

· 药物代谢 ·

## UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术鉴定石斛碱在人肝微粒体中的代谢产物

鲁艳柳, 黄思, 汪敏, 邱敏, 吴芹, 陆远富\*, 何芋歧\*

(遵义医学院 基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义 563099)

**[摘要]** 目的:通过 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术对石斛碱在人肝微粒体中的主要代谢产物进行鉴定与分析。方法:运用人肝微粒体体外温孵法,模拟细胞色素 P450 酶(CYP450)及尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶(UGT)酶反应体系,采用 Thermo Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统分析,Hypersil Gold C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 1.9 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱,流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,电喷雾离子源(ESI)正离子模式检测。结果:通过精确相对分子质量和二级碎片离子信息,鉴定了石斛碱在人肝微粒体中 I 相代谢的 4 个主要代谢产物,依次标记为 M-250 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 250.1801), M-262 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 262.1800), M-280 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 280.1906), M-296 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 296.1856),以及 II 相代谢的 1 个主要代谢产物,标记为 M-440 ([M]<sup>+</sup> m/z 440.2278)。结论:所建立的 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 测定人肝微粒体中石斛碱及其代谢产物的方法灵敏、快捷,可应用于石斛碱在人肝微粒体中的代谢研究,同时为石斛碱的药物代谢动力学研究提供了实验依据。

**[关键词]** 石斛碱; 金钗石斛; 人肝微粒体; 体外代谢; 石斛胺; II 相代谢

**[中图分类号]** R969.1;R284;R945;R283.6;R458+.9;O657.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0072-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040072

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171127.0846.002.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-27 8:46

## Identification of Metabolites of Dendrobine in Human Liver Microsomes by UPLC/LTQ-Orbitrap-MS

LU Yan-liu, HUANG Si, WANG Min, QIU Min, WU Qin, LU Yuan-fu\*, HE Yu-qi\*

(Key Laboratory of Basic Pharmacology and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine, Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for structural identification of the metabolites of dendrobine in the human liver microsome incubation system for the first time by UPLC/LTQ-Orbitrap-MS. **Method:** UPLC/LTQ-Orbitrap-MS was applied to systemically analyze the dendrobine metabolism in the liver microsomes of human. Chromatography separation was performed on a Thermo Hypersil Gold C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 150 mm, 1.9 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase in gradient elution. Electrospray ionization (ESI) was applied and operated in positive ion mode. **Result:** Four major metabolites in phase I metabolism and one major metabolites in phase II metabolism of dendrobine marked as M-250 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 250.1801), M-262 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 262.1800), M-280 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 280.1906), M-296 ([M + H]<sup>+</sup> m/z 296.1856)

**[收稿日期]** 20170810(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81402985,81560673,81660685);贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2015]2158 号,黔科合 JZ 字[2015]2010 号);贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合 KY 字[2015]373 号);贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题

**[第一作者]** 鲁艳柳,博士,副教授,从事药物代谢与毒理学研究,Tel:0851-28642303,E-mail:Yanliu.lu@foxmail.com

**[通信作者]** \*何芋歧,博士,副教授,从事药物分析与系统生物学研究,Tel:0851-28642303,E-mail:HyqJeff@hotmail.com;

\*陆远富,博士,教授,从事药物代谢与毒理学研究,Tel:0851-28642303,E-mail:luyuanfu2000@163.com

and M-440 ( $[M]^+ m/z$  440, 227 8) were observed in the human liver microsomes incubation system. **Conclusion:** This study introduces a sensitive and efficient analysis method for detecting dendrobine and its metabolites in human liver microsomes, and it lays a foundation for the further analysis on the pharmacokinetic research of dendrobine.

**[Key words]** dendrobine; *Dendrobium nobile*; human liver microsomes; *in vitro* metabolism; dendramine; phase II metabolism

金钗石斛 *Dendrobium nobile* 为兰科石斛属多年生附生草本植物,又名扁金钗、金钗石、扁黄草、扁草等<sup>[1]</sup>,主产于贵州、四川、广西、云南等地,始载于《神农本草经》,列为上品,《本草纲目》称其“强阴益精、厚肠胃、补内伤不足、轻身延年”,素有“千金草”之称<sup>[2]</sup>,是 2015 年版《中国药典》明确规定的药用石斛的植物来源,具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳、明目强身等功效<sup>[3]</sup>。现代药理学研究表明,总生物碱是金钗石斛的主要活性成分,具有止痛、解热作用,可以降低心率、血压,减慢呼吸,且能缓解巴比妥引起的中毒<sup>[4]</sup>,还具有降血糖<sup>[5]</sup>、抗白内障<sup>[6]</sup>、抗肿瘤<sup>[7]</sup>、降低细胞凋亡<sup>[8]</sup>、抗氧化<sup>[9]</sup>和抗老年痴呆<sup>[10]</sup>等作用。而石斛碱是金钗石斛总生物碱中最主要的特征性成分<sup>[2,4]</sup>,开发与应用前景相当广阔。目前,尚未见有文献对石斛碱的代谢进行研究报道。

由于含有大量与药物代谢密切相关的重要酶系,肝脏成为机体中参与代谢药物的重要器官。其中,最主要的 I 相反应酶是细胞色素 P450 酶 (CYP450)<sup>[11]</sup>,最重要的 II 相生物转化酶之一是尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶<sup>[12]</sup>,而肝微粒体是研究这两类肝内代谢酶最为常用也是最为有效的体外研究手段。故本实验采用人肝微粒体体外温孵法,在反应体系中加入相应的辅因子(辅因子生成系统),模拟生理温度、环境,进行石斛碱体外代谢研究。通过超高效液相色谱串联四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统 (UPLC/LTQ-Orbitrap-MS) 鉴定石斛碱在人肝微粒体中的代谢产物,并对其在正离子模式下可能的裂解途径进行推测,为石斛碱的后续药代动力学研究提供实验依据。

## 1 材料

Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统和 Mass Frontier 7.0 软件分析系统(美国 Thermo Fisher 科技公司),UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪(美国戴安公司),Genius 1022 型液氮发生器(英国 Peak 公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司),XS205 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),XW-80A 型漩涡混合仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司),Microfuge 20R 型高速离心

机(美国贝克曼库尔特有限公司),STW-FT24 型制冰机(日本三洋公司)。

混合人肝微粒体(批号 SUBK,  $n = 11$ , 男性健康蒙古利亚人种,平均年龄 28 岁)购自瑞德肝脏疾病研究(上海)有限公司,符合遵义医学院人体试验伦理委员会的伦理学标准,以特异性探针底物的代谢评价肝微粒体酶的活性,结果与文献报道一致<sup>[13]</sup>; D-葡萄糖-6-磷酸二钠盐水合物(G-6-P),葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD), $\beta$ -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸钠盐( $\beta$ -NADP),丙甲菌素,尿苷[5']二磷酸[1]- $\alpha$ -D-葡萄糖醛酸三钠盐(UDPGA)(美国 Sigma-Aldrich 化学制品有限公司,批号分别为 0003671996, 0009001405, 0001184163, A5361-500UL, U6751-1G);石斛碱(北京华迈科生物技术有限责任公司,批号 D990100,质量分数  $\geq 99.0\%$ ),乙腈、甲醇、甲酸均为质谱级,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 实验分组** 人肝微粒体温孵实验中, I 相和 II 相代谢反应分别将人肝微粒体分为 3 组,依次为实验组、阴性组、空白组。其中,实验组为含石斛碱的标准孵育体系,阴性组的孵育体系中不含起始因子,而空白组的孵育体系中不含石斛碱,每组 3 份,平行 3 次。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量石斛碱对照品置于量瓶中,加适量甲醇使溶解并定容至刻度,得  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液。

### 2.3 人肝微粒体体外温孵试验

**2.3.1 I 相代谢试验** 选择细胞色素 P450 酶 (CYP450) 酶系孵育体系 ( $100 \mu\text{L}$ ) 为肝微粒体 ( $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), G-6-P (浓度  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), G-6-PD ( $1 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $\beta$ -NADP ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $\text{MgCl}_2$  (浓度  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 磷酸盐缓冲液 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4), 石斛碱 ( $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温孵育 45 min, 反应完成后加入乙腈  $100 \mu\text{L}$  终止反应。离心 ( $20\,000 \times g$ ,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , 10 min, 下同), 取上清液  $50 \mu\text{L}$  进行测定。

**2.3.2 II 相代谢试验** 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶 (UGT) 酶系孵育体系 ( $200 \mu\text{L}$ ) 为肝微粒体

( $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 丙甲菌素 ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mgpro}^{-1}$ ), UDPGA ( $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐 (Tris-HCl,  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4),  $\text{MgCl}_2$  ( $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 石斛碱 ( $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温孵育 45 min, 反应完成后加入乙腈  $200 \mu\text{L}$  终止反应。离心后取上清液  $100 \mu\text{L}$  进行测定。

**2.4 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 的分析条件** 色谱条件为 Hypersil Gold C<sub>18</sub> 色谱柱 ( $2.1 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ ,  $1.9 \mu\text{m}$ ), 流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 ( $0 \sim 0.5 \text{ min}$ , 5% B;  $0.5 \sim 15 \text{ min}$ , 5% ~ 95% B;  $15 \sim 17 \text{ min}$ , 95% B), 流速  $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 进样量  $5 \mu\text{L}$ 。质谱条件为采用加热型电喷雾离子源 (HESI), 雾化温度  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ , 离子传输管温度  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , 鞘气流速 35 arb, 辅助气流速 15 arb, 喷雾电压 3.5 kV, 碰撞电压 30, 40, 50 eV,  $m/z$  检测范围  $100 \sim 1500$ , 扫描模式 full scan/targeted-ddMS<sup>2</sup>/正离子扫描, 分辨率采用 MS full scan 70 000 半峰宽 (FWHM) 和 MS/MS full scan 15 000 FWHM。

**2.5 数据分析** 石斛碱结构式见图 1, 选择离子图和二级质谱图见图 2, 保留时间 6.43 min, 数据见表 1。由图 2 可知, 该化合物具有  $m/z$  264.195 9 [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup> 峰, 主要碎片离子为  $m/z$  246.185 3, 236.200 1, 218.190 6, 176.143 4, 145.101 1, 133.101 0, 119.085 7, 105.070 1, 裂解规律与文献 [14] 的报道一致。在此基础上, 将实验组样品选择离子流图与空白组、阴性组样品进行比较, 根据保留时间、精确相对分子质量和二级质谱信息进行特征峰的确证, 初步确认了石斛碱在人肝微粒体中 I 相代谢的 4 个主要代谢产物和 II 相代谢的 1 个主要代谢产物。

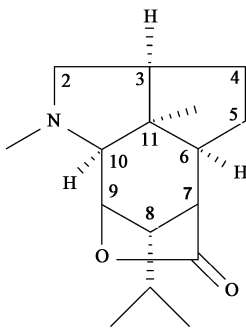


图 1 石斛碱的结构式  
Fig.1 Structure of dendrobine

**2.5.1 I 相代谢试验** 将石斛碱在人肝微粒体中 I 相代谢的 4 个主要代谢产物分别命名为 M-250, M-262, M-280 和 M-296, 选择离子流图见图 3, 数据见表 1。

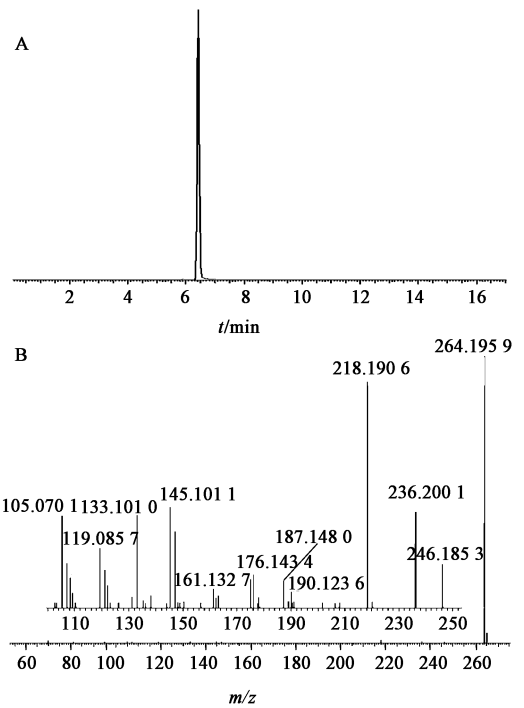


图 2 石斛碱的选择离子 (A) 及二级质谱 (B)  
Fig.2 Selective ion chromatogram (A) and MS/MS spectrum (B) of dendrobine in positive ion mode

表 1 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 正离子模式下石斛碱在人肝微粒体中的代谢产物分析  
Table 1 Data of metabolites of dendrobine in human liver microsomes by UPLC/LTQ-Orbitrap-MS

No.	$t_R/\text{min}$	分子式	$m/z$		$\delta/\text{ppm}$
			测得值	理论值	
石斛碱	6.43	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$	264.195 9	264.195 8	0.378 5
M-250	6.42	$\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_2$	250.180 1	250.180 2	-0.399 7
M-262	5.90	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_2$	262.180 0	262.180 2	-0.762 8
M-280	6.83	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_3$	280.190 6	280.190 7	-0.356 9
M-296	7.14	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	296.185 6	296.185 6	0
M-440	5.99	$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{NO}_8$	440.227 8	440.227 9	-0.227 2

代谢物 M-250 的二级质谱信息见图 4 (A), 具有  $m/z$  250.180 1 [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup> 峰, 比石斛碱 [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup> 峰少 14 Da, 根据精确相对分子质量, 推测分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ 。碎片离子  $m/z$  145.101 2, 133.101 6, 119.085 8, 105.070 1 与石斛碱碎片离子相同, 主要碎片离子  $m/z$  232.170 0 和 204.174 4 分别与石斛碱碎片离子  $m/z$  246.185 3 和 218.190 6 相差 14 Da, 且具有  $m/z$  190.123 4 特征碎片峰, 与文献报道一致 [14-15], 推测代谢物 M-250 可能为石斛碱经氮去甲基反应所得产物, 可能为 mubironine B。代谢物 M-280 的二级质谱信息见图 4 (B), 具有  $m/z$

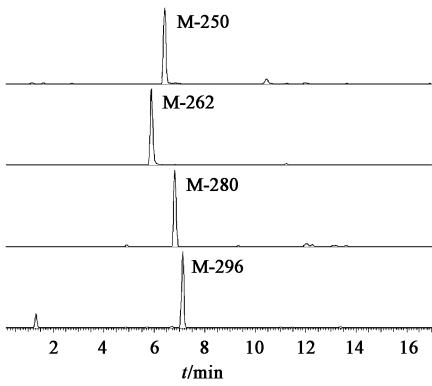
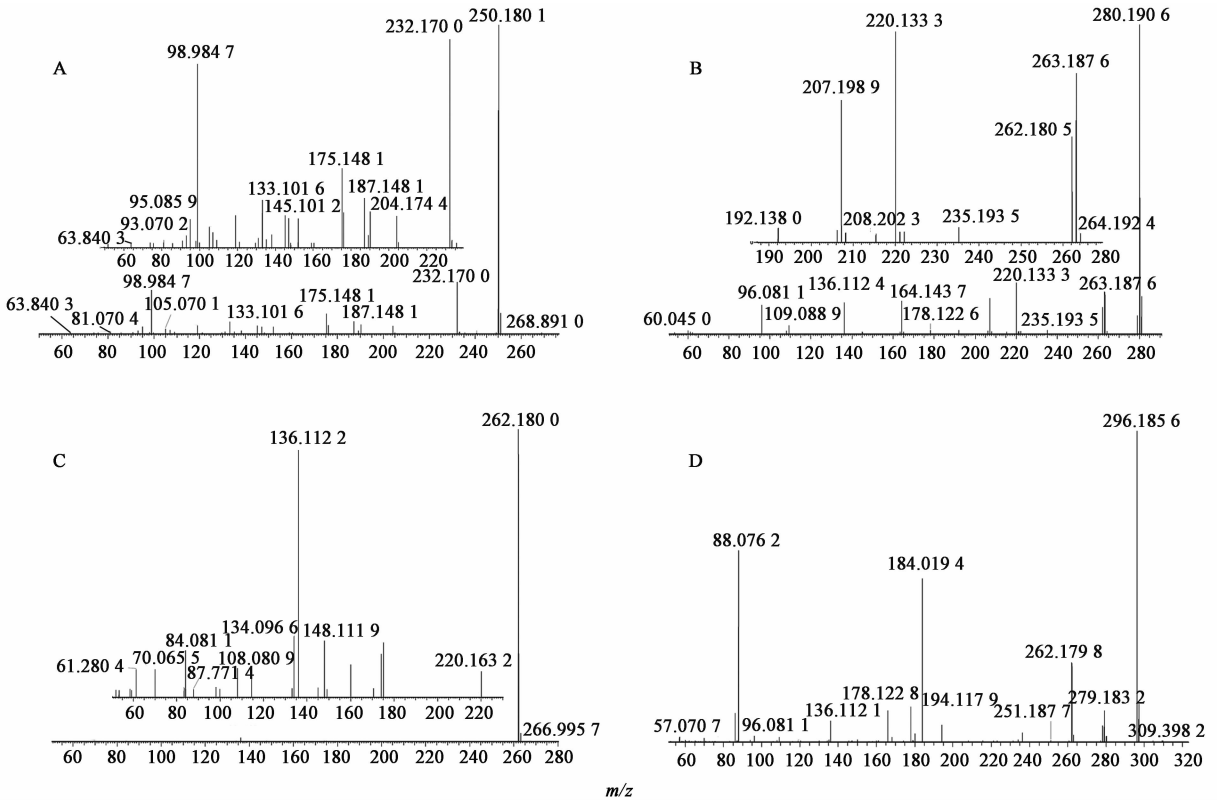


图 3 石斛碱 I 相反应代谢产物的选择离子  
Fig. 3 Selective ion chromatograms of metabolites of dendrobine in phase I reaction

280.190 6  $[M + H]^+$  峰, 比石斛碱  $[M + H]^+$  峰多 16 Da, 根据精确相对分子质量, 推测分子式  $C_{16}H_{25}NO_3$ 。主要碎片离子  $m/z$  262.180 5, 220.133 3, 192.138 0 分别为  $[M + H]^+$  依次脱去 1 个分子  $H_2O$  和  $C_3H_6$ , CO 所得到的碎片离子, 裂解规律和石斛碱一致, 主要碎片离子  $m/z$  263.187 6, 235.193 5,

207.198 9 分别为  $[M + H]^+$  依次脱去 OH, CO 和 CO 所得到的碎片离子, 通过与文献对比<sup>[14,16]</sup>, 推测 M-280 可能为石斛碱经加羟基反应所得产物, 可能为石斛胺。

代谢物 M-262 的二级质谱信息见图 4(C), 具有  $m/z$  262.180 0  $[M + H]^+$  峰, 比石斛碱  $[M + H]^+$  峰少 2 Da, 根据精确相对分子质量, 推测分子式为  $C_{16}H_{23}NO_2$ 。碎片离子  $m/z$  220.163 2 是  $[M + H]^+$  脱去  $C_3H_6$  所得, 特征碎片离子  $m/z$  175.148 1, 148.111 9, 136.112 2, 134.096 6, 84.081 1, 70.065 5 均能表现 C5-C6 为双键。故推测 M-262 可能为石斛碱在 C5-C6 位形成双键所得产物, 即 5-烯-石斛碱。代谢物 M-296 二级质谱信息见图 4(D), 具有  $m/z$  296.185 6  $[M + H]^+$  峰, 比石斛碱  $[M + H]^+$  峰多 32 Da, 根据精确相对分子质量, 推测分子式  $C_{16}H_{25}NO_4$ 。主要碎片离子  $m/z$  279.183 2, 262.179 8 是  $[M + H]^+$  依次脱去 2 个 OH 所得, 故推测 M-296 可能为石斛碱加双羟基所得产物。



A. M-250; B. M-280; C. M-262; D. M-296

图 4 石斛碱 I 相代谢产物的二级质谱

Fig. 4 MS/MS spectra of metabolites of dendrobine in phase I reaction

2.5.2 II 相代谢试验 将石斛碱在人肝微粒体中 II 相代谢的 1 个主要代谢产物命名为 M-440, 见图 5

和表 1。该代谢物碎片离子具有  $m/z$  440.227 8  $[M]^+$  峰, 比石斛碱  $[M + H]^+$  峰多 176 Da, 根据精

确相对分子质量,推测分子式为  $C_{22}H_{34}NO_8$ 。主要碎片离子为  $m/z$  264.195 8,为  $[M]^+$  脱去 1 个分子 GlcA(葡萄糖醛酸)所得到的碎片离子,主要碎片离子  $m/z$  131.034 1,103.038 5 分别与石斛碱碎片离子  $m/z$  133.101 0 和 105.070 1 相差 2 Da,参考文献 [16],推测 M-440 可能为石斛碱氮上加葡萄糖醛酸所得,即 *N*-葡萄糖醛酸石斛碱。

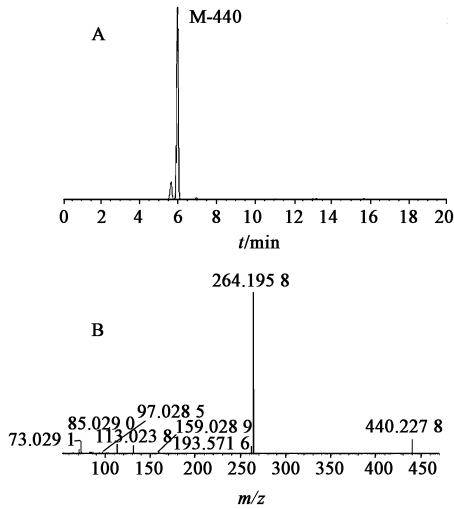


图 5 石斛碱 II 相代谢产物的选择离子 (A) 及二级质谱 (B)  
Fig. 5 Selective ion chromatogram (A) and MS/MS spectrum (B) of metabolites of dendrobine in phase II reaction

### 3 讨论

四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱通过测定各离子的震荡频率,运用傅里叶变换计算质荷比 ( $m/z$ ),其分辨率可达 10 万。采用精确质量数提取获得相应化合物的质谱响应,充分保证了方法的高选择性。本实验采用 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术,基于多重质量亏损方法,在 17 min 内对石斛碱的 5 个 I 相和 II 相代谢主要产物进行分离和鉴定,具有快速灵敏、选择性好、专属性强的优点。

通过模拟 CYP450 酶系反应,发现石斛碱 I 相代谢主要产物为 M-250, M-262, M-280 和 M-296,通过模拟 UGT 酶系反应,发现石斛碱 II 相代谢主要产物为 M-440。M-250 可能是通过氮去甲基反应生成的 mubironine B, M-280 可能是通过加羟基反应生成的石斛胺, M-262 可能是通过形成双键生成的 5-烯-石斛碱, M-296 可能是通过加 2 个羟基反应生成的代谢产物,而 M-440 可能是在氮上结合葡萄糖醛酸产生的 *N*-葡萄糖醛酸石斛碱,见图 6。由于石斛碱结构复杂,结合位点相对较多,其代谢相关的文献报道极少,故代谢物结构需要通过更系统的检测分析进行验证。目前文献报道表明,石斛碱对神经系统

和糖脂代谢的调控具有药理作用<sup>[2,4-5,8-10]</sup>。在神经药理方面,石斛碱经过代谢生成了极性较大的代谢产物,可能会降低其通过血脑屏障的可能性,从而降低其活性。糖脂代谢主要由肝脏核受体调控,核内的脂溶性环境可能也会排斥极性增大的代谢产物。因此,推测石斛碱的代谢可能会降低其上述药理活性。按照经典的途径,葡萄糖醛酸化的代谢产物可能会通过胆汁排泄,在肠道水解掉葡萄糖醛酸后可能会被重吸收,因此,对肠肝循环系统有影响的药物可能会与石斛碱产生药物相互作用。但以上推测均需要进一步的实验证实。

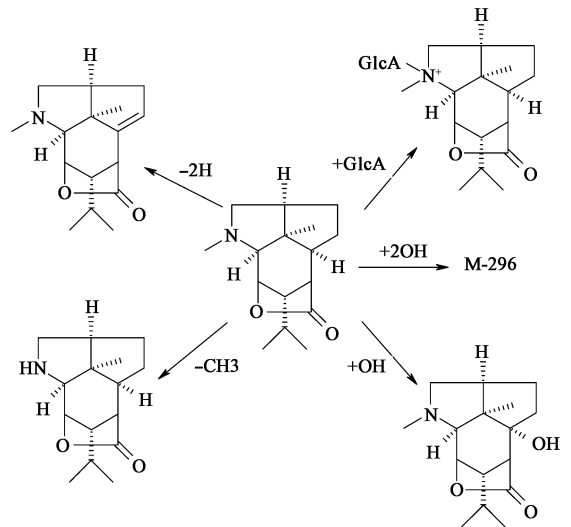


图 6 石斛碱的代谢产物分析  
Fig. 6 Analysis of metabolites of dendrobine

本实验建立了灵敏、快捷的用于测定人肝微粒体中石斛碱及其代谢产物的 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS,对石斛碱在人肝微粒体中的主要代谢产物进行了鉴定与分析。初步确定石斛碱在人肝微粒体中 I 相代谢的 4 个主要代谢产物和 II 相代谢的 1 个主要代谢产物,为进一步研究石斛碱的体内过程提供了实验依据。

#### [参考文献]

[1] 黄琦,廖鑫,吴芹,等.金钗石斛生物总碱对糖尿病大鼠血糖及肝脏组织 IRS-2 mRNA, IGF-1 mRNA 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(19):155-158.  
[2] 张晓敏,孙志蓉,陈龙,等.金钗石斛的化学成分和药理作用研究进展[J].中国现代应用药学,2014,31(7):895-899.  
[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:92-93.

- [ 4 ] 王亚芸,任建武. 石斛碱的研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2015,46(1):152-158.
- [ 5 ] 陶凤,金徽,杨贵忠,等. 金钗石斛水提物对糖尿病大鼠肾组织非酶糖基化及氧化的影响[J]. 山东大学学报:医学版,2012,50(10):11-15,22.
- [ 6 ] 白金丽,温淑香. 金钗石斛提取物抗白内障的体外实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(9):57-59.
- [ 7 ] 刘名昆,李国庆. 石斛提取物抗肿瘤作用研究进展[J]. 现代医药卫生,2015,31(23):3571-3574.
- [ 8 ] YANG S, GONG Q H, WU Q, et al. Alkaloids enriched extract from *Dendrobium nobile* Lindl. attenuates tau protein hyperphosphorylation and apoptosis induced by lipopolysaccharide in rat brain [ J ]. Phytomedicine, 2014,21(5):712-716.
- [ 9 ] 宾捷,胡余明,尹进,等. 金钗石斛对老龄小鼠抗氧化作用的实验研究[J]. 实用预防医学,2010,17(6):1063-1064.
- [ 10 ] 姚寅. 金钗石斛生物碱对老年痴呆症的保护作用和机制的研究进展[J]. 医药前沿,2013,2(4):47-48.
- [ 11 ] 张轶雯,方罗,郑小卫,等. 细胞色素 P450 酶的表现遗传学调控及研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2017,34(2):293-297.
- [ 12 ] 郭栋,庞良芳,周宏灏. UGT 酶的遗传药理学研究进展[J]. 中国新药杂志,2011,20(13):1188-1193.
- [ 13 ] 赵燕燕,柳亚飞,刘丽艳,等. 大鼠肝微粒体中睾酮及其代谢产物 6 $\beta$ -羟基睾酮的高效液相色谱检测方法的改进[J]. 河北大学学报:自然科学版,2016,36(1):43-51.
- [ 14 ] 何芋岐,鲁艳柳,李利生,等. 基于 UPLC-ESI-Orbitrap/MS 技术对金钗石斛生物碱的分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(20):30-35.
- [ 15 ] Morita H, Fujiwara M, Yoshida N, et al. New picrotoxinin-type and dendrobine-type sesquiterpenoids from *Dendrobium snowflake* 'Red Star' [ J ]. Tetrahedron, 2000,56(32):5801-5805.
- [ 16 ] LU Y L, HE Y Q, WANG M, et al. Characterization of nuciferine metabolism by P450 enzymes and uridine diphosphate glucuronosyltransferases in liver microsomes from humans and animals [ J ]. Acta Pharmacol Sin, 2010,31(12):1635-1642.

[责任编辑 刘德文]