

## 【安全性评价】

## 基于分子对接和体外大鼠肝微粒体抑制实验综合考察何首乌中潜在肝毒性成分研究

汪 祺<sup>1</sup>, 李 勇<sup>2</sup>, 王亚丹<sup>1</sup>, 文海若<sup>1</sup>, 马双成<sup>1\*</sup>

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

2. 北京中医药大学, 北京 100102

**摘要:** 目的 基于UDP-葡萄糖醛酸转移酶1A1 (UGT1A1) 介导的胆红素代谢, 构建UGT1A1酶蛋白模型, 用于研究何首乌中潜在致肝毒性成分的毒性作用, 并用体外大鼠肝微粒体抑制实验进行验证。方法 采用同源建模方法构建UGT1A1酶蛋白结构, 将UGT1A1底物胆红素及何首乌中主要蒽醌类成分大黄素、大黄酚、大黄酸、羟基大黄素、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄素甲醚与UGT1A1蛋白进行分子对接, 考察分子结合靶点及结合强弱。采用大鼠肝微粒体孵育体系 (RLM), 加入系列浓度的底物胆红素对照品溶液及待测单体对照品溶液, 检测表观抑制常数 ( $K_i$ ), 测定蒽醌类单体成分对UGT1A1酶的抑制作用。结果 分子对接结果显示, UGT1A1酶蛋白结构上共有9个活性口袋区, 胆红素的结合口袋确定为位点F; 6个单体主要集中在两个活性口袋区: 大黄素、羟基大黄素、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄酚对接进入位点F; 大黄素甲醚和大黄酸对接进入位点C。结合于UGT1A1酶蛋白位点C中的单体大黄酸和大黄素甲醚的结合自由能 (IE) 值较小; 位点F区中, 单体大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素及羟基大黄素具有较高的IE值, 结合能力强。体外抑制实验显示, 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素表现为较强的竞争型抑制作用, 羟基大黄素为较强的混合型抑制作用, 与分子对接结果一致。结论 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、羟基大黄素、大黄素对UGT1A1酶介导的胆红素代谢产生较强的抑制作用, 构建的UGT1A1酶蛋白模型可有效预测药物的潜在风险。

**关键词:** 何首乌; UGT1A1酶; 胆红素; 蒽醌类; 同源建模; 分子对接; 大鼠肝微粒体抑制实验; 安全性评价

中图分类号: R9625.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 04-0635-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.006

Investigation of potential hepatotoxic components in *Polygonum multiflorum* based on molecular docking and rat liver microsome inhibition testWANG Qi<sup>1</sup>, LI Yong<sup>2</sup>, WANG Yadan<sup>1</sup>, WEN Hairuo<sup>1</sup>, MA Shuangcheng<sup>1</sup>

1. National Institutes for Food and Drug control, Beijing, 100050, China

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100102, China

**Abstract: Objective** Based on UGT1A1 enzyme-mediated bilirubin metabolism UGT1A1 enzyme protein was constructed by homology modelling to study the toxic effects of potential hepatotoxic components in *Polygonum multiflorum*. **Methods** The UGT1A1 enzyme protein structure was constructed by homology modeling method. Then bilirubin and the main anthraquinones (emodin, chrysophanol, rhein, hydroxy emodin, emodin-8-O-beta-D-glucoside and emodin methyl ether) in *P. multiflorum* were molecularly docked with UGT1A1 protein to investigate the binding target and the action mode. Rat liver microsome incubation system (RLM) was used to determine the inhibitory effect of anthraquinone monomer components on UGT1A1 enzyme by adding a series of concentration of bilirubin reference solution and monomer reference solution to calculate the apparent inhibitory constant ( $K_i$ ). **Results** Molecular docking results showed that there were nine active pocket regions in UGT1A1 protein structure, and the binding pocket of bilirubin was identified as site F; Six monomers were mainly concentrated in two active pocket regions: emodin, hydroxy emodin, emodin-8-O-beta-D-glucoside and chrysophanol docking entry site F; emodin methyl ether and emodin acid

收稿日期: 2018-07-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81503347)

第一作者: 汪 祺, 博士, 研究方向为中药学。E-mail: sansan8251@sohu.com

\*通信作者: 马双成, 研究员, 研究方向为中药学。Tel: 010-67395282 E-mail: msc@nifdc.org.cn

docking entry site C. The binding free energy (IE) of emodin methyl ether and emodin acid in site C of UGT1A1 enzyme protein was lower. In site F, emodin-8-*O*-beta-*D*-glucoside, emodin and hydroxy-emodin had higher IE values and stronger binding ability. *in vitro* inhibition experiments showed that emodin-8-*O*-beta-*D*-glucoside, emodin and hydroxy emodin showed strong competitive inhibition, which was consistent with the results of molecular docking. **Conclusion** Emodin-8-*O*-beta-*D*-glucoside, hydroxy emodin and emodin have strong inhibitory effects on UGT1A1-mediated bilirubin metabolism. The UGT1A1 enzyme protein model can effectively predict the potential risks of drugs.

**Key words:** *Polygonum multiflorum*; UGT1A1 enzyme; bilirubin; anthraquinones; homologous modeling; molecular docking; rat liver microsome inhibition experiment; safety evaluation

胆红素是人体内一种非常重要的内源性物质,它是血红素的代谢产物,主要来源于红细胞血红蛋白的分解代谢<sup>[1]</sup>。其中肝脏内II相代谢酶UDP-葡萄糖醛酸转移酶1A1(UGT1A1)可选择性催化非结合型胆红素(UCB),作为胆红素的唯一代谢酶,将其转化为水溶性胆红素葡萄糖醛酸结合物(BG):单葡萄糖醛酸胆红素(BMGs)和双葡萄糖醛酸胆红素(BDG),从肝细胞分泌至胆汁中消除<sup>[2]</sup>。当UGT1A1受到外源性物质抑制时,UCB无法转化为BG或转化量减少,可导致胆红素代谢障碍,并诱发UCB在肝细胞和血液内蓄积,继而引起肝脏毒性反应<sup>[3]</sup>。因此,胆红素是重要的临床参考指标,胆红素的升高是判定黄疸的重要依据,也是肝损害的重要生物标志物。

近年来文献报道<sup>[4-9]</sup>,中药及其制剂导致的肝损伤病例逐年增加,何首乌导致的肝损伤排在首位。统计临床病例发现,患者几乎都出现黄疸和肝功能异常,胆红素水平显著升高,平均总胆红素浓度为生理浓度的8~79倍<sup>[10]</sup>。有关何首乌毒性物质的研究较为广泛,且主要毒性成分推测集中于蒽醌类成分,如大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷等。利用小分子药物可与靶蛋白结合并产生激活或抑制作用机制,可通过获得蛋白质药靶的三维结构,有针对性地将药物与靶蛋白对接,从而明确具体作用靶点及作用强弱,阐明药物和靶蛋白的具体作用机制。

本实验旨在采用同源建模的方法构建UGT1A1酶蛋白,并在现有实验研究的基础上,将何首乌中潜在肝毒性成分与UGT1A1酶蛋白进行对接,明确作用靶点,通过计算复合物自由结合能,推测单体成分与UGT1A1酶的作用强弱。同时结合体外抑制实验结果,进一步验证本实验所建立模型的可靠性,以期将该模型用于临床药物安全性评价。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Waters Acquity™ Ultra Performance LC 超高效

液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters Xevo™ MQ-TOF/MS 质谱系统(美国 Waters 公司); METTLER TOLEDO AE240 型电子天平(瑞士,梅特勒-托利多公司); 节能型恒温槽 SDC-6(宁波新芝生物科技股份有限公司); Thermo 17R 型高速低温离心机(日本, Thermo 公司)。

### 1.2 主要试剂

大鼠肝微粒体,购自美国 BD Gentest 公司;磷酸钾(质量分数≥98%)、氯化镁(质量分数≥98%)、抗坏血酸(质量分数≥98%)、三羟甲基氨基甲烷(Tris, 质量分数≥98%),均购自百灵威科技;葡萄糖二酸单内酯(质量分数≥98%)、丙甲菌素(质量分数≥98%)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸(UDPGA, 质量分数≥98%)、二甲基亚砜(DMSO, 质量分数≥98%),均购自 Sigma Aldrich 公司;胆红素(批号 100077-201206, 质量分数 99.3%)、大黄素(批号 110756-201512, 质量分数 98.7%)、大黄酸(批号 110757-200206, 质量分数 100.0%)、大黄素甲醚(批号 110758-201616, 质量分数 99.0%)、大黄酚(批号 110796-201621, 质量分数 99.2%),均购自中国食品药品检定研究院;大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(质量分数≥98%)、羟基大黄素(质量分数≥98%),均购自源叶生物科技有限公司;甲酸、盐酸均为分析纯(北京化学试剂厂),乙腈、甲醇均为色谱纯(Fisher 公司)。

## 2 方法

### 2.1 同源建模

UGT1A1(Uniprot/P25101)是由 534 个氨基酸残基组成的二相代谢酶,由于目前尚未确定 UGT1A1 的 *N*-末端结构域,实验采用 Discovery Studio 2.5 BLAST Search 模块进行序列比对,通过分析其同源性和相似性的高低,选择相似性较高的 4 种蛋白作为模板蛋白进行同源建模<sup>[11-15]</sup>。研究采用 Modeller 9.13 程序,多模板建模方法,生成 5 个候选模型进行进一步优化。首先,基于逐级能量最小化方法,约束所有重原子后,依次优化氢原子,优化侧链及 Loop 区。能量最小化过程采用最陡下降法

和共轭梯度法进行优化。最后基于拉氏图和 Profile-3D 分析对同源模建蛋白进行评价。

## 2.2 分子对接

利用 Discovery Studio 2.5 的 From Receptor Cavities 模块对蛋白空腔进行自动识别,并利用活性值与打分值的相关性系数对活性口袋进行评价,分析待测单体与酶蛋白的作用方式。

## 2.3 体外抑制实验

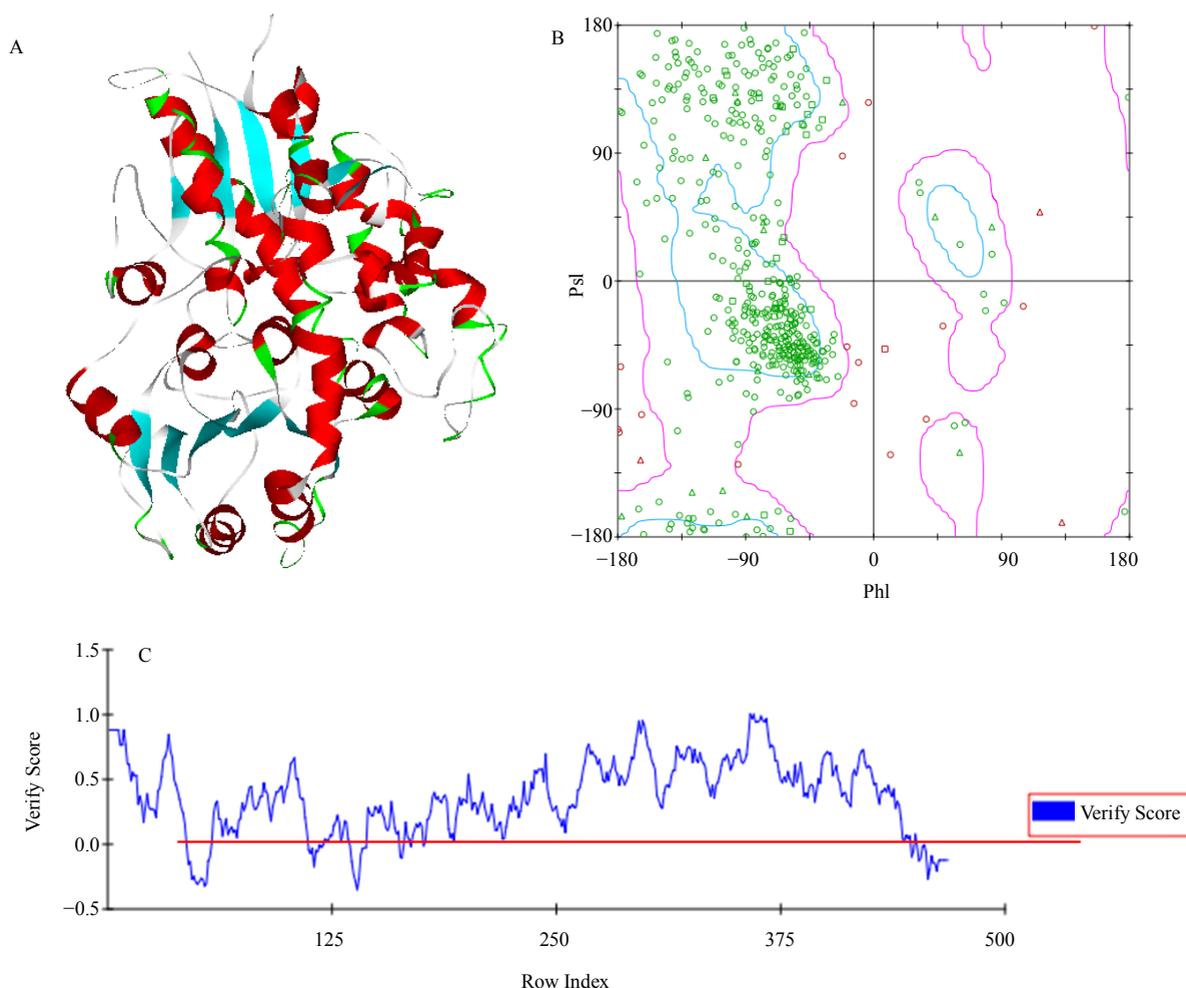
采用已建立的大鼠肝微粒体孵育体系(RLM)<sup>[6-17]</sup>,测定待测单体对 UGT1A1 酶的抑制作用,以表观抑制常数( $K_i$ )为评价指标。取蛋白质量浓度为 0.5 mg/L 的 RLM 30  $\mu$ L 放至室温,复融后,加入系列浓度的底物胆红素对照品溶液(0.36~3.35  $\mu$ mol/L)及待测单体对照品溶液(大黄素 0.36~11.65  $\mu$ mol/L、大黄酸 0.35~5.72  $\mu$ mol/L、大黄酚 0.12~4.03  $\mu$ mol/L、大黄素甲醚 0.14~9.32  $\mu$ mol/L、羟基大黄素 1.45~11.61  $\mu$ mol/L、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 0.03~3.41  $\mu$ mol/L)

),置 37  $^{\circ}$ C 恒温水浴预孵育 3 min 后加入新鲜配制的 UDPGA-发生系统溶液 68  $\mu$ L 启动反应(体系终体积为 200  $\mu$ L, DMSO 总用量不超过 1%)。反应 10 min 后立即加入 600  $\mu$ L 冰乙腈-甲醇(2:1, 含抗坏血酸浓度为 200  $\mu$ mol/L)终止反应,沉淀蛋白,涡旋 1 min,于 13 000 r/min 离心 25 min,取上清液进行测定,测定方法见参考文献<sup>[1]</sup>。分别以胆红素的总代谢产物生成量对胆红素底物浓度作图,以米氏方程双倒数法作图测定,横坐标为底物胆红素浓度的倒数( $1/S$ ),纵坐标为加入待测单体后胆红素代谢反应速率的倒数( $1/V$ );加入不同浓度待测单体对应不同曲线,以不同曲线的斜率对应胆红素底物浓度绘制 slop 图,求得  $K_i$ 。

## 3 结果

### 3.1 同源模建

UGT1A1 蛋白模型和评价参数见图 1。通过同源比对,选择 4 个蛋白晶体结构作为模板进行同源



A-UGT1A1 同源模建结果;B-拉氏图;C-Profile-3D 图

A-UGT1A1 homology modeling; B-Ramachandran plot; C-Profile-3D plot

图 1 同源模建示意图

Fig. 1 Sketch map of homology modeling

模建,包括UDP-glucuronosyltransferase 2B7(PDB: 2O6L)、UDP-glucuronosyl/UDP-glucosyl transferase (PDB: 2PQ6)、UDP-GLUCOSE FLAVONOID 3-O GLYCOSYLTRANSFERASE (PDB: 2C1X)、OLEANDOMYCINGLYCOSYLTRANSFERASE (PDB: 2IYA),与UGT1A1的序列相似度分别为72%、43%、46%、54%,一致性分别为56%、28%、27%、34%。利用获得的4个模板进行多模板建模,通过能量最小化处理,利用拉氏图和Profile-3D评价模型的优劣,其中,拉氏图的最适残基量为96.37%,Verify Score的值为156.27,高于Verify Expected Low Score,显示模建结构具有良好的立体化学参数和空间结构。

### 3.2 UGT1A1酶蛋白活性区确定

利用Discovery Studio 2.5的From Receptor Cavities模块对UGT1A1蛋白空腔进行自动识别,共获得9个口袋(A~I活性口袋),坐标及半径如表1所示。

表1 结合位点信息表  
Table 1 Information of active sites

位点编号	坐标			半径/Å
	X	Y	Z	
A	-6.419	-21.582	34.644	9.1
B	0.070	-31.863	28.811	7.7
C	-23.271	-2.617	33.205	7.9
D	-11.295	3.021	21.663	7.7
E	-11.088	-8.999	12.728	7.8
F	21.353	3.534	25.483	8.0
G	-6.556	-27.371	25.364	5.0
H	-9.189	-3.84	44.427	5.0
I	-13.534	0.633	16.113	8.2

### 3.3 分子对接考察

本实验拟进行对接测定的单体为UGT1A1酶蛋白底物胆红素,何首乌中蒽醌类成分主要包括:大黄素、大黄酚、大黄酸、羟基大黄素、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄素甲醚,结构见图2、3,表2。

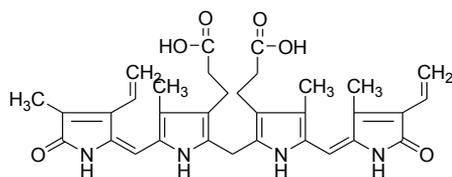


图2 胆红素结构图

Fig. 2 Structure of bilirubin

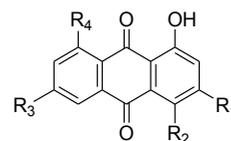


图3 何首乌中蒽醌类成分结构图

Fig. 3 Structure of components of anthraquinones in *P. multiflorum*

表2 何首乌中蒽醌类成分结构

Table 2 Structure of components of anthraquinones in *P. multiflorum*

化合物	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
大黄素	H	H	OH	OH
大黄酸	COOH	H	H	OH
大黄酚	CH <sub>3</sub>	H	H	OH
大黄素甲醚	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
羟基大黄素	H	OH	OH	OH
大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	H	H	OH	Glu

将结构明确的单体与UGT1A1酶蛋白进行对接,首先利用libdock对接其底物胆红素,选择能够接纳化合物且相关系数相反数最大的口袋作为活性口袋。对接结果显示,胆红素在位点F的打分为117.609,高于其他活性位点的打分值,因此胆红素的结合口袋确定为位点F;以此打分原则对6个待测单体进行测定。对接结果显示,6个单体主要集中在两个活性口袋区:大黄素、羟基大黄素、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄酚对接进入位点F;大黄素甲醚和大黄酸对接进入位点C(结果见表3)。

### 3.4 复合物结合自由能(IE)考察

采用Discovery Studio 2.5中CDOCKER打分功能,在确定小分子对接活性区域后,对其与靶标蛋白的结合位点进行IE(kcal/mol)分析,结果见表4和5。IE值绝对值越大,代表体系能量越稳定,结合能力更强。由实验结果可知,结合于位点C中的单体大黄酸和大黄素甲醚的IE值较小,其与酶的结合能力弱,提示对于UGT1A1酶代谢胆红素的影响较小。相反,位点F区中,单体大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素及羟基大黄素具有较高的IE值,结合能力强。同时,3个单体与胆红素结合位点为同一位点,存在竞争结合的可能,因此提示3个单体对于UGT1A1酶结合底物胆红素存在较大影响,具有一定的安全性风险。

### 3.5 体外抑制实验

6个蒽醌类单体在RLM中对UGT1A1酶的抑

表3 分子对接相关系数表

Table 3 Correlation coefficient of molecular docking

化合物	位点B	位点C	位点F	位点I
大黄素	33.628 8	58.260 4	75.051 8	0
羟基大黄素	0	58.804 8	87.376 0	0
大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	68.557 6	90.701 1	104.194	103.034
大黄酚	0	35.897	105.689	0
大黄素甲醚	49.478 1	75.644 8	65.858 7	0
大黄酸	0	84.959 2	69.281 3	0

表4 位点C区分子间IE结果

Table 4 IE in site C

化合物	IE/(kcal·mol <sup>-1</sup> )	直径/Å
大黄酸	-20.643 3	6.9
大黄素甲醚	-19.744 2	7.0

表5 位点F区分子间IE结果

Table 5 IE in site F

化合物	IE/(kcal·mol <sup>-1</sup> )	直径/Å
大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	-34.700 5	8.10
羟基大黄素	-29.636 7	6.90
大黄素	-25.993 2	6.80
大黄酚	-18.395 7	5.90

制情况见表6。6个单体对UGT1A1酶表现出不同程度、不同类型的抑制作用,抑制类型计算方法见参考文献<sup>[17]</sup>,结合 $K_i$ 值可以看出,大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素表现为较强的竞争型抑制作用,羟基大黄素为较强的混合型抑制,与分子对接所得结果基本一致。其中大黄酚 $K_i$ 值略小于羟基大黄素,较为接近,但IE值并不接近,且竞争类型不同,原因是分子对接过程中羟基大黄素母核上存在更多的羟基,而羟基与水分子存在结合吸引作用,导致羟基大黄素分子对接结果的IE值更高。

表6 UGT1A1酶抑制率情况表

Table 6  $K_i$  of UGT1A1 enzyme

单体	抑制类型	$K_i$ /(μmol·L <sup>-1</sup> )
大黄素	竞争型抑制	10.01
大黄酸	混合型抑制	127.3
大黄酚	竞争型抑制	19.18
羟基大黄素	混合型抑制	18.56
大黄素甲醚	混合型抑制	94.75
大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	竞争型抑制	3.43

$K_i < 1 \mu\text{mol/L}$  为强抑制;  $K_i > 50 \mu\text{mol/L}$  为弱抑制<sup>[18]</sup>

$K_i < 1 \mu\text{mol/L}$  represents strong inhibition;  $K_i > 50 \mu\text{mol/L}$  represents weak inhibition

#### 4 讨论

分子对接方法当前已成为药物设计中比较成熟的直接药物设计方法,在药物研究领域中发挥了重要作用。众多学者采用分子对接技术,通过研究小分子与细胞内生物大分子的相互作用,确认其在生物体内的具体作用靶点<sup>[19-25]</sup>。

胆红素的代谢及调节是一个复杂的生理过程,多种生物酶、转运蛋白<sup>[26]</sup>、以及调控因子参与,其中任何一个环节的病理变化均可导致胆红素的代谢障碍、胆红素蓄积从而引发肝毒性。目前已知胆红素在肝脏中主要经由其唯一代谢酶UGT1A1代谢解毒。因此本研究以UGT1A1介导的胆红素代谢受阻,有可能引发体内胆红素堆积,继而引发肝毒性风险为出发点,同源模建UGT1A1酶蛋白结构,将何首乌中潜在单体成分与酶蛋白进行对接,预测其毒性风险。

UGTs酶具有结构特异性,UGT1家族成员均包含5个外显子,除第一外显子不同外,共享2~5外显子<sup>[27-28]</sup>。由于UGTs全长蛋白纯化难度很大,截止到目前该晶体结构未有报道,因此本研究首次采用4个蛋白晶体为模板进行同源模建,以保证构建的酶蛋白结构更接近真实情况。同时结合体外抑制实验对分子对接结果进行验证,证明本实验所构建的UGT1A1酶蛋白模型可靠。

由体外抑制实验和分子对接结果分析可知:首先,具有竞争型抑制作用的单体与UGT1A1酶的底物胆红素对接进入相同位点F,而具有其它抑制类型如非竞争型抑制,混合型抑制作用的化合物对接进入另一活性区,位点C,符合蛋白的受体配体间的锁钥理论。其次,由分子对接计算出的IE值可知,与UGT1A1酶亲和能力较强的单体为:大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、羟基大黄素和大黄素,对接结果与体外抑制实验测得的抑制结果( $K_i$ )相一致。

已有文献报道蒽醌类成分通过抑制UGTs酶可引发不良反应,如抗肿瘤制剂OTS167通过影响

UGT1A1和UGT1A3酶活性产生不良反应等<sup>[29]</sup>。因此,本研究所构建的UGT1A1酶蛋白模型可用于药物的早期毒性筛选,可有效地预测药物的潜在用药风险。本研究将计算机模拟技术应用于预测药物潜在肝毒性风险的尝试,为中药安全性评价提供了新的思路。

#### 参考文献

- [1] McDonagh A F. Controversies in bilirubin biochemistry and their clinical relevance [J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2010, 15(3): 141-147.
- [2] Vitek L, Ostrow J D. Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(25): 2869-2883.
- [3] Hoekstra L T, de Graaf W, Nibourg G A, et al. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: A review [J]. Ann Surg, 2013, 257(1): 27-36.
- [4] 刘芳,李波. 药物引起肝脏损伤的评价与检测 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1981-1984.
- [5] Vitek L, Ostrow J D. Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(25): 2869-2883.
- [6] Hinshaw L B. Sepsis/septic shock: participation of the microcirculation: an abbreviated review [J]. Crit Care Med, 1996, 24(6): 1072-1078.
- [7] Panis B, Wong D R, Hooymans P M, et al. Recurrent toxic hepatitis in a Caucasian girl related to the use of Shou-Wu-Pian, a Chinese herbal preparation [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2005, 41(2): 256-258.
- [8] Jung K A, Min H J, Yoo S S, et al. Drug-induced liver injury: twenty five cases of acute hepatitis following ingestion of polygonum multiflorum thunb [J]. Gut Liver, 2011, 5(4): 493-499.
- [9] 杨倩,李晓宇,赵新妹,等. 含何首乌的中成药不良反应系统分析 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1878-1887.
- [10] 鄢良春,赵军宁,邱雄. 何首乌安全性问题研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(3): 77-81.
- [11] Qiao L S, Jiang L D, Luo G G, et al. Prediction of ETA oligopeptides antagonists from *Glycine max* based on in silico proteolysis [J]. China J Chin Mater Med, 2017, 42(4): 746-751.
- [12] 张青青,姚其正,张生平,等. 靛玉红类CDK1抑制剂的同源建模、分子对接及3D-QSAR研究 [J]. 物理化学学报, 2014, 30(2): 371-381.
- [13] Li Y, Jiang L D, Chen X, et al. Discovery of potential ATP-sensitive potassium channel openers with potential hypotensive activity from Chinese herbs based on molecular simulation [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(2): 264-271.
- [14] Song J H, Cui L, An L B, et al. Inhibition of UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) activity by constituents of *Schisandra chinensis* [J]. Phytother Res, 2015, 29(10): 1658-1664.
- [15] Li L, Huang X J, Peng J L, et al. Wedelolactone metabolism in rats through regioselective glucuronidation catalyzed by uridine diphosphate-glucuronosyl transferases 1As (UGT1As) [J]. Phytomedicine, 2016; 23(4): 340-349.
- [16] 汪祺,张玉杰,戴忠,等. 微粒体体系中胆红素及其代谢产物测定方法的建立 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(9): 1544-1550.
- [17] 汪祺,戴忠,王亚丹,等. 何首乌中8种成分在大鼠肝微粒体体系中的肝毒性研究 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(8): 589-593.
- [18] Scriver C R. The metabolic & molecular bases of inherited disease [M]. New York: McGraw-Hill, 2001.
- [19] 焦凌霞,徐茜茜,刘媛,等. 基于同源建模与分子对接技术构建抗Bt Cry1类毒素单链抗体定点饱和突变库 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(3): 12-17.
- [20] 胡祖权,李和平,张静柏,等. 伏马菌素B<sub>1</sub>特异单链抗体的同源建模及分子对接模拟研究 [J]. 免疫学杂志, 2015, 31(7): 618-622.
- [21] 王明华,李杜娟, Wang Minghua, 等. 分子对接比较随机RNA片段与同源建模蛋白及其模板的相互作用 [J]. 计算机与应用化学, 2017, 34(7): 497-502.
- [22] 孙彬,刘敏,赵世振,等. 白念珠菌几丁质合成酶三维结构的同源建模及其与FR-900403的分子对接研究 [J]. 中国真菌学杂志, 2017, 12(4): 193-197, 215.
- [23] 李军. 纤维素酶E4的同源建模和分子对接研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [24] 庄绪静. 同源建模和分子对接方法的应用与发展 [A]. 中国植物保护学会. 植保科技创新\与病虫防控专业化——中国植物保护学会2011年学术年会论文集 [C]. 中国植物保护学会, 2011: 7.
- [25] 王晓欢. 基于分子对接的葱醌类衍生物与c-Abl结合的比较研究 [A]. 天津市生物医学工程学会. 天津市生物医学工程学会2007年学术年会论文集摘要集 [C]. 天津市生物医学工程学会, 2007: 1.
- [26] 李聃,盛莉,李燕. 药物转运体的研究方法 [J]. 药学报, 2014, 49(7): 963-970.
- [27] Ritter J K, Chen F, Sheen Y Y, et al. A novel complex locus UGT1 encodes human bilirubin, phenol, and other UDP-glucuronosyltransferase isozymes with identical carboxyl termini [J]. J Biol Chem, 1992, 267(5): 3257-3261.
- [28] Ouzzine M, Magdalou J, Burchell B, et al. An internal signal sequence mediates the targeting and retention of the human UDP-glucuronosyltransferase 1A6 to the endoplasmic reticulum [J]. J Biol Chem, 1999, 274(44): 31401-31409.
- [29] Ramírez J, Mirkov S, House L K, et al. Glucuronidation of OTS167 in humans is catalyzed by UDP-glucuronosyltransferases UGT1A1, UGT1A3, UGT1A8, andUGT1A10[J].DrugMetabDispos,2015,43(7):928-935.