

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00154

黄芩苷与甘草酸对恩诺沙星在异育银鲫体内代谢的影响

房文红¹, 周常^{1,2}, 孙贝贝¹, 李国烈¹, 杨先乐², 李新苍¹, 胡琳琳¹

1. 中国水产科学研究院 东海水产研究所 农业部海洋与河口渔业资源及生态重点开放实验室, 上海 200090;

2. 上海海洋大学 国家水生动植物病原库, 上海 201306

摘要: 将黄芩苷(baicalin, BL)和甘草酸(glycyrrhizin, GZ)口灌异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*), 探讨其对恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)在体内的代谢和肝微粒体细胞色素氧化酶 CYP1A、CYP3A 活性的影响。异育银鲫连续 7 d 分别口灌黄芩苷(100 mg/kg)和甘草酸(100 mg/kg), 以口灌玉米油作为对照。末次给药 24 h 后每组随机取 10 尾腹腔注射恩诺沙星(10 mg/kg), 采用单个动物连续采血, HPLC 测定血浆恩诺沙星和其代谢产物环丙沙星(cipmefloxacin, CIP)浓度, 分析药动学及其参数; 同时每组选取 6 尾检测肝微粒体 CYP1A 和 CYP3A 活性。结果表明: (1)黄芩苷(BL)和甘草酸(GZ)对恩诺沙星的吸收有明显抑制作用, 主要表现在恩诺沙星峰浓度($C_{\max}$)降低, 曲线下面积(AUC)减少; (2)口灌 BL 和 GZ 后, 恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星的消除半衰期($t_{1/2\alpha}$)明显小于对照组($P<0.05$), 而总体清除率(CL_Z/F)则增大, 说明黄芩苷和甘草酸促进了恩诺沙星和环丙沙星的消除; (3)口灌 BL 和 GZ 后, BL 组和 GZ 组的 $C_{\max\text{-CIP}}/C_{\max\text{-ENR}}$ 比值分别为 1.48%、2.22%, 对照为 0.95%; BL 组和 GZ 组的 $AUC_{0-t\text{-CIP}}/AUC_{0-t\text{-ENR}}$ 比值分别为 2.16%、1.76%, 对照为 1.7%。综合分析代谢产物环丙沙星峰浓度、 $C_{\max\text{-CIP}}/C_{\max\text{-ENR}}$ 和 $AUC_{0-t\text{-CIP}}/AUC_{0-t\text{-ENR}}$ 比值可以得出, 黄芩苷和甘草酸对恩诺沙星 N-脱乙基具有诱导作用; (4)与对照组相比较, BL 组和 GZ 组的 7-乙氧基异吩唑酮-O-脱乙基酶(EROD, CYP1A 标志酶)和红霉素-N-脱甲基酶(ERND, CYP3A 标志酶)活性显著升高($P<0.05$), 说明黄芩苷和甘草酸对 CYP1A 和 CYP3A 都有诱导作用。结合以上结果, 认为黄芩苷和甘草酸加速了恩诺沙星的消除和其代谢产物 CIP 的生成, 很可能与诱导 CYP1A 和 CYP3A 活性有关。

关键词: 异育银鲫; 恩诺沙星; 药动学; 黄芩苷; 甘草酸; CYP450

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0154-07

临床上中西药经常联合使用, 如黄连、黄柏和四环素合用治疗痢疾, 其疗效可成倍提高^[1], 可见联合用药会产生药物-药物相互作用(drug-drug interactions, DDIs)。DDIs 分为理化、药动学和药效学相互作用, 其中药动学相互作用可能发生在吸收、分布、代谢和排泄中, 代谢性药物相互作用的发生率最高, 占药动学 DDIs 的 40%^[2], 而 DDIs 主要由药物对细胞色素 P450 酶(CYP450)产生诱导或抑制作用所致。同样, 中西药联合使用产生的相互作用中, 由 CYP450 引起的占很大比重^[3], 如银杏叶提取物可诱导大鼠 CYP1A2 并显

著降低苯巴比妥血药浓度^[4]; 尼非地平与 CYP3A4 抑制剂人参合用后, 血药浓度明显上升^[5]。

黄芩苷(baicalin, BL)和甘草酸(glycyrrhizin, GZ)分别是中药黄芩和甘草的主要有效成分之一, 临床上主要用于抗菌消炎^[6]和抗病毒感染^[7]。中医上认为它们能够“调合百药、缓解药性”, 说明其对与之配伍的药物具有重要影响。胡椒碱能显著增大口服抗癫痫药苯妥英钠的吸收速率常数, 减小其消除速率常数, 提高其血药浓度^[8]; 甘草可影响氨茶碱的药动学, 使血药 $C_{\max}$ 和曲线下面积(AUC)减小, 总体清除率增大^[9]。在水产养殖中,

收稿日期: 2011-05-11; 修订日期: 2011-06-25.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(201203085); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)(2007M06).

作者简介: 房文红, 研究员, 从事水产动物药理学研究. Tel:021-65699301; E-mail: whfang06@yahoo.com.cn

黄芩苷和甘草酸等中药由于具有低毒、低污染和不易产生耐药性等优点,在水产动物疾病防治中的应用日益受到重视,已逐渐应用于鱼类细菌和病毒性疾病防治,且常被推荐和化学渔药联合使用,如黄连和诺氟沙星合用防治细菌性烂鳃病,三黄散与恩诺沙星合用防治出血病^[10],但对药物代谢酶 P450 的影响及药物相互作用的研究几乎是空白。鉴于此,本研究选择中国常见淡水鱼异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*),研究黄芩苷和甘草酸对恩诺沙星在其体内代谢的影响,为中西药联合用药的相互影响和作用机制提供理论基础,促使水产药物更加安全有效地使用。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

黄芩苷和甘草酸(纯度 $\geq 98\%$)购自鼎瑞化工(上海)有限公司;恩诺沙星(Enrofloxacin, ENR)和环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)标准品(纯度 $\geq 99.5\%$),购自 Sigma 公司;恩诺沙星原料药(纯度 $\geq 98.0\%$)购于浙江新昌兽药厂。7-乙氧基异吩唑酮、试卤灵和红霉素购自 Sigma 公司,还原性辅酶 II (NADPH)购自上海生工生物工程技术有限公司,甲醇和乙腈(HPLC 级)均购自德国默克公司,四丁基溴化铵、磷酸等(分析纯)购自国药集团上海化学试剂公司。

1.2 仪器和设备

高效液相色谱仪,美国沃特斯公司 Waters 2695,色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈(5 μm , 150 $\times$ 4.6 mm, I.D.), 荧光检测器 Waters 2475。超速冷冻离心机(Beckman Optima L-100XP), 荧光分光光度计(上海三科仪器有限公司, 970CRT), 紫外分光光度计(上海尤尼克仪器有限公司, UV-2802S), 超低温冰箱(-80 $^{\circ}\text{C}$, 美国 Thermo), 超纯水仪(美国产, Millipore Advantage A10), 电子分析天平(瑞士产, Mettler Toledoab 204, 感量 0.000 1 g), 高速冷冻离心机(日本产, HITACHI CF16RX II), 以及 0.22 μm 微孔滤膜等。

1.3 实验动物

实验用异育银鲫购自上海青浦某养殖场, 体

质量(200 $\pm$ 13) g, 暂养于 5 个具有循环过滤装置的容积为 35 cm $\times$ 80 cm $\times$ 45 cm 的玻璃缸中, 循环水养殖, 水温 26~27 $^{\circ}\text{C}$, 投喂不含喹诺酮类药物的人工配合饲料并及时排污和残饵, 暂养 4 周后挑选健康的个体用于实验, 实验期间异育银鲫成活率为 100%。

1.4 口灌给药与样品采集

黄芩苷和甘草酸用玉米油作为溶剂溶解, 恩诺沙星用 0.1 mol/L 氢氧化钠助溶, 再用无菌蒸馏水配成 10 mg/mL 的贮存液。实验鱼随机分成 3 组, 每组 20 尾, 分别口灌黄芩苷(BL 组)和甘草酸(GZ 组), 给药剂量为 100 mg/(kg $\cdot$ d), 口灌玉米油作为对照组。分别连续口灌 7 d, 每天 1 次, 观察 5 min 无饵料回吐用于实验。末次给药后 24 h, 每组随机选择 6 尾取肝组织用于制备微粒体; 另外, 从 BL 组、GZ 组和对照组中分别随机选择 10 尾单次腹腔注射恩诺沙星, 给药剂量为 10 mg/kg, 给药后每尾鱼单独饲养于 20 cm $\times$ 40 cm $\times$ 30 cm 的玻璃缸中, 于 5 min、30 min、1 h、2 h、4 h、8 h、12 h、1 d、2 d、3 d、4 d 下每尾鱼连续抽取 0.3 mL 血液, 置于预先装有肝素钠抗凝剂的 1.5 mL 离心管中, 全血于 8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.5 药样品处理

血浆样品于室温自然融解后, 摇匀, 吸取 200 μL 上清液置于 1.5 mL 离心管内, 加入等体积甲醇, 旋涡混合仪剧烈混合 2 min, 于 10 000 r/min 转速离心 5 min, 吸取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 用于 HPLC 分析。

1.6 流动相和色谱条件

流动相为乙腈: 0.01 mol/L 四丁基溴化铵溶液(磷酸调至 pH=2.8)=5:95(V/V), 使用前用超声波脱气 10 min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.2 mL/min; 进样量 10 μL ; 荧光检测波长 E_{x} =280 nm, E_{m} =450 nm。

1.7 微粒体制备及酶活性测定

异育银鲫肝微粒体制备参照 Novi 等^[11]的方法; 7-乙氧基异吩唑酮-O-脱乙基酶(EROD)活性测定参照 Lange^[12]的方法; 红霉素-N-脱甲基酶(ERND)活性测定参照 Tu 等^[13]的方法。

1.8 数据分析

腹腔注射给药下异育银鲫血药浓度-时间关系曲线的药动学参数采用统计矩原理来推算,模型的拟合和参数的推理采用上海中医药大学药物临床研究中心的 DAS 2.1.1 药物与统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 异育银鲫血浆 ENR 浓度与时间关系

腹腔注射给药后,异育银鲫血药恩诺沙星浓度与时间关系曲线如图 1 所示。BL 组 ENR 浓度先上升后下降,达峰时间($T_{\max}$)和峰浓度($C_{\max}$)分别为 0.5 h 和(7.685±2.392) mg/L; GZ 组和对照组 ENR 浓度均在第 1 个采样点最高, $T_{\max}$ =0.083 h, ENR 峰浓度($C_{\max}$)分别为(5.769±1.164) mg/L 和 (10.470±2.088) mg/L。BL 组和 GZ 组 ENR 的 $C_{\max}$ 仅为对照组的 76%和 55%。

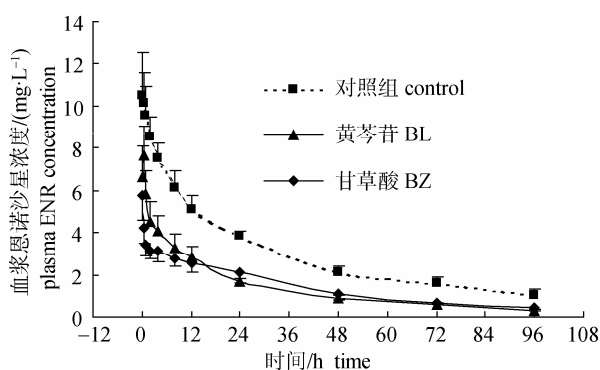


图 1 口服黄芩苷和甘草酸后异育银鲫血浆恩诺沙星浓度-时间关系

Fig.1 Mean plasma ENR concentration vs. time curves of crucian carp after coadministration of BL and GZ

2.2 异育银鲫血浆 ENR 药动学参数

腹腔注射给药后,血浆恩诺沙星药动学参数采用统计矩原理推算,参数见表 1。BL 组和 GZ 组血药曲线下面积(AUC_{0-t})分别为 132.301 mg·h/L 和 136.358 mg·h/L,为对照组的 46.40%和 47.81%。BL 组消除最快,消除半衰期($t_{1/2z}$)为 25.90 h,其次是 GZ 组,为 30.21 h,明显低于对照组(37.38 h); BL 组和 GZ 组总体清除率($CL_{z/F}$)较对照均有明显提高,均达到对照组的 2 倍以上。

2.3 异育银鲫血浆代谢产物 CIP 浓度与时间关系

腹腔注射给药后,恩诺沙星的代谢产物环丙沙星血药浓度与时间关系曲线见图 2。3 组的 CIP 浓度变化趋势相同,都表现为先上升后下降,但达峰时间和峰浓度不同。对照组和 GZ 组的 $T_{\max}$ 相同,均为 8 h,但 $C_{\max}$ 不同,分别为(0.099±0.029) mg/L 和 (0.128±0.024) mg/L; BL 组达峰较晚, $T_{\max}$ =12 h, $C_{\max}$ 为(0.114±0.028) mg/L。BL 组和 GZ 组的 $C_{\max-CIP}/C_{\max-ENR}$ 比值分别为 1.48%、2.22%,对照组为 0.95%。

2.4 异育银鲫血浆代谢产物 CIP 药动学参数

腹腔注射给药后,血浆中 ENR 代谢产物 CIP 处置过程药动学参数同样采用统计矩原理推算,参数见表 2。BL 组和 GZ 组的保留时间(MRT)、表观分布容积($V_{z/F}$)和 $t_{1/2z}$ 均明显低于对照组,而总体清除率($CL_{z/F}$)却高于对照组。虽然 BL 组和 GZ 组血药 CIP 曲线下面积(AUC)低于对照组,但 BL 组和 GZ 组的血药 $AUC_{0-t-CIP}/AUC_{0-t-ENR}$ 比值分别为 2.16%、1.76%,而对照组为 1.7%。

2.5 黄芩苷和甘草酸对异育银鲫肝 P450 药酶活性的影响

BL 和 GZ 口灌异育银鲫后,其肝 CYP1A 和 CYP3A 活性见表 3。BL 组肝微粒体 EROD 和 ERND 活性显著高于对照组($P<0.05$),GZ 组肝微粒体 EROD 和 ERND 活性与对照组差异极显著($P<0.01$),与对照组相比较,2 个给药组药酶活性增加了 1 倍左右。

3 讨论

许多中药对 P450 药酶具有诱导或抑制作用,明确中药及其有效成分对 P450 药酶的影响,对临床用药具有指导意义。在哺乳动物中,甘草灌胃给药大鼠 7 d 对 CYP1A 活性具有诱导作用^[14],人口服甘草酸 14 d 能诱导 CYP3A 活性升高^[15],黄芩苷对人肠细胞 LS174T 的 CYP3A4 活性和蛋白表达都具有诱导作用^[16]。韩华等^[17]研究了黄芩苷对牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)肝 CYP1A 活性和基因表达的影响,结果发现黄芩苷对 CYP1A 具有诱导作用,且与诱导时间和剂量呈正相关。本实验中,采用 EROD 和 ERND 分别作为 CYP1A 和 CYP3A 的标志酶,黄芩苷和甘草酸连续用药

表 1 腹腔注射给药后恩诺沙星在异育银鲫血浆中药动学参数(统计矩原理)

Tab.1 Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in plasma from crucian carp after intraperitoneal injection based on statistical moment theory

药动学参数 pharmacokinetic parameter	对照组 control	黄芩苷 baicalin	甘草酸 glycyrrhizin
$C_{\max}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	10.470±2.088	7.685±2.392	5.769±1.164
$T_{\max}/\text{h}$	0.083	0.5	0.083
$AUC_{0-t}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	285.142	132.301	136.358
$AUC_{0-\infty}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	339.674	143.585	152.555
MRT_{0-t}/h	30.867	26.305	30.500
$MRT_{0-\infty}/\text{h}$	49.984	34.720	42.084
$V_{z/F}/(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1})$	1.588	2.603	2.858
$t_{1/2z}/\text{h}$	37.384	25.904	30.217
$CL_{z/F}/(\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1})$	0.029	0.070	0.066

注: $C_{\max}$ 为药峰浓度; $T_{\max}$ 为达峰时间; AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 0- t 时间、0- ∞ 时间的曲线下面积; MRT_{0-t} 、 $MRT_{0-\infty}$ 分别为 0- t 时间、0- ∞ 时间的保留时间; $V_{z/F}$ 为表观分布容积; $t_{1/2z}$ 为消除半衰期; $CL_{z/F}$ 为总体清除率。

Note: $C_{\max}$ -peak OTC concentration; $T_{\max}$ -time to reach peak concentration; AUC_{0-t} -area under the concentration-time curve from zero to time t ; $AUC_{0-\infty}$ -area under the concentration-time curve from zero to infinity; MRT_{0-t} -area residence time from zero to time t ; $MRT_{0-\infty}$ -area residence time from zero to infinity; $V_{z/F}$ -the apparent volume of distribution; $t_{1/2z}$ -elimination half-life; $CL_{z/F}$ -total body clearance.

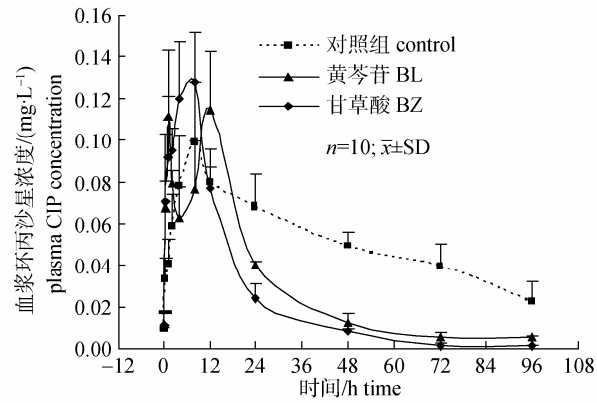


图 2 口服黄芩苷和甘草酸后异育银鲫血浆环丙沙星浓度-时间关系

Fig.2 Mean plasma CIP concentration vs. time curves of crucian carp after coadministration of BL and GZ

7 d 后能显著提高两个药酶活性,由此可见黄芩苷和甘草酸对药酶的诱导作用具有普遍性。

更为值得关注的是,药酶被诱导或抑制后,其底物的代谢将受到影响。中药对 P450 药酶活性的影响日益受到临床用药的重视^[18]。本实验中,恩诺沙星进入机体内后,一方面通过原型药的方式消除,另一方面还可以通过代谢生成各种代谢产物消除。在多种动物体内环丙沙星是恩诺沙星的主要代谢产物^[19]。口灌黄芩苷和甘草酸后,代谢产物环丙沙星血药 $C_{\max}$ 高于对照组, BL 组和

GZ 组的 $C_{\max}\text{-CIP}/C_{\max}\text{-ENR}$ 比值分别为 1.48%、2.22%, 对照为 0.95%; BL 组和 GZ 组的 $AUC_{0-t}\text{-CIP}/AUC_{0-t}\text{-ENR}$ 比值分别为 2.16%、1.76%, 而对照组为 1.7%。综合恩诺沙星代谢生成环丙沙星的 $C_{\max}$ 、 $C_{\max}\text{-CIP}/C_{\max}\text{-ENR}$ 和 $AUC_{0-t}\text{-CIP}/AUC_{0-t}\text{-ENR}$ 比值可以得出,黄芩苷和甘草酸对恩诺沙星 N-脱乙基生成环丙沙星具有诱导作用。Vaccaro 等^[19]在舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)肝外微粒体恩诺沙星代谢实验中发现,恩诺沙星代谢生成环丙沙星是一个典型的 P450 反应,需要氧分子和 NADPH 体系,但未阐明参与该反应的 P450 药酶亚型。本实验中,黄芩苷和甘草酸促进了异育银鲫体内恩诺沙星 N-脱乙基反应,与 CYP1A 和 CYP3A 活性诱导呈正相关性。另有研究表明,甘草酸能活化孕烷 X 受体(PXR),从而诱导肝脏代谢酶 CYP3A 的表达,所以很可能是 CYP3A 参与了恩诺沙星的 N-脱乙基反应^[15],但仅此并不能排除 CYP1A 参与的可能。究竟是 P450 药酶哪个亚型参与恩诺沙星的 N-脱乙基化反应,还需要更多的实验来证实,如重组的 CYP 同工酶和免疫抑制分析^[20]。

本实验中,异育银鲫连续口灌黄芩苷和甘草酸后,除 CYP1A 和 CYP3A 活性、恩诺沙星 N-脱乙基作用受影响外,还表现为血浆恩诺沙星

表 2 腹腔注射给药后代谢产物环丙沙星在异育银鲫血浆中药动学参数(统计矩原理)

Tab.2 Pharmacokinetic parameters of ciprofloxacin in plasma from crucian carp after intraperitoneal injection based on statistical moment theory

n=10

药动学参数 pharmacokinetic parameter	对照组 control	黄芩苷 baicalin	甘草酸 glycyrrhizin
$C_{\max}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	0.099±0.029	0.114±0.028	0.128±0.024
$T_{\max}/\text{h}$	8	12	8
$\text{AUC}_{0-t}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	5.022	2.859	2.400
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	7.567	2.906	2.422
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	38.108	21.564	15.192
$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{h}$	86.388	23.151	16.160
$V_{z/F}/(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1})$	113.179	83.359	93.906
$t_{1/2z}/\text{h}$	59.350	16.786	15.764
$\text{CL}_{z/F}/(\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1})$	1.322	3.441	4.128

注: $C_{\max}$ 为药峰浓度; $T_{\max}$ 为达峰时间; AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 0-t 时间、0-∞ 时间的曲线下面积; MRT_{0-t} 、 $\text{MRT}_{0-\infty}$ 分别为 0-t 时间、0-∞ 时间的保留时间; $V_{z/F}$ 为表观分布容积; $t_{1/2z}$ 为消除半衰期; $\text{CL}_{z/F}$ 为总体清除率。

Note: $C_{\max}$ —peak OTC concentration; $T_{\max}$ —time to reach peak concentration; AUC_{0-t} —area under the concentration-time curve from zero to time t ; $\text{AUC}_{0-\infty}$ —area under the concentration-time curve from zero to infinity; MRT_{0-t} —area residence time from zero to time t ; $\text{MRT}_{0-\infty}$ —area residence time from zero to infinity; $V_{z/F}$ —apparent volume of distribution; $t_{1/2z}$ —elimination half-life; $\text{CL}_{z/F}$ —total body clearance.

表 3 BL 和 GZ 对异育银鲫肝 CYP1A 和 CYP3A 活性的影响

Tab.3 Effects of BL and GZ on CYP1A and CYP3A activities of liver from crucian carp

n=6; $\bar{x} \pm \text{SD}$; $\text{pmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$

组别 group	剂量 dose/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	EROD 活性 EROD activity	ERND 活性 ERND activity
黄芩苷 baicalin	100	52.65±2.64*	2185.72±207.11**
甘草酸 glycyrrhizin	100	51.43±3.99*	2108.50±98.96**
对照组 control	0	35.4±3.6	1166.47±125.71

注: *表示与对照组差异显著($P<0.05$), **表示与对照组差异极显著($P<0.01$).

Note: *donates singnificant difference with control ($P<0.05$). **donates extremely singnificant difference with control ($P<0.01$).

$C_{\max}$ 和 AUC_{0-t} 下降、恩诺沙星和环丙沙星的消除半衰期($t_{1/2z}$)减小和总体清除率($\text{CL}_{z/F}$)升高, 说明黄芩苷和甘草酸作用后异育银鲫对恩诺沙星的吸收减少、恩诺沙星和环丙沙星的消除加快, 后者现象与黄芩苷作用后诺氟沙星在中国明对虾体内消除加快相一致。药物合用或先后使用时, 一种药物引起另一种药物药动学改变的现象较为常见, 中西药合用时, 中药对西药药动学的影响研究较多, 如银杏叶提取物可诱导大鼠 CYP1A2, 并显著降低苯巴比妥的血药浓度^[4]; 胡椒碱能显著增大口服抗癫痫药苯妥英钠的吸收速率常数, 减小其消除速率常数, 提高其血药浓度^[8]; 盐酸黄连素与环孢素 A 合用可使后者 $t_{1/2}$ 延长, 消除率下降, AUC 增大, 生物利用度提高^[21]; 高剂量川芎嗪和维拉帕米预处理大鼠后, 环孢素 A 的 AUC 和 $C_{\max}$

均有显著的增加, 且维拉帕米处理后的环孢素 A 的 $t_{1/2\beta}$ 显著延长, 总体清除率显著降低^[22]。

两种药物合用时, 一种药物导致另一种药物生物利用度减少或增加, 不仅与 P450 药酶(如 CYP3A)的诱导或抑制有关, P-糖蛋白的诱导或抑制也是其重要原因。P-糖蛋白主要分布于细胞膜, 它属于 ATP 结合盒(ABC)转运子超家族成员, 可以将包括多种药物在内的生物毒性物质单向泵出细胞, 从而使细胞内药物浓度下降^[23]。Bauer 等^[24]报道圣约翰草(*Hypericum perforatum*)通过诱导肠道 P-糖蛋白可明显降低肾移植受者环孢素 A 的血浓度。黄芩苷^[25]和甘草酸^[26]等可以增加 P-糖蛋白的转运能力, 上调其表达^[25-26]。许多喹诺酮类药物是 P-糖蛋白的底物, 如环丙沙星, 培氟沙星

(pefloxacin)^[27], 达氟沙星(danofloxacin)等^[28]; 根据 Seelig 等^[29]关于 P-糖蛋白底物提出的假设, 要求底物是具有有一定空间排列的氢键基团和共平面的芳香环区, 由此可以推测恩诺沙星也是 P-糖蛋白的底物。本实验中, 黄芩苷和甘草酸有可能诱导了 P-糖蛋白的表达, 使 P-糖蛋白底物恩诺沙星外排加快, 从而导致异育银鲫对 ENR 的吸收减少、消除加快。

目前中国渔药中中药制剂有 73 种, 抗菌化学药物 27 种, 它们常被推荐联合使用^[30]。黄芩苷和甘草酸分别是黄芩和甘草的主要有效成分, 它们和恩诺沙星都是目前批准使用的渔药。本实验首次揭示了中药对恩诺沙星吸收、代谢和消除的影响, 并探讨了中西药在水产动物体内的相互作用, 研究结果提示, 应注意药物的合理配伍和联合使用, 以达到提高疗效、降低毒副作用的目的。

参考文献:

- [1] 赵晓梅. 常见的中西药相互作用分析[J]. 中华现代中西医杂志, 2003, 1(4): 351–352.
- [2] 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: 医学版, 2009, 28(2): 215–224.
- [3] 艾常虹, 李桦, 董德利. 基于细胞色素 P450 酶诱导的药物相互作用及评价[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(1): 52–57.
- [4] Kubota Y, Kobayashi K, Tanaka N, et al. Pretreatment with Ginkgo biloba extract weakens the hypnosis action of Phenobarbital and its plasma concentration in rats [J]. Pharmacology, 2004, 56(3): 401–405.
- [5] Harkey M R, Henderson G L, Gershwin M E, et al. Variability in commercial ginseng products: An analysis of 25 preparations [J]. Am J Clin Nutr, 2001, 73: 1101–1106.
- [6] Isbrucker R A, Burdock G A. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin [J]. Regul-Toxicol Pharmacol, 2006, 46: 167–192.
- [7] Chang H H, Yi P L, Cheng C H, et al. Biphasic effects of baicalin, an active constituent of *Scutellaria baicalensis* Georgi, in the spontaneous sleep-wake regulation [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(2): 359–368.
- [8] Velpandian T, Jasuja R, Bhardwaj R K, et al. Piperine in food: interference in the pharmacokinetics of phenytoin [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2001, 26(4): 241–247.
- [9] 刘建群, 李青, 张锐, 等. LC-MS/MS 法研究甘草对雷公藤甲素药代动力学及组织分布与排泄的影响[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1664–1671.
- [10] 杨先乐. 水产养殖用药处方大全[M]. 化学工业出版社, 2008: 53, 173.
- [11] Novi S, Pretti C, Cognetti A M, et al. Biotransformation enzymes and their induction by β -naphthoflavone in adult sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquat Toxicol, 1998, 41: 63–81.
- [12] Lange U, Goksøyr A, Siebers D, et al. Cytochrome P450 1A-dependent enzyme activities in the liver of dab (*Limanda limanda*): kinetics, seasonal changes and detection limits [J]. Comp Biochem Physiol, 1999, 123B: 361–371.
- [13] Tu Y Y, Yang C S. High-affinity nitrosamine dealkylase system in rat liver microsomes and its induction by fasting [J]. Cancer Res, 1983, 43: 623–629.
- [14] 何益军, 石苏英, 金科涛, 等. 甘草与大戟甘遂芫花配伍对大鼠肝脏细胞色素 P4501A2 酶活性的影响[J]. 中国药物与临床, 2007, 7(4): 278–280.
- [15] 涂江华. 甘草酸对 CYP450 酶的影响及其机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [16] Li Y, Wang Q, Yao X M, et al. Induction of CYP3A4 and MDR1 gene expression by baicalin, baicalein, chlorogenic acid, and ginsenoside Rf through constitutive androstane receptor-and pregnane X receptor-mediated pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 640: 46–54.
- [17] 韩华, 李健, 李吉涛, 等. 黄芩苷对牙鲆肝 CYP1A 酶活性及基因表达的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1121–1127.
- [18] 艾常虹, 孙汉雄, 李桦, 等. 中药有效成分对细胞色素 P450 酶的抑制活性评价[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 519–523.
- [19] Vaccaro E, Giorgi M, Longo V, et al. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquat Toxicol, 2003, 62: 27–33.
- [20] Yoo H H, Kim N S, Lee J, et al. Characterization of human cytochrome P450 enzymes involved in the biotransformation of eperisone [J]. Xenobiotica, 2009, 39: 1–10.
- [21] 李馨, 吴笑春, 辛华雯, 等. 盐酸黄连素对环孢素增效作用的药物动力学研究[J]. 华南国防医学杂志, 2002, 16(1): 12–15.
- [22] 刘晓磊, 唐靖, 宋娟, 等. 川芎嗪对大鼠灌服环孢素 A 药代动力学的影响[J]. 药学报, 2006, 41(9): 882–887.
- [23] Schinkel A H, Jonker J W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2003, 55(1): 3–29.

- [24] Bauer S, Stormer E, John A, et al. Alterations in cyclosporin A pharmacokinetics and metabolism during treatment with St John's wort in renal transplant patients[J]. Br J Clin Pharmacol, 2003, 55:203–211.
- [25] 范岚. 黄芩苷对 CYP450 代谢酶和药物转运体影响的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2008.
- [26] 颜苗. 甘草酸 18 位差向异构体及其水解产物对 P-糖蛋白影响的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [27] Seelig A, Landwojtowicz E. Structure–activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers [J]. Eur J Pharmacol Sci, 2000, 12:31–40.
- [28] Schrickx J A, Gremmels J F. Danofloxacin-mesylate is a substrate for ATP-dependent efflux transporters [J]. Br J Pharmacol, 2007, 150(4):463–469.
- [29] Seelig A, Landwojtowicz E. Structure–activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers [J]. Eur J Pharmaceutical Sci, 2000, 12:31–40.
- [30] 杨先乐. 水产养殖用药处方大全[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.

Effect of baicalin and glycyrrhizin on enrofloxacin *in vivo* in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)

FANG Wenhong¹, ZHOU Chang^{1,2}, SUN Beibei¹, LI Guolie¹, YANG Xianle², LI Xincang¹, HU Linlin¹

1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery sciences; Key Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090 China;

2. National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Cytochrome P450s (CYPs) widely distribute in the liver of aquatic organisms and play a key role in drug metabolism. CYPs catalyze the N-deethylation of Enrofloxacin (ENR) to Ciprofloxacin (CIP). However, there is limited information regarding the action of CYPs in fish. We evaluated the metabolism of ENR following oral administrated of baicalin (100 mg/kg) and glycyrrhizin (100 mg/kg) in crucian carp, *Carassium auratus gibelio*. We measured the enzymatic activity of cytochrome P450 1A (CYP1A) and 3A (CYP3A) in liver microsomes. In addition, we documented the pharmacokinetics of ENR by continuous blood sampling. The absorption of ENR decreased significantly over time and both $C_{\max}$ and AUC also deceased. AUC and $t_{1/2z}$ decreased significantly whereas CL increased after oral administrated of baicalin and glycyrrhizin, suggesting that ENR elimination was accelerated. The $C_{\max \text{ CIP}}/C_{\max \text{ ENR}}$ was 1.48% and 2.22% for the BL and GZ groups, respectively (control: 0.95%). The $\text{AUC}_{0-t\text{-CIP}}/\text{AUC}_{0-t\text{-ENR}}$ was 2.16% and 1.76% for the BL and GZ groups, respectively (control: 1.7%). Thus, BL and GZ contributed to induce N-deethylation of ENR. Pretreatment with BL and GZ was associated with a significant ($P<0.05$) increase in ethoxyresorufin-O-deethylation (EROD) and erythromycin-N-demethylation (ERND) activity, the specific probes for CYP1A and CYP3A, respectively. In summary, BL and GZ accelerated the elimination of ENR. Furthermore, production of the ENR metabolite was related to the induction of CYP1A and CYP3A enzymatic activity.

Key words: *Carassium auratus gibelio*; enrofloxacin; pharmacokinetics; baicalin; glycyrrhizin; CYP450

Corresponding author: FANG Wenhong. Tel:+86-21-65699301; E-mail: whfang06@yahoo.com.cn