

· 实验研究 ·

桑叶提取物对大鼠体内细胞色素 P450 酶活性的影响

盛晨鸣^{1,2}, 施晓艳^{1,2}, 丁泽贤^{1,2}, 陈云娜^{1,2}, 彭代银^{1,2}, 陈卫东^{1,2}

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽省中医药科学院, 安徽 合肥 230012)

[摘要]目的 采用“Cocktail”混合探针药物法, 探究桑叶水提取物(aqueous extract of mulberry leaves, AML)、桑叶醇提取物(ethanol extract of mulberry leaves, EML)对大鼠体内细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP450)酶活性的影响, 从代谢酶的角度预测它可能引起的药物相互作用, 为临床合理用药提供参考。**方法** 选用非那西丁、安非他酮、双氯酚酸钠作为大鼠体内 3 种 CYP450 酶(CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9)的探针药物。雄性 SD 大鼠连续灌胃桑叶提取物 14 d, 第 14 天灌胃后 30 min 尾静脉注射混合探针药物, 根据不同时间点采血。采用超高效液相色谱-串联质谱测定各组血药浓度, 用 DAS 2.0 和 SPSS 21.0 软件拟合药物代谢动力学参数并进行统计学分析。**结果** 连续灌胃桑叶提取物 14 d 后, 与 9.0 g/L 氯化钠注射液相比, AML 组中非那西丁、双氯酚酸钠代谢减慢, 安非他酮则不明显; 与羧甲基纤维素钠组相比, EML 组中安非他酮、双氯酚酸钠代谢减慢, 非那西丁则不明显。**结论** AML 对大鼠体内 CYP1A2、CYP2C9 可能存在一定的抑制作用, 对 CYP2B6 可能无显著性影响; EML 对大鼠体内 CYP2B6、CYP2C9 可能存在一定的抑制作用, 对 CYP1A2 可能无显著性影响。

[关键词]桑叶; 提取物; 细胞色素 P450 酶; “Cocktail”混合探针药物法

[中图分类号]R969.1 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2019.02.014

桑叶为桑科植物桑(*Morus alba* L.)的干燥叶, 中医又称“铁扇子”。《神农本草经》最早记载其“气味苦甘寒, 有小毒, 主寒热出汗”, 具有疏散风热的功效, 可用于治疗风热感冒^[1]。此外, 《本草纲目》有明确记载:“桑叶乃手、足阳明之药, 治劳热咳嗽, 明目长发, 止消渴。”现代研究表明, 桑叶具有降血糖^[2]、降血脂^[3]等作用, 是临床常见的中药之一。

随着临床上联合用药现象的普遍化, 药物间发生相互作用的频率也越来越大。代谢性相互作用主要是由于药物对代谢酶产生诱导或抑制作用所致, 细胞色素 P450 酶(cytochrome P450, CYP450)起着重要作用^[4]。药物代谢酶被抑制或者诱导是引发药物相互作用的关键机制。据统计有 70% 药物相互作用是由于代谢酶被抑制所引起的, 代谢酶被诱导的约占 23%, 其他约占 7%^[5]。

本研究参考相关文献^[6-9], 采用“Cocktail”探针药物法研究桑叶水提取物(aqueous extract of mulberry leaves, AML)和桑叶醇提取物(ethanol extract

of mulberry leaves, EML)对大鼠体内 CYP450 同工酶活性的影响。通过使用安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠这 3 种探针底物初步探讨桑叶提取物对大鼠体内 CYP450 酶活性的影响。

1 材料

1.1 仪器 超高效液相色谱-质谱联用仪: 美国 Agilent 公司; API 4500 3Q/MS, 美国 AB SCIEX 公司。TG16-WS 台式高速离心机: 长沙湘仪离心机仪器有限公司; KAB135-S 型十万分之一电子天平: 德国 METTLER TOLEDO 公司; XW-80A 微型旋涡混合仪: 上海沪西分析仪器厂有限公司; LC-4016 型低速离心机: 安徽中科中佳科学仪器有限公司。

1.2 药品与试剂 桑叶采摘于安徽省大别山地区, 经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为桑科植物 *Morus alba* L. 的干燥叶。非那西丁(纯度 ≥ 98.0%, 批号 100095-201502)、双氯酚酸钠(纯度 ≥ 99.9%, 批号 10033-200302)、安非他酮(纯度 ≥ 99.9%, 批号 100671-200301)标准品: 中国食品药品检定研究院; 格列本脲标准品(纯度 ≥ 98.0%, 批号 10238-21-8): 上海源叶生物科技有限公司; 氯化钠注射液(批号 L216061408): 安徽丰原药业有限公司; 甲酸: 江苏强盛功能化学股份有限公司; 盐酸: 上海振企化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈(色谱纯): 德国 Merck 公司。

1.3 实验动物 24 只 SD 雄性大鼠, 体质量为

基金项目:国家自然科学基金项目(81773988); 安徽高校科技创新团队项目(2016hz23); 安徽省科技攻关计划项目(1301042099)

作者简介:盛晨鸣(1994-), 男, 硕士研究生

通信作者:陈卫东(1965-), 男, 教授, 博士研究生导师, wuchen@ahtcm.edu.cn

(200±20)g,由安徽医科大学试验动物中心[生产许可证号为SCXK(皖)2011-002]提供。动物饲养环境:相对湿度(50±5)%,温度(25±2)℃。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm,1.7 μm);流动相:0.1%甲酸水溶液-乙腈;梯度洗脱程序:0.01~1 min,10%~80%乙腈;1~1.3 min,80%乙腈;1.3~2.0 min,80%~95%乙腈;2.0~3.0 min,95%~90%乙腈;3.0~3.5 min,90%乙腈;3.5~5.0 min,90%~10%乙腈。流速:0.2 mL/min;进样体积:2 μL;柱温:30℃。

2.2 质谱条件 离子化方式:电喷雾离子化(electron spray ionization, ESI),电多反应离子检测(multiple reaction monitoring, MRM)。毛细管电压:3.60 kV,离子源温度:400℃,去溶剂化温度:500℃。各成分质谱相关参数,见表1。

表1 探针药物及内标格列本脲的质谱相关参数

化合物	Q1/ (<i>m/z</i>)	Q3/ (<i>m/z</i>)	DP/ V	EP/ V	CE/ eV	CXP/ V
非那西丁	180.1	109.9	81	10	29.0	11
安非他酮	240.0	183.9	24	10	16.3	11
双氯酚酸钠	296.3	250.0	19	10	15.0	11
格列本脲	493.9	169.1	115	10	55.0	11

2.3 溶液配制

2.3.1 桑叶提取物的制备 AML:取适量桑叶与盐酸水溶液(pH=2)按料液比1:25,在70℃条件下回流提取2次,每次2.5 h,合并滤液,旋转蒸发后进行真空干燥;EML:取适量桑叶与95%乙醇按料液比1:15,回流提取2次,提取温度为85℃,每次1.5 h,合并两次滤液,旋转蒸发仪后真空干燥。临用前AML组用9.0 g/L氯化钠注射液(normal saline, NS),EML组用羧甲基纤维素钠(carboxymethyl-cellulose sodium, CMC)配制成0.2 g/mL(以桑叶生药量计)备用。

2.3.2 探针底物混合溶液的配制 在避光条件下分别精密称取安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠标准品15.04、15.12、14.99 mg置于50 mL棕色容量瓶中,精密加入0.50 mL无水乙醇,滴加20 μL吐温-80助溶,用生理盐水定容至刻度后混匀,超声,配制成质量浓度为0.3 mg/mL的“Cocktail”混合探针药物溶液,实验当天现配现用。

2.3.3 内标溶液配制 在避光条件下精密称取格列本脲对照品5 mg置于10 mL棕色容量瓶中,用甲醇溶液先溶解后定容至刻度,混匀配制成500 μg/mL的格

列本脲储备液。吸取格列本脲溶液适量,用甲醇稀释配制成500 ng/mL的格列本脲内标溶液。

2.4 分组给药及样品采集 将24只SD雄性大鼠随机分为EML组、AML组、NS组、CMC组,每组6只。适应性饲养3 d后于每日早晨按照1 g/kg给药量灌胃桑叶提取物溶液,NS组灌胃相同容积的NS,CMC组灌胃相同容积的0.5% CMC。连续给药14 d,第14天给药30 min后,4组大鼠均尾静脉注射“Cocktail”探针底物混合溶液,给药剂量为1 mg/kg。尾静脉注射探针底物混合溶液后的0.05、0.08、0.17、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 h,眼底静脉丛取血200 μL至已提前备好的肝素化离心管中,3 500 r/min离心15 min,取血浆上清液,放于-80℃冰箱保存。

2.5 血浆样品处理方法 本实验采用蛋白沉淀法处理血浆样品,精密吸取90 μL血浆样品置1.5 mL离心管中,精密加入10 μL已配制的格列本脲内标溶液,再加入300 μL甲醇溶液,1 500 r/min涡旋5 min,12 000 r/min高速离心10 min,取80 μL上清液置于进样小瓶中进行分析。

2.6 统计学方法 根据在不同时间点采血后得出的各组探针药物的血药浓度,使用Origin 8.0软件对血药浓度-时间曲线进行拟合,使用DAS 2.0软件拟合相关药物代谢动力学参数包括机体总清除率(clearance, CL)、药时曲线下面积(area under the curve, AUC)、生物半衰期(biological half time, $t_{1/2}$)等。用SPSS 21.0软件对各探针药物的药物代谢动力学参数进行统计学分析,采用独立样本 t 检验法对AML与NS组、EML与CMC组的药物代谢动力学参数进行统计学分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 方法学验证

3.1 专属性考察 取大鼠空白血浆混合液,大鼠空白血浆加混合探针药物加内标混合液,以及尾静脉注射混合探针药物后大鼠血浆,按“2.5”项下方法处理,采用“2.1”项下方法分析。结果表明,大鼠血浆中内源性物质不干扰色谱分析。

3.2 线性范围考察 精密吸取大鼠空白血浆90 μL,各加入一系列不同浓度的混合探针药物溶液10 μL,制备成安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠的系列浓度血浆样品,按“2.5”项下方法处理血浆样品,按“2.1”项下方法进样测定,记录各个峰面积,横坐标(x)为血浆样品标准品浓度(ng/mL),纵坐标(y)为对照品峰面积与内标峰面积之比,绘制各探针底物的标准曲线,计算各线性回归方程,结果

见表2。

表2 大鼠血浆中3种探针药物的回归方程和回归系数

探针底物	线性范围/ (ng/mL)	回归方程	R ²
安非他酮	5.00~1 500.00	$y=0.223 0x-0.400 9$	0.995 7
非那西丁	2.00~3 000.00	$y=0.128 6x+0.032 7$	0.998 5
双氯酚酸钠	5.00~10 000.00	$y=0.003 5x+0.010 2$	0.998 0

3.3 精密度和准确度考察 取适量探针药物混合溶液,配置5份混合探针药物的高、中、低、定量下限4个浓度的质控样品,按“2.5”项下方法处理,采用“2.1”项下方法分析依次进样测定。分别于一日内测定多次及连续3d内测定3次,记录各个峰面积并计算各探针底物峰面积与内标峰面积的比值,代入“3.2”项下标准曲线中得出各探针底物的浓度,计算实际测得量与加入量的比值,从而计算准确度及日间、日内精密度。结果表明该方法测得探针底物血浆样品的日内及日间精密度均良好,能够满足本实验中生物样品的分析要求。

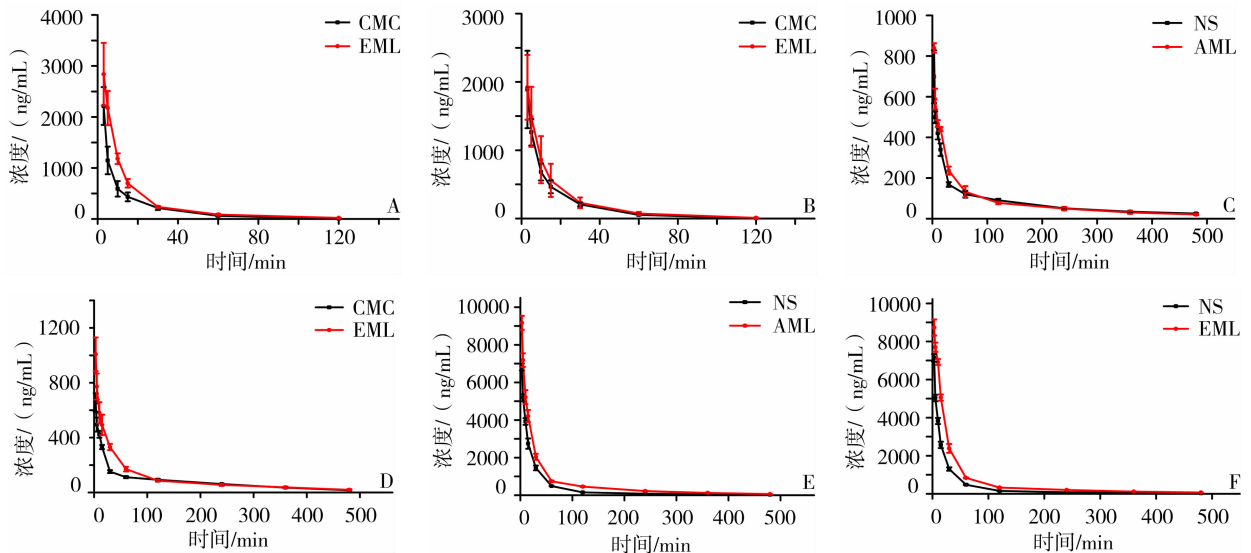
3.4 稳定性试验 按“2.5”项下方法操作,经血浆样品处理后混合探针药物的高、中、低、定量下限4个浓度的质控样品,分别考察血浆样品在室温放置2h以及反复冻融3次的短期稳定性,以及在-80℃条件下放置20d情况下的长期稳定性,依次进样测

定。结果表明稳定性良好,满足生物样品分析要求。

3.5 基质效应考察 取来自不同大鼠的空白血浆90 μL,分别加入各个不同浓度的探针底物混合溶液10 μL,配制成含安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠的高、中、低标准添加SD大鼠的血浆样本,每个浓度配制6份,然后按“2.5”项下方法处理血浆样品,按“2.1”项下方法进样测定,记录安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠的峰面积均为A1。另外用90 μL水代替SD大鼠空白血浆,其他步骤同上,记录安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠峰面积均为A2,则安非他酮、非那西丁、双氯酚酸钠的基质效应的计算公式均为(A1/A2)×100%。采用同样的方法计算内标格列苯脲峰面积并计算其基质效应。由结果可知,探针底物及内标的基质效应均在(100±5)%之间,即离子强度对本试验结果测定不产生干扰,能够满足底物定量分析的要求。

4 结果

4.1 探针药物的浓度-时间曲线 4组大鼠尾静脉探针药物后,将不同的采血点所得的血浆样品按“2.5”项下方法进行处理,使用Origin 8.0软件对血药浓度-时间曲线进行拟合,结果见图1。



注:A. AML组非那西丁;B. EML组非那西丁;C. AML组安非他酮;D. EML组安非他酮;E. AML组双氯酚酸钠;F. EML组双氯酚酸钠

图1 探针底物在大鼠体内的浓度-时间曲线

4.2 探针药物的药物代谢动力学参数 经DAS 2.0软件处理非那西丁、安非他酮、双氯酚酸钠的AUC、 $t_{1/2}$ 、CL等药物代谢动力学参数,结果用“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,用SPSS 21.0对每组数据进行统计分析,每组之间数据比较采用独立样本t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。结果表明,与NS

组相比,AML组中非那西丁、双氯酚酸钠的药物代谢动力学参数AUC_(0-t)、AUC_(0-∞)明显升高($P < 0.05$),CL明显降低($P < 0.05$),安非他酮AUC_(0-t)、AUC_(0-∞)、CL无明显变化($P > 0.05$)。推测AML组连续给药对大鼠体内CYP1A2、CYP2C9可能存在一定的抑制作用,而对CYP2B6可能无显

著性影响。与 CMC 组相比, EML 组中安非他酮、双氯酚酸钠的药物代谢动力学参数 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 明显升高 ($P < 0.05$), CL 明显降低 ($P < 0.05$), 非那西丁 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、CL 无明显变

化 ($P > 0.05$)。推测 EML 组连续给药对大鼠体内 CYP2B6、CYP2C9 可能存在一定的抑制作用, 而对 CYP1A2 可能无显著性影响。相关的药物代谢动力学参数见表 3、表 4、表 5。

表 3 桑叶提取物对非那西丁在大鼠体内药物代谢动力学参数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	$AUC_{(0-t)}$ / [mg/(L·min)]	$AUC_{(0-\infty)}$ / [mg/(L·min)]	t_{max} / min	c_{max} / (μ g/L)	$t_{1/2}$ / min	CL / [L/min·kg]
NS	6	29.50±4.27	29.65±4.29	3	2 214.0	16.53±1.51	0.034±0.005
AML	6	44.74±4.65*	45.46±4.72*	3	2 838.0	26.03±4.19	0.022±0.002*
CMC	6	29.58±3.39	29.76±3.29	3	1 889.7	17.57±4.10	0.034±0.003
EML	6	30.42±4.40	30.74±4.56	3	1 921.3	20.66±2.10	0.031±0.008

注:与 NS 组比较, * $P < 0.05$

表 4 桑叶提取物对安非他酮在大鼠体内药物代谢动力学参数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	$AUC_{(0-t)}$ / [mg/(L·min)]	$AUC_{(0-\infty)}$ / [mg/(L·min)]	t_{max} / min	c_{max} / (μ g/L)	$t_{1/2}$ / min	CL / [L/min·kg]
NS	6	38.68±2.13	44.82±3.08	3	698.8	175.40±26.59	0.022±0.001
AML	6	41.32±2.92	46.39±4.50	3	839.6	174.10±44.01	0.022±0.003
CMC	6	40.81±2.13	44.95±3.42	3	656.1	158.00±29.11	0.022±0.002
EML	6	49.06±2.28 [#]	55.10±5.75 [#]	3	1 007.2	150.30±27.43	0.019±0.002 [#]

与 CMC 组比较, [#] $P < 0.05$

表 5 桑叶提取物对双氯酚酸钠在大鼠体内药物代谢动力学参数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	$AUC_{(0-t)}$ / [mg/(L·min)]	$AUC_{(0-\infty)}$ / [mg/(L·min)]	t_{max} / min	c_{max} / (μ g/L)	$t_{1/2}$ / min	CL / [L/min·kg]
NS	6	180.80±4.78	187.70±4.40	3	6 817.6	148.70±15.78	0.005±0.001
AML	6	218.60±12.54*	230.10±12.05*	3	9 170.9	169.90±19.66	0.004±0.001*
CMC	6	174.60±4.10	182.90±4.18	3	7 137.7	167.50±14.34	0.005±0.001
EML	6	247.90±8.46 [#]	258.80±8.50 [#]	3	8 731.1	180.00±45.13	0.004±0.001 [#]

注:与 NS 组比较, * $P < 0.05$; 与 CMC 组比较, [#] $P < 0.05$

5 讨论

随着中药及中药制剂在医疗救治中的广泛使用,由中药-中药、中药-西药联合用药引起 CYP450 酶的诱导/抑制,产生的药物相互作用和不良反应的事件明显增加,受到临床药师和医师的广泛关注^[10-16]。通过研究中药对 CYP450 酶的调控作用可以预测中药的某些临床疗效,揭示中药之间及中西药并用的相互作用,从而指导临床合理用药,避免药物相互作用的发生,提高中药使用的安全性和有效性^[17-18]。因此,本研究希望通过初步探讨桑叶不同提取物对大鼠体内 CYP450 酶活性的影响来为后期临床联合给药提供一定的参考意见。

本实验参考 2015 年版《中华人民共和国药典》以确定桑叶不同提取物的给药量^[19],最终桑叶不同提取物的给药量为 1 g/kg。由于中药多为口服,故本实验给药方式的选择为灌胃给药。本实验参照课题组前期研究并进行验证^[20-22]。与 NS 组相比,CMC 组中各探针底物的主要药物代谢动力学参数无显著差异,表明可以用 0.5% CMC-Na 溶液溶解难溶

性药物用于研究药物对 CYP450 酶活性的影响。

CYP1A2 是 CYP 家族中与药物代谢关系最为密切的亚酶,其可以代谢 8%~10% 的上市药物^[23-24]。本实验结果表明,连续灌胃给予桑叶不同提取物 14 d 后,与 NS 组相比,AML 组中非那西丁在大鼠体内血药浓度升高,代谢减慢,表明连续灌胃给药 AML 对大鼠体内 CYP1A2 可能存在一定的抑制作用,而连续灌胃给药 EML 对大鼠体内 CYP2B1 酶活性无显著性影响。提示 AML 与其他通过 CYP1A2 酶代谢的药物同时使用时可能需要调整剂量。另外,3 种 CYP1 酶 (CYP1A1、CYP1A2 和 CYP1B1) 都参与各种致癌物的代谢活化,它们的诱导可能对人类健康构成严重危害^[25]。因此,AML 对其的抑制作用可能在癌症预防中起重要作用。

CYP2B6 在人体内参与某些前致癌物和毒素物质的激活而备受人们的关注。本实验结果表明,连续灌胃给予 AML 对大鼠体内 CYP2B6 酶活性无显著性影响,而 EML 中安非他酮在大鼠体内血药浓度升高,代谢减慢,表明对大鼠体内 CYP2B6 可能

存在一定的抑制作用。说明 AML 可减少机体对前致癌物和前毒性物质的代谢,对糖尿病状态下的机体代谢可能起到一定的改善和保护作用。值得注意的是,与 CMC 相比,EML 组中 c_{max} 增大了 1.54 倍,这意味着连续灌胃 EML 对大鼠 CYP 酶的活性产生了相当大的影响。因此,EML 与其他通过 CYP2B6 酶代谢的药物联合使用时需谨慎,应及时调整给药剂量并对其进行监测,避免药物之间相互作用导致产生药物不良反应。

CYP2C 是 CYP450 家族中具有代表性的重要酶类,占总肝 CYP 含量的 1/5,参与临床药物代谢的约有 16%。在这个家族中,CYP2C9 参与了多种降糖药(如格列本脲、甲苯磺丁脲和二甲双胍)的代谢^[26]。本实验结果显示,连续灌胃给予桑叶不同提取物 14 d 后,AML 和 EML 组中双氯芬酸钠在大鼠体内均存在血药浓度升高,代谢减慢的现象,表明 CYP2C6 在给大鼠连续灌胃给药 AML 和 EML 后存在一定的抑制作用。提示临床上 AML 和 EML 与 CYP2C9 底物药物联用时,应注意及时调整剂量,避免在用药过程中引发药物浓度过高所引起的毒性及不良反应。

综上所述,本研究探索药物相互作用的方法和模型,适合初步筛选可能存在的药物相互作用。当桑叶提取物与 CYP1A2,CYP2B6,CYP2C9 酶代谢的药物联用时,应密切关注临床药物-药物的相互作用。

参考文献:

[1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.

[2] 唐明敏. 桑叶降糖有效物质基础及其作用机理研究[D]. 北京:北京中医药大学,2016.

[3] 李向荣,陈菁菁,刘晓光. 桑叶总黄酮对高脂血症动物的降血脂效应[J]. 中国药理学杂志,2009,44(21):1630-1633.

[4] MICHIELAN L, TERFLOTH L, GASTEIGER J, et al. Comparison of multilabel and single-label classification applied to the prediction of the isoform specificity of cytochrome p450 substrates [J]. J Chem Inf Model, 2009,49(11):2588-2605.

[5] WILLIAMS C A, HARBORNE J B, NEWMAN M, et al. Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(8):1349-1357.

[6] 胡道德,顾磊,姚慧娟,等. Cocktail 探针药物评价淫羊藿提取物对大鼠 CYP450 酶的影响[J]. 中国新药与临床杂志,2009,28(5):337-341.

[7] 樊慧蓉,和凡,刘昌孝. Cocktail 探针药物法用于评价细胞色素 P450 同工酶影响的研究进展[J]. 中国药理学

杂志,2006,41(14):1045-1048.

[8] 陆兔林,苏联麟,季德,等. CYP450 酶与中药代谢相互作用及酶活性测定的研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(18):3524-3529.

[9] 陈伟,何瑞曦,彭慧,等. 新藤黄酸对大鼠肝微粒体细胞色素 P450 亚型酶活性的影响[J]. 安徽中医药大学学报,2016,35(1):78-83.

[10] 董宇,王阶,杨庆,等. CYP450 酶与中药代谢相互作用关系研究概况[J]. 中国中医药信息杂志,2011,18(1):100-103.

[11] 宋菲,杨健,王春,等. Cocktail 探针药物法评价羊耳菊对大鼠 CYP450 酶活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(19):29-36.

[12] 刘育含,才谦. 无梗五加果实提取物对大鼠 CYP450 活性的影响[J]. 现代药物与临床,2017,32(8):1410-1415.

[13] 刘亭,刘香香,陆定艳,等. 灯盏细辛和赤芍配伍组方对小鼠部分肝细胞色素 P450 亚型活性的影响及其机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(13):124-130.

[14] 蔡小军,黄凯,宋惠珠,等. 斑蝥酸钠维生素 B6 和复方苦参注射液对人肝微粒体细胞色素 P450 酶活性的抑制作用[J]. 中国临床药理学杂志,2017,33(21):2150-2153.

[15] 崔明宇,王美薇,杨柳,等. 蓬子菜香叶木苷对大鼠细胞色素 P450 酶活性影响[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2016,32(4):406-408.

[16] 洪小凤,林晶,杨强丽. "Cocktail"探针药物法评价苦碟子注射液对大鼠 CYP450 酶活性的影响[J]. 海峡药理学,2017,29(3):25-29.

[17] 杨鑫宝,刘建勋. 近 10 年中药与药物代谢酶相互作用的研究进展[J]. 中国中药杂志,2012,37(7):871-877.

[18] 秦琰杰,汪难喜,张新林,等. 药物代谢酶和转运体介导的辣椒素-药物相互作用研究进展[J]. 中国药理学杂志,2018,53(1):1-5.

[19] 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,2015:298.

[20] 王妍妍. 茯苓对大鼠细胞色素 P450 酶活性及 mRNA 表达的影响[D]. 合肥:安徽中医药大学,2017.

[21] 洪世忠,施哲媛,何帆,等. 左归饮水提取物对大鼠 Cyp2b1、Cyp2c11、Cyp2c7 亚酶活性的影响[J]. 安徽中医药大学学报,2018,37(4):59-64.

[22] 葛韬,彭慧,张变,等. 聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯对大鼠体内细胞色素 P450 酶活性的影响[J]. 中南药学,2017,15(12):1699-1703.

[23] JIANG B, MENG L, ZHANG F, et al. Enzyme-inducing effects of berberine on cytochrome P450 1A2 *in vitro* and *in vivo* [J]. Life Sciences,2017,189:1-7.

[24] KAPOOR N, PANT A B, DHAWAN A, et al. Cyto-

chrome P450 1A isoenzymes in brain cells; expression and inducibility in cultured rat brain neuronal and glial cells[J]. *Life Sciences*, 2006, 79(25): 2387-2394.

- [25] HE X, FENG X. Role of metabolic enzymes P450 (CYP) on activating procarcinogen and their polymorphisms on the risk of cancers[J]. *Current Drug Metabolism*, 2015, 16(10): 850-863.

- [26] MARTIGNONI M, GROOTHUIS G M, DE KANTER R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2006, 2(6): 875-894.

(收稿日期: 2018-07-19; 编辑: 曹健)

Effect of Mulberry Leaf Extract on the Activity of Cytochrome P450 Enzymes in Rats

SHENG Chen-ming^{1,2}, SHI Xiao-yan^{1,2}, DING Ze-xian^{1,2}, CHEN Yun-na^{1,2}, PENG Dai-yin^{1,2}, CHEN Wei-dong^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 2. Anhui Academy of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China)

[Abstract] Objective To investigate the effects of aqueous extract of mulberry leaves (AML) and ethanol extract of mulberry leaves (EML) on the activity of cytochrome P450 enzymes in rats based on the cocktail probe drug method, as well as possible drug interactions caused by AML and EML from the aspect of metabolic enzymes, and to provide a reference for rational drug use in clinical practice. **Methods** Phenacetin, bupropion, and diclofenac sodium were selected as the probe drugs for three cytochrome P450 enzymes in rats (CYP1A2, CYP2B6, and CYP2C9). Male Sprague-Dawley rats were given mulberry leaf extract by gavage for 14 consecutive days, and tail vein injection of probe drugs was performed at 30 minutes after the last administration on day 14. Blood samples were collected at different time points. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to measure the plasma concentrations of drugs, and DAS 2.0 and SPSS 21.0 were used for the fitting of pharmacokinetic parameters and were used to perform a statistical analysis. **Results** Compared with the 9.0 g/L sodium chloride injection group, the AML group had significant reductions in the metabolic rates of phenacetin and diclofenac sodium after 14 consecutive days of intragastric administration of AML, while there was no significant change in the metabolic rate of bupropion. Compared with the sodium carboxymethyl cellulose group, the EML group had significant reductions in the metabolic rates of bupropion and diclofenac sodium, while there was no significant change in the metabolic rate of phenacetin. **Conclusion** AML may have a certain inhibitory effect on the activities of CYP1A2 and CYP2C9 in rats, and may have no marked influence on the activity of CYP2B6. EML may have a certain inhibitory effect on the activities of CYP2B6 and CYP2C9 in rats, and may have no marked influence on the activity of CYP1A2.

[Key words] Mulberry leaf; Extract; Cytochrome P450 enzymes; Cocktail probe drug method