各探针药物血药浓度药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 结论

4.1 半夏泻心汤及不同组方对 CYP1A2 的影响

CYP1A2 占体内总 P450 酶的 13%，人体咖啡因 90% 的消除是由 CYP1A2 介导的，CYP1A2 在咖啡因的代谢过程中占绝对主导作用，所以咖啡因是首选安全的用于测定体内 CYP1A2 活性的最理想探针药物。与空白组比较，苦降组咖啡因的 AUC 明显增加，CL 显著减少，这表明苦降组对 CYP1A2 具有抑制作用，有可能是黄芩对其的抑制作用，而同理甘补组对 CYP1A2 具有诱导作用，可能是人参中有效成分对其诱导作用^[10]，通过一升一降的配伍作用使半夏泻心汤复方对 CYP1A2 无代谢影响，即不参与 CYP1A2 的代谢环节，因此当半夏泻心汤与 CYP1A2 酶的底物药物合用时不影响其代谢。

4.2 半夏泻心汤及不同组方对 CYP2C6, CYP2E1 的影响

同理甲苯磺丁脲的 AUC 与 CL 结果表明，全方组，辛开组，甘补组，苦降组均对 CYP2C6 酶起抑制作用，且甘补组的抑制作用最强。因此当半夏泻心汤与 CYP2C6 酶的底物药物合用时，可能减少药物的剂量就可以达到满意的疗效。根据氯唑沙宗的药动参数比较知，苦降组和甘补组对 CYP2E1 起诱导作用，配伍后，全方组对 CYP2E1 仍起诱导作用。

4.3 半夏泻心汤及不同组方对 CYP3A1/2 的影响

各给药组均对 CYP3A1/2 无激活表达或抑制作用，不影响体内肝药酶 CYP3A1/2 的代谢，而临床上

60% 以上的药物经 CYP3A1/2 代谢,说明当复方半夏泻心汤与 CYP3A1/2 酶的底物药物合用时,不影响其他药物在体内的血药浓度,从而降低联用药的临床疗效风险。

5 讨论

血浆样品处理选用乙酸乙酯为溶剂一步萃取,回收率高、操作简便,且毒性低,减少大气污染。采用 LC-MS-MS 检测,方法灵敏度高、专属性强、分析时间仅需 5 min;血浆中内源性杂质及代谢物均不干扰测定,具有良好的准确度和精密性,均符合生物样品体内分析检测要求。

从前期半夏泻心汤及不同配伍组体外肝微粒体亚型酶活性影响研究结果得知,与空白组相比,全方组,辛开组,苦降组对 CYP1A2, CYP2C9, CYP3A1/2, CYP2E1 亚型酶均起抑制作用,甘补组对 CYP1A2, CYP2C9 亚型起抑制作用,而对 CYP3A1/2 无抑制作用,与本文结果有部分的差异。可说明体内的生理机制复杂过程是起作用的,全方及其配伍组在对体内外亚型酶活性影响方面是有差异的,同时也说明体外的预测不能完全说明体内的实际情况,必须深入研究。

Cocktail 探针药物法在国外应用的较多,主要用于西药的研究^[11]。近年来,Cocktail 法对中药及中药复方的代谢研究也逐渐应用广泛,如中药黄芩、连翘、黄连、淫羊藿、五味子等;复方有血塞通注射液、贞芪扶正胶囊等研究报道^[12-17]。由于 Cocktail 法在研究药物代谢方面的优势,将其广泛用于中药的代谢研究,必将促进中药基础理论的研究和中药的现代化研究,同时对于中药在临床上的合理应用,提高联合用药的安全性和有效性具有重要的实际意义。

[参考文献]

[1] 翁小刚,朱晓新,梁日新,等. 中草药代谢与细胞色素 P450 的关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009,15(12):104.
[2] Sharma A, Pilote S, Belanger P M, et al. A convenient five-drug cocktail for the assessment of major drug metabolizing enzymes; a pilot study [J]. Br J Clin Pharmacol,2004,58(3):288.
[3] Hao Tang, Guangtao Min, Bin Ged, et al. Evaluation of protective effects of Chi-Zhi-Huang decoction on Phase I drug metabolism of liver injured rats by cocktail probe drugs[J]. J Ethnopharmacol,2008,117:420.

[4] Xia Chunhua, Sun Jianguo, Wang Guangji, 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,2010,76:245.
[5] Kharasch E D, Thummel K E, Mhyre J, et al. Single-dosed isulfiram inhibition of chlorzoxazone metabolism: a clinical probe for P450 2E1 [J]. Clin Pharmacol Ther, 1993,53(6):643.
[6] May D G, Porter J A, Uetrecht J P, et al. The contribution of *N*-hydroxylation and acetylation to dapsone pharmacokinetics in normal subjects[J]. Clin Pharmacol Ther, 1990,48(6):619.
[7] 张胜,陈立江,车轶,等. 半夏泻心汤药理研究最新进展[J]. 中国中药杂志,2001,21(7):437.
[8] 段天璇,马长华,侯艳霞,等. 半夏泻心汤不同配伍情况下部分化学成分变化[J]. 中国中药杂志,2002,27(5):363.
[9] 蔡巧玲,崔波,王莹,等. 半夏泻心汤及不同配伍组对大鼠肝脏 CYP450 酶活性的影响[J]. 中国中药杂志, 2012,37(14):2164.
[10] 刘高峰,甄立棉,杨芳. Cocktail 探针药物法在中药细胞色素 P450 酶代谢研究中的应用[J]. 医药导报, 2009,28(8):1049.
[11] 刘萍,黄颖,胡本荣,等. 甲基莲心碱对大鼠肝 CYP450 酶含量及 CYP2D1, CYP3A1, CYP2E1 mRNA 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10):234.
[12] 姚珏成,倪健,韩婧,等. 黄芩提取物对细胞色素 P450 酶的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):234.
[13] 闫淑莲,扈金萍,徐艳霞,等. Cocktail 探针药物同时评价连翘对肝细胞色素 P450 的影响 [J]. 中国药理学杂志,2003,38(10):761.
[14] 胡道德,顾磊,姚慧娟,等. Cocktail 探针药物评价淫羊藿提取物对大鼠 CYP450 酶的影响 [J]. 中国新药与临床杂志,2009, 28(5):337.
[15] 田维毅,王庆学,王文佳,等. 葛根散对急性酒精性肝损伤小鼠肝微粒体 CYP450 含量及 CYP2E1 活性的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012, 18(4):183.
[16] 刘史佳,居文政,陈为烤,等. 血栓通注射液对大鼠体内细胞色素 P450 酶活性的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(2):115.
[17] 高湘,高俊,许爱霞. 贞芪扶正胶囊对大鼠肝细胞色素 P450 酶 CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1 的影响 [J]. 中药药理与临床, 2011,27(1):846.

[责任编辑 邹晓翠]