

喹噁啉类药物对醛固酮合成和分泌影响的研究进展

郭璞^{1,3}, 刘相莲^{2,3}, 白毅洁^{1,3}, 王旭^{2,3*}, 刘振利^{1,2,3}, 袁宗辉^{1,2,3*}

(1. 国家兽药残留基准实验室(华中农业大学);农业部兽药残留检测重点实验室 武汉 430070;

2. 农业部畜禽产品质量安全风险评价实验室(武汉) 武汉 430070;

3. 华中农业大学动物医学院 武汉 430070)

[收稿日期] 2016-03-11 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 05-0065-05 [中图分类号] S859.82

[摘要] 喹噁啉类药物的肾上腺毒性作用主要表现为对醛固酮合成和分泌的影响。随着喹噁啉类药物作为抗菌促生长剂在畜牧业中的广泛应用,其肾上腺毒性逐渐受到关注。本文从醛固酮合成过程和肾素-血管紧张素-醛固酮系统这两方面,综述了近年来该类物质对醛固酮影响的研究进展,旨在为后期进一步揭示喹噁啉类药物的肾上腺毒性做出贡献。

[关键词] 喹噁啉;醛固酮;毒性;肾上腺;喹烯酮;乙酰甲喹

Research Progress on the Inhibition of Quinoxaline Drugs on Synthesis and Secretion of Aldosterone

GUO Pu^{1,3}, LIU Xiang-lian^{2,3}, BAI Yi-jie^{1,3}, WANG Xu^{2,3*}, LIU Zhen-li^{1,2,3}, YUAN Zong-hui^{1,2,3*}

(1. National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues (HZAU), Key Laboratory of the Detection for Veterinary Drug Residues, Ministry of Agriculture, P. R China, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, China;

2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Livestock and Poultry Products (Wuhan), Ministry of Agriculture, P. R China, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, China;

3. College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, China)

Abstract: The adrenal toxicity of quinoxalines is mainly reflected by the effects on aldosterone. With the widespread use of quinoxalines as antimicrobials and growth promoters for animals, adrenal toxicity of these drugs is becoming a matter of urgent concern. In terms of the synthesis of aldosterone and Renin-Angiotensin-Aldosterone system, this paper reviews the progress on metabolism change of aldosterone affected by quinoxalines. We hope the review can make some contributions to further elucidation the adrenal toxicity induced by quinoxalines.

Key words: quinoxaline; aldosterone; toxicity; adrenal; quinocetone; mequindox

喹噁啉类药物是一类具有喹噁啉 1,4-二氧杂(1,4-dioxazine)母核的杂环化合物,其基本结构的动物专用药,代表性药物有卡巴氧(1,4-dioxazine, CBX)、喹乙醇(Olaquinox, OLA)、乙酰甲喹(Mequinox, MEQ)、喹烯酮(Quinocetone, QCN)等。

基金项目:国家自然科学基金项目(31272614);国家重点基础研究发展计划("973")项目(2009CB118800)

作者简介:郭璞,硕士研究生,从事兽药药理学与毒理学研究。

通讯作者:王旭, E-mail: wangxu@mail.hzau.edu.cn; 袁宗辉, E-mail: yuan5802@mail.hzau.edu.cn

QCT)和喹赛多(Cyadox, CYA)等,其化学结构如图1。自20世纪40年代起,卡巴氧和喹乙醇作为一个强效抗革兰氏阳性和阴性菌的药物广泛应用于全球畜牧业中^[1-2],乙酰甲喹和喹烯酮已经分别于1992年^[3-4]和2003年^[5-6]在我国批准使用,而喹赛多尚处于开发阶段。此外,在饲料中添加低剂量的该类药物还能促进动物的生长,提高饲料转化率^[2,7]。在动物体,这些药物能改善肠道菌群,提升蛋白质的利用率及合成速率从而被广泛用作食品动物的抗菌促生长剂^[7]。

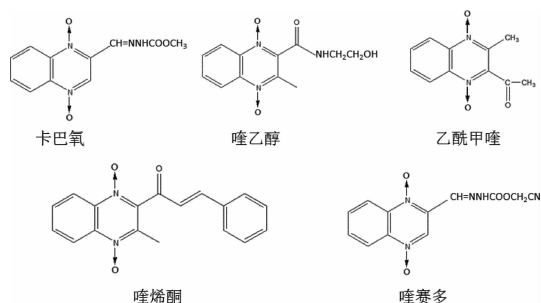


图1 卡巴氧、喹乙醇、乙酰甲喹、喹烯酮和喹赛多的结构式

自1996年起,研究人员开始关注喹噁啉类药物的肾上腺毒性。研究表明,该类药物对肾上腺的毒性主要表现为对醛固酮合成和分泌的影响。此类药物通过影响醛固酮合成过程中的多种酶的活性和肾素-血管紧张素-醛固酮系统(Renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS),从而影响醛固酮的合成。本文总结了近年来喹噁啉类药物对醛固酮合成影响的研究进展,旨在为后期进一步揭示喹噁啉类药物的肾上腺毒性做出贡献。

1 醛固酮的生物合成机制

醛固酮合成原料为胆固醇,醛固酮的生物合成从胆固醇由线粒体外膜进入线粒体内膜开始。类固醇激素合成急性调节蛋白(sterooidogenic acute regulatory protein, StAR)作为载体^[8-9],将疏水的胆固醇从膜间隙转入线粒体内膜。胆固醇进入线粒体内膜后,首先在胆固醇侧链裂解酶(cholesterol side-chain cleavage, CYP11A)的作用下脱掉侧链形成孕烯醇酮^[10]。随后孕烯醇酮从两个方向转化进一步合成类固醇激素。一是孕烯醇酮在位于线粒体

的 3β -羟基类固醇脱氢酶(3β -hydroxysteroid dehydrogenase, 3β -HSD)作用下转化为孕酮^[11];二是孕烯醇酮转运至内质网经 17α -羟化酶(17α -hydroxysteroid droxylase, CYP17)生成 17α -羟孕烯醇酮^[12-13]。孕酮和 17α -羟孕烯醇酮生成后,经21位羟化分别转化为脱氧皮质酮和11-去氧皮质醇^[13]。这一催化过程由存在于滑面内质网的21-羟化酶(21-hydroxylase, CYP21)完成^[12]。糖皮质激素、盐皮质激素合成的最后步骤是由位于线粒体内膜的 11β -羟化酶(11β -hydroxylase, CYP11)介导的^[11]。CYP11有CYP11B1和醛固酮合成酶(aldosterone synthase, CYP11B2)两种类型^[8]。CYP11B2催化脱氧皮质酮逐步生成皮质酮、18-羟皮质酮和醛固酮;11-去氧皮质醇在CYP11B1的催化下转变为皮质醇^[8]。有研究显示,在体外,CYP11B2可以利用相邻束状带细胞中CYP11B1的催化产物来合成醛固酮,但这一过程在体内是否发生仍需进一步研究^[14]。由此可以看出,醛固酮的合成是一个复杂、有序的过程(图2)。

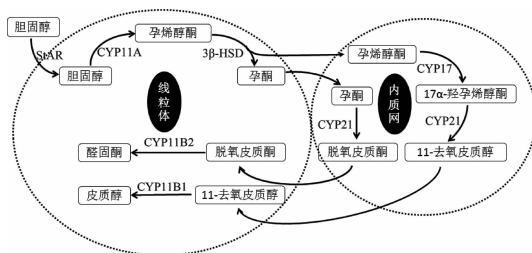


图2 醛固酮合成的机制

2 喹噁啉类药物对醛固酮合成和分泌的影响及其可能机制

喹噁啉类药物在体外培养试验和体内试验中对醛固酮含量均有影响,该类药物如卡巴氧、喹乙醇、喹赛多及其主要代谢产物可以抑制肾上腺醛固酮的合成。在猪肾上腺细胞模型中,该类药物作用后醛固酮含量出现了下降;长期(3~5周)给猪饲喂卡巴氧、喹乙醇和喹赛多,其体内醛固酮含量出现了不同程度的下降^[15]。近期试验研究也证明长期大剂量(180 d, 110和275 mg/kg)饲喂雄性Wistar大鼠乙酰甲喹可以引起血浆醛固酮含量的

降低^[16]。

喹噁啉类药物对醛固酮的影响是多方面的。首先,喹噁啉类药物在大肠杆菌中能介导活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的产生^[17];高剂量(110 和 275 mg/kg)乙酰甲喹饲喂Wistar大鼠,其血浆还原性谷胱甘肽(glutathione, GSH)水平下降,肾上腺丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平升高,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力升高^[16],表明乙酰甲喹改变了肾上腺的抗氧化酶体系,引起了氧化应激反应。其次,在高剂量(110 mg/kg 和 275 mg/kg)乙酰甲喹作用下,肾上腺组织中类固醇合成酶 CYP11A1, CYP11B1 和 CYP11B2 表达下调,而 CYP21 和 3 β -HSD 表达上调^[18],由此可见乙酰甲喹改变了醛固酮合成酶的表达水平。关于喹烯酮对醛固酮合成和分泌的影响,研究结果显示,在高剂量(50 μ mol/L)QCT 的作用下,肾上腺细胞中类固醇合成酶 CYP11A1, CYP21 和 3 β -HSD 表达水平下调^[19]。该类药物的代谢物对醛固酮合成酶表达影响的研究显示,高剂量(40 和 80 μ mol/L) *N*-1 脱氧喹烯酮、*N*-1 脱氧乙酰甲喹和 *N*-1 脱氧喹赛多作用于人肾上腺皮质癌 H295R 细胞 48 小时后, CYP11B1 和 CYP11B2 的表达均有不同程度的下降^[20]。这表明该类药物可以降低醛固酮合成酶的活性,从而减少醛固酮的合成。

此外,喹噁啉类药物还可以通过 RAAS 来调节醛固酮的分泌。在高剂量(275 mg/kg)乙酰甲喹饲喂 Wistar 大鼠,其血浆中肾素(renin, REN)水平显著上调,而血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)和肾上腺血管紧张素原(angiotensinogen, AGT)表达下调^[21]。另一个有趣的现象是血管紧张素(angiotensin, Ang)和 1 型血管紧张素 II 受体(angiotensin type 1 receptor, AT1)在低剂量(55 mg/kg)上调至峰值,但在高剂量(110 和 275 mg/kg)时又出现下调^[21]。此外,喹烯酮对醛固酮合成和分泌的影响研究,结果显示,醛固酮分泌过程中 ACE, AT2 和 Ang 表达上调^[19]。这种基因表达上调的出现,提示喹烯酮对醛固酮合成的影响中

存在着代偿机制。

综上所述,喹噁啉类药物抑制醛固酮合成和分泌的机制是复杂的。以乙酰甲喹为例,它一方面通过改变醛固酮合成酶的浓度,抑制醛固酮的合成;另一方面通过抑制 RAAS,抑制醛固酮分泌。乙酰甲喹导致 ROS 的含量增多,引起机体的氧化应激反应,影响醛固酮的合成和分泌作用。增多的 ROS 作用于醛固酮合成系统,引起 CYP11A1 表达的下调,使胆固醇转化为孕烯醇酮的含量下降,同时 CYP11B2 表达的下调抑制了 11-去氧皮质酮转化为醛固酮,使醛固酮的合成减少(图 3)。CYP21 和 3 β -HSD 的表达上调可能是在醛固酮合成减少过程中出现的一种补偿机制。此外,增多的 ROS 作用于醛固酮分泌系统,引起 AGT 和 ACE 的水平下调,使 AGT 转化为醛固酮的过程受阻,同时醛固酮下游肾脏醛固酮受体(mineralocorticoid, MR)和 Na⁺/K⁺-ATP 酶的水平下调反过来证明了醛固酮分泌的减少(图 3)。REN, Ang 和 AT1 的水平上调可能是醛固酮分泌减少的过程中出现了补偿机制,Ang 和 AT1 的水平上调而至峰值又下调则说明这个代偿机制的作用是有限的。同时,乙酰甲喹和喹烯酮对醛固酮合成酶与 RAAS 系统的影响作用的相似性与不同也解释了喹噁啉类药物对醛固酮抑制的复杂性,对于喹噁啉类药物对醛固酮作用机制的差异性,还有待于进一步研究和探索。

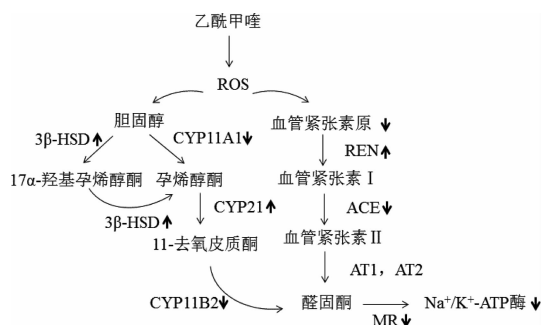


图 3 乙酰甲喹抑制醛固酮合成的可能机制

研究表明,除了肾上腺毒性,一些喹噁啉类药物还存在细胞毒性^[22-23]、肝脏毒性^[24-25]、肾脏毒性^[26]和遗传毒性^[27-28]等毒性作用。随着该类药

物在动物生产中的广泛使用,不可避免地会带来药物残留的问题^[29-31]。该类药物的残留可能会使人类出现类似的醛固酮减少症状,造成低血钾症等疾病。因此,对于喹噁啉类药物残留检测和视频安全性的研究应予以高度重视,并对该类化合物原形和代谢物对醛固酮的影响加以揭示,尽可能促进该类药物在畜牧业生产和兽医临床上的合理应用,降低其对我国广大人民群众的伤害。

3 展望

近年来喹噁啉类药物的肾上腺毒性机制已经有了相关研究,主要集中于乙酰甲喹和喹烯酮这两种药物。相对而言,乙酰甲喹的肾上腺毒性研究较深入,而喹烯酮可能导致的肾上腺毒性研究较少。由于喹烯酮在我国大量使用,对其该方面毒性的研究也显得十分必要。喹噁啉类药物肾上腺毒性报道的多是其对醛固酮的影响,揭示了该类化合物对醛固酮合成和分泌的抑制机制。喹噁啉类药物的肾上腺毒性除了对醛固酮合成和分泌有影响外,还与 $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot-}$ 等自由基的产生密切相关^[32-33]。这些自由基由线粒体产生,导致机体氧化还原失衡,刺激线粒体产生更多的自由基,引起细胞线粒体损伤,最终导致细胞凋亡、坏死^[27,32]。然而氧化应激在其所致的肾上腺毒性中的哪些环节起作用,氧化应激介导的哪些信号通路参与了肾上腺毒性尚待深入揭示。此外,喹噁啉类药物在肝脏代谢,尚不清楚该代谢过程在其肾上腺毒性机制中的作用。而且,近期有研究揭示,喹噁啉类 $N-1$ 脱氧化合物也能引起氧化应激反应,且其毒性作用为 $N-1$ 脱氧喹烯酮 $>N-1$ 脱氧乙酰甲喹 $>N-1$ 脱氧喹赛多^[20]。这提示我们要关注该类药物的代谢物所具有的肾上腺毒性。由于喹噁啉类代谢物具有相同的母环结构,仅侧链结构不同,表明此类药物的侧链对其肾上腺毒性有影响,而影响的机制尚待深入揭示。

随着研究的深入,不仅有助于阐明喹噁啉药物对醛固酮的影响,同时也帮助人们深入了解喹噁啉药物的肾上腺毒性作用机制,更好地掌控此类药物的毒副作用,避免此类药物给动物生产带来的损失

及造成的人类食品安全问题,并为喹噁啉类药物的安全性评价奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Hennessey T D, Edwards J R. Antibacterial properties of quinodioxin: a new growth - promoting agent [J]. The Veterinary Record, 1972, 90(7): 187 - 191.
- [2] Li J, Huang L, Wang X, *et al.* Metabolic disposition and excretion of quinocetone in rats, pigs, broilers, and carp [J]. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 2014, 69: 109 - 119.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典一九九〇版(一、二部) [S].
- [4] 李璐璐, 骆延波, 刘玉庆. 乙酰甲喹和喹烯酮药动学研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(2): 98 - 103.
- [5] 邹仕庚. 喹烯酮的研究与应用 [J]. 畜禽业, 2005, 7: 56 - 57.
- [6] 黄玲利, 李娟, 张伟, 等. 喹烯酮食品安全性评价[C]. 中国毒理学会兽医毒理学与饲料毒理学学术讨论会暨兽医毒理专业委员会第4次全国代表大会会议, 中国北京, 2012.
- [7] Carta A, Corona P, Loriga M. Quinoxaline 1,4 - dioxide: a versatile scaffold endowed with manifold activities [J]. Curr Med Chem, 2005, 12(19): 2259 - 2272.
- [8] Tsai Y Y, Rainey W E, Pan Z Q, *et al.* Phospholipase D activity underlies very - low - density lipoprotein (VLDL) - induced aldosterone production in adrenal glomerulosa cells [J]. Endocrinology, 2014, 155(9): 3550 - 3560.
- [9] Kobus K, Hartl D, Ott C E, *et al.* Double NF1 inactivation affects adrenocortical function in NF1Prx1 mice and a human patient [J]. PloS one, 2015, 10(3): 1 - 18.
- [10] Wang C, Ruan T, Liu J Y, *et al.* Perfluorooctyl iodide stimulates steroidogenesis in H295R cells via a cyclic adenosine monophosphate signaling pathway [J]. Chemical research in toxicology, 2015, 28(5): 848 - 854.
- [11] White P C. Aldosterone synthase deficiency and related disorders [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2004, 217(1 - 2): 81 - 87.
- [12] Sushko T A, Gilep A A, Usanov S A. Mechanism of intermolecular interactions of microsomal cytochrome P450s CYP17 and CYP21 involved in steroid hormone biosynthesis [J]. Biochemistry - Moscow, 2012, 77(6): 585 - 592.
- [13] Hecker M, Giesy J P. Novel trends in endocrine disruptor testing: the H295R steroidogenesis assay for identification of induc-

- ers and inhibitors of hormone production [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 390(1): 287–291.
- [14] Vinson G P. Glomerulosa function and aldosterone synthesis in the rat [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2004, 217(1–2): 59–65.
- [15] Zou D J, Zheng Q F, Huang X J, *et al*. Potential benefits of quinoxaline 1, 4 – dioxides in aldosterone dysmetabolism disease—a medical hypothesis [J]. *Open Journal of Animal Sciences*, 2011, 01(03): 121–127.
- [16] 黄先菊, Ishan A, 王旭, 等. 自由基介导的喹噁啉类肾上腺毒性及其对醛固酮分泌的影响[C]. 中国毒理学会第三届中青年学者科技论坛暨2011年全国前列腺药理毒理学研讨会, 中国上海, 2011.
- [17] Cheng G, Li B, Wang C, *et al*. Systematic and molecular basis of the antibacterial action of quinoxaline 1,4 – Di – N – Oxides against *Escherichia coli* [J]. *PloS one*, 2015, 10(8): 1–18.
- [18] Huang X J, Ihsan A, Wang X, *et al*. Long – term dose – dependent response of mequinodox on aldosterone, corticosterone and five steroidogenic enzyme mRNAs in the adrenal of male rats [J]. *Toxicology letters*, 2009, 191(2–3): 167–173.
- [19] Wang X, Wan D, Ihsan A, *et al*. Mechanism of adrenocortical toxicity induced by quinocetone and its bidesoxy – quinocetone metabolite in porcine adrenocortical cells in vitro [J]. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2015, 84: 115–124.
- [20] Wang X, Yang C, Ihsan A, *et al*. High risk of adrenal toxicity of N1 – desoxy quinoxaline 1,4 – dioxide derivatives and the protection of oligomeric proanthocyanidins (OPC) in the inhibition of the expression of aldosterone synthetase in H295R cells [J]. *Toxicology*, 2016, 341–343: 1–16.
- [21] Huang X J, Wang X, Ihsan A, *et al*. Interactions of NADPH oxidase, renin – angiotensin – aldosterone system and reactive oxygen species in mequinodox – mediated aldosterone secretion in Wistar rats [J]. *Toxicology letters*, 2010, 198(2): 112–118.
- [22] Zhao X J, Hao F, Huang C, *et al*. Systems responses of rats to mequinodox revealed by metabolic and transcriptomic profiling [J]. *Journal of proteome research*, 2012, 11(9): 4712–4721.
- [23] Liu J, Ouyang M, Jiang J, *et al*. Mequinodox induced cellular DNA damage via generation of reactive oxygen species [J]. *Mutation research*, 2012, 741(1–2): 70–75.
- [24] Huang Q, Ihsan A, Guo P, *et al*. Evaluation of the safety of primary metabolites of cyadox: Acute and sub – chronic toxicology studies and genotoxicity assessment [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2016, 74: 123–136.
- [25] Azqueta A, Gil A G, Garcia – Rodriguez A, *et al*. Comparative acute systemic toxicity of several quinoxaline 1,4 – Di – N – oxides in wistar rats [J]. *Arzneimittel – Forsch*, 2007, 57(6): 339–346.
- [26] Wang X, Zhou W, Ihsan A, *et al*. Assessment of thirteen – week subchronic oral toxicity of cyadox in Beagle dogs [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology : RTP*, 2015, 73(2): 652–659.
- [27] Zhang K Y, Wang X Y, Wang C M, *et al*. Investigation of quinocetone – induced mitochondrial damage and apoptosis in HepG2 cells and compared with its metabolites [J]. *Environ Toxicol Phar*, 2015, 39(2): 555–567.
- [28] Dai C S, Tang S S, Li D W, *et al*. Curcumin attenuates quinocetone – induced oxidative stress and genotoxicity in human hepatocyte L02 cells [J]. *Toxicol Mech Method*, 2015, 25(4): 340–346.
- [29] 程林丽. 动物组织中喹噁啉类药物残留检测方法研究 [D]. 中国农业大学, 2013.
- [30] 蒋文晓. 动物性食品中喹噁啉类药物代谢物和磺胺类—喹诺酮类药物多残留免疫分析方法研究 [D]. 中国农业大学, 2014.
- [31] 孙伟红, 翟毓秀, 邢丽红, 等. 喹噁啉类药物及其代谢产物在刺参体内的分析和鉴定 [J]. *中国渔业质量与标准*, 2015, 5(2): 49–55.
- [32] Yang W, Fu J, Xiao X, *et al*. Quinocetone triggers oxidative stress and induces cytotoxicity and genotoxicity in human peripheral lymphocytes of both genders [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(6): 1317–1325.
- [33] Li G H, Shan Q, Wang J, *et al*. Metabolism of mequinodox in isolated rat liver cells [J]. *J Integr Agr*, 2014, 13(1): 158–166.

(编辑:陈希)