

18 α -甘草酸和 18 β -甘草酸差向异构体的比较研究概况

丁楠, 高晓黎* (新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054)

摘要: 甘草酸是甘草中含量最高且具有广泛生物活性的有效成分, 虽然 18 α -甘草酸与 18 β -甘草酸分子式相同仅存在 18 位 H 的构相差异, 其性质却不同。本文对两者物理化学性质、药理作用及毒性、不良反应等的比较研究现状做一综述。

关键词: 18 α -甘草酸; 18 β -甘草酸; 差向异构体

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)13-1312-04

甘草酸^[1](glycyrrhizic acid, GL), 即天然甘草酸多为顺式甘草酸, 其化学名为 18 β -GL, 甘草中也存在微量的反式甘草酸(18 α -甘草酸, 18 α -GL)。虽然 18 α -GL 与 18 β -GL 分子式相同仅存在 18 位 H 的构相差异, 其性质却不同。目前在临床广泛应用的含甘草酸的制剂产品中, 分别有含 18 α -GL 或 18 β -GL 为主的不同品种, 因此, 这两种差向异构体的性质差异引起人们关注, 多有研究报道。本文对两者物理化学性质、药理作用及不良反应等的比较研究现状做一综述。

1 物理化学性质的比较^[2]

甘草酸是一种五环三萜皂苷, 分子式 $C_{42}H_{62}O_{16}$, 相对分子质量为 822.92, 白色结晶性粉末, 无臭, 有特殊甜味, 熔点 220 $^{\circ}\text{C}$, 难溶于冷水和稀乙醇液, 易溶于热水, 水溶液呈弱酸性, 冷却后呈黏稠状胶冻, α 体与 β 体经 UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS 光谱分析证实两者有共同结构, 差别仅在 C18 位上 H 构型不同, 分别为反式和顺式。经测定比旋光度, α 体明显低于 β 体。应用圆二色仪测定结果, α 体及其苷元均为正 Cotton 效应, β 体及其苷元为负 Cotton 效应, 提示两者 E 环构象不同而造成 Cotton 效应符号发生逆转。两差向异构体在水溶液中凝胶反应也明显不同, 鉴于两者为三萜皂苷, 经消泡速率测定结果, 0.5%水溶液震荡起泡, 静置 90 min 后, α 体的消泡率为 90.6%, β 体为 28.7%, 提示 18 位 H 的化学环境不同, 使皂苷性质也有所改变。应用 UV 法, 以微量碘代替染料, 于波长 395 nm 处测定 α , β 体在 0.1~15 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 各溶液的吸光度, 用外推法求临界胶束

浓度(CMC), α 体在水溶液中的 CMC 比 β 体高 10 倍以上。

2 甘草酸制剂的临床应用比较

甘草酸制剂从最初的甘草混合提取物, 到第 1 代甘草酸制剂美能以及第 2 代制剂强力宁都是以 β 体甘草酸单铵盐为主要成分。1994 年研制出了第 3 代甘草酸制剂, 其代表药物为甘利欣, 是 α 体和 β 体的混合制剂。该药物具有抗炎、降酶、退黄、保护肝细胞膜及改善肝功能的作用, 已广泛用于各型肝炎的治疗^[3-4]。近来甘草酸又有了第 4 代制剂异甘草酸镁, 为单一的 18- α 异构体甘草酸。

曹阳等^[5]研究结果显示: β 体甘草酸(美能)治疗慢性乙型肝炎, 治疗后总胆红素、ALT, AST, HA, LN, IVC 的指标均较治疗前明显改善, 在各项指标好转的同时, 病人症状也得到了明显缓解, 与 α 体甘草酸(甘利欣)比较, 各项指标改善度均有极显著性差异。在肾综合征出血热(HFRS)早期治疗中, 甘草酸 β 体制剂临床疗效显著优于甘草酸 α 体制剂, 孙立华等^[6]认为甘草酸 β 体制剂优于甘草酸 α 体制剂的重要原因之一是甘草酸 β 体对补体活化的经典途径存在剂量依赖性的抑制作用。田静等^[7]研究结果显示: 18 α -GL, 18 β -GL 同 IFN2 γ 一样具有较好的抗肝纤维化作用, 并且 18 α -GL 明显优于 18 β -GL。异甘草酸镁作为最新一代的甘草酸制剂, 与以往的甘草酸制剂比较, 具有以下特点: ①异甘草酸镁是甘草酸的单一反式旋光异构体, 是甘草酸的优势构型, 药理学药动学优势突出; ②具有很强的抗炎、保护肝细胞膜、抗生物氧化等多种作用的多功能肝细胞保护剂; ③起效速度

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项(200733146-4)

作者简介: 丁楠, 女, 硕士生 E-mail: 308887200@99.com
E-mail: xli_g@sina.com

*通信作者: 高晓黎, 女, 博士, 教授, 博导 Tel: (0991)4320554, (0991)4362442

快,在降酶程度和降酶速度方面有明显的优势;
④安全性高,未发现水钠潴留和血压升高的现象;
⑤药物清除半衰期可长达24 h,真正1次·d⁻¹给药;
⑥应用范围广,适用于各种肝病的治疗。

3 药动学比较

18 β -GL系极性大分子化合物,口服后18 β -GL本身在小肠不易吸收,吸收率<2%,故短时间内在血液难以测得。如将18 β -GL制成W/O/W型复乳后进行6 h灌流,吸收率可达66%^[8]。18 α -GL的口服吸收虽然较18 β -GL好些,但也不理想。18 β -GL的血浆白蛋白结合率很高,在血液中绝大部分以结合状态存在,游离药物浓度很低。18 α -GL的人血浆蛋白结合率为92.5%,其结合率不受药物浓度的影响,但因血浆蛋白浓度变化而改变^[9]。给小鼠静脉注射同样剂量(53 mg·kg⁻¹)的顺式或反式甘草酸,注射后18 β -GL和18 α -GL分布均迅速,除血液外肝中含量最高,肺、肾、脂肪、心、卵巢、肠、脾、睾丸、肌肉中药物含量依次减小,脑中最低。血中所见的肠肝循环的第二峰现象出现在30 min时。18 α -GL静脉注射后早期(0.5 h)肝药物含量显著高于18 β -GL。与18 α -GL比较,18 β -GL在体内组织分布较多,代谢较慢。人静脉注射18 β -GL,发现注射量的80%是以18 β -GL的形式出现于胆汁,4.5%出现于尿中。可见尿排泄是18 β -GL的次要消除途径。给大鼠口服给予18 α -GL,约70%通过胆汁从粪便排出,20%从呼吸道以CO₂形式排出,尿中原形排出约为2%。

4 检测分析方法

甘草酸在一定条件下,能不等量地同时生成2个18位H构型不同且性质不同的差向异构体18 α -GL与18 β -GL,因此对二者进行有效分离可以为临床应用提供重要的参考价值。吕坚等^[2]将 α 体和 β 体衍生化气相层析,用样品的峰面积与内标物熊去氧胆酸的峰面积比,在1.0~50.0 ng内与样品浓度呈直线相关关系, α 体和 β 体的相关系数分别为 $r=0.999\ 4$ 和 $r=0.998\ 9$ 。实验结果表明,应用气相色谱法^[10]能有效地分离甘草酸差向异构体,具有方法简便,特异性强及灵敏度高的优点。王佩等^[11]建立的反相高效液相色谱法使得18 α -GL和18 β -GL达到基线分离,两者的进样量在1.0~2.0 μ g内与峰面积线性关系, $r=0.999\ 8$ ($n=6$),平均回收率分别为99.58%和99.94%,RSD分别为0.54%和0.28% ($n=9$)。此方法简便,快速,而且更加准确。

5 质量控制方法

李文等^[12]利用二维核磁共振技术首次对甘草酸二铵18位两种差向异构体的结构进行了研究,发现以18位为中心的 α 、 β 、 γ 位的碳信号化学位移皆发生了较大的变化,可作为区分18位两种差向异构体的一个指标。另外测定H-18与H-28及H-27在NOESY谱中有无相关峰,也可用于区分两种差向异构体。在此次研究中,无论是18 α 甘草酸二铵还是18 β 甘草酸二铵,两糖苷键的构型均为 β 。而国家药品标准中的甘草酸二铵^[13]以及Merck索引^[14]等多种工具书中的甘草酸给出的仍是苷元与糖之间的苷键为 β 构型,两糖之间的苷键为 α 构型。事实上早在1994年Zapesochay等^[15]已对甘草酸葡萄糖醛酸的构型进行了纠正,即两糖之间的苷键为 β 构型。上述研究结果对药品申报过程中甘草酸二铵的结构确证和质量控制具有重要的参考价值。我国国家标准^[16]中规定甘草酸单铵盐的含量不得少于67.0%,但无有关物质检查项。鉴于甘草酸单铵盐存在两种同分异构体,但构型变化呈动态,不能有效对其构型纯度定量。 β 型是天然提取物中的主要形式,应用历史长,更广泛,欧洲药典作为有关物质规定在甘草酸单铵中其不多于10%, α 型原料药经过化学处理得到,不一定很纯。

6 不良反应

吴锡铭等^[2]选取了小鼠280只,♀♂皆用,用于急性毒性试验,体重为(20.3 $\pm$ 0.6)g,随机分组($n=10$),分别灌胃、静脉注射1次,观察7 d后,按简化机率单位计算,结果显示 α 体静脉注射LD₅₀为912.01 mg·kg⁻¹(95%可信限为770.90~1 078.95 mg·kg⁻¹),灌胃LD₅₀为6.46 g·kg⁻¹(95%可信限为4.42~9.44 g·kg⁻¹); β 体静脉注射LD₅₀为588.84 mg·kg⁻¹(95%可信限为518.80~668.34 mg·kg⁻¹),灌胃LD₅₀为4.32 g·kg⁻¹(95%可信限为3.37~5.53 g·kg⁻¹),动物死亡前呼吸急促,窒息。

楚瑞琦等^[17]将甘草酸的不良反应分为肾上腺皮质激素样不良反应(水钠潴留、血钾降低、高血压、假性醛固酮增多症)和过敏反应(皮肤过敏反应、全身性过敏反应、休克、死亡)、少见不良反应(腹泻、泌乳、尿崩症、血糖升高、精神症状、支气管哮喘)3大类并进行统计分析,研究发现肾上腺皮质激素样不良反应是此类药物不良反应的主体,强力宁又是发生此类不良反应最多的药物。有关甘利欣的不良反应报告主要集中在2个方面,

一类是引起内分泌的改变,如引起肾上腺皮质激素样不良反应的血钾降低和血压升高,同时还可能引起血糖升高。甘利欣作为 α 型甘草酸铵制剂充分体现出 α -GL水钠潴留和假性醛固酮增多症发生率的优势,但其作为一种单一成分制剂,还是表现出甘草酸对机体内分泌的影响,如血钾降低、血压和血糖升高,抑制此类不良反应的发生,将能更有效地发挥其优势。另一类不良反应是过敏反应,甘利欣占62.5%,尤其是在报告的11例甘利欣致全身性过敏反应中9例是不同程度的发热,应该引起广泛的重视。复方甘草甜素从目前的不良反应报告分析,发生率较低,其不良反应报告较少一方面与其使用相对局限有关;另一方面可能也与其独特的配方和优良的生产工艺有关。 β -GL在理论上可能引起水钠潴留、假性醛固酮增多症等肾上腺皮质激素样不良反应,但其配方中的甘氨酸可以抑制假性醛固酮增多症的发生,在实际中,国内还未见其此类不良反应的报告。从目前的结果分析,复方甘草甜素不良反应发生是最少的,对其是否可能存在的严重不良反应,有待进一步的观察。

7 甘草酸类药物伪醛固酮样不良反应的机制

皮质醇和盐皮质激素受体(MR)结合后表现出醛固酮样作用,即钠水潴留和排钾。皮质醇经生物转化生成非活性物可的松,在肾脏内催化这个生物转化的酶就是 11β -OHSD₂。如果 11β -OHSD₂的活性被抑制,可导致肾组织内皮质醇浓度上升,可的松浓度下降。表现为体内醛固酮样作用加强,血压升高和血钾降低。俞进等^[18]研究证明 18α -GL能够抑制豚鼠肾脏 11β -OHSD₂活性,导致豚鼠血清浓度降低。甘草酸从结构上看属于三帖皂苷,其立体构型和皮质醇相似,因此可以与皮质醇竞争结合 11β -OHSD₂,这种竞争结合的方式是可逆的,即增加底物皮质醇的浓度,甘草酸对 11β -OHSD₂的抑制作用将减弱。 18α -GL抑制 11β -OHSD₂的强度明显低于 18β -GL,构象分析表明, 18β -GL的D/E-环为顺式构型,是抑制肾 11β -OHSD₂所必须的;而 18α -GL的D/E-环为反式构型,和泼尼松龙相似,是抗炎所必须的,它对 11β -OHSD₂的作用很弱^[19]。这些与临床应用 α 制剂出现PA症一类不良反应率低于 β 制剂的情况相符合。

8 应用甘草酸类药物注意的问题及前景

由于甘草酸具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤等多

种功效,故在临床得到广泛应用。随着人们对甘草酸药理作用研究的深入,新的甘草酸制剂不断出现,更要求临床医师了解其不良反应。因此,在应用甘草酸制剂时应注意以下几点:①严格掌握适应证,不可滥用;②严格掌握剂量,依病情的变化及个体差异而定,禁止超剂量应用;③有过敏史者在应用时,应严密观察。越来越多的研究证实^[20-21],作用机制研究的深入对减少临床不良反应的发生,合理的联合用药,指导临床个体化给药方案以及新药的研发都具有很强的理论指导意义,这些都对疾病的治疗有很大的推动作用。随着目前国内外对甘草酸及其制剂作用机制研究的进一步深入,甘草酸类药物的临床应用前景将更加广阔。

9 结论

由于18位差向异构引起了体内药动学行为的差异,导致药效和不良反应不同。鉴于甘草酸制剂在临床应用非常广泛,有必要深入研究评价两种构型的药理活性、作用特点和安全性、构型变化的影响因素,是否与甘草产地,生产工艺有关等问题尚需要进一步研究。

参考文献

- [1] 胡志厚.甘草酸类药物的研制及应用[J].药学报,1998,23(7):553-554.
- [2] 吴锡铭,吕坚,茹仁萍.甘草酸18H差向异构体的比较研究[J].中国药理学杂志,1993,28(4):215-218.
- [3] IINO S. Therapeutic effects of stronger neo-minophagen C at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis [J]. Hepatol Res, 2001, 19(1): 31-40.
- [4] 马丽.复方甘草苷的临床应用[J].基层医学论坛,2007,11(4):362-363.
- [5] 曹阳,唐小平,宋方闻. β 体甘草酸与 α 体甘草酸治疗慢性乙型肝炎临床疗效比较[J].中国现代医学杂志,2002,12(7):91-92.
- [6] 孙屹峰,孙立华,高海丽.甘草酸两种异构体治疗肾综合征出血热的疗效观察[J].中国药房,2003,14(11):677-678.
- [7] 田静,吕坚. 18α -甘草酸和 18β -甘草酸抗大鼠肝纤维化作用比较研究[J].中国现代应用药学,2006,23(2):102-104.
- [8] 高晓黎,孙殿甲,邱洪卓.W/O/W型甘草酸单铵盐口服复乳的大鼠小肠吸收研究[J].中成药,1995,17(10):1-3.
- [9] 吴锡铭.甘利欣-一种新型抗肝炎剂的研究[J].中国现代应用药学,1995,12(4):52-53.
- [10] AMAGAYA S, SUGISHITA E, OGIHARA Y, et al. Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on antiinflammatory activities [J]. J Pharmacobiodyn, 1984, 7(12): 923-928.
- [11] 王佩,刘晓昱,吴锡铭.反相高效液相色谱法测定甘草酸18H-差向异构体含量[J].中国药业,2008,17(19):17-18.
- [12] 李文,沙沂,陈丽霞,等.甘草酸二铵18位差向异构体的

- 核磁共振研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(4): 273-278.
- [13] WS1-(X-460)-2003Z,国家食品药品监督管理局国家药品标准[S]. 2003: X47-84.
- [14] O'NEIL M J, SMITH A, HECKELMAN P E, et al. The Merck Index [Z]. 13th ed. USA: Merck Research Laboratories Division of MERCK&CO., INC. Whitehouse Station, NJ, 2001: 802.
- [15] IAPESOCHNAYA G G, ZVONKOVA E N, KARKIN V A, et al. Some properties of glycyrrhizic acid [J]. Chem Nat Compd, 1994, 30(6): 720-726.
- [16] WS-10001-(HD-1147)-2002. 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S]. 2002: D12-148.
- [17] 楚瑞琦, 王咏梅. 三种甘草酸类注射液不良反应分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2006, 20(1): 33-34.
- [18] 俞进, 楼宜嘉. α -甘草酸对肾 11β -羟基类固醇脱氢酶的抑制作用[J]. 浙江医学, 2005, 27(4): 263-265.
- [19] AKAO T, TERASAWA T, HIAI S, et al. Inhibition effects of glycyrrhetic acid and its related compounds on 3α -hydroxysteroid dehydrogenase of rat liver cytosol [J]. Chem Pharm Bull, 1992, 40(5): 1208-1210.
- [20] 颜芮, 李兰芳, 李焕德. 甘草酸、甘草次酸 18 位差向异构体比较研究的进展[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(5): 562-566.
- [21] 李斌霞, 佟杰. 甘草酸药理作用及机制的研究进展[J]. 数理医药学杂志, 2007, 20(2): 228-230.

收稿日期: 2010-12-31