

甘草化学成分与细胞色素 P450 酶间的相互作用研究进展

何 薇¹, 宁 静², 吴敬敬², 辛 红¹, 徐 巍^{1*}, 葛广波^{2*}, 杨 凌²

1. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150001

2. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023

摘 要: 甘草 *Glycyrrhizae Radix* 为豆科植物乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis*、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* 的干燥根或根茎, 在临床上常与其他药物联合使用。结合国内外最新研究进展, 总结了甘草的主要化学成分与细胞色素 P450 酶 (CYP450) 之间的相互作用, 包括: (1) CYP 酶参与甘草化学成分的代谢过程; (2) 甘草化学成分对 CYP 酶活性的抑制或诱导作用研究; (3) 甘草-临床药物联合使用引发潜在的草药-药物相互作用。深入研究甘草的化学成分与主要药物代谢酶之间的相互作用, 对于指导中药复方的增效减毒、配伍, 以及避免临床草药-药物相互作用等具有重要意义。

关键词: 甘草; 细胞色素 P450 酶; 代谢抑制; 药物相互作用; 增效减毒

中图分类号: R285.62 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1974-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.027

Research progress in interaction between chemical components of *Glycyrrhizae Radix* and cytochrome P450 enzyme

HE Wei¹, NING Jing², WU Jing-jing², XIN Hong¹, XU Wei¹, GE Guang-bo², YANG Ling²

1. The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

2. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

Abstract: *Glycyrrhizae Radix* is the dry roots or rhizomes of *Glycyrrhiza uralensis*, *G. inflata*, and *G. glabra*, which was used in clinical therapy combined with other drugs. In this paper, we summarized the recent studies in domestic and overseas on the interaction between the components of *Glycyrrhizae Radix* and the cytochrome P450 enzyme (CYP), including, 1) the CYP enzymes involved the metabolism of the chemical components of *Glycyrrhizae Radix*; 2) the inhibition and induction of chemical components of *Glycyrrhizae Radix* on the activity of CYP enzyme; 3) the progress in the study on the potential herbal-drug interactions in clinical use of *Glycyrrhizae Radix* preparations. Further studies on the interactions between the chemical components in *Glycyrrhizae Radix* and the main drug metabolic enzymes have the great significance for guiding the efficacy enhancing, detoxification, and compatibility of Chinese materia medica, which is very important to avoid the clinical herb-drug interactions.

Key words: *Glycyrrhizae Radix*; cytochrome P450 enzyme; metabolic inhibition; herb-drug interactions; efficacy enhancement and toxicity reduction

甘草 *Glycyrrhizae Radix* 是我国重要的传统中药, 东汉成书《神农本草经》中就有记载, 并将其列为上品, 中医上将甘草尊称为“国老”。乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、光果甘草 *Glycyrrhiza*

glabra L.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 为《中国药典》2015 年版收载品种。研究表明, 甘草具有补脾益气、清热解暑、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效, 用于脾胃虚弱、倦怠乏力、心悸气短、

收稿日期: 2016-02-20

基金项目: 哈尔滨领军人才研究基金(2011RFXY079); “973”计划项目(2013CB531800); 国家自然科学基金资助项目(81573501, 81503152, 81403003)

作者简介: 何 薇, 硕士在读。Tel: 13654521816 E-mail: weiwei0705@sina.com

*通信作者 徐 巍 Tel: (0451)85555121 E-mail: 13796059990@163.com

葛广波 Tel: (0411)84379317 E-mail: geguangbo@dicp.ac.cn

咳嗽痰多、脘腹、四肢挛急疼痛、痈肿疮毒、缓解药物毒性烈性。甘草不宜与海藻、京大戟、红大戟、甘遂、芫花同用。此外，还有蜜制甘草，炙甘草临床应用多为炙甘草汤，源于汉代张仲景《伤寒论》：“伤寒，脉结代，心动悸，炙甘草汤主之”。现代药理表明甘草有保肝、抗炎、抗菌、抗病毒、镇咳、抗疟、抗氧化、抗癌、免疫调节、降血糖和抗血小板凝集等多种活性。此外，甘草还广泛用于食品和化妆品中。本文就甘草的主要化学成分与细胞色素 P450 酶(CYP450)之间相互作用的研究进展进行了综述。

1 甘草的主要化学成分

随着中药的国际化，中药化学成分的研究也越来越深入，尤其像甘草这样应用广泛的药物，国内外学者已从甘草中分离出大量的化学成分，主要包括三萜皂苷、黄酮、香豆素、甾醇、生物碱、挥发油、有机酸、糖类等。其中三萜皂苷和黄酮类化合物是其活性成分^[1]。

1.1 三萜类化合物

三萜皂苷是甘草中的标志性成分，因其比蔗糖甜度高数 10 倍，且在甘草中的量较高，很早就被认识和开发。它们主要存在于甘草的根茎部，是以六分子异戊二烯为单位的聚合体。至今，从乌拉尔甘草、光果甘草、胀果甘草 3 种常用甘草中分离到的皂苷已有几十种，多以葡萄糖糖苷的形式存在，具有良好的水溶性，其苷元多为齐墩果烷型，另有木栓烷型和羽扇豆烷型。齐墩果烷型三萜类化合物主要包括甘草酸（甘草甜素）、甘草次酸及其衍生物、乌热酸（18- α 甘草次酸）和甘草内酯等。

甘草酸又称甘草甜素，是甘草中量最高（超过 2%）的皂苷类成分，在野生优质甘草中的量甚至可达 7%，具有多种药理活性。甘草酸制剂具有抗过敏和抗炎作用，还具有盐皮质激素样作用。甘草酸能抑制巨噬细胞产生一氧化氮和细胞炎性因子，以及防止脂多糖（LPS）诱导的小鼠肝脏受损^[2]。目前，甘草酸被广泛应用于多种肝病的治疗，包括乙型肝炎、丙型肝炎、慢性肝炎、胆汁淤积导致的肝损伤、肝纤维化、肝硬化和肝癌等。近年来，甘草酸的保肝机制成为国际研究的焦点，取得了较大的突破和进展^[3]。甘草酸由于其甜度高、热能低、溶血作用低等特点，在医药、食品、化妆品等行业被广泛使用。

甘草酸在胃中经胃酸水解或经肝中 β -葡萄糖醛酶分解为甘草次酸，然后在肝肠循环中经肠内菌

群作用部分生成 3-表甘草次酸及少量 3-脱氢甘草次酸，吸收入血后发挥药理作用^[4]。因此，甘草酸类药物起效的成分实质上是甘草次酸^[5]。甘草次酸具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、治疗心血管疾病、调节免疫、抗氧化、肾上腺皮质激素样作用等多种药理活性。

1.2 黄酮类化合物

最初甘草的药理作用多被归因于甘草中的三萜皂苷类成分，但自甘草抗溃疡作用被证实源于甘草黄酮后，甘草黄酮类成分开始受到关注，国内外学者对甘草黄酮类成分做了大量的基础研究，迄今为止，已从甘草中分离出 300 多种黄酮类化合物^[6]，如甘草苷、甘草素、犀牛甘草苷、新甘草苷、异甘草苷、异甘草素、甘草内酯、甘草黄酮醇等。近年来，从甘草中新分离出一些复古查耳酮，如甘草查耳酮 A、B、C、D 和刺甘草查耳酮。异黄酮类化合物有光甘草定，光甘草酮，芒柄花黄素，熊竹素，galbrene，shinpterocarpin，licoisoflavones A、B，glyzarind 等^[7]。

甘草素属于甘草黄酮中的二氢黄酮类，近年来，诸多学者通过体内外实验，研究发现了甘草素具有抗癌、抗炎、抗艾滋病毒、雌激素样作用、美白、抗氧化、治疗糖尿病、抗溃疡等重要的生物活性，也被认为是很有潜力的治疗癌症的药物^[8]。

异甘草素属于查耳酮类，具有明显的抗氧化、雌激素样作用和抑制酪氨酸酶的作用。此外，它还具有抗癌活性：通过下调环氧合酶-2（COX-2）和 CYP4A 信号通路抑制乳腺癌转移^[9]；在动物实验中，异甘草素被证明可以通过激活免疫系统而抑制小鼠肾细胞癌的肺部转移，在小鼠的结肠癌和乳腺癌的治疗中可作为化疗防护剂；异甘草素能够诱导 II 相代谢酶如醌还原酶，间接保护细胞免受有毒物质和潜在的致癌物质的攻击。

甘草苷是日本学者小菅卓夫从甘草中分离得到的具有抗炎活性的黄酮类成分，已经作为消化性溃疡药收入到日本医药品集中，结构上属于二氢黄酮的一种^[10]。

甘草查耳酮 A 多存在胀果甘草中，含量丰富，研究表明其具有抗炎、抗寄生虫、抗肿瘤和雌激素样作用等多种药理作用。Hatano 等^[11]研究发现甘草根中黄酮类成分有清除自由基作用，其中甘草查耳酮 B（0.022 mmol/L）> 甘草查耳酮 A（0.12 mmol/L）> isopliquirtigenin（0.96 mmol/L）> 甘草素（1 mmol/L）。

光甘草定属于异黄酮类，为光果甘草特有的黄酮类化合物，是甘草提取物中的主要脂溶性黄酮类

成分之一, 约占甘草总黄酮的 11%^[12]。它具有良好的抗氧化作用和一定的调血脂、降血压等作用, 在心血管疾病的防治中显示出良好的药用价值, 此外, 光甘草定还具有抗炎、抗溃疡及抗菌等作用^[13-14]。

1.3 其他化合物

甘草还含有香豆素、脂肪酸、多糖、葡萄糖、蔗糖、淀粉、醇类等化合物。甘草多糖是甘草中除甘草黄酮、三萜类化合物以外的又一重要生物活性物质。1965 年 Tookey 和 Quentin 报道从乌拉尔甘草的种子中分离得到一种黏性很强的种子胶, 后证明是一种中性多糖。国内外学者对甘草多糖进行了深入研究, 研究发现其具有抗病毒、调节免疫及抗肿瘤等活性, 且多糖的生物活性不仅与其相对分子质量有着直接关系, 还与其组成和结构有关。甘草多糖结构类型主要包括: 阿拉伯半乳糖、阿拉伯半乳糖、果胶多糖等^[15]。

2 人体主要 CYP450

1958 年, Garfinkel 和 Klingenberg 发现了与

CO 结合的肝微粒体色素, 其最大吸收峰在 450 nm 处, 在 1964 年证明其是 B 型血红素蛋白, 由于其强烈的吸收光谱特征被命名为 CYP450^[16]。CYPs 超家族是 I 相代谢酶的代表。参与药物代谢的 CYP450 主要在人类肝脏和肠道中表达。在肝脏中有 10 余种 CYP450 参与药物代谢。其中, CYP1A2, 2C9、2C19、2D6、2E1 和 3A4 被认为是最重要的亚型^[17]。每种酶可以代谢不同种类的外源性物质, CYP3A4 作用于大部分亲脂性底物, 负责临床上 50% 药物的代谢; CYP2D6 倾向于选择带正电荷的分子, 通常有一个基础氮; CYP2C9 代谢弱阴离子的化合物; CYP1A2 和 CYP2E1 分别负责多环芳烃化合物和分子较小的化合物。涉及到药物代谢的酶最主要有 3 个家族 CYP1、2、3, 各亚型特征见表 1^[18-19]。CYP1、2 和 3 共同参与了临床上 90% 药物的代谢, 其他 CYPs 亚型 (CYP4、7、11、17、19、和 21) 多负责内源性化合物, 如类固醇、胆汁酸和花生酸等。

表 1 人体主要 CYP450 的分布、百分比及其探针反应

Table 1 Distribution, content, and probe reaction of primary CYP450 enzyme

CYP450	分布	探针反应	占总 CYP450 的百分比/%
CYP1A1	肺、胎盘、外周血细胞	benzo- α -pyrene 3-hydroxylation	—
CYP1A2	肝	caffeine N^3 -demethylation; phenacetin O -deethylation	8
CYP1B1	肺、肾	17 β -estradiol 4-hydroxylation	—
CYP2A6	肝、肺、胎盘, 鼻黏膜	coumarin 7-hydroxylation	4
CYP2A13	鼻部	activation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone	—
CYP2B6	肝、肺	(<i>S</i>)-mephenytoin N -deethylation	—
CYP2C8	肝、肾	taxol 6a-hydroxylation	12
CYP2C9	肝	tobutamine methyl hydroxylation	18
CYP2C19	肝	(<i>S</i>)-mephenytoin 4'-hydroxylation	4
CYP2D6	肝、肺、其他	debrisoquine 4-hydroxylation	2
CYP2E1	肝、肺、其他	chlorzoxazone 6-hydroxylation	9
CYP3A4/5	肝、肠	testosterone 6 β -hydroxylation	20

“—”信息不详, 下同

“—”information is unknown, same as below

3 CYP450 参与甘草主要化学成分代谢的研究

药物在体内代谢一般包括 II 相反应: I 相反应是氧化还原或水解反应, 主要由 CYPs 家族催化完成; II 相反应是结合反应, I 相反应的代谢产物或原药与谷胱甘肽、葡萄糖醛酸、硫酸盐和甘氨酸等发生结合反应。药物代谢反应中, 由 CYPs 催化的 I 相反应是药物在体内代谢的关键步骤, 因为这一步反应常常是药物从体内消除的限速步骤, 可影响药物的生物利用度。另外, 中药成分复杂, 提取过程基于水煎煮和醇沉等技术, 除了水溶性成分, 还有许多脂溶性成分。体内发挥药效的物质可能是这些

化学成分, 还有可能是这些化学成分在体内的代谢产物。因此, 人体 CYP450 对甘草主要化学成分代谢的深入研究将为中药体内代谢研究提供借鉴。

3.1 CYPs 酶介导甘草三萜类化合物的代谢

甘草次酸是甘草酸在肝脏及肠道中代谢酶共同作用下的产物, 在人体内主要由胆汁排泄。甘草酸由 1 分子的甘草次酸和 2 分子的葡萄糖醛酸组成, 大鼠和正常人口服甘草酸后, 在体内经 β -葡萄糖醛酸酶代谢为甘草次酸, 少量以甘草酸而大部分以代谢物甘草次酸形式吸收。杨前程^[21]通过体外实验研究了甘草次酸在大鼠肝微粒体中的代谢, 结果显示甘草次酸在大鼠肝微粒体

中的酶促反应动力学符合经典的 Michaelis-Menten 方程, 表观动力学参数 (K_m) 和最大反应速率 (V_{max}) 分别为 46.14 $\mu\text{mol/L}$ 和 8.95 $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 。甘草次酸的体外半衰期 ($t_{1/2}$) 和体外固有代谢清除率 (CL_{int}) 分别为 4.13 min 和 165 $\text{mL}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。CYP3A1/2 很有可能是大鼠肝微粒体中催化甘草次酸代谢的主要亚酶。其次 CYP1A2 也有可能参与催化了甘草次酸在大鼠肝微粒体中的体外代谢。另有研究表明, 甘草次酸在人肝微粒体中的代谢主要由 CYP3A 负责, 体外药动学参数 K_m 、 V_{max} 和 CL_{int} 分别为 18.6 $\mu\text{mol/L}$ 、4.4 $\text{nmol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 和 0.237 $\text{mL}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ ^[22]。

3.2 CYPs 酶介导甘草中黄酮类化合物的代谢

研究表明黄酮类化合物在体内代谢的主要部位是肠道和肝脏, 在肠道中主要为水解反应, 黄酮糖苷在肠黏膜乳糖酶根皮苷水解酶的作用下水解成苷。动物实验表明, 甘草苷首先被 β -D-葡萄糖苷酶转化成其糖苷配基甘草素, 甘草素形成 5 种物质: 4'-O-葡萄糖苷酸、7-O-葡萄糖苷酸、4',7-O-硫酸氢盐、4'-O-葡萄糖酸苷-7-O-硫酸盐和 7-O-葡萄糖苷酸-4'-O-硫酸盐。甘草素经肠黏膜吸收后, 在葡萄糖醛酸转移酶 (UDPGA) 等 II 相酶的作用下发生 II 相结合反应, 生成葡萄糖醛酸结合物、硫酸化物及甲基化产物。研究表明甘草苷口服后

在血浆中的主要存在形式为甘草素的硫酸结合物; 粪中的主要代谢产物为甘草素和甘草素的硫酸结合物; 尿中的主要代谢产物是甘草素和甘草素的葡萄糖醛酸结合物; 胆汁中的主要代谢产物是甘草素的葡萄糖醛酸和硫酸结合物^[23]。

Guo 等^[24]研究了异甘草素在人肝微粒体池中的代谢情况, 通过 LC-MS/MS 方法, 证明了 CYP450 参与了异甘草素大部分的羟基化代谢物的形成, 有 4 个主要的代谢产物 M1、M3、M4 和 M6。其中 CYP2C19 负责异甘草素的最主要单加氧酶代谢物 M4 的代谢, CYP2C19、2E1 和 2C9 共同参与 M3 代谢。虽然 M1 是最丰富的产物, 但被证实是温度依赖性而非酶催化的产物, 过氧化氢、超氧化物和过氧化物酶对 M6 的影响较大。

另外, 甘草查耳酮为甘草苷常见的异构化形式。光甘草定的代谢主要由肠中的葡萄糖醛酸转移酶决定, 负责代谢的主要是 UGT1A8 和 UGT1A10^[25]。

4 甘草主要化学成分对人 CYP450 活性的抑制作用

已有多个实验证实甘草活性成分可影响 CYP450 的活性。甘草中的活性成分既可抑制 CYP450 的活性, 也可诱导 CYP450 的活性, 但抑制作用更为常见, 如表 2 所示。

表 2 甘草主要化学成分对 CYP450 酶的抑制

Table 2 Inhibition of chemical constituents from *Glycyrrhizae Radix* on CYP450 enzyme

化合物	酶源	测定的 CYPs	抑制常数 (K_i) 或 $IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	抑制类型	参考文献
甘草次酸	HLM	CYP1A2	219.40 (IC_{50})	—	22
		CYP2C19	43.18 (IC_{50})		
		CYP2C9	16.21 (IC_{50})		
		CYP3A4	25.95 (IC_{50})		
异甘草素	HLM	CYP1A2	49.80 (IC_{50})	—	26
		CYP2C9	13.55 (IC_{50})		
		CYP2C19	17.63 (IC_{50})		
		CYP2D6	>200 (IC_{50})		
		CYP3A4	10.96 (IC_{50})		
甘草苷	rhCYP	CYP3A4	57.00 (IC_{50})	—	20
异甘草苷	HLM	CYP1A2	>200 (IC_{50})	—	26
		CYP2C9	>200 (IC_{50})		
		CYP2C19	>200 (IC_{50})		
		CYP2D6	>200 (IC_{50})		
		CYP3A4	48.83 (IC_{50})		
甘草查耳酮 A	HLM	CYP1A2	1.02 (K_i)	混合性	27
		CYP2C8	0.89 (K_i)	混合性	
		CYP2C9	0.17 (K_i)	混合性	
		CYP2C19	3.89 (K_i)	竞争性	
		CYP3A4	2.29 (K_i)	混合性	
光甘草定	rhCYP	CYP3A4	7.00 (K_i)	MBI	28
		CYP2B6	12.00 (K_i)	MBI	

MBI-mechanism-based in activation

Qiao 等^[26]分析了甘草中 40 余种化合物, 并利用人肝微粒体体外孵育方法研究了这些化合物对 CYP1A2、2C9、2C19、2D6 和 3A4/5 活性的影响。实验结果表明, 甘草中黄酮类化合物、萜类化合物以及香豆素类化合物对上述几种 CYPs 亚型均有不同程度的抑制作用, 其中, 皂苷类和多数糖苷对 CYP450 酶影响较小, 而异黄酮类和香豆素类对酶的影响较大。当黄酮苷类、皂苷类、酚酸类等化合物浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对上述 5 种 CYP450 的抑制作用微弱, 大多数 IC_{50} 值大于 200 $\mu\text{mol/L}$ 。相比较, 游离黄酮和芳香香豆素类化合物对上述 5 种 CYP450 表现出强烈的抑制作用, 尤其是 CYP1A2 和 CYP2C9。对 CYP1A2 的 IC_{50} 值: 甘草素 2.68 $\mu\text{mol/L}$ 、甘草香豆素 1.99 $\mu\text{mol/L}$ 、异甘草黄酮醇 0.72 $\mu\text{mol/L}$ 、glyrallin A 0.48 $\mu\text{mol/L}$; 对 CYP2C9 的 IC_{50} 值: 刺甘草查耳酮 2.46 $\mu\text{mol/L}$ 、甘草香豆素 0.70 $\mu\text{mol/L}$ 、甘草酚 0.40 $\mu\text{mol/L}$ 、glyrallin A 0.90 $\mu\text{mol/L}$ 、glycyrin 0.65 $\mu\text{mol/L}$ 、甘草宁 G 0.12 $\mu\text{mol/L}$ 。

另外, Chen 等^[29]通过 qPCR 方法, 从 mRNA 水平研究了甘草主要化学成分对 CYP1A2、CYP2D6、2E1 和 3A4 活性的影响, 结果显示, 与对照组相比较, 25 $\mu\text{mol/L}$ 的甘草酸、甘草素和异甘草素能明显诱导 CYP1A2 的表达; 然而 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, CYP1A2 mRNA 水平显著下调。甘草次酸呈剂量依赖性抑制 CYP1A2 的表达; 甘草酸、甘草次酸、甘草素、异甘草素、甘草苷和甘草查耳酮 A 明显抑制 CYP2D6 的转录。但是这 6 个甘草提取物的混合物却能够诱导 CYP2D6 的表达, 这可能是由于不同化合物之间的相互作用。之前的研究认为, 保肝药通过抑制 CYP2E1 而阻断四氯化碳的生物活性, 而该研究显示甘草酸对 CYP2E1 表达没有抑制作用, 相反, 异甘草素和甘草苷以剂量依赖方式抑制 CYP2E1 转录的表达; 低浓度 (25 $\mu\text{mol/L}$) 时, 甘草次酸和甘草素抑制 CYP2E1 的表达; 6 种化合物的混合物共同处理的 HepG2 细胞中 CYP2E1 的水平明显降低。

刘丽等^[22]进行了甘草次酸对人肝微粒体中 CYP450 活性影响的体外实验, 结果显示, 甘草次酸对 CYP450 的抑制能力虽不及各亚型阳性抑制剂, 但对 CYP3A4、1A2、2C19 和 2C9 均有不同程度的抑制作用, 50 $\mu\text{mol/L}$ 甘草次酸可以抑制 CYP2C19、2C9、3A4 的活性, 其抑制率可高达 50%

以上, IC_{50} 值分别为 43.18、16.21 和 25.96 $\mu\text{mol/L}$ 。

研究发现甘草黄酮中的甘草查耳酮 A 对 CYP450 有较强的抑制作用, 采用人肝脏微粒体孵育探针药物的方法, CYP1A2、2C9、2C19、2C8 和 3A 的抑制常数 K_i 分别为 1.02、0.17、3.89、0.89 和 2.29 $\mu\text{mol/L}$; 另外, 对 CYP2D6 和 CYP2E1 也有一定的抑制作用, IC_{50} 仅为 25、63 $\mu\text{mol/L}$ ^[27]。

Kent 等^[30]研究发现, 光果甘草中的光甘草定 (glabridin) 可使 CYP3A4 和 CYP2B6 发生机制性失活 (mechanism-based inactivation); 但其对 CYP2C9 则表现为可逆的竞争性抑制。此外, 其对 CYP2D6 和 CYP2E1 的影响可基本忽略。

5 甘草主要化学成分对人 CYP450 酶活性的诱导作用

甘草酸作为甘草的主要水溶性成分, 早在 1998 年 Paolini 等^[31]利用大鼠进行了甘草酸与 CYP450 的相互作用的研究, 研究表明甘草酸能够诱导小鼠肝脏中的 CYPs 酶, 对 CYP3a 的诱导作用较为明显, 对 CYP2b1、1a2 有轻度诱导作用。Paolini 等^[32]通过连续 4 d 重复给予小鼠甘草酸, 可以观察到甘草酸对 CYP1A1/2、1A2、3A1/2 的诱导作用, 雌性小鼠中 CYP2B1、2C11 的活性明显升高。

鉴于以往研究表明甘草酸能够改变啮齿动物的 CYP450 活性。近年来, 国内学者对甘草酸进行了大量研究, 涂江华等^[33]进行了甘草酸的人体临床试验, 证实 *po* 甘草酸能够诱导人体内 CYP3A 的活性, 连续给予甘草酸制剂甘草酸单钾盐 2 周, 再 *po* 咪达唑仑, 咪达唑仑的药时曲线下面积 (AUC) 减少、峰浓度 (C_{max}) 降低, 但半衰期并没有改变, 意味着相对于肝脏 CYP3A 来说, *po* 甘草酸主要对肠道的 CYP3A 产生诱导效应。相关临床试验还证明甘草酸能够诱导 CYP3A4 介导的奥美拉唑的磺化, 导致奥美拉唑血药浓度显著降低。这种诱导效应与 CYP2C19 的基因型不相关。临床上当与 CYP3A4 底物药物合用时, 尤其是治疗窗狭窄的药物合用时需要注意药物相互作用。甘草酸对 CYP2C19 介导的羟化作用没有影响。

甘草酸类化合物 *po* 后经胃酸水解, 链霉菌及肝中葡萄糖醛酸酶作用转化为甘草次酸吸收入血。有研究者在动物整体水平考察了甘草次酸与 CYP450 酶的相互作用, 从蛋白表达水平来看, 在不同剂量下, 甘草次酸能不同程度地增强小鼠 CYP1A2、2E1、3A 和 2C 的活性^[34]。

甘草次酸诱导引发 CYP3A 活性的增强致雷公

藤内酯在大鼠肝脏快速清除,提示甘草次酸可通过促进雷公藤内酯的肝脏代谢清除降低雷公藤内酯的肝毒性。这些研究提示雷公藤内酯和甘草次酸与 CYP3A 底物药物共用时,可能发生药物相互作用^[35]。

6 甘草与其他药物相互作用的体内研究

近年来,甘草对 CYP450 影响的研究不断深入。通过各种高效的提取方法得到甘草的化学成分,即单体化合物,然后进行目标化合物对各种亚型 CYP450 活性的影响研究。中药成分复杂,一旦抑制或诱导 CYP450,则可能导致与其同时或前后序贯使用的、经同亚型酶代谢的其他药物的血药浓度发生改变,有可能使共服药物的药效降低或增加不良反应的发生。当几种药物合用时,根据其其对 CYP450 的诱导或抑制作用,适当调节用药剂量,以得到满意的疗效或减轻药物的副作用,达到联合用药的目的。

环孢霉素是临床最常用的免疫制剂之一,其治疗窗狭窄,被视为 P-糖蛋白 (P-gp, 多种药物转运体, MDR1) 和 CYP3A4 的共同底物。Hou 等^[36]通过动物实验表明,甘草提取物和其成分甘草酸能够减小环孢霉素在小鼠体内的血药浓度和 AUC_{0-t}。进一步的机制研究发现,由于甘草中甘草酸代谢产生大量甘草次酸,而甘草次酸能够激活 P-gp 与 CYP3A,从而影响了环孢霉素的口服生物利用度。

CYP3A 存在于肝和肠中,咪达唑仑经 CYP3A 代谢为 α -羟基咪达唑仑,志愿者服用甘草酸单钾片 15 mg, 2 次/d, 连续服用 14 d, 再给予咪达唑仑,咪达唑仑的 AUC 和 C_{max} 分别减少了 20% 和 12%, 这可能源于甘草酸对 CYP3A 的诱导作用^[37]。人孕烷 X 受体 (hPXR) 是外源性物质诱导 CYP3A 基因表达的关键调节者, Ying 等^[38]报道了甘草水提物能够激活 Gal-hPXR, 结合二者的研究,推测甘草酸和甘草次酸能够激活 hPXR, 具体机制还需进一步研究。

氯沙坦为临床上常用的抗心血管药物,多项数据表明,其经 CYP3A4 和 CYP2C9 代谢生成氯沙坦羧酸 (EXP-3174)。作为 CYPs 和 P-gp 共同的底物,当 CYPs 和 P-gp 的活性改变时,氯沙坦及其产物氯沙坦羧酸的药动学也将发生明显变化。Choi 等^[39]在小鼠体内研究了甘草查耳酮 A 作为保健品与氯沙坦合用时产生的药物相互作用,研究表明甘草查耳酮 A 能强烈抑制 CYP3A4 和 CYP2C9 活性, IC₅₀ 值分别为 2.0 和 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 。甘草查耳酮 A 2.5 或 10

mg/kg 时,氯沙坦的 AUC_{0- ∞} 增加了 33.4%~63.2%, C_{max} 增加了 34.0%~62.8%, 与对照组比较,总体清除率显著降低。另外,实验还显示甘草查耳酮 A 能够下调 P-gp 外流性转运蛋白;与甘草查耳酮 A 合用时,氯沙坦在小鼠体内生物利用度明显增加。因此,应用氯沙坦时应注意避免与含有甘草查耳酮 A 的药物合用。

此外,Choi^[40]还研究了甘草查耳酮 A 与硝苯地平在小鼠体内的药物相互作用,在用药组中硝苯地平的 AUC 和 C_{max} 明显高于对照组。其代谢产物脱氢硝苯地平与硝苯地平的 AUC 比率也明显小于对照组。上述现象可能是由于甘草查耳酮 A 明显抑制肠道中 CYP3A4 和 P-gp 而造成的。

7 结语

甘草应用十分广泛,本文基于甘草的主要化学成分与 CYP450 的相互作用,阐述了甘草无论是用作食品添加剂还是作为药材应用时,这种相互作用引起的潜在安全问题始终存在。然而,不同来源甘草、大量的模拟系统和各种研究水平导致一些形成明显对比的结果,尤其是一些体内数据,这是药物相互作用中决定性的参数。因此,对于今后的临床使用,继续探讨甘草化学成分对 CYP450 或转运蛋白的影响,对于评估甘草与其他药物相互作用仍然是必须的。

在揭示甘草主要化学成分在人体的主要代谢途径和代谢酶后,一方面可科学指导中药复方的组合和配伍,即将甘草与其化学成分主要代谢酶抑制剂 (或含有这些抑制剂的草药) 组合或做成复方药物使用;另一方面可利用甘草主要化学成分抑制 CYPs 酶,在临床上与一些高治疗指数药物 (CYPs 酶底物) 合用,提高其血药浓度和生物利用度,同时减少该药物的使用剂量。在未来的研究或临床应用中,当甘草与临床治疗窗狭窄药物 (CYPs 酶底物) 共用时,可基于体外抑制参数,结合体外-体内推导 (IV-IVE) 技术提前预测共服甘草后对该药物 AUC 的影响并提前预警,尽可能优化药物生物利用度和降低药物毒副作用。

此外,还需要结合甘草化学成分对药物转运体 (如 P-糖蛋白) 及其他药物代谢酶 (如酯酶、UGT 酶) 的抑制和调控作用,才能准确预测甘草对临床药物代谢行为的影响。

参考文献

- [1] Bode A M, Dong Z. Chemopreventive effects of licorice and

- its components [J]. *Curr Pharm Rep*, 2015, 1(1): 60-71.
- [2] Kato T, Horie N, Hashimoto K, *et al.* Bimodal effect of glycyrrhizin on macrophage nitric oxide and prostaglandin E2 production [J]. *In Vivo*, 2008, 22(5): 583-586.
- [3] Taira Z, Yabe K Y, Hirayama K, *et al.* Effects of Sho-saiko-to extract and its components, baicalin, baicalein, glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on pharmacokinetic behavior of salicylamide in carbon tetrachloride intoxicated rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(5): 803-807.
- [4] 雍建平. 甘草酸、甘草次酸衍生物的合成及生物活性研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(6): 1495-1498.
- [5] 蒲洁莹, 何 莉, 吴思宇, 等. 甘草属植物中三萜类化合物的抗病毒作用研究进展 [J]. *病毒学报*, 2013, 29(6): 674-679.
- [6] Li W, Asada Y, Yoshikawa T. Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(5): 447-456.
- [7] Marjan N A, Hossein H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds [J]. *Phytother Res*, 2008, 22(6): 709-724.
- [8] 邢国秀, 李 楠, 王 童, 等. 甘草中黄酮类化学成分的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(7): 593-597.
- [9] Zheng H, Li Y, Wang Y Z, *et al.* Downregulation of COX-2 and CYP 4A signaling by isoliquiritigenin inhibits human breast cancer metastasis through preventing anoikis resistance, migration and invasion [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2014, 280(1): 10-20.
- [10] 黄华艺, 查锡良. 黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2002, 21(7): 428-433.
- [11] Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, *et al.* Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(6): 2090-2097.
- [12] 罗祖良, 李 倩, 覃洁萍, 等. 光果甘草的研究进展 [J]. *中草药*, 2011, 42(10): 2154-2158.
- [13] 王建国, 周 忠, 刘海峰, 等. 甘草的活性成分及其在化妆品中的应用 [J]. *日用化学工业*, 2004, 34(4): 249-251.
- [14] Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, *et al.* Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil [J]. *Food Chem*, 2004, 85(4): 633-640.
- [15] 丛媛媛. 新疆胀果甘草多糖的分离纯化、结构分析和生物活性研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.
- [16] Jun X U, Wang X Y, Guo W Z. The cytochrome P450 superfamily: Key players in plant development and defense [J]. *J Integr Agric*, 2015, 14(9): 1673-1686.
- [17] Clarke S E, Jones B C. Human cytochromes P450 and their role in metabolism-based drug-drug interactions [J]. *Drugs Pharm Sci*, 2001, 116: 55-88.
- [18] Ortiz M P R. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry* [M]. New York: Plenum Press, 1995.
- [19] Ogu C C, Maxa J L. Drug interactions due to cytochrome P450 [J]. *Proceedings*, 2000, 13(4): 421-423.
- [20] Tsukamoto S, Aburatani M, Yoshida T Y, *et al.* CYP3A4 inhibitors isolated from licorice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 2000-2002.
- [21] 杨前程. 甘草次酸与土的宁在大鼠肝微粒体中的体外代谢研究 [D]. 武汉: 湖北大学, 2009.
- [22] 刘 丽, 肖 娟, 彭志红, 等. 甘草次酸在人细胞色素 CYP450 中体外代谢研究 [J]. *药科学报*, 2011, 46(1): 81-87.
- [23] 董世奇, 樊慧蓉, 李全胜, 等. 甘草苷在大鼠体内的代谢途径研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(17): 2499-2505.
- [24] Guo J, Liu D, Nikolic D, *et al.* *In vitro* metabolism of isoliquiritigenin by human liver microsomes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(2): 461-468.
- [25] Guo B, Fang Z, Yang L, *et al.* Tissue and species differences in the glucuronidation of glabridin with UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Chem-Biol Interact*, 2015, 231: 90-97.
- [26] Qiao X, Ji S, Yu S W, *et al.* Identification of key licorice constituents which interact with cytochrome P450: evaluation by LC/MS/MS cocktail assay and metabolic profiling [J]. *Aaps J*, 2014, 16(1): 1-13.
- [27] He W, Wu J J, Ning J, *et al.* Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by licochalcone A, a naturally occurring constituent of licorice [J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29(7): 1569-1576.
- [28] Wu J J, Ai C Z, Liu Y, *et al.* Interactions between phytochemicals from traditional Chinese medicines and human cytochrome P450 enzymes [J]. *Curr Drug Metab*, 2012, 13(5): 599-614.
- [29] Chen H, Zhang X, Feng Y, *et al.* Bioactive components of *Glycyrrhiza uralensis* mediate drug functions and properties through regulation of CYP450 enzymes [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1355-1362.
- [30] Kent U M, Aviram M, Rosenblat M, *et al.* The licorice root derived isoflavan glabridin inhibits the activities of human cytochrome P450S 3A4, 2B6, and 2C9 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2002, 30(6): 709-715.
- [31] Paolini M, Pozzetti L, Sapone A, *et al.* Effect of licorice and glycyrrhizin on murine liver CYP-dependent monooxygenases [J]. *Life Sci*, 1998, 62(6): 571-582.
- [32] Paolini M, Barillari J, Broccoli M, *et al.* Effect of liquorice and glycyrrhizin on rat liver carcinogen metabolizing enzymes [J]. *Cancer Lett*, 1999, 145(1/2): 35-42.

- [33] 涂江华. 甘草酸对 CYP450 酶的影响及其机制研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [34] Jeong H G, You H J, Park S J, *et al.* Hepatoprotective effects of 18beta-glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression [J]. *Pharmacol Res*, 2002, 46(3): 221-227.
- [35] 马小红, 彭志红, 韩凤梅, 等. 雷公藤甲素体外对大鼠 CYP450 酶活性的影响及其与甘草次酸的代谢相互作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(3): 691-694.
- [36] Hou Y C, Lin S P, Chao P D L. Licorice reduced cyclosporine bioavailability by activating P-glycoprotein and CYP 3A [J]. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2307-2312.
- [37] Tu J H, He Y J, Yao Chen Y, *et al.* Effect of glycyrrhizin on the activity of CYP3A enzyme in humans [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2010, 66(8): 805-810.
- [38] Mu Y, Zhang J N, Zhang S M, *et al.* Traditional Chinese medicines Wu Wei Zi (*Schisandra chinensis* Baill) and gan cao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) activate pregnane X receptor and increase warfarin clearance in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(3): 1369-1377.
- [39] Choi J S, Choi J S, Choi D H. Effects of licochalcon A on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite, EXP-3174, in rats [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(11): 882-888.
- [40] Choi J S. Effects of licochalcone A on the bioavailability and pharmacokinetics of nifedipine in rats: Possible role of intestinal CYP3A4 and P-gp inhibition by licochalcone A [J]. *Biopharm Drug Disp*, 2014, 35(7): 382-390.