

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110303. 1349. 009

· 毒理 ·

吴茱萸次碱对肝肾毒性的初步研究

张茜,周绮,金若敏*,姚广涛,陈小森

(上海中医药大学药物安全评价研究中心,上海 201203)

[摘要] 目的:探讨吴茱萸次碱 Rutecarpine(Rut)在体外对人正常肝细胞(HL7702)、人胚胎肾细胞(HEK293)的影响,采用共培养体系初步比较 Rut 对肝肾细胞活力的影响,并选用小鼠进行整体验证。**方法:**①采用 MTT 法检测 Rut 在肝肾细胞单独培养或共培养体系中对细胞活力的影响并采用倒置显微镜对细胞形态进行观察;②给予 Rut 后,检测肝肾细胞培养上清液中丙氨酸转氨酶(ALT),天冬氨酸转氨酶(AST),碱性磷酸酶(ALP),尿素氮(BUN),肌酐(Cr),乳酸脱氢酶(LDH)的变化;③整体实验观察静脉给予 Rut 对小鼠肝肾功能和组织病理学的影响。**结果:**①MTT 法显示,2,4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Rut 使肝肾细胞活力均下降,且相同浓度下的 Rut 对肝细胞的抑制作用大于肾细胞;②4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Rut 使肝细胞上清液中的 AST,ALP,LDH 水平均升高($P < 0.01$);③整体实验表明,小鼠静脉给予 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Rut 7 d 后,血清中的 ALP 水平有极显著的上升($P < 0.01$),ALT,AST,BUN,Cr 水平只出现升高的趋势,病理学检查发现约 1/3 的小鼠肝脏出现肝细胞核分裂象增多,仅有 1 只小鼠肾脏出现嗜碱性病变。**结论:**大剂量 Rut 可能对肝肾具有一定的毒性作用,肝肾细胞共培养体系与细胞单独培养体系均可用于药物对细胞的毒性研究。

[关键词] 吴茱萸次碱;肝肾细胞毒性;HL7702 细胞;HEK293 细胞

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0221-05

Preliminary Study on Hepatotoxicity and Nephrotoxicity Induced by Rutaecarpine

ZHANG Qian, ZHOU Qi, JIN Ruo-min*, YAO Guang-tao, CHEN Xiao-miao

(Center for Drug Safety Evaluation, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of rutaecarpine (Rut) on human normal hepatic cells (HL7702) and human embryonic kidney cells (HEK293) through *in vitro* experiments. To study the toxicity of rutaecarpine on the vitality of hepatic and renal cells by preliminary compare co-culture system with solo-culture system. **Method:**①The influence of rutaecarpine on the activity of hepatic and renal cells through MTT method in solo-culture system and co-culture system was detected. ②The shape of cells was observed through inverted microscope. ③After giving Rut, the change of ALT,AST,ALP,BUN,Cr and LDH in cultural supernatant of hepatic and renal cells was determined. ④After giving Rut by intravenous administration, the influence of Rut on hepatic

[收稿日期] 20101009004

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2009CB522807);国家“重大新药创新”科技重大专项项目(2009ZX0902-002)

[第一作者] 张茜,硕士研究生,从事中药新药及其毒理研究

[通讯作者] *金若敏,研究员,博士生导师,从事中药新药研发及其安全性评价,Tel: 021-51323053,E-mail: Claire_2768@126.com

[网络出版时间] 2011-03-03 13:49

and renal function and histopathology in mice was investigated. **Result:** ①The MTT method showed that $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of Rut decreased the activity of hepatic and renal cells. The inhibitory action on hepatic cells' activity was higher than that on renal cell activity under the same concentration of Rut. ② In cultural supernatant of hepatic cells, $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of Rut increased AST, ALP and LDT ($P < 0.01$). ③The animal experiment showed that after giving $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of Rut to mice by intravenous administration for 7 days, ALP in blood serum was increased notably ($P < 0.01$), while ALT, AST, BUN and Cr had a trend to increase. Histopathological examination revealed that there was an increase in hepatocyte nuclear division in 1/3 mice, meanwhile, basophilic degeneration was only found in one mouse's kidney. **Conclusion:** Rut may cause hepatic and renal toxicity. The toxicity to hepatic and kidney cells induced by drugs can be studied by solo-culture system and co-culture system.

[**Key words**] rutaecarpine; hepatotoxicity and nephrotoxicity; HL7702 cells; HEK293 cells

吴茱萸次碱 (rutaecarpine, 简称 Rut) 是从中药吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss) Beth 中提取出来的一种吲哚喹啉类生物碱。目前普遍认为吴茱萸次碱有抗高血压、抗癌、抗炎、抗血栓形成等多种药理学作用^[1], 而关于其所致的肝肾毒性研究较少, 本文采取体内外实验相结合的方法, 报道其对肝肾毒性的初步研究结果, 并首次在细胞水平上采用肝肾共培养体系的方法对吴茱萸次碱的肝肾毒性选择性进行了初步探讨。

1 材料

1.1 细胞株 人正常肝细胞 HL7702 细胞株 (上海中科院细胞库), 人胚胎肾细胞 HEK293 细胞株 (上海中科院细胞库)。

1.2 动物 KM 小鼠 20 只, 动物级别 (普通级), 雌雄各半, 体重为 18 ~ 20 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 合格证号 SCXK (沪) 2003-0003。于上海中医药大学实验动物中心清洁级饲养室饲养, 动物使用许可证号 SCXK (沪) 2003-0003, 实验期间自由饮水、摄食。

1.3 试剂及耗材 吴茱萸次碱 (上海融禾医药科技发展有限公司, 纯度 > 98%, 批号 1005101); DMEM 培养液 (Gibco 公司, 批号 1290007); 胎牛血清 (Hyclone 公司, 批号 SV30087.02); 双抗 (Gibco 公司, 批号 741996); 胰蛋白酶 (Sigma 公司, 批号 0458); 四甲基偶氮唑盐 (Sigma 公司, 批号 M2128); PBS; 完全培养液 (DMEM 培养液 + 10% 胎牛血清)。

1.4 仪器 CO₂ 培养箱; 全自动酶标仪 (美国 BioTek 公司, SN 203132); 倒置系统显微镜 (Olympus 公司, SN IX70); 日立 7080 全自动血液生化仪 (日本日立贸易有限公司); AR2130 电子天平 (奥豪斯国际贸易上海有限公司); 2-16K 冷冻离心机 (Sigma 公

司, SN 94778); Millicell 插入式细胞培养皿 (又名 transwell 小室, Millipore 公司, 批号 R9MN42851)。

2 方法

2.1 吴茱萸次碱对肝肾细胞活力的影响 按常规方法制备 HL7702 细胞或 HEK293 细胞悬液^[2-3], 然后接种于培养皿中, 置于 CO₂ 培养箱中培养, 当细胞长到培养皿的 80% 后, 弃去旧培养液, 用 PBS 冲洗 2 次, 加入适量胰酶消化 5 min, 当细胞呈块脱落时, 加入完全培养液, 收集混悬液于离心管中, $1\ 200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清液, 加入适量完全培养液, 吹打成单个细胞悬液, 按 1:2 传代。

将处于对数生长期的 HL7702 细胞或 HEK293 细胞分别经 0.25% 胰酶消化后, 接种于 24 孔板中, 孵育 24 h 后分别以 0.5, 1, 2, 4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 含有不同质量浓度吴茱萸次碱 (Rut) 的完全培养液处理细胞, 每个药物浓度 3 孔, 同时设不加药的阴性平行对照组, 另设调零孔, 置于 CO₂ 培养箱中 37 °C 孵育 20 h 后, 加入 MTT 溶液, 再培养 4 h。弃去上清液, 加入二甲基亚砷, 振荡混匀。在酶标仪检测波长 550 nm 处测定吸光度 (A), 用公式计算细胞存活率, 将药物组与对照组进行统计分析。重复实验 3 次

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{药物组平均}} - A_{\text{调零孔}}) / (A_{\text{对照组平均}} - A_{\text{调零孔}}) \times 100\%$$

2.2 吴茱萸次碱对肝肾细胞形态的影响 将 HL7702 细胞或 HEK293 接种于 6 孔板中, 同上加药进行细胞培养, 给药 24 h 后用倒置显微镜进行细胞形态学的观察, 重复实验 3 次。

2.3 吴茱萸次碱对肝肾细胞功能性指标的影响 将 HL7702 细胞或 HEK293 接种于 6 孔板中, 同 2.1 进行细胞培养, 给药 24 h 后吸取培养上清液, $1\ 200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液, 用日立 7080 全自动血液生化仪检测培养上清液中的丙氨酸转氨酶

(ALT),天冬氨酸转氨酶(AST),碱性磷酸酶(ALP),尿素氮(BUN),肌酐(Cr),乳酸脱氢酶(LDH),重复实验3次。

2.4 吴茱萸次碱对小鼠肝肾功能的影响 取小鼠20只,雌雄各半,随机分为正常对照组和给药组,给药组尾静脉iv每天给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的吴茱萸次碱,连续7d,正常静脉给予等容量的生理盐水 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,末次给药1h后摘眼球取血, $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15min,分离血清,用全自动血液生化仪检测血清ALT,AST,ALP,BUN,Cr,LDH水平,另取小鼠肝脏和肾脏,用于组织病理学检查。

2.5 吴茱萸次碱对肝肾细胞活力的影响 将Millicell插入式细胞培养皿(Millicell小室)放入24孔板中,将消化后的HEK293细胞悬液接种于下室孔中,再将HL7702细胞悬液接种于上室滤膜上,孵育24h后分组给药,同2.1,CO₂培养箱37℃孵育20h后,加入MTT溶液,再培养4h后取出Millicell小室,弃去上清液,加入二甲基亚砜,振荡混匀。在酶标仪检测波长550nm处测定A,同2.1,按公式计算细胞存活率及进行统计。

2.6 统计学处理 实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用SPSS 13.0软件进行统计处理计量资料,组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析法(One-way ANOVA),Radit法对肝组织病理积分的数据进行统计分析, $P<0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 吴茱萸次碱对肝肾细胞活力的影响 HL7702细胞给予吴茱萸次碱24h后,2,4 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的细胞活力受到明显的抑制,与对照组相比,有极显著差异($P<0.01$),并且抑制的程度呈剂量依赖性(表1)。

表1 各浓度吴茱萸次碱对HL7702细胞活力的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	A	细胞活力/%
对照	-	0.502 ± 0.014	100.00 ± 2.60
Rut	0.5	$0.583\pm 0.006^{2)}$	$116.14\pm 1.13^{2)}$
	1	0.493 ± 0.010	98.27 ± 1.97
	2	$0.370\pm 0.008^{2)}$	$73.64\pm 1.60^{2)}$
	4	$0.331\pm 0.005^{2)}$	$65.94\pm 1.04^{2)}$

注:与对照组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ (表2~6同)。

HEK293细胞给予吴茱萸次碱24h后,给药组的细胞活力均有一定的降低,与对照组相比,1,2,4 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组有显著性的差异($P<0.05$),吴茱萸次碱对细胞活力的抑制程度呈剂量依赖性(表2)。

表2 各浓度吴茱萸次碱对HEK293细胞活力的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	A	细胞活力/%
对照	-	0.320 ± 0.003	100.00 ± 0.91
Rut	0.5	0.322 ± 0.022	100.73 ± 6.86
	1	$0.303\pm 0.001^{1)}$	$94.69\pm 3.13^{1)}$
	2	0.267 ± 0.016	$83.54\pm 4.90^{1)}$
	4	$0.235\pm 0.012^{1)}$	$73.33\pm 3.61^{1)}$

结果显示,相同剂量的吴茱萸次碱对肝细胞活力的抑制作用大于肾细胞。

3.2 吴茱萸次碱对肝肾细胞形态的影响 结果显示,HL7702细胞或HEK293细胞给予Rut24h后,倒置显微镜下的细胞形态均无发生明显变化。

3.3 吴茱萸次碱对肝肾细胞功能性指标的影响 吴茱萸次碱作用于肝细胞24h后,各给药组上清液中的AST,ALP,LDH水平均上升,其中LDH水平与对照组比较均有极显著性差异($P<0.01$),4 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Rut组中,AST和ALP水平有极显著性的升高($P<0.01$),ALT水平没有变化(表3)。

表3 吴茱萸次碱对HL7702细胞上清液中肝功能指标的影响($\bar{x}\pm s$)

$\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	AST	ALP	LDH
对照	-	7.0 ± 0.0	28.3 ± 0.6	72.7 ± 1.2
Rut	0.5	$12.0\pm 0.0^{2)}$	29.3 ± 0.6	$114.3\pm 1.5^{2)}$
	1	$12.0\pm 0.0^{2)}$	30.0 ± 1.0	$117.0\pm 4.6^{2)}$
	2	12.7 ± 0.6	$30.7\pm 1.2^{1)}$	$126.7\pm 7.0^{2)}$
	4	$13.0\pm 0.0^{2)}$	$31.3\pm 1.5^{2)}$	$131.0\pm 4.4^{2)}$

吴茱萸次碱作用于肾细胞24h后,各给药组上清液中的BUN,Cr,LDH水平均无明显变化。

3.4 吴茱萸次碱对整体小鼠肝肾的影响

3.4.1 吴茱萸次碱对小鼠血清中肝肾功能的影响

与对照组相比,单次给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 吴茱萸次碱7d后,小鼠血清中的ALP极显著的上升($P<0.01$),ALT,AST,BUN,Cr水平只出现升高的趋势,其中Cr水平的升高程度比较明显(表4)。

表 4 KM 小鼠给予吴茱萸次碱 7 d 后对血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	ALP /U·L ⁻¹	BUN /mmol·L ⁻¹	Cr /μmol·L ⁻¹	LDH /U·L ⁻¹
对照	-	38.0 ± 4.6	93.0 ± 9.8	372.3 ± 65.8	5.32 ± 0.87	10.3 ± 1.5	830.5 ± 262.0
Rut	10	38.1 ± 3.7	97.1 ± 14.0	502.6 ± 78.0 ²⁾	6.38 ± 0.72	21.9 ± 20.1	730.1 ± 92.4

3.4.2 吴茱萸次碱对小鼠肝肾组织病理学的影响

光镜下观察,与正常组相比较,吴茱萸次碱组中近 1/3 小鼠肝脏出现肝细胞核分裂象增多,与对照组相比有统计学差异 ($P < 0.05$);有 1 只小鼠肾脏出现嗜碱性病变(图 1~2)。

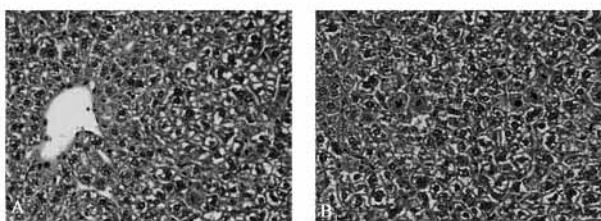


图 1 吴茱萸次碱 iv 7 d 对小鼠肝脏病理学的影响 (400 倍)
A. 对照组;B. 吴茱萸次碱组(图 2 同)

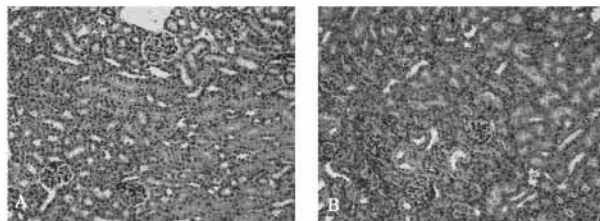


图 2 吴茱萸次碱 iv 7 d 对小鼠肾脏病理学的影响 (200 倍)

共培养体系给予吴茱萸次碱 24 h 后,2,4 mg·L⁻¹组中,HL7702 细胞活力受到明显的抑制,与对照组相比,有极显著差异 ($P < 0.01$),HEK293 细胞活力下降,与对照组相比,有显著差异 ($P < 0.05$),并且高浓度下吴茱萸次碱对肝细胞活力的抑制作用大于肾细胞,与单独培养体系中的趋势相同(表 5)。

3.5 共培养体系中吴茱萸次碱对细胞活力的影响

表 5 共培养体系中吴茱萸次碱对细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	浓度/mg·L ⁻¹	肝 HL7702 细胞		肾 HEK293 细胞	
		A	细胞活力/%	A	细胞活力/%
对照	-	0.662 ± 0.015	100.00 ± 2.19	0.433 ± 0.017	100.00 ± 3.95
Rut	0.5	0.650 ± 0.061	98.24 ± 9.25	0.409 ± 0.035	94.38 ± 8.13
	1	0.644 ± 0.026	97.23 ± 3.94	0.394 ± 0.046	90.99 ± 10.68
	2	0.567 ± 0.028 ²⁾	85.65 ± 4.21 ²⁾	0.376 ± 0.008 ¹⁾	86.84 ± 1.85 ¹⁾
	4	0.536 ± 0.030 ²⁾	81.02 ± 4.47 ²⁾	0.364 ± 0.032 ¹⁾	83.99 ± 7.28 ¹⁾

4 讨论

吴茱萸次碱是吴茱萸的主要活性成分之一^[4],实验研究报道,Rut 能抑制细胞色素 P450 (CYP) 1A1^[5]。对人肝微粒体的研究表明,Rut 能选择性抑制 CYP1A,其对 CYP1A2 的抑制作用强于对 CYP1A1 的抑制作用^[6],在还原型辅酶 II 存在的情况下,Rut 能抑制 CYP3A4 活性,其抑制程度依赖于前孵化时间,由于许多前致癌物质都需要通过 CYP 的转化而最终发挥致癌作用,因此,Rut 可能具有抗癌作用^[7]。

研究结果表明,在 2 种培养体系中,高浓度的吴茱萸次碱能使肝肾细胞活力下降,且相同浓度下吴茱萸次碱对肾细胞活力的抑制作用大于肝细胞,说明单独培养体系和共培养体系对药物的反应是一致

的;并且吴茱萸次碱使肝细胞上清液中的 AST,ALP,LDH 水平升高,其中 4 μg·mL⁻¹ Rut 组中,AST,ALP,LDH 水平有极显著性的升高 ($P < 0.01$),肾细胞上清液中的 BUN,Cr,LDH 水平均无明显变化,但是在光镜下观察给予吴茱萸次碱后的细胞形态,发现肝肾细胞形态几乎没有明显改变;KM 小鼠给予 10 mg·kg⁻¹吴茱萸次碱 7 d 后,小鼠血清中的 ALP 水平极显著的上升 ($P < 0.01$),ALT,AST,BUN,Cr 水平只出现升高的趋势,病理结果表明有近 1/3 小鼠肝脏出现肝细胞核分裂象增多,仅有 1 只小鼠肾脏出现嗜碱性病变。通过以上的实验,提示吴茱萸次碱可能对肝肾具有毒性作用,提示在临床上运用吴茱萸应予以注意,尤其是对肝肾功能不良的患者。

人参养荣汤的急性毒性及抗疲乏抗应激的研究

陈衍智¹, 林飞², 李萍萍^{1*}

(1. 北京大学临床肿瘤学院 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所中西医结合科, 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室, 北京 100142; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

[摘要] 目的: 观察人参养荣汤的急性毒性以及抗疲劳、抗应激作用。方法: 选择 SPF 级 KM 种小鼠为受试对象, 采用急性经口毒性试验测定最大耐受量, 采用抗疲劳、耐缺氧以及耐高低温试验, 进行抗应激作用的评价。结果: 人参养荣汤的最大耐受量为 $>160 \text{ g 生药/kg}$, 相当于人临床每天口服用量的 76.2 倍。与空白对照组比较, 人参养荣汤的高、中剂量组(按生药量计为 $42.0, 21.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和十一味参芪片组($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)可延长小鼠不间断走动疲劳过度从转棒上跌落的时间; 人参养荣汤的高剂量组可延长小鼠断头后喘息时间和小鼠常压下的窒息时间; 人参养荣汤的高、中剂量组和十一味参芪片组具有延长小鼠 45°C 高温下死亡的时间和小鼠 -5°C 低温下死亡时间, 具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 人参养荣汤的最大耐受量按生药量计 $>160 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当于人临床每天口服用量的 76.2 倍。人参养荣汤可以提高小鼠的抗疲劳、耐缺氧和耐高低温能力, 具有抗疲劳和抗应激作用。

[关键词] 人参养荣汤; 小鼠; 急性毒性试验; 抗疲劳作用; 抗应激作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0225-05

[收稿日期] 20100430(005)

[基金项目] 北京市中医局科技项目(2004 京中重 IV15)

[第一作者] 陈衍智, 副主任医师, 硕士学位, 研究方向: 肿瘤中医、中西医结合, Tel: 010-88196273, E-mail: chen9658@sina.com

[通讯作者] *李萍萍, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤中医、中西医结合, Tel: 010-88196273, E-mail: lppma123@yahoo.com.cn

本实验采用体外和体内相结合的实验方法对吴茱萸次碱进行了毒性评价。在体外实验时, 本课题组通过单独培养体系与共培养体系之间的比较性试验, 表明了肝肾共培养体系对药物的反应在一定程度上与肝肾细胞单独培养一致, 而共培养体系具有缩短实验次数、减少药物使用量、辨别药物的优先毒性靶器官、研究药物代谢产物的毒性等优点作用, 符合目前国际上所提倡的“3R 原则”。

[参考文献]

- [1] 余奇一, 郭澄, 程泽能. 吴茱萸次碱的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2007, 25(6): 353.
- [2] Li W, Cai S, Cai L, Li X. Anti-apoptotic effect of hepatocyte growth factor from actinomycin D in hepatocyte-derived HL7702 cells is associated with activation of PI3K/Akt signaling[J]. Toxicol Lett, 2006, 20, 165(2): 142.
- [3] Sohn S H, Ko E, Chung H S, et al. The genome-wide

expression profile of Curcuma longa-treated cisplatin-stimulated HEK293 cells[J]. Br J Clin Pharmacol, 2010, 70(4): 547.

- [4] 张启云, 徐国良, 黄丽萍, 等. LC/MS/MS 测定大鼠尿液中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的方法学研究[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(6): 32.
- [5] Rannug U, Agurell E, Rannug A, et al. Certain tryptophan photoproducts are inhibitors of cytochrome P450-dependent mutagenicity[J]. Environ Mol Mutagen, 1992, 20(4): 289.
- [6] Ueng Y F, Jan W C, Lin L C, et al. The alkaloid rutaecarpine is a selective inhibitor of cytochrome P450 1A in mouse and human liver microsomes[J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30(3): 349.
- [7] Iwata H, Tezuka Y, Kadota S, et al. Mechanism-based inactivation of human liver microsomal CYP3A4 by rutaecarpine and limonin from Evodia fruit extract[J]. Drug Metab Pharmacokin, 2005, 20(1): 34.

[责任编辑 聂淑琴]