

甘草黄酮的研究进展

季宇彬, 姜 薇, 范玉玲, 尚 明^x

(哈尔滨商业大学药物研究所 博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076)

在我国甘草药用历史悠久, 得到广泛的应用。传统医学认为其有益气补中、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功效, 有“十方九草”之说。甘草为豆科(Leguminosae)甘草属(*Glycyrrhiza* Linn.) 多种植物的根和根茎。据《中华人民共和国药典》2000 年版一部记载其原植物有 3 种, 即乌拉尔甘草 *G. uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflate* Bat 和光果甘草 *G. glabra* L.。随着药学及其相关学科以及科研设备的发展, 人们对甘草的认识也越来越丰富。甘草中主要含有甘草酸、甘草次酸、黄酮、生物碱和氨基酸等化学成分, 具有广泛的生理活性^[1]。甘草酸目前研究较深入。由于近年来人们发现其中黄酮类成分有较强的生物活性, 已成为新的研究热点。现对甘草黄酮的国内外研究进展综述如下。

1 提取工艺

高素莲等进行了甘草总黄酮提取工艺的研究^[2]: 将甘草根茎室温干燥后粉碎(60 目), 用 95% 乙醇室温浸渍 48 h, 提取液滤过, 滤液于 70 ℃ 水浴中减压浓缩成稠膏状, 加热水搅拌均匀溶解后, 依次用石油醚、醋酸乙酯萃取 3 次。醋酸乙酯萃取液用 5% Na_2CO_3 水溶液萃取, 碱水溶液用浓盐酸调至 pH 5~6 后, 再用醋酸乙酯萃取, 减压浓缩醋酸乙酯, 于 60 ℃ 恒温干燥至恒重, 即获得棕黄色的甘草总黄酮。

乔仲和等^[3]对不同的转化分离剂 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、 $\text{Sr}(\text{OH})_2$ 、 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 、重金属(Pb、Zn) 选择试验, 确定 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 为综合性能最佳的转化分离剂。将提取过甘草酸的甘草渣用热水提, 在其提取液中加入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 充分搅拌后加入 Na_2CO_3 离心分离, 取其上清液, 减压浓缩后用 HCl 沉淀, 离心分离, 冷水洗沉淀。真空干燥即得黄酮类化合物。此法可将甘草渣中各类成分很容易分离, 工艺条件简单, 分离彻底, 成本较低。

对甘草黄酮采取微波辅助提取法^[4]和超声场介入提取法^[2]不仅避免了传统提取法的弊端还大大提高了提取效率。

2 化学成分

2.1 黄酮类: 夏佛托苷(schaftoside)、异夏佛托苷(isoschaftoside)、佛来心苷(violanthin)、异佛来心苷(isoviolanthin)、芒柄花素(formononetin)^[5]、芒柄花苷(ononin)、4'-二羟基黄酮(4', 7-dihydroxyflavone)、甘草黄酮 A(licoflavone A) 等。

2.2 异黄酮类: 异芒柄花苷(isoononin)、黄甘草苷(glycyroside)、黄甘草异黄酮 A(eurycarpin A)、甘草异黄酮 A(licoisoflavone A)、黄甘草异黄酮 B(eurycarpin B)、毛蕊异

黄酮(calycosin) 等^[5]。

2.3 查耳酮类: 甘草查耳酮 A(licochalcone)、异甘草苷(isoliquiritin)、刺果甘草查耳酮(glypallichalcone) 等。

2.4 二氢黄酮类: 甘草苷(Iiquirtin)、6"-O-乙酰基甘草苷^[6]、甘草素(Iiquiritinin) 等^[7]。

3 药理作用

3.1 抗氧化作用: 生物体在需氧代谢过程中的氧化还原反应伴有超氧阴离子自由基、羟自由基等生成, 可以引发生物膜多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应。损伤膜结构及功能, 损伤糖、蛋白质及核酸等生物大分子, 导致功能和代谢紊乱。从而导致一些疾病(衰老、心血管病、炎症、肿瘤等) 的发生, 因而研究中药有效成分的抗氧化作用对预防、治疗这些疾病可能发挥重要作用。

甘草类黄酮属查耳酮和二氢黄酮, 均为含有酚羟基的化合物。其对脂质过氧化终产物丙二醛(MDA) 的生成具有明显抑制作用, 对超氧阴离子自由基和羟自由基有明显的清除作用。朱少华^[8] 等也证明甘草黄酮具有明显清除自由基, 拮抗脑组织脂质过氧化的作用。甘草中总黄酮^[9] 对 Fenton 反应生成的羟自由基具有较强的直接清除作用, 效果明显优于甘露醇, 其清除羟自由基的 IC_{50} 是甘露醇的 1/255, 其抑制羟自由基生成的 IC_{50} 是甘露醇的 1/139。傅乃武等^[10] 报道了 14 种甘草黄酮类化合物对 4 种活性氧(超氧阴离子自由基、羟自由基、单线态氧、过氧化氢) 的清除效应, 光甘草黄酮和甘草查耳酮 A 对过氧化氢溶血的抑制效应最明显; 有 10 个甘草黄酮类化合物明显对抗卅啉衍生物(HPD) 的溶血; 甘草查耳酮 A 和 4'-甲氧基-4'-羟基查耳酮对羟自由基的清除作用最为显著。国外有学者从甘草黄酮降低 B-胡萝卜素损耗, 抗低密度脂蛋白(LDL) 氧化的角度阐明甘草黄酮抗氧化机制, 并论述了这一机制与抗过敏、抗血栓、抗肿瘤、抗炎等作用之间的关系^[11]。

3.2 抗肿瘤作用: G_{9315} ^[12] 是从胀果甘草中提取的含 6 个黄酮体的复合物, 可有效预防巴豆油对小鼠皮肤的促癌作用, 对巴豆油诱发的不同细胞的脂质过氧化有明显对抗作用, 表明 G_{9315} 的抗促癌作用可能与抗氧化作用有一定关系。进一步研究发现^[13] G_{9315} 可显著抑制巴豆油诱发的耳水肿及其诱发的放射性同位素³²P 渗入 Hela 细胞磷脂部分, 说明它具有抗促癌作用, 并能有效抑制促癌剂诱发的磷脂合成增加; 还能明显对抗环磷酰胺引起的小鼠骨髓微核细胞增多, 具有抗突变作用。可明显抑制 CCl_4 所致肝微粒体的损伤。由此可

x 收稿日期: 2004-04-29

作者简介: 季宇彬(1956—), 男, 教授, 博士后, 博士生导师, 研究方向为抗肿瘤药物研究。

见,甘草黄酮类混合物 G_{9315} 是具有抗促癌、抗致突作用。另有报道认为光果甘草中黄酮类化合物在体内、体外有抗肿瘤活性,异甘草素导致 DU145、LNCaP 前列腺癌细胞株 S 和 G2/M 期生长停止,可作为治疗前列腺癌候选药物^[14]。董青等^[15]研究发现甘草中黄酮成分对小鼠骨髓巨噬细胞(BMC)及腹腔巨噬细胞(PEC)及 L_{929} 细胞无直接毒性作用但能诱导 BMC 和 PEC 产生具有杀伤作用的细胞毒因子,初步证明此细胞毒因子为肿瘤坏死因子(TNF- α)。

3.3 抗 HIV: 黄酮类化合物抗 HIV 作用的靶点主要是转录酶和整合酶。其抗 HIV 活性与 B 环 C-2 和 C-3 之间有无不饱和双键及 A 环 C-5 和 C-7 有无羟基取代有关^[16]。近年来人们发现甘草黄酮对艾滋病毒有很强的抑制增殖作用,已成为新的研究热点。

3.4 保肝作用: 甘草黄酮^[17]可缓解 CCl_4 引起的小鼠血清中血清谷丙转氨酶(GPT)及乳酸脱氢酶(LDH)活性的增高。 CCl_4 经肝微粒体酶细胞色素 P_{450} 激活后生成 $\cdot CCl_3$, $\cdot CCl_3$ 可攻击肝细胞膜上磷脂分子,引起脂质过氧化或与肝微粒体脂质和蛋白质发生共价结合,损伤肝细胞膜结构与功能的完整性,从而使胞浆内可溶性酶渗入血液中。甘草黄酮可能由于保护了 CCl_4 所致的肝细胞损伤,减少了 GPT 及 LDH 渗入血液,从而降低 CCl_4 中毒小鼠血清 GPT 及 LDH 活性。再者甘草黄酮可显著抑制 CCl_4 中毒小鼠肝内 MDA 含量的增高。小鼠预先以甘草黄酮处理^[18],可抑制乙醇诱导的小鼠肝脏 MDA 含量的增高和还原性谷胱肽(GSH, 一抗氧化体系)的耗竭,其作用呈剂量依赖性。电镜检验证实甘草黄酮可保护乙醇所致的肝细胞超微结构的损伤,这一作用与甘草黄酮清除由酒精激活产生的氧自由基有关。但乙醇 ig 后再用甘草黄酮未见保护作用,可能与其经胃吸收快慢有关。

3.5 抗溃疡: FM_{100} (甘草除去甘草甜素后得到的富黄酮类成分)具有抗实验消化性溃疡的作用。其抗溃疡作用的甘草黄酮单体有: 甘草苷、甘草素、异甘草苷等。李仁等从提取甘草甜素剩下的药渣中得到富黄酮组份,已被我国批准为用于治疗抗溃疡病的二类新药^[19]。

3.6 抗心律失常: 甘草黄酮^[20,21]能够对抗乌头碱、 $BaCl_2$ 、冠脉结扎、 $CaCl_2$ -ACh 混合液、氯仿、哇巴因诱发大鼠和小鼠的心律失常。说明其抗心律失常作用机制是多方面的。

4 结语

国内外学者对于甘草黄酮的提取工艺优化、化学成分分离及药理作用的研究取得了丰硕的成果。随着相关实验的开展,人们又发现其有许多新的生物活性,有着很大的研发价值。在药理作用方面目前多集中于复合物的研究,相信在不久的将来人们对甘草黄酮的认识会更加深入,使之更好的造福于人类。

References:

- [1] Yuan W K, Bai F, Yang B, et al. Extraction and purification methods of glycyrrhizic acid [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2002, 33(7): 362-364.
- [2] Gao S L, Wang X M. Extraction and determination of triterpene and flavonoid constituents isolated from the Glycyrrhiza [J]. Acta Univ Anhui (安徽大学学报), 2000,

- 24(4): 70-74.
- [3] Qiao Z H, Hu Z R. Studies on the comprehensive utilization of licorice (Recovery of flavonoids from licorice waste) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1997, 28(9): 522-524.
- [4] Sun P, Li Y, Cheng Y H. Microwave technique extraction and content determination of chromoco in Glycyrrhiza glabra L. [J]. Lishizhen Med Chin Mater Med Res (时珍国医国药), 2003, 14(5): 266-267.
- [5] Zhang Y M, Xu X D, Hu B H, et al. Isoflavones from Glycyrrhiza eurycarpa [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1997, 32(4): 301-304.
- [6] Shen F J, Hu J F, Yu Y C, et al. Studies on the chemical constituents of Glycyrrhiza uralensis Fisch [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 1995, 16(4): 572-574.
- [7] Zou K, Zhao Y Y, Fu N W, et al. Antioxidant constituents from G. inflata Bat root [J]. J Chin Pharm Sci, 1996, 5(4): 182-185.
- [8] Zhu S H, He Q, Gong Y H, et al. Effects of Glycyrrhiza flavonoid on free radical induced brain lipid peroxidation [J]. P Acta Univ Med Tongji (同济医科大学学报), 1994, 23(Suppl 2): 125-127.
- [9] Wu B H, Long C G, Wang X M, et al. The scavenging effect of flavonoids of Glycyrrhiza on hydroxyl radical studied in vitro [J]. J North Sichuan Med Coll (川北医学院学报), 2001, 16(1): 3-5.
- [10] Fu N W, Liu Z Y, Zhang R Y, et al. Studies on antioxidant effect of triterpene and flavonoid constituents from Glycyrrhiza [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 1994(5): 26-29.
- [11] Vaya J, Belinky P A, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation [J]. Free Rad Biol Med, 1997, 23(2): 302-313.
- [12] Fu N W, Liu Z Y, Zhang R Y, et al. Effects of G_{9315} on anti-induced-cancer and suppressing lipid peroxidation caused by induced-cancer-substances [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1995, 26(8): 411-413.
- [13] Fu N W, Liu Z Y, Zhang R Y, et al. Studies on anti-induced-cancer, antimutation, antioxidant effect of Glycyrrhiza flavonoids [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物的研究与开发), 1995, 7(4): 29.
- [14] Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y, et al. Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer [J]. Eur Urol, 2003, 43(5): 580-586.
- [15] Dong Q, Xiu X M, Yang M H, et al. Flavonoids isolated from the leaves of Glycyrrhiza on inducing cytotoxicity studied in vitro [J]. J Shantou Univ Med Coll (汕头大学医学院学报), 1994(2): 9-11.
- [16] Lai C F, Chen J J, Wang Y F, et al. Advance in studies of flavonoids against HIV [J]. J Shangqiu Teachers Coll (商丘师范学院学报), 2002, 18(5): 83-87.
- [17] Wang G S, Han Z W. The protective action of Glycyrrhiza flavonoids against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1993, 28(8): 572-576.
- [18] Wang G S, Han Z W. Effects of flavonoids of glycyrrhiza on ethanol-induced liver injury in mice [J]. Chin Pharm Bull (中国药理学通报), 1993, 9(4): 271-273.
- [19] Jia G H, Jia S S. Advance in studies of pharmacological action of Glycyrrhiza flavonoids [J]. Chin Pharm J (中国药杂志), 1998, 33(9): 513-516.
- [20] Hu X Y, Peng G P, Chen R Y. Studies on antiarrhythmic effect of glycyrrhetic flavonoids [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1996, 27(12): 733-735.
- [21] Xie S R, Huang C Y, Yang J X, et al. Antiarrhythmic effect of glycyrrhetic brass [J]. Basic Med Sci Clin (基础医学与临床), 1998, 18(2): 72-74.