

甘草提取物及有效成分抗代谢相关脂肪性肝病的药理作用及机制研究进展

刘晓丹¹, 刘俊¹, 李云², 刘天宇³, 王立新¹, 曹海龙^{3*}

1. 天津市第二人民医院 药剂科, 天津 300192

2. 天津医科大学总医院 药剂科, 天津 300052

3. 天津医科大学总医院 消化科, 天津 300052

摘要: 甘草是最常用的药用植物, 广泛应用于食品及制药行业。甘草的化学成分主要有三萜皂苷类、黄酮类和多糖类, 具有抗氧化、免疫调节、抗病毒及抗炎保肝等多种药理作用。现代研究发现甘草提取物及有效成分(甘草酸、甘草次酸、甘草查尔酮A、甘草总黄酮等)能通过调节糖脂代谢、减轻氧化应激、改变肠道菌群、保护肠道屏障等机制达到改善及治疗代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的目的。综述近年来甘草提取物及有效成分抗MAFLD的药理作用及机制研究进展, 旨在为该类药物的临床合理应用及新药研发提供理论依据。

关键词: 甘草; 提取物; 有效成分; 代谢相关脂肪性肝病; 糖脂代谢; 氧化应激; 肠道菌群

中图分类号: R285.5; R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2024)03-0642-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.03.023

Pharmacological effects and mechanisms of licorice extracts and active ingredients in metabolic associated fatty liver disease

LIU Xiaodan¹, LIU Jun¹, LI Yun², LIU Tianyu³, WANG Lixin¹, CAO Hailong³

1. Department of Pharmacy, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China

2. Department of Pharmacy, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

3. Department of Gastroenterology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract: Licorice, as the most commonly used medicinal plant, is widely used in the food and pharmaceutical industries. Licorice contains primarily triterpene saponins, flavonoids, and polysaccharide, which have various pharmacological effects such as antioxidant, immune regulation, antiviral, anti-inflammatory and liver protection. Modern research has found that licorice extracts and active ingredients, such as glycyrrhizic acid, glycyrrhetinic acid, licochalcone A, licorice total flavonoids and licorice extracts, can achieve the purpose of improving and treating metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) by regulating glucose and lipid metabolism, reducing oxidative stress, altering gut microbiota, protecting intestinal barrier. This review mainly summarizes the research progress on the pharmacological effects and mechanisms of licorice extracts and active ingredients in treating MAFLD in recent years, aiming to provide theoretical basis for the clinical rational application and new drug development of this type of medication.

Key words: licorice; extracts; active ingredients; metabolic associated fatty liver disease; glucose and lipid metabolism; oxidative stress; gut microbiota

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)是指肝脏影像学或肝组织学检查存在脂肪肝, 并与一系列代谢紊乱密切相关的肝脏疾病, 包括高血压、糖尿病、肥胖、胆固醇或三酰甘油水平异常^[1]。MAFLD的病理过程包括肝细胞脂肪变性和非酒精性脂肪性肝

炎(NASH), NASH在肝细胞脂肪变性的基础上, 还会出现肝细胞炎症和损伤^[2]。然而, MAFLD只是一系列恶性级联反应的初始阶段, 最终可发展为不可逆的肝细胞死亡, 即肝硬化和肝细胞癌^[3]。目前, MAFLD的发病机制尚未完全阐明, 近年来提出“多

收稿日期: 2023-08-29

基金项目: 天津市卫生健康科技项目(TJWJ2022MS039)

第一作者: 刘晓丹, 女, 主管药师, 研究方向为消化系统药理学。E-mail: 249915743@qq.com

*通信作者: 曹海龙, 男, 主任医师, 博士生导师, 研究方向肠道疾病和慢性肝病。E-mail: caohailong@tmu.edu.cn

重打击”学说,饮食、脂肪组织炎症、胰岛素抵抗、肠道菌群及其代谢产物失调、肠道通透性受损等多种因素共同作用于遗传易感性患者,诱发其肝细胞脂质蓄积从而导致MAFLD的发生、发展^[4]。

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根及根茎,是最常用的药用植物之一,广泛应用于制药和食品行业^[5],具有清热解毒、补脾益气、润肺化痰、缓急止痛、调和诸药的功效^[6]。甘草的主要有效成分包括三萜皂苷类、黄酮类和多糖类^[7],这些成分除了具有抗氧化、免疫调节、抗病毒、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化等多种药理作用外^[8],还具有抗炎、保肝作用,主要用于各种病毒性肝炎、酒精性肝病、MAFLD和药物性肝损伤的辅助治疗。临床和药理研究表明,甘草乙醇提取物和甘草查尔酮A具有抗MAFLD、改善代谢等作用^[9-11]。此外,网络药理学研究提示^[12],有89种甘草的活性成分(包括甘草酸、甘草次酸、甘草查尔酮A等),以及106个甘草的关键靶点与MAFLD及肥胖相关联,说明甘草可通过多种成分、多个靶点发挥治疗MAFLD的药理作用。为了能够全面地了解甘草抗MAFLD的功效,本文就甘草提取物及有效成分抗MAFLD的药理作用及相关机制进行归纳总结,旨在为该类药物的深入研究和新药研发提供理论依据和思路。

1 甘草抗MAFLD药理作用

甘草提取物及有效成分通过多种药理作用发挥抗MAFLD的作用。首先,促进脂肪的分解和代谢,加速脂肪的消耗,从而减轻体质量。其次,发挥类似胰岛素的作用,促进葡萄糖的利用,具有降糖的作用。同时,降低血清三酰甘油(TG)和总胆固醇(TC)水平,改善血脂和肝脏脂肪堆积。此外,还能够降低天冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)等血清中肝脏特异性酶活性,改善肝脏组织的炎症反应,减轻肝损伤,继而发挥抗MAFLD作用。

1.1 三萜皂苷类

甘草酸又称甘草甜素,为齐墩果烷型五环三萜类化合物,是甘草的主要生物活性成分,是甘草产生甜味的主要来源,同时也是目前临床中常用的护肝药。在日本,甘草酸还被用于治疗丙型肝炎病毒感染引起的慢性肝炎。Sil等^[13]用高果糖(60%)饮食诱导大鼠代谢综合征,实验动物分为3组:正常饮食(NCD)组、高果糖饮食组饲养6周后随机分成2组,甘草酸组给予溶解于50 mmol·L⁻¹磷酸钾缓冲液

的甘草酸溶液,剂量为50 mg·kg⁻¹,单次ip;高果糖饮食组仅用缓冲液ip处理。甘草酸组和高果糖饮食组继续高果糖饮食饲养2周。结果发现:甘草酸治疗后大鼠体质量明显下降,血糖、胰岛素和TG水平降低,并显著改善高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。与正常大鼠相比,高果糖饮食大鼠血清中ALT和AST的活性显著增加,说明代谢综合征时肝细胞发生损伤,而甘草酸使模型大鼠肝脏特异性酶活性降低,肝脏状况得到改善。由此可见,甘草酸可以通过改善代谢综合征来发挥对肝脏的保护作用。

Li等^[14]制备高脂饮食(HFD)诱导的肥胖小鼠模型,甘草酸二铵为治疗药物。实验动物分为5组:正常饮食(NCD)组、正常饮食+甘草酸二铵(NCDG)组、HFD组、HFD+甘草酸二铵(HFDG)组、HFD+甘草酸二铵+抗生素(HFDGA)组。NCDG组和HFDG组小鼠均隔日ip甘草酸二铵150 mg·kg⁻¹,HFDGA组ip甘草酸二铵150 mg·kg⁻¹,并以抗生素鸡尾酒饮用水代替无菌水,连续给药14周。发现甘草酸二铵可以通过减少HFD小鼠内脏和皮下的白色脂肪组织积累,使HFD组小鼠的体质量显著减轻;研究还发现HFDGA组的小鼠体质量比单独使用甘草酸二铵组的体质量更低,说明抗生素和甘草酸二铵联合使用可能比单独使用甘草酸二铵的减肥效果更优;甘草酸二铵还可改善HFD诱导的空腹血糖、胰岛素和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)的升高,并降低血清TG和TC水平,以TG下降尤为显著。经甘草酸二铵干预的HFD组小鼠的ALT和AST较HFD组明显下降,说明甘草酸二铵可以预防肥胖、改善代谢综合征和肝脏损伤,从而发挥抗MAFLD的作用。

1.2 黄酮类及甘草提取物

甘草查尔酮A是从甘草中分离出来的查尔酮类化合物,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎和护肝的药理活性,也是甘草抗饮食性肥胖的活性成分。Lee等^[9]用HFD诱导小鼠肥胖模型,实验动物随机分为4组:NCD组、HFD组、HFD+甘草乙醇提取物二氯甲烷(MeCl₂)组分和HFD+甘草查尔酮A组。甘草乙醇提取物MeCl₂组分为甘草30 g用70%乙醇或蒸馏水在45℃回流提取3 h,重复3次,最终提取液过滤,真空蒸发,冷冻干燥;将3 g粉末提取物溶解在100 mL水中,并在分液漏斗中与己烷、醋酸乙酯或MeCl₂ 100 mL混合。选用甘草乙醇提取物MeCl₂组分及甘草查尔酮A作为治疗药物。小鼠饲养6周后,在保持NCD和HFD的基础上,ip甘草乙醇提取

物的 MeCl_2 组分 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、甘草查尔酮 A $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每天 ip 1 次, 持续给药 19 d。结果发现: 甘草乙醇提取物的 MeCl_2 组分和甘草查尔酮 A 没有影响 NCD 组小鼠的体质量, 但却显著降低 HFD 组小鼠的体质量和腹股沟脂肪质量; 此外, 甘草乙醇提取物的 MeCl_2 组分和甘草查尔酮 A 可使 HFD 组小鼠的血糖清除率显著加快, 从而降低血糖和改善胰岛素抵抗; 同时血清 TC 显著降低, 但甘草乙醇提取物的 MeCl_2 组分和甘草查尔酮 A 对血糖、血脂的影响并无显著差异。由此可见, 甘草乙醇提取物的 MeCl_2 组分和甘草查尔酮 A 均可通过改善 HFD 诱导的代谢紊乱, 缓解 MAFLD。

Lee 等^[15]使用丙酮作为提取溶剂, 将甘草制成甘草丙酮提取物, 制备高脂饮食诱导的肥胖小鼠模型, 实验动物随机分为 4 组: NCD 组、HFD 组、HFD+甘草丙酮提取物 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组、HFD+甘草丙酮提取物 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组, 连续 ig 给药 12 周。结果显示: 甘草丙酮提取物能够降低肥胖小鼠的体质量和减少内脏脂肪量进而抑制肥胖, 脂肪变化程度与剂量无相关性。同时, 甘草丙酮提取物通过减少肝脏的脂肪变性、减少脂肪沉积, 改善肝脏损伤, 从而使血清 AST、ALT 及 TC 水平明显降低。说明甘草丙酮提取物可以通过抑制肥胖、调节血脂、改善肝脏炎症, 从而使 MAFLD 得到明显改善。

2 甘草抗 MAFLD 的药理机制

现代药理学研究表明, 甘草发挥抗 MAFLD 作用可能与其主要有效成分三萜皂苷类和黄酮类有关, 机制包括调节糖、脂代谢, 减轻氧化应激及炎症反应, 调节肠道菌群等。

2.1 调节糖、脂代谢

代谢综合征与 MAFLD 密切相关, 脂质代谢紊乱和胰岛素抵抗是 MAFLD 发生、发展的重要因素。大量研究证实甘草提取物及有效成分通过调节与脂质、葡萄糖稳态和胰岛素敏感性相关的基因, 发挥对 MAFLD 保护作用。

2.1.1 三萜皂苷类 Sun 等^[16]用 HFD 制备 MAFLD 模型小鼠, 给 MAFLD 模型小鼠每日 ig 高、中、低 (60 、 30 、 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 3 个剂量的甘草酸, 12 周后发现甘草酸通过降低胆固醇调节元件结合蛋白 1c (SREBP-1c)、脂肪酸合成酶 (FAS) 和硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (SCD1) 的表达, 同时诱导脂肪酸氧化的主要调控因子: 核激素受体过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 及肉碱棕榈酰转移酶 1 α (CPT1 α) 和酰基辅酶 A 脱氢酶 (ACADS), 从而使

血清和肝脏的 TG、游离脂肪酸 (FFA) 和 TC 浓度均明显降低, 并与剂量相关, 尤以高剂量甘草酸效果最显著。此外, 甘草酸抑制糖异生的关键酶, 同时诱导参与糖原合成酶的表达, 并通过上调胰岛素反应底物的磷酸化, 从而改善模型小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素敏感性。提示甘草酸通过调节糖脂代谢, 实现对 HFD 诱导 MAFLD 小鼠的保护作用, 且 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为甘草酸对 MAFLD 保护作用的最佳剂量。

Shi 等^[17]分别给予小鼠 HFD 及 MCD 饮食建立 MAFLD 和 NASH 模型。实验分为 NCD 组、模型组 (HFD 或 MCD) 及治疗组。治疗组分别 ig 高、中、低 (60 、 30 、 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 3 个剂量的甘草酸, HFD-甘草酸组治疗 8 周, MCD-甘草酸组治疗 4 周。结果显示: 甘草酸通过代谢为甘草次酸, 显著抑制视黄醇代谢酶 (AKR1B10) 的活性, 并改善视黄酸的代谢紊乱, 尤其是全反式维甲酸 (atRA) 的水平, 进而影响视黄酸下游核受体。视黄酸被认为是肝脏和脂肪组织中葡萄糖和脂质代谢的关键调节因子^[18], 此外, 有研究认为 atRA 能够抑制脂肪生成从而改善肥胖, 并使血糖和胰岛素的敏感性恢复正常^[19]。因此, 给予 MAFLD 模型小鼠中、高剂量的甘草酸后, 肝脏脂肪变性、体质量和血脂指数均明显改善, 以高剂量甘草酸的效果最为显著, 且甘草酸和甘草次酸在 MAFLD 和 NASH 模型小鼠中的结果一致。该研究结果提示甘草酸代谢为甘草次酸后, 通过调节维生素 A 代谢来调节糖脂代谢, 继而改善 MAFLD 或 NASH 的发展。

2.1.2 黄酮类 Liou 等^[20]用 HFD 诱导肥胖小鼠模型, 将小鼠随机分为 4 个实验组: 正常 (NCD, DMSO) 组、HFD (DMSO) 组、LA5 (甘草查尔酮 A $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 溶解于 DMSO 中) 组、LA10 (甘草查尔酮 A $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 溶解于 DMSO 中) 组, 均 ip 给药, 每周治疗 2 次, 持续 12 周。结果显示: 首先, 甘草查尔酮 A 通过降低 SREBP-1c 和过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR- γ) 的表达, 导致脂肪酸合成酶表达和 TG 合成受到抑制。其次, 在肥胖小鼠肝细胞及体外油酸诱导的 HepG2 细胞中, 均发现甘草查尔酮 A 能够增加细胞沉默结合蛋白 1 (Sirt1)、磷酸化 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) 的蛋白表达增加和脂肪三酰甘油脂肪酶 (ATGL) 的产生, 促进肥胖小鼠肝脏的脂肪分解和脂肪酸 β -氧化。从而减轻小鼠的体质量, 减少肝组织脂质积聚, 调节血清中的血脂水平, 这些指标均与甘草查尔酮 A 剂量相关; 此外, 甘草查尔酮 A 还能够通过降低肥胖小鼠的血清瘦素水

平,并增加血清脂联素水平,调节胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗。有研究发现脂联素可以调节血清葡萄糖和脂质水平。因此,甘草查尔酮A通过抑制脂肪合成、促进脂肪分解、调节血糖水平,继而改善HFD诱导小鼠的MAFLD。该结果提示甘草查尔酮A有潜力成为治疗MAFLD的新型抗肥胖药物。

2.1.3 甘草提取物 Lee等^[15]的研究进一步证实:甘草丙酮提取物使HFD小鼠肝脏中升高的PPAR γ 表达水平显著降低,同时乙酰辅酶A羧化酶(ACC)的表达升高,以甘草丙酮提取物100组最为显著,这表明通过甘草丙酮提取物在分子水平调节肝脏中蛋白质的表达而发挥抗肥胖作用。此外,甘草丙酮提取物显著提高血清脂联素水平,从而抑制脂肪组织中的脂质合成并促进脂质分解。该结果提示甘草丙酮提取物可通过调节血清脂联素以及肝脏ACC和PPAR γ 的表达水平改善由肥胖引起的MAFLD。

2.2 减轻氧化应激及炎症反应

氧化应激和炎症在MAFLD的发展过程中起重要作用。甘草提取物及有效成分通过抑制炎症因子的释放,减轻肝脏组织的炎症反应,同时中和自由基,减少氧化应激对肝脏的损害,从而保护肝脏免受氧化损伤。

2.2.1 三萜皂苷类 王礴等^[21]采用高糖、高脂饮食构建MAFLD大鼠模型,多烯磷脂酰胆碱为阳性对照药,甘草甜素作为治疗药,正常组和模型组每日ig 0.9%氯化钠溶液,阳性对照组每日ig给予多烯磷脂酰胆碱23 mg·kg⁻¹,治疗组则每日ig低、中、高(2、4、8 mg·kg⁻¹)剂量甘草甜素,共治疗6周。结果发现:阳性药物组和治疗组的大鼠肝脏组织中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)明显升高,丙二醛(MDA)明显降低,变化程度与甘草甜素的剂量相关,说明甘草甜素有一定的抗氧化能力,并且甘草甜素使MAFLD大鼠肝脏细胞色素P450 2E1(CYP2E1)蛋白和mRNA的表达明显降低,由于CYP2E1可以直接参与氧化应激,因此该研究结果提示甘草甜素能够改善肝功能和血脂水平,且下降的程度与甘草甜素的剂量呈正相关,该作用可能是通过降低肝脏中CYP2E1的表达,从而实现对MAFLD的抗氧化作用。

以往研究表明:自噬受损是MAFLD中肝细胞损伤的关键因素,信号传导和转录激活因子3(STAT3)是肝脏炎症、损伤、再生和肝癌发生、发展的关键调控靶点,其表达下调可激活自噬并抑制

NASH的炎症反应^[22]。Fan等^[23]使用HFD和含果糖的饮用水建立MAFLD小鼠模型。实验动物分为NCD组、MAFLD组及 α -甘草次酸组(60 mg·kg⁻¹ ig给药2周,给药量为0.01 mL·g⁻¹)。与MAFLD组比较, α -甘草次酸可以改善MAFLD小鼠肝脏的脂质沉积,使血清AST、ALT等生化指标及白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症指标恢复正常,并可减少肝脏巨噬细胞的过度浸润和肝细胞的凋亡;进一步研究发现在MAFLD小鼠肝组织及棕榈酸诱导的细胞模型中,磷酸化信号传导和转录激活因子3(p-STAT3)、缺氧的关键调控因子(HIF-1 α 蛋白)水平显著升高,自噬标志物BNIP3(HIF-1 α 转录靶点)、自噬诱导蛋白(Beclin-1)、自噬通量受损标志物(P62)、自噬诱导标志物(LC3II)及核因子- κ B(NF- κ B)激活标志物(P-p65)表达随之升高,提示肝脏自噬通量受损,自噬被认为是导致肝脏炎症的基础。经过 α -甘草次酸治疗后,STAT3-HIF-1 α 通路相关基因表达水平显著降低,该结果提示 α -甘草次酸能够调节巨噬细胞的STAT3-HIF-1 α 通路以抑制靶向NF- κ B的磷酸化,改善自噬通量,并减少炎症细胞因子的产生,以改善肝细胞的凋亡,从而在MAFLD中发挥治疗作用。巨噬细胞自噬可以作为新的抗炎途径来调节MAFLD、NASH和肝纤维化^[24]。

Yan等^[25]用蛋氨酸胆碱缺乏(MCD)饮食诱导MAFLD小鼠模型。实验动物分为蛋氨酸胆碱充足组(MCS)、MCD组、甘草酸组及甘草次酸组,治疗组ig给予甘草酸50 mg·kg⁻¹,ip给予甘草次酸30 mg·kg⁻¹,连续给药8周。结果发现:甘草酸和甘草次酸通过抑制TNF- α 诱导的肝细胞凋亡而改善MCD诱导的凋亡性肝损伤;并通过调节肝脏法尼酯X激活受体(FXR)水平,恢复脂质和胆汁酸的稳态;还能够抑制脱氧胆酸(DCA)诱导的NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体的激活从而减轻炎症反应;由此可见,甘草酸和甘草次酸可能阻断FXR-NLRP3炎性体的通路,发挥抗MAFLD的作用。甘草酸在肠道内被肠道细菌水解成有活性的甘草次酸,然后被肠道吸收并产生药理作用,进一步提示甘草酸可能通过其活性代谢物甘草次酸减轻MAFLD。

2.2.2 黄酮类 Lv等^[26]使用雄性C57BL/6小鼠基因敲除(Nrf2^{-/-})和野生型(WT)为研究对象,采用脂多糖/D-半乳糖胺(LPS/GaIN)诱导急性肝损伤模型,给予WT小鼠组甘草查尔酮A(50、100 mg·kg⁻¹)

每12小时ip给药1次;Nrf2^{-/-}小鼠组仅ip给予100 mg·kg⁻¹甘草查尔酮A,观察使用LPS/GaIN后24 h小鼠的存活率。结果显示LPS/GaIN诱导小鼠死亡,而甘草查尔酮A可明显提高的小鼠存活率,且高剂量甘草查尔酮A处理的小鼠存活率明显高于低剂量甘草查尔酮A。甘草查尔酮A显著降低LPS/GaIN诱导的小鼠血清TNF- α 、IL-6和IL-1 β 等炎症因子的生成,并降低肝脏MDA和活性氧(ROS)的同时增加GSH和SOD;同时抑制Toll样受体4-丝裂原活化蛋白激酶(TLR4-MAPK)和TLR4-NF- κ B通路以及硫氧还蛋白相互作用蛋白-NOD样受体蛋白3(Txnip-NLRP3)信号通路,表明甘草查尔酮A有效缓解LPS诱导的炎症反应和氧化损伤。此外,甘草查尔酮A诱导核因子 κ B信号通路相关因子2(Nrf2)和QSTM1(P62)信号的激活,并促进参与AMPK-转录因子EB(TFEB)信号的自噬,该结果提示甘草查尔酮A具有明确的肝脏保护活性,其机制是通过激活Nrf2和诱导自噬实现的,而Fan等^[24]的研究证实,调节MAFLD与改善自噬相关,进一步证明甘草查尔酮A具有改善MAFLD的药理作用。

Gou等^[27]利用高脂乳剂致MAFLD、白酒致酒精性肝病和CCl₄致肝纤维化3种小鼠肝损伤模型,每个模型组给予低、中、高(87.5、175、350 mg·kg⁻¹)3个剂量的甘草总黄酮,ig治疗4周,MAFLD组的阳性对照药为多烯磷脂酰胆碱100 mg·kg⁻¹、酒精性肝病组的阳性对照药为水飞蓟素100 mg·kg⁻¹、肝纤维化组的阳性对照药为秋水仙碱45 mg·kg⁻¹。研究发现:与阳性对照药相比,甘草总黄酮降低3个模型组小鼠的肝脏MDA和TG,与甘草总黄酮的剂量相关;同时升高酒精性肝病组和CCl₄组的肝脏GSH和SOD,从而使模型组小鼠肝脏的抗氧化能力明显提高。尤其是CCl₄组,甘草总黄酮对CCl₄组小鼠的治疗作用具有明显的剂量相关性,说明甘草总黄酮更适合用于药物或者毒物引起的肝损伤治疗。上述结果提示甘草总黄酮对高脂乳剂、白酒和CCl₄诱导的3种肝损伤模型均有一定的保护作用,其保护机制可能与降低肝组织氧化应激、减轻肝组织的炎症反应、修复肝组织有关。

2.3 调节肠道菌群

近些年,越来越多的证据支持肠道菌群在MAFLD发展和进展中的致病作用^[28-29],肠道菌群已经成为MAFLD的重要治疗靶点^[30]。既往研究证实粪肠球菌和瘤胃球菌均能发挥对MAFLD的保护作

用^[31-32],而厚壁菌门丰度增加及拟杆菌门丰度下降,也与MAFLD的发展密切相关^[33]。此外,肠道菌群的代谢产物(如胆碱)和胆碱相关代谢产物、胆汁酸、短链脂肪酸(SCFA)和乙醇与MAFLD的发生、发展均具有相关性^[30-34]。

Li等^[35]使用甘草酸二铵处理HFD喂养的MAFLD小鼠模型,甘草酸二铵的剂量和给药方式为150 mg·kg⁻¹,隔日ip,连续给药14周。经过甘草酸二铵处理后,在门水平上,MAFLD小鼠拟杆菌门丰度增加,厚壁菌门丰度减少;在属水平上,拟杆菌门的乳杆菌属相对丰度增加,厚壁菌门的经黏液真杆菌属Blautia相对丰度降低,并降低了与肥胖及代谢疾病相关的另枝菌属Alistipes和厌氧弧菌属Anaerotruncu的相对丰度。同时,甘草酸二铵降低脱硫弧菌属Desulfovibrio的相对丰度,使血清中的内毒素水平下降;同时增加产生SCFAs细菌的水平,如乳酸杆菌科和瘤胃球菌科,使SCFAs水平上调,从而发挥对MAFLD的保护作用。此外,甘草酸二铵不仅增加紧密连接蛋白,还增加杯状细胞和黏蛋白的产生,从而维持肠道屏障的完整性。由此可见,甘草酸二铵通过调节MAFLD小鼠的肠道菌群,发挥保护肠道屏障的作用,进而减轻肠道炎症,最终抑制MAFLD的发生、发展。

以往研究证实黏液菌属、梭状芽孢杆菌属、丁酸梭菌属和拟普雷沃氏菌属均可形成胆盐脱氢酶(BSH),乳酸菌属和链球菌属也具有BSH活性, Li等^[14]在甘草酸二铵抗小鼠肥胖模型中发现,甘草酸二铵能够降低上述菌群的丰度,并增加共轭胆汁酸(BAs)水平,进而抑制回肠FXR-FGF15信号通路;甘草酸二铵还在属水平上减少脱硫弧菌属Desulfovibrio和穆齐螺旋菌属Mucispirillum的相对丰度,降低血清LPS水平,增强肠黏膜屏障。该结果提示甘草酸二铵通过调节BSH相关肠道菌群的丰度,发挥对回肠FXR-FGF15信号通路的抑制作用,从而改善肥胖相关代谢综合征(包括MAFLD),该研究为肥胖治疗提供新的思路。

此外,厚壁菌门的毛螺球菌科(Lachnospiraceae)和放线菌门的红椿菌科(Coriobacteriaceae)以及经黏液真杆菌属的丰度增加也被认为与MAFLD有关^[36-38]。Wang等^[39]应用甘草酸、甘草黄酮和甘草提取物对MAFLD模型大鼠进行研究,甘草酸40 mg·kg⁻¹·d⁻¹、甘草黄酮200 mg·kg⁻¹·d⁻¹、甘草提取物200 mg·kg⁻¹·d⁻¹均ig给药12周。结果显示:补充甘草酸、甘草黄酮和甘草提

取物显著降低毛螺菌科(Lachnospiraceae)和经黏液真杆菌属的相对丰度,并增加了罗姆布茨菌属 *Romboutsia* 和苏黎世杆菌 *Turicibacter* 的相对丰度。甘草酸和甘草黄酮处理后,红椿菌科(Coriobacteriaceae)的相对丰度显著改善。在科水平上,毛螺菌科(Lachnospiraceae)和红椿菌科(Coriobacteriaceae)的丰度与肝脏中TC和TG水平呈正相关。在属水平上,经黏液真杆菌属和柯林斯菌属 *Collinsella* 与肝脏中TC和TG水平呈正相关,罗姆布茨菌属 *Romboutsia* 和苏黎世杆菌的丰度与肝脏中TG和TC的水平呈负相关。Astbury等^[40]的研究显示,柯林斯菌属 *Collinsella* 在NASH患者中的丰度明显高于健康对照组,柯林斯菌属丰度的升高与宿主脂代谢异常有关。甘草酸、甘草黄酮和甘草提取物的补充显著降低了柯林斯菌属的丰度,由此可见,柯林斯菌属丰度增加可能促进MAFLD的发展。该结果提示:甘草酸、甘草黄酮和甘草提取物可以增加肠道微生物群丰度并改变肠道微生物群结构,从而改善MAFLD。

3 结语

随着生活水平的提高,MAFLD的发病率在全球范围内持续增加,通常与肥胖、2型糖尿病、高血压和高脂血症等代谢性疾病相关联。对于MAFLD的治疗,目前的主要策略包括改变生活方式和药物治疗。改变生活方式包括减轻体质量、低脂饮食和增加运动,这些措施已被证明对改善MAFLD具有积极的影响。药物治疗主要是使用传统的保肝药和降脂药。近年来,一些传统中药逐渐成为防治MAFLD研究的热点。

甘草是我国最常用的中药,具有多种化学成分,随着各种甘草提取物及有效成分在保肝方面应用的日益广泛,对其在MAFLD作用机制方面的研究也逐渐深入^[41]。尽管目前研究证实甘草通过“多成分、多靶点、多通路”治疗MAFLD^[12],但是关于甘草治疗MAFLD的研究还存在一些不足之处:(1)甘草治疗MAFLD的药理研究主要集中在甘草酸、甘草次酸、甘草查尔酮A等三萜皂苷类和黄酮类成分,甘草其他活性成分,如槲皮素、山柰酚、柚皮素和芒柄花素等也可能是治疗MAFLD的核心成分^[12],这些成分抗MAFLD的药理作用及机制有待于进一步深入研究;(2)甘草提取物及有效成分通过调节脂肪酸合成酶,诱导脂肪酸氧化的主要调控因子,减少脂肪在肝脏的沉积;抑制糖异生的关键酶,同时诱导参与糖原合成酶的表达,提高机体对

胰岛素的敏感性,改善胰岛素抵抗,从而降低血糖水平。此外,还能够抑制炎症因子的产生和释放、减轻氧化应激等机制发挥保护肝脏的作用。研究还发现MAFLD的发生和发展与肠道菌群及其代谢产物(如胆汁酸、短链脂肪酸等)密切相关,而肠道菌群及其代谢产物将有望成为HFD诱导的MAFLD新的治疗靶点,但这方面的药理研究较少,仍需进一步验证和确证。(3)现有的研究大多集中在动物实验和体外细胞实验上,缺乏针对人体的临床试验数据。虽然动物实验和体外细胞实验可以初步验证甘草提取物及有效成分对MAFLD的治疗作用,但其结果并不能直接推广到人体。因此,更多的临床试验数据对于验证甘草提取物及有效成分的治疗效果至关重要。(4)现有研究对于甘草提取物及有效成分的安全性研究不足。虽然甘草被广泛应用于临床,但其长期使用是否会产生除假性醛固酮增多症以外的不良反应尚不清楚。因此,有必要开展更多的安全性研究,评估甘草提取物及有效成分在治疗MAFLD中的安全性。(5)现有研究对于甘草的剂型、用药剂量和疗程等方面的规范化研究不足。由于甘草含有复杂的化学成分,其剂型、用药剂量和疗程等方面的规范化研究对于确保其疗效和安全性至关重要。

为进一步研究甘草提取物及有效成分对MAFLD的作用机制和安全性,需要运用更多的新方法进行基础研究和临床试验,尤其对调节肠道菌群治疗MAFLD应进行更深入的研究,以便为MAFLD的治疗开辟全新的途径,推动甘草提取物及有效成分在临床上的应用,并为临床合理应用及基础研究提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Schwenger K J P, Bolzon C M, Li C, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: The role of the gut bacteria [J]. *Eur J Nutr*, 2019, 58(5): 1771-1784.
- [2] Pekkala S. Fecal metagenomics and metabolomics identifying microbial signatures in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4855.
- [3] Oh K K, Gupta H, Ganesan R, et al. The seamless integration of dietary plant-derived natural flavonoids and gut microbiota may ameliorate non-alcoholic fatty liver disease: A network pharmacology analysis [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2023, 51(1): 217-232.
- [4] Tilg H, Adolph T E, Moschen A R. Multiple parallel hits

- hypothesis in nonalcoholic fatty liver disease: Revisited after a decade [J]. *Hepatology* (Baltimore, Md), 2021, 73 (2): 833-842.
- [5] Kwon Y J, Son D H, Chung T H, et al. A review of the pharmacological efficacy and safety of licorice root from corroborative clinical trial findings [J]. *J Med Food*, 2020, 23(1): 12-20.
- [6] 鲁亚奇, 罗寒燕, 王丽霞. 甘草炒制过程中主要成分的含量变化及转化规律分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26 (10): 100-106.
Lu Y Q, Luo H Y, Wang L X. Analysis of the content change and transformation of the main components in the process of licorice frying [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2020, 26 (10): 100-106.
- [7] Rizzato G, Scalabrin E, Radaelli M, et al. A new exploration of licorice metabolome [J]. *Food Chem*, 2017, 221, 959-968.
- [8] Pastorino G, Cornara L, Soares S, et al. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(12): 2323-2339.
- [9] Lee H E, Yang G, Han S H, et al. Anti-obesity potential of *Glycyrrhiza uralensis* and licochalcone A through induction of adipocyte browning [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3): 2117-2123.
- [10] Nguyen T H, Ly H H V, Nguyen T M, et al. The effects of *Glycyrrhiza Glabra* extract in high-fat diet-induced obese male mice: A controlled experimental study [J]. *Obesity Medicine*, 2023, doi: org/10.1016/j.obmed.2023.100525.
- [11] Chen L, Kan J, Zheng N, et al. A botanical dietary supplement from white peony and licorice attenuates nonalcoholic fatty liver disease by modulating gut microbiota and reducing inflammation [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153693.
- [12] 李云, 刘天宇, 袁恒杰, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨甘草防治非酒精性脂肪肝病及肥胖的作用机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 4882-4894.
Li Y, Liu T Y, Yuan H J, et al. Mechanism of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma* against non-alcoholic fatty liver disease and obesity based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2023, 54(15): 4882-4894.
- [13] Sil R, Ray D, Chakraborti A S. Glycyrrhizin ameliorates metabolic syndrome-induced liver damage in experimental rat model [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 409 (1/2): 177-189.
- [14] Li Y, Hou H, Wang X, et al. Diammonium glycyrrhizinate ameliorates obesity through modulation of gut microbiota-conjugated BAs-FXR signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 796590.
- [15] Lee M H, Hwang J M, Kang E J, et al. Anti-obesity effect of licorice acetone extract in a mouse model of obesity induced by a high-fat diet [J]. *Health Suppl Future Forum*, 2021, doi:10.52361/FSBH.2021.1.E8.
- [16] Sun X, Duan X, Wang C, et al. Protective effects of glycyrrhizic acid against non-alcoholic fatty liver disease in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 806: 75-82.
- [17] Shi L, Guo S, Zhang S, et al. Glycyrrhetinic acid attenuates disturbed vitamin A metabolism in non-alcoholic fatty liver disease through AKR1B10 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 883: 173167.
- [18] Mody N. Alterations in vitamin A/retinoic acid homeostasis in diet-induced obesity and insulin resistance [J]. *Proc Nutr Soc*, 2017, 76(4): 597-602.
- [19] Yang D, Vuckovic M G, Smullin C P, et al. Modest decreases in endogenous all-trans-retinoic acid produced by a mouse *Rdh10* heterozygote provoke major abnormalities in adipogenesis and lipid metabolism [J]. *Diabetes*, 2018, 67(4): 662-673.
- [20] Liou C J, Lee Y K, Ting N C, et al. Protective effects of licochalcone A ameliorate obesity and non-alcoholic fatty liver disease via promotion of the Sirt-1/AMPK pathway in mice fed a high-fat diet [J]. *Cells*, 2019, 8(5): 447.
- [21] 王礪, 夏咸松, 李进涛, 等. 细胞色素P4502E1在甘草甜素治疗非酒精性脂肪肝病中的作用 [J]. *昆明医科大学学报*, 2020, 41(4): 11-17.
Wang B, Xia X S, Li J T, et al. The role of cytochrome P4502E1 in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease with glycyrrhizic acid [J]. *J Kunming Med Univ*, 2020, 41 (4): 11-17.
- [22] Mohammed S, Nicklas E H, Thadathil N, et al. Role of necroptosis in chronic hepatic inflammation and fibrosis in a mouse model of increased oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 164: 315-328.
- [23] Fan Y, Dong W, Wang Y, et al. Glycyrrhetinic acid regulates impaired macrophage autophagic flux in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 959495.
- [24] Cao Y, Mai W, Li R, et al. Macrophages evoke autophagy of hepatic stellate cells to promote liver fibrosis in NAFLD mice via the PGE2/EP4 pathway [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(6): 303.
- [25] Yan T, Wang H, Cao L, et al. Glycyrrhizin alleviates nonalcoholic steatohepatitis via modulating bile acids and Meta-inflammation [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46(9): 1310-1319.
- [26] Lv H, Yang H, Wang Z, et al. Nrf2 signaling and autophagy are complementary in protecting

- lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by licochalcone A [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(4): 313.
- [27] Gou S H, He M, Li B B, et al. Hepatoprotective effect of total flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch in liver injury mice [J]. Nat Prod Res, 2021, 35(24): 6083-6087.
- [28] Tokuhara D. Role of the gut microbiota in regulating non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents [J]. Front Nutr, 2021, 8: 700058.
- [29] Dejong E N, Surette M G, Bowdish D M E. The gut microbiota and unhealthy aging: Disentangling cause from consequence [J]. Cell Host Microbe, 2020, 28(2): 180-189.
- [30] Chu H, Duan Y, Yang L, et al. Small metabolites, possible big changes: A microbiota-centered view of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Gut, 2019, 68(2): 359-370.
- [31] Duarte S M B, Stefano J T, Miele L, et al. Gut microbiome composition in lean patients with NASH is associated with liver damage independent of caloric intake: A prospective pilot study [J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2018, 28(4): 369-384.
- [32] Wang B, Jiang X, Cao M, et al. Altered fecal microbiota correlates with liver biochemistry in nonobese patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 32002.
- [33] Carbajo-Pescador S, Porras D, Garcia-Mediavilla M V, et al. Beneficial effects of exercise on gut microbiota functionality and barrier integrity, and gut-liver crosstalk in an *in vivo* model of early obesity and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Dis Model Mech, 2019, 12(5): dmm039206.
- [34] 杨礼丹, 何詠, 安振梅. 肠道菌群在代谢相关脂肪性肝病中的作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(9): 2231-2235.
- Yang L D, He H, An Z M. The role of gut microbiota in metabolic-associated fatty liver disease [J]. J Clin Hepatobil Dis, 2021, 37(9): 2231-2235.
- [35] Li Y, Liu T, Yan C, et al. Diammonium glycyrrhizinate protects against nonalcoholic fatty liver disease in mice through modulation of gut microbiota and restoration of intestinal barrier [J]. Mol Pharm, 2018, 15(9): 3860-3870.
- [36] Guohong L, Qingxi Z, Hongyun W. Characteristics of intestinal bacteria with fatty liver diseases and cirrhosis [J]. Ann Hepatol, 2019, 18(6): 796-803.
- [37] Kishida Y, Okubo H, Ohno H, et al. Effect of miglitol on the suppression of nonalcoholic steatohepatitis development and improvement of the gut environment in a rodent model [J]. J Gastroenterol, 2017, 52(11): 1180-1191.
- [38] Shen F, Zheng R D, Sun X Q, et al. Gut microbiota dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017, 16(4): 375-381.
- [39] Wang S, Li X Y, Ji H F, et al. Modulation of gut microbiota by glycyrrhizic acid may contribute to its anti-NAFLD effect in rats fed a high-fat diet [J]. Life Sci, 2022, 310: 121110.
- [40] Astbury S, Atallah E, Vijay A, et al. Lower gut microbiome diversity and higher abundance of proinflammatory genus *Collinsella* are associated with biopsy-proven nonalcoholic steatohepatitis [J]. Gut Microbes, 2020, 11(3): 569-580.
- [41] 李云, 刘天宇, 袁恒杰, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨甘草防治非酒精性脂肪肝病及肥胖的作用机制 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4882-4894.
- Li Y, Liu T Y, Yuan H J, et al. Mechanism of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma* against non-alcoholic fatty liver disease and obesity based on network pharmacology and experimental verification [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(15): 4882-4894.

[责任编辑 李红珠]