

烷基酚酸的生物活性研究进展

杨小明¹, 陈 钧¹, 钱之玉²

(1. 江苏大学 生物研究室, 江苏 镇江 212013; 2. 中国药科大学 药理教研室, 江苏 南京 210009)

在银杏叶及外种皮中存在一类酚酸类物质, 其含量约占银杏叶干重的 1%~2%, 外种皮干重的 3%~4%。主要由银杏酸、白果酚和白果二酚组成。银杏酸(ginkgol acids)是水杨酸分子 C₆ 位上有较长侧链的系列化合物, 有烷基链和烯基链两大类, 侧链长度为 13~17 个碳、双键数为 0~2。银杏酸去掉羧基为白果酚(ginkgol), 属 3-烷基酚系列物。白果二酚(bilobol)是 5-烷基间二苯酚系列物, 其烷基长度为 15 个碳, 双键数 0~1, 又称为氢化白果二酚(hydrobilobol)^[1]。

该类酚酸还存在于榧和树果实及其外壳中。银杏酚酸仅限于源自银杏 *Ginkgo biloba* L. 的酚酸, 其他非银杏来源的该类酚酸一般可称为榧和酸^[1]。研究表明烷基酚酸具有显著的生物活性。

1 抑菌活性

Kubo^[2,3] 等对榧和酸的抑菌效果进行了研究, 榧和酸对 G⁺ 菌较敏感, 而对 G⁻ 菌抑制作用较差。进一步研究榧和酸侧链的不饱和程度及长度与抑菌效果的关系, 发现枯草杆菌、金葡球菌、变形链球菌等的 MIC 与侧链的不饱和度呈正相关; 而痤疮丙酸杆菌的 MIC 与侧链不饱和度并未表现出相关性。且该类水杨酸衍生物对痤疮丙酸杆菌的抑菌活性随侧链长度的增加而增强, 当侧链长度达到 12 个碳时, 其 MIC 最小, 抑菌活性达到最大; 经过此峰后, 抑菌活性又随侧链长度的增加而降低^[4], 可见其抑菌活性很大程度上受侧链长度的影响, 认为活性作用的机制可能和该类分子的亲水和亲脂的比例有关。

1999 年 Ramesh 研究了一系列银杏酸氧杂衍生物对致病菌的抑制活性。其中, 以侧链长度在 12~16 的衍生物对耐青霉素葡萄球菌(MRSA)和耐万古霉素肠球菌(VRE)有较好的抑制作用, MIC 在 4~16 μg/mL。以侧链长度为 14 个碳的衍生物抑菌效果最好。当羧基被甲酯化后, 则失去抑菌活性, 说明该类衍生物羧基对抑菌效果是至关重要的^[5]。

上述结果显示无论是银杏酸衍生物还是银杏酸氧杂衍生物, 当碳链长度为 12~16 时, 抑菌效果最好。由此可以推测, 银杏酸类衍生物的抑菌作用很可能与分子与细胞膜的结合状态有关。准确的抑菌机制需进一步深入研究。

2 抗肿瘤作用

1987 年 Itokawa 研究了银杏中的抗肿瘤活性成分, 发现银杏酸、白果酚、白果二酚能抗小鼠肉瘤 S₁₈₀, 剂量为 40 mg/kg 时, 银杏酸组肉瘤发生率为 17.4%、白果二酚组为 0.4%、白果酚组为 0。Itokawa 还对该类水杨酸的衍生物抗

肿瘤活性和分子结构的关系进行了研究, 认为抗肿瘤活性与化合物的疏水性有关, 当化合物的 lg P=8.29(P 表示化合物在正辛醇-水体系中的分配系数)时, 抗肿瘤活性最强。1993 年, Kubo 等研究认为带有 C15:3, C15:2 和 C15:1, C15:0 侧链的银杏酸对乳癌 BT-20 细胞具有中等强度的毒性^[6]。

1998 年 Lee 等从银杏外种皮中提取到银杏酸、白果酚和白果二酚等 10 种化合物。研究了它们对磷脂酰肌醇-磷脂酶 C₇₁(PI-PLC₇₁) 的抑制作用。体外试验表明这 10 种化合物都能对 PI-PLC₇₁ 产生抑制作用, 以 C17:1 的银杏酸抑制活性最强, IC₅₀ 为 2.22 μmol/L; C13:0 的白果二酚活性最弱, IC₅₀ 为 72.32 μmol/L。当三者苯环上的羟基乙酰化后, 抑制活性明显减弱。若无-R 取代基, 如水杨酸、甲苯酚等则几乎无抑制活性。由此说明该类化合物的抑制活性与-R、-COOH 和 -OH 有关。经对各种癌细胞和正常细胞的体外试验表明, 这 10 种化合物对 HCT-15、MCF-7、A-549、HT-1197 和 SKOV-3 细胞均有抑制作用, 但对正常肠细胞的细胞毒性较小, 可考虑作为低毒性的抗肿瘤药物^[7]。

3 对酶的抑制作用

植物中分离出的侧链为十五烯基和十五烷基银杏酸能有效地抑制前列腺素合成酶和前列腺素内过氧化物合成酶的活性^[8], 从而降低昆虫的繁殖率。白果二酚和银杏酸对酪氨酸酶具有很好的抑制作用^[9]。由于酪氨酸酶是昆虫蜕皮过程中关键的酶之一, 因而银杏酸可考虑作为一种植物农药, 抑制昆虫的繁殖、生长。

3-磷酸甘油脱氢酶(GPDH)是甘油三酯合成的关键酶, 甘油三酯的过度积累是导致肥胖的重要原因。银杏酸能有效抑制 3-磷酸甘油脱氢酶的活性, 其 IC₅₀ 在 2~10 μg/mL^[10]。

4 致敏及细胞毒性

4.1 致敏作用: 银杏外种皮中含有具有致敏毒性的成分, 在我国银杏产区, 果农在剥离银杏外种皮时, 常会引起漆毒样皮炎^[11]。国外也有食用榧和树果后, 引起皮肤搔痒、急性肿胀的报道, 据推测可能其中含有的烷基酚酸类化合物致敏所致^[12]。在流行病学调查中也发现小学生接触银杏果后, 发生集体接触性漆毒样皮炎的现象。银杏果皮和毒漆树叶的交叉反应证实了这一点^[12,13]。

Lepoittevin 等对银杏果皮粗提物及其中的各种烷基酚酸类成分进行了致敏试验。发现银杏果皮粗提物和银杏酸有强烈的致敏作用; 而白果酚则无致敏现象。应用交叉试验证

实银杏果粗提物的致敏作用是由银杏酸引起的^[14]。

德国学者 Koch 等采用小鼠腿部淋巴结试验(PLNA)作为检验具有免疫毒性物质的试验模型。他们在小鼠足垫注射 2 mg 银杏叶甲醇-水提取物,造成同侧腿部淋巴结增生反应。将小鼠处死后,取出淋巴结称重,并以正庚烷-水萃取。经分析,正庚烷相中含有高浓度的银杏酚酸(约 30%)。将银杏叶粗提物进一步分离后,发现淋巴结的肿胀程度与注射的提取物中银杏酸含量有关。用纯化的银杏酸和白果二酚重复上述试验,证实了这种推断。由 Koch 的试验可知,银杏叶中的免疫毒性物质即为烷基酚酸类化合物。Jaggy 认为这种烷基酚酸的致敏特征是由于其分子结构的两性造成的。由于烷基酚类化合物在分子结构上同时具有亲水基团和亲脂基团,使其能结合在细胞膜上^[1]。

令人感到困惑的是印度的 Ghosal 在研究中却发现 2% 的银杏提取物和 0.2% 银杏酸可部分抑制由二硝基氟苯诱导大鼠耳接触性皮炎。因而认为银杏酚酸有抗过敏作用,不必从银杏提取物中脱除^[15,16]。

目前我国银杏叶制剂已大量用于临床,银杏茶等食品也已广泛销售。国内对银杏产品中的银杏酚酸的含量尚未有明确的控制要求,为慎重起见,国外对银杏酚酸的控制,值得引起我国银杏生产厂家的重视。

4.2 细胞毒性:银杏酸的细胞毒性近来逐渐被认识。Westendorf 发现低浓度时银杏酸对大鼠肝细胞生长无影响,当银杏酸浓度达 100 $\mu\text{g/mL}$,肝细胞存活率仅 1.9%。1.0 $\mu\text{g/mL}$ 银杏酸处理后大鼠肝细胞 DNA 即可产生开裂现象^[17]。

Baron-Ruppert 等以鸡胚为试验对象,检验含有银杏酸的 EGb 的胚胎毒性,推断银杏酸为高细胞毒性成分^[18]。另外,Barbara 等还发现银杏酸浓度在 500 $\mu\text{mol/L}$ 左右时能引起鸡胚神经细胞死亡,且死亡率和银杏酸浓度之间存在依赖关系。并发现银杏酸能特异地增加蛋白质磷脂酶-2C 的活性,而对其他的蛋白质磷脂酶产生抑制或无影响。由此推断,蛋白质磷脂酶-2C 在银杏酸神经毒性的传递中起着关键作用。由于银杏酸在 EGb 中的量很少,尚未发现对人产生不良影响^[19]。

5 结语

银杏酚酸具有广泛的生物活性,同时又被怀疑具有致敏等毒性作用,深入研究银杏酚酸的生物活性及可疑毒性,对银杏提取物的生产和临床应用,各种银杏食品的生产和推广,以及银杏酚酸的开发利用具有现实指导意义。

References

- [1] Jaggy H, Koch E. Chemistry and biology of alkylphenols from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Pharmazie* 1997, 52: 735-738.
- [2] Kubo I, Muroi H, Himejima M. Structure-antibacterial activity relationship of anacardic acids [J]. *J Agric Food Chem*, 1993,

41: 1016-1019.

- [3] Kubo J, Lee J R, Kubo I. Anti-helicobacter pylori agents from the cashew apple [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47: 533-537.
- [4] Kubo I, Muroi H, Kubo A. Naturally occurring antiacne agents [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57: 9-17.
- [5] Kanojia R M, Murray W, Bernstein J, et al. 6-OXA isosteres of anacardic acids as potent inhibitors of bacterial histidine protein kinase (HPK)-mediated two component regulatory systems [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9: 2947-2952.
- [6] Kubo I, Ochi M, Vieira C P, et al. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice [J]. *J Agric Food Chem*, 1993, 41: 1012-1015.
- [7] Lee J S, Cho Y S, Park E J, et al. Phospholipase C_γ inhibitory principles from the sarcotestas of *Ginkgo biloba* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61: 867-871.
- [8] Grazzini R, Hesk D, Heininger E, et al. Inhibition of lipoxxygenase and postaglandin endoperoxide synthase by anacardic acids [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 176(2): 775-780.
- [9] Kubo I, Kinst-Hori I, Yokokawa Y. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(4): 545-551.
- [10] Irie J, Murata M, Homma S. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase inhibitors: anacardic acids from *Ginkgo biloba* [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, 60(2): 240-243.
- [11] Tang Y P, Lou F C, Wang H, et al. The constituents and pharmacological activities of exopleura of *Ginkgo biloba* [J]. *Pharm Prog*, 2000, 24(3): 152-155.
- [12] Zhao C L. Medical approach and extraction of acids components of *Ginkgo biloba* L. sarcotesta [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(4): 250-251.
- [13] Tomb R R, Foussereau J, Sell Y. Mini epidemic of contact dermatitis to ginkgo tree fruit [J]. *Contact Dermatitis*, 1989, 19: 281-283.
- [14] Lepoittevin J P, Benezra C, Asakawa Y. Allergic contact dermatitis to *Ginkgo biloba* L.: relationship with urushiol [J]. *Arch Dermatol Res*, 1989, 281: 227-230.
- [15] Ghosal S, Sundaram R, Muruganandam A V, et al. The chemistry and action of 6-alkylsalicylates of Indian *Ginkgo biloba* [J]. *Indian J Chem*, 1997, 36B: 257-263.
- [16] Saytan K S, Jaiswal A K, Ghosal S, et al. Anxiolytic activity of ginkgolic acid conjugates from Indian *Ginkgo biloba* [J]. *Psychopharmacology*, 1998, 136: 148-152.
- [17] Westendorf J, Regan J. Induction of DNA strand-breaks in primary rat hepatocytes by ginkgolic acids [J]. *Pharmazie* 2000, 55(11): 864-865.
- [18] Baron-Ruppert G, Luepke N P. Evidence for toxic effects of alkylphenols from *Ginkgo biloba* in the hen's egg test [J]. *Phytomedicine*, 2001, 8(2): 133-138.
- [19] Barbara A, Dagamar S, Christine S, et al. Ginkgolic acids induce neuronal death and activate protein phosphatase type-2C [J]. *Eur J Pharmacol*, 2001, 430: 1-7.

更正:根据我刊 2002 年第 1 期 P33 所刊“瓜蒌中有机氯农药残留量测定研究”一文作者的要求,瓜蒌样品的提供者更正为中国中医研究院中药研究所巢志茂教授。