

甘草黄酮类成分对 Caco-2 细胞 P-糖蛋白功能和表达的影响

彭燕^{1,2}, 谭晓斌¹, 贾晓斌^{1*}

1. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212003

摘要: 目的 研究甘草黄酮类成分对 Caco-2 细胞 P-糖蛋白(P-gp)功能和表达的影响,探讨甘草解毒的作用机制。方法 采用流式细胞仪检测经甘草黄酮类成分处理后 Caco-2 细胞对罗丹明 123 摄取量的影响,以评价 P-gp 的外排功能;采用 Western blotting 法检测甘草黄酮类成分对 Caco-2 细胞 P-gp 表达的影响。结果 与对照组相比,甘草总黄酮 5、10、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 作用 Caco-2 细胞 1 h 后,使细胞内罗丹明 123 的荧光强度分别减少 61.1%、56.3%、49.2%、45.4%;甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷在相同质量浓度,使细胞内罗丹明 123 的荧光强度减少了 19.3%~37.9%。与对照组相比,甘草总黄酮 10~400 $\mu\text{g/mL}$ 给药后 72 h,使 Caco-2 细胞膜上 P-gp 的表达显著增加 ($P < 0.01$);甘草苷、异甘草苷、甘草素、芹糖基甘草苷 5~400 $\mu\text{mol/L}$,异甘草素、芹糖基异甘草苷 10~400 $\mu\text{mol/L}$ 对此也有显著作用 ($P < 0.01$)。结论 甘草黄酮类成分增强 Caco-2 细胞 P-gp 的功能,上调 P-gp 的表达,促进细胞内有毒物质的外排,减少有毒物质在肠道的吸收,这可能是甘草配伍其他中药的解毒机制之一。

关键词: 甘草黄酮类成分; Caco-2 细胞; P-糖蛋白; 甘草苷; 异甘草苷; 甘草素; 异甘草素; 芹糖基甘草苷; 芹糖基异甘草苷

中图分类号: R282.710.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)19-2703-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.19.014

Effects of flavonoids from *Glycyrrhizae Radix* on function and expression of P-glycoprotein in Caco-2 cells

PENG Yan^{1,2}, TAN Xiao-bin¹, JIA Xiao-bin¹

1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Department of Pharmaceutics, Jiangsu University, Zhenjiang 212003, China

Abstract: **Objective** To study the effects of the flavonoids from *Glycyrrhizae Radix* (FGR) on the function and expression of P-glycoprotein (P-gp) in Caco-2 cells, and to further explore the detoxification mechanisms of FGR. **Methods** Flow cytometry was used to study the effects of FGR on the uptake of Rhodamine 123, which showed the toxic efflux function of P-gp; Western blotting method was used to detect the expression level of P-gp in Caco-2 cells. **Results** Compared with the control group, after treated with the total flavonoids from *Glycyrrhizae Radix* (TFGR) at the different concentration (5, 10, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$) for 1 h, the uptake of Rhodamine 123 in Caco-2 cells was decreased by 61.1%, 56.3%, 49.2%, and 45.4%; liquiritin, isoliquiritin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, liquiritin apioside, and isoliquiritin apioside with the same dose significantly decreased the fluorescence intensity of Rhodamine 123 by 19.3%—37.9%. The expression levels of P-gp in Caco-2 cells were significantly increased ($P < 0.01$) after the co-incubation of TFGR (10—400 $\mu\text{g/mL}$) for 72 h, and liquiritin, isoliquiritin, liquiritigenin, and liquiritin apioside (5—400 $\mu\text{mol/L}$) had the similar functions, so did isoliquiritin and isoliquiritin apioside (10—400 $\mu\text{g/mL}$, $P < 0.01$). **Conclusion** FGR could strengthen the function, up-regulate the expression of P-gp in Caco-2 cells, promote the efflux of toxic substances, and decrease the absorption of toxic substances, which could be one of the new mechanisms for *Glycyrrhizae Radix* detoxification.

Key words: flavonoids from *Glycyrrhizae Radix*; Caco-2 cells; P-glycoprotein; liquiritin; isoliquiritin; liquiritigenin; isoliquiritigenin; liquiritin apioside; isoliquiritin apioside

收稿日期: 2013-01-22

作者简介: 彭燕(1986—),女,硕士,研究方向为生药学。Tel: 18761892876 E-mail: 281864284@qq.com

*通信作者 贾晓斌 Tel: (025)85637809 E-mail: xiaobin_jia_nj@126.com

P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 是由 MDR1 基因编码的腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 能量依赖的多药耐药外排泵, 在一些正常的人体组织如脑、肺、肝、肾、胃肠道、皮肤和肌肉组织中高度表达^[1]。P-gp 的功能和 (或) 表达的变化, 可能影响药物或其他化合物的药动学参数, 导致其生物利用度的改变, 从而会影响其吸收、分布、代谢、排泄和毒性, 也会影响化合物与药物、药物与药物、食物与药物、草药与药物、草药与草药的相互作用^[2-3]。药用植物及其中的某些化学成分 (包括辣椒碱、姜黄素、山柰酚、槲皮素、胡椒碱、儿茶素、没食子等), 尤其是黄酮类成分对 P-gp 的功能和表达具有一定影响^[4-11]。甘草广泛用于传统中药处方, 用于减少或缓解方中其他中药的毒性或剧烈药效, 也用于治疗消化性溃疡、肝炎、肿瘤、肺和心血管系统疾病等^[12-13], 但作用机制不完全清楚。甘草黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗炎、免疫调节、护肝、保护心脏等药理作用, 是甘草药效物质基础之一^[14-16]。

本实验以影响 P-gp 功能的维拉帕米和诱导 P-gp 表达的环孢素 A 为阳性对照药^[17], 考察了甘草总黄酮 (total flavonoids from *Glycyrrhizae Radix*, TFR) 及其主要成分甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷对 Caco-2 细胞 P-gp 功能和表达的影响, 以进一步探讨甘草配伍解毒的作用机制。

1 材料

1.1 药材与试剂

甘草药材, 购自新疆, 经南京中医药大学吴德康教授鉴定为豆科植物乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 的干燥根和根茎。甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷对照品 (质量分数 > 98%), Sigma 公司; 甘草总黄酮, 自制。

P-gp 一抗 [mdr (c-19) sc-1517], 美国 Santacruz 公司; 兔抗羊 IgG 二抗, 美国 Jackson 公司; 0.22 μ m 微孔滤膜, 江苏汉邦科技有限公司; DMEM 培养基, 南京凯基生物科技发展有限公司; 胎牛血清 (FBS), Equitech-BioInc 公司; 四甲基乙二胺 (TEMED)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、Tris、丙烯酰胺、十二烷基硫酸钠 (SDS)、过硫酸铵 (APS)、甘氨酸、谷氨酰胺、胰蛋白酶、非必需氨基酸、Hank's 平衡盐粉末、羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES) 粉末、二甲

基亚砷 (DMSO)、维拉帕米、环孢素 A、罗丹明 123, 美国 Sigma 公司。

1.2 细胞

Caco-2 细胞, 美国 Ming Hu 博士馈赠。

1.3 仪器

流式细胞仪, 美国 Becton-Dickinson FACS caliber 公司; Western blotting 电泳仪、半干转膜仪, 美国 Bio-Rad 公司; Western blotting 成像系统, 美国 Odyssey 公司; PVDF 膜, 美国 Millipore 公司; 高速冷冻离心机, 美国科俊仪器公司; NC 膜, 美国 Pall Corporation 公司; 微量加样器, Eppendorf 公司; 恒温水浴箱, 常州国华电器有限公司; 电热恒温干燥箱, 上海润东荣丰科学仪器有限公司; 振荡器, 上海沪西分析仪器厂; 多用脱色摇床, 江苏金坛市正基仪器厂; BS203 型倒置显微镜, 日本 Coic 公司; METTLER AL204 十万分之一天平、pH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; CO₂ 细胞培养箱、MK3 型酶标仪, 美国 Thermo 公司。

2 方法

2.1 甘草总黄酮的制备

乌拉尔甘草用 12 倍量 90% 乙醇提取 2 次, 每次 2 h, 提取前浸渍 5 h。提取液用 1 倍量石油醚萃取 1 次, 水层用 1 倍量醋酸乙酯萃取 2 次, 醋酸乙酯层挥散溶剂制成水溶液, 过聚酰胺树脂, 上样液 pH 值为 5, 体积流量为 1 mL/min, 径高比为 1/10, 上样质量浓度为 0.15 g/mL, 且以相同条件过 2 遍聚酰胺树脂, 得甘草总黄酮提取物, 甘草总黄酮质量分数 > 90% (以甘草苷计)。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取甘草总黄酮 25 mg, 加入适量甲醇, 超声溶解 30 min, 用甲醇定容至 5 mL, 配成质量浓度为 5 mg/mL 的供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取芹糖基甘草苷、甘草苷、芹糖基异甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素对照品适量, 分别加甲醇制成质量浓度均为 1 mg/mL 的对照品储备液, 备用。依次精密量取上述 6 个对照品储备液 100 μ L 置同一 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成 20 μ g/mL 的芹糖基甘草苷、甘草苷、芹糖基异甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素混合溶液, 即得。

2.4 细胞培养

Caco-2 细胞复苏后以 2×10^5 /mL 密度接种于 25

cm²的细胞培养瓶中,加入5 mL含10%FBS、1%谷氨酰胺、1%非必需氨基酸、0.1 U/L青霉素-链霉素双抗的不完全DMEM培养基。细胞在37℃、5%CO₂的培养箱中培养,隔天换液,待细胞生长至80%~90%时用0.1%胰酶消化并传代,选取对数生长期的Caco-2细胞用于实验。

2.5 MTT法检测细胞毒性

将处于对数生长期的Caco-2细胞以 2×10^4 /mL的密度接种于96孔培养板,每孔体积为200 μ L。在37℃、5%CO₂条件下孵箱中培养24 h,吸尽每孔培养基。甘草总黄酮和甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷用DMSO培养基稀释,使甘草总黄酮的终质量浓度为1 000、400、200、100、50、10、5 μ g/mL,甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷的供试液终浓度为1 000、400、200、100、50、10、5 μ mol/L,DMSO的终体积不大于0.2%。给药组分别加入不同质量浓度的甘草总黄酮及其6个主要成分,调零孔仅加培养基,阴性对照组加细胞和培养基,按上述条件培养72 h,每孔加5 g/L的MTT液20 μ L,37℃培育4 h后终止培养。小心吸尽每孔上清液,加DMSO 150 μ L,振荡10 min使结晶充分溶解,以空白孔调零后,酶标仪检测490 nm处的吸光度(*A*),计算细胞存活率(实验组平均*A*值/阴性对照组平均*A*值)。选取细胞存活率 $\geq 90\%$ 的药物质量浓度作为非细胞毒性浓度。

2.6 对Caco-2细胞内罗丹明123荧光的影响

为了解甘草总黄酮及其6个主要成分及维拉帕米对细胞内罗丹明123发射的荧光强度是否有增加或淬灭的作用,以排除它们对实验结果的干扰,进行以下实验。设空白对照组(1 mL PBS+1 mL去离子水),罗丹明123组(1 mL PBS+0.5 μ mol/L罗丹明123溶液1 mL),药物对照组(1 mL 400 μ g/mL甘草总黄酮,或6个主要成分400 μ mol/L,或维拉帕米溶液50 μ mol/L+1 mL去离子水),实验组(1 mL 400 μ g/mL甘草总黄酮,或6个主要成分400 μ mol/L,或维拉帕米溶液50 μ mol/L+0.5 μ mol/L罗丹明123溶液1 mL)。把各组溶液加入5 mL试管中混匀,空白对照组调零,荧光分光光度计在激发波长466 nm、发射波长535 nm处测各组*A*值。以各药物组的*A*值与对照组*A*值之差,对罗丹明123组的*A*值进行*t*检验(SPSS13.0统计软件)(*n*=3)。

2.7 流式细胞仪检测Caco-2细胞P-gp外排功能

处于对数生长期的Caco-2细胞用胰酶消化后用含10%FBS的DMEM培养基制成单细胞悬液,计数,4℃下1 500 r/min离心5 min,弃上清,用PBS分散成 1×10^6 /mL的细胞悬液,取0.5 mL接种入1.5 mL的EP管中。分别向EP管中加入甘草总黄酮5、10、50、100、200、400 μ g/mL,或其6个主要成分5、10、50、100、200、400 μ mol/L,或维拉帕米50 μ mol/L(阳性对照)或PBS溶液0.5 mL(对照),37℃、5%CO₂培养60 min后置冰上终止作用,4℃下2 500 r/min离心5 min,弃上清,4℃下PBS洗2次,离心弃上清。除对照管加入PBS外,每管加入罗丹明123(终浓度为500 μ mol/L),37℃、5%CO₂培养60 min,置冰上终止作用,4℃下2 500 r/min离心5 min,弃上清,用4℃的PBS洗2次,离心弃上清。加PBS 500 μ L轻轻吹打,制成单个细胞悬液。在激发波长为466 nm、发射波长为535 nm条件下选择FITC通道测定10 000个细胞,收集535 nm处的罗丹明123荧光进行分析,分析时除去细胞碎片和细胞团块对测定的干扰,实验重复3次。

2.8 Western blotting法检测Caco-2细胞P-gp蛋白的表达

将对数生长期Caco-2细胞分为甘草总黄酮不同质量浓度(5、10、50、100、200、400 μ g/mL)组及其6个主要成分不同浓度(5、10、50、100、200、400 μ mol/L)组,环孢素A(1 μ mol/L)阳性对照组,对照组(细胞培养基)。给药组细胞用含药培养基培养72 h,在6孔板细胞汇合度达到80%~90%后收集细胞,PBS洗2遍,每孔中加入200 μ L细胞裂解液,用枪吹打数下,使裂解液和细胞充分接触充分裂解。将每孔内的溶液分别转移至另外一新的EP管中,4℃、14 000 r/min离心5 min,取上清180 μ L。将所有蛋白样品调至等浓度,98℃加热5 min后上样。取出凝胶,置于转移缓冲液中平衡15 min,转膜,将膜放入配好的一抗中,4℃下摇床振荡孵育过夜。一抗孵育结束后用Tris-HCl缓冲盐溶液(TBS)-聚山梨酯20漂洗膜后再浸洗3次,每次5~10 min。放入已配好的二抗溶液(hrp标记)中,室温轻摇1 h。二抗孵育结束后,用PBS-聚山梨酯20或TBS-聚山梨酯20漂洗膜后再浸洗3次,每次5~10 min,PVDF膜上滴加显影液(0.1 mL/cm²),室温放置1 min,用保鲜膜将膜包好(尽量避免气

泡)。膜蛋白在暗室中迅速曝光,调整曝光时间,直至出现最佳条带。

2.9 统计学处理

数据用 SPSS13.0 统计学软件进行处理,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用 t 检验。

3 结果

3.1 对 Caco-2 细胞存活率的影响

甘草总黄酮 5~400 $\mu\text{g/mL}$ 无细胞毒性,其 6

个主要成分 5~400 $\mu\text{mol/L}$ 也无细胞毒性(图 1)。因此选择上述质量浓度或浓度进行以下实验。

3.2 对 Caco-2 细胞内罗丹明 123 荧光的影响

最高浓度(或质量浓度)各药物组的罗丹明 123 荧光强度与对照组的差值和罗丹明 123 对照组的荧光强度间无显著差异,表明甘草总黄酮及其 6 个主要成分和维拉帕米对罗丹明 123 荧光均无淬灭或增强作用。结果见表 1。

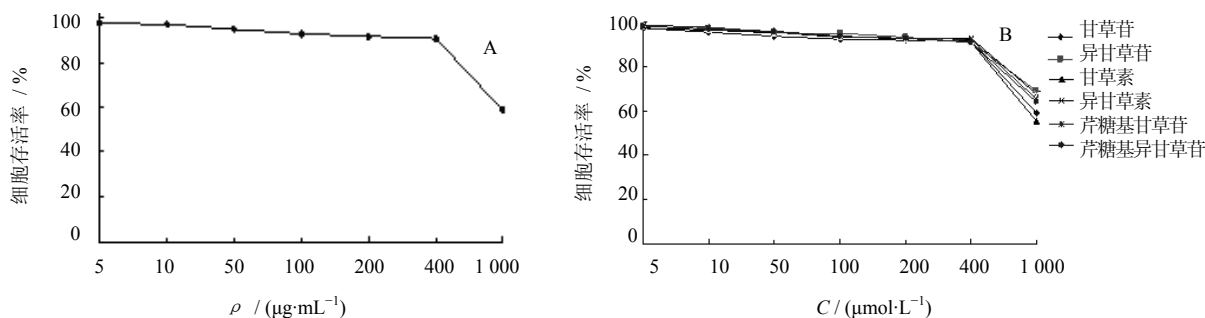


图 1 甘草总黄酮 (A) 及其主要成分 (B) 对 Caco-2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effects of TFGR (A) and its principal constituents (B) on survival rate of Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 1 甘草总黄酮及其主要成分对 Caco-2 细胞内罗丹明 123 荧光强度的影响

Table 1 Effects of TFGR and its principal constituents on fluorescence intensity of Rhodamine 123 in Caco-2 cells

试 药	$C / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	荧光强度		
		实验组	药物对照组	差值
甘草总黄酮	400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	36.8	3.5	33.3
甘草苷	400	33.5	2.4	31.1
异甘草苷	400	37.5	4.5	33.0
甘草素	400	35.5	2.8	32.7
异甘草素	400	36.1	4.1	32.0
芹糖基甘草苷	400	34.5	3.1	31.4
芹糖基异甘草苷	400	35.4	2.1	33.3
维拉帕米	50	35.8	3.5	32.3
罗丹明 123 对照	0.5			32.6

3.3 对 Caco-2 细胞 P-gp 外排功能的影响

与对照组相比,甘草总黄酮 5、10、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 作用 Caco-2 细胞 1 h 后,细胞内罗丹明 123 的荧光强度分别减弱 61.1%、56.3%、49.2%、45.4% ($P < 0.01$),表明甘草总黄酮对 P-gp 外排功能具有诱导作用。结果见图 2。甘草总黄酮中 6 个主要成分浓度分别为 5、10、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 时,使细胞内罗丹明 123 的荧光强度减弱 19.3%~37.9% ($P < 0.01$),表明它们对 P-gp 功能也具诱导作用。结果

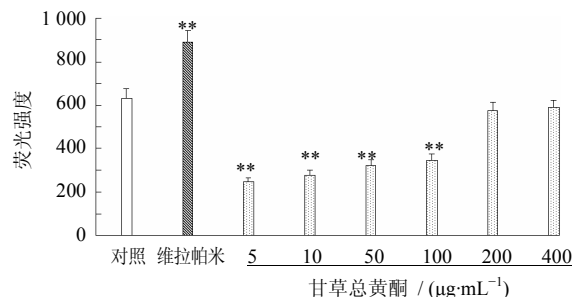
见图 3。

3.4 对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响

3.4.1 甘草总黄酮对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,甘草总黄酮 10~400 $\mu\text{g/mL}$ 、环孢素 A 1 $\mu\text{mol/L}$ 作用 Caco-2 细胞 72 h,使 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$),并呈现质量浓度相关性,但甘草总黄酮在高质量浓度(400 $\mu\text{g/mL}$)的作用弱于环孢素 A ($P < 0.05$)。结果见图 4。

3.4.2 甘草苷对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响

与对照组相比,甘草苷(5、10、50、100、200、400



与对照组比较: ** $P < 0.01$, 下图同
** $P < 0.01$ vs control group, same as below

图2 甘草总黄酮对 Caco-2 细胞 P-gp 外排功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 2 Effect of TFGR on efflux function of P-gp in Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

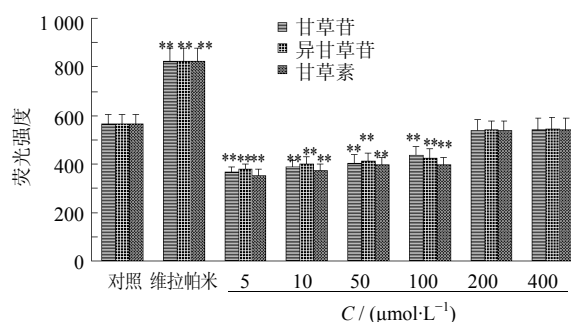


图3 甘草总黄酮中主要成分对 Caco-2 细胞 P-gp 外排功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of principal constituents in TFGR on efflux function of P-gp in Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

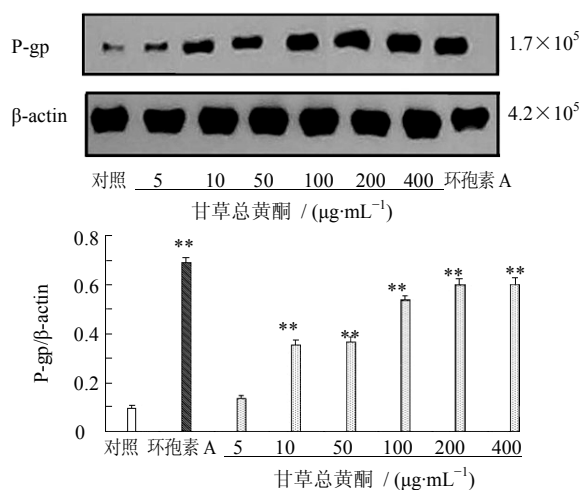


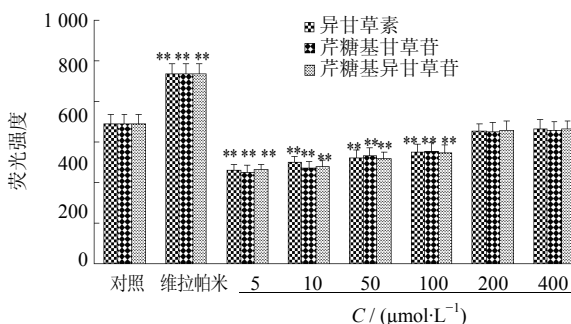
图4 甘草总黄酮对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of TFGR on expression of P-gp in Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

μmol/L)作用 Caco-2 细胞 72 h,使 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$),并呈现浓度相关性,在高浓度(400 μmol/L)时,作用强于环孢素 A,但无显著差异。结果见图 5。

3.4.3 异甘草苷对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,异甘草苷(5、10、50、100、200、400 μmol/L)作用 Caco-2 细胞 72 h,显著上调 P-gp 蛋白表达 ($P < 0.01$),并呈现浓度相关性,高浓度(400 μmol/L)的作用弱于环孢素 A ($P < 0.01$)。结果见图 5。

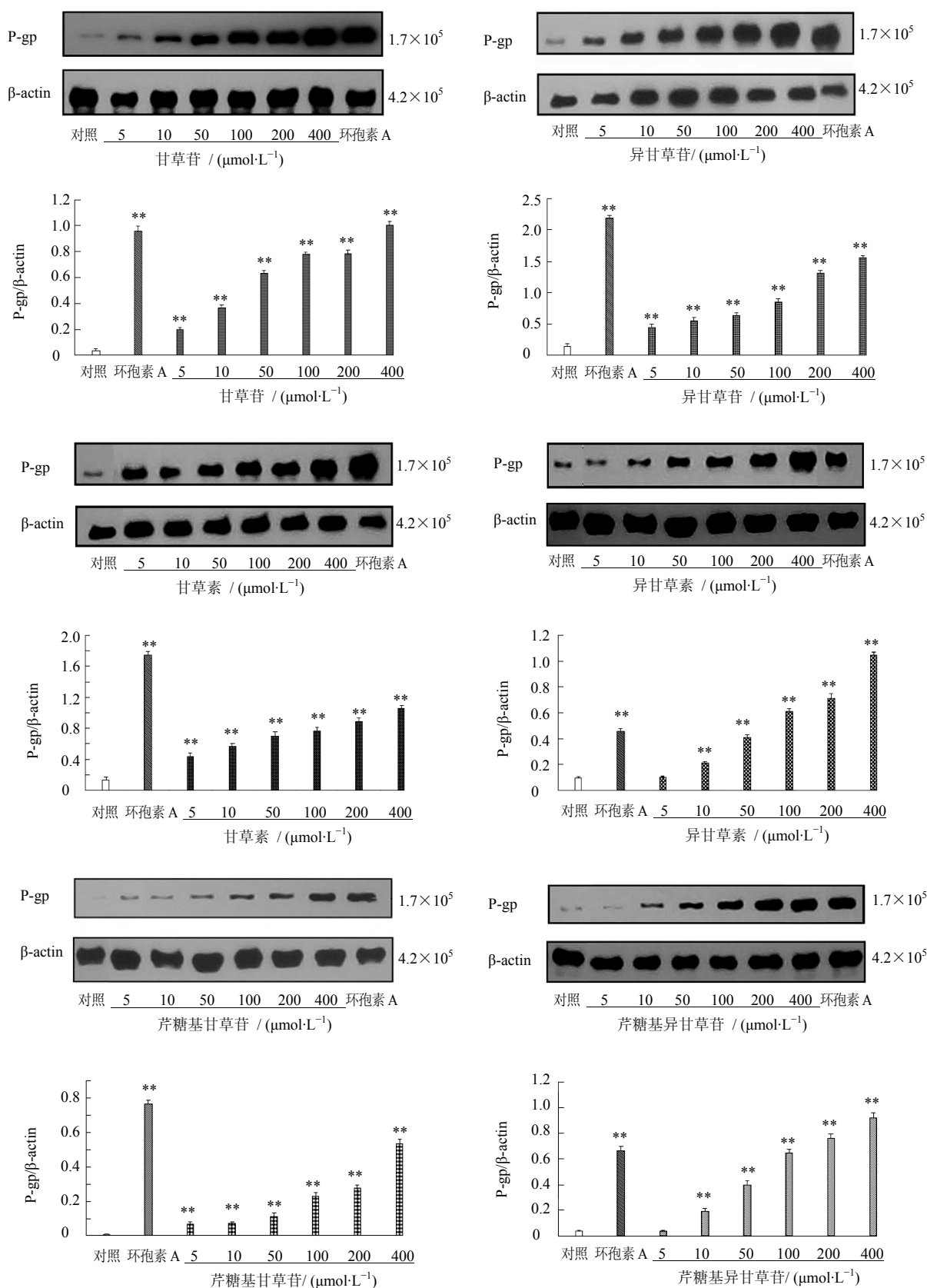
3.4.4 甘草素对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,甘草素(5、10、50、100、200、400 μmol/L)作用 Caco-2 细胞 72 h 后,使 P-gp 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$),并呈现浓度相关性,高浓度(400 μmol/L)时的作用弱于环孢素 A ($P < 0.01$)。结果见图 5。



3.4.5 异甘草素对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,异甘草素 10~400 μmol/L 作用 Caco-2 细胞 72 h 后,使 P-gp 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$),并呈现浓度相关性,高浓度(400 μmol/L)时的作用强于环孢素 A ($P < 0.01$)。结果见图 5。

3.4.6 芹糖基甘草苷对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,芹糖基甘草苷(5、10、50、100、200、400 μmol/L)作用 Caco-2 细胞 72 h 后,使 P-gp 蛋白显著上调 ($P < 0.01$),并呈现浓度相关性,高浓度(400 μmol/L)时的作用弱于环孢素 A ($P < 0.01$)。结果见图 5。

3.4.7 芹糖基异甘草苷对 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白表达的影响 与对照组相比,芹糖基异甘草苷 10~400 μmol/L 作用 Caco-2 细胞 72 h 后,使 P-gp 蛋白表达显著上调 ($P < 0.05$),并呈浓度相关性,高浓度(400 μmol/L)时的作用强于环孢素 A ($P < 0.01$)。结果见图 5。

图5 甘草总黄酮中6个主要成分对Caco-2细胞P-gp蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 5 Effect of six principal constituents of TFGR on expression of P-gp in Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

4 讨论

本实验考察了甘草黄酮类成分对 Caco-2 细胞 P-gp 功能及蛋白表达的影响。发现甘草黄酮类成分均显著降低 P-gp 底物罗丹明 123 在细胞内的荧光强度,表明它们短时间内(1 h)干预即可增强 Caco-2 细胞 P-gp 的外排功能。Caco-2 细胞经甘草黄酮类成分干预 72 h,均显著上调 Caco-2 细胞 P-gp 蛋白的表达。甘草总黄酮与其主要成分甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芹糖基甘草苷、芹糖基异甘草苷对 P-gp 外排功能和蛋白表达的影响相似,提示这几种成分可能是甘草总黄酮影响 P-gp 外排功能和蛋白表达的有效成分。

P-gp 在人体许多重要的器官和组织中都有丰富的表达,它可以保护外源性化合物对这些组织和器官的侵害。研究发现,缺乏 P-gp 的小鼠,因对肠道有毒物质的排泄减少,从而使肠黏膜容易受到损害,引起肠溃疡等疾病^[18]。甘草虽作为传统的解毒良药在临床上长期使用,但其解毒作用机制尚不清楚。本实验结果表明,甘草主要药效组分黄酮类成分能够有效诱导 P-gp 的功能与蛋白表达,减少有毒物在肠道内的吸收,促进细胞内毒物的外排,这可能是甘草解毒机制之一。

参考文献

- [1] Lin J H. Drug-drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55(1): 53-81.
- [2] Glavinas, H, Krajcsi P, Cserepes J, *et al*. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity [J]. *Curr Drug Deliv*, 2004, 1(1): 27-42.
- [3] Aszalos A. Role of ATP-binding cassette (ABC) transporters in interactions between natural products and drugs [J]. *Curr Drug Metab*, 2008, 9(10): 1010-1018.
- [4] Han Y, Than T M, Lim L Y, *et al*. Effects of capsaicin on P-gp function and expression in Caco-2 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71(12): 1727-1734.
- [5] Hou X L, Takahashi K, Tanaka K, *et al*. Curcuma drugs and curcumin regulate the expression and function of P-gp in Caco-2 cells in completely opposite ways [J]. *Int J Pharm*, 2008, 358(1/2): 224-229.
- [6] Limtrakul P, Anuchapreeda S, Buddhasukh D. Modulation of human multidrug-resistance MDR-1 gene by natural curcuminoids [J]. *BMC Cancer*, 2004, 17(4): 13.
- [7] Limtrakul P, Khantamat O, Pintha K. Inhibition of P-glycoprotein function and expression by kaempferol and quercetin [J]. *J Chemother*, 2005, 17(1): 86-95.
- [8] Han Y, Chin Tan T M, Lim L Y. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the effects of piperine on P-gp function and expression [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 230(3): 283-289.
- [9] Chieli E, Romitia N, Rodeiro I, *et al*. *In vitro* modulation of ABCB1/P-glycoprotein expression by polyphenols from *Mangifera indica* [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 186(3): 287-294.
- [10] Chieli E, Romitia N, Rodeiro I, *et al*. *In vitro* effects of *Mangifera indica* and polyphenols derived on ABCB1/P-glycoprotein activity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(11): 2703-2710.
- [11] Zhang W, Han Y, Lim S L, *et al*. Dietary regulation of P-gp function and expression [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2009, 5(7): 789-801.
- [12] Wang Z Y, Nixon D W. Licorice and cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2001, 39(1): 1-11.
- [13] Asl M N, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds [J]. *Phytother Res*, 2008, 22(6): 709-724.
- [14] Li Y J, Chen J, Li Y, *et al*. Screening and characterization of natural antioxidants in four *Glycyrrhiza* species by liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Chromatogr A*, 2011, 1218(45): 8181-8191.
- [15] Halliwell B. Free radicals and antioxidants-quo vadis? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, 32(3): 125-130.
- [16] Siracusa L, Saija A, Cristani M. Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves-chemical characterization and evaluation of their antioxidant, antigenotoxic and anti-inflammatory activity [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(4): 546-556.
- [17] Zhou Y G, Li K Y, Li H D. Effects of the novel antipsychotic drug perospirone on P-glycoprotein function and expression in Caco-2 cells [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2008, 64(7): 697-703.
- [18] Maggd-Price L, Shows D, Waggle K, *et al*. *Helicobacter bilis* infection accelerates and hepaticus infection delays the development of colitis in multiple drug resistance deficient (*mdr1a*-/-) mice [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(2): 739-751.