

鸡尾酒法评价石蒜对大鼠细胞色素 P450 酶活性的影响

李剑波, 陈毅芳, 张玮, 方俊杰, 祝大部, 鲁迎, 谢明华* (杭州市余杭区第一人民医院, 杭州 311100)

摘要: 目的 运用鸡尾酒法评价石蒜对细胞色素 P450 酶活性的影响。方法 将大鼠随机分为对照组和石蒜低、高剂量组。对照组给予生理盐水, 石蒜低、高剂量组大鼠灌胃给药 0.5, 1.0 g·kg⁻¹ 石蒜, 连续给药 15 d。然后第 16 天给予探针药物, UPLC-MS/MS 检测探针药浓度。结果 与对照组对比, 石蒜低剂量组和高剂量组的安非他酮 AUC_(0-t)、C_{max} 都显著升高($P<0.05$), CL_{z/F} 显著降低($P<0.05$)。与对照组对比, 石蒜高剂量组的美托洛尔、咪达唑仑和非那西丁 AUC_(0-t) 显著降低($P<0.05$), CL_{z/F} 显著升高($P<0.05$), 而低剂量组与对照组比较差异无统计学意义。与对照组对比, 石蒜组的甲苯磺丁脲 AUC_(0-t)、CL_{z/F} 差异无统计学意义, C_{max} 显著降低($P<0.05$)。结论 石蒜能抑制大鼠 CYP2B1 酶活性, 诱导大鼠 CYP2D1、CYP3A2 和 CYP1A2 酶活性, 稍有诱导大鼠 CYP2C11 酶活性的作用。

关键词: 石蒜; CYP2B1; CYP2D1; CYP3A2; CYP1A2; UPLC-MS/MS

中图分类号: R285.5 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)20-2501-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.20.004

引用本文: 李剑波, 陈毅芳, 张玮, 等. 鸡尾酒法评价石蒜对大鼠细胞色素 P450 酶活性的影响[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(20): 2501-2504.

Effect of *Lycoris Radiata* on CYP450 Enzyme Activity in Rats by Cocktail Method

LI Jianbo, CHEN Yifang, ZHANG Wei, FANG Junjie, ZHU Dabu, LU Ying, XIE Minghua* (The First People's Hospital of Yuhang District, Hangzhou 311100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the effect of *Lycoris radiata* on cytochrome P450 enzyme activity using the cocktail method. **METHODS** Rats were randomly divided into three groups: the control group, low and high dose of *Lycoris radiata* group. The control group was given physiological saline, and the rats in the low and high dose of *Lycoris radiata* group were intragastrically administrated 0.5, 1.0 g·kg⁻¹ of *Lycoris radiata* for 15 d. Then on the 16th day, probe drugs were administrated by gavage, and the concentration of probe drugs was determined by UPLC-MS/MS. **RESULTS** Compared with the control group, the AUC_(0-t) and C_{max} of bupropion in the low and high dose of *Lycoris radiata* group increased($P<0.05$) and the CL_{z/F} decreased($P<0.05$). Compared with the control group, the AUC_(0-t) of metoprolol, midazolam, and phenacetin in the high dose *Lycoris radiata* group decreased($P<0.05$), and CL_{z/F} increased($P<0.05$), while there was no statistical difference between the low dose *Lycoris radiata* group and the control group. Compared with the control group, the AUC_(0-t) and CL_{z/F} of tolbutamide in the *Lycoris radiata* group were not statistically different, but the C_{max} of the *Lycoris radiata* group decreased($P<0.05$). **CONCLUSION** *Lycoris radiata* can inhibit CYP2B1 enzyme activity in rats, induce CYP2D1, CYP3A2 and CYP1A2 enzyme activities in rats, and slightly induce CYP2C11 enzyme activity in rats.

KEYWORDS: *Lycoris radiata*; CYP2B1; CYP2D1; CYP3A2; CYP1A2; UPLC-MS/MS

石蒜(*Lycoris radiata* Herb)是石蒜属的重要成员, 在中国广泛分布, 并被称为“红蜘蛛百合”^[1]。该植物偏爱阴凉潮湿的地方, 可以用小鳞茎繁殖。石蒜已经在多个领域中进行了广泛的研究, 包括分子生物学、形态学、药理学、分析化学、生理学、孢粉学和染色体生物学。该植物以其多种生物活性而著称, 包括抗肿瘤、抗疟疾、抗微生物、降低血压、抗炎、抗细胞毒性和神经保护作用^[2]。

细胞色素 P450(CYP)酶是混合功能氧化酶系统的组成部分, 负责大多数异源生物和内源性分子的代谢^[3]。已知许多临床上相关的抑制剂可能会影响一种或多种 CYP 同工酶的活性^[4]。例如, 即使在治疗剂量下, 抗菌药物克拉霉素也能抑制 CYP3A, 导致严重的不良反应^[5]。目前尚无关于连续给药石蒜后对 CYP 酶能力影响的研究报道。本研究运用 5 种探针药物(安非他酮、美托洛尔、咪达唑仑、非那西丁、甲苯磺丁脲)评价石蒜对 5 种

基金项目: 杭州市卫生科技计划项目(0020190325); 浙江省医学会临床科研基金项目(2018ZYCA52); 浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(2018ZYY12)

作者简介: 李剑波, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0571)89369036 E-mail: 15356189099@163.com *通信作者: 谢明华, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: (0571)89369508 E-mail: xmh53072@163.com

酶(CYP2B1, CYP2D1, CYP3A2, CYP1A2, CYP2C11)活力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

石蒜鳞茎部位由杭州市余杭区第一人民医院提供(由临平区第一人民医院乐加薇副主任中药师鉴定为正品), 100 °C, 常压, 加水煎煮 1 h, 最后石蒜鳞茎浓度为 1.0 g·mL⁻¹, 高温灭菌, 真空袋分装存在 4 °C 备用。SD 大鼠(♂, 220±20 g)来自浙江省医学科学院实验动物与安全性研究重点实验室, 实验动物生产许可证号: SCXK(浙)2014-0001。甲苯磺丁脲(批号: 078K0725; 纯度>98%)、美托洛尔(批号: 3-HBN-193-1; 纯度: 98%)和非那西丁(批号: STBB2177M9; 纯度>98%)均购自美国 Sigma-Aldrich 公司。安非他酮(批号: 100671-201001; 纯度: 99.8%)和咪达唑仑(批号: 171250-200401; 纯度: 99.8%)均购自中国食品药品检定研究院。

1.2 方法

1.2.1 探针药的药动学 将 18 只大鼠(220±20 g)随机分为 3 组, 每组 6 只。2 组不同剂量石蒜组分别给予石蒜 0.5, 1.0 g·kg⁻¹, 每天灌胃 1 次, 连续 15 d, 对照组给予生理盐水。在第 16 天早晨, 将探针药物混合在玉米油中, 并给予石蒜组和对照组, 以单次剂量 0.1 mg·kg⁻¹ 甲苯磺丁脲, 10 mg·kg⁻¹ 灌胃给予安非他酮、美托洛尔、非那西丁、咪达唑仑。给探针药后 0.5 min, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h, 将血液(0.3 mL)样品从尾静脉收集, 离心后得 100 μL 血浆。将 200 μL 乙腈加入到 100 μL 血浆, 涡旋 1.0 min, 14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 将上清液(2 μL)注入 UPLC-MS/MS 分析。采用 DAS 3.0 版本分析探针药物浓度。

1.2.2 UPLC-MS/MS 测定探针药物 Xevo TQ-S Micro 三重四极杆质谱仪和 ACQUITY UPLC (美国 Waters 公司), BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 为色谱柱, 测定大鼠血浆中 5 种探针药浓度^[6]。

1.3 统计学处理

SPSS 18.0 评估石蒜组和对照组的主要药动学参数, *t* 检验, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 石蒜对 CYP2B1 酶活力的影响

与对照组对比, 石蒜组的安非他酮的 AUC_(0-t) 都有升高的趋势, 结果见图 1。石蒜低剂量和高剂

量组的安非他酮 AUC_(0-t)、AUC_(0-∞)、C_{max} 显著升高(*P*<0.05 或 *P*<0.01), CL_{z/F} 显著降低(*P*<0.05 或 *P*<0.01), 结果见表 1。表明石蒜可抑制大鼠 CYP2B1 酶活性。

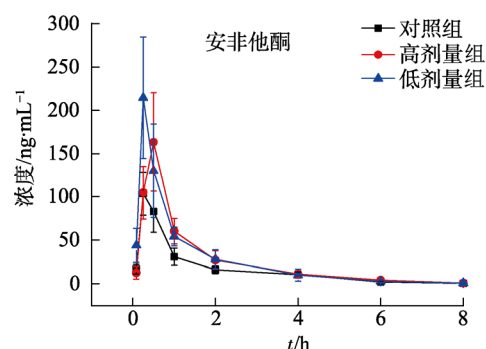


图 1 大鼠安非他酮药动学曲线

Fig. 1 Pharmacokinetic curve of bupropion in rats

表 1 安非他酮大鼠药动学参数

Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of bupropion in rats

参数	对照组	低剂量组	高剂量组
AUC _(0-t) /ng·h·mL ⁻¹	127.7±25.7	208.3±52.6 ¹⁾	202.0±39.3 ²⁾
AUC _(0-∞) /ng·h·mL ⁻¹	128.5±25.5	210.0±54.1 ¹⁾	204.0±39.2 ²⁾
t _{1/2z} /h	1.0±0.2	1.1±0.3	1.3±0.3
V _{z/F} /L·kg ⁻¹	125.0±52.6	75.4±14.6	95.4±36.2
CL _{z/F} /L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	80.6±16.8	50.3±13.3 ¹⁾	50.6±10.2 ²⁾
C _{max} /ng·mL ⁻¹	107.2±26.5	214.5±70.1 ²⁾	170.2±49.9 ¹⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾*P*<0.05, ²⁾*P*<0.01。

Note: Compared with control group, ¹⁾*P*<0.05, ²⁾*P*<0.01.

2.2 石蒜对 CYP2D1 酶活力的影响

与对照组对比, 石蒜组的美托洛尔 AUC_(0-t) 都有下降的趋势, 结果见图 2。石蒜高剂量组的美托洛尔 AUC_(0-t)、AUC_(0-∞)、C_{max} 显著降低(*P*<0.05 或 *P*<0.01)、CL_{z/F} 显著升高(*P*<0.05), 低剂量组与对照组相比差异无统计学意义, 结果见表 2。表明石蒜可能诱导大鼠 CYP2D1 酶活性。

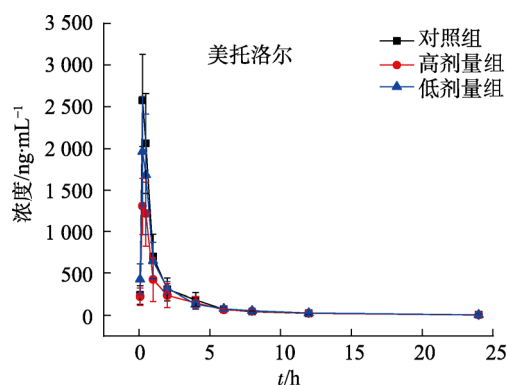


图 2 大鼠美托洛尔药动学曲线

Fig. 2 Pharmacokinetic curve of metoprolol in rats

表2 美托洛尔大鼠药动学参数

Tab. 2 Pharmacokinetic parameters of metoprolol in rats

参数	对照组	低剂量组	高剂量组
$AUC_{(0-t)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	3 153.1±721.6	2 870.7±539.1	2 186.4±588.1 ¹⁾
$AUC_{(0-\infty)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	3 179.3±732.7	2 907.0±554.7	2 200.3±587.8 ¹⁾
$t_{1/2}/h$	4.3±1.4	4.8±1.8	3.6±0.6
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	20.1±7.6	24.1±7.4	25.0±6.3
$CL_{z/F}/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	3.3±0.8	3.5±0.6	4.8±1.4 ¹⁾
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	2 592.3±535.6	2 117.6±559.8	1 502.7±335.9 ²⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

2.3 石蒜对 CYP3A2 酶活力的影响

与对照组对比, 各组的咪达唑仑, $AUC_{(0-t)}$ 都有下降的趋势, 结果见图 3。石蒜高剂量组咪达唑仑 $AUC_{(0-t)}$ 和 $AUC_{(0-\infty)}$ 显著降低($P<0.01$), $CL_{z/F}$ 显著升高($P<0.05$), 而其低剂量组的 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、 $CL_{z/F}$ 差异无统计学意义, 结果见表 3。这表明石蒜可能会诱导大鼠 CYP3A2 酶活性。

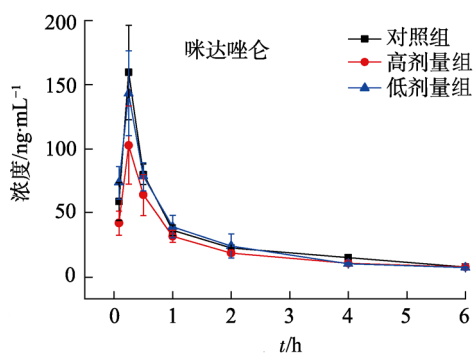


图3 大鼠咪达唑仑药动学曲线

Fig. 3 Pharmacokinetic curve of midazolam in rats

表3 咪达唑仑大鼠药动学参数

Tab. 3 Pharmacokinetic parameters of midazolam in rats

参数	对照组	低剂量组	高剂量组
$AUC_{(0-t)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	140.2±10.1	131.8±26.5	99.4±12.6 ²⁾
$AUC_{(0-\infty)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	142.9±8.1	133.2±26.3	102.5±12.4 ²⁾
$t_{1/2}/h$	1.1±0.4	1.0±0.2	1.2±0.5
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	109.8±40.8	113.1±36.8	177.1±73.9
$CL_{z/F}/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	70.1±4.0	77.1±13.8	98.8±13.1 ¹⁾
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	163.9±39.3	146.4±35.3	103.0±32.9

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

2.4 石蒜对 CYP1A2 酶活力的影响

与对照组对比, 各组的非那西丁 $AUC_{(0-t)}$ 都有下降的趋势, 结果见图 4。石蒜高剂量非那西丁 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 和 C_{max} 显著降低($P<0.01$), $CL_{z/F}$

显著升高($P<0.05$), 而其低剂量组的 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、 $CL_{z/F}$ 和 C_{max} 差异无统计学意义, 结果见表 4。表明石蒜可能诱导大鼠 CYP1A2 酶活性。

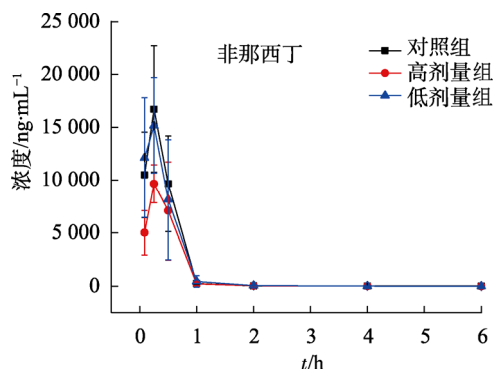


图4 大鼠非那西丁药动学曲线

Fig. 4 Pharmacokinetic curve of phenacetin in rats

表4 非那西丁大鼠药动学参数

Tab. 4 Pharmacokinetic parameters of phenacetin in rats

参数	对照组	低剂量组	高剂量组
$AUC_{(0-t)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	8 675.4±2 536.4	8 183.8±3 549.7	5 538.9±1 952.0 ²⁾
$AUC_{(0-\infty)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	8 679.6±2 536.2	8 185.5±3 549.6	5 541.2±1 950.9 ²⁾
$t_{1/2}/h$	0.9±0.2	0.7±0.1	0.8±0.2
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	1.7±0.9	1.6±0.8	2.3±1.2
$CL_{z/F}/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	1.3±0.5	1.4±0.6	2.0±0.6 ¹⁾
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	17 904.4±4 427.3	15 503.9±4 321.4	10 659.1±2 385.0 ²⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

2.5 石蒜对 CYP2C11 酶活力的影响

与对照组对比, 各组的甲苯磺丁脲 $AUC_{(0-t)}$ 都有下降的趋势, 结果见图 5。但是石蒜 2 组的甲苯磺丁脲 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、 $CL_{z/F}$ 差异都无统计学意义, C_{max} 显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 结果见表 5。表明石蒜稍有诱导大鼠 CYP2C11 酶活性的作用。

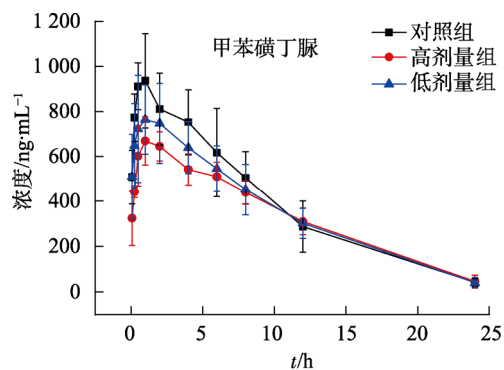


图5 大鼠甲苯磺丁脲药动学曲线

Fig. 5 Pharmacokinetic curve of tolbutamide in rats

表 5 甲苯磺丁脲大鼠药动学参数

Tab. 5 Pharmacokinetic parameters of tolbutamide in rats

参数	对照组	低剂量组	高剂量组
$AUC_{(0-t)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	9 278.6±1 867.3	8 545.1±1 465.4	7 997.2±941.8
$AUC_{(0-\infty)}/ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	9 562.1±1 924.9	9 020.4±1 339.3	8 355.7±1 199.0
$t_{1/2}/h$	4.5±0.7	5.3±2.1	4.9±1.2
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.07±0.02	0.09±0.04	0.08±0.02
$CL_z/F/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.011±0.002	0.011±0.002	0.012±0.002
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	1 023.7±128.7	852.9±163.7 ¹⁾	710.3±110.5 ²⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

3 讨论

细胞色素 P450(CYP)构成人类主要的药物代谢酶系统^[7-9]。这些酶的活性存在很大的个体差异,这可能引起血浆药物浓度的个体差异并导致治疗失败或不良反应^[10]。为了避免这些问题,评估体内 CYP 活性(表型)非常重要。在 1990 年代初,开发了一种“鸡尾酒”方法,旨在通过同时服用一种 CYP 特异性探针药物来评估多种 CYP 的活性。在过去的几年中,已经开发出了几种使用不同探针药物的鸡尾酒^[11-12]。本研究采用鸡尾酒法分别对 5 种酶活性进行分析。

石蒜在中国广泛分布,素有“红蜘蛛百合”之称。这种植物喜欢在阴凉潮湿的环境生长,可从小球茎繁殖,球茎中含有石蒜碱和加兰他敏这 2 种主要药用成分,在中药中广泛使用^[13]。目前尚无关于石蒜对 CYP 酶能力影响的研究报道。本实验表明石蒜有抑制大鼠 CYP2B1 酶活性,诱导大鼠 CYP2D1、CYP3A2 和 CYP1A2 酶活性,稍有诱导大鼠 CYP2C11 酶活性的作用。

REFERENCES

- [1] LIU Y X, ZHENG Y H, XIA T, et al. Karyotype studies on *Lycoris radiata* populations from China[J]. Genet Mol Res, 2016, 15(1): 15017357. Doi: 10.4238/gmr.15017357.
- [2] CHEN G L, TIAN Y Q, WU J L, et al. Antiproliferative activities of Amaryllidaceae alkaloids from *Lycoris radiata* targeting DNA topoisomerase II[J]. Sci Rep, 2016(6): 38284.

- [3] BOSILKOVSKA M, CLÉMENT M, DAYER P, et al. Incorporation of flurbiprofen in a 4-drug cytochrome p450 phenotyping cocktail[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2014, 115(5): 465-466.
- [4] YAN P, ENG O C, YU C J. A review on the expression and metabolic features of orphan human cytochrome P450 2S1 (CYP2S1)[J]. Curr Drug Metab, 2018, 19(11): 917-929.
- [5] DINGER J, MEYER M R, MAURER H H. Development and validation of a liquid-chromatography high-resolution tandem mass spectrometry approach for quantification of nine cytochrome P450(CYP) model substrate metabolites in an *in vitro* CYP inhibition cocktail[J]. Anal Bioanal Chem, 2014, 406(18): 4453-4464.
- [6] SU K, LIU F L, WEN C C, et al. Simultaneous determination of bupropion, metoprolol, midazolam, phenacetin and tolbutamide in rat plasma by UPLC-MS/MS[J]. Chin J Heal Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2018, 28(16): 1947-1951.
- [7] ZHUANG K Z, SUN J H, WANG Y P, et al. Effect of diazepam on CYP450 activity in rats determined by UPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(3): 274-277.
- [8] WANG C X, JIN H, ZHOU B, et al. Effects of luteolin on activities and mRNA expressions of cytochrome P450 enzymes in rats[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(8): 1189-1193.
- [9] SUN J, ZHANG G P, SU P, et al. Effects of ginseng aconite and its effective components combination on the mRNA's expression of oxidase CYP2J3 hydroxylase, CYP4A3 and CYP4F11[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(17): 2081-2088.
- [10] LI T Y, LIU W, CHEN K, et al. The influence of combination use of CYP450 inducers on the pharmacokinetics of voriconazole: A systematic review[J]. J Clin Pharm Ther, 2017, 42(2): 135-146.
- [11] GIRI P, PATEL H, SRINIVAS N R. Use of cocktail probe drugs for indexing cytochrome P450 enzymes in clinical pharmacology studies-review of case studies[J]. Drug Metab Lett, 2019, 13(1): 3-18.
- [12] TANAKA S, UCHIDA S, INUI N, et al. Simultaneous LC-MS/MS analysis of the plasma concentrations of a cocktail of 5 cytochrome P450 substrate drugs and their metabolites[J]. Biol Pharm Bull, 2014, 37(1): 18-25.
- [13] ZHANG F J, SHU X C, WANG T, et al. The complete chloroplast genome sequence of *Lycoris radiata*[J]. Mitochondrial DNA Part B, 2019, 4(2): 2886-2887.

收稿日期: 2020-08-18

(本文责编: 沈倩)