

# 不同来源甘草药材成分含量及其保肝降酶作用比较

陈云华<sup>1\*</sup>, 黄明进<sup>2</sup>, 王文全<sup>3,4\*</sup>, 孙建宁<sup>4</sup>

(1 北京城市学院生物医学部, 北京 100094; 2. 贵州大学农学院, 贵阳 550025;  
3. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;  
4. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:**研究不同来源甘草药材的成分含量及其保肝降酶作用。**方法:**采用 HPLC 同时测定甘草成分含量;用醋酐酚复制肝损伤模型,灌胃不同来源甘草的相同提取物,测定血清丙氨酸转氨酶(ALT)和谷氨酸转氨酶(AST)活力。**结果:**不同来源甘草组的 ALT,AST 活力与模型组比较具有显著性差异( $P < 0.01$ );S1 与 S8 甘草组之间的 ALT,AST 活力没有显著性差异,保护率分别为 97.9% ,95.8% ,98.1% ,94% ,但前者甘草酸、甘草苷、异甘草素的含量却明显高于后者,分别为 2.219% ,2.86% ,0.023% 和 0.767% ,0.557% ,0.013% ;S4 和 S6 甘草的保肝能力最差,保护率分别为 67.4% ,65.6% 和 70.1% ,64.5% ,而甘草酸、甘草苷含量却明显高于其他产地三年栽培甘草。**结论:**不同来源甘草对肝损伤小鼠的肝功能都有不同程度的保护作用,并存在一定的质量差异,但与甘草酸、甘草苷的含量没有呈现正相关性,提示甘草保肝降酶作用可能是甘草药材中多种成分相互作用的结果。

**[关键词]** 甘草; 保肝作用; 质量评价

**[中图分类号]** R282.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0113-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013180113

## Comparative Study on Major Ingredient Contents and Effect of Depressing Transaminase of Licorice from Different Sources

CHEN Yun-hua<sup>1\*</sup>, HUANG Ming-jin<sup>2</sup>, WANG Wen-quan<sup>3,4\*</sup>, SHUN Jian-ning<sup>4</sup>

(1. Biomedical College, Beijing City University, Beijing 100094, China;  
2. Agriculture College of Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;  
4. School of Chinese pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the difference of Licorice from different sources in major ingredient contents and protective effect on liver. **Method:** HPLC was applied to determine the contents of Glycyrrhizin, liquiritin and isoliquiritigenin from Licorice, and mice were chosen to duplicate the acetaminophen-induced toxic hepatitis model. **Result:** Licorice was able to significantly decrease serum transaminase levels of chemical liver injury's mice induced by acetaminophen. Difference of serum transaminase activity between S1 and S8 groups was not significant, but the contents of Glycyrrhizin, liquiritin and isoliquiritigenin from S1 were more higher than them from S8, which were 2.219% , 2.86% , 0.023% and 0.767% , 0.557% , 0.013% respectively. The protective effect on liver of S4 and S6 were relatively weak, but their contents of constituents were still higher. **Conclusion:** The quality of licorice from different sources is different, and the protective effect on liver has no positive relationship with contents of glycyrrhizin, liquiritin and isoliquiritigenin. Those show that it could be

**[收稿日期]** 20130117(008)

**[基金项目]** 北京市财政专项(PXM2012\_014202\_000200)

**[第一作者]** 陈云华, 博士, 副教授, Tel:010-62442816-8070, E-mail:chenyunhua2020@aliyun.com

**[通讯作者]** \* 王文全, 博士, 教授, Tel:010-84738623, E-mail:wwq57@126.com

related to interreaction of various chemical constituents of Licorice.

[Key words] Licorice; protective effect on liver; quality evaluation

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为豆科甘草属多年生草本植物, 又名乌拉尔甘草、甜草、甜根子等, 以干燥根及根茎入药, 药材名为甘草 (Licorice), 其味甘、性平, 归心、肺、脾、胃经, 具有健脾益气、缓急止痛、调和药性等功效<sup>[1]</sup>。甘草的主要活性成分是甘草酸、甘草苷等三萜皂苷、黄酮类化合物, 在抗炎、抗氧化、抗癌、抗抑郁、保肝等方面都有较强的药理活性<sup>[2]</sup>。

甘草主要分布在 N34 ~ N48 °, E75 ~ E126 ° 的三北地区, 南北延绵 14 个纬度, 东西横跨 51 个经度, 横贯黑龙江、吉林、辽宁、河北、山西、内蒙古、甘肃、青海、宁夏、陕西、新疆 11 个省市自治区, 其分布范围广, 生长环境复杂, 导致不同来源的甘草药材质量往往存在较大的差异, 这严重影响了甘草的组方和临床应用, 因此合理的甘草药材质量评价与控制方法是保证药材安全、有效的重要途径。

目前, 甘草药材质量控制基本以化学定性鉴别与指标成分定量检测为主要内容, 然而以测定少数几个成分难以代表其有效性, 为此本文以甘草的保肝降酶作用为指标比较了 8 个不同来源甘草药材的质量, 同时比较分析了甘草药材中甘草酸、甘草苷、异甘草素含量与保肝降酶作用的相关性。

## 1 材料

**1.1 药材采集与试药的制备** 采集内蒙杭锦旗野生 (S1)、内蒙杭锦旗三年栽培 (S2)、甘肃金塔野生 (S3)、甘肃金塔三年栽培 (S4)、甘肃总寨三年栽培 (S5)、甘肃高台三年栽培 (S6)、新疆和硕三年栽培 (S7)、新疆新源野生 (S8) 等 8 种不同来源甘草药材, 经北京中医药大学王文全教授鉴定为甘草。

将不同的甘草各称取最粗粉 20 g, 加 10 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 40 min, 2 次滤液合并后浓缩药液至含生药质量浓度 0.2 g·mL<sup>-1</sup>, 冷却后低温保存备用。剂量设置: 小鼠每天灌服 4.5 g·kg 鼠重 (相当于人用量 0.5 g·kg<sup>-1</sup> 的 9 倍)。

阳性对照药为双环醇片 (北京协和药厂生产, 批号 070105), 取每片含 25 mg 的双环醇 16 片以 80 mL 0.5% CMC 超声混悬, 配制成 5 g·L<sup>-1</sup> 的混悬液, 低温保存备用。

**1.2 仪器与试剂** Agilent1100 型高效液相色谱仪 (配有 G1314A 紫外检测器、G1311A 四元梯度泵、G1322A 在线脱气装置、G1316A 柱温箱), Agilent

1100 化学工作站, Sartorius BS110S 1/万、BP211D 1/10 万电子分析天平, KL3120D 型超声清洗机 (上海荆和分析仪器有限公司), 低温高速离心机 (德国 Heraeus 公司), 紫外-可见分光光度计 (北京普析分析仪器有限公司), KQ-500B 型超声波清洗器 (昆山市超声波仪器厂), HH. S1-Ni 型电热恒温水浴锅 (北京长安科学仪器厂) 等。

甘草酸、甘草苷和异甘草素对照品, 上海康九化工公司提供 (含量测定用); 乙腈 (Fisher 公司)、磷酸 (色谱纯); 纯净水 (色谱级); 甲醇 (分析纯); 醋酐 (分析纯); 丙氨酸转氨酶 (ALT), 谷氨酸转氨酶 (AST) 试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所。

**1.3 动物** 健康雄性小鼠 (ICR 系), 北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号 SCXK (京)2007-0001。

## 2 方法

**2.1 甘草成分含量测定** 参照文献 [3] 的方法, 取 1.1 项下的甘草提取物 0.25 g, 精密称定, 置 50 mL 的量瓶中, 加甲醇 45 mL, 超声处理, 取出, 放冷, 加甲醇稀释到刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 针孔滤膜过滤, 在表 1 色谱条件下进样 20 μL, 记录色谱图, 计算甘草苷、甘草酸 (按 0.2 mg 甘草酸单铵盐折合 0.195 9 mg 甘草酸计)、异甘草素含量, 并折算成药材的百分含量。

表 1 流动相梯度条件及检测波长

t/min	B 乙腈/%	流速/mL·min <sup>-1</sup>	检测波长/nm
0.0	15.0	0.5	276
10.0	25.0	0.8	
19.0			360
20.0	32.0		
24.0			248
33.0			370
70.0	80.0		
75.0	15.0		

## 2.2 甘草的保肝降酶作用

**2.2.1 分组** 110 只健康雄性小鼠 (ICR 系), 体重 20 ~ 22 g, 自由饮食, 适应 3 后, 随机分为 11 组, 即正常对照组 A、模型对照组 B、阳性药对照组 C、S1 ~ S8 各甘草药材提取物试药组, 每组 10 只。

**2.2.2 造模与给药** 本实验采用灌胃给药,试药组按照内蒙古杭锦旗野生甘草(S1)的甘草酸含量计算,根据文献[4]以甘草酸  $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的剂量给药,即相当于  $45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的生药量,  $11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的提取物量。阳性药对照组灌胃双环醇  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,各试药组每次灌胃甘草提取物药液  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ,正常对照组、模型对照组灌胃相同体积的蒸馏水,每天2次,连续5 d,第5天下午灌胃1 h后,正常组腹腔一次性注射生理盐水  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ,其余各组一次性腹腔注射醋氨酚  $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,16 h后摘眼球取血,取血前禁食12 h。

**2.2.3 血样检测** 血样静置2 h后以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心15 min,取血清,测ALT,AST活力,测定方法按试剂盒说明书进行操作,并计算保护率。

$$\text{保护率} = (A_{\text{模型组}} - A_{\text{药物组}}) / (A_{\text{模型组}} - A_{\text{正常组}}) \times 100\%$$

### 3 结果

**3.1 不同来源甘草药材样品的成分含量** 含量测定结果表明:8种不同来源甘草药材样品中,内蒙杭锦旗野生、甘肃金塔野生、甘肃金塔三年栽培、甘肃总寨三年栽培、甘草新疆新源野生的甘草酸、甘草苷含量分别在2%,0.5%以上,达到《中国药典》2010年版标准,而内蒙杭锦旗三年栽培、甘肃高台三年栽培、新疆和硕三年样品未达到《中国药典》2010年版标准。整体而言,栽培其中野生甘草较栽培甘草的成分含量要高,见表2。

表2 不同来源甘草药材甘草酸、甘草苷和异甘草素含量

No.	采集地经纬度	甘草苷 /%	甘草酸 /%	异甘草素 /%
S1	108°7',39°83'	2.86	2.219	0.023
S2	108°7',39°83'	0.833	0.972	0.012
S3	98°92',39°97'	0.756	1.398	0.010
S4	98°92',39°97'	1.664	1.442	0.023
S5	97°05',39°08'	2.663	2.19	0.012
S6	100°4',38°09'	0.955	0.767	0.026
S7	86°85',42°23'	0.557	0.746	0.013
S8	83°27',43°47'	0.597	2.214	0.010

**3.2 不同来源甘草药材样品的保肝降酶作用** 结果表明:不同来源甘草组的ALT,AST活力与模型组比较具有显著性差异( $P < 0.01$ ),提示不同来源甘草对肝损伤小鼠的肝功能都有不同程度的保护作用;杭锦旗野生甘草样品和双环醇降低ALT,AST的趋势基本一致,两者没有显著性差异,表明甘草具有较强的保肝降酶作用;杭锦旗野生甘草样品组与高

台三年栽培甘草样品组之间的ALT,AST活力没有显著性差异,但前者甘草酸、甘草苷、异甘草素的含量却明显高于后者(表2);杭锦旗、总寨三年栽培甘草样品保肝能力最差,与杭锦旗野生甘草样品比较 $P < 0.01$ ,而总寨三年栽培甘草的甘草酸、甘草苷含量却明显高于其他产地三年栽培甘草样品(表3)。

表3 不同来源甘草对小鼠醋氨酚肝损伤的防治作用( $n = 10$ )

组别	ALT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	保护率/%	AST/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	保护率/%
A	$26.1 \pm 6.4^{3)}$	-	$47.8 \pm 7.9^{2)}$	-
B	$462.8 \pm 95.2$	-	$433.1 \pm 57.1$	-
S1	$35.4 \pm 12.8^{3)}$	97.9	$64.1 \pm 7.6^{2)}$	95.8
S2	$53.2 \pm 10.0^{3)}$	93.8	$74.5 \pm 15.3^{2)}$	93.1
S3	$70.8 \pm 13.6^{3)}$	89.8	$93.2 \pm 20.3^{2)}$	88.2
S4	$168.4 \pm 25.6^{2,4)}$	67.4	$180.4 \pm 38.8^{1,5)}$	65.6
S5	$37.3 \pm 11.0^{3)}$	97.4	$72.0 \pm 17.5^{2)}$	93.7
S6	$156.7 \pm 21.6^{2,4)}$	70.1	$184.7 \pm 25.1^{1,5)}$	64.5
S7	$99.6 \pm 16.7^{3)}$	83.2	$103.9 \pm 16.7^{2)}$	85.4
S8	$34.6 \pm 9.9^{3)}$	98.1	$70.9 \pm 16.6^{2)}$	94.0
C	$28.1 \pm 9.0^{3)}$	99.6	$74.8 \pm 31.5^{2)}$	93.0

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.001$ ;与杭锦旗野生甘草组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>5)</sup> $P < 0.01$ 。

### 4 讨论

中药材质量评价与控制的最终目的是保证其安全有效<sup>[5]</sup>。笔者选取保肝降酶作用作为评价8种不同来源甘草质量的指标,因甘草的保肝降酶作用已经很明确,已有大量文献研究报道<sup>[2,4,6]</sup>,选择ALT,AST活力作为评价保肝作用的定量指标,其客观性强,灵敏度高,具有一定的重复性,其临床意义较大。

甘草中活性成分的保肝作用较多,以甘草酸的保肝作用研究最典型<sup>[7-9]</sup>,以其为主要成分的药品如注射剂甘利欣、甘草酸二铵在临床上已用于治疗肝炎或保肝<sup>[10]</sup>;近来发现异甘草素对CYP2E1介导的醋氨酚肝细胞损伤具有保护作用,可能与通过NO-cGMP通路,抑制NF- $\kappa$ B激活和下调CYP2E1表达有关<sup>[11]</sup>。但是通过对8种不同来源甘草的体内保肝降酶作用研究发现在保护肝损伤小鼠肝功能的药效作用上,甘草酸、甘草苷含量高的甘草药材样品并不比其含量相对要低的强,甚至还表现出要弱的趋势,如杭锦旗野生甘草样品的甘草酸、甘草苷含量明显比高台三年栽培甘草样品的相应成分高,但两药材组之间降肝损伤小鼠的ALT,AST活力没有显著性差异;如总寨三年栽培甘草的甘草酸、甘草苷含

量却明显高于其他产地三年栽培甘草样品,但其保肝作用比其他产地三年栽培甘草样品要弱( $P < 0.01$ )。研究表明甘草中单一或几个化学成分的含量高低不是影响甘草保肝药效的主要因素,其保肝作用可能是多种化学成分(尤其是各成分的比例关系)共同作用的结果。前期研究表明,甘草酸、甘草苷、异甘草素对醋氨酚人肝细胞损伤具有保护作用且呈一定的量效关系<sup>[12-13]</sup>,推测还可能存在一些含量较低的成分对甘草的保肝功效发挥了一定的作用。

《中国药典》2010 年版规定甘草药材中甘草酸的含量不得少于 2.0%,甘草苷不得少于 0.5%,笔者采集到的 8 种甘草样品中内蒙杭锦旗野生、甘肃金塔野生、甘肃金塔三年栽培、甘肃总寨三年栽培、甘草新疆新源野生的甘草酸、甘草苷含量分别在 2%,0.5% 以上,达到《中国药典》2010 年版标准,而内蒙杭锦旗三年栽培、甘肃高台三年栽培、新疆和硕三年样品未达到《中国药典》2010 年版标准。但是各种甘草样品的保肝降酶作用与其含量高低没有呈现正相关性,提示“唯成分论”的质量评价模式的局限性。因此,今后应开展中药材新的质量评价模式研究,尤其是以药效作为基础的直接的评价方法(即中药材的生物评价)应加以重视和深入,从多角度综合评价药材质量,从而保证中药材的安全有效、可控稳定,促进中药材生产的标准化、现代化。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:80.  
[2] Marjan N A, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds

[J]. *Phytother Res*, 2008, 22:709.  
[3] 陈云华,赵晓霞,王文全,等. 高效液相色谱法同时测定甘草中甘草酸、甘草苷、异甘草素的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(8):52.  
[4] 新纳靖规(日本). 甘草发酵提取物的药理作用(3):对肝脏的保护作用[J]. 国外医学:中医中药分册,1998,20(6):43.  
[5] 肖小河,金城,赵中振,等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展[J]. 中国中药杂志,2007,36(14):1377  
[6] Guo J S, Wang J Y, Koo W L. Anti-oxidative effect of glycyrrhizin on acute and chronic CCl4-induced liver injuries [J]. *J Gastroen Hepatol*, 2006, 21 (Suppl 2):154.  
[7] 张明发,沈雅琴. 甘草酸防治肝损伤药理作用的研究进展[J]. 抗感染药学,2010,7(4):232.  
[8] 刘丽萍,任翠爱,赵宏艳. 甘草酸的免疫调节作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):272.  
[9] 韩博,赵海娇,阿吉艾克拜尔·艾萨,等. 利用酸水解法提高甘草粉末中甘草素的提取效率[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):75.  
[10] 张伟明,李健和,黎银波,等. 甘草酸二铵注射液的研制[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):35.  
[11] 章道华,叶岚岚,程昊,等. 异甘草素对醋氨酚诱导的急性肝细胞损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2008,13(2):293.  
[12] 陈云华,万新,孙建宁,等. 甘草酸、甘草苷、异甘草素对醋氨酚人肝细胞损伤模型的保护作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):245.  
[13] 杨晓露,刘朵,卞卡,等. 甘草总黄酮及其成分体外抗炎活性及机制研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(1):99.

[责任编辑 邹晓翠]