

甘草提取物及其衍生物的抗病毒研究现状

辽宁大学生物系微生物教研室(沈阳110036)

李铁民*

中国医科大学基础医学部微生物教研室

梁再赋

摘要 综述近年来国内外对甘草甜素及其衍生物、甘草多糖和甘草黄酮类化合物的抗病毒研究现状,以及这些化合物对包括爱滋病毒在内的17种病毒的研究进展,同时指出了进一步研究方向。

自古以来,甘草在很多国家已作为药用,在祖国医学中应用得更为广泛,并认为具有补脾益气、清热解毒、润肺止咳、缓急止痛、调和诸药之功效。随着科学技术的发展,新技术和新理论不断涌现,对甘草的研究也在不断广泛深入。甘草成分复杂,已分离得到近百种活性成分,加之其衍生物已超过千种化合物^[1~3]。其中研究最多是三萜类化合物(甘草甜素)及其衍生物。对甘草提取物及其衍生物的药理研究已显示了广泛的作用^[4],特别是近年来日本应用复方甘草酸制剂治疗肝炎收到了良好效果^[5]。

甘草制剂用于治疗AIDS,使得对甘草的研究,又出现了新的高潮。纵观近年来对甘草的研究,其抗病毒作用研究成了其主要研究方向之一。

1 甘草甜素

甘草甜素(glycyrrhizin, GL)也称为甘草酸(glycyrrhizic acid, GA),其商品常为甘草酸的铵盐或钠盐。已证实它具有广泛的抗病毒谱,尤其发现了它具有抗爱滋病病毒(HIV)活性,使研究者们对它的研究更为深入。梁再赋等^[6]在培养的RK13细胞上研究了甘草酸单铵(monoammonium glycyrrhizinate, MAG)的抗HSV-I作用,实验表明,25mg/ml以上浓度的MAG对RK13细胞有毒性作用,12.5mg/mL以下浓度的MAG对细胞生长无影响,4mg/mL以上浓度的MAG不但具有直接灭活病毒作用,而且也可抑制细胞内的HSV-I增殖。临床应用表明,GL凝胶掺入0.20%疱疹净对唇、鼻疱疹病人具有良好疗效,可缩短治疗时间,几乎立即减轻痛感。认为此新药的高疗效是GL在抗炎和抗病毒的同时增强了对皮肤的渗透^[7]。

Baba等^[8]体外研究了GL对水痘——带状疱疹病毒(VZV)的作用效果。他们发现GL不但可抑制VZV的增殖($ID_{50} = 0.71 \text{ mmol/L}$),而且可直接灭活VZV。对GL的作用机理研究表明,病毒吸附细胞1h后加GL处理,不但可有效抑制VZV增殖,而且,先用GL处理细胞,然后感染病毒也是有效的。虽然这种作用机理不清,但至少与GL在HEF细胞中诱生干扰素无关。另外,病毒感染16h后加GL可抑制病毒从感染细胞向未感染细胞扩散。所以,他们认为GL的抗VZV活性是抑制病毒颗粒穿入、脱壳或释放,其确切机制还不清。GL与无环鸟苷(ACV)和阿胞腺苷(Ara-A)的抗病毒效果相比,其选择性稍低于ACV(选择参数分别为30.0和38.8),却比Ara-A高10倍。同时还发现对ACV和BVDU有抗性的TK突变株,却对GL敏感。通过G与ACV、Ara-A、BVDU、PFA和HuIFN-B联合应用,发现对VZV增殖有相加到稍协同作用。

另有报道表明,GL对巨细胞病毒也有作用^[9]。

在日本,GL制剂(SNMC)被公认是治疗慢性肝炎较好的药物,广泛用于急、慢性肝

*Address: Li Tiemin, Department of Biology, Liaoning University, Shenyang

炎,重症肝炎及肝硬化的治疗。樊芝真等^[10]对13例HBeAg阳性慢性肝炎患者用IFN与甘草酸治疗,并于停用IFN后继续服用甘草酸。结果表明,对HBeAg显效者达77%,并认为两者合用更为理想。

GL治疗乙肝的确切机理还不清楚,但可能是复杂的。有报道证实,GL具有抗鸭乙型肝炎病毒(DHBV)效果($ID_{50}=0.46\text{mg/mL}$),但对肝细胞内病毒增殖无影响,也不具直接灭活病毒作用。由于GL抗DHBV剂量高于其临床剂量,所以临床剂量的GL在体内抗HBV作用可能是微弱的^[11]。Shinada等^[12]的实验表明,来源于HBsAg携带者的淋巴细胞—巨噬细胞培养物在对ConA和HBsAg应答时IFN产生能力明显降低。然而,当此细胞培养物用GL预处理后,再对ConA或HBsAg应答时IFN产生能力得到增强。另有很多资料表明GL在体外及动物和人体内可诱生IFN- γ ^[13, 14]。这些提示GL除改善各项肝功能和组织学方面外,诱生IFN- γ 参与抗病毒可能是其作用机理之一。

新近,GL用于治疗流行性出血热和流行性乙型脑炎已有初步报道^[15, 16],还需进一步研究。

被人们称之为“人类新瘟疫”的爱滋病,由于没有合适的预防办法,所以寻找和筛选有效的治疗药物成了当务之急。Ito等^[17]体外实验发现,0.6mmol/L GL完全抑制MT-4细胞中的HIV诱导的空斑形成($ID_{50}=0.15\text{mmol/L}$),完全抑制HIV致细胞病变效应和HIV特异抗原表达的浓度分别为0.3和0.6mmol/L,并且,可抑制HIV感染Molt-4(克隆8)的巨细胞形成,但对HIV的逆转录酶活性没有影响,与已知的AIDS治疗药物AZT联合应用可产生相加效果。

虽然GL抑制HIV机理不清,但资料表明可能与GL抑制细胞膜蛋白激酶C(PKC)和蛋白激酶P(PKP)活性有关。HIV侵入MT-4细胞时,首先HIV的包膜糖蛋白需要与T₄细胞的受体CD₄结合^[18],此时,PKC使CD₄发生磷酸化,导致HIV侵入细胞内^[19]。通过电镜观察,PKC抑制剂不妨碍HIV与T₄细胞结合,但阻碍病毒颗粒在细胞表面聚集向细胞内侵入,抑制HIV的感染^[20]。冲增英治等^[20]首先报道了GL抑制大鼠脑细胞和白细胞PKC活性。伊藤等^[22]也发现GL抑制Molt-4(克隆8)细胞膜的PKC活性,其抑制浓度与GL抑制HIV浓度呈比例关系。Ohtsuki等^[23]探讨了GL对PKP的作用,他们发现GL与PKP的结合强于与PKC的结合,并能抑制蛋白的磷酸化。这可能与GL抑制HIV作用有密切关系。

俊藤洋一等^[24]报道了GL对11名AIDS患者的疗效,其中2名AIDS患者,2名AIDS相关综合症(ARC),7名无症状携带者(AC),用SNMC每次5mL/kg,每日1次连用3周。结果表明,7例带病毒者中有6例淋巴细胞CD₄/CD₈比例上升,并有4例CD₄细胞数增加,但AIDS患者和ARC患者未见此现象。由于此实验没有作血中病毒检查,所以不能确定此实验结果究竟是GL的抗病毒作用,还是GL特有的免疫增强作用。又由于GL对AIDS和ARC患者无效,建议增加投药量和投药次数。服部俊夫等^[25]采用大剂量(最大量1600mg/d GL)连续静脉滴注对3例AIDS患者进行了治疗,结果表明,要想降低HIV-Ag量和增加T₄细胞数须每日达60mg(12mg/kg·d)才有效。通过对血和脑脊液中HIV-Ag检查分析,GL虽能抑制血中HIV的增殖,但不能抑制中枢神经组织中的HIV增殖,提示GL不能通过血脑屏障。鉴于AZT可通过血脑屏障,且与AZT有相加抗HIV作用^[17],两者合用可望提高疗效。然而,GL与AZT合用已应用于处理输血用的血制品,以预防因输血而引起的HIV传播,现已获美国专利^[26]。

2 甘草甜素衍生物

岩田进等^[27]对几种GL衍生物的抗病毒作用与GL做了比较研究。他们将GL的30位羧基还原成羟甲基,11位羰基还原成H或者在亚甲位将葡萄糖醛酸还原成葡萄糖及使其CD环还原成杂环二烯,以HIV和HSV-I作为靶病毒。实验结果表明,从GL转变成CD环杂环二烯化合物具有和GL大致相同的抗HIV和HSV-I活性。在抗病毒浓度下对非感染细胞无作用,而且在抑制HIV增殖浓度范围内不显示对逆转录酶的抑制活性。所以,他们认为其抗病毒作用可能发生在病毒对宿主细胞吸附这一环节,这和GL抗病毒作用机理相同。但由于此化合物没有醛固酮样作用,在临床应用时优于GL。其制剂现已获日本专利^[28]。其它化合物均未显示抗HIV和抗HSV-I活性。30位还原体也未显示抗病毒活性。所以,他们认为GL 30位羧基与其抗病毒活性有关。

Nakashima等^[29]在研究硫化多糖抑制逆转录酶活性时发现,硫酸盐残基可能在这种抑制中起着关键作用,为此,他们体外研究了合成的GL硫化物(GLS)在MT-4细胞中对HIV感染和复制的抑制作用。结果表明,0.184mmol/L的GLS抑制HIV感染的MT-4细胞中病毒诱导的细胞病变效应和病毒抗原的表达。0.736mmol/L的GLS完全抑制MT-4细胞中的HIV诱导的空斑形成。与GL相比,GL抗HIV感染的抑制效果是GL的3.4倍,而GLS抑制MT-4细胞和正常淋巴细胞生长却比GL小1.2倍。GLS不仅可以和GL相同作用机理抑制HIV感染,而且,也可抑制HIV和AMV(禽类骨髓母细胞瘤病毒)逆转录酶活性。由于GL不具抑制逆转录酶活性,所以,GLS获得此活性,明显是由硫酸盐残基加到GL结构中所赋予的。因此,他们认为GLS作为治疗AIDS药物比GL更有效。

3 甘草多糖

常雅萍等^[30]从甘草中提取甘草多糖(glycyrrhiza polysacchride, GPS)对7种RNA和DNA类病毒做了体外抗病毒研究,结果表明,GPS对水疱性口炎病毒(VSV)、腺病毒Ⅱ型(AdVⅡ)、HSV-I和牛痘病毒(VV)均有明显的抑制作用。但对麻疹病毒作用较弱,对仙台病毒和柯萨奇病毒B₃型无作用。1:4以上稀释的GPS对L929和FL细胞无毒性作用。他们对GPS的作用机理研究结果表明,GPS不但可直接灭活上述4种病毒,而且对细胞内的病毒也有作用。可阻止VSV,AdVⅡ吸附与进入细胞。他们还提到甘草糖蛋白对某些病毒也具有一定的抑制作用。

4 甘草黄酮

有资料报道,奥田拓男和宫本宽治发现,甘草中含有3种黄酮类成分(甘草查尔酮)对HIV增殖的抑制作用是GL的25倍^[31],但能否用于临床及临床效果如何尚未见报道。

到目前为止,甘草提取物和衍生物抗病毒研究已涉及17种病毒,除了对脊髓灰质炎病毒和麻疹病毒无作用外,通过某种作用机理对其它病毒均显示了一定作用。对有些病毒既有直接灭活作用,也有间接抑制增殖效果,尤其对HIV逆转录酶活性有抑制作用。归纳起来,其抗病毒作用机理似乎是多途径的,a)抑制病毒的吸附,穿入或释放;b)抑制病毒糖蛋白合成;c)抑制细胞膜PKC和PKP活性;d)在体内诱生IFN间接发挥抗病毒作用;e)抑制逆转录酶活性。就其某种化合物详细抗病毒机理还有待进一步研究。通过构效关系研究发现,GL30位羧基可能与其抗病毒活性有关,还原成杂环二烯的化合物在保持原有抗病毒活性的同时,消除了原有的醛固酮样副作用,且经硫化物修饰的GL赋予了抑制逆转录酶活性。

甘草中3种黄酮类成分对HIV增殖的抑制作用是GL的25倍,这是令人瞩目的成果。随着药物诱导或天然存在的耐药病毒株的发现,使一些抗病毒药物失去了特效药作用。GL抗

VZV突变株已有苗头,有待广泛研究。由于甘草提取物及其衍生物绝大多数毒性小,且具有一定的免疫增强和调节作用,所以对其研究和应用值得重视。

参 考 文 献

- 1 胡志厚.药学报,1988,23(7):553
- 2 刘 勤,等.中国药学杂志,1989,24(12):705
- 3 丛雅琴,等.日本医学介绍,1991,12(6):286
- 4 柴田承二.Minophagen Med Rev,1990,35(1-2):1,65
- 5 安田清美,他.肝胆脾,1992,24(4):557
- 6 梁再赋,等.中华实验和临床病毒学杂志,1992,6(2):137
- 7 Segal R, et al. J Clin Pharm Ther, 1987, 12(3):165
- 8 Baba M, et al. Antiviral Res, 1987, 7(2):99
- 9 Edward S. C A, 1992, 117: 178298
- 10 兴芝真,他.肝脏,1988,29(Supp):39
- 11 田村微,他.肝脏,1991,32(11):990
- 12 Shinada M, et al. Proc Soci Exp Biol Med, 1986, 181: 205
- 13 梁再赋,等.中国医科大学学报,1991,20(4):257
- 14 李金兴,等.上海医科大学学报,1991,18(2):104
- 15 强力宁治疗流行性出血热协作组.临沂医专学报,1990,12(3):179
- 16 姚文虎,等.新药与临床,1991,10(2):72
- 17 Ito M, et al. Antiviral Res, 1987,7:127
- 18 Stein B S, et al. Cell, 1987, 49: 659
- 19 Kawalski M, et al. Science, 1987, 237: 1351
- 20 Fieds A P, et al. Nature, 1988, 333: 278
- 21 冲增英治,他.Minophagen Med Rev, 1987, 17(supp):89
- 22 伊藤正彦,他.细胞工学,1988,7:591
- 23 Ohtsuki K, et al. Res Comm, 1988,157:597
- 24 俊藤洋一,他.医学のあゆみ,1987,140(8):619
- 25 服部俊夫,他.临床免疫,1988,20(8):747
- 26 Edward S. C A, 1992, 117: 178292
- 27 岩田进,他.日本生药学会第36回年会讲演要旨,1989,118
- 28 Kazuhiro H, et al. CA,1992,117:157629
- 29 Nakashima H, et al. Jpn J Cancer Res (Gann), 1987, 78: 767
- 30 常雅萍,等.中国中药杂志,1989,14(4):44
- 31 奥田拓男,他.日本药学会第108回药理学ミニポシウム 1989.

(1993-07-07收稿)

(上接第654页)

药源不应有的浪费。有的认为治疗主要靠医生医术高低,药房只是依法抓药,经常发生称量不准,缺药错漏,不按处方调配等问题,这是中药质量下降的一个重要因素。

5 注意复核和叮嘱

当调配完处方后,进行最后一次全面细致的核对,再次复核,有无配伍禁忌及毒剧药品外,还要按照处方的药品顺序逐一核对药品,调配是否正

确,药味是否齐全,分剂量是否准确等。

发药时向病人或家属作详细交待,不但要将服药方法、用量、服药禁忌,向病家交待清楚,而且对汤剂的煎法,某些特殊煎煮如先煎、后下、包煎、另煎、冲服等均向病人交待清楚,以达到服药安全有效。

(1994-03-07收稿)

《国外医药·植物药分册》1995年征订启事

《国外医药·植物药分册》由国家医药管理局中草药情报中心站、国家医药管理局天津药物研究院主办,报道国外植物药化学成分、制剂工艺、质量控制、药理、毒理及临床;植物药在医药、兽药、保健食品、饲料、化妆品方面的新应用。1994年起对国际上植物药研究的“热点”课题,增辟国外植物药研究信息题录专栏并进行专题咨询服务。本刊为双月刊,每册定价5.00元,全年另加包装费3.00元,共计33.00元。订阅者请向300193天津市鞍山道308号本刊编辑部索取订单。