# 不同 18α 和 18β-甘草酸配比对 P-gp 转运功能和大鼠 CYP3A 酶活性的影响

霍小位[1]，王士中[2]，孟祥波[1]，柳亚飞[1]，赵燕燕[1]
（1.河北大学药学院，河北省药物质量分析控制重点实验室，河北保定 071002）
（2.河北祁一堂药业有限公司，河北保定 071002）

**摘要：**本研究旨在探究不同配比的 18α、18β-甘草酸（18α、18β-GA）对 P-糖蛋白（P-gp）转运功能和大鼠 CYP3A 酶活性的影响。建立 Caco-2 细胞单层模型，通过检测接收池罗丹明 123 溶液的荧光强度，考察不同配比的 18α、18β-GA 对 P-gp 转运功能的影响；利用大鼠的肝脏制作微粒体，通过温孵实验检测不同浓度及不同比的 18α、18β-GL 对 CYP3A 酶活性的影响。当 18α-GA 和 18β-GA 配比为 6:4 时，对 P-gp 的抑制作用最强；当两种异构体配比为 0:10 时，对 P-gp 的诱导作用最强。18α-GA 浓度在 50~100 μg/mL 范围内，对 CYP3A 酶活性有明显抑制作用。18β-GA 浓度在 10~50 μg/mL 范围内，对 CYP3A 酶活性有明显诱导作用。在甘草酸总浓度为 10 μg/mL，18α、18β-GA 比例为 2:8 时，对 CYP3A 酶活性的诱导作用最强，高于相同浓度的 18β-GA 单体。随着药物浓度及 18α-GA 比例增加，对 CYP3A 酶活性的抑制作用增强。当浓度为 100 μg/mL、18α 与 18β-GA 配比为 10:0 时，对 CYP3A 酶抑制作用最强。18α、18β-GA 的配比不同，对 P-gp 转运功能及对大鼠 CYP3A 酶活性的影响不同，这将为指导临床用药提供科学依据。

**关键词：**甘草酸；细胞色素 P-450 CYP3A；P 糖蛋白
**文章篇号：**1673-9078(2018)09-26-31 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.9.005

# Effects of Different 18α and 18β-glycyrrhizic acid Ratios of on P-gp Transport Function and CYP3A Enzyme Activity in Rats

**HUO Xiao-wei[1], WANG Shi-zhong[2], MENG Xiang-bo[1], LIU Ya-fei[1], ZHAO Yan-yan[1]**
(1.College of Pharmaceutical Science, Key Laboratory of Pharmaceutical Quality Control of Hebei Province, Hebei University, Baoding 071002, China)(2.Hebei Qiyi Tang Pharmaceutical Co., LTD, Baoding 071002, China)

**Abstract:** The present study was designed to investigate the effect of different ratios of 18α-glycyrrhizic acid (18α-GA) and 18β-glycyrrhizic acid (18β-GA) on P-gp function and CYP3A activity. A Caco-2 cell monolayers model was established. The fluorescence intensity of the rhodamine 123 solution in the receiving pool was determined to investigate the effects of different ratios of 18α-GA and 18β-GA on P-gp transport function. Microsomes were made from the liver of rats, and the effects of different concentrations and different ratios of 18α and 18β-GA on the activity of CYP3A were analyzed after incubation. The ratio of 18α-GA and 18β-GA at 6:4 exhibited the strongest inhibitory effect on P-gp, whilst the ratio at 0:10 led to the strongest induction of P-gp. The concentration of 18α-GA in the range of 50~100 μg/mL significantly inhibited the activity of CYP3A, whilst 18β-GA at 10~50 μg/mL significantly induced the activity of CYP3A. The induction of CYP3A was the strongest, when the ratio of 18α-GA and 18β-GA was at 2:8 and the total GA concentration was at 10 μg/mL. Such an induction was greater than that for 18β-GA at the same concentration. As the GA concentration and the 18α-GA to 18β-GA ratio increased, the inhibition of CYP3A enzymatic activity was enhanced. At the 18α-GA to 18β-GA ratio of 10:0 and the total GA concentration of 100 μg/mL, the inhibition of CYP3A enzyme was the strongest. Different ratios of 18α-GA and18β-GA exhibited different effects on P-gp transport function and CYP3A enzymatic activity in rats, which would provide scientific basis for guiding clinical drug therapy.

**Key words**: glycyrrhizic acid; cytochrome P-450 CYP3A; P-glycoprotein

收稿日期：2018-03-22
基金项目：河北省自然基金项目（H2013201203）；河北大学医学学科专项资金建设项目（2014A1003）；河北大学研究生创新资助项目（hbu2018ss74）
作者简介：霍小位，女，博士，讲师，研究方向：药理学；王士中，男，本科，研究方向：中药学（共同第一作者）
通讯作者：赵燕燕（1960-），女，博士，教授，研究方向：药学

甘草（*Glycyrrhiza uralensis* Fisch）是一种豆科植物，具有独特的甜味，是常用的食品添加剂。此外，甘草的药用价值极高，具有清热解毒、调和诸药之功效，是现代临床上最为常用的中草药之一[1]。甘草酸是甘草的主要活性成分，其具有两种差向异构体形式，即 18*α*-甘草酸（18*α*-GL）和 18*β*-甘草酸（18*β*-GL）[2]。两种甘草酸异构体理化性质相似，但在药效和不良反应方面却有很大差异。这两种异构体的水解产物同样在药效学以及药动学等诸多方面存在着较大差异。因此，需要进一步对 18*α*-GL 和 18*β*-GL 这两种异构体展开深入研究以指导临床用药。

研究发现，药物在生物体内的吸收过程和代谢过程主要由 P-糖蛋白（P-gp）和细胞色素 CYP 450 酶系调节，药物的转运过程则主要由 P-gp 介导[3~5]。P-gp 是细胞中的转运功能蛋白，它能够 ATP 依赖性地将细胞中的药物排出细胞外。CYP450 酶可以将药物通过 C-羟基化等反应代谢排出体外，故能够减小药物对人体的毒副作用，保护肝脏等器官。由于对临床药物的代谢作用广泛，CYP3A 成为细胞色素 CYP 450 家族中最主要的研究对象之一。P-gp 和 CYP3A 酶均广泛存在于肝脏和肠道中，许多药物可以经过 PXR 和 CAR 信号通路影响 P-gp 和 CYP3A 酶的表达，这些药物便可以作为 P-gp 和 CYP3A 酶的诱导剂或抑制剂[6~8]，从而影响药物本身的代谢和转运过程。在本研究中我们考察了不同浓度、不同配比的 18*α*-GL 和 18*β*-GL 对 P-gp 转运功能的影响，以及对 CYP3A 酶活性的影响，系统探讨不同浓度、不同配比的甘草酸差向异构体在生物体内发挥药理作用的最佳组合，这对于药物相互作用研究和指导临床合理用药具有十分重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞株与动物

Caco-2 细胞购于武汉大学的培养物储藏中心，Wistar 大鼠，体重（200±20）g，购自河北省实验动物中心，合格证号为 SCXK（冀）2013-1-003。

#### 1.1.2 药物与试剂

Eagle's minimum essential medium 培养基、磷酸盐缓冲溶液及胰蛋白酶购于美国 HyClone 公司；胎牛血清、二甲基亚砜购于 Sigma-Aldrich 公司；荧光黄购于天津致远化学试剂有限公司；18*α*-GL 对照品（18*α*，20*β*-glycyrrhizic acid）和 18*β*-GL 对照品（18*β*，20*β*-glycyrrhizinic acid）均购于 ALPS 制药，批号分别为 10B001S 和 05C11S；睾酮购于德国 Dr.Ehrenstorfer 公司，批号：10519；6*β*-羟基睾酮购于美国 Cerilliant 公司，批号：FN04141413；罗丹明 123、还原型辅酶 II、二硫基赤藓醇、BCA 蛋白检测试剂盒均购自北京索莱宝生物科技有限公司。

#### 1.1.3 器材及仪器

超净工作台为中国安泰公司产品；高压灭菌锅为日本三洋公司产品；酶标仪为美国 Biotek 公司产品；倒置相差显微镜为日本 Olympus 公司产品；MCO-18AIC 恒温培养箱和 LC-20ATVP 高效液相色谱仪为日本岛津公司产品；SPD-20Avp 紫外-可见检测器和 LabSolutions 工作站为美国 Bio-Tek 公司产品；transwell 6 孔细胞培养板为美国康宁公司产品。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 Caco-2 细胞单层模型的建立及紧密性考察

将 transwell 孔板放在紫外灯下照射 24 h。在孔板的底层加入 1.5 mL 不含血清的 MEM 培养液，37 ℃培养 2 h。在孔板的上层加入不含血清的 MEM 培养液 0.5 mL 继续培养 2 h。细胞在培养瓶中生长到一定程度后（80%~90%）消化，接种到 Transwell 孔板的上层（AP 侧）。细胞接种密度为 $2\times10^5$ 个/mL。孔板下层（BL 侧）加入 1.5 mL 培养液。在接种后的第 1~7 d，每天换液，第 8~21 d，隔天换液。自第 3 d 起，隔日测定一次跨膜电阻值，并计算细胞的跨膜电阻（TEER）。每个时间点测 3 次，取平均值，当 TEER 值大于 500 Ω/cm$^2$ 时说明紧密的单层细胞膜已经生成。跨膜电阻的计算公式如下：

$$TEER=(R_1-R_0)\times A$$

注：其中 $R_1$ 为接种细胞孔测量的电阻值；$R_0$ 为空白孔测量的电阻值；A 为有效膜面积。

#### 1.2.2 Caco-2 细胞单层模型通透性考察及表观渗透系数的计算

将细胞接种到上层（AP 侧），培养到 21 d，弃掉培养液，用 PBS 将细胞洗涤 2 次，吸弃 PBS，在 AP 侧加入 3 μmol/L 荧光黄 0.5 mL，在下层（BL 侧）加入 1.5 mL 的 PBS，放入培养箱中培养 2 h，吸取 BL 侧溶液 200 μL，检测其荧光强度并根据荧光黄的标准曲线计算荧光黄的浓度。荧光黄标准曲线的制备：将已制备的荧光黄母液用 PBS 稀释成 0.1~3.5 μmol/L 的梯度浓度，在激发波长 EX=427 nm，发射波长 Em=536 nm 条件下，检测荧光黄的荧光强度。以荧光黄浓度为 x 轴，以荧光强度为 y 轴，绘制荧光黄的标准曲线。计算各孔荧光黄表观渗透系数 Papp，考察细胞模型的通透性和完整性。当 Papp<$0.5\times10^{-6}$ cm/s 时，说明细

胞模型形成了完整的单层细胞膜。计算公式如下：

$P_{app}=d_Q/(d_t\times A\times C_0)$

注：其中 $d_Q$ 表示在 $d_t$ 单位时间内药物的转运量；A 表示形成的单层细胞模型的膜表面积；$C_0$ 表示在供给池中加入的药物的初始浓度。

### 1.2.3 罗丹明 123 跨膜转运实验

将培养至第 21 d 的细胞用 PBS 洗涤后进行药物干预。阴性对照组加入空白完全培养基，阳性对照组加入含 P-gp 抑制剂 VER 的培养基，药物组加入含不同配比药物的培养基，放入培养箱中培养 72 h。吸弃培养液，在 AP 侧加入 PBS，BL 侧加入 PBS，平衡 30 min。将 AP 侧和 BL 侧的 PBS 小心吸弃。BL 侧到 AP 侧的转运：BL 侧加 1.5 mL 罗丹明 123 工作液，作为供给池，AP 侧加 0.5 mL PBS 作为接收池。将孔板放置在 37 ℃恒温水浴中，60 r/min 转速，分别在 15、30、60、90、120 min 时从各接收池吸取溶液 200 μL，并补足接收池体积。检测接收池罗丹明 123 溶液的荧光强度，代入其溶液标准曲线，求其溶液浓度（μmol/L），由其溶液浓度计算转运量。药物转运量 $d_Q$=药物浓度×接收池溶液体积。罗丹明 123 转运量与转运膜面积的比值即为罗丹明 123 的单位面积累积转运量（mol/cm$^2$）。单位面积累积转运量=药物转运量 $d_Q$/转运膜表面积 A。根据 Rho-123 的转运量可求得表观渗透系数 Papp，进而求得它在细胞中的外排率。外排率的计算公式如下：

$ER=P_{app\ B\text{-}A}/P_{app\ A\text{-}B}$

注：$P_{app\ B\text{-}A}$ 为分泌表观渗透系数，$P_{app\ A\text{-}B}$ 为吸收表观渗透系数。$P_{app\ B\text{-}A}$ 与 $P_{app\ A\text{-}B}$ 的比值为其在细胞中的外排率（ER）。

### 1.2.4 肝微粒体制备及蛋白浓度测定

实验动物禁食 24 h，自由给水，脱颈处死后迅速取出肝脏，用冰生理盐水冲洗，并用滤纸吸干水分。将肝脏剪至小块，用冰蔗糖溶液冲洗，直至洗出液呈淡黄色或无色，用滤纸将肝脏表层水分吸干，称重。用剪刀将肝小块剪碎，加入 4 倍体积（*V/m*）的蔗糖溶液，冰浴匀浆 20 s，匀浆液于 10240 r/min 离心 15 min。取上清液，加入 88 mmol/L $CaCl_2$（0.1 mL/mL），冰浴振摇 5 min，于 15110 r/min 离心 15 min。弃上清液，所得肝微粒体沉淀加其重量 2 倍的 Tris-HCl（pH 7.4）缓冲液混悬均匀，分装，-70 ℃保存备用。制得的肝微粒用 BCA 蛋白试剂盒测定其蛋白浓度。以上操作均在冰上进行。

### 1.2.5 温孵实验及样品处理方法

各组肝微粒体体系均加入精密量取的 50 μL 睾酮标准品溶液和一定量不同浓度、不同配比的 18*α*、18*β*-GL 溶液或相同体积溶剂后，缓慢的通 $N_2$ 吹干，加入甲醇-水（1:1，*V/V*）50 μL 复溶，加入适量肝微粒体使其终浓度为 1 mg/mL，以磷酸盐缓冲溶液（pH 7.4）补足体积，温孵体系终体积为 500 μL。置于恒温振荡器中，37 ℃条件下预温孵 5 min 后在温孵体系中加入 50 μL NADPH，使其终浓度为 1 mmol/L，继续温孵 30 min。已孵育完样品置于-20 ℃冰箱中 20 min 终止反应，于 15110 r/min 离心 15 min，取上清液过已活化好的固相萃取小柱，以甲醇作为洗脱剂，将洗脱液在 37 ℃水浴中缓慢的通 $N_2$ 吹干，最后用 200 μL 甲醇-水（1:1，*V/V*）对残渣复溶，0.45 μm 滤膜过滤，上机分析。

### 1.2.6 不同浓度 18*α*、18*β*-GL 作用下 CYP3A 酶活性测定

肝微粒体温孵体系分为空白对照组和药物组。药物组加入不同浓度 18*α*、18*β*-GL（浓度分别设为 1、10、50、100、200、300、400 μg/mL）100 μL，空白对照组加入 100 μL 药物溶剂甲醇，各组平行三管。测定不同浓度 18*α*、18*β*-GL 作用下睾酮的代谢产物 6*β*-羟基睾酮的生成量。计算各实验组 CYP3A 酶的相对活性（%）。公式如下：

酶相对活性(%)=药物组代谢产物生成量/空白组代谢产物生成量×100%

以空白对照组 CYP3A 酶活性为 100%（用代谢产物 6*β*-羟基睾酮的生成量表示），当药物组 6*β*-羟基睾酮生成量多于空白对照组时，酶相对百分活性数值大于 100%，药物对 CYP3A 酶表现为诱导作用；酶相对百分活性数值小于 100%，则为抑制作用。

### 1.2.7 不同配比 18*α*、18*β*-GL 作用下 CYP3A 酶活性测定

肝微粒体温孵体系中依次加入甘草酸总浓度分别在 1、10、25、50、75、100 μg/mL 时 18*α*、18*β*-GL 采取七个配比（10:0、8:2、6:4、5:5、4:6、2:8、0:10）的混合液，各组平行三管。测定不同 18*α*、18*β*-GL 总浓度分别在上述七个配比的作用下睾酮的代谢产物 6*β*-羟基睾酮的生成量。分析同一浓度不同配比，以及同一配比不同浓度的 18*α*、18*β*-GL 对 CYP3A 酶活性的影响。

### 1.3 统计学处理

实验结果数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析，$p<0.05$ 认为统计结果有显著差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Caco-2 细胞单层模型的考察

如图 1 所示，随着培养天数延长，细胞模型的跨膜电阻值逐渐增大，当培养到 21 d 时，各孔跨膜电阻值均大于 500 Ω/cm$^2$，表明紧密的单层细胞已经形成。

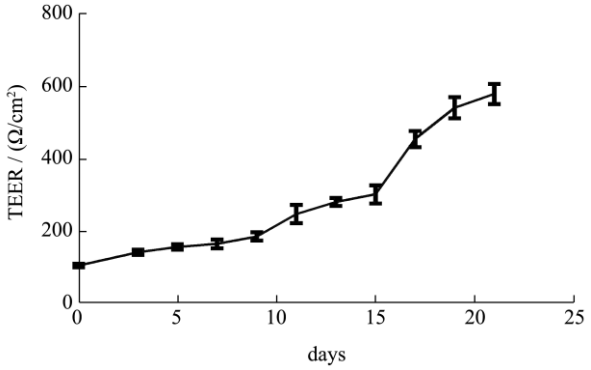



图 1 细胞模型跨膜电阻值

**Fig.1 The TEER of Caco-2 cells**

表 1 荧光黄表观渗透系数

**Table 1 The Papp of fluorescein in Caco-2 cells**

| 孔板 Transwell | $P_{app}$/(cm/s) | RSD/% |
|---|---|---|
| 1 | $3.87\times10^{-7}$ | 0.54 |
| 2 | $3.89\times10^{-7}$ | |
| 3 | $3.92\times10^{-7}$ | |
| 4 | $3.87\times10^{-7}$ | |
| 5 | $3.90\times10^{-7}$ | |
| 6 | $3.91\times10^{-7}$ | |

荧光黄结果如表 1 所示，当 Caco-2 细胞在 Transwell 孔板上培养至 21 d 时，各孔渗透系数均小于 $0.5\times10^{-6}$ cm/s，表明完整的单层细胞膜模型已经形成。

## 2.2 不同配比 18α、18β-GL 单体对 P-gp 转运功能的影响

罗丹明 123 是评价 P-gp 功能的探针药物，常通过考察罗丹明 123 在细胞中的外排率来研究药物对 P-gp 功能的影响。根据课题组前期的研究基础，本实验选择了 10 μmol/L 作为药物总浓度。通过建立 Caco-2 细胞单层模型，测定转运液中罗丹明 123 的荧光强度，考察在不同配比的药物干预下，罗丹明 123 在细胞内跨膜转运的情况。如表 2 所示，不同配比药物组的罗丹明 123 由 BL 侧到 AP 侧外排量随 18β-GL 的比例的增加而增大，当 18α-GL 与 18β-GL 配比小于 5:5 时，罗丹明 123 在 BL 到 AP 侧的累积转运量大于空白对照组，表现出对 P-gp 转运功能的诱导作用。当药物配比为 0:10 时，罗丹明 123 在 Caco-2 细胞中的外排率最大。当药物配比大于 5:5 时，BL 侧到 AP 侧的累积转运量均小于空白对照组，表现出对 P-gp 转运功能的抑制作用，随着 18α-GL 比例的增加，罗丹明 123 在细胞中的外排率减小，18α-GL 呈现出对 P-gp 功能的抑制作用。当药物配比为 6:4 时，对 P-gp 的抑制作用最强，几乎与阳性药维拉帕米（VER）的抑制作用相当。当 P-gp 外排功能被抑制后，药物在体内停留时间延长，药效增强，但同时应考虑药物毒性的增加。

表 2 不同配比药物对罗丹明 123 不同时间由 BL 侧到 AP 侧累积转运量的影响

**Table 2 The effect of different concentration of drugs on the transport B-A of Rho123 ( $\bar{x}\pm s$, n=3)**

| 分组（18α-/18β-GL） | 不同时间各孔累积转运量 $Transport_{B-A}$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 15 min | 30 min | 60 min | 90 min | 120 min |
| 空白对照组 | 1.55 ±0.026 | 15.82 ±0.128 | 23.57 ±0.161 | 55.73 ±0.029 | 76.31 ±0.201 |
| VER 组 | 1.32 ±0.025** | 12.16 ±0.149** | 14.43 ±0.197** | 19.84 ±0.102** | 21.07 ±0.111** |
| 10:0 | 1.47 ±0.013** | 14.07 ±0.162** | 15.28 ±0.149** | 37.18 ±0.027** | 47.95 ±0.054** |
| 8:2 | 1.50 ±0.017** | 14.95 ±0.165** | 16.71 ±0.128** | 45.37 ±0.065** | 68.85 ±1.141** |
| 6:4 | 1.42 ±0.011** | 13.35 ±0.103** | 14.74 ±0.153** | 28.62 ±0.111** | 36.94 ±0.813** |
| 5:5 | 1.57 ±0.026** | 16.39 ±0.125** | 38.58 ±0.149** | 63.28 ±0.058** | 95.71 ±0.208** |
| 4:6 | 1.68 ±0.018** | 16.57 ±0.116** | 44.73 ±0.135** | 75.28 ±0.149** | 100.9 ±0.307** |
| 2:8 | 1.77 ±0.021** | 18.33 ±0.131** | 47.28 ±0.006** | 86.44 ±0.166** | 119.2 ±0.149** |
| 0:10 | 1.86 ±0.015** | 19.66 ±0.115** | 51.74 ±0.117** | 99.21 ±0.217** | 130.4 ±1.026** |

注：与空白对照组比较，*$p<0.05$，**$p<0.01$。

## 2.3 不同浓度 18α、18β-GL 单体对 CYP3A 酶活性影响

据报道[9]，甘草酸对 CYP3A 酶的活性有诱导作用。在本研究中，甘草酸的两种异构体 18α、18β-GL 单体对 CYP3A 酶活性的影响不同并且随其浓度的变化而变化，结果如图 2 所示。其中，18α-GL 对 CYP3A 酶活性具有显著的抑制作用。研究表明 18α-GL 能够剂量依赖性的抑制 CYP3A 酶的蛋白表达水平[10]，因此 18α-GL 对 CYP3A 酶活性的抑制作用可能与抑制蛋白表达相关。临床联合用药时，应考虑因 18α-GL 对

CYP3A 酶活性的抑制作用而导致的药物的代谢减慢，不良反应增加等。当 18*β*-GL 浓度在 10~50 μg/mL 范围内，6*β*-羟基睾酮生成量增多，表明对 CYP3A 酶活性有明显诱导作用；当浓度为 1 μg/mL，或浓度大于 100 μg/mL 时，对 CYP3A 酶活性影响较小。王宇光[11]报道 18*β*-GL 在 20~80 μg/mL 的浓度范围内能够上调 CYP3A 酶的 mRNA 水平。因此，18*β*-GL 浓度在 10~50 μg/mL 时对 CYP3A 酶活性的诱导作用可能与上调 CYP3A 酶的 mRNA 水平相关。在临床联合用药时，应考虑因 18*β*-GL 对代谢酶的诱导作用所导致的合用药物的代谢加快，药效降低，以及耐药性的产生。

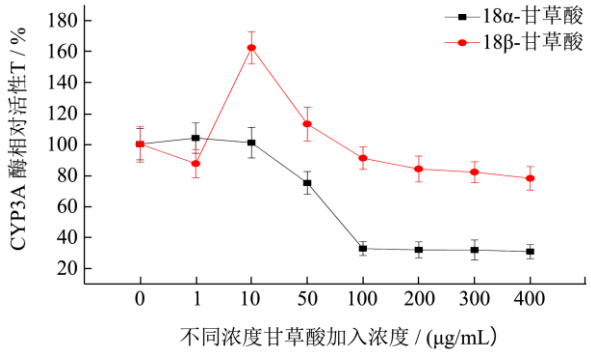



图 2 不同浓度的 18 *α*、18 *β*-GL 单体对 CYP3A 酶活性影响

**Fig.2 Effect of different concentrations of 18*α*, 18*β*-GL on the activity of CYP3A**

## 2.4 不同配比、不同浓度 18*α*、18*β*-GL 混合液对 CYP3A 酶活性影响

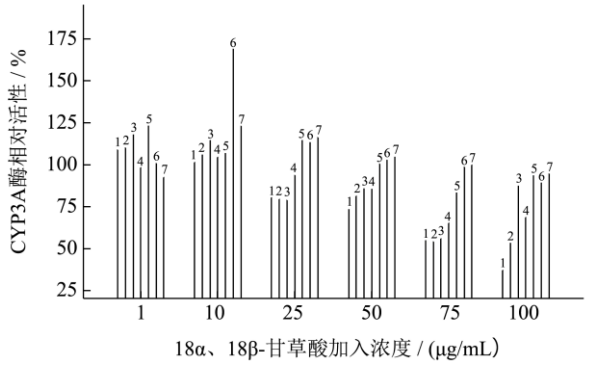



图 3 相同浓度、不同配比的 18 *α* 与 18 *β*-GL 对 CYP3A 酶活性的影响

**Fig.3 Effect of different ratios of 18*α*, 18*β*-GL at the same concentration on the activity of CYP3A**

注：1、10:0；2、8:2；3、6:4；4、5:5；5、4:6；6、2:8；7、0:10。

实验考察了 18*α* 与 18*β*-GL 在同一浓度不同配比（10:0、8:2、6:4、5:5、4:6、2:8、0:10）以及同一配比不同浓度（1、10、50、100、200、300、400 μg/mL）对 CYP3A 酶活性的影响。实验结果如图 3、图 4 所示，在总浓度固定时，不同配比 18*α*、18*β*-GL 对 CYP3A 酶活性的影响不同。在甘草酸浓度为 10 μg/mL，18*α* 与 18*β*-GL 配比为 2:8 时，对 CYP3A 酶诱导作用最强。随着甘草酸总浓度增大、18*α*-GL 比例增加，对 CYP3A 酶活性的抑制作用逐渐增强。当浓度为 100 μg/mL、18*α* 与 18*β*-GL 配比为 10:0 时，对 CYP3A 酶抑制作用最强。该研究结果可以对临床联合用药的安全性和有效性提供指导，但也存在一些不足和局限性，仍需在 mRNA 及蛋白表达水平来探究药物对酶活性影响。

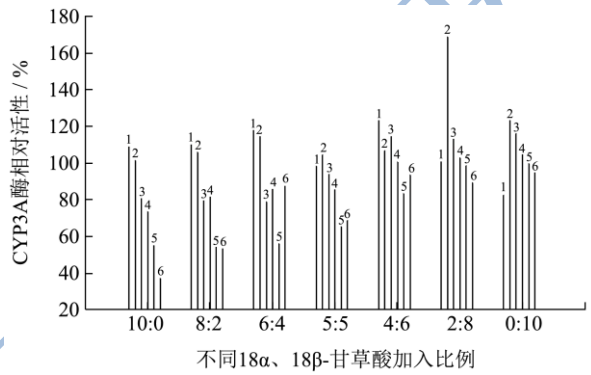



图 4 同一配比、不同浓度的 18 *α* 与 18 *β*-GL 对 CYP3A 酶活性的影响

**Fig.4 Effect of different concentrations of 18*α*, 18*β*-GL at the same ratio on the activity of CYP3A**

注：1、1 μg/mL；2、10 μg/mL；3、25 μg/mL；4、50 μg/mL；5、75 μg/mL；6、100 μg/mL。

## 3 结论

本研究考察了不同浓度配比的 18*α*-GL 和 18*β*-GL 对 P-gp 转运功能和对 CYP3A 酶活性的影响。实验结果显示，当 18*α*-GL 和 18*β*-GL 配比为 6:4 时，对罗丹明 123 的外排作用最弱，表明对 P-gp 的抑制作用最强；当 18*α*-GL 和 18*β*-GL 配比为 0:10 时，对罗丹明 123 的外排作用最强，表明对 P-gp 的诱导作用最强。此外，对 CYP3A 酶活性的研究结果显示，18*α*-GL 浓度在 50~100 μg/mL 范围内，对 CYP3A 酶活性有明显抑制作用。18*β*-GL 浓度在 10~50 μg/mL 范围内，对 CYP3A 酶活性有明显诱导作用。在甘草酸总浓度为 10 μg/mL 时，18*α*、18*β*-GL 比例为 2:8 时，对 CYP3A 酶活性诱导作用最强，高于相同浓度的 18*β*-GL 单体。随着药物浓度及 18*α*-GL 比例增加，对 CYP3A 酶活性的抑制作用增强。当浓度为 100 μg/mL、18*α* 与 18*β*-GL 配比为 10:0 时，对 CYP3A 酶抑制作用最强。综上所述，不同配比的 18*α*、18*β*-GL 对 P-gp 转运功能及对 CYP3A 酶活性的影响不同。本实验将为研究 18*α*、18*β*-GL 的相互作用、指导临床用药安全及新药研发开拓新思路。

## 参考文献


[1] 赵燕燕,石敏健,刘丽艳.4 代甘草酸制剂主成分异构体及有关物质含量差异性分析与变化趋势[J].药物分析杂志,2014,34(2):247-254
ZHAO Yan-yan, SHI Min-jian, LIU Li-yan. Analysis and change trend of the content difference of principal component isomers and related substances in 4th generation glycyrrhizic acid preparation [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2014, 34(2): 247-254

[2] 黄明进,王文全,魏胜利.我国甘草药用植物资源调查及质量评价研究[J].中国中药杂志,2010,359(8):944-952
HUANG Ming-jin, WANG Wen-quan, WEI Sheng-li. Investigation on medicinal plant resources of *Glycurrhiza uralensis* in China and chemical assessment of its underground part [J]. Chian Journal of Chinese Materia Medica, 2010, 359(8): 944-952

[3] Regina A, Romero I A, Greenwood J, et al. Dexamethasone regulation of P-glycoprotein activity in an irnrnortalized rat brain endothelial cell line, GPNT [J]. Journal of Neurochemistry, 1999, 73(5): 1954-1963

[4] Ikoma Y, Takano A, Ito H, et al. Quantitative analysis of 11C-verapamil transfer at the human blood-brain barrier for evaluation of P-glycoprotein function [J]. Journal of Nuclear Medicine, 2006, 47(9): 1531-1537

[5] Walker J, Martin C, Callaghan R. Inhibition of P-glycoprotein function by XR9576 in a solid tumour model can restore anticancer drug efficacy [J]. European Journal of Cancer, 2004, 40(4): 594-605

[6] Liow J S, Lu S, McCarron J A, et al. Effect of a P-glycoprotein inhibitor, cyclosporin A, on the disposition in rodent brain and blood of the 5-HT1A receptor radioligand, [11C] (R)-(-)-RWAY [J]. Synapse, 2007, 61(2): 96-105

[7] 常伟宇.黄连素通过 PXR 信号通路调控 CYP3A 和 P-gp 的机制研究[J].南方医科大学,2016
CHANG Wei-yu. The mechanism research of Berberine on regulation of CYP3A4 and P-gp via PXR signal pathways [J]. Southern Medical University, 2016

[8] 王延飞,史国兵.P-糖蛋白和 CYP3A 酶介导的合并用药对他克莫司血药浓度的影响.中国药理学会全国治疗药物监测学术年会. 2013
WANG Yan-fei, SHI Guo-bing. Effect of combination of P-glycoprotein and CYP3A enzyme on the concentration of tacrolimus. Annual National Conference on therapeutic drug monitoring of the Chinese Pharmacology Society. 2013

[9] 沈国林,梁爱华,赵雍,等.3 种中药成分对大鼠 CYP3A4 酶代谢的影响[J].中国中药杂志,2009,34(13):1705-1711
SHEN Guo-lin, LIANG Ai-hua, ZHAO Yong, et al. Interaction between four herb compounds and a western drug by CYP3A4 enzyme emetabolism in vitro [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(13): 1705-1711

[10] 杨静,彭仁琇,于皆平.18*α*-甘草酸下调"胶原蛋白凝胶三明治"培养的大鼠肝细胞 P450 酶活性及 mRNA 表达[J].中国药理学与毒理学杂志,2001,15(2):155-158
YANG Jing, PENG Ren-xiu, YU Jie-ping. 18*α*-Glycyrrhizic acid down-regulated the activities and mRNA expression of cytochrome P450 isoenzymes in rat hepatocyte sandwich cultures [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2001, 15(2): 155-158

[11] 胡东华,王宇光,陈志武,等.复方丹参滴丸对大鼠肝细胞色素 P450 酶的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2013,27(4):678-684
HU Dong-hua, WANG Yu-guang, CHEN Zhi-wu, et al. Effect of compound Danshen Dripping pills on rat hepatic cytochrome P450 [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2013, 27(4): 678-684