

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

口服吸收交互作用之體外模式建構與其在中西藥口服交互 影響之評量(1/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2320-B-038-023-

執行期間：94年08月01日至95年07月31日

執行單位：臺北醫學大學藥學系(所)

計畫主持人：許明照

計畫參與人員：林盈谷

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 6 月 1 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 成果報告
 期中進度報告

口服吸收交互作用之體外模式建構與其在中西藥口服交互影響之評量 (1/3)

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 94-2320-B-038-023

執行期間：94年 8月 1日至 95年 7月31日

計畫主持人：許明照

共同主持人：

計畫參與人員：林盈谷

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：台北醫學大學

中華民國九十五年五月三十日

行政院國家科學委員會專題研究計畫期中報告

口服吸收交互作用之體外模式建構與其在中西藥口服交互影響之評量 (1/3)

Construction of In Vitro Model for Interaction Evaluation of Oral Absorption and Its Application on Drug-Herb Interaction (1/3)

計畫編號：NSC 94-2320-B-038-023

執行期限：94 年 8 月 1 日至 95 年 7 月 31 日

主持人：許明照 台北醫學大學 藥學系

一、中文摘要

研究指出 furanocoumarin 之化合物及其相關衍生物是葡萄柚汁造成代謝酵素 Cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) 活性抑制的主要成分，並且會導致許多高危險性之藥物不良反應的發生。自然界中繖形科、豆科和芸香科的植物也發現含有 furanocoumarin 的成分。而這些繖形科、豆科和芸香科的植物其實是很廣泛的應用於我們的日常生活中，如水果或是傳統中藥之藥方。為了預測它們與藥物之間可能發生之交互作用，第一要務便是去測定它們是否含有具抑制 CYP3A4 活性能力之 furanocoumarin 成分。在本論文中，利用逆相高效液相層析法 (reversed-phase high performance liquid chromatography, HPLC) 以不同比例之水與乙腈 (acetonitrile) 作沖提建立一個簡單、方便且快速之分析方法來分析五個已知之主要的 furanocoumarins：bergamottin、DHBG、bergapten、bergaptol 和 psoralen。五個成分的標準品之偵測極限 (Limit of detection, LOD) 與定量極限 (Limit of quantification, LOQ) 經計算後分別為 0.09–0.17 ng/mL 與 31.25 ng/mL。接著利用此一經確效之分析方法進行十種台灣廣泛使用之中草藥白芷、羌活、獨活、防風、當歸、黃芩、甘草、茵陳蒿、葛根和陳皮之萃取液中 bergamottin, DHBG, bergapten, bergaptol 和 psoralen 的含量測定。測定結果顯示，除了茵陳蒿和葛根以外，進行實驗之中草藥含有不同程度含量的 furanocoumarin 成分。另外，本論文也進行五個主要的 furanocoumarins 和上述十種中草药之體外

代謝酵素之抑制試驗，利用大鼠之肝臟酵素和模式藥物 nifedipine 來評估它們對於人體中 CYP3A4 酵素活性的影響。結果顯示五個主要的 furanocoumarins 成分皆表現出具有強力之抑制 CYP3A4 的能力。Bergamottin, DHBG, bergapten, bergaptol 和 psoralen 之 IC_{50} 經計算分別為 3.12, 1.49, 7.80, 13.56 和 7.22 μ M。除此之外，部分中藥萃取液亦顯示出具有強力之抑制 CYP3A4 的能力。由以上結果可知，含有 furanocoumarin 成分之生藥會造成代謝酵素 CYP3A4 活性的抑制，因此也可能會造成體內與藥物交互作用的發生導致藥物之不良反應。

關鍵詞：furanocoumarin、代謝酵素 CYP3A4、高效液相層析

Abstract

Furanocoumarin derivatives and relative compounds are thought to be involved as the active ingredients in grapefruit juice (GFJ) which had been reported to inhibit Cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) activity and will result in high risk adverse drug reactions. Naturally, various derivatives of furanocoumarins are detectable in plants belonging to the families *Umbelliferae*, *Leguminosae*, and *Rutaceae*. Many of them are often used as fruits or traditional medicine and widely used in our daily lives. To predict interactions between herbal medicines and drugs, the first priority is to identify at least the major components having inhibitory effects on P450 activities. In the first year study, a reversed-phase high

performance liquid chromatography (HPLC) method using a gradient mobile phase system was proven to be acceptable for separation of bergamottin, DHBG, bergapten, bergaptol and psoralen. Detection and quantification limits of all analytes were calculated ranging from 0.09 to 0.17 ng/mL and to be 31.25 ng/mL, respectively. This confirmatory method then applied to detect five major furanocoumarins contained in ten Chinese herbal medicines widely used in Taiwan. Results demonstrated that this HPLC method is appropriate for applications to quantitative determination of five furanocoumarins and each of ten crude drugs we examined showed various degrees of furanocoumarins components. In addition, we investigated the ability of five furanocoumarins and ten Chinese herbal medicines to inhibit the nifedipine dehydrogenation activity of CYP3A4 was examined using rat liver microsomes. All five furanocoumarins showed strong CYP3A4 inhibitory potencies and the IC₅₀ values were calculated to be 3.12, 1.49, 7.80, 13.56, and 7.22 μM for bergamottin, DHBG, bergapten, bergaptol, and psoralen, respectively. Therefore, some of herbal extracts were shown to be potent inhibitors of CYP3A4. These results indicated that crude drugs containing furanocoumarins could inhibit CYP3A4 activity and would possibly lead to drug interactions.

Keywords: furanocoumarin, cytochrome P450 3A4, high performance liquid chromatography

二、緣由與目的

口服藥物後的肝臟首渡效應對生體可用率之影響外，腸道吸收至今仍是被視為影響口服藥物的生體可用率最重要的部位，其中是以分佈在腸道上半部細胞內的代謝酵素 CYP3A4 (Cytochrome P450 3A4)，以及腸道下半部細胞膜上的輸送醣蛋白質體 (P-glycoprotein, P-GP) 為兩種主要影響因素。前者的作用導致藥物可能於吸收進入

肝臟被代謝之前，就會發生藥物在腸道的黏膜細胞內被此類酵素所代謝而降低藥物的生體可用率；後者的作用則導致被吸收進入腸道細胞的藥物又被此輸送蛋白質體排除輸送到腸道腔內，不但直接限制藥物口服吸收的生體可用率，並引發變異大且非線性的藥動學特質。目前已知，已上市藥品會被 P450 酵素代謝中，50% 是受到 CYP3A4 所代謝；同樣的，是 CYP3A4 受質的藥物大都會受到 P-GP 輸送排除而降低生體可用率，因為這兩者的受質有蠻大程度的重疊，所以兩者的交互影響就更增強藥物的代謝程度而明顯的降低藥物的腸道吸收，進而影響藥物的生體可用率。由此可顯現重要的是，在臨床上這兩者的作用部位，可能也是發生臨床上明顯藥物口服吸收交互作用之所在 (1-2)。

隨著科學的進步，在使用傳統中草藥的華人社會，口服並服西藥的機會相對的就高於其他族群社會，因此發生兩者口服吸收交互作用的可能性就不容忽視的。至今為止，與中草藥品有關的傷害性事件中最嚴重的例子之一就是病人使用含馬兜鈴酸之中藥 *Aristolochia fangchi* 後引發腎衰竭與尿道腫瘤 (3-4)，由於製造上的錯誤，此中藥取代 *Stephania tetrandra* 被用於製造減重藥丸，使用此種藥丸後有 40 多人引發漸近性腎衰竭，同時其中幾乎有 50% 被發現有尿道腫瘤。此馬兜鈴酸事件對於自古認為中藥是溫和安全的觀念是一個相當大的打擊，而且也越來越多的證據說明中草藥對於人體的生理因素有很大的影響性，尤其對於在口服吸收機制與代謝排除過程方面的影響，而由此導致中草藥與化學藥物併服時發生交互作用，互相改變兩者各自的臨床療效，甚至可能發生因吸收過量產生毒性而致人於死。因此中草藥的安全性已不容忽視了，也不能以一句我們已使用上千年的中草藥絕對安全而駝鳥式欺騙消費大眾，尤其是在國內社會民眾接觸中草藥的機會更多，而又化學藥物的使用也極頻繁，自然發生中草藥與化學藥物交互作用的機率相對提高，所以為確保國內民眾使用中草藥的安全性，主管單位有義務

確認中草藥經由口服管道使用時可能對人體生理機能造成的影響性，並預防性的瞭解一般常用中草藥所調製而成的方劑與化學藥物可能產生的交互作用，以提醒醫師及民眾併服時可能導致的嚴重性。

來自草藥成分所引發的修飾藥物輸送醣蛋白質 (*p*-Glycoprotein) 或是代謝酵素 CYP450 之酵素活性仍是中草藥與處方藥類的西藥成份所發生交互作用的主要機轉，所以在消費者被賦予自由意志而可以自行使用各種草藥類營養補充品及其他各色各樣草藥製品時，必然需要能有一套整體性的方法來預測可能存在的這類與藥物輸送載體及代謝酵素活性有關的草藥與處方藥的交互作用，以幫助消費者或是專業醫師瞭解併用時可能發生的交互作用之參考依據，由此而確保中草藥的用藥安全，以及共服時相互間應達到之臨床效能。對於輸送醣蛋白質或是 CYP450 酵素活性的進一步影響性可分為直接對蛋白質或酵素的作用以及對兩者基因表現的作用。前者是中藥成份作為輸送醣蛋白質或代謝酵素的作用標的物 (substrate) 與同樣是標的物的西藥成份在輸送醣蛋白質或代謝酵素的鍵結作用部位進行競爭性或非競爭性交互作用、或是中藥成份本身就是輸送醣蛋白質或代謝酵素的抑制劑 (inhibitors)，而經由可逆性抑制 (reversible inhibition) 或不可逆性/擬不可逆性模式抑制 (irreversible/quasi irreversible inhibition) 輸送醣蛋白質或代謝酵素的活性來影響併服的西藥成份。後者則是重複服用中藥方劑後，如果中藥成份是輸送醣蛋白質或代謝酵素的蛋白表現轉錄活化劑 (transcriptional activators)，就會藉由接受體依賴性機制 (receptor-dependent mechanism) 於基因層次增加訊息核糖核酸 (mRNA) 的轉錄，因而提高輸送醣蛋白質或代謝酵素於細胞部位的表現量，此交互作用結果將導致併服藥物的吸收與代謝程度的改變 (5)。截至目前為止，已知最常與西藥併服後發生影響輸送醣蛋白質體與腸道代謝酵素之藥動學性交互作用的天然成份，包括有

葡萄柚汁的 Furanocoumarins 類衍生物的 Bergamottin (6)，貫葉連翹和銀杏的 Flavonoids 類衍生物等。再由中藥成份的總整理來看，白芷與羌活等種類或同屬的中藥材含有多種類似 Furanocoumarins 類的衍生物，而黃酮素類 (Flavonoid 與 Flavanoids) 則富含於中藥藥材，包括常使用於中藥方劑的甘草、陳皮、橙皮、葛根等，異黃酮素 (Isoflavonoids 與 Isoflavanoids) 類也是多包含於甘草、葛根與黃耆等中藥材 (7-8)。所以由此些種類化合物作為模板成份，以建構其建構結構與藥動學影響性 (QSPR) 之定量性預測關係式，將可以快速有效的用於定量性預測中藥方劑可能與併服西藥發生的交互作用。

總結而言，建立傳統中藥方劑影響輸送醣蛋白質與代謝酵素的藥動學特質，將是提供消費者併服西藥以及臨床中醫師或醫師調配併服藥物之參考依據，不管是由中藥方劑的藥動學特質來理論推測，或是由臨床試驗的證據支持，都是確保臨床併用時可以降低交互作用的影響性，或是做適當調整以維持臨床療效，降低可能導致的不良副作用或毒性。

三、材料與方法

生藥之萃取

水萃取：將各 2 公克的生藥材以水 100 毫升煎煮至 50 毫升，煎煮時間約一小時。

酒精萃取：將各 2 公克的生藥材以 50 毫升 40% 酒精浸泡二星期。

高效液相層析法開發

高效液相層析法的開發，使用 Inertsil ODS-2 Colum (4.6 mm i.d. x 150 mm) 管柱。當紫外線偵測波長於 310 nm 時可同時偵測 bergamottin、DHBG、bergapten、bergaptol 和 psoralen 五個已知之標準品，因此本實驗利用紫外線/可見光檢測器於波長 310 nm 下測定。流速設定為 1.0 mL/min，層析管柱恆溫箱 (column oven) 溫度設定 40 °C。流動相組成以 water (1% acetic acid) 和 acetonitrile 不同比例混合建立 gradient system：起始狀態為 20%

acetonitrile，從 0 到 2 分鐘增加至 40% acetonitrile，第 2 分鐘至第 14 分鐘比例維持在 40% acetonitrile，第 14 至 17 分鐘時以等比例增加為 90% acetonitrile，第 17 分鐘至第 20 分鐘比例維持在 90% acetonitrile，第 20 分鐘至第 23 分鐘時比例降為 20% acetonitrile。

模式藥物 Nifedipine 與其代謝物之高效液相層析法開發

利用 HPLC 以 UV 為檢測器，偵測波長設定為 270 nm，層析管柱為 Inertsil 5ODS-2 Column (5 μ m, 4.6 x 150 mm)，流速設定為 1.0 mL/min。流動相組成以 water (1% methanol) 和 acetonitrile，比例為 65:35，並以 0.45 μ m 濾膜過濾。分別測量 nifedipine 及其代謝物 oxidized nifedipine 並計算酵素活性之百分比。

萃取細胞步驟

本計劃選擇約重量 250-350 公克的雄性大白鼠來萃取肝臟細胞。首先將大白鼠麻醉，麻醉後進行手術，先注入 heparin 避免凝血，以第一階段清洗溶液由肝門靜脈進行灌注(perfusion)，直至肝臟內大部份血液沖滌完，以系列之離心取得微粒體，準備進行試驗。

酵素之抑制試驗

本計劃實驗所探討的酵素以 CYP3A4 為主，將以 nifedipine 之代謝為探針藥物，藉由分析藥物與代謝物之關係，得知酵素的代謝效能，進而完成代謝研究。

四、結果與討論

Furanocoumarin 系列化合物的高效液相層析法開發與分析

本研究已選定五種 furanocoumarin 為此系列之模式成分如圖 1。圖 2 為高效液相層析之層析圖，此方法可以有效的分離並檢測五種 furanocoumarin，其線性範圍為 31.25-10000 ng/ml 如圖 3，最低偵測極限為 0.09 to 0.17 ng/mL，最低可定量濃度 31.25 ng/mL。bergaptol 由於其化學結構為

furanocoumarin 之基本結構接上一氫氧基之取代基，其親水性高於其他四個成分，因此為第一個沖提出來之成分，其滯留時間為 7.13 min。其次為 psoralen，其化學結構為 furanocoumarin 之基本結構，滯留時間為 9.65 min。bergapten 之化學結構為基本結構接上一甲氧基 (-OCH₃)，滯留時間為 12.70 min。之後，DHBG 和 bergamottin 因其具有 geranyloxy side chain，滯留時間分別為 13.63 和 22.26 min。結果顯示出 bergamottin、DHBG、bergaptol、bergapten 和 psoralen 五種 furanocoumarins 成分之間並不會有干擾，是一簡單有效的分析方法。

模式藥物 Nifedipine 與其代謝物 oxidized nifedipine 之高效液相層析

如圖 4，開發之高效液相層析分析方法可以有效分離代謝物 oxidized nifedipine 及原模式藥物 nifedipine。其 CYP3A4 酵素之代謝物之滯留時間為 10 分鐘，而 nifedipine 則為 12 分，並無干擾。

生藥萃取液之 furanocoumarins 含量測定

表 1 為本計畫選定執行之十種生藥之基本資料，十種生藥之中包含五種繖形科（白芷、羌活、當歸、防風、獨活），二種豆科（甘草、葛根），唇形科（黃芩），菊科（茵陳蒿），芸香科（陳皮）。此十種生藥也是富含三大類之模式成分（furanocoumarins、flavonoids、isoflavanoids），每一生藥萃取液以高效液相層析分析方法分析，圖 5 為羌活之高效液相層析分析圖譜，表 2 為十種生藥其水和酒精萃取液之 furanocoumarins 的成分分析結果。結果顯示羌活含有最多種類的 furanocoumarins，其次是白芷和甘草，而茵陳蒿是未能檢測出含有 furanocoumarins，大致上酒精的萃取液含有較高的 furanocoumarins。

Furanocoumarins 及生藥對於代謝酵素之抑制試驗

表 3 為五種 furanocoumarins 對代謝酵素 CYP3A4 的半抑制濃度 IC₅₀，以 DHBG 為最強的抑制性，IC₅₀ 為 1.49 μ M，其次分別

是 bergamottin 3.12 μM 、psoralen 7.22 μM 、bergapten 7.80 μM 、抑制性最弱的是 bergaptol 13.56 μM 。表 4 為十種生藥之酒精或水萃取液對代謝酵素 CYP3A4 的抑制結果，在水萃取的部分，防風、當歸、甘草的抑制性較小，酵素活性皆在 90% 以上，其次是獨活 82%，其餘是黃芩 67%、陳皮 67%、白芷 44%、茵陳蒿 44%、羌活 32%、葛根 19%。在酒精萃取部分其結果則不太相同，分別是茵陳蒿 92%、葛根 89%、當歸 72%、白芷 70%、羌活 68%、陳皮 66%、防風 63%、黃芩 62%、獨活 60%，甘草 44%。

從結果得知酒精浸泡萃取與水萃取組，所萃取得到的成分有些差異，而其抑制酵素代謝的活性也有所不同，經由此初步的結果指明了 furanocoumarins 模板成分在其中應該扮演相當重要的角色，所以本計畫將繼續完成不同的模板成分對代謝酵素的抑制性研究，最後再結合各種模板成分來統合探討生藥與藥物之間的交互作用。

五、參考文獻

- [1] Cummins CL, Jacobsen W, Christians U, and Benet LZ: CYP3A4-transfected Caco-2 cells as a tool for understanding biochemical absorption barriers: studies with Sirolimus and midazolam. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 308:143-154, 2004
- [2] Collett A, Tanianis-Hughes J, Hallifax D, and Warhurst G: Predicting P-glycoprotein effects on oral absorption: correlation of transport in Caco-2 with drug pharmacokinetics in wild-type and *mdr1a(-/-)* mice in vivo. *Pharm. Res.* 21:819-825, 2004
- [3] Nortier JL, Martinez M-CM, Schmeiser HH, et al: Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N. Ehgl J Med* 342:1686-1692, 2001
- [4] Lord GM, Cook T, Arlt VM, et al: Urothelial malignant disease and Chinese herbal nephropathy. *Lancet* 358: 1515-1516, 2001
- [5] Donato MT and Castell JV, Strategies and molecular probes to investigate the role of cytochrome P450 in drug metabolism. *Clinical Pharmacokinetics* 42(2):153-178, 2003
- [6] Guo, L-Q, Fukuda K, Ohta T and Yamazoe, Y, *Drug Metabolism and Disposition*, 28, 7, 2000, 766-771.
- [7] 原色生藥學 (第二版): 顏焜熒著, 台北 南天書局發行 (1996)
- [8] 常用中草藥高效液相色譜分析: 王慕、陳毓亨、相樂和彥、平山總良著, 科學出版社發行 (1999)
- [1] Cummins CL, Jacobsen W, Christians U, and Benet LZ: CYP3A4-transfected Caco-2 cells as a tool for understanding biochemical absorption barriers: studies with Sirolimus and midazolam. *J.*

Table 1 Available information of the crude drugs tested in this study.

Crude drug	Source	Family	Species
白芷 Bai-Zhi	Uncertain a, China	<i>Umbelliferae</i>	<i>Angelicae dahuricae radix</i>
羌活 Qiang-Huo	Guang-Dong, China	<i>Umbelliferae</i>	<i>Notopterygium forbesii root</i>
獨活 Du-Huo	Guang-Dong, China	<i>Umbelliferae</i>	<i>Angelicae pubescens radix</i>
防風 Fang-Feng	Inner Mongolia, China	<i>Umbelliferae</i>	<i>Saposhnikovia divaricata radix</i>
當歸 Dang-Gui	Gan-Su, China	<i>Umbelliferae</i>	<i>Chinese Angelicae sinensis radix</i>
黃芩 Huang-Qin	Uncertain a, China	<i>Labiatae</i>	<i>Scutellaria baicalensis radix</i>
甘草 Gan-Cao	Inner Mongolia, China	<i>Leguminosae</i>	<i>Glycyrrhiza uralensis radix</i>
葛根 Ge-Gen	Uncertain a, Thailand	<i>Leguminosae</i>	<i>Pueraria lobata radix</i>
茵陳蒿 Yin-Chen-Hao	Guang-Dong, China	<i>Compositae</i>	<i>Artemisiae capillaris herba</i>
陳皮 Chen-Pi	Guang-Dong, China	<i>Rutaceae</i>	<i>Aurantii fructus immaturus</i>

^a Obtained at a local drug store without knowing the place of production.

Table 2 Contents of furanocoumarins of crude drugs

Crude drugs	bergaptol		psoralen		bergapten		DHBG		bergamottin	
	water	alcohol	water	alcohol	water	alcohol	water	alcohol	water	alcohol
Bai-Zhi	6933.78 ^a ± 24.20	8657.97 ± 21.61	—	399.75 ± 5.88	2474.82 ± 25.85	6827.23 ± 30.65	—	—	188.42 ± 11.81	—
Qiang-Huo	5425.37 ± 30.24	38021.99 ± 21.28	—	13855.36 ± 17.42	2010.92 ± 33.48	39517.96 ± 10.29	—	3202.86 ± 35.50	1100.24 ± 14.76	8782.66 ± 16.83
Du-Huo	1973.30 ± 18.57	306.85 ± 2.82	—	—	1483.29 ± 19.97	7522.12 ± 11.92	1938.99 ± 32.76	4329.09 ± 30.96	—	—
Fang-Feng	—	—	750.26 ± 14.54	3487.00 ± 35.08	293.65 ± 10.74	4214.29 ± 35.55	—	—	—	—
Dang-Gui	—	—	—	—	2018.69 ± 30.57	1024.38 ± 19.89	—	—	—	—
Huang-Qin	—	—	—	1447105.18 ± 28.30	1278.34 ± 35.32	—	—	—	—	—
Gan-Cao	3799.37 ± 33.03	6279.70 ± 24.95	—	—	—	—	—	—	—	—
Chen-Pi	—	—	10525.08 ± 26.90	22143.17 ± 32.23	22041.45 ± 32.26	48059.02 ± 23.44	—	—	—	—

— : Not

^a:Concentration (ng/mL) (mean ± SD)

Table 3 Inhibition of CYP3A4 activity on the metabolism of nifedipine by furanocoumarins

furanocoumarins	IC ₅₀ (μM)
bergaptol	13.56
psoralen	7.22
bergapten	7.80
DHBG	1.49
bergamottin	3.12

Table 4 Inhibition of CYP3A4 activity on the metabolism of nifedipine by water and alcohol extracts of crude drugs

Crude drugs	Residual CYP3A4 activity (% of control)		IC ₅₀ (μg/mL)	
	water extract	alcohol extract	water extract	alcohol extract
Bai-Zhi	44.02 ± 7.91	69.57 ± 1.87	63.02	>80
Qiang-Huo	31.86 ± 8.83	67.60 ± 1.37	43.87	>80
Du-Huo	82.37 ± 1.26	59.89 ± 6.50	>80	>80
Fang-Feng	91.08 ± 3.63	63.49 ± 6.24	>80	>80
Dang-Gui	96.08 ± 10.82	72.32 ± 3.25	>80	>80
Huang-Qin	67.42 ± 7.23	62.41 ± 10.07	>80	>80
Gan-Cao	96.52 ± 0.90	43.68 ± 0.47	>80	36.52
Yin-Chen-Hao	40.79 ± 15.00	91.58 ± 2.21	33.56	>80
Ge-Gen	18.62 ± 0.43	89.23 ± 4.70	38.87	>80
Chen-Pi	67.15 ± 3.58	65.63 ± 3.70	>80	>80

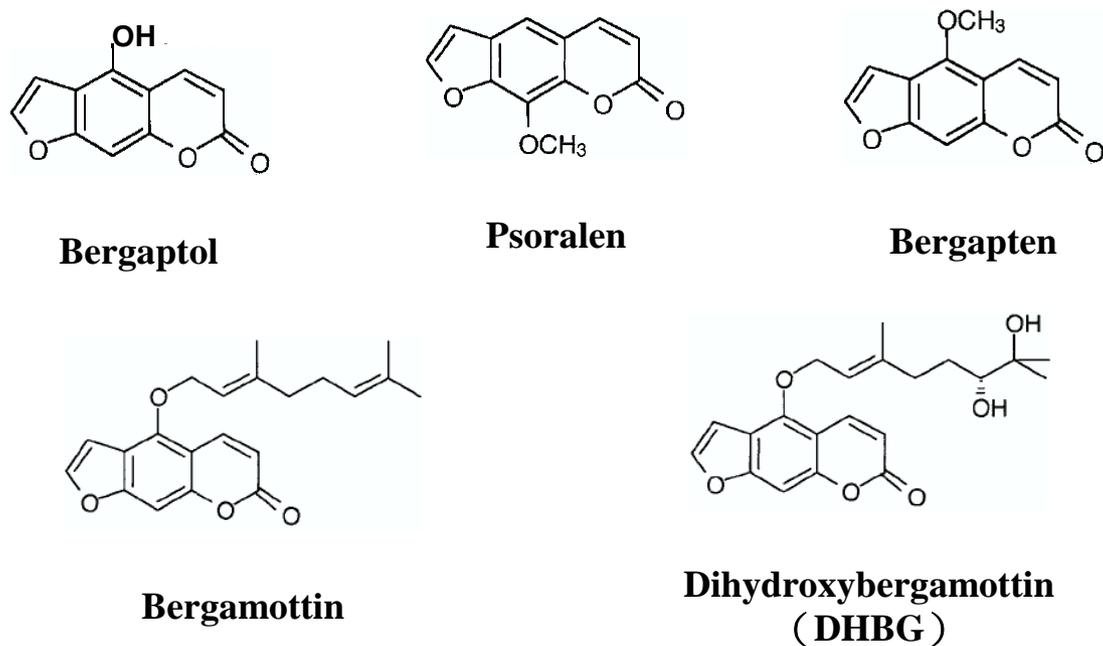


Figure 1 Structures of five furanocoumarins.

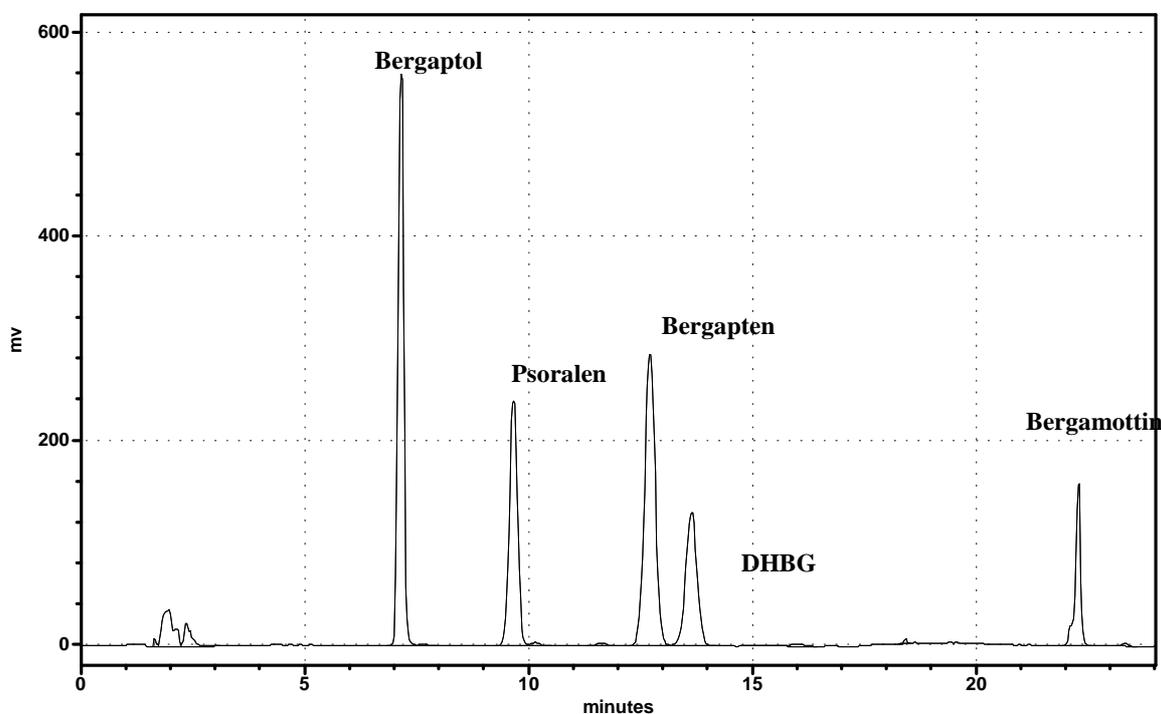


Figure 2 HPLC chromatogram of five standard furanocoumarins. The retention time of each furanocoumarin is bergaptol at 7.13 min, Psoralen at 9.65 min, bergapten at 12.70 min, dihydroxybergamottin at 13.63 min and bergamottin at 22.26 min.

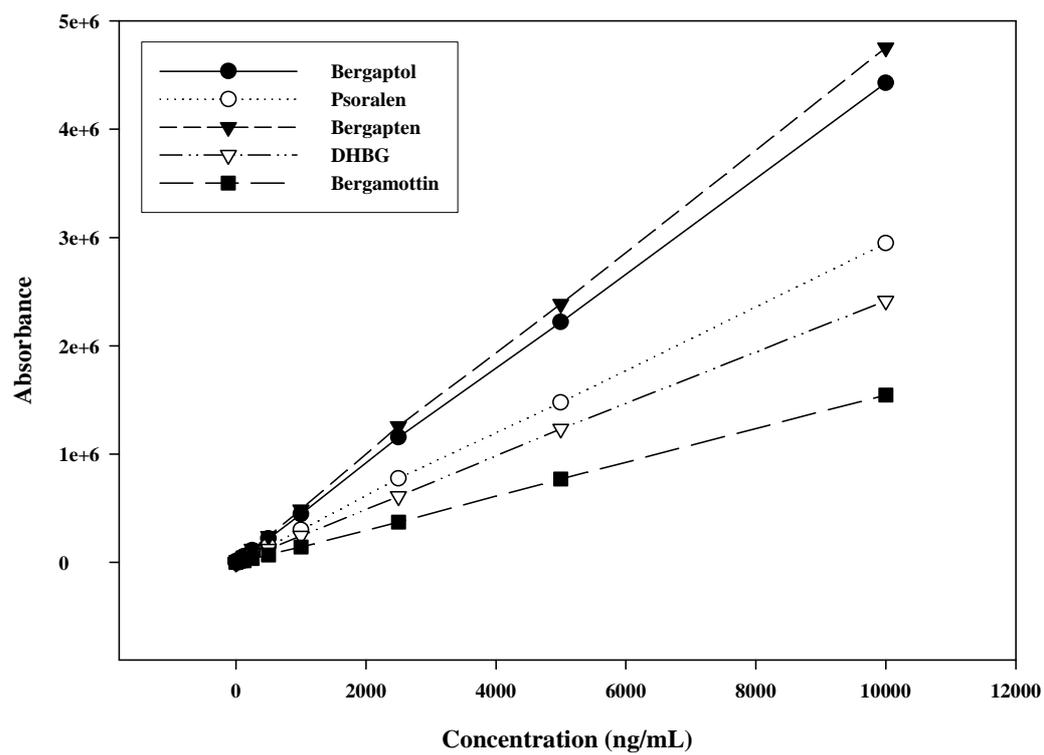


Figure 3 Calibration curves of five furanocoumarins.

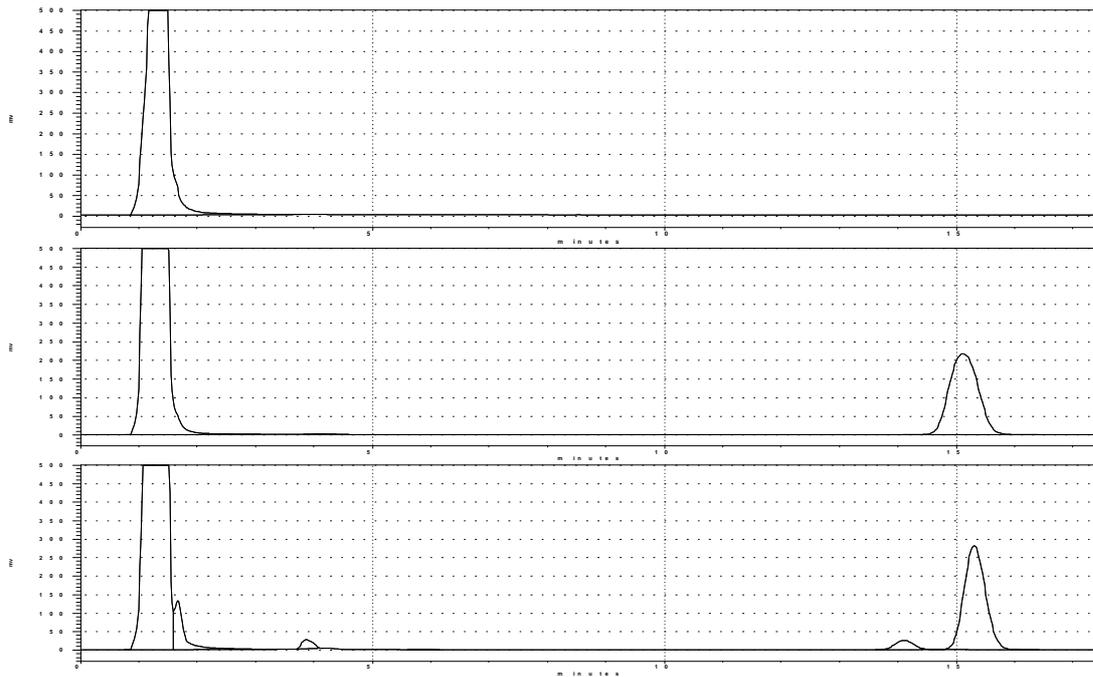


Figure 4 HPLC Chromatogram of Nifedipine. A : Microsomes blank ; B : Nifedipine in denatured microsomes ; C : Nifedipine metabolized in microsomes

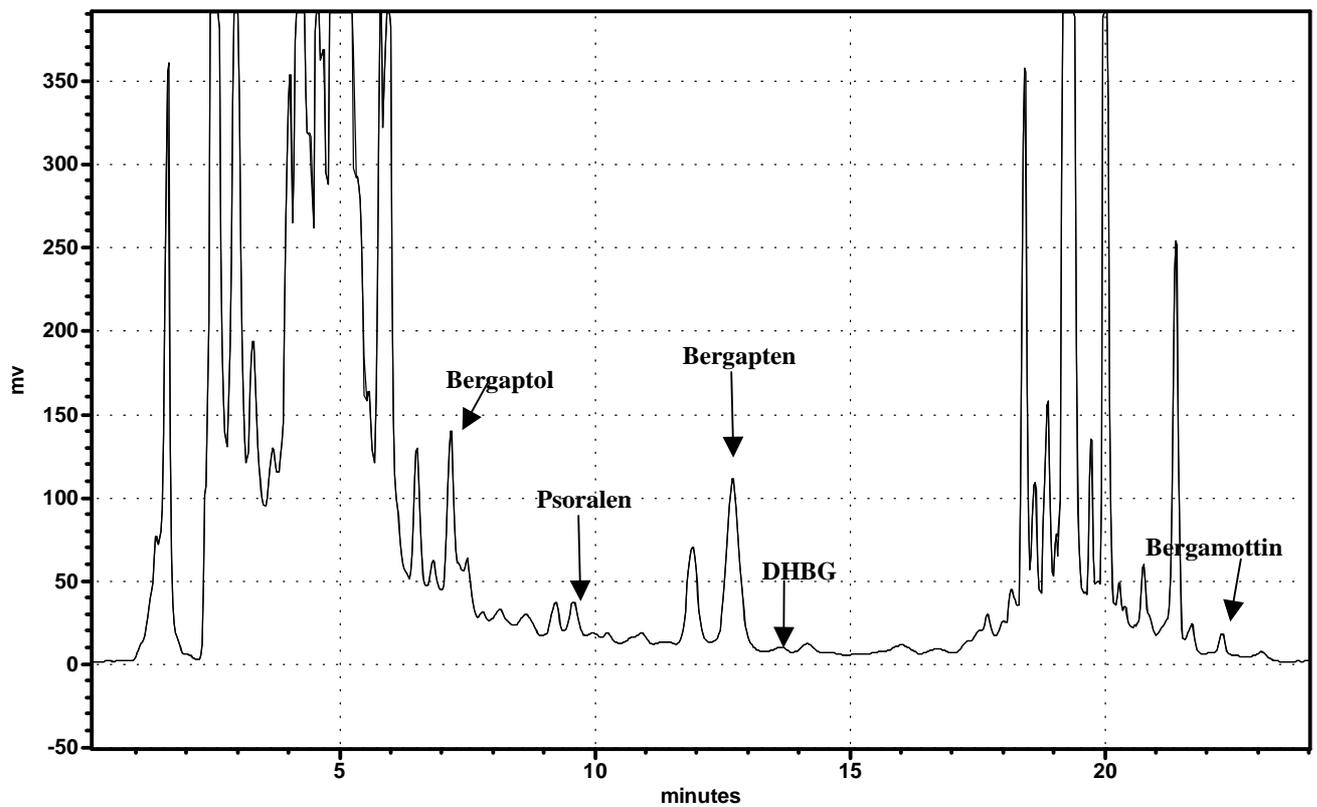


Figure 5 HPLC chromatogram of alcohol extract of Qiang-Huo.