

## 肾阳虚抑郁症模型大鼠的肝脏药物代谢酶活性变化研究

何书芬<sup>1</sup>, 居文政<sup>1\*</sup>, 胡浩彬<sup>2</sup>, 朱立静<sup>1</sup>, 张倩<sup>1</sup>, 戴国梁<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 江苏省食品药品监督检验研究院, 江苏 南京 210008)

**摘要:** 采用鸡尾酒法 (cocktail) 探究糖皮质激素诱导的肾阳虚抑郁症状态大鼠体内 6 种 CYP450 亚型酶活性变化。连续 21 天肌注氢化可的松, 建立肾阳虚抑郁症大鼠模型; 分别选用甲苯磺丁脲、氯唑沙宗、茶碱、咪达唑仑、奥美拉唑和右美沙芬作为 CYP2C6、CYP2E1、CYP1A2、CYP3A2、CYP2D1、CYP2D2 探针底物。采用液质联用法 (LC-MS/MS) 测定空白组和模型组大鼠体内 6 种混合探针的血药浓度, 计算药动学参数。与空白组相比, 模型组大鼠体内茶碱、氯唑沙宗和甲苯磺丁脲的代谢显著加快 ( $P < 0.01$ ), 右美沙芬、奥美拉唑、咪达唑仑的代谢无显著差异。结果表明氢化可的松诱导的肾阳虚抑郁模型 CYP2E1、CYP1A2 和 CYP2C6 均被诱导。

**关键词:** 抑郁症; 肾阳虚; 鸡尾酒法; 液质联用; 细胞色素 P450

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 02-0258-06

## Change of hepatic drug metabolism enzymes in rat depression model with kidney-yang deficiency

HE Shu-fen<sup>1</sup>, JU Wen-zheng<sup>1\*</sup>, HU Hao-bin<sup>2</sup>, ZHU Li-jing<sup>1</sup>, ZHANG Qian<sup>1</sup>, DAI Guo-liang<sup>1</sup>

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China)

**Abstract:** This study was designed to explore the impact of depression on kidney-yang deficiency in rats. Rats were repeatedly injected with hydrocortisone for 21 days to establish the depression model with kidney-yang deficiency. Tolbutamide, chlorzoxazone, theophylline, midazolam, omeprazole and dextromethorphan were used as substrates of CYP2C6, CYP2E1, CYP1A2, CYP3A2, CYP2D1, and CYP2D2 to test the depression impact on drug metabolism. Plasma concentrations of six CYP450 were determined by LC-MS/MS and used as pharmacokinetic parameters. Consequently, metabolism of theophylline, chlorzoxazone and tolbutamide were accelerated significantly in the model relative to the control ( $P < 0.01$ ), but dextromethorphan, omeprazole and midazolam did not exhibit a significant difference. The present study suggests that depression with kidney-yang deficiency had a strong induction of CYP2E1 and moderate induction of CYP1A2, CYP2C6 in the rat model.

**Key words:** depression; kidney-yang deficiency; cocktail probe drug; LC-MS/MS; cytochrome P450

抑郁症是一种常见的精神疾病, 约有 30% 的抑郁

症患者使用抗抑郁化学药物治疗无效或疗效不佳<sup>[1]</sup>, CYP450 酶活性的个体差异是导致药物治疗失败的重要因素<sup>[2]</sup>。因此研究抑郁状态下 CYP450 酶活性变化, 对于探索抑郁症的发病机制及临床合理用药有重要价值。

研究表明, 抑郁症和肾阳虚模型动物体内 CYP450

收稿日期: 2016-08-23; 修回日期: 2016-10-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573685); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目 (ZDXM-2).

\*通讯作者 Tel: 86-25-86617141, E-mail: wzhu333@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-0831

酶的活性或蛋白表达异常。通过慢性不可预见性温和刺激 (CUMS) 诱导抑郁模型可引起机体 CYP450 酶活性及蛋白表达上调或下调<sup>[3-5]</sup>, 如小鼠抑郁模型 CYP2A4 表达下调, SD 抑郁大鼠 CYP450 酶活性增加, GK 抑郁大鼠 CYP3A4 和 CYP2D6 活性增加, CYP1A2 活性降低。贯叶连翘治疗抑郁症的机制可能是其中某些成分通过抑制人 CYP450 酶活性, 尤其是 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及 CYP3A4, 达到抗抑郁效果<sup>[6]</sup>。辛热药仙茅治疗肾阳虚的作用机制可能涉及纠正异常的 CYP3A4 酶活性和蛋白表达<sup>[7]</sup>。

糖皮质激素诱导的动物模型在行为学和代谢组学方面均成功地模拟了肾阳虚抑郁症的生理状态<sup>[8-10]</sup>, 尚未见肾阳虚抑郁症 CYP450 酶活性变化的报道。本实验采用“cocktail”法探究氢化可的松诱导的大鼠肾阳虚抑郁状态下 CYP450 酶活性变化, 并结合前期实验结果<sup>[11]</sup>, 比较不同抑郁症模型动物 CYP450 酶活性变化的异同, 为临床分型论治抑郁症合理用药提供理论指导和实验依据。

## 材料与方法

**药品和试剂** 注射用氢化可的松琥珀酸钠粉针剂 (021509017, 天津生物化学制药有限公司), 奥美拉唑肠溶胶囊 (2015112, 常州四药), 咪达唑仑注射液 (20151104, 江苏恩华药业股份有限公司), 甲苯磺丁脲 (tolbutamide, 017K1025), 氯唑沙宗 (chlorzoxazone, 017K1385), 茶碱 (theophylline, T1633) 和右美沙芬 (dextromethorphan, 097K11348), 均购自 Sigma 公司; 咪达唑仑 (midazolam, 171250-200401), 奥美拉唑 (omeprazole, 100367-201104), 内标吡罗昔康 (piroxicam, 100336-200402), 内标替硝唑 (tinisazole, 100336-200402), 均购自中国食品药品检定研究院。

**仪器** Waters Quattro Micro 液质联用仪, Masslynx4.1 色谱工作站, Labconco 梅特勒-托利多 AE240 型电子天平, Biofuge PrinmoR 型冷冻高速离心机, Labconco 离心浓缩仪, 游泳缸, 自制敞箱和-20℃海尔冰箱。

**给药方法** 雄性 SD 大鼠 16 只, 体重 (150±20) g, 由南通大学提供, 合格证号: (苏) 2014-0001SPF 级。采用体重区间分组法, 将大鼠分为空白组 (8 只) 和模型组 (8 只), 4 只/笼饲养, 正常饮食、饮水。适养 1 周后, 开始实验。模型组大鼠每天臀部肌肉注射氢化可的松 25 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[12]</sup>, 对照组大鼠给予等体积的生理盐水, 连续 21 天并确认造模成功后, 两组大鼠均

灌胃给予混合探针药物 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 于 5、10、20、40 min 和 1、1.5、2、2.5、3、5、8、12 和 24 h 从眼底静脉丛采血约 250 μL, 置于肝素钠浸泡过的 EP 管中。全血 4000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后, 吸取上层血浆于-20℃保存待用。整个实验过程尽量避免光。

**体重变化** 分别于造模前、造模 21 天后测定其体重。

**糖水偏好**<sup>[12]</sup> 实验前一天, 将大鼠单笼适应 24 h。d1: 给予每只大鼠两瓶 1% 蔗糖水; d2: 给予每只大鼠一瓶 1% 蔗糖水, 一瓶纯净水; d3: 所有大鼠均禁食禁水 23 h; d4: 给予每只大鼠事先定量的 2 瓶水: 一瓶 1% 蔗糖水, 一瓶纯净水, 1 h 后交换两瓶位置, 计算大鼠在 2 h 内的糖水消耗量, 糖水偏好 (%) = 糖水消耗量 / (糖水消耗量 + 纯净水消耗量) × 100。

**旷敞实验**<sup>[12]</sup> 将大鼠放入高 40 cm, 长、宽均为 80 cm, 内壁涂黑, 底面平均分为 25 个 16 cm × 16 cm 的小方格的箱内底面中心, 同时进行摄像和计时, 以 5 min 内大鼠穿越箱底面的方格数为水平得分 (三爪以上跨入), 穿越一格得 1 分; 以双前肢抬起次数为垂直得分 (两前肢离地 1 cm 以上), 双前肢离地一次得 1 分。

**强迫游泳实验**<sup>[12]</sup> 将大鼠放入直径 40 cm、水深 35 cm 的水桶内, 水温 25℃, 适应 2 min, 累计后 4 min 内大鼠的不动时间。

**混合探针的配制** 称取甲苯磺丁脲 75 mg、氯唑沙宗 100 mg、茶碱 100 mg、右美沙芬 50 mg, 固体用 0.5% CMC-Na 研磨混匀后, 全部转移至 50 mL 棕色量瓶中, 加入咪达唑仑注射液 15 mL (含咪达唑仑 75 mg), 奥美拉唑肠溶胶囊 883 mg (含奥美拉唑 75 mg), 生理盐水定容, 临用前配制。

**混合对照品系列溶液** 精密称取茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、右美沙芬、奥美拉唑、咪达唑仑各对照品适量, 分别溶于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 得各对照品储备液。精密移取各储备液适量, 加甲醇逐级稀释成 8 个不同浓度的单一系列溶液 HB1~8, 将对应标号的 6 个探针药物等体积混合, 得混合对照品系列溶液, 浓度见表 1。于 4℃冷藏备用。

**混合内标溶液配制** 精密称取替硝唑和吡罗昔康适量, 分别溶于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容、摇匀, 得各内标储备液。另精密吸取各储备液适量于同一 10 mL 量瓶中, 甲醇定容、摇匀, 得质量浓度分别为 3.213 μg·mL<sup>-1</sup> 替硝唑、42.87 μg·mL<sup>-1</sup> 吡罗昔康的混合内标溶液, 于 4℃冷藏备用。

**Table 1** Concentration of six probe drugs in mixed standard solutions ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). HB1-8: Eight different concentrations of reference substances

Probe drug	HB1	HB2	HB3	HB4	HB5	HB6	HB7	HB8
Theophylline	236.8	118.4	47.36	11.84	4.736	1.894	0.758	0.152
Chlorzoxazone	204.93	81.972	32.789	8.197	3.279	0.656	0.131	0.026
Tolbutamide	729.75	291.9	145.95	36.488	14.595	5.838	2.335	0.467
Dextromethorphan	4.272	1.709	0.854	0.427	0.214	0.085	0.043	0.017
Omeprazole	4.221	1.688	0.675	0.169	0.068	0.034	0.014	0.005
Midazolam	20	8	3.2	0.8	0.32	0.064	0.026	0.005

**血样处理** 取血浆 100  $\mu\text{L}$ , 加入混合内标 10  $\mu\text{L}$ , 涡旋 30 s, 加入乙酸乙酯 800  $\mu\text{L}$ , 涡旋 5 min, 12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液 700  $\mu\text{L}$ , 40  $^{\circ}\text{C}$  氮气吹干, 75% 乙腈 100  $\mu\text{L}$  复溶, 涡旋 5 min, 12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 进样 5  $\mu\text{L}$  分析。

### 液相色谱-串联质谱方法<sup>[13]</sup>

**标准曲线及 LLOQ** 取空白血浆 100  $\mu\text{L}$ , 加入配制好的混合对照品系列溶液 10  $\mu\text{L}$ , 混合内标溶液 20  $\mu\text{L}$ , 按“血样处理”项方法处理, 分别计算各化合物的峰面积 ( $A_i$ ) 与相应内标的峰面积 ( $A_s$ ) 的比值为  $Y$ , 以比值  $Y$  对各探针药物的浓度  $X$  进行线性回归, 得回归方程。

**基质效应与提取回收率** 取 EP 管数支, 分别加入 10  $\mu\text{L}$  低、中、高 3 个浓度质控溶液 (茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、右美沙芬、奥美拉唑、咪达唑仑的质控溶液: 0.038、0.003、0.093、0.003、0.001、0.001  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 0.987、0.332、3.406、0.018、0.022、0.08  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 19.733、6.636、68.11、0.356、0.375、1.6  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 加入混合内标溶液 10  $\mu\text{L}$ , 复溶液 80  $\mu\text{L}$ , 涡旋 3 min, 于 12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液进样分析, 记录峰面积 ( $A_1$ ); 按“血样处理”项方法处理空白血浆数管, 40  $^{\circ}\text{C}$  氮气吹干后, 同上操作, 记录峰面积 ( $A_2$ )。按标准曲线制备方法制备含药血浆质控样品, 记录峰面积  $A_3$ 。基质效应  $\text{ME}(\%) = A_2/A_1 \times 100\%$ , 提取回收率  $R\% = 8/7 \times A_3/A_2 \times 100\%$ 。

**精密度及准确度** 考察日内、日间精密度及准确度 (3 天)。按血浆标准曲线配制方法制备含 6 种探针药物的含药血浆质控样品, 按“血样处理”项下操作, 根据随行标线求得实测浓度。实测浓度的 RSD 即为精密度, 加入浓度和实测浓度的比值即为准确度。

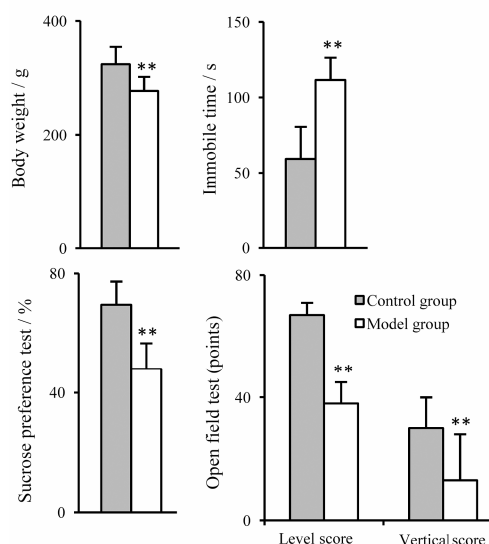
**稳定性** 考察各对照品的甲醇溶液于 4  $^{\circ}\text{C}$  保存 2 个月以上稳定性; 血浆样品在室温 (避光保存) 12 h、-20  $^{\circ}\text{C}$  冷冻保存 10 天、反复冻融 3 次稳定性; 血浆样品经预处理后在 4  $^{\circ}\text{C}$  进样器放置 24 h 稳定性。

**统计学分析** 实验结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 药动学参数采用 DAS1.0 软件计算, 应用 SPSS16.0 统计软件进行独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  认为差异有统计学意义。

## 结果

### 1 模型确认

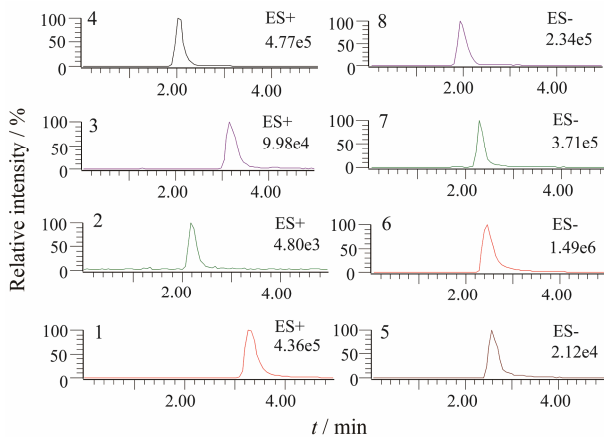
实验前后正常组大鼠生活状态无明显变化; 与正常组相比, 模型组大鼠毛发枯燥, 精神萎靡, 对外来刺激反应迟钝, 喜扎堆, 表现出明显的肾阳虚抑郁状态, 体重显著低于正常组 ( $P < 0.01$ ); 行为学测试结果显示, 与正常组相比, 模型组大鼠旷敞实验的自主活动能力显著下降, 水平得分、垂直得分均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 糖水偏好程度显著降低 ( $P < 0.01$ ), 强迫游泳的不动时间显著延长 ( $P < 0.01$ ), 提示造模成功 (图 1)。



**Figure 1** Effect of hydrocortisone on behavioral data from behavioral evaluation.  $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$  Data shows body weight, level score and vertical score in open field test, percentage of sucrose solution from the total liquid in 2 h in sucrose preference test, immobile time in forced swimming test. \*\*  $P < 0.01$  vs control group

## 2 方法学考察

**2.1 色谱行为** 茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、咪达唑仑、右美沙芬、奥美拉唑和内标替硝唑、吡罗昔康的保留时间分别为 1.99、2.35、2.46、3.33、3.22、2.25、2.08 和 2.63 min。6 种探针药物与 2 种内标分离良好, 互不干扰, 且血浆中内源性杂质不影响分析物的测定, 基线平稳 (图 2)。本方法具有良好的特异性和分离度, 能准确测定血浆中 6 个探针药物的浓度, 重现性好。



**Figure 2** Representative MRM chromatograms of each analyte and IS in sample plasma. 1: Midazolam; 2: Omeprazole; 3: Dextromethorphan; 4: Tinisazole (IS); 5: Piroxicam (IS); 6: Tolbutamide; 7: Chlorzoxazone; 8: Theophylline

**2.2 标准曲线及 LLOQ** 6 种探针药物的回归方程及 LLOQ 见表 2。

**2.3 基质效应与提取回收率** 茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、咪达唑仑、右美沙芬、奥美拉唑和内标替硝唑、吡罗昔康的基质效应分别为 99.91%~105.15%、93.31%~98.62%、90.58%~100.90%、91.51%~93.94%、95.75%~102.76%、94.63%~96.43% 和 92.47%、92.71%; 提取回收率分别为 89.65%~96.23%、97.31%~103.58%、99.13%~104.05%、91.51%~93.95%、95.75%~102.76%、94.63%~96.43%、88.47%、88.33%。

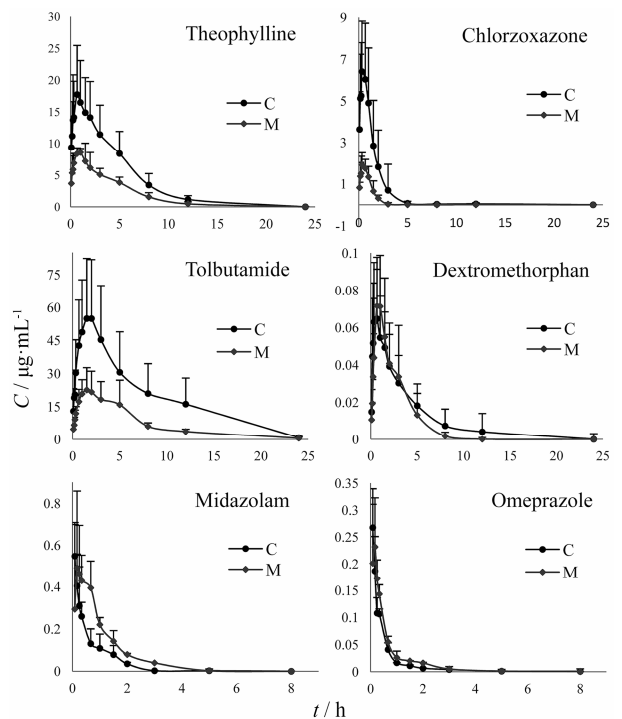
**2.4 精密度及准确度** 茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、咪达唑仑、右美沙芬、奥美拉唑的日内精密度 RSD 分别小于等于 4.23%、8.43%、7.42%、9.19%、11.16%、6.72%; 日间精密度的 RSD 分别小于等于 4.55%、9.34%、8.04%、8.77%、10.67%、6.23%。准确度均在 85%~115% 之间, 符合生物样品分析的要求, 提示该方法准确、可靠、重现性好。

**2.5 稳定性** 各对照品的甲醇溶液在 4℃ 冰箱保存 2 个月以上稳定; 血浆样品在室温 (避光保存) 12 h、-20℃ 冷冻保存 10 天、反复冻融 3 次稳定; 血浆样品经预处理后在 4℃ 进样器放置 24 h 稳定, RSD 均小于 11.12%。

## 3 探针药物的药代动力学

**3.1 6 种探针药物的血药浓度-时间曲线** 茶碱、氯唑沙宗、甲苯磺丁脲、右美沙芬、奥美拉唑、咪达唑仑的药时曲线见图 3。

**3.2 6 种探针药物的药动学参数** 将正常组及模型



**Figure 3** C-t curves of six kinds of probe drugs.  $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$

**Table 2** Standard curves and LLOQ of six probe drugs

Probe drug	Linear regression	Linear range / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$r^2$	LLOQ / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Theophylline	$Y = 0.558 X + 0.486 2$	0.015-23.68	0.997 7	0.015
Chlorzoxazone	$Y = 8.457 X + 6.465 1$	0.003-20.493	0.994 4	0.003
Tolbutamide	$Y = 0.808 X + 4.677 7$	0.047-72.975	0.993 4	0.047
Dextromethorphan	$Y = 2.844 X + 0.006 8$	0.002-0.427	0.998 7	0.002
Omeprazole	$Y = 6.767 X + 0.042 7$	0.001-0.422	0.998 4	0.001
Midazolam	$Y = 4.490 X + 0.262 9$	0.001-2	0.999 3	0.001

**Table 3** Pharmacokinetic parameters of six probe drugs in control-group and model-group rats.  $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control group

Compound	Group	$t_{1/2}$ /h	$t_{max}$ /h	$C_{max}$ /mg·L <sup>-1</sup>	$AUC_{0-t}$ /mg·L <sup>-1</sup> ·h	$AUC_{0-\infty}$ /mg·L <sup>-1</sup> ·h	$MRT_{0-t}$ /h	$MRT_{0-\infty}$ /h
Theophylline	Control	2.17 ± 0.32	1.01 ± 0.58	19.85 ± 3.51	96.30 ± 11.45	96.36 ± 11.45	4.27 ± 0.39	4.29 ± 0.39
	Model	2.30 ± 0.60	0.89 ± 0.17	8.80 ± 0.66**	43.00 ± 7.65**	42.90 ± 7.66**	4.04 ± 0.74	4.10 ± 0.82
Chlorzoxazone	Control	7.23 ± 3.02	0.51 ± 0.20	6.79 ± 0.98	11.09 ± 6.35	11.10 ± 6.37	1.45 ± 0.54	1.49 ± 0.53
	Model	6.08 ± 4.87	0.42 ± 0.15	2.22 ± 0.51**	2.84 ± 0.93**	2.86 ± 0.93**	1.32 ± 0.58	1.52 ± 0.93
Tolbutamide	Control	3.13 ± 0.94	1.83 ± 0.68	57.61 ± 11.25	494.18 ± 188.84	498.45 ± 189.82	5.58 ± 1.74	6.41 ± 0.69
	Model	3.80 ± 0.87	1.94 ± 1.32	26.20 ± 8.24**	168.72 ± 59.81**	172.59 ± 60.43**	5.64 ± 0.43	6.27 ± 1.31
Midazolam	Control	1.07 ± 0.73	0.23 ± 0.25	0.56 ± 0.19	0.49 ± 0.20	0.54 ± 0.30	1.20 ± 0.70	1.53 ± 1.10
	Model	0.75 ± 0.41	0.54 ± 0.61	0.40 ± 0.20	0.56 ± 0.34	0.71 ± 0.69	1.12 ± 0.32	0.67 ± 0.32
Omeprazole	Control	0.48 ± 0.33	0.11 ± 0.07	0.27 ± 0.13	0.11 ± 0.05	0.13 ± 0.05	1.55 ± 0.77	2.27 ± 1.00
	Model	1.13 ± 1.12	0.56 ± 0.75	0.25 ± 0.11	0.13 ± 0.07	0.13 ± 0.07	1.23 ± 0.50*	1.31 ± 0.55*
Dextromethorphan	Control	3.47 ± 2.08	0.69 ± 0.43	0.07 ± 0.02	0.25 ± 0.12	0.28 ± 0.16	3.30 ± 1.55	4.29 ± 2.86
	Model	2.63 ± 2.60	0.79 ± 0.17	0.08 ± 0.03	0.22 ± 0.13	0.23 ± 0.13	2.24 ± 0.42	2.46 ± 0.37

组大鼠的药时数据分别经 DAS1.0 软件处理, 分别按一室、二室、三室模型以最小二乘法拟合, 结果表明: 茶碱、甲苯磺丁脲符合一室模型 ( $W=1/CC$ ), 氯唑沙宗、咪达唑仑符合二室模型 ( $W=1/CC$ ), 奥美拉唑、右美沙芬符合二室模型 ( $W=1$ ), 药动学参数见表 3。与正常组相比, 模型组大鼠的主要药动学参数差异如下: 茶碱  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  均极显著降低 ( $P<0.01$ ),  $C_{max}$  降低 55.68%,  $AUC_{0-t}$  降低 55.35%; 氯唑沙宗  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  均极显著降低 ( $P<0.01$ ),  $C_{max}$  降低 67.34%,  $AUC_{0-t}$  降低 74.40%; 甲苯磺丁脲的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  均极显著降低 ( $P<0.01$ ),  $C_{max}$  降低 55.39%,  $AUC_{0-t}$  降低 65.86%; 奥美拉唑的  $MRT_{0-t}$ 、 $MRT_{0-\infty}$  显著降低 ( $P<0.05$ ); 右美沙芬、咪达唑仑代谢变化无显著差异。根据美国 FDA 对抑制剂和诱导剂的评价分类<sup>[14]</sup>, 判断肾阳虚抑郁大鼠 CYP2E1、CYP1A2 和 CYP2C6 被诱导, 而 CYP3A2、CYP2D1、CYP2D2 活性无明显变化。

## 讨论

抑郁症是以持续心境低落为主要症状的情感障碍疾病, 抑郁症按西医分为迟滞型和激越型, 分别对应于中医的肝郁证和虚证<sup>[15]</sup>。CUMS 抑郁模型属于迟滞型肝郁证<sup>[16]</sup>, 而糖皮质激素诱导的抑郁模型为激越型肾阳虚证, 本课题组从 CYP450 酶活性变化角度分别对两种症型抑郁症进行研究。

本研究采用“cocktail”法考察肾阳虚抑郁状态下大鼠体内 6 种 CYP450 酶活性变化, 研究中排除 6 种探针药物在体内存在代谢相互作用的可能性, 研究设计基本符合 cocktail 探针药物法条件<sup>[17-19]</sup>。

结合课题组对 CUMS 抑郁大鼠模型研究结果<sup>[12]</sup>,

发现两种抑郁模型 CYP1A2 和 CYP2E1 活性均增强, 而 CYP2C6 活性仅在肾阳虚抑郁模型中表现为增强。研究<sup>[20, 21]</sup>发现 CUMS 抑郁模型上调或下调 CYP450 酶活性的作用机制是通过改变内源性物质或激素水平实现, 例如肾上腺素、糖皮质激素等, 增强肝细胞 CYP1A 转录活性、CYP2E1 活性及蛋白表达。Iber 等<sup>[22]</sup>发现, 当小鼠体内皮质酮浓度低于正常范围时, CYP2C11 (对应大鼠 CYP2C6) 活性增强, 遭遇外界物理刺激或给予高浓度糖皮质激素后, CYP2C11 活性降低, 并且该过程可能是由糖皮质激素受体介导的。肾阳虚抑郁模型大鼠血中皮质酮含量显著低于正常范围<sup>[9, 23]</sup>, 故 CYP2C6 活性增强, 与本研究结果一致; 而慢性不可预见性温和刺激一定程度上会降低大鼠体内 CYP2C6 活性, 因此 CUMS 模型大鼠体内 CYP2C6 活性未见明显变化。

综合研究结果, 认为抑郁症不同症型, 推测 CYP1A2、CYP2E1 可能是抑郁症 CYP450 酶活性改变的共同亚型酶, CYP2C6 可能是抑郁症肾阳虚型的特征亚型酶。临床治疗抑郁症应特别关注 CYP1A2、CYP2E1 参与代谢的药物疗效及不良反应。此外, 肾阳虚型抑郁症患者治疗时还应关注 CYP2C6 参与代谢的药物的应用。

## References

- [1] Berlim MT, Fleck MP, Turecki G. Current trends in the assessment and somatic treatment of resistant/refractory major depression: an overview [J]. *Ann Med*, 2008, 40: 149–159.
- [2] Ji Y, Schaid DJ, Desta Z, et al. Citalopram and escitalopram plasma drug and metabolite concentrations: genome-wide associations [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2014, 78: 373–383.

- [3] Wu Y, Tang JY, Zhou CJ, et al. Quantitative proteomics analysis of the liver reveals immune regulation and lipid metabolism dysregulation in a mouse model of depression [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 311: 330–339.
- [4] Xia ZC, Wei HY, Duan JJ, et al. Chronic unpredicted mild stress-induced depression alter saxagliptin pharmacokinetics and CYP450 activity in GK rats [J]. *Peer J*, 2016, 4: e1611.
- [5] Duan JJ, Zhou T, Chen X, et al. Pharmacokinetics of 5-fluorouracil and cyclophosphamide in depression rats [J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2012, 16: 427–436.
- [6] Obach RS. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by constituents of St. John's Wort, an herbal preparation used in the treatment of depression [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 294: 88–95.
- [7] Wang CM, Xu SY, Lai S, et al. *Curculigo orchoides* (Xian Mao) modifies the activity and protein expression of CYP3A in normal and Kidney-Yang deficiency model rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 144: 33–38.
- [8] Iijima M, Ito A, Kurosu S, et al. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats [J]. *Brain Res*, 2010, 1359: 75–80.
- [9] Kott JM, Mooneyleber SM, Shoubah FA, et al. Effectiveness of different corticosterone administration methods to elevate corticosterone serum levels, induce depressive-like behavior, and affect neurogenesis levels in female rats [J]. *Neuroscience*, 2016, 312: 201–214.
- [10] Tao XM. *Metabonomic Study on the Animal Model and Clinical Patients of Kidney Yang Deficiency (“肾阳虚”模型及证候的代谢组学研究)* [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2009.
- [11] Zang YX, Sun BT, Zhao WZ, et al. Study of change in activity of hepatic drug metabolism enzymes in rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2015, 50: 319–325.
- [12] Sturm M, Becker A, Schroeder A, et al. Effect of chronic corticosterone application on depression-like behavior in C57BL/6N and C57BL/6J mice [J]. *Genes Brain Behav*, 2015, 14: 292–300.
- [13] Sun BT, Zhang Q, Zong Y, et al. Influence of Baixiangdan Capsules on metabolic activities of cytochrome P450 enzymes in rats evaluated by a cocktail method [J]. *Pharm Clin Res*, 2016, 24: 6–10.
- [14] Kux L. Draft guidance for industry on drug interaction studies-study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations; availability [J]. *Fed Reg*, 2012, 77: 9946.
- [15] Xing XQ, Xie XN. Dialectical treatment of depression in Chinese medicine [J]. *J Clin Res*, 2003, 20: 541–542.
- [16] Xia OD. *Research of Proteome Differential Expression of LC in Rat Model of Liver Depression Syndrome (肝郁证模型大鼠蓝斑蛋白质组差异表达研究)* [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013.
- [17] Chen WK, Ju WZ, Xu LJ, et al. Studies on pharmacokinetic interaction among CYP1A2, CYP2E1 and CYP3A4 probes in rats [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理)*, 2009, 20: 435–438.
- [18] Lin FO, He Y, Zhang LK, et al. Assessment of the effect of ketamine on cytochrome P450 isoforms activity in rats by cocktail method [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 4335–4341.
- [19] Wang SH, Wang ZZ, Chen DX, et al. Effect of acute paraquat poisoning on CYP450 isoforms activity in rats by cocktail method [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 19100–19106.
- [20] Kot M, Sadakierska-Chudy A, Haduch A, et al. The role of the dorsal noradrenergic pathway of the brain (locus coeruleus) in the regulation of liver cytochrome P450 activity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 751:34–41.
- [21] Devaux A, Pesonen M, Monod G. Glucocorticoid-mediated potentiation of P450 induction in primary culture of rainbow trout hepatocytes [J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, 43: 898–901.
- [22] Iber H, Chen Q, Sewer M, et al. Regulation of hepatic cytochrome P450 2C11 by glucocorticoids [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1997, 345: 305–310.
- [23] Rosa PB, Ribeiro CM, Bettio LEB, et al. Folic acid prevents depressive-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 127: 1–6.