

• 综述 •

甘草及其活性成分对生殖系统药理作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

摘要: 甘草及其活性成分对实验动物生殖系统有影响, 甘草酸及其甘草黄酮类化合物是甘草呈现该药理作用的活性成分。甘草酸通过抑制睾酮生物合成和促进睾酮代谢, 降低血睾酮水平, 还能抗生殖器官炎症和肿瘤; 但其又能抑制磺基转移酶 2A1 活性和提高 5 α -甾体还原酶活性, 导致临床上应用甘草和甘草酸不一定会产生血睾酮水平下降。甘草黄酮类化合物属植物雌激素, 在机体缺乏雌激素时表现出雌激素样作用; 当机体雌激素水平过高时表现为拮抗雌激素作用, 是甘草治疗痛经和生殖器官肿瘤的主要活性成分。

关键词: 甘草; 甘草酸; 甘草黄酮类化合物; 性激素; 生殖器官

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2014)04-0367-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.04.018

Advances in pharmacologic studies on *Glycyrrhizae Radix* and its active components in genital system

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co. Ltd, Shanghai 201422, China

Abstract: To study the effect of glycyrrhizinic acid and licorice flavonoids on the genital system in animal, which are the active components from *Glycyrrhizae Radix* with the genital pharmacologic effects on anti-inflammation and antitumor in genital organs. Glycyrrhizinic acid could reduce serum testosterone level by inhibiting the biosynthesis and promoting the metabolism of testosterone, and has the effect of anti-inflammation and antitumor in genital organs. The effect of glycyrrhizinic acid on decreasing SULT2A1 activity while increasing steroid-5 α -reductase activity, induces *Glycyrrhizae Radix* and glycyrrhizinic acid to be no sure to exhibit the reduction of serum testosterone level in clinic. Licorice flavonoids belong to phyto-estrogen. When the body is short of estrogen, licorice flavonoids exhibit estrogen-like effects. When the body is overfull of estrogen, licorice flavonoids exhibit antagonism to estrogen. Licorice flavonoids are major active components of *Glycyrrhizae Radix* for the treatments of genital organs carcinoma and dysmenorrheal.

Key words: *Glycyrrhizae Radix*; glycyrrhizinic acid; licorice flavonoids; sex hormones; genital organs

甘草 *Glycyrrhizae Radix* 系豆科植物甘草(又称乌拉尔甘草) *Glycyrrhiza uralensis* Fisch、光果甘草 *G. glabra* L.或胀果甘草 *G. inflata* Bat.的干燥根及根茎。由于甘草具有强而广泛的生物活性, 在中国、印度、日本等亚洲国家, 甚至欧洲、中东等地都得到广泛应用。甘草及其活性成分具有广泛的药理作用, 如抗氧化, 抗炎, 抗过敏, 免疫调节, 抗菌, 抗病毒, 抗肿瘤, 抗溃疡, 抗动脉粥样硬化和肝、肾、心、肺、脑、皮肤等保护作用以及糖、盐皮质

激素样作用^[1-8]。糖、盐皮质激素属甾体类激素, 而性激素也属甾体类激素, 因此本文综述甘草及其活性成分对性激素和生殖器官的生殖系统药理作用研究进展。

1 甘草粗提物

1.1 睾丸保护作用

Malekinejad 等^[9]报道被赭曲霉毒素 A (ochratoxin A) 污染的食品可引起人和动物生殖异常。给成熟雄性大鼠 ig 光果甘草水提物 100 mg/kg 连续 28 d,

收稿日期: 2014-05-16

作者简介: 张明发(1946—), 男, 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: (021)68928846 E-mail: zhmf_my@126.com

通过阻滞赭曲霉毒素 A 引起的氧化应激反应, 对抗其引起的睾丸毒性作用, 包括大鼠睾丸退化、细精管萎缩、生殖上皮分离、血管扩张并血栓形成、血管周免疫细胞浸润、巨细胞形成和睾丸间质细胞肥大。Sakr 等^[10]也报道光果甘草水提物通过其抗氧化作用提高抗氧化酶超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性, 对抗杀真菌剂多菌灵 (carbendazime) 引起的大鼠睾丸丙二醛水平升高、细精管变性、生精细胞丢失和凋亡、睾丸质量和直径减少, 表现出睾丸保护作用。可是孙新明等报道^[11]甘草浸膏浓度在 10~275 mg/L 时对原代培养的小鼠睾丸间质细胞具有浓度相关毒性。睾丸间质细胞半数存活浓度为 275 mg/L, 10 mg/L 浓度时存活率为 80.9%, 培养液中睾酮水平也明显下降 (即抑制睾酮分泌)。随着体外培养时间的延长, 睾丸间质细胞生长状态变差, 细胞密度变得越来越稀疏, 细胞生长分裂受到抑制, 有些贴壁细胞发生凋亡。

1.2 对体液睾酮水平的影响

人们常吃甘草或含甘草的食品 (如含甘草的蜜饯) 可使血清睾酮水平明显下降或呈下降趋势 (但对游离睾酮水平无显著降低作用), 其中对男性血清睾酮水平降低较女性明显, 而对唾液的睾酮水平无降低作用^[12-15]。Josephs 等^[12]认为甘草是通过抑制 17 β -羟甾体脱氢酶, 使雄 (甾) 烯二酮难以转化成睾酮, 引起血清睾酮水平下降。Sigurjonsdottir 等^[13]给 15 例妇女和 21 例男子服用 100 g 含甘草食品 (相当于服 150 mg 甘草次酸) 4 周, 发现此剂量的甘草并不影响血清睾酮水平, 也不影响尿中雄激素 (还原尿睾酮和雄烯二酮) 排泄, 但明显降低男性脱氢表雄烯二酮水平, 说明甘草对雄激素代谢的影响远弱于对氢化可的松的影响。甘草在降低男性血清睾酮时却能升高 17-羟孕酮和黄体生成激素 (又称间质细胞刺激激素, 可促进睾丸间质细胞分泌雄激素), 可能是睾酮水平降低导致负反馈所致, 但甘草并不影响睾酮和 17-羟孕酮对 β -人绒毛膜促性激素的刺激反应^[14]。

甘草及其甘草制剂是肝微粒体细胞色素 P450 (CYP) 诱导剂^[16-18], 给大鼠 ig 相当于生药 3 g/kg 的甘草水煎剂, 7 d 后肝微粒体中细胞色素 P450 总量增加约 1 倍。Paolini 等^[19]对大鼠肝 CYP 进行细分, 发现甘草水提物 (一次 ig 生药 3.138、6.276 g/kg) 诱导与代谢睾酮有关的 CYP3A1/2、CYP1A1/2、CYP2A1、CYP2B1、CYP2C11 生成, 可使睾酮的 6 β -

7 α -、16 α -、2 α -、2 β -和雄-4-烯-3,7-二酮-部位发生氧化代谢。因此诱导 CYP 可能也是甘草降低血清睾酮水平的作用机制之一。

可是 Al-Dujaili 等^[20]给正常男女志愿者吃含甘草或不含甘草的蜜饯 1 周后, 测得吃甘草者唾液中脱氧皮质酮、脱氢表雄甾酮和睾酮水平升高, 而醛固酮水平降低。认为是甘草中的甘草次酸抑制了肾上腺皮质内的磺基转移酶 2A1 活性, 阻滞了脱氧皮质酮、脱氢表雄甾酮、孕烯醇酮和 17-羟孕烯醇酮的磺基化, 从而导致血液和唾液中非结合型脱氧皮质酮、脱氢表雄甾酮, 甚至睾酮水平升高。

Toru^[21]也报道给去卵巢大鼠 ig 甘草水提物 45、90 mg/kg 2 周, 并不影响血清睾酮、黄体生成激素和促卵泡激素水平。给 sc 睾酮引起不孕的雌性大鼠 ig 甘草水提物 11.25~90 mg/kg 2 周, 也不影响血清总的和游离的睾酮水平。

1.3 雌激素样作用

给去卵巢大鼠 ig 相当于生药 10 g/kg 的甘草水煎剂共 5 周, 可明显提高去卵巢大鼠血清雌二醇水平和子宫质量, 仅轻度升高血清睾酮和孕酮水平, 也降低升高的肝脏总胆固醇水平。推测是甘草的雌激素样作用抑制了肝脏合成胆固醇所致^[22]。Saunier 等^[23]认为甘草水提物具有组织选择性雌激素样作用。能与 α -雌激素受体 (ER α) 结合, 激活 ER α 的应答报告子, 类似于雌二醇那样逆转持久摄入高脂饲料去卵巢肥胖小鼠的体质量增长和脂肪累积。但与雌二醇不同, 甘草不诱导乳腺和子宫细胞增殖。基因表达实验证明甘草在腹部脂肪组织产生雌二醇样的基因调节作用, 而不影响乳腺和子宫的基因调节。认为甘草可用于逆转绝经后妇女体质量增长、脂肪累积和代谢综合征。

甘草的各种粗提物可通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和上调前凋亡蛋白 Bax, 抑制人前列腺癌和乳腺癌细胞增殖并诱导癌细胞凋亡^[2]。由于甘草具有雌激素样作用, 像雌二醇那样提高肌酸激酶 (雌激素应答基因的标志物之一) 活性, 激活人乳腺癌 MCF-7 细胞中的细胞外信号调节激酶 1/2 (Erk1/2) 和蛋白激酶 B (Akt) 及雌激素应答基因的转录调节, 诱导细胞增殖^[24-25]。Hu 等^[26]报道甘草二甲亚砜提取物及其醋酸乙酯部位对 MCF-7 细胞具有双向作用, 即低浓度时呈雌激素受体 (ER) 依赖性促进增殖作用, 高浓度时呈与雌激素无关的抗增殖活性。由于它们上调 ER α 靶基因 pS2 和 GREB1 以及下调

ER α 蛋白和 mRNA 水平, 推测是通过激活 ER α 产生雌激素样作用。而甘草二甲亚砷提取物中的甲醇溶部位和水溶部位有非 ER 依赖性的促进 MCF-7 细胞增殖作用。

Jia 等^[27]报道甘草水提物浓度在 0.025~0.1 g/L 对离体的雌激素化非妊娠小鼠子宫的自发性收缩, KCl、乙酰胆碱、卡巴胆碱、催产素或缓激肽引起的收缩反应有解痉作用。随着水提物浓度的逐渐提高, 显著抑制自发性收缩的幅度由 15.03% 逐渐提高到 55.10%、抑制 KCl 性收缩由 20.16% 提高到 53.99%、抑制乙酰胆碱性收缩由 14.65% 提高到 48.32%、抑制卡巴胆碱性收缩由 38.40% 提高到 76.70%、抑制催产素性收缩由 21.53% 提高到 58.49%、抑制缓激肽性收缩由 58.01% 提高到 79.44%, 证实了民间应用甘草治疗痛经的科学性。

Lee 等^[28]报道甘草甲醇提取物对大鼠垂体组织释放生长激素有刺激作用, 其中甘草正己烷提取物是甘草甲醇提取物中引起生长激素释放的最有效部位。生长激素的化学结构与催乳素相似, 故有一定的催乳素活性。

2 甘草酸和甘草次酸

通常所说的甘草酸 (glycyrrhizinic acid, glycyrrhizin) 一般是指 18 β -甘草酸, 其苷元为甘草次酸 (glycyrrhetic acid, 即 18 β -甘草次酸), 此外尚有 18 α -甘草酸、18 α -甘草次酸和甘珀酸 (carbenoxolone, 18 α -甘草次酸琥珀酸氢酯二钠), 它们有降低血睾酮水平、雄激素样作用、雌激素样作用等生殖系统活性。

2.1 降低血睾酮水平

甘草酸和甘草次酸是甘草降低血清睾酮水平的主要活性成分。它们是通过以下几个方面 (抑制睾酮合成和促进睾酮代谢) 降低血睾酮水平。

将给大鼠 ig 甘草酸和甘草次酸后分离出来的睾丸间质细胞与黄体生成激素在体外一起进行培养, 黄体生成激素的刺激睾酮合成作用被抑制。当甘草酸和甘草次酸与睾丸间质细胞体外一起培养时, 随着 17 α -羟基孕酮的累积, 睾酮的生物合成被抑制。其中甘草次酸的抑制合成作用远强于甘草酸, 浓度在 10 mg/L 时抑制率达到 90%。由于二药不影响睾丸间质细胞环磷酸腺苷和孕酮水平, 当 ¹⁴C-雄烯二酮与睾丸或卵巢组织的微粒体一起培养时, 二药均抑制雄烯二酮转化成睾酮, 提示二药是通过抑制 17 β -羟基甾体脱氢酶活性, 阻滞睾酮合成。其中

甘草次酸的半数抑制浓度 (ED₅₀) 约为 4 μ mol/L^[29]。

Toru 等^[12, 21, 30]报道甘草酸和甘草次酸在 1, 50, 100 mg/L 浓度范围时, 浓度相关性抑制发情前期大鼠卵巢的睾酮合成, 促进雄烯二酮生成, 睾酮/雄烯二酮比值下降, 雌二醇合成不受影响。甘草次酸还浓度相关地升高雌二醇/睾酮比值, 也证明这两种成分是通过抑制 17 β -羟基甾体脱氢酶活性, 抑制雄烯二酮转化成睾酮。甘草次酸通过激活 eIF2 α 抑制 17 β -羟基甾体脱氢酶的 mRNA 表达, 抑制睾酮合成, 并促进 ATF4 表达, 在 4~16 μ mol/L 浓度时浓度和时间相关地诱导雄激素依赖性前列腺癌细胞系 LNCaP 的细胞凋亡^[31]。

李威等^[32]报道用地塞米松处理猪卵巢颗粒细胞, 诱导产生胰岛素抵抗卵巢颗粒细胞 (类似于多囊卵巢综合症患者的卵巢), 表现为细胞培养液中睾酮水平升高, 孕酮水平下降, 雌二醇水平不变。甘草次酸在 20 μ mol/L 浓度时显著对抗地塞米松升高睾酮的作用, 轻度提高雌二醇水平, 不影响孕酮水平。该作者认为甘草次酸可能是通过提高一磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 的 mRNA 表达, 抑制 17 α -羟化酶的 mRNA 表达, 降低胰岛素抵抗卵巢颗粒细胞的睾酮分泌能力, 提示甘草次酸和甘草酸是胰岛素增敏剂, 有望治疗多囊卵巢综合症的高雄激素血症。

甘草酸和甘草次酸也是 11 β -羟基甾体脱氢酶抑制剂, 可阻滞氢化可的松失活成可的松, 从而增强糖、盐皮质激素生物活性^[7-8]。当睾丸中的 11 β -羟基甾体脱氢酶被抑制时, 过多的糖皮质激素就可直接抑制睾丸间质细胞合成睾酮。已测得甘草次酸抑制大鼠睾丸微粒体的 11 β -羟基甾体脱氢酶的半数有效浓度 (IC₅₀) 为 0.2 μ mol/L。当甘草次酸浓度为 0.05 μ mol/L 时能非常显著地增强糖皮质激素的抑制离体大鼠的睾丸间质细胞合成睾酮^[33]。由于甘草次酸和甘草酸的化学结构与甾体类激素颇为相似, 能竞争性抑制甾体类激素中的各种还原酶和脱氢酶, 包括 11 β -羟基甾体脱氢酶, 减少皮质激素失活代谢^[7-8], 从而产生糖皮质激素对睾酮合成的抑制。甘草酸和甘珀酸还能抑制 3 α , 20 β -羟基甾体脱氢酶活性, 阻滞雄烷和孕烷上的 3 α 和 20 β -羟基氧化成酮基, 而抑制了雄激素和孕激素的生物合成^[34]。

甘草酸是甘草诱导肝脏细胞色素 P450 氧化酶 (CYP) 的主要活性成分^[17, 20, 35]。分别给大鼠 1 次 ig 甘草酸 240、480 mg/kg 可诱导与代谢睾酮有关的

CYP3A1/2、CYP1A1/2、CYP2A1、CYP2B1、CYP2C11生成,可使睾酮的6 β -、7 α -、16 α -、2 α -、2 β -和雄-4-烯-3,7-二酮-部位发生氧化代谢。因此诱导CYP可能是甘草酸降低血清睾酮水平的作用机制之一。

2.2 雄激素样作用

甘草次酸也抑制肾上腺皮质内的磺基转移酶2A1活性,阻滞了脱氧皮质酮、脱氢表雄甾酮、孕烯醇酮和17-羟孕烯醇酮的磺基化,从而导致血液和唾液中非结合型脱氧皮质酮、脱氢表雄甾酮水平升高,可导致睾酮水平升高^[20]。Tamuri等^[36]报道给大鼠ig甘草次酸2~500 mg/kg、甘草酸5~500 mg/kg,能抑制大鼠肝脏可溶部位的5 β -甾体还原酶活性,提高肝微粒体部位的5 α -甾体还原酶活性。由于睾酮需经5 α -甾体还原酶转化成5 α -双氢睾酮才能发挥雄激素作用,加上甘草酸和甘草次酸的糖皮质激素样作用(糖皮质激素具有一定的雄激素样作用)^[8],因此甘草酸和甘草次酸在机体内也有可能产生雄激素样作用。

2.3 雌激素样作用

甘草酸和甘草次酸在体外不影响发情前期大鼠卵巢^[21]和胰岛素抵抗猪卵巢颗粒细胞^[32]的芳香化酶活性和雌二醇的生物合成。但对兔子宫胞液中的雌二醇受体结合(解离常数为1.0 nmol/L)的抑制常数均约为900 nmol/L,表现出对雌二醇受体有弱亲和力^[37]。Akira等^[38]给去卵巢大鼠和小鼠皮下注射一定比例的甘草酸/雌二醇,发现甘草酸能抑制雌二醇的提高子宫中的 β -葡萄糖醛酸酶活性和子宫增重作用。当甘草酸与雌二醇的剂量比为1 000:1时抑制率 $\geq 50\%$,剂量比再增大时抑制作用反而降低,甚至增强雌二醇作用。甘草酸本身不影响去卵巢小鼠的子宫质量和 β -葡萄糖醛酸酶活性,推测大剂量甘草酸的雌激素样作用可能是通过抑制雌激素代谢所致。

Whorwood等^[39]报道 $1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L浓度范围内的甘草次酸或皮质酮在单独与大鼠垂体GH3细胞培养时不影响催乳素和催乳素mRNA水平,但二者合用时显著抑制催乳素mRNA水平和催乳素分泌。 1×10^{-6} mol/L的甘草次酸与 1×10^{-6} mol/L皮质酮合用时作用强于相同浓度的人工合成的糖皮质激素受体激动剂RU28362。这种合用的抑制作用可被糖皮质激素受体拮抗剂所对抗,而盐皮质激素受体拮抗剂则不能对抗。该作者认为甘草次

酸和甘草酸是通过抑制垂体中的11 β -羟基甾体脱氢酶活性及其mRNA表达,升高糖皮质激素在垂体内的水平,抑制催乳素mRNA表达和释放。可是在甘草酸治疗肝病的临床实践中反而见到甘草酸致泌乳的不良反应。石维福等^[40-41]报道3例成年非哺乳妇女因肝炎iv甘草酸160 mg/d,其中2例用药4 d或5 d后,1例用药20 d后出现双乳发胀,挤压有射乳,停药3~8 d症状消失。其中1例再次应用甘草酸,4 d后又出现上述症状。甚至1例8岁女孩,因肝炎,po甘草酸片75 mg,2次/d,6周后出现乳腺发育,停药后好转^[42]。

2.4 抗子宫角和输卵管炎症

在行苯酚糊剂注入大鼠子宫角致输卵管炎症术后2 d,开始连续9 d灌服甘草酸50、100 mg/kg,分别明显地使输卵管阻塞率下降为65%和45%(模型组为95%),畅通率上升为35%和55%(模型组为5%),甘草酸在抗输卵管炎时也明显提高大鼠脾脏和胸腺质量指数、网状内皮系统的吞噬功能和提高外周血淋巴细胞比例,降低中性粒细胞比例^[43]。在机械刮擦子宫角粘连术关闭腹腔前灌注5 mg/kg甘草酸,可使严重粘连率从100%降至20%,粘连评分从 8.9 ± 1.0 降至 4.6 ± 2.0 (均 $P < 0.01$),子宫角粘连部位光镜检查:表面无或极少量纤维组织附着,无肉芽组织增生,固有层极少量炎性细胞浸润,明显降低腹腔液中白细胞数和肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平,不影响大鼠胸腺质量,地塞米松虽然有相同抗炎作用却减轻胸腺质量^[44]。

2.5 抗生殖器官肿瘤

甘草酸浓度相关性抑制人乳腺癌MCF-7细胞增殖,IC₅₀为15.8 mmol/L,也浓度相关地诱导MCF-7细胞凋亡,由于7.5 mmol/L甘草酸诱导凋亡时明显降低细胞内Ca²⁺浓度,认为甘草酸诱导凋亡与降低细胞内Ca²⁺水平有关。甘草酸还可能通过抑制环氧酶-2、白介素-1和TNF- α 的mRNA表达,显著降低小鼠雌激素相关的子宫内膜腺癌的发生率。甘草次酸也浓度相关性抑制MCF-7细胞增殖,IC₅₀为0.234 mmol/L,远低于甘草酸的15.8 mmol/L,3种诱导癌细胞凋亡方法(流式细胞仪法、TUNEL法和单细胞电泳法)都证明甘草次酸在0.1、0.15 mmol/L时明显诱导MCF-7细胞凋亡。与甘草酸相反,甘草次酸在0.15 mmol/L诱导凋亡时明显升高MCF-7细胞内Ca²⁺,而细胞内或外的Ca²⁺螯合剂都能对抗甘草次酸诱导细胞凋亡,提示升高细胞内

Ca²⁺浓度、引起Ca²⁺超载、诱发氧化应激致癌细胞凋亡是甘草次酸诱导乳腺癌细胞凋亡的作用机制^[3]。

甘草次酸虽不抑制雄激素非依赖性前列腺癌PC3和DU145细胞增殖,但显著抑制雄激素依赖性前列腺癌LNCaP细胞增殖,并显著减少LNCaP细胞的前列腺特异性抗原生成。但甘草酸通过与半胱天冬蛋白酶-3和-8无关的凋亡机制,即损伤前列腺癌细胞中的DNA机制,浓度和时间相关性抑制LNCaP和DU145癌细胞增殖^[3]。

3 甘草黄酮类化合物

甘草黄酮类化合物属植物雌激素,雌激素样作用强度往往远低于雌二醇,因此在机体缺乏雌激素时表现为雌激素样作用,当机体雌激素水平过高时,甘草黄酮类化合物可表现为拮抗作用,即表现为雌激素受体的部分激动拮抗剂样作用。

3.1 异甘草素

异甘草素(isoliquiritigenin)为异甘草苷(isoliquiritin)的苷元,具有雌激素受体激动作用。异甘草素与人ER结合的亲和力较弱,IC₅₀为0.5 μmol/L。从甘草中得到的异甘草素可能是甘草治疗痛经的活性成分。异甘草素浓度相关的抑制大鼠子宫的自发性收缩、抑制刺激剂如乙酰胆碱、KCl、催产素或CaCl₂引起的收缩。由于这种子宫松弛作用可被一氧化氮合酶抑制剂N-(ω)-硝基-L-精氨酸甲酯和环氧化酶抑制剂吲哚美辛部分对抗,提示异甘草素对子宫收缩的解痉作用可能与抑制一氧化氮合酶、环氧化酶以及钙离子通道有关^[45]。异甘草素对乳腺肿瘤细胞的作用随浓度升高呈双向作用,在0.01~10 μmol/L的低浓度时呈ER依赖性促进作用,在大于15 μmol/L时呈非ER依赖性抗增殖作用。低浓度异甘草素能转活人乳腺癌MCF-7细胞中的内源性ERα,下调ERα蛋白水平和上调pS2 mRNA表达而刺激乳腺癌细胞增殖,高浓度时也对乳腺癌细胞和人宫颈腺上皮癌HeLa细胞具有抗增殖活性。异甘草素也是芳香化酶抑制剂,也能抑制启动子I3和II驱动MCF-7细胞表达CYP19酶mRNA。给移植MCF-7aro细胞(过度表达芳香化酶的乳腺癌细胞)的卵巢切除无胸腺裸鼠喂饲异甘草素,显著抑制这种人乳腺癌在小鼠体内生长,而不影响小鼠体质量。体外实验也抑制MCF-7aro细胞生长,K_i约为3 μmol/L。抑制芳香化酶活性可能是其抗乳腺癌的作用机制之一^[2]。

异甘草素(5~10 μmol/L)浓度和时间相关地

抑制体外培养的HeLa细胞和人宫颈鳞状上皮癌SiHa细胞增殖,作用48 h的IC₅₀分别为75、96 μmol/L;如将其制成脂质体,则抗肿瘤作用提高1倍以上,IC₅₀分别为34、30 μmol/L。异甘草素抑制HeLa细胞增殖的机制是抑制拓扑异构酶II活性,导致DNA损伤,使细胞周期停止在有丝分裂中期阶段,即G₂/M期而促成凋亡。而人宫颈鳞状上皮癌CaSki细胞对异甘草素更敏感,IC₅₀仅为(19±3) μmol/L,浓度相关地阻滞CaSki细胞周期于S和G₂/M期以及细胞周期蛋白B1 mRNA表达,虽不明显影响p34^{cdc2}蛋白水平,但提高磷酸化p34^{cdc2}蛋白水平,推测抗增殖机制为异甘草素通过抑制细胞周期蛋白B1的mRNA表达,减少细胞周期蛋白B1和p34^{cdc2}形成促成熟因子并促进p34^{cdc2}磷酸化使促成熟因子失活,将细胞周期阻滞在S和G₂/M期而抑制CaSki癌细胞增殖。另外,整体实验给皮下接种CaSki细胞2周的裸鼠连续10 d腹腔注射异甘草素20、100、500 mg/kg,剂量相关性抑制CaSki细胞移植瘤生长,抑制率分别为36.8%、51.2%和84.6%,且对动物体质量和外周血白细胞数无明显影响^[2]。

异甘草素浓度相关性(0~20 μmol/L)抑制人前列腺癌DU145细胞、前列腺癌LNCaP细胞和大鼠前列腺癌MAT-LyLu细胞增殖。异甘草素通过浓度相关性刺激GADD153启动子的转录活性,促进GADD153的mRNA和蛋白表达,使癌细胞周期停留在S和G₂/M期而抑制生长。异甘草素也诱导前列腺癌细胞凋亡抑制增殖,机制是通过相关依赖性损毁癌细胞的线粒体膜电位,释放细胞色素c、Smac/Diablo和激活半胱天冬酶-9实现的。他们进一步研究发现异甘草素浓度相关性降低前列腺癌的ErbB3受体的mRNA和蛋白水平,虽不影响heregulin蛋白水平,但抑制heregulin-β诱导ErbB3的酪氨酸磷酸化、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)的p⁸⁵调节亚单位募集到ErbB3和Akt磷酸化,因此异甘草素还通过抑制ErbB3的信号转导和PI3K/Akt通路产生抗癌作用。还发现异甘草素可能通过抑制JNK/AP-1(c-Jun氨基端激酶/激活蛋白-1)信号转导,浓度相关性(0~20 μmol/L)抑制基础和表皮生长因子诱导的DU145细胞分泌尿激酶型纤维蛋白酶原激动剂(uPA)、血管内皮生长因子、基质金属蛋白酶(MMP)和细胞迁移、侵袭,产生抗前列腺癌转移活性^[2]。

3.2 甘草素

甘草素 (liquiritigenin) 是选择性 β -雌激素受体 (ER β) 激动剂, 因为它能选择性地给靶基因补充甾体激素受体共活化合物-2 (coactivator-2)。甘草素对 ER α 无作用, 在小鼠异种移植模型中不刺激子宫变大, 也不促进乳腺癌 MCF-7 细胞的肿瘤发生^[2]。

3.3 光甘草定和光甘草素

光甘草定 (glabridin) 和光甘草素 (glabrene) 都是 ER 激动剂, 光甘草定与人雌激素受体结合亲和力较光甘草素低, IC₅₀ 分别为 5、1 $\mu\text{mol/L}$, 在大鼠体内的刺激作用与雌二醇相似, 能刺激大鼠子宫、骨骺软骨、骨干骨、主动脉、左心室中的肌酸激酶活性 (雌激素应答基因的标志), 这 2 种化合物对乳腺肿瘤细胞生长呈双向作用, 在低浓度 (10~10 $\mu\text{mol/L}$) 时呈 ER 依赖性促进生长作用, 在大于 15 $\mu\text{mol/L}$ 时呈非 ER 依赖性抗增殖作用^[24, 46]。

而 Simons^[47]用酵母雌激素法实验发现光甘草素主要激动 ER α , 而光甘草定对 ER α 和 ER β 无激动活性, 甚至选择性拮抗 ER α , 浓度在 6 $\mu\text{mol/L}$ 时能抑制雌二醇的雌激素反应约 80%。可是 Samjen 等^[48]用人血管组织细胞实验, 发现光甘草定与雌二醇一样刺激人血管内皮细胞 DNA 合成, 对人血管平滑肌细胞增殖都具有双向作用, 即在低浓度时刺激增殖, 高浓度时抑制增殖。雌激素拮抗剂雷洛昔芬 (raloxifene) 能对抗这些作用。在正常和去卵巢动物实验中光甘草定和雌二醇都特异地刺激主动脉和左心室肌酸激酶。光甘草素仅刺激内皮细胞合成 DNA, 且不被雷洛昔芬抑制。光甘草素对抗光甘草定和雌二醇在高浓度时抑制血管平滑肌增殖及刺激肌酸激酶作用, 不影响低浓度时刺激 DNA 合成。提示光甘草定具有雌激素样作用, 而光甘草素则是 ER 的部分激动拮抗剂。

3.4 甘草查耳酮 A

甘草查耳酮 A (licochalcone A) 是一种具有抗肿瘤作用的植物雌激素, 通过降低癌细胞的 bcl-2 水平和 bcl-2/bax 比值以及 DNA 拓扑异构酶 I 活性, 产生抗癌的细胞毒作用, 抑制乳腺癌细胞、前列腺癌细胞, 人卵巢癌细胞增殖。甘草查耳酮 A 还具有抗肿瘤促进作用。它能与佛波醇酯竞争细胞膜上受体, 抑制佛波醇酯促进 ³²Pi 掺入 HeLa 细胞磷脂之中 (磷脂磷酸化)^[2]。

4 结语

甘草酸及其甘草黄酮类化合物是甘草呈现性药

理作用的活性成分。甘草酸通过抑制睾酮生物合成和促进睾酮代谢, 降低血睾酮水平。但甘草酸又能抑制磺基转移酶 2A1 活性和提高 5 α -甾体还原酶活性, 导致临床上应用甘草和甘草酸不一定会产生血睾酮水平下降。甘草酸还具有抗生殖器官炎症和肿瘤作用。甘草黄酮类化合物属植物雌激素, 在机体缺乏雌激素时表现出雌激素样作用, 当机体雌激素水平过高时表现为拮抗雌激素作用, 是甘草治疗痛经和生殖器官肿瘤的主要活性成分。

雌激素缺乏是导致绝经妇女骨质疏松的主要原因, 因此补充甘草黄酮类化合物有望改善骨质疏松。现有实验研究支持这种看法: 如 Choi 等^[49-50]报道光甘草定能对抗 antimycin A 致成骨细胞系 MC3T3-E1 细胞的线粒体膜电位消散、ATP 丢失、细胞内 Ca²⁺ 升高和细胞色素 c 释放, 甚至细胞死亡, 也能对抗核因子- κ B 配体的受体激活因子 (RANKL) 诱导小鼠巨噬细胞 (即破骨细胞的前期细胞) 分化成破骨细胞; Kim 等^[51]报道甘草查耳酮 A 刺激小鼠前成骨细胞的 MC3T3-E1 亚克隆 (MC4) 细胞分化, 增强骨形态形成蛋白-2 刺激小鼠双潜能间充质前体 C2C12 细胞参与成骨细胞分化, 也能促进斑纹鱼的骨骼发育和小鼠颅盖骨形成; Choi^[52]又报道甘草素显著增加 MC3T3-E1 细胞生长、碱性磷酸酶活性、胶原合成、矿化和谷胱甘肽含量, 并能对抗 antimycin A 诱导活性氧及破骨细胞分化诱导因子如肿瘤坏死因子、白介素-6 和 RANKL 生成。Zhu 等^[53]报道异甘草素浓度相关性抑制 RANKL 诱导小鼠巨噬细胞分化成破骨细胞, 并用整体实验证实异甘草素能防止小鼠炎症性骨丢失。初步证实甘草黄酮类化合物的雌激素样作用可防治骨质疏松。

甘草及其甘草酸类是一类安全有效, 不良反应发生率低的天然药物, 其最常见的不良反应是由甾体激素样作用引起的, 主要表现为水、钠潴留, 低钾血症, 高血压, 假性醛固酮增多症, 血糖升高, 尿崩症, 乳腺发育和泌乳。由于甘草及其活性成分的性激素样作用远弱于其皮质激素样作用, 加之其对性激素合成、代谢以及反馈调节等错综复杂的影响, 甘草及其活性成分在治疗非生殖系统疾病时一般很少产生生殖系统的不良反应, 对生殖系统疾病也仅产生温和的治疗作用。这就提示, 以后应开展更加深入的研究, 以研发生殖系统新药。

参考文献

- [1] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗炎机制研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 261-268.
- [2] 张明发, 沈雅琴. 甘草粗提物及其黄酮类成分的抗肿瘤作用 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(2): 124-129.
- [3] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸的抗肿瘤作用 [J]. 上海医药, 2010, 31(11): 492-495.
- [4] 张明发, 金玉洁, 沈雅琴. 甘草酸保护脑损伤及改善记忆功能的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(1): 59-63.
- [5] 张明发, 赵迎春, 沈雅琴. 甘草及其黄酮类化合物的神经保护作用 [J]. 抗感染药学, 2013, 10(3): 170-175.
- [6] 张明发, 沈雅琴, 张艳霞. 甘草及其有效成分的皮肤药理和临床应用 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(2): 146-156.
- [7] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸及其苷元甘草次酸的盐皮质激素样作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 448-452.
- [8] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸及其苷元甘草次酸的糖皮质激素样作用 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(1): 33-35.
- [9] Malekinejad H, Mirzakhani N, Razi M, *et al.* Protective effects of melatonin and *Glycyrrhiza glabra* extract on ochratoxin A-induced damages on testes in mature rats [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, 32(2): 110-123.
- [10] Sakr S, Shalaby S. Carbendazim-induced testicular damage and oxidative stress in albino rats: Ameliorative effect of licorice aqueous extract [J]. *Toxicol Ind Health*, 2014, 30(3): 259-267.
- [11] 孙新明, 杨亚军. 原代培养小鼠睾丸间质细胞的甘草毒性研究 [J]. 中成药, 2012, 34(9): 1801-1804.
- [12] Josephs R A, Guinn J S, Harper M L, *et al.* Licorice consumption and salivary testosterone concentrations [J]. *Lancet*, 2001, 358(9293): 1613-1614.
- [13] Sigurjonsdottir HA, Axelson M, Johannsson G, *et al.* Licorice in moderate doses does not affect sex steroid hormones of biological importance although the effect differs between the genders [J]. *Horm Res*, 2006, 65(2): 106-110.
- [14] Armanini D, Bonanni G, Mattarello M J, *et al.* Licorice consumption and serum testosterone in healthy man [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2003, 111(6): 341-343.
- [15] Armanini D, Mattarello M J, Fiore C, *et al.* Licorice reduce serum testosterone in healthy women [J]. *Steroids*, 2004, 69(11/12): 763-766.
- [16] 徐君辉, 李士敏. 甘草提取液与甘草次酸对小鼠安比林代谢影响的比较研究 [J]. 中成药, 2007, 29(11): 1673-1675.
- [17] 徐艳霞, 张锦楠, 闫淑莲. 甘草和五味子对大鼠丙咪嗪药代动力学的影响 [J]. 首都医科大学学报, 2003, 24(2): 121-123.
- [18] 贾建昌, 郭 炜. 甘草降血睾酮的作用机理研究概况 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(3): 244.
- [19] 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.
- [20] Al-Dujaili E A, Kenyon C J, Nicol M R, *et al.* Licorice and glycyrrhetic acid increase DHEA and deoxycorticosterone levels *in vivo* and *in vitro* by inhibiting adrenal SULT2A1 activity [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 336(1/2): 102-109.
- [21] Toru T. Effect of Shakyakukanzoto, Shakyaku, Kanzo, paeoniflorin, glycyrrhetic acid and glycyrrhizin on ovarian function in rats [J]. *Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi*, 1988, 64(11): 1124-1139.
- [22] 戴 雨, 戴大江, 河福金, 等. 4 种中药提取物对去卵巢大鼠肝脏脂代谢影响机理研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(6): 45-47.
- [23] Saunier E F, Vivar O I, Rubenstein A, *et al.* Estrogenic plant extracts reverse weight gain and fat accumulation without causing mammary gland or uterine proliferation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28333.
- [24] Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, *et al.* Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2001, 78(3): 291-298.
- [25] Dong S, Inoue A, Zhu Y, *et al.* Activation of rapid signaling pathways and the subsequent transcriptional regulation for the proliferation of breast cancer MCF-7 cells by the treatment with an extract of *Glycyrrhiza glabra* root [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(12): 2470-2478.
- [26] Hu C, Liu H, Du J, *et al.* Estrogenic activities of extracts of Chinese licorice(*Glycyrrhiza uralensis*)rat in MCF-7 breast cancer cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2009, 113(3/5): 209-216.
- [27] Jie J, Li Y, Lei Z, *et al.* Relaxative effect of core licorice aqueous extract on mouse isolated uterine horns [J]. *Pharm Biol*, 2003, 51(6): 744-748.
- [28] Lee Hy, Jung Dy, Ha H, *et al.* Induction of growth hormone release by *Glycyrrhizae Radix* on rat [J]. *J Biochem Mol Biol*, 2007, 40(6): 979-985.
- [29] Kenji S, Katsumi W. Inhibitory effect of glycyrrhetic acid on testosterone production in rat gonads [J]. *Endocrinol Jpn*, 1988, 35(2): 333-342.
- [30] Spires T E, Fink B E, Kick E K, *et al.* Identification of

- novel functional inhibitors of 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase Type III (17beta-HSD3) [J]. *Prostate*, 2005, 65(2): 159-170.
- [31] 李泽良, 孙 丹, 杨宇翀, 等. 18 β -甘草次酸对 17 β -羟基类固醇脱氢酶III表达的抑制及诱导前列腺癌细胞 LNCaP 凋亡的研究 [J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(10): 882-885.
- [32] 李 威, 季小彬, 丛 晶, 等. 甘草次酸、水飞蓟宾对体外培养的胰岛素抵抗猪卵巢颗粒细胞的影响 [J]. 科技导报, 2011, 29(19): 66-69.
- [33] 葛仁山, 桑国卫, 王茂山. 醋酸棉酚和甘草次酸对大鼠睾丸 11 β -羟甾脱氢酶的影响 [J]. 中国药理学通报, 1996, 12(1): 79.
- [34] Ghosh D, Erman M, Wawrzak Z, *et al.* Mechanism of inhibition of 3 α , 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase by a licorice-derived steroidal inhibitor [J]. *Structure*, 1994, 2(10): 973-980.
- [35] 唐小海, 宋 鑫, 谢 萍, 等. 甘草酸对抗胡椒碱对大鼠 P450 抑制的研究 [J]. 中国医药学报, 2006, 34(3): 19-20.
- [36] Tarmura Y, Nishikawa T, Yamada K, *et al.* Effects of glycyrrhetic acid and its derivatives on Δ^4 -5 α -and 5 β -reductase in rat liver [J]. *Arzneim-Forsch*, 1979, 29(4): 647-649.
- [37] Tamaya T, Sato S, Okada H. Possible mechanism of steroid action of the plant herb extracts glycyrrhizin, glycyrrhetic acid and paeoniflorin inhibition by plant herb extracts of steroid protein binding in the rabbit [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 155(5): 1134-139.
- [38] Akira K, Kazuhiko N, Atsushi S, *et al.* Effect of glycyrrhizin on estrogen action [J]. *Endocrinol Jap*, 1967, 14(1): 34-38.
- [39] Whorwood C B, Sheppard M C, Stewart P M, Licorice inhibits 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase messenger ribonucleic acid levels and potentiates glucocorticoid hormone action [J]. *Endocrinology*, 1993, 132(6): 2287-2292.
- [40] 石维福, 田素香. 甘草甜素致非哺乳期妇女泌乳 2 例 [J]. 新药与临床, 1994, 13(2): 123.
- [41] 朱 有, 李 静, 李秀芬. 强力宁致泌乳一例 [J]. 佳木斯医学院学报, 1992, 15(6): 19.
- [42] 孙 明. 甘草甜素片致儿童乳腺发育 1 例 [J]. 江西医药, 1995, 30(4): 255.
- [43] 高章圈, 张建新, 陈 铎, 等. 甘草酸单铵对输卵管炎大鼠免疫功能的影响 [J]. 解放军药学报, 2000, 16(6): 296-299.
- [44] 王 莉, 于俊荣, 樊瑞琴, 等. 甘草酸单铵配伍复方丹参注射液预防大鼠子宫角粘连以及对大鼠免疫机能调节作用的研究 [J]. 中国中医药科技, 2005, 12(5): 289-291.
- [45] Shi Y, Wu D, Sun Z, *et al.* Analgesic and uterine relaxant effects of isoliquiritigenin, a flavone from *Glycyrrhiza glabra* [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(9): 1410-1417.
- [46] Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, *et al.* Estrogenic and anti-proliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(20): 5704-5709.
- [47] Simons R, Vincken J P, Mol L A, *et al.* Agonistic and antagonistic estrogens in licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401(1): 305-313.
- [48] Somjen D, Knoll E, Vaya J, *et al.* Estrogen-like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004, 91(3): 147-155.
- [49] Choi E M. Glabridin protects osteoblastic MC3T3-E1 cells against antimycin A induced cytotoxicity [J]. *Chem Biol Interact*, 2011, 193(1): 71-78.
- [50] Kim H S, Suh K S, Sul D, *et al.* The inhibitory effect and the molecular mechanism of glabridin on RANKL-induced osteoclastogenesis in RAW264. 7 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(2): 169-177.
- [51] Kim S N, Bae S J, Kwak H B, *et al.* *In vitro* and *in vivo* osteogenic activity of licochalone A [J]. *Amino Acids*, 2012, 42(4): 1455-1465.
- [52] Choi E M. Liquiritigenin isolated from *Glycyrrhiza uralensis* stimulates osteoblast function in osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1): 139-143.
- [53] Zhu L, Wei H, Wu Y, *et al.* Licorice isoliquiritigenin suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis *in vitro* and prevents inflammatory bone loss *in vivo* [J]. *Int Biochem Cell Biol*, 2012, 44(7): 1139-1152.