

## 异甘草素的制备方法和药理作用研究进展

木合布力·阿布力孜<sup>1</sup>,艾尼瓦尔·买买提<sup>2</sup>,热娜·卡斯木<sup>1</sup> (1. 新疆医科大学药学院药物化学有机教研室, 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆医科大学附属肿瘤医院药剂科, 乌鲁木齐 830054)

**摘要:**异甘草素是甘草中的黄酮类成分,属于羟基查耳酮类化合物。目前异甘草素主要从甘草中提取分离及人工合成方法制备。它具有较强的生物活性,如抗癌、抗艾滋病、抗糖尿病并发症等,因而成为富有研究开发潜力的化合物。笔者结合自己的部分研究结果,对异甘草素的制备方法和药理作用研究进展作简要介绍,并对异甘草素的研究开发前景进行探讨。

**关键词:**异甘草素;提取分离;人工合成;药理作用

中图分类号:R284;R285 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2009)04-0277-04

### Advance in Study on the Preparation Techniques and Pharmacological Actions of Isoliquiritigenin

Mourboul ABLISE, Anwar MAMET, Rena KASIM (1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; 2. Affiliated Hospital of Oncology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

**ABSTRACT:** Isoliquiritigenin (ILG) is a flavonoid compound from licorice root. It depends to the chalcon family. ILG can be obtained by the sources of natural extraction and chemical synthesis. This molecule has relatively strong and widespread pharmacological actions such as anticarcinogenesis, anti-AIDS, anti-diabetes mellitus complication and other effects. This paper has mainly described, on the bases of authors' some research results, the progress on the preparation technologies and the pharmacological actions of ILG. Furthermore, the perspective of research and development of ILG were discussed.

**KEY WORDS:** Isoliquiritigenin (ILG); preparation techniques; chemical synthesis; pharmacological actions

甘草为多年生草本植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) 的根及根茎,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功效<sup>[1]</sup>。甘草有主要成分包括三萜类、黄酮类和多糖类等<sup>[2]</sup>。异甘草素 (isoliquiritigenin, ILG) 是甘草中提取的一种黄酮类物质,其分子结构属于羟基查耳酮类化合物。它在甘草中的含量非常微量,平均占万分之七左右<sup>[3]</sup>,但它的生物活性较强,具有抗肿瘤、抗艾滋病、抗糖尿病并发症等活性,由此成为药学界的研究热点之一。笔者介绍 ILG 的制备方法和药理作用研究进展。

### 1 异甘草素的制备方法

#### 1.1 异甘草素的提取工艺

ILG 在甘草中含量约占 0.02% ~ 0.13%, 由于含量很低而限制了它的广泛药用开发研究。牛林等<sup>[3]</sup>以 10 kg 乌拉尔甘草为原料,用 95% 乙醇热提取、浓缩蒸干、热水提取、石油醚和乙酸乙酯萃取、浓缩蒸干、硅胶 H 柱层析分离等一系列操作方法,最终得到

ILG 8.9 g, 由此计算 ILG 含量为 0.089%。何三民等<sup>[4]</sup>用 HPLC 法对三种不同品种的甘草所含 ILG 的含量进行测定,发现 ILG 在乌拉尔甘草、胀果甘草和光果甘草中的含量分别为 0.125%, 0.021% 和 0.026%, 即 ILG 在乌拉尔甘草中的含量相对较高。

何玉杰等<sup>[5]</sup>研究大孔吸附树脂分离纯化 ILG 的工艺条件及有关参数。通过比较不同树脂对 ILG 的吸附和解吸附能力,筛选出最佳树脂为 AB-8, 并研究了其对 ILG 的吸附和解吸附性能,确定了最佳的吸附与解吸附工艺参数,吸附: pH = 5, 室温, 流速 1.5 BV · h<sup>-1</sup> (BV 为柱体积), 溶液处理量为 5 BV; 脱附: 洗脱剂为 70% 的乙醇溶液, 流速 1 BV · h<sup>-1</sup>, 洗脱剂用量 4.5 BV。ILG 样品溶液经 AB-8 树脂吸附与脱附后回收率为 76.7%, 纯度由 2.02% 提高到 29.1%, 提高了 14.4 倍。实验结果表明, AB-8 树脂对 ILG 的吸附量较大, 脱附容易, 可以应用于 ILG 的分离纯化。

甘草根中的 ILG 除了游离状态外, 尚以糖苷状

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(200821131)及新疆医科大学科研创新基金(2006-21)资助项目

作者简介: 木合布力·阿布力孜, 男, 博士, 教授 Tel: (0991) 8308548 E-mail: mourboul@hotmail.com

态存在,即异甘草苷(Isoliquiritin),是制备 ILG 的另一来源。Fu 等<sup>[6]</sup>以甘草粉末为原料,研究了酸水解法提取 ILG 的工艺,其原理是将异甘草苷经水解转化为 ILG,增加 ILG 的含量,再分离制备。该实验中,先将甘草粉末用浓盐酸加温水解 2 h 后,经碱中和及有机溶剂提取并分离纯化得到 ILG 纯品,通过此法制备 ILG 可明显提高其提取率。

国内内蒙古神农甘草开发有限公司采用专利技术——逆流萃取技术,再经过柱色谱分离得到了 ILG,纯度可达 98%。

## 1.2 异甘草素的人工合成

因为 ILG 是含双环的羟基查耳酮类化合物(图 1),分子结构较简单,便于进行人工合成制备。关于 ILG 的全合成研究,国内外已有文献报道。Hulle 等于 1971 年首次报道关于 ILG 的人工合成研究之后,国外一些研究一直运用他们的合成方法<sup>[7-9]</sup>。但在文献中,对具体的合成路线和操作方法缺乏详细描述。

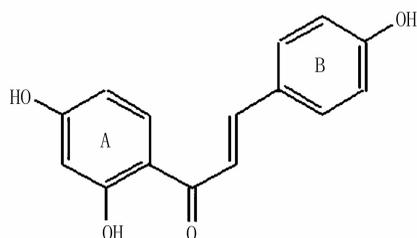


图 1 异甘草素的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of ILG

国内已有关于 ILG 合成方法的发明专利,即以 2,4-二羟基苯乙酮和对羟基苯甲醛为原料,以有机溶剂为反应介质,以路易士碱为催化剂,在氮气保护和加抗氧剂体系中,经缩合反应合成 ILG 粗品,再经过脱色和重结晶处理,制得其精品。

本课题组在国内外文献的基础上,通过两步反应获得 ILG,即第一步,以间苯二酚为原料,通过傅克反应得到 2,4-二羟基苯乙酮;第二步,以 2,4-二羟基苯乙酮和对羟基苯甲醛为原料,以有机溶剂为反应介质,以路易士酸为催化剂,经缩合反应合成 ILG 粗品,再经有机溶剂重结晶法制备纯品(如图 2)。

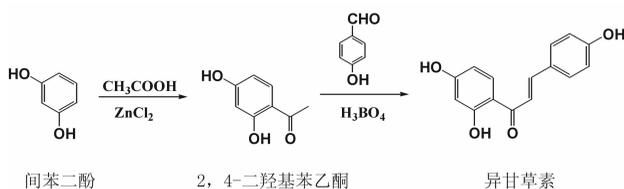


图 2 异甘草素的合成路线

Fig 2 Synthesis pathway of ILG

虽然国内对 ILG 的制备工艺进行一系列研究,

但其制备成本仍然较高,因此 ILG 的人工合成研究要致力于制备工艺改进、降低制备成本,以促进药理学实验研究和药用开发,同时保护甘草天然资源为主。

## 2 异甘草素的药理活性研究

目前医药界对 ILG 的抗癌作用、抗糖尿病并发症和抗艾滋病等作用方面开展研究,并获得突出成绩。

### 2.1 抗肿瘤作用

ILG 的抗肿瘤作用是近年来的研究热点。研究发现,ILG 能抑制肺癌、乳腺癌、前列腺癌和胃癌等多种肿瘤,从而显示出较好的抗癌应用潜力。

ILG 对不同肿瘤细胞系的作用不尽相同。研究表明,ILG 对宫颈癌细胞系 HeLa 和 SiHa 的体外增殖有明显的抑制作用<sup>[10]</sup>。另有研究表明,ILG 以浓度依赖性抑制人宫颈癌 CaSki 细胞增殖,其 IC<sub>50</sub> 为 (19.3 ± 3.3) μmol · L<sup>-1</sup>,明显低于 HeLa 和 SiHa 细胞的 IC<sub>50</sub><sup>[11]</sup>,表明 ILG 对 CaSki 细胞抑制作用比对 HeLa 和 SiHa 细胞更显著。其机制与将癌细胞周期阻滞于 S 和 G2/M 期及影响细胞周期因子 cyclin B1 的表达和改变 P34cdc2 的磷酸化水平有关。

Li 等<sup>[12]</sup>发现,ILG 以浓度依赖性抑制人肺癌 A549 细胞的增殖,其机制是它能使细胞增殖停留在 G2/M 阶段。此外,ILG 能显著抑制非小细胞肺癌细胞的增殖速度<sup>[13]</sup>。

Kanazawa 等<sup>[14]</sup>通过研究发现 ILG 对 DU145 和 LNCaP 等前列腺癌细胞具有显著的体外抑制活性,其活性强度与剂量有关。

ILG 在对比试验中显示很明显的引起癌细胞凋亡和抑制肿瘤细胞增殖的活性,且对正常细胞的毒性低于癌细胞<sup>[15]</sup>。另一试验中,ILG 通过环氧化酶 COX-2 的干预途径而引起直肠癌细胞凋亡作用<sup>[16]</sup>。此外,Ya 等<sup>[17]</sup>学者发现,ILG 通过 p53 依赖的途径引起肝癌 Hep G2 细胞的凋亡并阻止细胞周期。Kim<sup>[18]</sup>考察了 ILG 对人子宫肌瘤细胞的增殖及生长周期的影响,并发现 ILG 以诱导凋亡和抑制细胞周期的途径抑制子宫颈癌的发展。Li 等<sup>[19]</sup>经动物实验研究发现,ILG 能防止化疗药物在结肠癌的治疗中对肝脏和肾脏的毒性。

以上研究结果提示,ILG 在新结构类型的抗癌先导化合物的寻找中具有重要的研究意义并提供有效的线索。

### 2.2 抗糖尿病并发症作用

ILG 被证明为一种较强效的醛糖还原酶抑制

剂。糖尿病患者体内葡萄糖还原为糖醇增强(即醛糖还原酶活性增强)是糖尿病性神经病变、白内障等并发症的主要发生原因。ILG 通过抑制醛糖还原酶的活性,可显著的预防糖尿病并发症的发生<sup>[20]</sup>。此外,ILG 的抗氧化、促进胰岛素分泌、抗血小板凝集和改善为循环等作用对于延缓糖尿病病发病有益<sup>[20-22]</sup>。

### 2.3 抗艾滋病作用

日本学者发现,ILG 能明显抑制艾滋病毒逆转录酶和蛋白酶的活性,从而明显抑制艾滋病毒的复制<sup>[23]</sup>。ILG 对艾滋病毒的抑制活性比甘草甜素要强好几倍。因此,ILG 以其独特的化学结构和显著的药理活性而成为了药学界抗艾滋病创新药物研究热点之一。

### 2.4 其他药理作用

**2.4.1 对气管平滑肌的影响** 刘斌等<sup>[24]</sup>研究 ILG 对豚鼠离体气管平滑肌收缩功能的影响,发现 ILG 剂量依赖性抑制基础张力及  $\text{CaCl}_2$ , His, ACh 和 KCl 所诱发的气管收缩,提示其可能对支气管哮喘治疗有效。其机制可能为 ILG 通过非竞争性钙拮抗作用松弛豚鼠气管平滑肌。此外,ILG 能明显抑制高钾去极化引起的气管条收缩,提示 ILG 对经膜上电压依赖性钙通道内流的钙离子可能有抑制作用。

**2.4.2 对脑缺血-再灌注损伤的保护作用** 詹春等<sup>[25]</sup>研究 ILG 对小鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用,结果发现,ILG20 和 40  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  能显著延长缺血-再灌注小鼠断头后喘息时间,降低缺血-再灌注小鼠全血黏度和红细胞压积,延长凝血时间,并剂量依赖性增加脑组织 ATP 含量等。提示,ILG 可通过改善脑缺血-再灌注小鼠异常血液流变性和脑组织能量代谢对脑缺血-再灌注脑损伤起保护作用。

**2.4.3 组织胺  $\text{H}_2$ -受体的抑制作用** Kin 等<sup>[26]</sup>利用 U937 和 HL60 细胞进行体外试验研究并发现,ILG 能选择性抑制组织胺  $\text{H}_2$ -受体并阻止  $\text{H}_2$ -受体介导的生理反应。 $\text{H}_2$ -受体组织剂(如雷尼替定)能抑制胃酸分泌,并在临床上用于消化性溃疡的治疗。ILG 抑制  $\text{H}_2$ -受体的实验结果,对甘草黄酮能治疗消化性溃疡的药理作用机制提供依据。

**2.4.4 解痉作用** 根据甘草对腹痛有缓解作用的特点,Sato 等<sup>[27]</sup>对甘草根的抗腹痛成分进行追踪研究并发现,其单体成分 ILG 对卡巴胆碱、氯化钾、氯化钡诱导的小鼠空肠收缩显示强的解痉作用。

## 3 结语

ILG 是甘草中的主要黄酮类成分之一,虽然其含

量非常微量,但生物活性强,是具有较好研究开发潜力的单体化合物。本课题组在参照国内外文献的基础上,对 ILG 的人工合成方法进行研究,获得较高产率的纯品,通过结构鉴定,对合成方法给予肯定,并对文献制备工艺进行一定改进(论文待发表);此外,本课题组根据羟基查耳酮类化合物分子中 B 环 C3, C4-位被羟基取代对抗肿瘤活性有利的构效关系规律,以 ILG 为先导化合物进行羟基化结构修饰,获得了部分新衍生物,准备投入药理学实验研究。

ILG 在抗肿瘤、抗糖尿病并发症和抗艾滋病等方面显示较好的研究开发潜力。因其化学结构独特,药理活性较强,在新结构类型和新作用机制的创新药物研究中将具有较好的发展潜力。ILG 的人工合成研究在降低制备成本、促进药用开发研究及保护甘草天然资源等方面具有一定价值。

## REFERENCES

- [1] Ch. P(2000) Vol I(中国药典 2000 年版. 一部)[S]. 2000:65-66.
- [2] WU H J, ZHAO Y, XI X L, et al. Study on the chemical composition of Xinjiang Licorice[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2006,18(3):415-417.
- [3] NIU L, HU X W, GAO J. Study on the isolation of liquiritigenin and isoliquiritigenin[J]. Chem World(化学世界), 1996,37(10):539-541.
- [4] HE S M, SHI S L. Determination of liquiritin, liquiritigenin and isoliquiritigenin in licorice mixture by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med(中草药), 2003,34(7):618-619.
- [5] FU Y J, LIU X N, HOU C L. The study on separation and purification of isoliquiritigenin by macroporous adsorption resin[J]. Ion Exch Adsorp(离子交换与吸附), 2006,22(4):315-322.
- [6] FU Y J, LIU X N, WANG W, et al. Study on extraction of isoliquiritigenin from *glycyrrhiza uralensis* Fish. by acid hydrolysis[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2007,42(11):818-821.
- [7] VAN HULLE C, BRAECKMAN P, VANDEWALLE M. Isolation of two new flavonoids from the root of *Glycyrrhiza glabra* var. *typica*[J]. Planta Med, 1971,20(3):278-282.
- [8] BUKIRWA I, KAMARA T L, MANONG E V, et al. Isolation and synthesis of a dimeric dihydrochalcone from *agapanthus africanus*[J]. Phytochemistry, 2005,66(10):1126-1132.
- [9] HSU Y L, KUO P L, LIN C C. Isoliquiritigenin induces apoptosis and cell cycle arrest through p53-dependent pathway in Hep G2 cells[J]. Life Sci, 2005,77(3):279-292.
- [10] ZHANG J, YANG J, WU J L, et al. Preparation of isoliquiritigenin liposome and its depressive effect on proliferation of human cervical cancer cells *in vitro*[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2004,9(11):1268-1272.
- [11] ZHANG J, YANG J, TANG H B. Inhibitory effect of isoliquiritigenin on proliferation of human cervical cancer cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与

毒理学杂志),2005,19(6):436-442.

- [12] LI T, SATOMI Y, KATOH D, et al. Induction of cell cycle arrest and p21 (CIP1/ WAF1) expression in human lung cancer cells by isoliquiritigenin [J]. Cancer Lett, 2004, 207(1):27-35.
- [13] HSU Y L, KUO P L, CHIANG L C, et al. Isoliquiritigenin inhibits the proliferation and induces the apoptosis of human non-small cell lung cancer a549 cells [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004, 31(7):414-418.
- [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] MA J, FU N Y, PANG D B, et al. Apoptosis induced by isoliquiritigenin in human gastric cancer MGC-803 [J]. Planta Med, 2001, 67(8):754-757.
- [16] TETSUYUKI T, MASAKI B, HOYOKU N, et al. Cyclooxygenase-2 plays a suppressive role for induction of apoptosis in isoliquiritigenin-treated mouse colon cancer cells [J]. Cancer Lett, 2006, 231(2):319-325.
- [17] YA L H, PO L K, CHUN C L. Isoliquiritigenin induces apoptosis and cell cycle arrest through p53-dependent pathway in Hep G2 cells [J]. Life Sci, 2005, 77(3):279-292.
- [18] KIM D C, RAMACHANDRAN S, BAEK S H, et al. Induction of growth inhibition and apoptosis in human uterine leiomyoma cells by isoliquiritigenin [J]. Reprod Sci, 2008, 15(6):552-558.
- [19] LEE C K, SON S H, PARK K K, et al. Isoliquiritigenin inhibits tumor growth and protects the kidney and liver against chemotherapy-induced toxicity in a mouse xenograft model of colon carcinoma [J]. J Pharmacol Sci, 2008, 106(3):444-451.
- [20] TAWATA M, AIDA K, NOGUCHI T, et al. Anti-platelet action of isoliquiritigenin, an aldose reductase inhibitor in licorice [J]. Eur J Pharmacol, 1992, 212(1):87-92.
- [21] CALLISTE C A, LE BAIL J C, TROUILLAS P, et al. Chalcones: structural requirements for antioxidant, estrogenic and antiproliferative activities [J]. Anticancer Res, 2001, 21(6A):3949-3956.
- [22] HARAGUCHI H, ISHIKAWA H, MIZUTANI K, et al. Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata* [J]. Bioorg Med Chem, 1998, 6(3):339-347.
- [23] LIU Y H, CAO Z H. Advance in progress of anti AIDS drugs [J]. J Yunnan Tradit Chin Med (云南中医中药杂志), 2004, 25(6):44-45.
- [24] LIU B, YANG J. Effects of isoliquiritigenin on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2005, 21(7):892.
- [25] ZHAN C, YANG J, ZHAN L, et al. Protective effects of Isoliquiritigenin against cerebral ischemia-reperfusion injury in mice [J]. Med J Wuhan Univ (武汉大学学报), 2005, 26(3):398-401.
- [26] KIM D C, CHOI S Y, KIM S H, et al. Isoliquiritigenin selectively inhibits H(2) histamine receptor signaling [J]. Mol Pharmacol, 2006, 70(2):493-500.
- [27] SATO Y. Isoliquiritigenin, the anti-spasm components from licorice and its acting site [J]. World Nots Plant Med (国外医药植物药分册), 2007, 22(6):270.

收稿日期:2008-07-22