

淫羊藿苷元对临床重要药物转运体抑制作用研究

武卫党¹, 慈小燕¹, 魏滋鸿¹, 张星艳², 李 薇¹, 王 泽³, 金明吉⁴, 孟 坤⁴, 刘昌孝^{1*}, 伊秀林^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 国家释药技术及药代动力学重点实验室, 天津 300301

2. 天津中医药大学, 天津 300193

3. 安徽医科大学, 安徽 合肥 230032

4. 北京坤奥基医药科技有限公司, 北京 102206

摘要: 目的 研究淫羊藿苷元对临床重要转运体 OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、BCRP、BSEP 和 P-gp 转运蛋白的抑制作用。方法 应用过表达各转运体的细胞株, 检测淫羊藿苷元 (0、0.03、0.10、0.30、1.00、3.00、10.00 $\mu\text{mol/L}$) 对 hOAT1 介导的放射性同位素标记底物 ^{14}C -对氨基马尿酸 (^{14}C -PAH)、hOAT3 介导的 ^3H -硫酸雌酮胺 (^3H -ES)、hOATP1B1 介导的 ^3H -ES、hOATP1B3 介导的 ^3H -雌二醇葡萄糖苷酸 (^3H -EG)、hOCT1 介导的 ^{14}C -溴化四乙胺 (^{14}C -TEA)、hOCT2 介导的 ^{14}C -TEA、hBCRP 介导的 ^3H -ES、MDR1 介导的 ^3H -地高辛 (^3H -Digoxin)、以及 hBSEP 介导的 ^3H -牛黄胆酸盐 (^3H -TCA) 转运活性的影响, 计算淫羊藿苷元对不同转运蛋白的抑制作用的半数抑制浓度 (IC_{50})。结果 与对照组比较, 淫羊藿苷元 0.3~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度对 OAT3 转运活性发挥显著抑制作用 ($P<0.05$), 0.1~10 $\mu\text{mol/L}$ 对 P-gp 有显著抑制作用; 1~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度对 OATP1B3 和 BCRP 转运活性有显著抑制作用 ($P<0.05$); 3~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度对 OATP1B1 转运活性有显著抑制作用 ($P<0.05$); 对 OAT3 和 BCRP 转运活性的 IC_{50} 分别为 4.97 和 8.15 $\mu\text{mol/L}$; 对 OAT1B1、OATP1B3、OCT2 和 P-gp 的 IC_{50} 均大于 10 $\mu\text{mol/L}$, 对 OAT1、OCT1 和 BSEP 转运活性无明显影响。结论 淫羊藿苷元对药物转运体 OAT3 和 BCRP 的抑制作用相对较强, 对 OAT1B1、OATP1B3、OCT2 和 P-gp 也具有一定的抑制作用, 对 OAT1、OCT1 和 BSEP 无显著抑制作用。

关键词: 药物转运体; 淫羊藿苷元; 同位素标记; 抑制作用; 半数抑制浓度

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2018) 06- 0986 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.06.009

Inhibition effects of anhydroicaritin on important clinical drug transporters

WU Weidang¹, CI Xiaoyan¹, WEI Zihong¹, ZHANG Xingyan², LI Wei¹, WANG Ze³, JIN Mingji⁴, MENG Kun⁴, LIU Changxiao¹, YI Xiulin¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Research Co. LTD, State key laboratory of drug release technology and pharmacokinetics, Tianjin 300031, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

4. Beijing Shenogen Biomedical Co. Ltd, Beijing 102206, China

Abstract: Objective To research the inhibition of anhydroicaritin to the important clinical transporters including OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, BCRP, BSEP, and P-gp. **Method** The transgenic cell lines overexpressing OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, BCRP, BSEP, and P-gp were constructed, and the inhibition of anhydroicaritin (0, 0.03, 0.10, 0.30, 1.00, 3.00, and 10.00 $\mu\text{mol/L}$) on the different transporters were evaluated by the effects of anhydroicaritin on transport activity of the radiolabeled substrates of ^{14}C -PAH, ^3H -ES, ^3H -ES, ^3H -EG, ^{14}C -TEA, ^{14}C -TEA, ^3H -ES, ^3H -Digoxin, ^3H -TCA mediated by hOAT1, hOAT3, OATP1B, hOATP1B3, hOCT1, hOCT2, hBCRP, MDR1, and hBSEP, respectively. The half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of anhydroicaritin to every transporters were calculated by the software Prism 5.0. **Result** Compared with control group, anhydroicaritin of 0.3 - 10 mol/L concentration had significant inhibitory effects on the transport activity of OAT3,

收稿日期: 2017-12-25

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81430096); 天津市科技支撑重点项目 (17YFZCSY01170); 国家青年自然科学基金 (81503154)

第一作者: 武卫党 (1984—), 助理研究员。Tel: 022-84845243 E-mail: wuweidang1985@126.com

*通信作者 伊秀林, 研究员。Tel: 022-84845242 E-mail: yixl@tjipr.com

刘昌孝, 研究员, 博士生导师, 中国工程院院士。E-mail: liuchangxiao@vip.163.com

BCRP, and OATP1B3 ($P < 0.05$), and concentration of $0.1 \sim 10$ and $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ significantly inhibited the P-gp and OATP1B1 transport activity ($P < 0.05$). The IC_{50} of anhydroicaritin to OAT3 and BCRP transport activity was 4.97 and 8.15 mol/L , respectively, and IC_{50} of OAT1B1, OATP1B3, OCT2, and P-gp were more than $10 \mu\text{mol/L}$, and with no obvious effects on the transport activity of OAT1, OCT1, and BSEP. **Conclusion** Anhydroicaritin showed strong inhibition to OAT3 and BCRP, and showed certain inhibition to OATP1B1, OATP1B3, OCT2, and P-gp inordinately, but no inhibition to OAT1, OCT1, and BSEP.

Key words: drug transporter; anhydroicaritin; radiolabel; inhibition; IC_{50}

淫羊藿苷元 (Anhydroicaritin), 为类黄酮类化合物, 别名为脱水淫羊藿素, 存在于小檗科多年生植物淫羊藿中, 为淫羊藿苷的降解产物, 具有突出的药理活性且较小的毒副作用, 能够发挥雌激素样作用, 具有调节免疫、促进心肌细胞再生和分化、促骨质保护、壮阳、抗肝损伤及延缓肝纤维化、抗肿瘤等多种药理活性^[1], 因此被不同的药物研发单位开发成治疗不同疾病的药物制剂^[2]。

转运体是一类存在于细胞膜上的、具有运输功能的蛋白, 是细胞同外界进行物质交换的重要门户。药物转运体是负责药物进出细胞的一类转运蛋白, 对药物分子的吸收、分布和排泄具有重要影响^[3]。因此药物转运体引起的药物-药物相互作用 (DDI) 是影响临床药物安全性的重要因素^[4-5]。

淫羊藿苷元是北京坤奥基医药科技有限公司研发的天然药物 (中药) 一类新药, 根据我国 CFDA 最新 (2014 年 5 月) 颁布的《药物临床前药代动力学指导原则》相关规定, 并参考美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧洲药品管理局 (EMA) 有关药物相互作用研究指导方案以及淫羊藿苷元已知的药动学研究结果^[6], 需对其开展药物转运体 OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、P-gp、BCRP 和 BSEP 抑制作用的研究。本研究的意义在于较为全面的研究淫羊藿苷元对目前临床上重要的药物转运体的抑制作用, 为淫羊藿苷元可能发生的 DDI 提供数据支持, 为临床安全用药提供一定的指导, 同时也为创新药物在药物转运体研究方面提供借鉴。

1 材料

1.1 主要试剂

淫羊藿苷元 (北京坤奥基医药科技有限公司, 批号 SNG162-23, 质量分数 98.8%); 磷酸缓冲液 (PBS, Solarbio, 批号 131I0212); DMEM (Hyclone, 批号 AB10137517); FBS (Gibco, 批号 1739463); 青链霉素混合液 (Solarbio, 批号 20160624); Sf9-BCRP 囊泡 (GenoMembrane, 批号 DNA1603); Sf9-BSEP 囊泡 (GenoMembrane, 批号 DNABG23);

HEPES (Solarbio, 批号 804D046); DMSO (Solarbio, 批号 1065C241); GSH (Solarbio, 批号 1104B055); Na_2AMP (Sigma, 批号 BCBL4139V); MOPS (Sigma, 批号 BCBK7781V); Na_2ATP (Sigma, 批号 SLBP6246V); Tris (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 批号 7810D150); ^3H -地高辛 (^3H -Digoxin, PerkinElmer, 批号 1607739); ^3H -硫酸雌酮铵 (^3H -ES, ARC, 批号 140331); ^3H -雌二醇葡萄糖苷酸 (^3H -EG, ARC, 批号 141231); ^3H -牛黄胆酸盐 (^3H -TCA, ARC, 批号 140403); ^{14}C -对氨基马尿酸 (^{14}C -PAH, PerkinElmer, 批号 1558673); ^{14}C -溴化四乙胺 (^{14}C -TEA, ARC, 批号 130311); EG (Sigma, 批号 BCB4273V); ES (Sigma, 批号 079K4063); Ko143 (Medchem Express, 批号 HY-10010); 利福平 (Sigma, 批号 109K1417); 维拉帕米 (Sigma, 批号 021M1429V); 丙磺舒 (Sigma, 批号 BCBC7346V); 西咪替丁 (Sigma, 批号 BCBC1229)。

缓冲液 A1: 10 mmol/L HEPES-Tris + 100 mmol/L KNO_3 + 10 mmol/L $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ + 50 mmol/L 蔗糖; 缓冲液 A2: 50 mmol/L MOPS-Tris + 70 mmol/L KCl + 7.5 mmol/L MgCl_2 ; 缓冲液 B1: 10 mmol/L HEPES-Tris + 100 mmol/L KNO_3 + 50 mmol/L 蔗糖; 缓冲液 B2: 40 mmol/L MOPS-Tris + 70 mmol/L KCl ; 反应试剂 C (10 mmol/L Mg ATP); 反应试剂 D (10 mmol/L Mg AMP); 溶液 G (200 mmol/L 还原型 L-谷胱甘肽)。

1.2 主要仪器设备及生产商

BS124S 分析天平, 瑞士 Sartorius 公司; HERAccl 150i 二氧化碳培养箱, 美国 Thermo Scientific 公司; Tri-Carb 2910 TR 型 α/β 射线检测仪, 美国 Perkin Elmer 公司; TR-2AR Thermal Robo 恒温水浴锅, 日本亚速旺株式会社; FLE712AA 多孔滤器, 日本 Advantec 公司; 单人超净生物安全柜, 力康生物医疗科技控股有限公司; 跨膜电阻测试系统, Inno-Alliance Biotech。

1.3 转运体细胞株

人有机阴离子转运体过表达细胞株 MDCK-

OAT1 和 S2-OAT3, 人有机阴离子转运多肽过表达细胞株 HEK293-OATP1B1 和 HEK293-OATP1B3, 人有机阳离子转运体过表达细胞株 S2-OCT1 和 S2-OCT2, 人多药耐药蛋白 MDR1 (或 P-gp) 过表达细胞株 MDCK II-MDR1, 各转运体宿主细胞 HEK293、MDCK II 和 S2 细胞株, 均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

2 方法

2.1 受试化合物的给药剂量

根据有效剂量下(比格犬, ig 给药 40 mg/kg), 淫羊藿苷元在比格犬体内药动学参数 (比格犬 $C_{\max} = 106$ ng/mL), 设定本次体外给药浓度为 0、0.03、0.10、0.30、1.00、3.00、10.00 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.2 试剂配制

(1) 称取淫羊藿苷元 10 mg, 并用 DMSO 完全

溶解配成 30 mmol/L 的储备液。用 DMSO 作为 200 倍工作液的溶媒, 将储备液稀释成各给药浓度的 200 倍工作液: 0.006、0.02、0.06、0.20、0.60、2.00 mmol/L。

(2) 用 PBS 作为药物转运蛋白 (OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 和 OCT2) 2 倍工作液的溶媒, 用 PBS 将 (1) 中 200 工作液稀释 100 倍得到各给药浓度的 2 倍工作液; 平衡盐溶液 (Hanks Balanced Salt Solution, HBSS, 自制) 作为转运蛋白 P-gp 2 倍工作液的溶媒; 给药时同放标底物的 2 倍工作液等体积混合使用^[7-8]。

(3) Sf9-BSEP 和 Sf9-BCRP 囊泡各工作液的溶媒分别为缓冲液 A1 和 A2。

2.3 实验所用细胞株及实验体系

本研究所用药物转运体的底物、阳性对照品及给药时间的设定如表 1 所示:

表 1 各药物转运体实验条件的选择

Table 1 Selection of experiment factors for every transporters

药物转运体过表达细胞株	放射性标记底物	阳性对照	给药时间/min
MDCK-OAT1	^{14}C -PAH (5.00 $\mu\text{mol/L}$)	丙磺舒 (100 $\mu\text{mol/L}$)	2
S2-OAT3	^3H -ES (50.0 nmol/L)	丙磺舒 (100 $\mu\text{mol/L}$)	2
HEK293-OATP1B1	^3H -ES (50.0 nmol/L)	利福平 (30.0 $\mu\text{mol/L}$)	2
HEK293-OATP1B3	^3H -EG (1.00 $\mu\text{mol/L}$)	利福平 (30.0 $\mu\text{mol/L}$)	2
S2-OCT1	^{14}C -TEA (5.00 $\mu\text{mol/L}$)	维拉帕米 (10.0 $\mu\text{mol/L}$)	15
S2-OCT2	^{14}C -TEA (5.00 $\mu\text{mol/L}$)	西咪替丁 (600 $\mu\text{mol/L}$)	5
MDCK-P-gp	^3H -Digoxin (5.00 $\mu\text{mol/L}$)	维拉帕米 (10.0 $\mu\text{mol/L}$)	15
Sf9-BCRP	^3H -ES (1.00 $\mu\text{mol/L}$)	KO143 (1.00 $\mu\text{mol/L}$)	5
Sf9-BSEP	^3H -TCA (1.00 $\mu\text{mol/L}$)	利福平 (30 $\mu\text{mol/L}$)	5

2.4 给药方法

2.4.1 摄入型细胞抑制实验 各过表达人药物转运体的细胞株 (MDCK-OAT1、S2-OAT3、HEK293-OATP1B1、HEK293-OATP1B3、S2-OCT1 和 S2-OCT2) 及 Mock 细胞 (MDCK-pcDNA3.1, S2-pcDNA3.1 和 HEK293-pcDNA3.1) 经过复苏和传代培养后, 选取生长良好的贴壁细胞用胰酶消化使其分散为单细胞悬液, 之后用培养基调节细胞密度至 $2.0 \times 10^5/\text{mL}$ (S2 细胞) 或 $1.5 \times 10^5/\text{mL}$ (MDCK 和 HEK293 细胞), 然后将细胞悬液以 1 mL/孔的量接种至 24 孔细胞培养板, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和空气湿度的培养箱内培养 2~3 d 使细胞长满各孔^[8]。

先移去培养板内培养液, 用 PBS 清洗 1 次, 之后每孔加入 37 $^{\circ}\text{C}$ PBS 缓冲液孵育 10 min, 然后以 500 μL 含放射性标记的探针底物溶液置换 PBS 开

始给药, 各转运体过表达细胞株的放射性标记底物见表 1, 淫羊藿苷元给药终浓度为 0 (对照组)、0.03、0.10、0.30、1.00、3.00、10.00 $\mu\text{mol/L}$, 设阳性对照, 药物及浓度见表 1, 每个组别设置 3 副孔 ($n=3$)。给药 2~5 min 后, 用冷 PBS 缓冲液终止反应, 并清洗细胞 3 次; 然后每孔添加 400 μL 0.1 mmol/L NaOH 裂解细胞; 取细胞裂解液于闪烁瓶中, 添加 3 mL 的 ULTIMA Gold 闪烁液, 并用 Tri-Carb 2910TR 液闪仪测定样品中的放射性强度。

2.4.2 翻转囊泡跨膜转运抑制实验 用缓冲液 A1 或 A2 将淫羊藿苷元 200 倍工作液进行稀释, 得到各给药浓度 10 倍工作液 (0、0.3、1、3、10、30、100 $\mu\text{mol/L}$) 及反应底物 ^3H -TCA 或 ^3H -ES 的 10 倍工作液 (10.0 $\mu\text{mol/L}$, 含有 0.5 $\mu\text{mol/L}$ ^3H -TCA 和 ^3H -ES, 其余由非放标底物补足)。

取出空白囊泡和转运体囊泡,轻轻混匀,每份含转运体蛋白和空白囊泡(空白对照)10 μg (10 μL 囊泡 BSEP 或者 BCRP+9 μL 缓冲液 A1 或 A2),并将分装好的囊泡置于冰浴上备用。

配置待测化合物各浓度的反应混合液(BSEP:含 21 μL 反应液 C1+5 μL 放标底物+5 μL 淫羊藿苷元各浓度的 10 倍工作液或 5 μL 阳性抑制剂的 10 倍工作液;BCRP:含 20 μL 反应液 C2+5 μL 放标底物+1 μL 溶液 G+5 μL 淫羊藿苷元各浓度的 10 倍工作液或 5 μL 阳性抑制剂的 10 倍工作液)及空白对照(空白囊泡)的反应混合液(含 20 μL 反应液 D+5 μL 放标底物+1 μL 溶液反应液 D 或溶液 G+5 μL 缓冲液 A)。

将囊泡放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 5 min,每管加入反应混合液,各个反应体系温和混匀后反应 5 min。反应结束后每管加入 400 μL 冷的缓冲液 B1 或者 B2 终止反应,并将反应液和终止液的混合液移至滤膜上,滤掉液体,加入 5 mL 冷的缓冲液 B1 或者 B2,润洗滤膜 3 遍。取下滤膜置于液闪瓶中置底,加入闪烁液,涡旋震荡后,放置于 Tri-Carb 2910TR 液闪仪上,测定囊泡中放射物含量。囊泡转运试验中每个浓度重复 3 次 ($n=3$)。

2.4.3 Transwell 跨膜转运实验 将 MDCK 细胞复苏、传代培养 2~3 代,待细胞长满培养皿,消化细胞,使细胞分散开呈单细胞悬液,用新鲜培养基将细胞悬液浓度调至 $4\times 10^5/\text{mL}$,并接种于 Transwell 聚碳酸酯膜 12 孔板中,在 Transwell 小室中,每孔接种 0.5 mL 细胞悬液。在 Transwell 大室中,每孔加 1.5 mL 新鲜培养基,每 2 天换一次新鲜培养基,连续培养 6~7 d,得到完全分化的单细胞层,并检测其两侧跨膜电阻 ($\text{TEER}>150\ \Omega\cdot\text{cm}^2$)^[9]。吸走 Transwell 小室 AP 和 BL 端的培养基,加入 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 HBSS 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 20 min;吸去 HBSS,在 BL 侧加入 1.5 mL 预热的含各浓度淫羊藿苷元和 ^3H -Digoxin 的 HBSS 溶液,在 AP 侧加入 0.5 mL 的 HBSS 溶液;37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡 (60 r/min) 培养 15 min;吸取各孔中 AP 侧的平衡盐溶液 100 μL 至闪烁瓶,添加 3 mL 的闪烁液,并用 Tri-Carb 2910TR α/β 射线检测仪测定样品中的放射性强度。细胞外排试验中每个浓度设置 3 副孔 ($n=3$)。

2.5 数据处理

2.5.1 抑制作用计算 将对照组转运体细胞的转运值(扣除 MOCK 细胞的转运值 U_0 ,单位为 DPM)

定义为 100% (U_c),计算加入待测化合物后各给药组的转运值 U 扣除本底后与 U_c 的比值,以此表征化合物对转运体的抑制作用的强弱。

$$\text{转运活性} = (U - U_0) / (U_c - U_0)$$

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Microsoft Excel 2010 软件中统计学公式计算,各样本差异分析采用 t -test。

2.5.2 半数抑制浓度 (IC_{50}) 数值计算 根据每种转运体各给药浓度转运活性,通过 Prism5.0 软件或者 Microsoft Excel 2010 软件中 FORECAST 函数计算化合物对药物转运体转运活性影响的 IC_{50} 。

3 结果

3.1 淫羊藿苷元对药物转运体转运活性的影响

淫羊藿苷元对各药物转运体抑制作用结果见图 1。与对照组比较,各给药浓度对 OAT1 介导的 ^{14}C -PAH 的转运活性均无显著抑制作用;0.3~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的淫羊藿苷元对 OAT3 发挥显著抑制作用 ($P<0.05$),且呈浓度相关性。

3~10 $\mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷元对 OATP1B1 的转运活性具有显著的抑制作用 ($P<0.05$);1~10 $\mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷元对 OATP1B3 介导的 ^3H -EG 转运活性具有显著抑制作用 ($P<0.05$);均呈剂量相关性。

各浓度的淫羊藿苷元对 OCT1 及 OCT2 介导的 ^{14}C -TEA 转运活性均无显著影响;

1~10 $\mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷元对 BCRP 具有显著的抑制作用 ($P<0.05$),且呈浓度相关性;各受试浓度的淫羊藿苷元对 BSEP 介导的 ^3H -TCH 则无显著抑制作用。

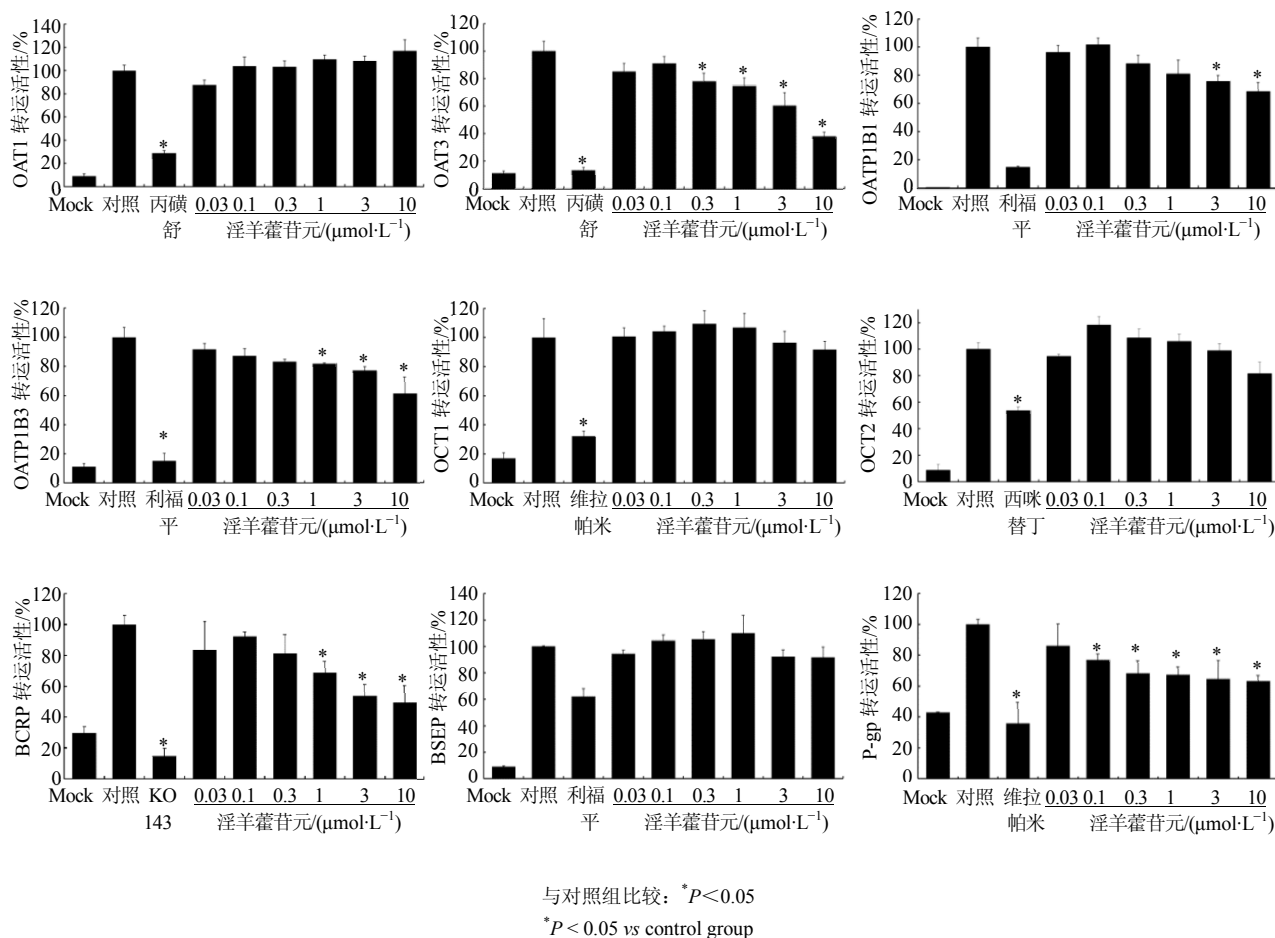
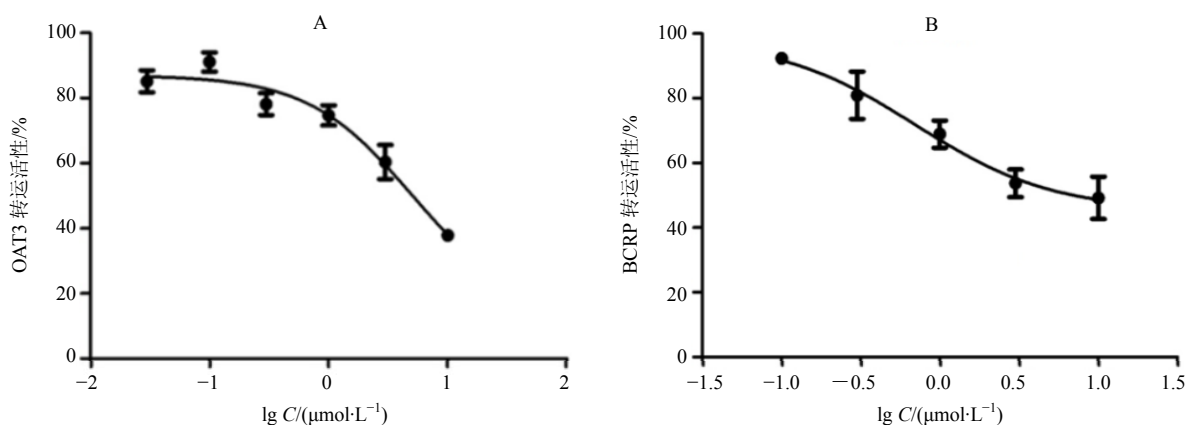
0.1~10 $\mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷元对 P-gp 发挥显著抑制作用 ($P<0.05$)。

3.2 淫羊藿苷元对药物转运体转运活性的 IC_{50} 计算结果

淫羊藿苷元对药物转运体 OAT3 和 BCRP 的转运活性具有显著抑制作用, IC_{50} 分别为 4.97 $\mu\text{mol/L}$ 和 8.15 $\mu\text{mol/L}$;淫羊藿苷元对 OAT1B1、OATP1B3、OCT2 和 P-gp 转运活性的抑制作用相对较弱, IC_{50} 均大于 10 $\mu\text{mol/L}$;对 OAT1、OCT1 和 BSEP 转运活性无明显影响。结果见图 2 及表 2。

4 讨论

淫羊藿苷元为类黄酮类化合物,别名为脱水淫羊藿素,存在于小檗科多年生植物淫羊藿中,可由淫羊藿苷在肠道中代谢转化而来,由于淫羊藿苷元

图1 不同浓度的淫羊藿苷元对各药物转运体的抑制作用情况 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 1 Inhibition of anhydroicaritin to every transporter at different dosages ($\bar{x} \pm s, n=3$)图2 淫羊藿苷元对药物转运体 OAT3 (A) 和 BCRP (B) 转运活性的抑制作用的 IC_{50} Prism 5.0 软件计算结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 2 IC_{50} values of anhydroicaritin to OAT3 (A) and BCRP (B) by Prism 5.0

很多药理活性较淫羊藿苷及淫羊藿次苷 II 更强, 因此成为研究的热点^[1]。淫羊藿苷元对药物转运体 OAT3 和 BCRP 介导的 3H -ES 的转运活性具有较强

的抑制作用, 表明淫羊藿苷元可能为 OAT3 和 BCRP 的抑制剂或底物, 在联合用药时, 淫羊藿苷元会影响通过 OAT3 摄入的药物的吸收情况, 同时也会影

表1 淫羊藿苷元对各药物转运体抑制作用情况

Table 1 IC₅₀ values of anhydroicaritin to different transporters

化合物	药物转运体	底物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
淫羊藿	OAT1	5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁴ C-PAH	>10
苷元	OAT3	50 nmol/L ³ H-ES	4.97
	OATP1B1	50 nmol/L ³ H-ES	>10
	OATP1B3	1 $\mu\text{mol/L}$ ³ H-EG	>10
	OCT1	5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁴ C-TEA	>10
	OCT2	5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁴ C-TEA	>10
	MDR1(P-gp)	5 $\mu\text{mol/L}$ ³ H-Digoxin	>10
	BCRP	1 $\mu\text{mol/L}$ ³ H-ES	8.15
	BSEP	1 $\mu\text{mol/L}$ ³ H-TCA	>10

响经由 BCRP 排泄的药物的消除,存在发生由 OAT3 和 BCRP 引起 DDI 的潜在可能性,尤其当 $C_{\text{max}}/\text{IC}_{50} > 0.1$ 时,需要开展临床的 DDI 方面的研究,因此与 OAT3 和 BCRP 的底物药物联合用药时应当注意观察。由于淫羊藿苷元对其它药物转运体转运活性的影响较小,因此发生由 OAT1、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、P-gp 和 BSEP 引起的 DDI 的可能性较小。

淫羊藿苷元同 OAT3 和 BCRP 存在较为密切的相互作用,OAT3 和 BCRP 在肾脏中具有较高表达,其中,OAT3 是阴离子药物由血液进入肾小管的重要通道,BCRP 是药物由肾小管表皮细胞进入尿液而被排泄的重要转运蛋白^[6],根据本研究结果推测,如果淫羊藿苷元是 OAT3 和 BCRP 的底物,对预测其经由肾脏随尿液消除具有重要意义。此外,实验结果还表明,淫羊藿苷元同 OATP1B1、OATP1B3 也存在较为密切的关系,OATP1B1、OATP1B3 是药物由血液进入肝细胞的重要转运体^[6],BCRP 是药物由肝脏入胆随胆汁发生排泄的重要通道,如果淫羊藿苷元是 OATP1B1、OATP1B3 和 BCRP 的底

物,对预测淫羊藿苷元原型药在肝脏的消除具有重要意义。

淫羊藿苷元对药物转运体 OAT3 和 BCRP 的转运活性具有较强的抑制作用,对 OAT1B1、OATP1B3、OCT2 和 P-gp 也有一定的抑制作用,而对 OAT1、OCT1 和 BSEP 无明显抑制作用。

参考文献

- [1] 南敏伦,李世财,赵昱玮,等.淫羊藿苷元制备方法及药理活性研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(7):227-231.
- [2] 王辰,张珂,李婉,等.淫羊藿苷元微乳制剂对小鼠免疫性血小板减少性紫癜模型的治疗作用[J].中国新药杂志,2017,26(5):555-561.
- [3] 董艳,武卫党,慈小燕,等.L-型氨基酸转运体1在肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J].天津医药,2015,43(12):1456-1459.
- [4] Kell D B, Swainston N, Pir P, et al. Membrane transporter engineering in industrial biotechnology and whole cell biocatalysis[J]. Trends Biotechnol, 2015, 33(4):237-246.
- [5] Giacomini K M, Huang S M, Tweedie D J, et al. Membrane transporters in drug development[J]. Nat Rev Drug Disco, 2010, 9(3): 215.
- [6] Liu C X, Yi X L, Fan H R, et al. Effects of drug transporters on pharmacological responses and safety[J]. Curr Drug Metab, 2015, 16(9): 732.
- [7] 武卫党,崔涛,张星艳,等.小檗碱对有机阳离子药物转运体抑制作用研究[J].药物评价研究,2017,40(5):633-637.
- [8] 武卫党,张星艳,魏滋鸿,等.小檗碱对有机阴离子转运体抑制作用及双向跨膜转运研究[J].药物评价研究,2017,40(6):778-782.
- [9] 慈小燕,夏媛媛,曾勇,等.3-乙酰基-11-羧基- β -乙酰乳香酸在Caco-2和MDCK细胞模型中的吸收研究[J].中草药,2013,44(9):1162-1167.