

基于CYP450酶的补骨脂素及异补骨脂素与黄独乙素的药物相互作用研究

吴梓君¹, 马江², 何新^{1, 2*}

1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

2. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 基于细胞色素P450 (CYP450) 代谢酶探究补骨脂素和异补骨脂素对黄独乙素在大鼠体内代谢的影响。 **方法** 采用大鼠离体循环肝灌流方法, 考察大鼠分别给予补骨脂素或异补骨脂素1、3、7 d后, 黄独乙素在肝脏中的代谢情况; 利用UPLC-MS/MS检测循环灌流液中剩余黄独乙素的含量; 通过大鼠眼内眦取血的方法研究大鼠分别给予补骨脂素或异补骨脂素干预1周, 再给予黄药子提取物 (10 g·kg⁻¹) 后体内黄独乙素的药动学变化, 药动学参数采用DAS 2.0软件中的非房室模型法进行计算。 **结果** 大鼠给予补骨脂素或异补骨脂素后, 循环灌流液中黄独乙素的含量相对增加, 且补骨脂素或异补骨脂素给药时间延长后, 对酶的抑制程度更强; 当大鼠给予补骨脂素或异补骨脂素干预后, 与非干预组 (黄药子提取物组) 相比, 药时曲线下面积 (AUC_{0~t}) 和平均驻留时间 (MRT_{0~t}) 增加, 消除半衰期 (t_{1/2z}) 减小。 **结论** 补骨脂素/异补骨脂素可通过抑制肝脏中CYP450酶的活性降低其对黄独乙素的代谢, 使黄独乙素在肝脏中代谢减少, 造成蓄积, 临床用药应注意含有补骨脂素/异补骨脂素或黄独乙素中药在合用时可能产生的药物相互作用。

关键词: 补骨脂素; 异补骨脂素; 补骨脂; 黄药子; 黄独乙素; 药物相互作用

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 06-1083-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.06.010

Study on drug interactions between psoralen/isopsoralen and diosbulbin B based on CYP450 enzyme

WU Zijun¹, MA Jiang², HE Xin^{1,2}

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of psoralen and isopsoralen on the metabolism of diosbulbin B in rats based on cytochrome P450 enzyme system (CYP450). **Methods** After administration of psoralen or isopsoralen for 1, 3, 7 days, respectively, isolated circulatory liver perfusion was used to study the metabolism of diosbulbin B in the liver of rats. UPLC-MS/MS was used to detect the content of diosbulbin B in circulating perfusate. When rats were treated with psoralen/isopsoralen for one week before administration of extraction of *Dioscorea bulbifera* L. (10 g·kg⁻¹), blood was taken from the inner canthus of rats and the pharmacokinetic parameters of diosbulbin B were calculated by non-compartment model in DAS 2.0 software. **Results** After orally administration of psoralen/isopsoralen for different days, the amount of diosbulbin B in circulating perfusate was relatively increased, and psoralen/isopsoralen showed stronger inhibition to the enzyme after prolonged administration. Compared with the non-intervention group, after treating with psoralen/isopsoralen, the values of area under the curve (AUC_{0~t}) and mean residence time (MRT_{0~t}) were increased and the elimination half life (t_{1/2z}) values was decreased. **Conclusion** Psoralen/isopsoralen can inhibit the activity of CYP450 enzyme in the liver, reduce its metabolism of diosbulbin B, reduce the metabolism of diosbulbin B in the liver and cause accumulation. In clinical medication, attention should be paid to the drug interaction that can be produced when Chinese medicine containing psoralen/isopsoralen or diosbulbin B is combined.

Key words: psoralen; isopsoralen; *Psoralea corylifolia* L.; *Dioscorea bulbifera* L.; diosbulbin B; drug interaction

收稿日期: 2022-01-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82174209); 广东省普通高校青年创新人才项目(2021KQNCX039)

第一作者: 吴梓君(1992—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为中药药理。E-mail: lhd_zjw@163.com

*通信作者: 何新(1966—), 女, 教授。E-mail: hexintn@163.com

黄药子,又名黄独,为薯蓣科薯蓣属植物黄独 *Dioscorea bulbifera* L. 的块茎,性味辛、凉、苦,有小毒。最早记载于唐代孙思邈的《千金月令》,可治疗瘰疬、喉痹、犬蛇咬伤、吐血等^[1]。现代研究显示,黄药子的化学成分较复杂,主要含有二萜内酯类、黄酮及酚酸类、皂苷、鞣质等成分^[2-4],其中二萜内酯类成分是其发挥抗肿瘤、抗炎、抗菌生物活性的主要物质基础,同时也是黄药子引发肝毒性的主要成分。目前已分离出的二萜内酯类成分有黄独素A~M^[5-7]等,而黄独乙素(disobulbin B),即黄独素B,为目前研究较多的代表性成分,其在黄药子生药中的质量分数为2~3 mg·g⁻¹^[8]。

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实,具有补肾助阳、固精缩尿等功效,对皮肤病、白癜风等具有良好疗效。补骨脂中主要含有香豆素类、黄酮类和单萜酚类等成分^[9],其中香豆素类成分中的补骨脂素和异补骨脂素既是《中国药典》中补骨脂药材的质控成分,也是其发挥药效的主要物质基础^[10-11],二者之间互为同分异构体,药理研究表明补骨脂素和异补骨脂素具有抗骨质疏松^[12-13]、神经保护^[14-15]、抗光老化^[16-17]等作用。

有报道显示患者在服用同时含有黄药子和补骨脂的制剂白蚀丸后可产生肝损伤或药物性肝炎^[18-21],同时国家药品监督管理局发布的《药品不良反应信息通报》(第9期)^[22]也对其临床肝毒性提出了警示。白蚀丸是由盐补骨脂、黄药子、制何首乌、丹参等14味中药组成的复方制剂,具有补益肝肾、活血祛瘀等功效^[10],临床上常用于治疗白癜风^[23]。该制剂致肝毒性的原因尚未明确,而作为该制剂中的君药补骨脂和臣药黄药子,在单味药研究中显示具有一定的肝毒性,因此白蚀丸致肝毒性可能与二者有关。

同时本课题组前期研究结果显示,黄独乙素是 CYP3A4、CYP2C19、CYP2C9、CYP2A13 和 CYP1A1 的底物,且 CYP3A4 是主要的代谢酶^[24]。补骨脂素和异补骨脂素是 CYP1A1、CYP1A2、CYP2D6 和 CYP3A4 的抑制剂^[25-26]。因此当3种成分合用时,可能通过 CYP450 酶产生药物相互作用。基于此,本研究以补骨脂素、异补骨脂素和黄独乙素为研究对象,通过大鼠离体循环肝灌注和药动学方法,探究补骨脂素及异补骨脂素与黄独乙素之间可能的药物相互作用,以期为临床合理安全用药提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SD大鼠,雄性,SPF级,体质量(220±20)g,购于北京华阜康生物科技有限公司;质检单位:中国医学科学院医学实验动物研究所;动物合格许可证:SCXK(京)2014-0004。动物进行正常适应性饲养,实验前禁食12 h。动物实验严格遵守《实验动物护理和使用指南》,并由天津中医药大学动物伦理委员会批准(批准号为TCM-LAEC20170060)。

1.2 实验仪器

Masterflex L/S 程控蠕动泵(美国 Cole-Parmer Instrument 公司);HHS-11-2 数显式电热恒温水浴锅(常州诺基仪器有限公司);磁力搅拌器(天津市欧诺仪表有限公司);pH计(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);十万分之一天平(美国 OHAUS 公司);LC-MS 液质联用质谱仪(美国应用生物系统公司,液相质谱联用系统 API 4000 Qtrap,含2台岛津 LC-20AD 泵、SIL-20AC 恒温自动进样器、CTO-20A 柱温箱、CBM-20A 控制器、ESI 和 APCI 接口离子源、Analyst Software 1.5.1 色谱工作站)。

1.3 药品与试剂

黄独乙素、补骨脂素和异补骨脂素,购于成都普菲德生物技术有限公司(质量分数均>98%;批号分别为16070402、16062808、16062807);酮康唑,购于四川维克奇生物技术有限公司(批号:100294、201203);黄药子饮片(经天津中医药大学李天祥教授鉴定为薯蓣科薯蓣属植物黄独 *Dioscorea bulbifera* L. 块茎),购于北京同仁堂药店(批号:70560701);黄药子提取物(自制,黄药子饮片粉碎后,用10倍量75%乙醇提取3次,每次2 h,合并滤液浓缩后即得,经检测黄独乙素在提取物中质量分数为15.5 mg·g⁻¹,换算至黄药子生药中的量为2.39 mg·g⁻¹);肝素钠注射液,购于江苏万邦生化医药股份有限公司(批号:51608118);其他化学制剂为分析纯及以上。

2 方法

2.1 溶液配制

2.1.1 Krebs-Hensleit buffer (KHB) 的配制 KHB 溶液配制与本课题组前期研究一致^[24],即于烧杯中加入纯水,随后依次加入 NaCl、KCl、CaCl₂ 等试剂,待完全溶解后,调节 pH 值至 7.4,于 4℃ 冰箱保存。

2.1.2 酮康唑 ip 给药溶液的配制 精密称取酮康唑 0.1 g,加入 40 mL 0.9% 氯化钠溶液,加入 0.9% 氯化钠溶液体积 1% 的助溶剂聚山梨酯-80,于涡旋仪

上涡旋,于4℃冰箱保存。大鼠ip给药剂量为20 mg·kg⁻¹。

2.1.3 黄独乙素灌流液的配制 精密称取适量黄独乙素,加入二甲亚砜(DMSO)配制成6 mg·mL⁻¹的母液,于-20℃冰箱中保存。实验前用KHB溶液稀释至质量浓度为3 μg·mL⁻¹的灌流液,用于实验。

2.1.4 补骨脂素、异补骨脂素ig给药溶液的配制 精密称取适量补骨脂素或异补骨脂素,于0.5% CMC-Na溶液中超声溶解,使终质量浓度为3 mg·mL⁻¹,于4℃冰箱中避光保存。大鼠ig给药剂量为30 mg·kg⁻¹(给药剂量根据前期预试验结果设置)。

2.2 补骨脂素或异补骨脂素对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响

将30只SD大鼠,随机分为10组,包括对照组、阳性药组(酮康唑20 mg·kg⁻¹分别ip给药1、3、7 d)、补骨脂素给药组(补骨脂素30 mg·kg⁻¹分别ig给药1、3、7 d)、异补骨脂素给药组(异补骨脂素30 mg·kg⁻¹分别ig给药1、3、7 d),每组3只。各给药组给予相应药物和溶媒后1 h进行黄独乙素的循环肝灌流实验,考察异补骨脂素或补骨脂素干预不同时间后对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响。肝灌流实验操作与本课题组前期研究一致^[24]:将配制好的KHB于37℃水浴锅中预热并匀速通入氧气,大鼠麻醉后于腹部剪开V型切口,暴露出肝脏和血管;结扎门静脉分支血管、右肾静脉和胆管;分离门静脉、肝动脉、下腔静脉并埋线;从门静脉进针插管,并在下腔静脉处剪开1小口,调节蠕动泵体积流量20 mL·min⁻¹后开泵,剪开大鼠胸腔,用止血钳夹住下腔静脉连接心脏的管路,结扎肝动脉,当冲出肝脏中残余血液,肝脏由深红色变成土黄色,且下腔静脉流出液为澄清时,可于下腔静脉开口处插管并结扎,将该插管放入循环灌流药液池中,使灌流液从“门静脉-肝脏-下腔静脉”形成一个封闭单一的循环通路。将泵体积流量调节至10 mL·min⁻¹,稳定灌流10 min后,换上含黄独乙素3 μg·mL⁻¹的灌流液开始循环灌流,分别于0、1、3、5、10、20、30、40、50、60 min各个时间点从循环灌流药液池中取样0.5 mL,且每次取样后向药液池中补充同等体积的KHB溶液,各时间点样品处理后检测黄独乙素在灌流液中的剩余浓度。

2.3 补骨脂素或异补骨脂素对黄独乙素在大鼠体内药动学的影响

将18只SD大鼠随机分为3组,包括黄药子提取物组、补骨脂素干预组和异补骨脂素干预组,每组6只。实验时,补骨脂素、异补骨脂素干预组分别

ig给予30 mg·kg⁻¹补骨脂素、异补骨脂素连续7 d,第7天ig补骨脂素、异补骨脂素1 h后,取0.5 mL空白血浆作同组对照,随后3组大鼠ig给予黄药子提取物10 g·kg⁻¹(为不同动物等效剂量折算的黄药子临床用量的5倍),并分别在给予黄药子提取物后0.083、0.17、0.33、0.50、0.75、1、2、4、6、8、12、24、28、32、36、48、56 h分别从眼后静脉丛取血0.12 mL于肝素化的离心管内,于11 000 r·min⁻¹、4℃条件下离心15 min,分离血浆,在-20℃冰箱中保存待测。

2.4 样品处理

2.4.1 灌流液样品处理 取各时间点收集的灌流液样品0.1 mL于离心管中,加入0.3 mL含内标卡马西平的冰甲醇溶液,涡旋后离心,取上清液进行UPLC-MS/MS分析。

2.4.2 血浆样品处理 取50 μL血浆,加入200 μL甲醇-水(1:1)溶液,涡旋混合,于14 000×g、4℃条件下离心10 min,取上清液于UPLC-MS/MS进行分析检测。

2.5 黄独乙素检测方法

(1)色谱条件:色谱柱为Agilent Zorbax XDB-C₁₈柱(50 mm×2.1 mm,3.5 μm);流动相为0.1%甲酸-水(A)、0.1%甲酸-甲醇(B)溶液;梯度洗脱程序:0~1 min,95% A;1~3 min,95%~40% A;3~3.5 min,40%~10% A;3.5~4.6 min,10% A;4.6~4.61 min,10%~95% A;4.61~5.8 min,95% A;体积流量为0.5 mL·min⁻¹,进样量10 μL。(2)质谱条件:电喷雾电子源(ESI);正离子扫描方式;气帘气(CUR):68.95 kPa(10 psi),喷雾电压(IS):5 500 V;脱溶剂温度(TEM):550℃;信号采集方式为多反应监测(MRM),黄独乙素检测离子对为m/z 362.1→317.1,卡马西平检测离子对为m/z 237.1→194.1。本实验分析条件与前期研究一致,且经方法学验证有效^[24,27]。

2.6 数据处理及统计学分析

采用DAS 2.0软件中的非房室模型法计算药动学参数,所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用单因素方差分析对数据进行处理,所有统计学分析方法均使用SPSS Statistics 17.0软件处理,以P<0.05表示差异具有统计学意义。

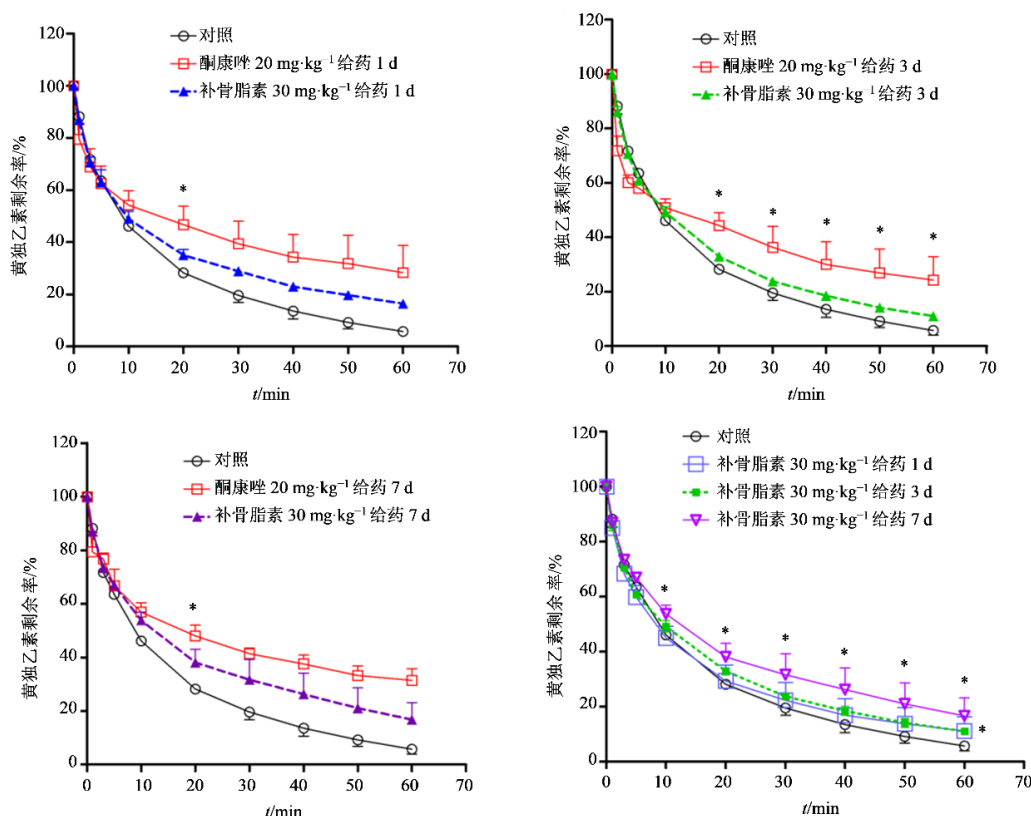
3 结果

3.1 补骨脂素给药不同时间对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响

在大鼠离体循环肝灌流的过程中,黄独乙素随循环灌流液进入肝脏,被肝脏中的CYP450酶代谢。

在一定范围内,随着灌流时间的延长,灌流液中黄独乙素的含量应逐渐减少。当大鼠ip给予CYP450酶抑制剂酮康唑后,与对照组相比,循环灌流液中的黄独乙素含量相对增加,说明肝脏中的CYP450酶活性被抑制,从而对黄独乙素的代谢减少(图1);当大鼠分别ig给

予补骨脂素1、3、7 d后,与对照组相比,循环灌流液中黄独乙素的含量不同程度的升高,说明补骨脂素通过抑制CYP450酶活性从而减少黄独乙素在大鼠肝脏中的代谢,与阳性药相比,补骨脂素对CYP450酶的抑制作用相对较弱。见图1。



与对照组比较: * $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group

图1 补骨脂素给药不同时间对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Effect of administration of psoralen for different days on metabolism of diosbulbin B in rat liver($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.2 异补骨脂素给药不同时间对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响

当大鼠分别ig给予异补骨脂素1、3、7 d后,与对照组相比,循环灌流液中黄独乙素的含量也呈现不同程度地增加(图2),说明异补骨脂素可通过抑制CYP450酶活性从而减少黄独乙素在大鼠肝脏中的代谢,且在给药7 d后,异补骨脂素给药组中黄独乙素剩余浓度高于阳性药组,表明异补骨脂素对CYP450酶的抑制作用较阳性对照酮康唑更强。

3.3 补骨脂素与异补骨脂素给药相同时间对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响

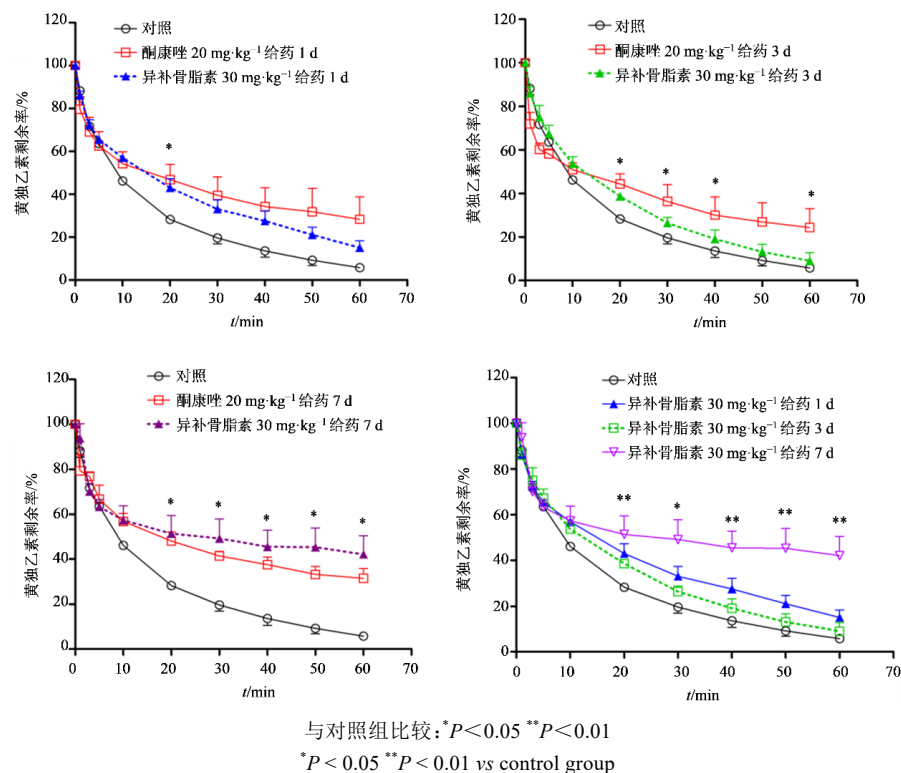
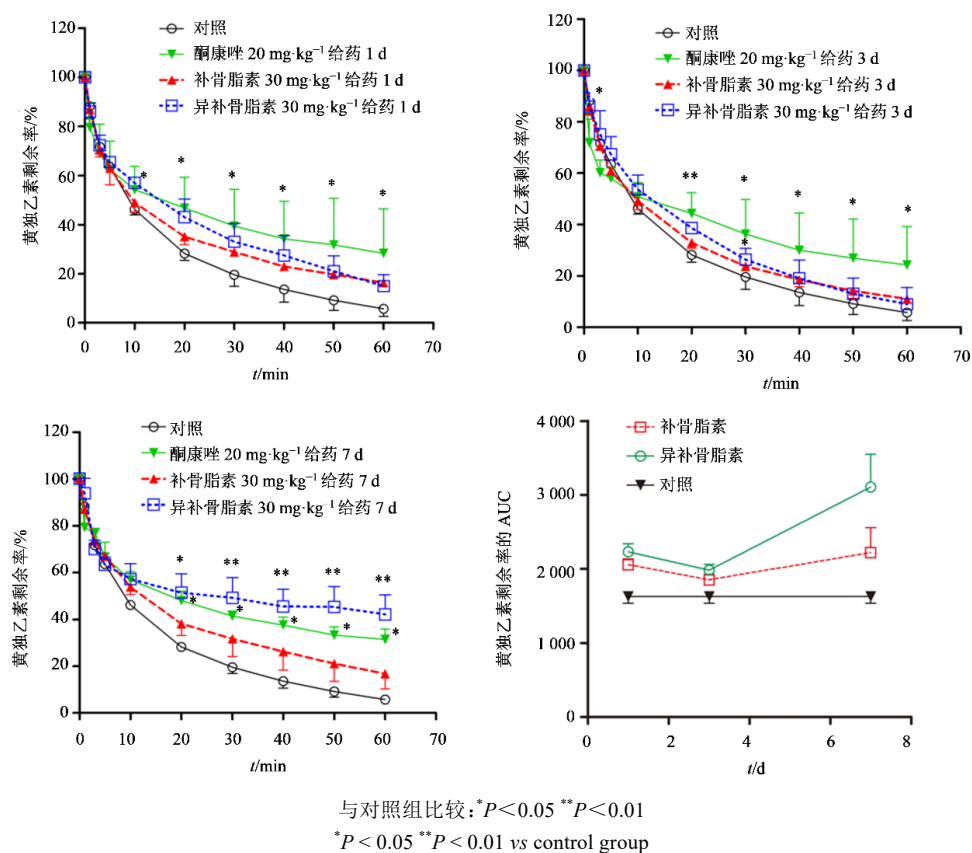
比较在相同给药时间条件下,补骨脂素与异补骨脂素对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响,结果显示给药1、3、7 d,异补骨脂素给药组的循环灌流液

中黄独乙素的剩余浓度均高于补骨脂素给药组循环灌流液中的黄独乙素剩余浓度,表明异补骨脂素对CYP450酶的抑制作用可能强于补骨脂素。见图3。

3.4 补骨脂素与异补骨脂素对黄独乙素在大鼠体内药动学的影响

大鼠单独ig给予 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 黄药子提取物后,黄独乙素的平均血药浓度-时间曲线呈现明显的双峰,其血药浓度在0.3 h左右到达第1个峰值,在10~12 h到达第2个峰值,药时曲线下面积($\text{AUC}_{0 \sim t}$)为 $(8.057 \pm 2.222) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$,平均驻留时间($\text{MRT}_{0 \sim t}$)为 $(7.89 \pm 1.17) \text{ h}$,其在大鼠血浆中24 h内可基本消除。

大鼠连续ig给予补骨脂素或异补骨脂素7 d,再

图2 异补骨脂素给药不同时间对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 2 Effect of administration of isopsoralen for different days on metabolism of diosbulbin B in rat liver ($\bar{x} \pm s, n=3$)图3 相同给药时间补骨脂素或异补骨脂素对黄独乙素在大鼠肝脏中代谢的影响差异 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Difference on metabolism of diosbulbin B in rat liver after treatment with psoralen or isopsoralen ($\bar{x} \pm s, n=3$)

给予黄药子提取物后,各组黄药子提取物中黄独乙素的平均血药浓度-时间曲线见图4,各项药动学参数见表1。给予补骨脂素或异补骨脂素干预后,黄独乙素的血浆浓度依旧在0.5 h内达峰,但与单独给

予黄药子提取物组相比,达峰时间略有延迟,平均血药浓度增加,约为黄药子提取物组的2倍, $MRT_{0\sim t}$ 明显延长,从黄药子提取物组的7.89 h,分别延长到13.72 h和9.73 h。

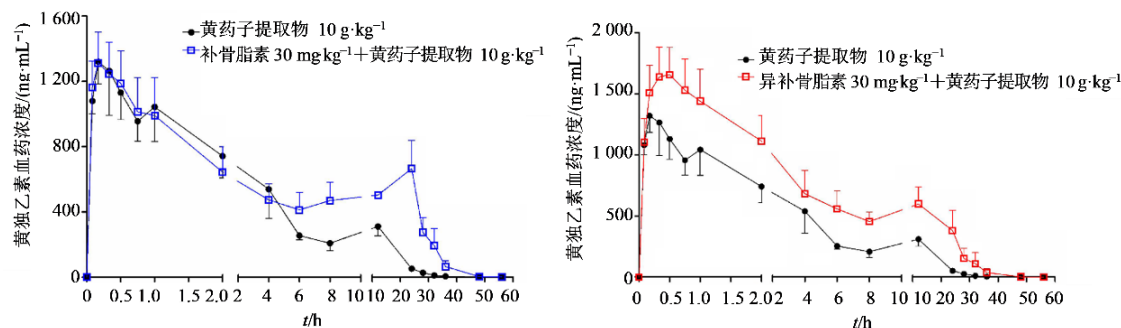


图4 补骨脂素或异补骨脂素干预后黄药子提取物中黄独乙素在大鼠血浆中的平均血药浓度-时间曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 4 Plasma concentration-time profiles of diosbulbin B after oral administration of psoralen or isopsoralen in rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

表1 补骨脂素或异补骨脂素干预后黄药子提取物中黄独乙素在大鼠血浆中的药动学参数($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of diosbulbin B after oral administration of psoralen or isopsoralen in rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

参数	单位	黄药子提取物($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	补骨脂素($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) + 黄药子提取物($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	异补骨脂素($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) + 黄药子提取物($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
$AUC_{0\sim t}$	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	$8\ 057\pm 2\ 222$	$16\ 112\pm 5\ 565$	$16\ 186\pm 10\ 054$
$AUC_{0\sim\infty}$	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	$8\ 072\pm 2\ 233$	$16\ 121\pm 5\ 565$	$16\ 210\pm 10\ 056$
$t_{1/2z}$	h	9.26 ± 0.46	4.53 ± 2.56	4.78 ± 1.82
$t_{\max}$	h	0.33 ± 0.17	0.42 ± 0.40	0.47 ± 0.32
$MRT_{0\sim t}$	h	7.89 ± 1.17	$13.72\pm 2.84^{***}$	$9.73\pm 2.66^*$
$MRT_{0\sim\infty}$	h	8.00 ± 1.16	$13.76\pm 2.83^{***}$	$9.80\pm 2.61^*$
$C_{\max}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$1\ 390.00\pm 334.07$	$1\ 368.00\pm 293.00$	$1\ 770.00\pm 593.59$

与黄药子提取物组比较: * $P<0.05$ *** $P<0.001$

* $P<0.05$ *** $P<0.001$ extract of *Dioscorea bulbifera*

4 讨论

临床治疗方案的不断完善、疾病种类的增加和治疗的专科细化,使得药物的治疗从单一治疗向联合治疗转变。联合用药在展现提高疗效的积极作用下,也会产生部分不良反应。因此,对药物相互作用产生的消极反应研究是一项长期而必要的任务,值得被关注与探索。2021年国家药品监督管理局药品审评中心最新颁布的《药物相互作用研究技术指导原则(试行)》^[28]表明对药物代谢、转运及相互作用等一系列研究中的重点是基于药动学的药物相互作用。与药动学相关的药物相互作用,主要与通过转运体转运和代谢酶的药物有关,其中基于代谢酶导致的药物相互作用常影响药物的吸收和代谢过程,可能通过改变血药/组织浓度,或活性/毒

性代谢物浓度,引发一系列用药安全问题。

肝脏是绝大多数药物代谢和转化的场所,其存在的CYP450酶在内、外源性化合物的处置以及代谢中起着重要作用。作为最主要的药物I相代谢酶,CYP450酶被抑制或诱导是导致代谢性相互作用的主要原因。其中,由于酶抑制导致药物间相互作用的临床意义更大,约占到代谢性相互作用的70%^[29],已确立临床上经过CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6、CYP3A4代谢的药物有90%以上^[30]。中药成分复杂,同时药物大多经过CYP450酶代谢,可能进一步影响其他药物在体内代谢情况而产生相互作用。

大鼠离体循环肝灌注法是一种兼备体外实验和整体器官实验优点的研究方法,能够在一段时间

内保持肝脏的正常生理活性和生化功能,还能排除其他组织器官的干扰^[31]。大鼠离体循环肝灌注的结果显示,补骨脂素或异补骨脂素可通过抑制CYP450酶的活性而导致酶对黄独乙素的代谢减少,使其在灌流液中含量相对增加,造成黄独乙素在大鼠肝脏中的蓄积,鉴于黄独乙素本身具有一定的肝毒性作用,其在肝脏的蓄积可能加重对肝脏的损伤。此外在比较相同给药时间下,补骨脂素及异补骨脂素对黄独乙素代谢影响的曲线下面积时发现:与给药1 d相比,在给药3 d时,黄独乙素剩余百分率的AUC均减少,即黄独乙素在体内代谢增加;而在给药7 d时,AUC的减少被逆转,这可能是代谢酶被抑制后,机体代偿性提高酶的表达与合成,以逆转体内代谢酶降低的情况,但当抑制剂作用时间延长后,这种作用又再一次被逆转。因此有必要进一步研究补骨脂素和异补骨脂素对CYP450酶的调控作用及机制。

采用药动学方法,探究了补骨脂素和异补骨脂素提前干预1周,再给予大鼠黄药子提取物后,黄独乙素在大鼠体内的药动学变化。结果显示,与黄药子提取物组相比,补骨脂素和异补骨脂素2个干预组的AUC_{0~t}增加,t_{1/2z}减少,异补骨脂素干预组C_{max}增加,但未见显著性差异;2个干预组的MRT_{0~t}值显著增加,此结果间接反映了黄独乙素有在体内蓄积的风险。

已有研究显示补骨脂中除补骨脂素和异补骨脂素外,还含有大量的补骨脂苷和异补骨脂苷,质量分数为6.05~17.04 mg·g⁻¹^[32]。补骨脂苷和异补骨脂苷经炮制后可分别转化为补骨脂素和异补骨脂素^[33],即炮制后补骨脂素和异补骨脂素的含量要多于生品。这可能使得补骨脂与其他药物合用时,更容易产生药物相互作用。

本研究分别在器官水平和整体动物水平考察了补骨脂素或异补骨脂素对黄独乙素在大鼠体内代谢的影响,结果显示异补骨脂素或补骨脂素可通过抑制大鼠肝脏中CYP450酶的活性,影响黄独乙素在大鼠体内的代谢,改变其药动学特征,造成黄独乙素在大鼠体内的蓄积,3种成分之间可产生基于CYP450酶的药物相互作用。由此推测白蚀丸致肝毒性的可能原因一方面与补骨脂和黄药子本身具有肝毒性有关,另一方面可能也与补骨脂和黄药子中主要成分之间发生药物相互作用有关,因此临床应用时需考虑避免与其他CYP450酶介导的药物的联合使用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李俊萱, 于海食, 宋雨婷, 等. 黄药子的现代研究进展[J]. 中国医药指南, 2013, 11(26): 52-55.
Li J X, Yu H S, Song Y T, et al. Advances in modern research of *Dioscorea bulbifera* L. [J]. Guide China Med, 2013, 11(26): 52-55.
- [2] 邱军强, 李春峰, 苗晶囡, 等. 黄药子的化学成分研究[J]. 中医药学报, 2013, 41(5): 14-16.
Qiu J Q, Li C F, Miao J N, et al. Research of chemical composition of *Dioscorea bulbifera* L. [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2013, 41(5): 14-16.
- [3] 朱大诚, 徐丽婷, 徐笑明. 黄药子化学成分研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 2020, 32(2): 117-121.
Zhu D C, Xu L T, Xu X M. Advances in the studies on the chemical constituents of *dioscoreae bulbiferae* L. [J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med, 2020, 32(2): 117-121.
- [4] 谭兴起, 阮金兰, 陈海生, 等. 黄药子抗炎活性成分的研究[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(6): 677-679.
Tan X Q, Ruan J L, Chen H S, et al. Study on anti-inflammatory constituents of *Dioscorea bulbifera* L. [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2003, 24(6): 677-679.
- [5] Kawasaki T, Komori T, Setoguchi S. Furanoid norditerpenes from Dioscoreaceae plants. I. diosbulbins A, B and C from *Dioscorea bulbifera* L. forma spontanea MAKINO et NEMOTO [J]. Chem Pharm Bull, 1968, 16 (12): 2430-2435.
- [6] Wang G, Liu J S, Lin B B, et al. Two new furanoid norditerpenes from *Dioscorea bulbifera* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2009, 57(6): 625-627.
- [7] Liu H, Chou G X, Guo Y L, et al. Norclerodane diterpenoids from rhizomes of *Dioscorea bulbifera* [J]. Phytochemistry, 2010, 71(10): 1174-1180.
- [8] 沈雄荣, 董建勇. 不同产地黄药子中黄独乙素的含量测定[J]. 医药导报, 2015, 34(7): 935-937.
Shen X R, Dong J Y. Determination of diosbulbin B in *Dioscorea bulbifera* L. from different regions [J]. Her Med, 2015, 34(7): 935-937.
- [9] 魏蒙蒙, 王树瑶, 杨 维, 等. 补骨脂的化学成分及主要毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 207-219.
Wei M M, Wang S Y, Yang W, et al. Chemical constituents of *psoraleae fructus* and its main toxic ingredients [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25 (7): 207-219.
- [10] 中国药典[S]. 一部. 2020: 195.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020: 195.

- [11] 鲁亚奇, 张 晓, 王 金 金, 等. 补骨脂化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 180-189.
Lu Y Q, Zhang X, Wang J J, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological actions of *Psoralea fructus* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(3): 180-189.
- [12] Li F M, Li Q H, Huang X Q, et al. Psoralen stimulates osteoblast proliferation through the activation of nuclear factor- κ B-mitogen-activated protein kinase signaling [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(3): 2385-2391.
- [13] Zhang H C, Ta N. Effect of isopsoralen on Smad7 in osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 1561-1567.
- [14] Sathaye S, Somani G, Kulkarni C, et al. *In vitro* acetylcholinesterase inhibition by psoralen using molecular docking and enzymatic studies [J]. J Pharm Bioall Sci, 2015, 7(1): 32.
- [15] 李孝明. 异补骨脂素通过雌激素 α 受体对脊髓的神经保护作用机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2017.
Li X M. Estrogen-like neuroprotection of isopsoralen against spinal cord injury through estrogen receptor ER α [D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2017.
- [16] 胡中花, 祁永华, 熊 辉, 等. 补骨脂素对人皮肤成纤维细胞衰老相关基因的调控作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(6): 751-754.
Hu Z H, Qi Y H, Xiong H, et al. Regulative effect of psoralen on aging-associated genes of human skin fibroblasts [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2015, 26(6): 751-754.
- [17] 杨 柳, 王业秋, 张 宁, 等. 异补骨脂素对人皮肤角质形成细胞光老化模型p-ERK1/2及炎症因子影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(6): 775-778.
Yang L, Wang Y Q, Zhang N, et al. Effect of isopsoralen on expression of p-ERK1/2 and inflammatory cytokines in light-aging human skin HaCaT model [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2016, 27(6): 775-778.
- [18] 张秋玲, 杨 佳, 卢奕霞. 白蚀丸致肝损害 [J]. 药物不良反应杂志, 2010, 12(4): 297-298.
Zhang Q L, Yang J, Lu Y X. Liver damage due to Baishi Pills [J]. Adverse Drug React J, 2010, 12(4): 297-298.
- [19] 赵文艳. 白蚀丸致药物性肝炎2例 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2004, 25(7): 766.
Zhao W Y. Two cases of drug-induced hepatitis caused by Baishi Pills [J]. J Qiqihar Med, 2004, 25(7): 766.
- [20] 孔宪陵, 李 辉, 朱家沂, 等. 中成药白蚀丸疑致药物性肝炎1例 [J]. 江苏药学与临床研究, 2004, 12(B11): 79.
Kong X L, Li H, Zhu J Y, et al. One case of suspected drug-induced hepatitis caused by Chinese patent medicine Baishi Pills [J]. Jiangsu Pharm Clin Res, 2004, 12(S1): 79.
- [21] 周克明, 施林林, 殷颖蕴. 白蚀丸引起急性黄疸型药物性肝炎1例 [J]. 临床皮肤科杂志, 2006, 35(11): 737-738.
Zhou K M, Shi L L, Yin Y Y. One case of acute jaundice drug-induced hepatitis induced by Baishi Pills [J]. J Clin Dermatol, 2006, 35(11): 737-738.
- [22] 国家食品药品监督管理局. 警惕白蚀丸引起的肝损害、注射用头孢拉定与血尿[EB/OL]. (2005-06-10) [2022-01-18]. https://www.cdr-adr.org.cn/drug_1/aqjs_1/drug_aqjs_xxtb/200806/t20080626_36875.html.
China Food and Drug Administration. Beware of liver injury caused by Baishi pills, cefradine for injection and hematuria [EB/OL]. (2005-06-10) [2022-01-18]. https://www.cdr-adr.org.cn/drug_1/aqjs_1/drug_aqjs_xxtb/200806/t20080626_36875.html.
- [23] 冯所安, 梁剑辉. 白蚀丸治疗白癜风458例小结 [J]. 中成药研究, 1985, 7(4): 24-25.
Feng S A, Liang J H. Summary of treatment of 458 cases of vitiligo with Baishi Pills [J]. Res Chin Pat Med, 1985, 7(4): 24-25.
- [24] 杜乐梅, 付淑军, 吴增光, 等. 黄独素B的体外代谢通路及其代谢产物研究 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5760-5766.
Du L M, Fu S J, Wu Z G, et al. Study on metabolic pathways and metabolites of diosbulbin B *in vitro* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(23): 5760-5766.
- [25] Hai Y, Feng S, Wang L L, et al. Coordination mechanism and bio-evidence: Reactive γ -ketoenal intermediated hepatotoxicity of psoralen and isopsoralen based on computer approach and bioassay [J]. Molecules, 2017, 22(9): 1451.
- [26] 钟玉环, 沈国林, 原 梅, 等. 补骨脂素和异补骨脂素对体外细胞色素P450酶活性的抑制和诱导作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(4): 522-528.
Zhong Y H, Shen G L, Yuan M, et al. Evaluation of cytochrome P450 inhibition and induction by psoralen and isopsoralen *in vitro* [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2012, 26(4): 522-528.
- [27] 许玉凤. 黄药子活性成分体内代谢性质研究 [D]. 北京: 军事医学科学院, 2018.
Xu Y F. Study on *in vivo* and *in vitro* metabolism and pharmacokinetics of active constituents in *Dioscorea bulbifera* L. [D]. Beijing: Academy of Military Sciences, 2018.
- [28] 国家药品监督管理局药品评审中心. 药物相互作用研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2021-01-26)[2022-01-18]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/5a15b727e605482c1cf594c689bb994b>.

- Center for Drug Evaluation of National Medical Product Administration. Guideline for drug interaction products [EB/OL]. (2021-01-26) [2022-01-18]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/5a15b727e605482c1cf594c689bb994b>.
- [29] 李伟杰. 浅谈细胞色素 P450 酶系与代谢性药物相互作用 [A] // 第十七届全国儿科药学会学术会议论文集 [C]. 南京: 中国药学会, 2006: 157-158.
- Li W J. The interaction between cytochrome P450 enzyme system and metabolic drugs [J]. Proceedings of 17th National Pediatric Pharmacy Academic Conference [C]. Nanjing: Chinese Pharmaceutical Association, 2006: 157-158.
- [30] Yamano S, Tatsuno J, Gonzalez F J. The *CYP2A3* gene product catalyzes coumarin 7-hydroxylation in human liver microsomes [J]. Biochemistry, 1990, 29(5): 1322-1329.
- [31] 陈晾宇, 徐玉宝, 付淑莉, 等. 离体肝灌注方法及其质量控制[J]. 河南医科大学学报, 1996, 31(1): 111-113.
- Chen Q Y, Xu Y B, Fu S L, et al. Methods and quality control of liver perfusion *in vitro* [J]. J Zhengzhou Univ (Medical Sciences), 1996, 31(1): 111-113.
- [32] 耿莲, 彭四威, 高秀梅, 等. 一种由(异)补骨脂苷制备(异)补骨脂素的简单、高效的方法 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1894-1896.
- Geng L, Peng S W, Gao X M, et al. A simple and efficient method for preparing (iso) psoralenoside from (iso) psoralen [J]. J Chin Med Mater, 2015, 38(9): 1894-1896.
- [33] 许枬, 贾天柱. 中药炮制转化: 提高中药饮片质量的新思路 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(8): 3173-3177.
- Xu N, Jia T Z. A new thinking for improving Chinese materia medica quality: TCM processing and conversion [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2016, 31(8): 3173-3177.

[责任编辑 刘东博]