

· 药物研究 ·

# 白藜配伍乌头对大鼠肝脏 CYP450 的调节作用\*

石苏英<sup>1</sup>, 金科涛<sup>1</sup>, 王宇光<sup>2</sup>, 高月<sup>2</sup>

(1. 浙江省诸暨市人民医院药剂科, 311800; 2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所药理毒理研究室, 北京 100850)

**[摘要]** 目的 研究乌头、白藜配伍对主要药物代谢酶 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 在酶活性、mRNA 水平和蛋白质水平的影响。方法 采用高效液相色谱法测定 CYP1A2、CYP2E1 活性; 采用紫外-可见分光光度法测定 CYP3A1/2 活性; 分别采用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 和 Western Blot 方法评价药物对 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 mRNA 及蛋白水平的影响。结果 乌头、白藜配伍后 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 的酶活性均有下降; Western Blot 检测显示 CYP1A2、CYP3A1 的蛋白质表达水平上升; CYP2E1、CYP3A2 的蛋白质表达水平下降。RT-PCR 检测显示 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 的 mRNA 水平均上升。结论 乌头、白藜配伍后抑制 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 的酶活性, CYP2E1 酶活性下降可能主要通过影响基因转录进而影响其蛋白水平来实现; CYP1A2、CYP3A1/2 酶活性下降则与基因和蛋白水平不相关。

**[关键词]** 白藜; 乌头; 细胞色素 P<sub>450</sub>; 酶活性; 蛋白质免疫印迹; 逆转录-聚合酶链式反应

**[中图分类号]** R282.71; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2007)09-0975-05

## Inhibitory Effect of Aconitum Coadministration with Ampelopsis on Cytochrome P<sub>450</sub> in Rat Livers

SHI Su-ying<sup>1</sup>, JIN Ke-tao<sup>1</sup>, WANG Yu-guang<sup>2</sup>, GAO Yue<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy, the People's Hospital of Zhujia City, 311800, China; 2. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

**ABSTRACT Objective** To study the effect of Aconitum coadministration with ampelopsis on the enzyme activity, protein expression and mRNA level of cytochrome P<sub>450</sub> isoenzymes in rat liver. **Methods** CYP1A2 and CYP2E1 activities were quantitated by high performance liquid chromatographic (HPLC) assay; CYP3A1/2 activity was quantitated by UV chromatography. The protein expressions of CYP1A2, CYP2E1, CYP3A1, and CYP3A2 were detected by Western blot. The mRNA levels of CYP1A2, CYP2E1, CYP3A1, and CYP3A2 were detected by semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Aconitum coadministration with ampelopsis obviously inhibited the activities of CYP1A2, CYP2E1 and CYP3A1/2; Western Blot showed a decreased protein expression of CYP2E1, and CYP3A2, and an increased protein expression of CYP1A2 and CYP3A1. RT-PCR showed an increased mRNA level of CYP1A2, CYP2E1, CYP3A1, and CYP3A2 as compared with the control group. **Conclusion** Aconitum coadministration with ampelopsis has an inhibitory effect on the enzymes activity of CYP1A2, CYP2E1, and CYP3A1/2. The enzymes activity inhibitory effect of CYP2E1 may be related to the decrease of its protein expression, but not CYP1A2, CYP3A1, and CYP3A2.

**KEY WORDS** Aconitum coadministration; Ampelopsis; Cytochrome P<sub>450</sub>; Enzymes activity; Western blot; RT-PCR

乌头、白藜作为配伍禁忌是古人在临床用药实践中发现的现象,但长期以来缺乏科学依据的佐证,产生这种现象的机制尚不十分清楚。这种配伍禁忌是否有

其内在机制或物质基础呢?在体内参与药物代谢的酶主要为肝细胞色素 P<sub>450</sub> 氧化酶(以下简称 P<sub>450</sub> 酶),是一组由许多同工酶组成的超家族,对许多内源性、外源性化合物在体内 I 相生物转化有重要作用,在药理学、毒理学研究中有重要意义<sup>[1]</sup>。许多药物通过对 P<sub>450</sub> 酶的调控作用(诱导或抑制)来影响其活性,因而两种以上药物合用时,就可能导致某种药物的药效或毒性增强或降低,即药物相互作用。实验室在前期工作中,已经完成了乌头碱(乌头主要毒性成分)的肝细胞色素 P<sub>450</sub> 代谢亚型的研究<sup>[2]</sup>,笔者选择乌头、白藜配伍为切入点,研究乌头与白藜配伍应用对主要的药物代谢相

**[收稿日期]** 2007-04-20 **[修回日期]** 2007-06-02

**[基金项目]** \* 国家自然科学基金资助项目(基金编号: 30070936)

**[作者简介]** 石苏英(1960-),女,浙江诸暨人,副主任药师,学士,从事中药药理学研究工作。电话: 0575-87173165, E-mail: jinketao2001@yahoo.com.cn。

**[通讯作者]** 高月(1963-),女,江西宜春人,研究员,博士生导师,长期从事中药药理研究的教学、科研工作。电话: 010-66931312, E-mail: gaoyue@nic.bmi.ac.cn。

关的 CYP 同工酶的酶活性、mRNA 及蛋白质表达的影响,为进一步探讨基于药物代谢酶的中药相互作用的分子机制及可能产生的药物相互作用提供实验依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物与分组** Wistar 大鼠,雄性,体重(200±20)g,由军事医学科学院实验动物中心提供。动物随机分为空白组、乌头组(0.25 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、白芍组(0.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、乌头加白芍组(1.0 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),每组 8 只。

**1.2 药物制备和给药** 乌头、白芍购自北京同仁堂药厂,经军事医学科学院放射与辐射医学研究所马百平教授鉴定,乌头为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx 的干燥根;白芍为葡萄科植物白芍 *Ampelopsis japonica* (Thunb.) Makino 的干燥块根。乌头按《中华人民共和国药典》2005 年版一部规定的临床剂量换算成大鼠剂量称重后加入 10 倍量去离子水,浸泡 60 min 后于烧瓶中加热回流 3 次,每次 1 h,合并提取液,滤纸过滤去除杂质,离心取上清液并旋转蒸发浓缩至药液浓度为 0.02 g·mL<sup>-1</sup>;白芍提取液制备同上,药液浓度为 0.06 g·mL<sup>-1</sup>;乌头、白芍合用按《中华人民共和国药典》2005 年版一部规定的临床剂量比例称重混合,制备方法同上,药液浓度为 0.08 g·mL<sup>-1</sup>。空白组给予 0.9% 氯化钠溶液,各药物组给予规定剂量,连续灌胃给药 7 d 后处死动物,取肝脏制备微粒体和提取总 RNA。

**1.3 实验药品与试剂** Folin 酚试剂、对硝基酚(4-Nitrophenol,4-NP)、非那西丁(phenacetin)、对乙酰氨基酚(paracetamol)为 Sigma 公司产品;红霉素(erythromycin)购自 AMRESCO 公司;1,2-二羟基-4-硝基苯(4-Nitrocatechol,4-NC)为 ACROS 公司产品;RNA 提取试剂盒(RNAgents Total RNA isolation system)、逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)一步法试剂盒为 Promega 公司产品;DL 2000 DNA Marker 为 TAKARA 公司产品。CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 和 CYC(Cyclophilin,亲环素)的引物由北京赛百盛基因技术有限公司合成。兔抗鼠多克隆抗体及 ECL 化学发光试剂为 Santa Cruz 公司产品;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔多克隆抗体为 CHEMICOM 公司产品;预染蛋白标准(Prestained Protein Marker, Broad Range)为 NEW ENGLAND 公司产品。其他无机及有机试剂均为国产分析纯。

**1.4 肝微粒体的制备** 大鼠脱臼处死,打开腹腔和胸腔,用止血钳结扎胸腔主动脉和下腔静脉。用注射器吸冰冷 0.9% 氯化钠溶液从下腔静脉止血端上缘冲洗

肝脏,至肝脏颜色变为土黄色止。采用钙沉淀法制备微粒体,肝脏组织按 1:4(W/V)比例加入 TMS 缓冲液匀浆后于 12 000 g,4℃,离心 20 min,弃沉淀,取上清液,每 1 mL 上清液加 88 mmol·L<sup>-1</sup>氯化钙溶液 0.1 mL,轻搅拌数次,混匀,冰浴 5 min。再以 27 000 g,4℃,离心 20 min,弃上清液,取沉淀,按 1 g 肝重加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl buffer 1 mL,含 150 mmol·L<sup>-1</sup>氧化钾,pH 值 7.4。再 27 000 g,离心 20 min,4℃,弃上清,取沉淀,按 1 g 肝重加 0.01 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl buffer(含 1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA and 20% (W/V)甘油,pH 值 7.4)缓冲液 1 mL 用玻璃匀浆器重悬,重悬液放入液氮管中,液氮中保存备用。微粒体蛋白含量采用 LOWERY<sup>[3]</sup>法定量,使用牛血清蛋白作为标准。

**1.5 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 活性测定** CYP1A2 活性按文献[4]测定;CYP2E1 活性按文献[5]测定;CYP3A1/2 活性按文献[6]测定。

**1.6 CYP450 及 b<sub>5</sub>含量测定** CYP450 与 b<sub>5</sub>含量测定采用 Omura 和 Sato 方法测定<sup>[7]</sup>。

**1.7 蛋白质免疫印迹(Western blot) 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)** 按 LAEN-MLI<sup>[8]</sup>方法进行。20~30 μg 的微粒体蛋白用 10% SDS-PAGE 分离后,再按照 TOWBIN 等<sup>[9]</sup>介绍的方法电转印到 PVDF 膜上。电转印完后,用含 5% (W/V)脱脂奶粉的 TTBS 封闭液 4℃ 封闭过夜。再取封闭后 PVDF 膜置于含兔抗鼠多克隆抗体(一抗)的上述封闭液中室温摇床孵育 1 h,用 TTBS 缓冲液洗膜 3 次,每次 15 min;再将 PVDF 膜置于含羊抗兔多克隆抗体(辣根过氧化物酶标记的二抗)的上述封闭液中室温摇床孵育 1 h,用 TTBS 缓冲液洗膜 3 次,每次 15 min;再用 TBS 缓冲液洗膜 1 次,10 min。将已用二抗标记了的 PVDF 膜与 ECL 化学发光试剂反应,在暗室与 X 光胶片曝光后显影。用 Scion image 1.62c 软件测条带灰度值,计算目的蛋白与看家蛋白(GAPDH)的灰度比值。检测时以 GAPDH 为内参照,以 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 与 GAPDH 蛋白表达量灰度的比值作为 P<sub>450</sub>亚酶蛋白质表达的相对水平。所有蛋白质免疫印迹的结果都在同组不同样品上得到重复。

**1.8 总 RNA 的提取** 大鼠处死后迅速取出肝脏,置于液氮中保存。按 Promaga 公司 RNA 提取试剂盒说明书提取肝脏总 RNA。电泳分析表明总 RNA 片段未降解,18S 和 28S 条带清晰可见,A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 比值 1.6~1.8,所提总 RNA 可用。

**1.9 RT-PCR** 采用 Promaga 公司的 RT-PCR 一步法

试剂盒说明书进行。将 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 及 CYC (看家基因) 等体积的 RT-PCR 产物 10 μL 上样, 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳辨认, 照相。检测时以 CYC 基因的 RT-PCR 产物为内参照, 以

CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 与 CYC 基因扩增条带表达量像素灰度的比值作为 P<sub>450</sub> 亚酶 mRNA 表达的相对水平。特异性引物序列见表 1。

表 1 用于 RT-PCR 分析的大鼠 P<sub>450</sub> 亚酶引物序列

P <sub>450</sub> 同工酶	5' 正义链引物	3' 反义链引物	片段长度/bp
CYP1A2	GTCACCTACGGGAATGCTGTG	GTTGACAATCTTCTCCTGAGG	236
CYP2E1	CTCCTCGTCATATCCATCTG	GCAGCCAATCAGAAATGTGG	473
CYP3A1	ATCCGATATGGAGATCAC	GAAGAAGTCCTTGCTCTGC	579
CYP3A2	AGTAGTGACGATTCCAACATAT	TCAGAGGATTCTGTGTTTCCT	252
CYC	CTTCGACATCACGGCTGATGG	CAGGACCTGTATGCTTCAGG	265

**1.10 统计学方法** 实验数据用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS10.0 统计软件单因素方差分析进行组间比较。P < 0.05 表示差异有显著性。

**2 结果**

**2.1 乌头、白芷合用后对大鼠肝脏 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 酶活性的影响** 见图 1, 与空白对照组比较, 单用白芷能显著降低 CYP1A2 的活性, (P < 0.05), 与乌头合用后也能降低 CYP1A2 的活性, 但没有统计学意义; 从图 1 可见, 与空白对照组比较, 白芷单用及与乌头合用对 CYP2E1 的活性基本无影响; 从图 1-III 可见, 与空白对照组比较, 白芷与乌头均能降低 CYP3A1/2 活性, 白芷组更明显 (P < 0.01), 合用组虽然表现出一定的活性抑制趋势, 但没有统计学意义。

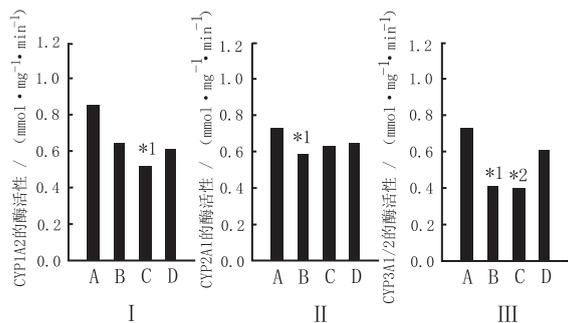


图 1 乌头、白芷单用、合用对 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1/2 酶活性的影响

I 表示药物对 CYP1A2 酶活性的影响; II 表示药物对 CYP2E1 酶活性的影响; III 表示药物对 CYP3A1/2 酶活性的影响。A 为空白对照组; B 为乌头组; C 为白芷组; D 为乌头加白芷组。与 A 组比较, \*<sup>1</sup> P < 0.05, \*<sup>2</sup> P < 0.01

**2.2 乌头、白芷配伍后对 CYP450 及 b<sub>5</sub> 含量的影响** 同时测定了 CYP450 及 b<sub>5</sub> 的含量, 以期找到酶活性之间的相关性。从表 2 可见, 药物合用后没有影响 P<sub>450</sub> 和 b<sub>5</sub> 的含量 (n = 8)。

**2.3 乌头、白芷配伍后对 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 蛋白质表达的影响** 在酶活性测定及 P<sub>450</sub>、b<sub>5</sub> 总蛋白含量测定的基础上, 采用蛋白质免疫印迹

(Western blot) 评价 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 这几个亚型的蛋白质表达水平与酶活性改变的相关性。从图 2 可以看出, 与空白对照组比较, 乌头与白芷配伍后使 CYP3A2 的蛋白表达水平明显降低, 而对 CYP1A2、CYP3A1 蛋白质表达的影响表现为诱导作用; 白芷组有明显抑制 CYP3A2 蛋白质表达的作用。

表 2 白芷、乌头单用、合用对 CYP<sub>450</sub>、b<sub>5</sub> 含量的影响

组别	大鼠/只	nmol · mg <sup>-1</sup> , $\bar{x} \pm s$	
		P <sub>450</sub>	b <sub>5</sub>
对照组	8	0.55 ± 0.19	0.18 ± 0.17
乌头组	8	0.49 ± 0.16	0.16 ± 0.06
白芷组	8	0.53 ± 0.17	0.37 ± 0.03
白芷加乌头组	8	0.52 ± 0.08	0.18 ± 0.04* <sup>1</sup>

与白芷组比较, \*<sup>1</sup> P < 0.01

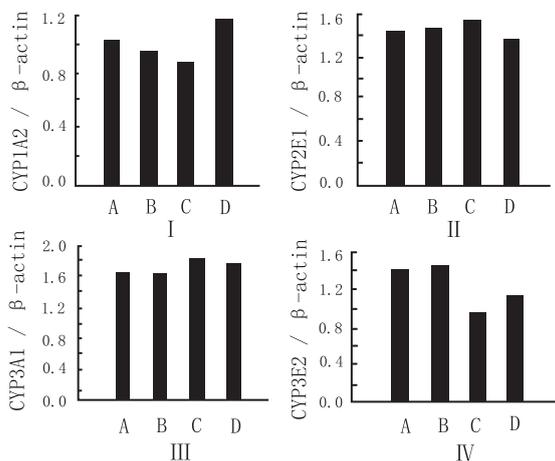


图 2 乌头、白芷单用、合用对 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 蛋白表达的影响

I 表示药物对 CYP1A2 的影响; II 表示药物对 CYP2E1 的影响; III 表示药物对 CYP3A1 的影响; IV 表示药物对 CYP3A2 的影响; A 表示空白对照组; B 表示乌头组; C 表示白芷组; D 表示乌头加白芷组

**2.4 乌头、白芷合用后对 CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 mRNA 表达的影响** 由于药物合用后, 对 CYP1A2、CYP3A1、CYP3A2 等几个亚型蛋白质水平的

影响有抑制,也有诱导,于是进一步设想这种效应是否发生在转录前的水平上。实验采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)评价了CYC(cyclophilin,看家基因)、CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2的mRNA表达。从图3可见,乌头与白芍合用后,对CYP1A2、CYP3A1、CYP3A2的mRNA表达呈诱导作用。CYP1A2、CYP3A1的mRNA水平与其蛋白质表达相一致。但CYP3A2在这两个水平上的结果正好相反。

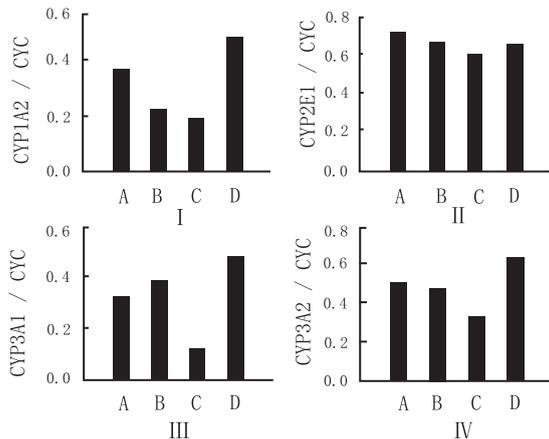


图3 乌头、白芍单用、合用对CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2 mRNA水平的影响

I表示药物对CYP1A2 mRNA表达的影响;II表示药物对CYP2E1 mRNA表达的影响;III表示药物对CYP3A1 mRNA表达的影响;IV表示药物对CYP3A2 mRNA表达的影响。A为空白对照组;B为乌头组;C为白芍组;D为乌头加白芍组

### 3 讨论

在人类肝脏微粒体中,参与内源性和外源性物质(包括药物、环境污染物等)代谢的细胞色素P<sub>450</sub>亚型主要有CYP1A2、CYP2E1和CYP3A等,它们分别占CYP总量的13%、7%和30%<sup>[10]</sup>。CYP1A2参与了咖啡因、非那西丁、醋氨酸、17-β雌二醇、普萘洛尔、维拉帕米、硝苯地平、丙米嗪等二十几种药物的代谢,另外在十几种前致癌物的激活或灭活中发挥重要作用,且其活性与药物的疗效或毒性及某些肿瘤的易感性密切相关<sup>[11]</sup>。实验结果表明白芍与乌头合用后对CYP1A2的酶活性的作用表现出一定的抑制趋势。

CYP2E1是许多低分子有机化合物及药物在体内的主要代谢酶,如乙醇、蒽氟烷、氟烷、氯唑沙宗、对乙酰氨基酚及烟草中的许多成分等均通过CYP2E1在体内进行生物转化。实验结果表明白芍与乌头合用后对CYP2E1的酶活性的影响并不明显。

CYP3A在许多内外源化合物的代谢中起着重要作用,可参与化合物红霉素、尼莫地平、利多卡因、环孢霉素、奥美拉唑等38个类别共150多种药物在体内的

代谢;内源性化合物代谢包括睾酮、黄体酮、氢化可的松、雄烯二酮的6-β羟化反应,雌二醇的2,4-羟化反应,去氢表雄酮的16-α羟化反应等。此外还参与部分前致癌物的活化<sup>[12,13]</sup>。实验结果表明白芍与乌头合用后对CYP3A1/2的酶活性的作用表现出一定的抑制趋势。

为了进一步研究药物导致CYP450主要亚型酶活性发生改变的机制,即究竟是哪一个环节受到影响而使酶活性发生改变。是在基因水平受到了影响?还是在蛋白质水平受到了影响?实验评价了药物合用后对CYP1A2、CYP2E1、CYP3A1、CYP3A2在蛋白质水平和mRNA水平的影响。实验结果表明,乌头白芍合用后诱导了CYP1A2、CYP3A1蛋白质表达,抑制了CYP3A2蛋白质表达;诱导了CYP1A2、CYP3A1、CYP3A2的mRNA表达。可见,在酶活性、蛋白质表达和mRNA水平上,除了CYP3A2的蛋白质表达与酶活性保持一致外,其余几个亚型,在蛋白质表达和mRNA水平上具有相关性,但与酶活性正好相矛盾。在一个细胞、器官和组织中,单个蛋白质表达水平并不完全反映这种蛋白质的生物活性,这种现象是普遍存在的。蛋白质活性是一个复杂的综合过程,它涉及到蛋白质翻译后修饰,在组织、细胞和亚细胞中的定位以及它与别的蛋白质间的相互作用。分析蛋白质活性必须考虑每个方面并把所得各部分的数据综合起来。有研究结果显示,毒性效应可以通过蛋白质修饰的方式显示出来。在mRNA水平研究基因表达似乎是一种比蛋白质更简单而且灵敏的手段,但是,通过mRNA浓度的测定得到的基因调控研究是间接的,仅能代表一种间接的测量,还有很多现象未能检出;在翻译水平的基因表达调控在多数情况下是起决定作用的,这类调控通过mRNA的定量分析检测不到。以上这些观点或许可以成为本次实验中酶活性测定结果与蛋白质水平和mRNA水平不一致的一种解释。

结合实验室前期工作中对乌头碱代谢亚型研究的结果<sup>[2]</sup>,初步认为乌头、白芍合用存在产生相互作用的可能性。因为:①乌头与白芍合用后对CYP1A2、CYP3A1/2的活性有抑制趋势;②乌头碱的代谢亚型主要是CYP3A和CYP1A2;③CYP3A和CYP1A2对乌头碱的代谢过程是一个逐渐降低毒性的解毒过程。从理论上而言,白芍与乌头合用后,有可能导致乌头碱毒性增加的结果。原因是药物合用抑制了代谢乌头碱的亚型酶CYP1A2、CYP3A1/2的活性致使乌头碱的被肝细胞色素P<sub>450</sub>酶代谢的速度减慢使其在体内的停留时间延长或相对血药浓度增加,从而产生乌头碱毒性

增加的相互作用。当然这种推断有待于进一步的实验验证。

#### [参考文献]

- [1] KANG J J, WANG H W, LIU T Y, *et al.* Modulation of cytochrome P<sub>450</sub>-dependent monooxygenases, glutathione and glutathione S-transferase in rat liver by Genposside from gardenia jas minoldes [J]. *Food Chem Toxicol*, 1997, 35 (3):957-965.
- [2] WANG Y G, WANG S Q, GAO Y, *et al.* Charactrization of metabolites and cytochrome P<sub>450</sub> involved in the microsomal metabolism of aconitine[J]. *J Chromat B*, 2006, 844(1): 292-300.
- [3] LOWERY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, *et al.* Protein measurement with the folin-phenol reagent[J]. *Biol Chem*, 1951, 193 (1):265-275.
- [4] KOKWARO G O, GLAZIER A P, WARD S A, *et al.* Effect of malaria infection and endotoxin-induced fever on phenacetin O-deethylation by rat liver microsomes [J]. *Biochem Pharmacol*, 1993, 45 (6):1235-1241.
- [5] TASSANEYAKUI W, VERONESE M E, BIRKETT D J, *et al.* High-performance liquid chromatographic assay for 4-nitrophenol hydroxylation, a putative cytochrome P-450E1 activity, in human liver microsomes [J]. *Chromatogr*, 1993, 616 (1): 73-78.
- [6] BRAY B J, ROSENGREN R J. Retinol potentiates aceta minophen-induced hepatotoxicity in the mouse; mechanistic studies [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001, 173 (1): 129-136.
- [7] OMURA T, SATO R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes [J]. *Biol Chem*, 1964, 239 (10): 2370-2378.
- [8] LAENMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. *Nature*, 1970, 227 (259): 680-685.
- [9] TOWBIN H, STAEBELIN T, GORDON J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some application [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(12): 4350-4354.
- [10] SHIMADA T, YAMAZAKI H, MIMURA M, *et al.* Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 1994, 270 (4):414-423.
- [11] MA J, QIAN B L. Research advances in human cytochrome P<sub>450</sub> and their application in new drug evaluation [J]. *Chinese J New Drugs*, 2002, 11(1):36-42.
- [12] YAMANO S, TATSUNO J, GONZALE FJ. The CYP2A3 gene product catalyzes coumarin 7-hydroxylation in human liver microsomes[J]. *J Biochem*, 1990, 29(9):1332.
- [13] THU MMEL K E, WIKINOSN G R. *In vivo* and *in vitro* drug interactions involving human CYP3A [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1998, 38(2):389-430.

## 欢迎订阅 2008 年《医药导报》杂志

《医药导报》杂志系国家一级学会——中国药理学会主办的医药专业期刊,是国家科技部中国科技论文统计源期刊,即中国科技核心期刊,已被美国《化学文摘》(CA)《国际药学文摘》(IPA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)收录。是万方数据库、中文科技期刊数据库、中国生物医学期刊引文数据库、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊,经国家新闻出版总署批准面向国内外公开发行。

设有“特约稿”“药物研究”“药物与临床”“药学进展”“用药指南”“药品质量控制”“新药介绍”“药物制剂”“药物不良反应”“药事管理”“作者·编者·读者”等栏目,每期组编某类药物或某类疾病的药物治疗专栏。读者对象是临床医师、药师、医药院校师生和医药研究所的科技工作者及药品监督管理、医药工商企业经营工作者。《医药导报》为月刊,每月 1 日出版,每期 10.00 元,全年 120.00 元整(含邮资),欢迎广大读者积极到当地邮局订阅,如错过邮局订阅时间,可随时向本刊编辑部邮订。地址:武汉市航空路 1 号,邮政编码:430030, E-mail: y198203@public.wh.hb.cn。电话及传真:027-83643083,83666619。国内总发行:湖北省报刊发行局。邮发代号 38-173。