• 药理与临床 •

延胡索乙素对映体对人肝微粒体细胞色素 P450 酶抑制作用机制研究

颜晶晶[1]，倏　珊[1]，何丽娜[1]，何　新[1, 2*]

1. 天津中医药大学中药学院，天津　300193
2. 天津市现代中药重点实验室，天津　300193

摘　要：目的　考察延胡索乙素（tetrahydropalmatine，THP）对映体对人肝微粒体中主要细胞色素 P450 酶（cytochrome P450，CYP450）的抑制作用及其机制。**方法**　采用 Cocktail 探针药物法分别考察左旋延胡索乙素［(−)-tetrahydropalmatine，(−)-THP］和右旋延胡索乙素［(+)-tetrahydropalmatine，(+)-THP］对人肝微粒体中主要 I 相药物代谢酶 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP3A4、CYP2E1 和 CYP2D6 活性的影响；采用两步孵育法考察 (−)-THP 对人肝微粒体中 CYP2D6 的底物右美沙芬脱甲基活性的影响，研究其对 CYP2D6 的抑制机制；采用时间依赖性实验考察 (−)-THP 对 CYP2D6 的酶动力学参数。**结果**　(+)-THP 对 CYP450 各亚型无明显抑制作用，而 (−)-THP 对 CYP2D6 的抑制作用强（IC_{50}＝0.46 μmol/L）；在加或不加 NADPH［(+)NADPH/(−)NADPH］预孵育体系中，(−)-THP 对 CYP2D6 的 IC_{50} 值分别为 2.40、0.46 μmol/L，即 $IC_{50(-)NADPH}/IC_{50(+)NADPH}$＝5.22；(−)-THP 对 CYP2D6 的酶动力学参数 K_i 和 K_{inact} 分别为 0.690 μmol/L 和 0.084 6 min^{-1}。**结论**　(−)-THP 对 CYP2D6 的抑制作用强，抑制类型为基于机制抑制（MBI），提示在临床应用中需注意 (−)-THP 可能引起显著的代谢性药物相互作用。

关键词：左旋延胡索乙素；右旋延胡索乙素；细胞色素 P450；人肝微粒体；基于机制抑制

中图分类号：R285.61　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2015)04 - 0534 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.014

Inhibitory mechanism of tetrahydropalmatine enantiomers on cytochrome P450 in human liver microsomes

YAN Jing-jing[1], FENG Shan[1], HE Li-na[1], HE Xin[1, 2]

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective　To investigate the inhibition of tetrahydropalmatine (THP) enantiomers on main cytochrome P450 (CYP450) in human liver microsomes and the mechanism. **Methods**　The effects of (−)-THP and (+)-THP on the activies of main phase I metabolic enzymes in human liver microsomes, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A1, CYP2E1, and CYP2D6 were investigated using Cocktail probe drugs method; The effect of preincubation with (−)-THP on the CYP2D6 substrate dextromethorphan demethylation activity in human liver microsomes were investigated using a two-step incubation scheme and study its inhibitory mechanism was studied; The enzyme inhibitory kinetic parameters of CYP2D6 by (−)-THP were investigated using time-dependent incubation with human liver microsomes. **Results**　The inhibitory effect of (+)-THP on CYP450 subtype was not significant, while.CYP2D6 activity was significantly inhibited by (−)-THP (IC_{50} = 0.46 μmol/L). The value of IC_{50} preincubation with or without NADPH were 2.40 and 0.46 μmol/L, respectively, $IC_{50\ (-)\ NADPH}$ / $IC_{50\ (+)\ NADPH}$ = 5.22. And the enzyme inhibitory kinetic parameters of K_i and K_{inact} were 0.690 μmol/L and 0.084 6 min^{-1}, respectively. **Conclusion**　(−)-THP has a strong inhibition on CYP2D6, and the type of inhibition is mechanism-based inhibiton (MBI), which should indicate a potential metabolic drug-drug interaction mediated by (−)-THP in clinical application.

Key words: (−)-tetrahydropalmatine; (+)-tetrahydropalmatine; cytochrome P450; human liver microsomes; mechanism-based inhibition

收稿日期：2014-06-08

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81373890）；教育部高等学校博士学科专项科研基金（20121210110011）；教育部“创新团队发展计划”（IRT_14R41）

作者简介：颜晶晶（1988—），女，硕士研究生，主要研究方向为药动学。E-mail: yanjing5334@126.com

***通信作者**　何　新，教授，博士生导师。E-mail: hexintn@163.com

细胞色素 P450（cytochrome P450，CYP450）酶是肝脏中重要的 I 相药物代谢酶，在外源性及内源性物质的生物转化过程中发挥着重要作用。CYP450 酶活性的改变会直接影响经其代谢的药物的药效和用药安全性。药物主要通过 3 种机制改变 CYP450 酶的活性：可逆性抑制（reversible inhibition）、基于机制抑制（mechanism-based inhibition，MBI）和诱导（induction）[1]。MBI 是指药物经 CYP450 酶代谢生成代谢产物，该代谢产物与 CYP450 酶的活性中心结合，从而抑制 CYP450 酶的活性[2]。通过 MBI 介导的药酶抑制剂能够较长时间抑制 CYP450 酶的活性，可能引起严重的药物-药物相互作用（drug-drug interaction，DDI）[3]，因此基于 MBI 的药酶抑制类型及其机制研究有助于预测药物在体内潜在的 DDI，对中药多成分及其配伍合理性研究具有重要意义。

延胡索乙素（tetrahydropalmatine，THP）是罂粟科多年生草本植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的主要活性成分，具有显著的镇痛、镇静、催眠、抗心律失常、抗肿瘤等药理作用[4-9]。THP 在临床上用于治疗痉挛性疼痛、痛经、癌症疼痛等[10]。THP 分子结构中有一个手性中心，分为左旋延胡索乙素［(−)-tetrahydropalmatine，(−)-THP］和右旋延胡索乙素［(+)-tetrahydropalmatine，(+)-THP］。由于药物是通过与体内的某些靶分子之间严格的手性匹配和分子识别而发挥药理作用，并以不同的途径被吸收、活化或者降解，从而导致对映体药物在体内的药理活性、代谢过程存在显著差异。正如 THP 对映体的药理活性不尽相同，(−)-THP 阻断中枢神经系统的多巴胺受体，(+)-THP 则是选择性的多巴胺受体耗竭剂，因此 (−)-THP 比 (+)-THP 的止痛作用更强[11]。(−)-THP 又名罗通定，有良好的止痛作用，已在临床应用 40 多年[12]。还有研究表明，由于 (−)-THP 对中枢神经系统的多巴胺受体有阻断作用，可以治疗药物成瘾性[13]。可见对手性药物对映体的深入研究与评价，有助于临床安全、有效、合理用药。

在 THP 代谢研究方面，THP 对重组人 CYP2D6 有较强的抑制作用［IC_{50} 为（3.04±0.26）μmol/L］，对重组人 CYP3A4 有一定的抑制作用［IC_{50} 为（41.5±3.8）μmol/L］[14]；大鼠连续 ig THP（100 mg/kg）7 d 后，THP 对 CYP1A2 的酶活性有抑制作用，对 CYP3A4、CYP2E1 和 CYP2C9 酶活性有诱导作用[15]。而 THP 对映体有立体选择性代谢行为。如 THP 对映体在大鼠肝微粒体中主要被 CYP3A1/2 和 CYP1A2 代谢，CYP3A1/2 对 (+)-THP 的代谢能力更强，而 CYP1A2 对 (−)-THP 的代谢能力更强[16]；THP 对映体在人肝微粒体中主要被 CYP3A4 和 CYP1A2 代谢，但 CYP1A2 对 (+)-THP 的代谢能力强于 (−)-THP，(−)-THP 对 CYP2D6 的酶活性有抑制作用[10]。然而，THP 对映体对人肝微粒体中主要的 I 相药物代谢酶的抑制类型及其机制尚不清楚。本研究应用 Cocktial 探针药物法考察 THP 对映体对人肝微粒体中 CYP450 酶活性的影响，应用人肝微粒体两步孵育法研究其对 CYP450 酶的抑制机制，应用时间依赖性实验考察其对 CYP450 酶的酶动力学参数，旨在阐明 THP 对映体对 CYP450 酶的抑制类型及其机制。

1 材料

1.1 仪器

液质联用系统（API 4000 Qtrap，SER. N：AR26221101，岛津 LC-20AD 泵；SIL-20AC 恒温自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 控制器，ESI 离子源；Analyst Software 1.5.2 色谱工作站，美国应用生物系统公司）；ALLEGRA-64R 高速离心机（美国 BECKMAN 公司）；WH-3 微型旋涡混合仪（上海沪西分析仪器厂有限公司）；AX205 十万分之一天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）；DKB-501A 型超级恒温水槽，上海精宏实验设备有限公司。

1.2 药品与试剂

(−)-THP、(+)-THP、非那西丁（phenacetin，PHE）、对乙酰氨基酚（paracetamol，PAR）、甲苯磺丁脲（tolbutamide，TOL）、4-羟基甲苯磺丁脲（4-hydroxytolbutamide，OHTOL）、右美沙芬（dextromethorphan，DEXM）、去甲右美沙芬（dextrorphan，DEXP）、咪达唑仑（midazolam，MDZ）、1-羟基咪达唑仑（1-hydroxymidazolam，OHMDZ）、氯唑沙宗（chlorzoxazone，CHL）、6-羟基氯唑沙宗（6-hydroxychlorzoxazone，OHCHL）、美芬妥因（mephenytoin，MEP）、4-羟基美芬妥因（4-hydroxymephenytoin，OHMERP）、卡马西平（内标）均购自中国食品药品检定研究院；还原型辅酶 II（NADPH）和二甲基亚砜（DMSO）购自于美国 Sigma 公司；人肝微粒体，购自瑞德肝脏疾病研究（上海）有限公司，批号 SUBK；甲醇、乙腈为色谱纯，购于天津康科德科技发展有限公司；其他溶剂

和化学试剂均为分析纯或以上。

2 方法

2.1 THP 对映体对人肝微粒体 CYP450 酶活性的影响

2.1.1 Cocktail 探针药物法的建立 根据文献报道方法[17]，本实验室对其方法进行了改进[18]，其中 CYP1A2 的底物为 PHE，CYP2C9 的底物为 TOL，CYP2C19 的底物为 MEP，CYP3A4 的底物为 MDZ，CYP2E1 的底物为 CHL，CYP2D6 的底物为 DEXM。色谱柱为 Agilent Zorbax XDB-C_{18}（50 mm×2.1 mm，3.5 μm，SN：USHP004037）；进样量 10 μL；检测波长 280 nm；体积流量 0.45 mL/min；流动相为 0.1%甲酸（A）-甲醇（B），梯度洗脱程序：0～0.5 min，98% A；0.5～1 min，98%～2% A；1～2.5 min，2% A；2.5～2.51 min，2%～98% A；2.51～4.0 min，98% A。离子源：电子轰击式离子源（ESI）；气帘气体为 137.9 kPa（20 psi）；离子喷射电压（IS）：5 000 V（ESI^+）、−4 200 V（ESI^-）；源内气体 1（Gas 1）和源内气体 2（Gas 2）分别为 379.225 kPa（55 psi）和 344.75 kPa（50 psi），离子源温度为 550 ℃。待测成分和内标的质谱检测参数见表 1。

表 1 CYP450 酶各亚型代谢产物和内标卡马西平的质谱检测参数

Table 1 MS parameters for CYP450 enzyme metabolites of each subtype and internal standard carbamazepine

被测物质	扫描方式	定量离子 (*m/z*)	子离子 (*m/z*)
PAR（CYP1A2）	ESI^+	152.1	110.1
DEXP（CYP2D6）	ESI^+	258.1	199.1
OHMDZ（CYP3A4）	ESI^+	342.1	203.1
OHMERP（CYP2C19）	ESI^+	235.1	150.1
OHTOL（CYP2C9）	ESI^-	284.8	185.7
OHCHL（CYP2E1）	ESI^-	184.2	120.0
卡马西平（内标）	ESI^+	237.1	194.1

2.1.2 人肝微粒体孵育反应 所有的孵育反应均在 37 ℃水浴上进行。预孵育体系的总体积为 200 μL，包含 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液（pH 7.4），2 mg/mL 人肝微粒体蛋白，(−)-THP（终浓度 50、5 μmol/L）或 (+)-THP（终浓度 50、5 μmol/L），在加入 NADPH［(+)NADPH］1 mmol/L 或者不加入 NADPH［(−)NADPH］（用同等体积的 PBS 代替）的情况下分别预孵育 30 min。然后对预孵育 30 min 的样品进行 10 倍稀释，即取 20 μL 预孵育样品加入到含有 100 μL NADPH（1 mmol/L）和 80 μL 混合探针底物［PHE、TOL、DEXM、CHL、MDZ、MEP（10、100、2.5、20、5、20 μmol/L）］的体系中，孵育 15 min 后，加入 400 μL 冰甲醇（含有内标卡马西平，75 ng/mL）终止反应。10 000×*g* 离心 5 min，取上清液，应用本实验室建立的 Cocktail 探针药物法定量分析相应的 6 种代谢产物 PAR、OHTOL、DEXP、OHCHL、OHMDZ、OHMERP。

2.2 (−)-THP 对人肝微粒体 CYP2D6 抑制机制研究

2.2.1 LC-MS/MS 法测定 DEXM 的代谢产物（DEXP） 色谱柱为 Agilent Zorbax XDB-C_{18}（50 mm×2.1 mm，3.5 μm，SN：USHP00403 7）；进样量 10 μL；体积流量 0.5 mL/min；流动相为 0.1%甲酸（A）-甲醇（B），梯度洗脱程序：0～0.8 min，90% A；0.8～1.3 min，90%～2% A；1.3～2.5 min，2% A；2.5～2.51 min，2%～90% A；2.51～4.0 min，90% A。离子源：电子轰击式离子源（ESI）；气帘气体为 103.425 kPa（15 psi）；离子喷射电压（IS）：5 000 V（ESI^+）；源内气体 1（Gas 1）和源内气体 2（Gas 2）分别为 379.225 kPa（55 psi）和 344.75 kPa（50 psi），离子源温度为 500 ℃。待测成分 DEXP 和内标的质谱检测参数见表 1。

2.2.2 人肝微粒体孵育反应 所有的孵育反应均在 37 ℃水浴上进行。预孵育体系的总体积为 100 μL，包含 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.4），2 mg/mL 人肝微粒体蛋白，(−)-THP（终浓度 0、0.027 4、0.082 3、0.246 9、0.740 7、2.222 1、6.666 7、20.000 0 μmol/L），在 (+)-NADPH 1 mmol/L 或者 (−)NADPH（用同等体积的 PBS 代替）的情况下预孵育 30 min。然后对预孵育的样品进行 10 倍的稀释，即取 20 μL 预孵育样品加入到含有 100 μL NADPH（1 mmol/L）和 80 μL DEXM（5 μmol/L）的体系中，孵育 15 min 后，加入 400 μL 冰甲醇（含有内标卡马西平，75 ng/mL）终止反应。10 000 × *g* 离心 5 min，取上清，用 LC-MS/MS 法定量分析 DEXP。

2.3 (−)-THP 对人肝微粒体 CYP2D6 的时间依赖性抑制研究

所有的孵育反应均在 37 ℃水浴上进行。预孵育体系的总体积为 100 μL，包含 0.1 mol/L 的 PBS（pH 7.4），2 mg/mL 人肝微粒体蛋白，(−)-THP（终浓度 0、0.25、5、10 μmol/L），1 mmol/L NADPH，预孵育 0、2、4、8、16、30 min。对预孵育的样品

进行 10 倍稀释，即取 20 μL 预孵育样品加入到含有 100 μL NADPH（1 mmol/L）和 80 μL DEXM（50 μmol/L）的体系中，孵育 15 min 后，加入 400 μL 冰甲醇（含有内标卡马西平，75 ng/mL）终止反应。10 000 ×g 离心 5 min，取上清，用 LC-MS/MS 法定量分析 DEXP。

2.4 数据处理

代谢速率（v）计算公式：$v=(V_{孵育}\times C_{产物})/(V_{孵育}\times C_{肝微粒体})$，其中 $V_{孵育}$为孵育体系的体积；$C_{产物}$为测定的代谢产物浓度；$C_{肝微粒体}$为孵育体系中人肝微粒体蛋白的质量浓度。代谢速率百分数（relative activity，RA）计算公式：$RA=v_{药物}/v_{对照}$，其中 $v_{药物}$和 $v_{对照}$分别为加入受试药物的代谢速率及未加入受试药物的代谢速率；抑制百分数（inhibition percent，IP）计算公式：IP＝100－RA。

通过 GraphPad Prism version 5.0（GraphPad software Inc，CA，美国）软件拟合出药物对酶活性的 IC_{50} 值。根据文献报道[19]，获得酶抑制动力学参数。K_{obs} 为抑制剂浓度为 [I] 时的抑制速率常数，K_{inact} 为最大抑制速率常数，K_i 为最大抑制速率常数一半时的抑制剂浓度，K_i 值越小，表明药物对酶的抑制能力越强。$P<0.05$ 表明经统计学分析有显著性差异。

$$1/K_{obs}=K_i/K_{inact}\times 1/[I]+1/K_{inact}$$

3 结果

3.1 THP 对映体对人肝微粒体 CYP450 酶的抑制作用

实验结果表明，(−)-THP 体外对人肝微粒体 CYP2D6 有明显的抑制作用，并表现出一定的浓度依赖性（图 1）。未加入 NADPH 预孵育组，(−)-THP 在 50、5 μmol/L 对 CYP2D6 的 IP 分别为 53.27%、26.80%；加入 NADPH 预孵育组，(−)-THP 在 50、5 μmol/L 对 CYP2D6 的 IP 分别为 87.38%、71.30%。可以看出，在加入 NADPH 预孵育后，(−)-THP 对 CYP2D6 的抑制能力明显增强，且(−)-THP 代谢产物的抑制能力明显大于 (−)-THP，预测 (−)-THP 对 CYP2D6 可能是 MBI[19]。(+)-THP 体外对人肝微粒体 CYP2C9、CYP1A2、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4 和 CYP2C19 的抑制作用均不明显（图 2）。

3.2 (−)-THP 对人肝微粒体 CYP2D6 抑制机制

根据文献报道[1,20]，研究抑制剂对 CYP450 酶的抑制机制是否为 MBI，主要通过(+)NADPH 或(−)NADPH 分别预孵育后，该抑制剂对 CYP450 酶 IC_{50} 值的变化进行判断。若 (+)NADPH 或(−)NADPH 预孵育后 IC_{50} 值无差异变化，则表明其抑制类型为直接抑制，即该抑制剂本身直接抑制 CYP450 酶的活性；反之，若 IC_{50} 值显著改变（$IC_{50(-)NADPH}/IC_{50(+)NADPH}>3$），则表明其抑制类型为 MBI，即该抑制剂通过产生的代谢产物抑制 CYP450 酶的活性。如图 3 所示，(+)NADPH 预孵育时，(−)-THP 对 CYP2D6 的抑制曲线有明显的左移现象；(−)NADPH、(+)NADPH 预孵育后 (−)-THP 对 CYP450 酶的 IC_{50} 值分别为（2.40±0.12）、（0.46±0.15）μmol/L（$P<0.05$，配对 t 检验），$IC_{50(-)NADPH}/IC_{50(+)NADPH}$ 比值为 5.22，表明 (−)-THP 对 CYP2D6 的抑制类型为 MBI。

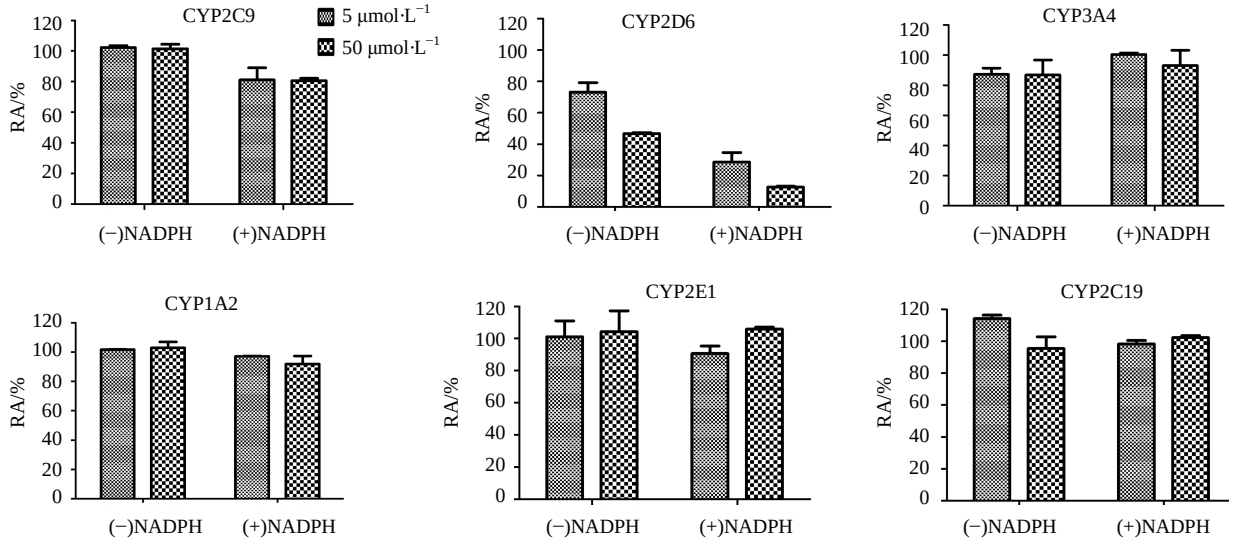

图 1 (−)-THP 对 6 种 CYP450 酶各亚型酶活性的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Fig. 1 Effect of (−)-THP on enzyme activities of six kinds of CYP450 in each subtype ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

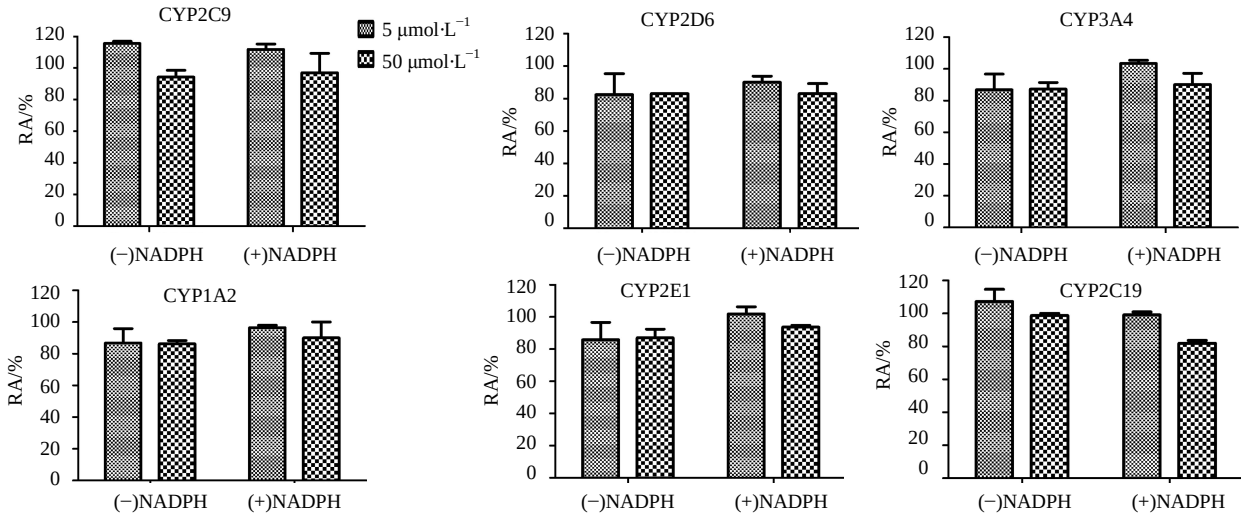

图 2　(+)-THP 对 6 种 CYP450 酶各亚型酶活性的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Fig. 2　Effect of (+)-THP on enzyme activities of six kinds of CYP450 in each subtype ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

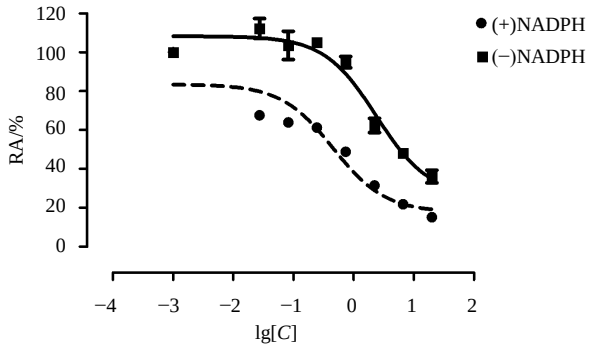

图 3　(−)-THP 对 CYP2D6 的抑制曲线（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Fig. 3　Inhibition curve of (−)-THP on CYP2D6 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

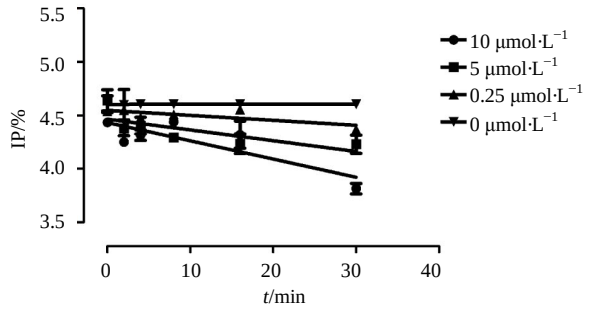

图 4　(−)-THP 对 CYP2D6 的时间依赖性抑制作用

Fig. 4　Time-dependent inhibition of (−)-THP on CYP2D6

3.3　(−)-THP 对人肝微粒体 CYP2D6 的时间依赖性抑制作用

为了进一步研究 (−)-THP 对人肝微粒体 CYP2D6 的抑制特性，进行了时间依赖性研究。结果见图 4，各直线的负斜率为不同浓度下的 K_{obs}，随着抑制剂 (−)-THP 浓度的增加，K_{obs} 随之增加。在 (−)-THP 浓度为 0 μmol/L 时，K_{obs} 接近为零，进行双倒数作图，求得酶抑动力学参数 K_i 和 K_{inact} 分别为 0.690 μmol/L、0.084 6 min^{-1}。

4　讨论

临床使用的药物中很多为手性药物的外消旋体。在生物体内，药物将处于由生物大分子构成的高度复杂的手性环境中。药物在体内吸收、分布、代谢、排泄过程中大多涉及到与这些生物大分子的相互作用，导致对映体药物在体内的药理活性、代谢过程、药物相互作用等方面存在显著差异。由药物代谢引起的 DDI 发生率较高，药物对 CYP450 酶的抑制作用已经成为最常见的导致严重 DDI 原因之一[21-22]。

MBI 介导的药酶抑制剂能够与细胞内或者线粒体蛋白形成共价键结合，与其他药物联合应用时会产生 DDI，严重者甚至引起药物性肝损伤[23-24]。例如咪拉地尔是钙通道阻滞剂，是 CYP3A4 的 MBI 抑制剂，由于其在临床上与他汀类药物、调血脂药物联合应用时产生严重的 DDI，1988 年在美国市场上撤销[25]；帕罗西汀是选择性 5-羟色胺抑制剂，广泛应用于抗抑郁症，是 CYP2D6 的 MBI 抑制剂，其对 CYP2D6 的酶抑动力学参数 K_i 和 K_{inact} 分别为 4.84 μmol/L 和 0.17 min^{-1}，在临床应用过程中引起急性肝炎[26-27]。有文献报道 (−)-THP 在临床应用上有毒副作用，例如儿童应用会出现抑制神经中枢、呼吸系统等毒副作用，成年人常规应用会引起急性或者慢性肝炎[28-29]。健康志愿者单次口服 (−)-THP 60 mg 后血浆中 (−)-THP 的达峰浓度（C_{max}）为

1.12 μmol/L（397.7 μg/L）；单次口服 (−)-THP 50 mg 后血浆中 (−)-THP 的 C_{max} 为 0.85 μmol/L（300 ng/mL）[30-31]。本研究结果显示，(−)-THP 对 CYP2D6 的抑制机制是 MBI，酶抑动力学参数 K_i 和 K_{inact} 分别为 0.69 μmol/L 和 0.08 min^{-1}，提示 (−)-THP 可能是比帕罗西汀更强的 CYP2D6 的 MBI 抑制剂，其潜在的临床 DDI 不容忽视；并且 (−)-THP 在人体中的血药浓度可能已达到抑制CYP2D6酶活性水平（成人常用量：一次 30～60 mg，3 次/d），因此推测 (−)-THP 对肝脏的毒副作用机制很可能与其对 CYP2D6 的 MBI 有关，提示在临床 (−)-THP 的应用中，应强烈关注其与 CYP2D6 的底物、抑制剂或者诱导剂同时使用诱发潜在 DDI 的可能性。

参考文献

[1] Venkatakrishnan K, Obach R S, Rostami-Hodjegan A. Mechanism-Based inactivation of human cytochrome P450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions [J]. *Xenobiotica*, 2007, 37(10/11): 1225-1256.

[2] Watanabe A, Nakamura K, Okudaira N, *et al*. Risk assessment for drug-drug interaction caused by metabolism-based inhibition of CYP3A using automated *in vitro* assay systems and its application in the early drug discovery process [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(7): 1232-1238.

[3] Nishiya Y, Hagihara K, Ito T, *et al*. Mechanism-based inhibition of human cytochrome P450 2B6 by ticlopidine, clopidogrel, and the thiolactone metabolite of prasugrel [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(3): 589-593.

[4] Gao J L, He T C, Li Y B, *et al*. A traditional Chinese medicine formulation consisting of *Rhizoma corydalis* and *Rhizoma Curcumae* exertssynergistic anti-tumor activity [J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(5): 1077-1083.

[5] Choi J G, Kang S Y, Kim J M, *et al*. Antinociceptive Effect of *Cyperi rhizoma* and *Corydalis* tuber extracts on neuropathic pain in rats [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2012, 6(6): 387-392.

[6] Ling H, Wu L, Li L. *Corydalis* yanhusuo rhizoma extract reduces infarct size and improves heart function during myocardial ischemia/reperfusion by inhibiting apoptosis in rats [J]. *Phytother Res*, 2006, 20(6): 448-453.

[7] 王 萍, 窦志英, 孙 巍, 等. 延胡索炮制工艺规范 [J]. 天津中医药大学学报, 2009, 28(1): 27-29.

[8] 贺 凯, 高建莉, 赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1909-1912.

[9] 廖正根, 万彦婷, 梁新丽, 等. 延胡索与白芷组分配伍对延胡索乙素在大鼠肝微粒体中酶促反应动力学的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1783-1787.

[10] Sun S Y, Wang Y Q, Li L P, *et al*. Stereoselective interaction between tetrahydropalmatine enantiomers and CYP enzymes in human liver microsomes [J]. *Chirality*, 2013, 25(1): 43-47.

[11] Zhu X Z. Development of natural products as drugs acting on central nervous system [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1991, 86(2): 173-175.

[12] 林庆辉, 庄笑梅, 邓婧婷, 等. 罗通定和羟考酮体外代谢的相互作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(5): 404-410.

[13] Yue K, Ma B, Ru Q, *et al*. The dopamine receptor antagonist levo-tetrahydropalmatine attenuates heroin self-administration and heroin-induced reinstatement in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2012, 102(1): 1-5.

[14] Zhao Y, Hellum B H, Liang A, *et al*. The *in vitro* inhibition of human CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4 by tetrahydropalmatine, neferine and berberine [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(2): 277-283.

[15] 张寅瑛. 四氢原小檗碱同类物手性药代动力学及代谢研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2012.

[16] Zhao M, Li L P, Sun D L, *et al*. Stereoselective metabolism of Tetrahydropalmatine enantiomers in rat liver microsomes [J]. *Chirality*, 2012, 24(5): 368-373.

[17] He F, Bi H C, Xie Z Y, *et al*. Rapid determination of six metabolites from multiple cytochrome P450 probe substrates in human liver microsome by liquid chromatography/mass spectrometry: application to high-throughput inhibition screening of terpenoids [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(5): 635-643.

[18] 马叶涛, 俸 珊, 赵谨怡, 等. 单探针与混合探针底物法在细胞色素酶底物酶促动力学中的比较研究实验研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(4): 206-210.

[19] Obach R S, Walsky R L, Venkatakrishnan K. Mechanism-based inactivation of human cytochrome P450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(2): 246-255.

[20] Grimm S W, Einolf H J, Hall S D, *et al*. The conduct of *in vitro* studies to address time-dependent inhibition of drug-metabolizing enzymes: A perspective of the pharmaceutical research and manufacturers of America [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(7): 1355-1370.

[21] 刘彦卿, 洪燕君, 曾 苏. 代谢性药物-药物相互作用的研究进展 [J]. 浙江大学学报, 2009, 38(2): 215-224.

[22] Sun M, Tang Y, Ding T, *et al*. Inhibitory effects of celastrol on rat liver cytochrome P450 1A2, 2C11, 2D6,

2E1 and 3A2 activity [J]. *Fitoterapia*, 2014, 92: 1-8.

[23] Zhou S F, Chan E, Duan W, *et al*. Drug bioactivation, covalent binding to target proteins and toxicity relevance [J]. *Drug Metab Rev*, 2005, 37(1): 41-213.

[24] Walgren J L, Mitchell M D, Thompson D C. Role of metabolism in drug-induced idiosyncratic hepatotoxicity [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2005, 35(4): 325-361.

[25] Watanabe A, Nakamura K, Okudaira N, *et al*. Risk assessment for drug-drug interaction caused by metabolism-based inhibition of CYP3A using automated *in vitro* assay systems and its application in the early drug discovery process [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(7): 1232-1238.

[26] Pompili M, Tittoto P, Mascianà R, *et al*. Acute hepatitis associated with use of paroxetine [J]. *Intern Emerg Med*, 2008, 3(3): 275-277.

[27] Bertelsen K M, Venkatakrishnan K, Von Moltke L L, *et al*. Apparent mechanism-based inhibition of human CYP2D6 *in vitro* by paroxetine: comparison with fluoxetineand quinidine [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(3): 289-293.

[28] Li L, Ye M, Bi K, *et al*. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the identification of *L*-tetrahydropalmatine metabolites in Penicillium janthinellum and rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2006, 20(1): 95-100.

[29] Wang C, Zhou J, Wang S, *et al*. Shotgun approach based comparative proteomic analysis of levo-tetrahydropalmatine-induced apoptosis in hepatocytes [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 194(1/2): 8-15.

[30] 唐　裕, 余　勤, 南　峰, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定人血浆中罗通定、舒必利浓度 [J]. 质谱学报, 2008, 29(1): 13-17.

[31] 陈　燕, 郝光涛, 高洪志, 等. HPLC-MS/MS 测定人体血浆和尿液中罗通定的浓度 [J]. 中南药学, 2012, 10(4): 279-283.

•封面图片介绍•

苘麻花

苘麻 *Abutilon theophrasti* Medic. 为锦葵科植物，一年生亚灌木状草本，高达 1～2 m。茎枝被柔毛。叶互生；叶柄长 5～12 cm，被星状细柔毛；叶片圆心形，长 5～10 cm，先端长渐尖，基部心形，两面均被星状柔毛，边缘具细圆锯齿。花单生于叶腋。花梗长 1～3 cm，被柔毛，近顶端具节；花萼杯状，密被短绒毛，裂片 5，卵形；花黄色，花瓣倒卵形；雄蕊柱平滑无毛；心皮多数，先端平截，具扩展被毛的长芒 2，排列成轮状，密被软毛。蒴果半球形，直径约 2 cm，分果多数，被星状柔毛。花期 7～8 月，果期 8～9 月。秋季采收成熟果实，晒干。

其种子具有药用价值。苘麻子性平，味苦，可清热利湿、解毒、退翳，用于赤白痢疾、淋病涩痛、痈肿目翳等。其含有脂肪油，油中主成分为亚油酸、亚麻酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸等成分。