

- [36] Liu Y, Zhong Z C, Marinus J A W, *et al.* Effects of α -NAA and UV-B radiation on photosynthetic pigments and activities of protective enzymes in *Trichosanthes kirilowii* Maxim leaves [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2003, 23(1): 8-13.
- [37] Chen Y P, Liu Y J, Zhao M M, *et al.* Influence of low doses microwave radiation on activities of antioxidative enzymes of

Isatis indigotica seedlings exposed to enhanced UV-B radiation [J]. *Acta Bot Boeali-Occid Sin* (西北植物学报), 2005, 25(11): 2219-2225.

- [38] Song D J, Chen R L, Yin R C, *et al.* Study on molecular wide-cross in plant through ion bundle [J]. *Prog Nat Sci* (自然科学进展), 2001, 11(3): 327-330.

甘草酸抗病毒活性的研究进展

段伟奇, 姬胜利*

(山东大学药学院, 山东 济南 250012)

摘 要: 以国内外发表的文献为材料, 简述甘草酸在抗病毒方面研究进展。对甘草酸抗肝炎病毒、疱疹属病毒、HIV 病毒及 SAS 病毒等机制进行了综述。甘草酸抗病毒活性强, 能抑制多种不相关的 DNA、RNA 病毒的生长, 并且不影响正常细胞的活性。但由于其脂溶性和生物利用度低, 及长期使用会引起一些不良反应, 而限制了它的应用。总的来说, 甘草酸在抗病毒方面的前景良好, 有其独特优势, 但其抗病毒机制复杂, 很多方面有待进一步研究。

关键词: 甘草酸; 病毒; 抗病毒活性

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)04-附 1-03

Advances in studies on anti-viral activity of glycyrrhizic acid

DUAN Wei-qi, JI Sheng-li

(School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

Key words: glycyrrhizic acid; virus; anti-viral activity

甘草酸(glycyrrhizic acid)是中国传统中药甘草根部的提取物, 也是其主要的药用有效成分之一。甘草酸的苷元为甘草次酸(glycyrrhetin)。甘草酸已被广泛地应用于食品和药品领域。研究者很早就发现, 甘草酸有抗炎作用, 在日本应用甘草酸作为治疗肝炎的临床制剂已有二十多年历史。随着研究的逐步深入, 甘草酸的抗病毒、免疫调节等多种药理活性也一一被发现。很多以甘草酸为主要成分的药物被开发出来, 并在临床上显示出了良好的治疗作用。本文就甘草酸抗病毒活性的研究进展进行综述。

1 甘草酸的结构

甘草酸为五环三萜苷类化合物, 属于三萜类中的齐墩果烷型。有 α 和 β 两种异构体(图 1)。

2 甘草酸的代谢过程

Takeda 等^[1]研究了甘草酸 *po* 给药后的代谢情况, Van Rossum 等^[2]研究了 *iv* 甘草酸后体内代谢的情况, 其代谢过程已基本清楚。甘草酸 *po* 给药后, 依赖肠道内的正常菌群水解代谢成甘草次酸, 吸收入血而发挥作用, 此过程缓慢; *iv* 甘草酸后, 首先在肝细胞内由溶酶体中的 β -D-葡萄糖苷酶代谢成 3-单-葡萄糖苷甘草次酸, 后者在肝脏中进一步代谢, 随胆汁排入肠内, 由肠内细菌代谢成甘草次酸, 再吸收入血。

在临床上, 甘草酸一般通过 *iv* 给药。口服给药由于其极

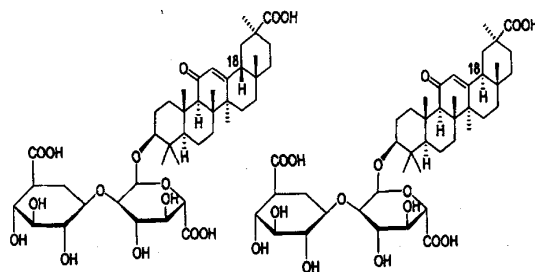


图 1 甘草酸的结构

Fig. 1 Structure of glycyrrhizic acid

性较大, 脂溶性低, 使得生物利用度低, 影响了口服制剂药效的发挥。为了增加药物制剂的脂溶性, 提高甘草酸类药物的生物利用度, 目前国内主要将甘草酸制成为 α -甘草酸二铵盐制剂, 以充分发挥药物的生物效应。主要原因有: 1) α -甘草酸二铵盐的 18 α -H 与 C₃₀ 上的羧基不在同一平面, 而甘草酸恰恰相反, 由于位阻效应使得前者亲脂性提高, 在体内易于与受体蛋白结合。 α 体结构中 D/E 环为反式构型与泼尼松龙相似, 易于与类固醇激素的靶细胞结合, 故其抗病毒、抗炎作用远大于 β 结构。2) 无论是 α 体还是 β 体, 甘草次酸都比甘草酸的活性强得多, 而二铵盐能使体内甘草酸在葡萄糖醛酸酶的作用下生成甘草次酸及两分子葡萄糖醛酸的反应更

收稿日期: 2006-09-14

作者简介: 段伟奇(1979—), 吉林省九台市人, 山东大学硕士研究生, 从事糖化学方面的研究工作。

Tel: (0531)88381761 E-mail: weiqi_duan@yahoo.com.cn

* 通讯作者 姬胜利 Tel: (0531)88380288 E-mail: shenglij@sdu.edu.cn

容易进行,从而提高了甘草酸转化为甘草次酸的比率,从另一方面增强了药物的作用^[3]。

3 抗病毒活性

早在 1979 年 Pompei 等就发现甘草酸有抗病毒活性,能抑制很多不相关的 DNA、RNA 病毒的生长,并且不影响正常细胞的活性。还可以不可逆钝化单纯性疱疹病毒颗粒^[4]。Tl'ina 等^[5]也发现,甘草酸对 HIV-1、丙型肝炎病毒、疱疹病毒属相关病毒有很好的亲和力。

3.1 抗肝炎病毒:肝炎是对人体健康危害极大的世界性疾病,仅乙型肝炎,世界上病毒携带者超过 3 亿,而我国病毒携带者更已接近 10%,达到 1.3 亿,接近世界总数的一半。肝炎不仅会给患者生理上造成极大的痛苦,更会大大增加患者发生肝癌的几率。

甘草酸有直接抗肝炎病毒的活性,且对宿主细胞没有毒性^[6]。在很多体外实验中已证实,其抗乙型肝炎病毒的作用是通过改变胞内运输和抑制肝炎病毒的唾液酸化作用来实现的。Soto 等^[7]对甘草酸在豚鼠体内的抗乙肝病毒活性进行实验,证明通过静脉给药后,甘草酸会在豚鼠肝脏富集,改变乙肝病毒相关抗原在肝细胞的表达,并抑制肝炎病毒的唾液酸化作用。还有研究表明,长期使用甘草酸治疗丙型肝炎能有效地防止肝癌的发生^[8]。甘草酸治疗肝炎在日本已经有几十年的临床历史,效果已经得到了充分的验证。但是其抗肝炎病毒的作用机制复杂,目前尚未完全清楚,有待于进一步研究。国内目前很多关于甘草酸抗肝炎病毒方面的研究都集中在联合用药、改变给药途径、对甘草酸进行结构改造以及临床应用等方面。如拉夫米定和甘草酸的联合应用、甘草酸脂质体方面的研究等。其目的是提高甘草酸的抗炎活性和体内的生物利用度。

3.2 抗疱疹病毒:早在 20 世纪 80 年代,研究者就已经发现甘草酸具有抗疱疹病毒的活性。近年来,甘草酸抗疱疹病毒的研究又有了很多新的进展。

Sekizawa 等^[9]研究发现,甘草酸可以增加单纯性疱疹脑炎小鼠的存活率。Lampi 等^[10]研究发现,一些抗疱疹病毒属的酶和蛋白质与甘草酸的联合应用能产生协同作用,极大地提高甘草酸抗疱疹病毒的活性。例如乳铁蛋白和溶菌酶与甘草酸联合应用,目前已经被开发成了外用的治疗单纯性疱疹的药物。Lin^[11]通过一系列实验证明,甘草酸有抗 EB 病毒(Epstein-Barr virus)的活性。其抗 EB 病毒的复制呈剂量依赖性。由于甘草酸抑制 EB 病毒是在病毒复制循环的早期,这点与核酸类似物通过抑制 EB 病毒的 DNA 多聚酶抑制病毒复制不同,也说明了甘草酸代表了抗此病毒的一类新的化合物。

Klass 等^[12]研究发现卡波济肉瘤疱疹病毒属的病毒几乎在所有的卡波济肉瘤和原发性渗出性淋巴瘤中存在,在部分多中心的巨大淋巴结增生症中也有发现。这种病毒会促进肿瘤的发生,且会通过裂解性复制产生抗药性。甘草酸可以抑制此疱疹病毒的裂解性复制,并能根除潜伏期的疱疹病毒。Curreli 等^[13]通过实验证明甘草酸可以根除在 B 淋巴细胞中潜伏的卡波济肉瘤相关疱疹病毒。其机制是通过下调与

潜伏期相关的核的抗原(LANA)的表达,上调病毒的细胞周期调节蛋白的表达,从而选择性的诱发被卡波济细胞瘤相关疱疹病毒感染的细胞的死亡。LANA 水平降低会引起 p53 (肿瘤抑制基因和细胞调节器,在人体恶性肿瘤的发生及发展中经常出现 p53 功能缺失,并与之有重要的关系)的再活化、ROS 的水平升高、线粒体的机能异常,从而导致 G₁ 细胞周期停滞、DNA 断裂和氧化应激介导的编程性细胞死亡。由此机制表明,可以通过干扰病毒的表达来根除潜伏期卡波济肉瘤相关疱疹病毒的感染,为未来对此病毒引发的肿瘤的治疗提供了新的思路。更有学者认为,还原病毒潜伏期的合成蛋白,诱导被病毒感染细胞的编程性死亡可能会为阻断病毒的潜伏期提供新的办法^[14]。

3.3 抗 HIV 病毒:HIV 病毒是针对人体免疫系统的病毒,如何进行治疗一直困扰着医疗工作者。大量的医药科研人员都在致力于寻找良好的抗 HIV 病毒的药物。很多研究者已经发现甘草酸有抗 HIV 病毒的活性。

Sasaki 等^[15]被 HIV 病毒感染的病人的外周血单核细胞中检测了甘草酸抗 HIV 病毒的作用。42 个患者,其中 20 个无传染征兆(NSI-HIV),15 个有传染征兆(SI-HIV),其余 7 个感染类型保密。20 个 NSI-HIV 感染的病人,其中 12 个病人血样中的 HIV 病毒复制抑制率达 90%以上,占总人数的 60%;但是对于 15 个 SI-HIV 感染的患者,仅有一例病毒复制被抑制。在患者的外周血单核细胞中,甘草酸诱导 C-C 基序趋化因子(CCL)4 和 CCL5 的产生,而用其与 CCL4、CCL5 单克隆抗体的混合物进行实验并未发现抗病毒活性。所以可以认为,甘草酸有通过产生 β -趋化因子来抑制 HIV 病毒复制的潜力。

甘草酸可以抑制 R5 HIV 病毒的复制。Takei 等^[16]在新鲜的经过 1-甲基腺苷处理的人外周血单核细胞中研究证明,甘草酸能极大地抑制 CCL2 和白细胞介素 10(IL-10)的产生。而 CCL2 和 IL-10 的存在,却是 CCR5 mRNA 表达的必需条件。在缺乏 CCL2 和 IL-10 的情况下,只能检测到痕量的 CCR5 mRNA 的表达。也就是说,甘草酸是通过抑制 CCL2 和 IL-10 的产生,间接的抑制了 R5 HIV 病毒的复制。

3.4 抗 SAS 病毒:在非典型性肺炎疫情发生后,全世界都在关心具有抗 SAS 病毒活性药物的筛选。甘草酸有抗 SAS 病毒的活性^[17]。Cinatl 等^[18]对利巴韦林、6-氮尿苷、吡唑喹啉菌素、霉酚酸菌素和甘草酸等药物抗 SAS 病毒的活性做了检测,发现这些药物中甘草酸对 SAS 病毒复制的抑制活性最强。Hoever 等^[19]对甘草酸的 15 个衍生物进行了抗 SAS 病毒活性的测试,并通过在甘草酸糖链中引入 2-乙酰胺基- β -D-吡喃葡萄糖提高了抗病毒活性。通过结构改造,甘草酸很可能成为对抗 SAS 病毒有力工具。其作用机制有待研究。

3.5 其他病毒:除了上述病毒以外,研究者做了许多甘草酸抗其他病毒的探索。Utsunomiya 等^[20]对甘草酸影响感染 A2 型流感病毒小鼠的存活率进行了研究。小鼠暴露在半致死剂量的流感病毒下,在感染前 1 天及感染后 4 天腹腔注射甘草酸(10 mg/

kg), 对照组小鼠注射生理盐水。实验组小鼠存活都超过了 21 d, 而对照组小鼠没有存活超过 21 d 的(平均存活时间 10.5 d)。在肺组织实变程度及被感染小鼠肺组织病毒值方面, 实验组也明显低于对照组。但是在体外实验中甘草酸并没有显示出任何影响 A2 型流感病毒活性或复制的活性。过继性转移甘草酸给药小鼠脾的 T 细胞至其他暴露在流感病毒小鼠, 并与接种未致敏 T 细胞或甘草酸给药小鼠脾 B 细胞、巨噬细胞的小鼠对比, 在实验期间通过过继性转移的 T 细胞小鼠的存活率为 100%, 而对照组存活率为 0。并且, 甘草酸抗流感病毒活性在给予抗 γ 干扰素单克隆抗体小鼠时并没有体现。这意味着其抗流感病毒的活性是通过刺激 T 细胞产生 γ 干扰素实现的。

Crance 等^[21]研究了体外干扰素、利巴韦林、6-氮尿苷和甘草酸等化合物对致病的虫媒病毒的抗病活性。甘草酸在较高浓度(未达到有细胞毒性)可以抑制虫媒病毒的复制。

4 展望

甘草酸有抗病毒活性强、对正常细胞的毒性低以及对潜伏期病毒有杀伤性作用等诸多优良特性, 其作为抗病毒药物有着良好的前景。但其抗病毒机制复杂, 同时还存在着脂溶性低、口服生物利用度低等方面的缺点。长期使用甘草酸容易引起低血钾、腹泻、肾上腺皮质激素样不良反应。进一步阐明甘草酸的抗病毒作用机制, 以便更好地增强其生物活性、减轻其不良反应, 让其更好地发挥作用, 都是值得今后深入研究的问题。

References:

- [1] Takeda S, Ishihara K, Wakui Y, et al. Bioavailability study of glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizin in rats; relevance to the intestinal bacterial hydrolysis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1996, 48(9): 902.
- [2] Van Rossum T G, Vulto A G, De Man R A, et al. Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, 12(2): 199.
- [3] Van-Rossum T G, De-Jong F H, Hop W C, et al. Pseudo-aldosteronism induced by intravenous glycyrrhizin treatment of chronic hepatitis C patients [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16(7): 789.
- [4] Pompei R, Flore O, Marcialis M A, et al. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles [J]. *Nature*, 1979, 281(5733): 689-690.
- [5] Il'ina T V, Fediuk N V, Bachinskii A G, et al. Deter-

- mination of glycyrrhizic acid binding sites by a phage display method [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2003, 37(5): 861-867.
- [6] Romero M R, Efferth T, Serrano M A, et al. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system [J]. *Antivir Res*, 2005, 68(2): 75-83.
- [7] Sato H, Goto W, Yamamura J, et al. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B [J]. *Antivir Res*, 1996, 30(2-3): 171-177.
- [8] Arase Y, Ikeda K, Murashima N, et al. The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients [J]. *Cancer*, 1997, 79(8): 1494-1500.
- [9] Sekizawa T, Yanagi K, Itoyama Y. Glycyrrhizin increases survival of mice with herpes simplex encephalitis [J]. *Acta Virol*, 2001, 45(1): 51-54.
- [10] Lampi G, Deidda D, Pinza M, et al. Enhancement of anti-herpetic activity of glycyrrhizic acid by physiological proteins [J]. *Antivir Chem Chemother*, 2001, 12(2): 125-131.
- [11] Lin J C. Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein-Barr virus replication in vitro [J]. *Antivir Res*, 2003, 59(1): 41-47.
- [12] Klass C M, Offermann M K. Targeting human herpesvirus-8 for treatment of Kaposi's sarcoma and primary effusion lymphoma [J]. *Curr Opin Oncol*, 2005, 17(5): 447-455.
- [13] Curreli F, Friedman-Kien A E, Flore O. Glycyrrhizic acid alters Kaposi sarcoma-associated herpesvirus latency, triggering p53-mediated apoptosis in transformed B lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 642-652.
- [14] Cohen J I. Licking latency with licorice [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 591-593.
- [15] Sasaki H, Takei M, Kobayashi M, et al. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on HIV replication in cultures of peripheral blood mononuclear cells from HIV-seropositive patients [J]. *Pathobiology*, 2002-2003, 70(4): 229-236.
- [16] Takei M, Kobayashi M, Li X D, et al. Glycyrrhizin inhibits R5 HIV replication in peripheral blood monocytes treated with 1-methyladenosine [J]. *Pathobiology*, 2005, 72(3): 117-123.
- [17] Chen F, Chan K H, Jiang Y, et al. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds [J]. *J Clin Virol*, 2004, 31(1): 69-75.
- [18] Clinat J, Morgenstern B, Bauer G, et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [J]. *Lancet*, 2003, 361(9374): 2045-2046.
- [19] Hoever G, Baltina L, Michaelis M, et al. Antiviral activity of glycyrrhizic acid derivatives against SARS-coronavirus [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(4): 1256-1259.
- [20] Utsunomiya T, Kobayashi M, Pollard R B, et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(3): 551-556.
- [21] Crance J M, Scaramozzino N, Jouan A, et al. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses [J]. *Antivir Res*, 2003, 58(1): 73-79.

药品标准中薄层鉴别方法存在的问题商榷

张 萍, 肖新月, 张南平, 林瑞超

(中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

薄层色谱法系将适宜的固定相涂布于玻璃板、塑料或铝基片上, 成均匀薄层。待点样、展开后, 与适宜的对照物按同法所得的色谱图作对比, 用以进行药品的鉴别、杂质检查

或定量的方法。薄层色谱分离一般是根据几种分离原理, 应用最多的是吸附和分配原理, 也有离子交换和凝胶渗透原理。薄层色谱作为一种常用的分析方法由来已久, 尽管进行