甘草活性成分對急性腦缺血再灌注損傷的影響：

II. 甘草酸

Effects of active components in Licorice for acute cerebral ischemic reperfusion injury:
II. Glycyrrhizic acid

徐 敏 *XU Min*

（香港註冊中醫學會）

[摘要] 甘草酸是常用中藥甘草的重要活性成分之一。甘草酸及其製劑對腦神經具有廣泛地調節和保護作用。本文綜述了近年以甘草酸及其製劑干預急性腦缺血再灌注損傷的實驗研究進展。

[關鍵詞] 甘草酸；腦缺血再灌注損傷；實驗研究

1 概述

腦卒中（cerebral stroke）屬於中醫的中風病症範疇，是導致高齡人群致死和致殘最常見的疾病之一。缺血性腦血管病約佔腦卒中的70%，其發病多因腦內血管狹窄或血栓形成，引起供血障礙並發生腦缺血再灌注損傷（cerebral ischemia – reperfusion injury）。腦缺血再灌注損傷的發生會嚴重損傷血管內皮，使血管抗血小板聚集和抗血栓形成的能力顯著降低，進而加重腦內病變和臨床病情。目前認為腦缺血再灌注損傷的機制十分複雜，涉及氧化應激、線粒體損傷、細胞內鈣超載、炎症反應、細胞凋亡等諸多病理變化。因此，對其深入探討有助於明確現有藥物對腦卒中的療效機理及其作用靶點，也有助於研發新藥特別是中藥新藥應用於腦卒中的臨床防治。

甘草酸（Glycyrrhizic acid）別名甘草甜素、甘草皂苷等，是甘草中含量較高且具有廣泛生物活性的藥效成分。甘草酸是由甘草次酸與2分子葡萄糖醛酸組成的五環三萜皂苷，化學式$C_{42}H_{62}O_{16}$，分子量822.93，甜度約為蔗糖50倍。天然甘草酸多為順式甘草酸（18β-甘草酸），同時也存在少量反式甘草酸（18α-甘草酸）；雖然二者分子式相同，僅存在18位H的構相差異，但二者性質不完全相同。一般認為18α-甘草酸的藥效作用優於18β-甘草酸。目前在臨床上使用的甘草酸製劑中，有分別以18β甘草酸（如美能、強力寧）或18α-甘草酸（如異甘草酸鎂）為主的製劑，或混合的製劑（如甘利欣）等不同種類。作者繼前文綜述了以甘草黃酮類活性成分干預急性腦缺血再灌注損傷的研究（請詳香港中醫雜誌2019年第4期）[1]，本文擬介紹甘草酸及其製劑干預急性腦缺血再灌注損傷的實驗研究。

1.1 甘草酸

有研究分離培養了大鼠腦毛細血管內皮細胞（CCEC）和多形核白細胞（PMN），觀察甘草甜素（甘草酸）在急性腦缺血後的抗細胞間黏附作用。實驗將成年雄性大鼠40隻隨機分為正常對照組、偽手術對照組、腦缺血再灌注損傷組（腦缺血組）、腦缺血再灌注損傷加甘草甜素組（腦缺血加甘草甜素組）共4組，每組10隻。利用微管吸吮技術觀察各組CCEC和PMN間黏附力特性的變化。結果發現，腦缺血再灌注後各時間點CCEC和PMN的黏附力和黏附應力均明顯高於正常對照組和偽手術組（$P<0.01$）；加用甘草甜素後，CCEC和PMN的黏附力和黏附應力均明顯下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。研究提示腦缺血再灌注損傷後甘草甜素可抑制CCEC和PMN的黏附，減輕腦損傷[2]。

有學者探討了甘草酸對I型糖尿病（T1DM）大鼠腦缺血再灌注損傷後神經功能的影響。將大鼠隨機分為正常大鼠腦缺血再灌注對照組（A組）、T1DM大鼠腦缺血再灌注損傷組（B組）、T1DM大鼠腦缺血再灌注損傷治療組（C組）共3組。B組和C組採用鏈脲佐菌素誘導T1DM建模，誘導14天后經手術製備大腦中動脈缺血再灌注損傷模型。腦缺血再灌注後24小時C組經尾靜脈給予甘草酸（4mg/kg）。術後1、7、14天分別對各組大鼠

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKPCMP All Rights Reserved

進行神經功能缺損評分和足錯步率等指標的評估。結果表明，甘草酸有促進T1DM腦缺血再灌注損傷大鼠神經功能恢復的作用[3]。

1.2 甘草次酸

甘草次酸（Glycyrrhetinic acid）別名甘草亭酸、甘珀酸等，是由甘草酸水解脫去糖酸鏈而形成；化學式$C_{30}H_{46}O_4$，分子量470.69，甜度約為蔗糖250倍。甘草次酸的藥效作用很多，應用廣泛。甘珀酸（18α-甘草次酸琥珀酸氫酯）具有清除自由基等藥效作用；動物實驗發現，腹腔注射甘珀酸（100-200mg/kg）能促進急性缺血再灌注大鼠腦海馬丙二醛水平明顯恢復，提示其具有抗缺血再灌注損傷的藥理作用[4]。

有學者採用線栓法制備大鼠中腦動脈閉塞模型（MCAO）；將大鼠隨機分為假手術組、模型組（MCAO）、陽性對照藥組（MCAO+依達拉奉50mg/kg）、18β-甘草次酸低/中/高劑量組（MCAO+18β-甘草次酸50/100/150mg/kg）；缺血1小時再灌注後5小時，各組分別腹腔給藥，進行神經功能評分，染色比較腦梗死體積和病理組織學變化等，檢測大鼠海馬神經元凋亡蛋白酶Caspase-3、炎症因子 IL-1、IL-6、TNF-α，以及丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）等。結果發現，予中/高劑量18β甘草次酸的大鼠腦梗死體積顯著減少，神經功能缺損評分改善，海馬神經元細胞核固縮、排列紊亂、細胞死亡等病理損傷顯著減少，Caspase-3的表達及細胞凋亡降低，炎性因子IL-1、IL-6和TNF-α表達水平降低，MDA水平降低，SOD活性升高，與陽性對照藥依達拉奉的效果相當[5]。

1.3 強力寧

強力寧（Potenline）別名甘草酸單銨、複方甘草酸單銨等，是第二代甘草酸製劑（β體單銨）；具有抗炎症，抗病原，抗過敏，抗損傷等藥效作用。有學者報告了強力寧對缺血再灌注犬腦線粒體ATP酶、腦組織乳酸脫氫酶（LDH）、腦組織水含量和神經功能的影響。實驗採用犬心臟停跳後再復蘇模型；將16隻家犬隨機分成非缺血對照組、缺血再灌注組、強力寧治療組共3組；強力寧治療組行手術暫停循環18分鐘，恢復循環5分鐘後，靜滴強力寧注射液（40ml/kg）；觀察結束後在維持循環和呼吸下開顱，取右頂葉皮質進行檢測。結果表明，強力寧能明顯提高再灌注犬腦組織ATP酶和LDH活性，減輕腦水腫，改善神經功能；提示強力寧可通過提高線粒體ATP酶和組織LDH活性，改善能量代謝，減輕腦缺血再灌注損傷[6]。此外還有報道，在發生腦缺血前靜脈注射強力寧（20mg/kg），也能顯著對抗急性腦缺血再灌注大鼠腦組織含水率和丙二醛水平的升高，以及超氧化物歧化酶和ATP酶活性的降低[7]。

1.4 甘草酸二銨

甘草酸二銨（Glycyrrhizinate）別名甘草酸二銨鹽等，是第三代甘草酸製劑（以α體為主的α和β混合體）；作為抗炎有機化合物已被應用於臨床。近年有學者觀察報導了甘草酸二銨對小鼠或大鼠腦缺血再灌注損傷的影響[8,9]。有實驗通過線栓法建立大鼠大腦中動脈閉塞模型，探討了甘草酸二銨對大鼠腦缺血再灌注損傷的影響；將42隻雄性SD大鼠隨機分為正常組（A組）、造模+甘草酸二銨組（B組）、造模+生理鹽水組（C組）和假手術組（D組），給B、C、D組大鼠造模後分別注射甘草酸二銨、生理鹽水，按Zea-Longa評分評估神經功能；3天後處死大鼠檢測腦梗死面積，並檢測p-38MAPK、NF-κB、MMP-9和Bcl-2蛋白表達；結果表明，甘草酸二銨能明顯降低缺血再灌注損傷後的腦梗死面積和改善大鼠神經功能狀態；並能下調炎症通路相關的p38MAPK和NF-κB蛋白表達；同時進一步下調MMP-9炎症因子和凋亡相關Bcl-2蛋白表達；從而有助於減輕大鼠腦缺血再灌注損傷[10]。

為了研究甘草酸二銨對腦缺血再灌注損傷後神經血管單元的保護作用及機理，將160隻雄性SD大鼠隨機分為正常組、假手術組、缺血再灌注生理鹽水對照組、缺血再灌注甘草酸二銨治療組；大鼠造模後，治療組腹腔注射甘草酸二銨，其它組分別腹腔注射等量生理鹽水，每天1次，共3天；其後進行大鼠神經功能評分，3天後取材測試腦組織梗死體積、腦組織含水量、腦皮層神經元及神經元內尼氏小體數目、細胞凋亡水平、絲氨酸/蘇氨酸蛋白激酶（Akt）、磷酸化激酶（p-Akt）、半胱氨酸蛋白酶-3（caspase-3）、細胞血腦屏障水調節代謝相關蛋白-4（AQP-4）、緊密連接相關蛋白（occludin）表達等。結果表明，神經血管單元損傷在缺血再灌

台北醫學大學 版權所有 Copyright TMCM All rights Reserved

注損傷中起重要作用;甘草酸二銨可通過增加Akt表達和降低Caspase-3表達,以減輕缺血再灌注後細胞凋亡;還可通過降低AQP-4表達和增加occludin表達,以減輕缺血再灌注後血腦屏障破壞[11]。

另有實驗報導,將30隻雄性SD大鼠隨機分為假手術組、甘草酸二銨組、模型組,每組10隻;採用可逆性大腦中動脈線栓法制作大鼠局灶性腦缺血再灌注損傷模型;採用Zea-Longa評分評估大鼠神經功能;運用尼氏體染色檢測大鼠海馬組織尼氏小體數量;免疫組化法檢測大鼠海馬組織 Akt、caspase-3陽性細胞數量。結果表明,術後24小時甘草酸二銨組和模型組大鼠Zea-Longa評分明顯高於假手術組(P<0.05);造模後3天,甘草酸二銨組神經功能較模型組明顯改善(P<0.05);甘草酸二銨組海馬組織尼氏小體數量和Akt陽性細胞數量較模型組明顯增加;而caspase-3陽性細胞數量較模型組明顯減少(P<0.05)。結果提示,甘草酸二銨可通過Akt/caspase-3等途徑,減輕腦細胞凋亡,發揮對大鼠缺血再灌注損傷的保護作用[12]。

2 結語

按組織缺血再灌注損傷的概念,腦缺血再灌注損傷是指腦組織發生缺血後恢復血供的過程中,因大量自由基攻擊等因素造成腦細胞的損傷;這是缺血性腦卒中的主要病變和損傷機理。迄今針對腦缺血再灌注損傷的臨床藥物不多。已知甘草活性成分具有廣泛的藥效作用,尤其在調節和保護腦神經等方面的作用引人關注。甘草酸及其製劑的實驗研究進展,為開發防治缺血性腦卒中的新藥提供了重要依據。綜上所述,本文列舉的研究結果進一步證實了甘草酸及其製劑,在干預腦缺血再灌注損傷方面的潛在應用價值。甘草酸及其製劑的作用機理,很可能與其在動物模型實驗中發揮了抗氧化損傷,抗炎症因子,保護腦細胞,減少腦細胞凋亡,調節腦神經功能等多重作用有關。

事實上,近年已有臨床研究報導了甘草酸及其製劑治療急性腦梗死患者的療效。一項臨床觀察將120例患者隨機分為對照組和試驗組(每組60例);2組患者均予以相同的抗血小板聚集、他汀類藥物、腦保護、改善循環、控制血壓等常規治療,試驗組加用甘草酸二銨治療;採用美國國立衛生院神經功能缺損評分(NIHSS)等比較2組神經功能缺損程度和療效差異。結果表明,試驗組NIHSS評分明顯優於對照組,試驗組臨床有效率(76.7%)顯著高於對照組(60.0%),差異有統計學意義。研究提示,甘草酸二銨能明顯減輕腦梗死患者神經功能缺失症狀,提高臨床療效[13]。尚有臨床報導甘草酸二胺治療自發性腦出血患者也取得較好療效;甘草酸二胺能減輕腦出血患者腦水腫,促進神經功能恢復[14]。可以預期,甘草酸及甘草黃酮等甘草活性成分,將為防治腦卒中的臨床用藥提供更多更佳的選擇。

香港註冊中醫學會版權所有 Copyright HKRCM All Rights Reserved

參考文獻

[1] 徐敏. 甘草活性成分對急性腦缺血再灌注損傷的影響: I.甘草黃酮[J]. 香港中醫雜誌, 2019;14(4):52-76.

[2] 黃文, 謝鵬, 董為偉, 等. 急性腦缺血後甘草甜素抗細胞間黏附作用實驗研究[J]. 中國藥業, 2008;17(12):28-30.

[3] 朱洁楠, 沈霞, 崔桂云, 叶新春. 甘草酸促進I型糖尿病腦缺血/再灌注損傷大鼠神经功能恢复[J]. 徐州医学院学報, 2015;(7):437-440.

[4] Hosseinzadeh H, Nassiri A M, Parvardeh S. The effects of carbenoxolone, a semisynthetic derivative of glycyrrhizinic acid, on peripheral and central ischemia-reperfusion injuries in the skeletal muscle and hippocampus of rats[J]. Phytomedicine, 2005, 12(9): 632-637.

[5] Wang Zhi Guo, Wu Liang Bing, Guan Lei, Pan Yi. Neuroprotective effects of 18β-glycyrrhetinic acid against focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2017;26(11):1315-1321.

[6] Cai Hong Wei, Tan Xiu Juan, Wang Yun Jiao, et al. Effects of glycyrrhizic acid on mitochondria adenosine triphosphatase (ATPase) in canine cerebral tissue after reperfusion[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 1996;12(6):549-550.

[7] 劉超, 蔣建剛, 吳基良. 強力寧對大鼠腦缺血再灌注損傷的保護作用[J]. 醫藥導報, 2001;20(7):407-408.

[8] 趙輝. 甘草酸二銨對小鼠缺血再灌注腦損傷保護作用的實驗研究[J]. 中國現代藥物應用, 2013;7(21):230-231.

[9] 劉亞軍, 陳金和. 甘草酸二銨對大鼠腦缺血再灌致神經細胞凋亡的保護作用[J]. 中國藥理學通報, 2005;21(1):126-127.

[10] 李延良. 甘草酸二銨對大鼠腦缺血再灌注損傷干預的實驗研究. 鄭州大學研究生學位論文, 2015.

[11] 唐鑄. 甘草酸二銨對腦缺血再灌注損傷後神經血管單元的保護作用及機制研究. 華北理工大學研究生學位論文, 2016.

[12] Tang Zhu, Li Yan Liang, Gui Zheng, et al. Diammonium glycyrrhizinate attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury by Akt/caspase-3 pathway in rats[J]. Chinese Journal of Clinical Neurosurgery, 2016;21(5):287-289.

[13] 杜守雲, 付懷棟. 甘草酸二銨治療急性腦梗死60例療效分析[J]. 中國現代應用藥學, 2014;31(4):486-489.

[14] 付懷棟, 杜守雲, 王緒山, 孟善進. 甘草酸二胺治療自發性腦出血62例[J]. 海南醫學, 2016;27(19):3213-3215.

Abstract: Glycyrrhizic acid is one of the important active components in Licorice, a most commonly

used Chinese herbal medicine. Glycyrrhizic acid and its preparation may widely regulate and protect brain nerves. This article reviewed recent experimental outcomes on the potential efficacy of Glycyrrhizic acid and its preparation for cerebral ischemia reperfusion injury.

Keyword: Glycyrrhizic acid; cerebral ischemia reperfusion injury; experimental study

（編委：嚴新傑審校2023.03.27）

香港註冊中醫學會 版權所有
Copyright HKRCMP All Rights Reserved