



甘草黄酮抗幽门螺杆菌 *H.pylori* 活性的研究

Toshio Fukai^{a,*}, Ai Marumo^a, Kiyoshi Kaitou^b, Toshihisa Kanda^b,
Sumio Terada^b, Taro Nomura^a

日本东邦大学医学院理化研究部 (274-8510 千叶县船桥市三山2-2-1号)

日本178-0062东京练马区大泉町2-33-7日本全药工业株式会社^b研发实验室

(2002年2月4日收稿, 2002年3月27日通过审稿予以发表)

一、摘要 Abstract

甘草是日本汉方医学(从传统中医演化而来)中最常用的原料,其提取物也经常用作抗溃疡成分治疗消化性溃疡。光甘草定和光甘草素(光果甘草提取物)、甘草查尔酮A(胀果甘草提取物)、甘草西定和甘草异黄酮B(乌拉尔甘草提取物)不仅在体外实验中表现出一定的抗 *H.pylori* 活性,对克拉霉素 CLAR 和阿莫西林 AMOX 耐药菌株也有明显抑制作用。我们还对乌拉尔甘草甲醇提取物进行了研究,发现 15 种已知类黄酮化合物和三种新型吡喃异黄酮化合物(芳基香豆素、紫檀烷和异黄烷)即 Gancaonols A、B 和 C。其中驴食草酚、甘草利酮、1-methoxyphaseollidin 和 Gancaonol C 对抗克拉霉素&阿莫西林菌株及四株克拉霉素(阿莫西林)敏感菌株有较强抑制作用,而甘草灵、刺芒柄花素、新异甘草黄酮醇、粗毛甘草素 D、6,8-dipreny-lorobol、甘草宁 I、Dihydrolicoisoflavone A 和 Gan-caonol B 抑菌性较弱。可见,如将以上成分用于 *H.pylori* 感染者,可能起到预防胃溃疡和胃癌的功效。

关键字: 抗 *H.pylori*; 类黄酮; 甘草; 甘草属; Gancaonol

*联系作者 电话: +81-47-472-1792; 传真: +81-47-476-6195.

电子邮箱: fukai@phar.toho-u.ac.jp (T. Fukai).

PII: S 0 0 2 4 - 3 2 0 5 (0 2) 0 1 8 6 4 - 7

二、介绍 Introduction

H.pylori 存在于人体内胃和十二指肠的酸性环境中,是引起胃溃疡的病原体之一。因此,对于初次或再度由 *H.pylori* 导致的胃溃疡,应采用抗菌剂与胃酸抑制剂相结合的方法进行治疗^[1]。胃癌是目前世界上最常见的癌症之一,虽然其在西方国家的发病率不高,但在发展中国家以及日本和俄罗斯却有着癌症“第一杀手”的称号。自从发现了 *H.pylori*^[2,3], 人类一直在

探索其与胃癌之间的关系。流行病学调查数据表明，感染*H.pylori*的人群发生胃癌的几率更高；同时*H.pylori*感染人群的胃癌发病率与社会经济状况成反比，与年龄和食盐的摄入量成正比^[4,5]。经过对一群患有十二指肠溃疡、胃增生和非溃疡性消化不良的日本病人长期的随访研究（1-10.6年，平均7.8年），Uemura et al.近期报道了*H.pylori*感染与胃癌关系的研究结果^[6]：2.9%的*H.pylori*感染人群罹患胃癌，而未感染*H.pylori*的患者发病几率则为0。可见，*H.pylori*感染和胃癌的关系就吸烟和肺癌的关系一样重要^[4]。然而，大多数慢性*H.pylori*感染者并没有发展胃溃疡或胃癌症状，这引起了人们研究相关预防药剂的兴趣，那些没有发病症状的感染者应该是受到某种抗菌化合物的保护，而这种化合物可能就存在于其日常饮食或所服用的药用植物中^[7-21]。截至到目前为止，人类已经研究出多种结构的*H.pylori*抑菌剂，大多是从植物中分离出来的。但是这些抑菌剂在人体内的抗菌活性却很难确定，因为*H.pylori*只活跃在胃上皮细胞表面和粘液凝胶层^[1,3]之间的狭小空间里。相关研究^[25]表明，kaempferol (4V,5,7- trihydroxyflavonol)在感染了*H.pylori*的蒙古沙鼠^[25]身上表现出明显的抗菌活性，因此类黄酮化合物在体外抑菌实验中应该有一定的抗*H.pylori*活性。类黄酮的生物活性通常都很弱，所以我们推测酚类化合物可能会在人体内胃发挥很好的抗菌功效。

甘草（日语称作“kanzoh”）指的是甘草属部分植物如光果甘草、乌拉尔甘草、胀果甘草、黄甘草、粗毛甘草和膜荚甘草以及豆科植物的根及根茎，其作药用已有4000多年的历史。人类已经从甘草中分离出多种异戊二烯类黄酮^[36]。其中乌拉尔甘草类黄酮成分通常用作抗溃疡药物^[37,38]，光果甘草类黄酮对*H.pylori*有一定的抑制作用^[39]。但迄今为止，尚未有任何研究证明乌拉尔甘草类黄酮也具有抗*H.pylori*活性。因此，本文就对这一方面展开研究。

三、材料和方法 Materials and methods

实验所用菌株及培养条件

H.pylori ATCC 43504 和 ATCC 43526 菌株购自美国模式菌种收集中心 ATCC（马里兰州洛克菲勒）；*H.pylori* ZLM 1007 (KO-1007)和 ZLM 1200 菌株来自人体胃部切片；克拉霉素耐药菌株 *H.pylori* GP98 由日本东京都立卫生所的 T. Ito 博士友情提供。此外，受试菌株均为螺旋状细菌。

化学药剂

有机溶剂分别购自 Wako Pure Chem. Ind., Ltd.（日本大阪）、Godo Solvent Ltd.（东京）和 Isotec Inc.（美国俄亥俄州迈阿密斯堡）。所用其他药剂还包括葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chem. AB, 瑞典乌普萨拉)、Chromatorex octadecylsilyl 硅胶(ODS, 100-200 mesh) (Fuji Silysia Chem., Ltd., 日本春日井)、Wakogel C-200 和 B-5F 硅胶(SiO₂) (Wako Pure Chem. Ind. Ltd.、Merck RP-18F254S TLC plates (德国达姆施塔特)、阿莫西

林 (AMOX) 和血管收缩素 angiotensin VI (Sigma Chem. Ind., 美国密苏里州圣路易斯)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -CHCA) (Aldrich, 美国威斯康星州密尔沃基)。甘草酸(1)、甘草次酸(2)和甘草皂苷 G2 (3)按既定步骤分离而来^[41]。本文研究所使用的甘草黄酮 (4-14) 是在以前实验^[36]中生成的。

草药样本

乌拉尔甘草根茎来自 Matuura Yakugyo Ltd. (日本名古屋), 剩余草本植物则从中国大陆采购, 并由日本公司 Glycyrrhizae Radix lot. 55K3AM5S 负责配制。

仪器

本文所用的实验仪器: 日本京都岛津公司制 UV-265 光谱仪 (测量 UV 光谱) 和日本昭岛 Jeol 公司制 JNM EX-400 和 EXP-500 NMR 光谱仪 (测量 ^1H NMR 光谱), 主要测量丙酮 acetone- d_6 (δ_{H} 2.04 和 δ_{C} 206.0) 和二甲基亚砜- d_6 (DMSO- d_6 , δ_{H} 2.49) 的化学位移。其他仪器还包括日本八王子 Jasco 公司的 DIP-370 旋光仪和 J-720W CD 光谱仪 (测量旋光度和 CD 光谱)、Jeol JMS-AMM 系统 II-50 和 HX-100 仪器 (测量电子电离质谱和高分辨率电子电离质谱)、美国马萨诸塞州弗明翰市 PerSeptive Biosystems 公司制造的 Voyager-DE STR TOF 质谱仪 (测量高分率基体辅助激光解吸电离飞行时间质谱, 以 α -氰基-4-羟基肉桂酸为基质 (α -CHCA), 并用 α -CHCA ($[2\text{M} + \text{H}]^+$) 和血管收缩素 IV ($[\text{M} + \text{H}]^+$)^[42] 对仪器进行校正)、日本东京 Senshu Science Co. Ltd. 的 Jasco PU-980 仪器和 UV 探测器 (Pegasil ODS 或硅胶-120-5 柱层析法, 1.0 * 25.0 厘米, 测量高效液相色谱 HPLC)。

纸片法测试抗 *H.pylori* 活性

将 *H.pylori* ATCC 43526 接种于 Difco Laboratories (美国密歇根州底特律) 提供的布鲁杆菌琼脂上, 在微好氧条件下, 加入 7% 的马血清 (日本东京 Nippon Bio-Test laboratories) 和微好氧培养产气剂 AnaeroPackR Campylo (日本东京 Mitsubishi Gas Kagaku), 置入 GasPakR 实验罐 (BBL Microbiology Systems, 美国马里兰州科基斯维尔) (HSBA), 37°C 条件下培养 3 天。菌落悬浮在布鲁杆菌发酵液中, 浊度 OD_{570} 值达到 0.25, 每毫升含 $2 * 10^7$ cfu。受试菌的最终浓度为 $4 * 10^5$ cfu/mL。所有测试样本均用乙酸乙酯 EtOAc 溶解, 浓度为 10 mg/mL, 然后用溶剂稀释到 1 mg/mL。将风干的 8mm 纸片放置在琼脂平板上, 滴入 50 μL 样本溶液, 在 37°C 微好氧条件下培养三天, 测出抑菌圈的直径。

琼脂稀释法测定最小抑菌浓度 (MIC)

利用琼脂稀释法来测定乌拉尔甘草纯化成分的最小抑菌浓度。 *H.pylori* 按上述方法培养: 受试菌首先用二甲基亚砜- d_6 溶解并二倍稀释, 后用东京 Sakuma 工业株式会社产微

型种植机（每次可接种 5 μ L 悬浮液）将其接种在含有二倍稀释纯化成分的 HSBA 测试板上，37 $^{\circ}$ C 微好氧条件下培养三天，测定出最小抑菌浓度，即可抑制某种微生物（此处指 *H.pylori*）出现明显增长的最低药物浓度。

从乌拉尔甘草中提取酚类化合物

取300克乌拉尔甘草根碾碎，用2L甲醇浸渍，室温条件下萃取四次，每两天一次。合并萃取液，真空蒸发，得到69克药渣(Fr ME)。对药渣作进一步处理，程序与以前实验的方法^[44]略有不同。取67克药渣，用氯仿（CHCl₃）浸渍，在室温条件下萃取，得到2.2克溶于氯仿的成分（Fr CH）和6.5克不溶于氯仿的成分（Fr CHI）。Fr CH加苯C₆H₆回流30分钟，其中溶于苯的Fr CH成分（Fr BE）加水洗，水溶液冷冻干燥后得195毫克Fr A。洗后的苯溶液（Fr BEW）继续用5%的NaHCO₃(Fr B)和5% Na₂CO₃(Fr C)溶液萃取，后加dil. HCl中和并用EtOAc进一步萃取。经过标准处理，得到82毫克Fr B和225毫克Fr C。而不溶于苯的Fr CH成分用5%的Na₂CO₃（Fr E）萃取，标准处理后获得339毫克酸性成分（Fr E）和46毫克非酸性成分（Fr F）。关于这些成分的抑菌活性实验结果详见表1。Fr C与抗溃疡药物FM100^[37,38,44,45]相对应。

表1 乌拉尔甘草半纯化成分的抗*H.pylori*活性（纸片法）

	10 mg/mL	1 mg/mL
	(抑菌圈直径)	
Fr ME	19.0 mm	阴性
Fr CH	21.5 mm	14.0 mm
Fr CHI	15.5 mm	阴性
Fr BE	20.0 mm	15.0 mm
Fr A	21.5 mm	阴性
Fr B	32.5 mm	15.0 mm
Fr C	29.0 mm	16.0 mm
Fr D	16.0 mm	11.5 mm
Fr E	11.5 mm	阴性
Fr F	阴性	阴性

阳性对照（AMOX, 5 μ g/mL）实验中抑菌圈直径达37.0mm.

从乌拉尔甘草中分离类黄酮

采用薄层层析法TLC从乌拉尔甘草中分离类黄酮，并与上述生物活性成分Fr B和Fr C以及它们对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）、甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)和*H.pylori*的抑菌作用（纸片法IAHP-PDM）进行对比。抗MRSA类黄酮和抗MSSA类黄酮的分离过程将另行阐述。首先取5克乌拉尔甘草，按照上述程序萃取，获得48.6克Fr BEW；IAHP-PDM, 23.7 mm (10 mg/mL), 14.5 mm (1 mg/mL)。取46克Fr BEW，采用SiO₂ 管柱

层析法分馏，并用C₆H₆-EtOAc洗脱（100:0-0:100，管柱1）。生物活性成分Fr B和Fr C用C₆H₆-EtOAc溶液洗脱（9:1-3:7，IAHP-PDM，10 mg/mL: 11.5-14.0 mm），收集洗脱液（2.6克），用SiO₂管柱层析法提纯(n-hexane-EtOAc，管柱2)。对管柱2的活性成分

（n-hexane-EtOAc，80:20-76:24，IAHP-PDM，10 mg/mL: 24.5 mm）进行分离结晶，得到8毫克3-O-methylglycyrol (15)和464 毫克甘草西定(11)。其母液继续采用制备薄层层析法（SiO₂，n-hexane-EtOAc，3:2，CHCl₃-acetone，20:1）进行分离，得到2毫克gancaonol A (16)。收集该管柱的其他活性成分（n-hexane-EtOAc，74:26，IAHP-PDM，10 mg/mL: 24.0-32.0 mm），得到5.7克药渣，后用苯溶解。对其沉淀物（4.3克）进行冷冻干燥提纯，并采用C₆H₆-MeOH (1:1)、SiO₂管柱层析法（n-hexane-acetone）、制备薄层层析法(SiO₂，n-hexane-acetone，n-hexane-EtOAc，CHCl₃-EtOAc)和制备高液相色谱法(SiO₂，CHCl₃-EtOAc，n-hexane-EtOAc)进行分离，得到22毫克刺芒柄花素(6)、8 毫克甘草酚(12)、170毫克异甘草酚(13)、105 毫克驴食草酚(17)、27毫克甘草利酮(18)、76毫克甘草灵 (19)、7毫克新异甘草黄酮醇(20)和2.5毫克gancaonol B (21)。取1.4克母液(IAHP-PDM，10 mg/mL: 32.0 mm)，采用Sephadex LH-20管柱层析法(MeOH)、ODS管柱层析法(MOH-H₂O)、制备薄层层析法(ODS，CH₃CN-H₂O，SiO₂，n-hexane-acetone，n-hexane-EtOAc) 和制备高液相色谱法(SiO₂，n-hexane-EtOAc，CHCl₃-EtOAc，ODS，MeOH-H₂O，CH₃CN-H₂O)进行提纯，得到13 (12毫克)、17 (60毫克)、20 (21毫克)、3毫克黄羽扇豆魏特酮(22)、3毫克6,8-diprenylorobol (23)、4毫克粗毛甘草素D (24)、1毫克1-methoxyphaseollidin (25)、12 毫克甘草宁 I (26)、3毫克gancaonol C (27)和1.5 毫克dihydrolicoisoflavone A (28; [α]_D²⁴ + 30°, c 0.013, EtOH; CD, c 2.3 * 10⁻⁵ mol/L, EtOH, θ (nm): 0 (236), -2800 (258), -2900 (306), -3900 (344), 0 (395)。该化合物最初被称作dihydrolicoisoflavone^[46]，而本文为了更加直观地了解其结构，称之为dihydrolicoisoflavone A。这些化合物的结构可以通过其光谱数据与已知的光谱数据^[36,46,47]的对比来确认。最先从甘草属植物中分离出来的是已知化合物23^[47]和28，其对*H. pylori*的抑制作用详见表3。化合物6、11和13（表2）以及产量少无法获得的化合物数据此处不作详述（所获得的化合物样本全部应用在实验中）。

Gancaonol A (16); Gancaonol B (21); Gancaonol C (27)

（略）

四、结果和讨论 Results and Discussion

类黄酮在草本植物中广泛存在，尤其是豆科类植物如黄豆和豌豆等，具有多种生物活性，虽然很弱，但可以对多种疾病起到良好的抑制作用，如癌症、动脉硬化、骨质疏松和阿尔茨海默病等^[52,53]。目前已有多种类黄酮化合物从豆科医用植物如甘草和苦参（根部）

中分离出来。远东地区的《神农本草经》就详细记录了甘草的功效。该书为中国现存的最古老的药理学专著，全书分三卷，记载药物365种，分上、中、下三品（上品：指无毒草本，主养命；中品：无毒或有毒，主养性，服用须谨慎；下品：有毒，主治病）。而甘草则属上品草药。据该书记载，甘草根茎有养生、止痛、补脾益气及解毒之功效，多服久服可益寿延年。可见，甘草可以用来预防多种疾病。比起合成药物，大多数的日本老年人更钟爱汉方医药（从传统中医中演化而来）。传统中药通常由多味草药组成，需用沸水熬制多时。Sasaki et al.发现，某些甘草皂苷的水溶液会溶解原本不溶于水的物质如 α -生育酚和齐墩果酸等^[54]，因此甘草提取物中通常含有亲脂化合物如异戊二烯类黄酮等。在日本，甘草提取物属非处方药，即无需凭处方购买；此类药物主要包括健胃、止咳类药物。目前日本有310种非处方药和11种处方药含有甘草成分^[45]。鉴于甘草皂苷中甘草酸的副作用也早已广为人知，比如会引起浮肿、血压升高、低血钾以及与盐皮质激素相似的副作用如醛固酮增多症^[55]，日本对药剂中的甘草皂苷含量做了严格的规定^[56]。此外，医生和药剂师在开药方时也会控制皂苷的用量和服用时间^[45]。不久前，我们报道了甘草中异戊二烯类黄酮的雌激素和细胞毒活性^[52,57,58]，并在后续研究中发现某种含甘草提取物的抗溃疡药物在体外抑菌实验（数据尚未公布）中表现出了一定的抗*H.pylori*活性，因此尝试进一步确定甘草中的抗*H.pylori*成分。

甘草成分的抗 *H.pylori* 活性

甘草一般指的是光果甘草、乌拉尔甘草和胀果甘草^[36]的根或茎。光果甘草在世界范围内都有应用，而另外两种甘草则主要在亚洲使用。这些甘草的主要成分包括三萜皂苷、甘草酸(1)和甘草皂苷G2(3)、黄烷酮化合物甘草素(4，见图1)、4VO-葡萄糖苷、甘草苷(5)、和异黄酮化合物刺芒柄花素(6)。实验中未发现皂苷(1, 3)有任何抗*H.pylori*活性，而皂苷(1)中的苷元和甘草酸(2)则表现出弱抑菌性（见表2），这一点已有证明^[59]。黄烷酮化合物葡萄糖苷(5)对*H.pylori*也没有抑制作用，但其苷元却表现出弱抑菌性（表2）。甘草中含有大量的黄烷酮化合物(5)，而苷元(4)的含量却很少。Kim et al.曾报道其在枳壳枸橼苷代谢物(isosakuranetin 7-O-h-D-neohesperidoside)抗肠内细菌实验中发现该化合物的抗*H.pylori*活性^[28]，因此推测isosakuranetin (5,7-dihydroxy-4V-methoxy-flavanone)应该可以用来预防胃炎(MIC = 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗*H.pylori* ATCC 43504, 5×10^5 cfu)。假设换作是甘草，人肠内细菌就可以把葡萄糖苷(1, 5)水解，但却无法将水解产物(2, 4)从肠内转移到胃内。刺芒柄花素(6)多从豆科植物中分离出来，且在细菌浓度达到 2×10^5 cfu时表现出较弱的抗*H.pylori*活性，在细菌浓度达到 2×10^7 cfu时表现出对GP98（CLAR耐药菌株）的弱抑菌性，但其对CLAR敏感菌株没有抑制作用（见表2）。GP98同时属于AMOX耐药菌株，因此该化合物可用作针对CLAR (AMOX)敏感菌株的抑菌剂，但异黄酮化合物(6)在甘草中的含量甚微。综上所述，甘草中的抗*H.pylori*成分为异戊二烯类黄酮。

甘草属植物^[36]中已经分离出多种含一个或多个异戊二烯基团（C₅-unit，如3-甲基-2-丁烯（异戊二烯）基团、2,2-dimethylpyran环等）的类黄酮化合物，其中某些种类的化合物在各种甘草属植物中均存在^[52]。我们选取了8种甘草类黄酮（光果甘草、胀果甘草、乌拉尔甘草），进行抗*H.pylori*活性测试（见表2）。光果甘草（图1）类黄酮主要包括pyranoisoflavan光甘草定(7)和pyranoisoflav-3-nene光甘草素(8)，在四种菌株实验中均表现出弱抗*H.pylori*活性。Imakiire et al.同时发现光果甘草(Maruzen P-THR)脂溶性提取物^[39]中的7,4V O-甲基光甘草定、欧甘草素A（3V-异戊二烯光甘草定）、光甘草酚（3V,8-双异戊二烯甘草苷）和shinflavanone（单环甘草苷）也表现出了一定的抑菌活性。

表2 光果甘草、胀果甘草、乌拉尔甘草主要化学成分的抗*H.pylori*活性 (MIC, µg/mL)

	(cfu)*	ATCC 43504	ATCC 43526	ZLM 1007	GP98
1	(a)	>100	>100	>100	>100
	(b)	>100	>100	>100	>100
2	(a)	50	50	50	50
	(b)	25	25	25	25
3	(a)	>100	>100	>100	>100
	(b)	>100	>100	>100	>100
4	(a)	50	50	50	50
	(b)	50	50	50	50
5	(a)	>50	>50	>50	>50
	(b)	>50	>50	>50	>50
6	(a)	>100	>100	>100	12.5
	(b)	12.5	12.5	12.5	12.5
7	(a)	12.5	12.5	25	12.5
	(b)	12.5	12.5	25	12.5
8	(a)	12.5	12.5	12.5	12.5
	(b)	12.5	12.5	12.5	12.5
9	(a)	25	25	25	25
	(b)	25	25	12.5	12.5
10	(a)	>50	>50	>50	>50
	(b)	>50	>50	>50	>50
11	(a)	12.5	12.5	6.25	12.5
	(b)	12.5	12.5	6.25	6.25
12	(a)	>50	>50	>50	>50
	(b)	>50	>50	>50	>50
13	(a)	>100	>100	>100	>100
	(b)	>100	>100	>100	>100
14	(a)	6.25	6.25	6.25	6.25
	(b)	6.25	6.25	6.25	3.13
AMOX	(a)	0.05	0.05	0.05	0.2
	(b)	0.025	0.025	0.025	0.1

* (a): 2 * 10⁷cfu; (b): 2 * 10⁵cfu.

胀果干草主要类黄酮化学成分包括甘草查尔酮 A(9)和甘草查尔酮 B (10, 2-甲氧基-3,4,4V-三羟基苯基), 其中后者未表现出抑菌作用, 而前者有弱抑菌活性。乌拉尔干草主要类黄酮化学成分包括一种双异戊二烯基团异黄烷化合物甘草西定(11, 图 1), 异戊二烯 coumestan 化合物甘草酚(12,3,9-二羟基-1-甲氧基-2- prenylcoumestan) 和吡喃型异黄酮化合物甘草异黄酮 B(14)。这些化合物也存在于粗毛甘草中, 但此类甘草的株苗较小^[36], 所以商用价值不高。在受试菌株实验中未发现 Coumestan 化合物(12, 13)有抗 *H.pylori* 活性, 而异黄烷化合物(11)和异黄酮化合物(14)表现出一定的抑菌活性。其中, 异黄酮化合物(14)对 CLAR 和 AMOX 耐药菌株 GP98 有明显的抑制作用(MIC=3.13 µg/ mL, $2 * 10^5$ cfu), 可是其在甘草中的含量却很低, 因此乌拉尔甘草中对 *H.pylori*起主要抑制作用的是甘草西定(11)。

从乌拉尔甘草中提取酚类化合物

我们进一步尝试从乌拉尔甘草提取物中分离出抗 *H.pylori* 的类黄酮化合物。Takagi 和 Ishii 曾于 1967 年研究指出乌拉尔甘草中的类黄酮成分 FM100 含 15%的甘草酸(1), 可通过成功抑制胃液分泌达到防治消化性胃溃疡的效果^[37,38]。从那时起, 该成分便被人们用作抗溃疡药物, 目前有 10 种含甘草类黄酮成分的处方药, 主治胃溃疡、十二指肠溃疡和胃炎^[45]。我们经过初步研究发现 FM100 (与 Fr C 相对应) 有一定的抗 *H.pylori* 活性 (见表 1), 但该药物并不包含甘草西定(11) (乌拉尔甘草的主要异戊二烯类黄酮成分^[38, 44], 如上文所述有抗 *H.pylori* 活性)。采用薄层层析法 TLC 分离 Fr C 成分和更加活跃的 Fr B 成分, 未发现另外一种抑菌化合物甘草异黄酮 B (14)。依据上述实验, 可初步推断出甘草提取物中含有某种抗 *H.pylori* 类黄酮化合物。

表 3 乌拉尔甘草类黄酮成分的抗 *H.pylori* 活性 (MIC, µg/mL)

	(cfu)*	ATCC 43504	ATCC 43526	ZLM 1007	ZLM 1200	GP98
15	(a)	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
	(b)	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
17	(a)	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
	(b)	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25
18	(a)	12.5	12.5	12.5	25	12.5
	(b)	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
19	(a)	50	50	50	50	25
	(b)	50	50	25	50	25
20	(a)	50	25	25	50	25
	(b)	25	25	25	25	12.5
21	(a)	> 32	32	32	32	16
	(b)	32	16	32	16	16
23	(a)	> 50	> 50	50	50	50
	(b)	50	50	50	50	50
24	(a)	25	25	12.5	25	12.5
	(b)	25	25	12.5	25	6.25

25	(a)	16	16	16	16	16
	(b)	16	8	16	16	8
26	(a)	50	50	50	> 50	50
	(b)	50	50	50	50	50
27	(a)	16	16	32	32	16
	(b)	16	8	16	16	16
28	(a)	> 25	> 25	25	> 25	25
	(b)	> 25	> 25	25	> 25	25
CLAR	(a)	0.025	0.0125	≤0.0063	0.0125	50
	(b)	0.0125	≤0.0063	≤0.0063	≤0.0063	12.5
AMOX	(a)	0.05	0.05	0.05	0.025	0.2
	(b)	0.025	0.025	0.025	0.125	0.1

* (a): 2×10^7 cfu; (b): 2×10^5 cfu.

从乌拉尔甘草中分离类黄酮

截止到目前,人类已经用各种方法从乌拉尔甘草中分离出了大约 70 种带一个或两个异戊二烯基团的酚类化合物。分离过程均非在碱性条件下进行,因为在碱性条件下某些类黄酮会异构化,如黄烷酮和异黄烷酮的消旋和黄烷酮的开环反应等。在 IAHP-PDM 的监测下,采用层析法分离生物活性成份 Fr BEW,得到 15 种已知化合物和三种带吡喃环的新型异黄烷酮化合物即 gancaonols A(16)、B(21)和 C(27)。大多数受试化合物(见表 3)均表现出一定的抗 *H.pylori* 活性,但化合物(15)除外,因无法测量其最小抑菌浓度。驴食草酚(17)、甘草利酮(18)、1-methoxyphaseollidin(25)和 gancaonol C(27)的最小抑菌浓度值与甘草西定(11)相似。其余类黄酮化合物的活性很弱,与甘草次酸(2)和甘草素(4)相似。本文所提及的受试化合物的抗 *H.pylori* 活性较弱,但它们可能对 *H.pylori* 感染起到很好的预防作用,可用作针对胃内细菌的抑菌剂,帮助 *H.pylori* 感染人群预防胃溃疡或胃癌等疾病。当然,要证实这些假设还需进一步深入的药理学和临床研究,尤其是测试其在液体介质中的抗菌活性。

目前以质子泵抑制剂(PPI)为主的三联疗法是最常见的 *H.pylori* 型胃溃疡根治疗法。然而,随着这种疗法的普及, *H.pylori* 对 CLAR 的耐药性也越来越强^[18,60]。相反,甘草类黄酮成分在 CLAR 和 AMOX 敏感菌株、CLAR 和 AMOX 抗药菌株 GP98 实验中却表现出一定的抗 *H.pylori* 活性。此外,甘草入药虽然在日本已经有 1200 多年的历史^[55],但尚未发现此类菌株对甘草类黄酮有耐药性。因此,此类化合物有可能成为最主要的 *H.pylori* 抑菌剂。

参考文献

(略)