

花旗松素的生物活性及其应用

乔 华¹, 谢 鋈², 张晓云²

(1. 兰州医学院第一附属医院, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州医学院, 甘肃 兰州 730000)

花旗松素 (taxifolin) 是一种二氢黄酮醇类化合物, 化学名为 5, 7, 3', 4' 四羟基二氢黄酮醇。分子中有两个手性碳, 分别为 C₂^{*} 和 C₃^{*}, 理论上 有 4 个对映异构体, 各自的绝对构型和 CA 登记号分别为 I (C₂S, C₃S) [11003-33-9], II (C₂S, C₃R) [153666-25-2], III (C₂R, C₃S) [114761-89-6], IV (C₂R, C₃R) [480-18-2]。在植物中以苷元或苷两种形式存在。如从 *Genista corsica* 中分离出的花旗松素苷元^[1]; 从 *Ochma bed-domei* 中分离出 taxifolin-3-O- γ -thamnoside 苷^[2]。在一些植物中, 花旗松素母核羟基被甲基化, 如: 5-methoxytaxifolin^[1]。花旗松素最早由日本学者 Fukui 从针叶植物 *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Endl. 叶中提取出来^[3], 为一种葡萄糖苷的苷元。随后他又研究了它的 3-O-葡萄糖苷在针叶植物中的分布以及细菌存在下苷键的水解。以后又有人从多种植物中分离出花旗松素及其衍生物。

花旗松素具有许多重要的生物学活性。能够抑制和激活多种酶, 从而产生不同的生理效应。由于其含有较多的酚羟基, 具有抗氧化、抗辐射作用。工业上用做食品添加剂。此外, 还具有抗病毒和抗肿瘤活性。

1 花旗松素的生物活性及其潜在的临床价值

1.1 通过调节酶的活性, 影响脂代谢: 研究表明^[4], 花旗松素能降低肝脏脂肪的合成, 这种作用与降低 apolipoprotein B (Apo B) 和增加 apolipoprotein A-I (Apo A-I) 的分泌有关。在研究中, 研究者测定了 Hep G₂ 细胞中 Apo B 和 Apo A-I 合成和分泌的量; 该细胞用花旗松素初步处理后发现, 能抑制细胞内胆固醇的合成, 并且有剂量和时间依赖性; 在浓度 200 μ mol/L, 观察 24 h, 抑制 8% \pm 3%。研究表明花旗松素使 HM G-CoA 还原酶的活性受到抑制 47% \pm 7%。另外, 细胞中胆固醇的酯化, 三酯酰甘油和磷脂的合成也被有效抑制。通过研究 Apo B 和 Apo A-I 合成和分泌发现, Apo B 分泌减少了 6% \pm 8%, 相反 Apo A-I 分泌增加了 36% \pm 8%。而且证实对其分泌的影响并不在转录水平, 而是影响了 Apo B 降解的早期步骤, 并对 dithiothreitol (DTT) 敏感, 而对 N-acetyl-leucyl-morleucinal 不敏感。设想, 该蛋白分解包含一个 DTT 敏感的蛋白酶, 花旗松素对酶活性的影响, 可能使其成为一种有效的影响体内血脂水平的药物。另外, 花旗松素还有激活磷酸二酯酶的活性^[5]。

1.2 对淋巴细胞的影响: Devi 等人研究了几种天然植物黄酮类化合物对两种人类淋巴组织衍生细胞系 IM-9 和 Molt-4

生长的影响^[6]。花旗松素等在 10~50 μ mol/L 对 Molt-4 和普通淋巴细胞的增殖产生不同程度的抑制, 但对非恶性细胞 IM-9 无影响; 且在 Molt-4 细胞中, IL-2 水平升高, 但普通淋巴细胞中则被抑制, 在 IM-9 细胞中保持不变。IL-2 分泌的水平直接同 Molt-4 细胞生长的抑制百分率相关。这一发现为花旗松素等天然多酚类化合物用于治疗恶性淋巴细胞病变提供可能。

1.3 对 HL-60 细胞的影响: Kawaii 等人通过 NBT (nitro blue tetrazolium) 减少、非特异性酯酶、特异性酯酶、噬细胞活性等指标, 研究了 27 种柠檬属植物黄酮诱导人类 HL-60 细胞的最后分化情况, 发现 10 种黄酮有诱导分化的特性。在 40 μ mol/L 时, NBT 细胞减少 40%。但其中花旗松素相比较活性最低。HL-60 细胞用这些黄酮处理 (治疗) 后分化成成熟的单核巨噬细胞^[7]。Kandaswami 等研究还发现^[8], 花旗松素能轻度抑制磷状细胞癌 (HTB43) 的生长 (8 mg/mL), 在浓度 2~8 mg/mL 内和缓地抑制 HTB43 细胞生长。

1.4 对病毒酶的抑制作用: Chu 等^[9]研究了几种黄酮对 Moloney 鼠白血球增多症病毒 (moloney murine leukemia virus) 反转录酶活性的效应。发现花旗松素 (+/- taxifolin) 对该病毒反转录酶表现出极高的抑制效应。通过结构活性关系分析后发现: 3 位和 4 位自由羟基的存在促进了反转录酶的抑制。1987 年, Biziagos 等人采用培养的肝炎 A 病毒 (HAV) cF53, 研究了花旗松素等数种物质对感染和细胞抗体的效应, 同时检测这些化合物对非感染细胞的毒性。在花旗松素等加入感染细胞 15 d 内, 引起浓度依赖的 HAV 感染抗体的减少, 在 59 μ g/mL 浓度时, 花旗松素能使感染病毒的滴度减少 0.771 lg 10^[10]。

1.5 对细胞内酶的影响: Viaduti 等研究发现花旗松素能诱导培养的人类皮肤成纤维细胞全酶活性 (所有繁殖相关的酶活性) 增加 2~4 倍, 而不改变细胞内外酶的分布。研究结果表明, 一些天然存在的黄酮 (如花旗松素) 能影响成纤维细胞溶酶体酶的内分泌和外分泌, 而且这类物质在人体的吸收量超过 1 g, 因此, 这些黄酮能有效的影响正常溶酶体酶的生理学特性。

1.6 抗氧化作用: 2000 年, Marozienne 等认为^[11], 多元酚的抗氧化作用与供电子效应的难易及亲脂性有关, 并列出了对两种黄酮类化合物近似的方程。Yun^[12]通过 MS, UV, NMR 分析认为花旗松素能有效的抑制小鼠肝微粒体的脂质过氧化。

* 收稿日期: 2002-05-08

作者简介: 乔 华 (1967-), 男, 甘肃兰州人, 主管药师, 生物化学硕士。兰州医学院第一附属医院临床药理基地从事临床药学工作。研究方向为药剂学、临床药理学、生物化学与分子生物学。Tel (0931) 3309867

Haraguchi 等发现^[13]花旗松素能保护线粒体免受过氧化基团的损伤,而对酶活性无影响。还能保护红细胞,有防止氧化溶血作用。Nakayama 等研究后指出^[14]:花旗松素能抑制活性氧 O_2^- 和 H_2O_2 对中国仓鼠 VPI 细胞产生的细胞毒,能抑制 O_2^- 和 H_2O_2 引起的克隆数量降低。Sugihara 等在研究被不同浓度 (20~500 μ mol/L) 金属粒子 Fe, Cu, V, Cd 诱导的依赖于脂质过氧化的肝细胞中 α -亚麻酸 (LNA) 的脂羟基过氧化 (LOOH) 过程中,发现花旗松素存在铁离子浓度依赖的抗或进一步被氧化的活性,但对其他被实验的金属离子只表现为抗氧化活性^[15]。

1.7 对小肠的影响:花旗松素在剂量为 100~200 mg/kg 时能减少肠蠕动 (23%~41%)^[16],这种活性能被 yohimbine (87%~96%) 和 phentamin (87%~91%) 所抑制,但不能被阿托品等对抗。这种效应与其分子结构有关,可能被肾上腺素- α 受体和钙介导。

1.8 其他活性:除上述作用外,花旗松素还能抑制糖醛还原酶^[17],但对 NADH 氧化酶不抑制。还对细胞色素 C 有较弱的还原作用,从而抑制线粒体内氧化呼吸链的传递^[18]。另外, Jurado 在 L-arabonose 前突变实验中发现,花旗松素剂量为 1.626 nmol 时存在诱变活性。Ferriola 等研究发现花旗松素对鼠脑蛋白激酶 C 存在微弱的抑制作用。此外,还可能存在抗炎活性。

2 花旗松素在食品添加剂领域的应用

花旗松素的抗氧化特性和生物活性使其成为一种新的食品添加剂^[19,20]。目前已研制出从蔬菜等原材料中提取花旗松素的生产方法,且已积累了大量的系统化的生物活性数据。在食品工业领域的用途是:作抗氧化剂和不同类型药剂产品的生物活性添加剂。花旗松素的抗氧化特性可以同合成的或天然的抗氧化剂相媲美或优于许多现有的抗氧化剂。且对胎儿无毒,无致畸、致过敏和致突变性。作为抗氧化剂,可用于植物油、动物油、奶粉,含脂糕点等食品。药学领域可用于氧化胁迫类疾病(心血管病、野马肺等)。因此,花旗松素有可能成为一种有用的工业食品添加剂。此外, Nanayakkava 还发现^[21]花旗松素衍生物:3-乙酸酯是一种有效的甜味剂,表明其系列衍生物将有可能成为一种潜在的无热量的一类新型甜味剂。

3 前景展望

花旗松素的抗氧化特性和对不同酶活性的影响,为其在调节脂代谢、抗脂质过氧化、抗病毒、抗肿瘤等医学领域和食品添加剂领域广泛应用提供了前提条件。随着对其生物活性研究的进一步深入,必将为其在医学领域广泛应用打下坚实基础,也为其在工业领域的应用开辟广阔空间。

References

[1] Pistelli L, Giachi I. A new isoflavone from *Genista corsica* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 504-506.
 [2] Jayaprakasam B, Damu A G, Rao K V. 7-O-methyltetrahydrochrysoflavone, a new biflavanone from *Ochna beddomei* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 507-508.
 [3] Fukui Y, Nakadome K, Anyoshi H. Isolation of a new taxifolin glucoside from the leaves of *Chamaecyparis obtusa*

Endlicher [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1966, 86(3): 184-187.

- [4] Theriault A, Wang Q, Van Iderstine S C. Modulation of hepatic lipoprotein synthesis and secretion by taxifolin [J]. *J Lipid Res*, 2000, 41(12): 1969-1979.
 [5] Kuppusamy U R, Das N P. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes [J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, 44(7): 1307-1315.
 [6] Devi M A, Das N P. *In vitro* effects of natural plant polyphenols on the proliferation of normal and abnormal human lymphocytes and their secretions of interleukin-2 [J]. *Cancer Lett*, 1993, 69(3): 191-196.
 [7] Kawai S, Tomono Y, Katase E. Effect of citrus flavonoids on HL-60 cell differentiation [J]. *Anti Cancer Res*, 1999, 19(2A): 1261-1269.
 [8] Kandaswami C, Pekins E, Drzewiecki G. Differential inhibition of proliferation of human squamous cell carcinoma and embryonic fibroblast like lung cells in culture by plant flavonoids [J]. *Anti Cancer Drugs*, 1992, 3(5): 525-530.
 [9] Chu S C, Hsieh Y S, Lin J Y. Inhibitory effects of flavonoids on moloney murine leukemia virus reverse transcriptase [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(2): 179-183.
 [10] Biziagos E, Crunce J M, Passago J. Effect of antiviral substances on hepatitis A virus replication *in vitro* [J]. *J Med Virol*, 1987, 22(1): 57-66.
 [11] Marozziene A, Kliukiene R, Sarluskas J. Inhibition of phthalocyanine-sensitized photohemolysis of human erythrocytes polyphenolic antioxidants: description of quantitative structure-activity relationships [J]. *Cancer Lett*, 2000, 157(1): 39-44.
 [12] Yun B S, Lee I K, Kim J P. Lipid peroxidations inhibitory activity of some constituents isolated from the stem bark of *Eucalyptus globulus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23(2): 147-150.
 [13] Haraguchi H, Mochida Y, Sakai S. Protection against oxidative damage by dihydroflavonols in *Engelhardtia chrysolepis* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1996, 60(6): 945-948.
 [14] Nakayama T, Yamada M, Osawa T. Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids [J]. *Biochem Pharmacol*, 1993, 45(1): 265-267.
 [15] Sugihara N, Arakawa T, Ohnishi M. Anti- and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(11-12): 1313-1323.
 [16] Di Carlo G, Autore G, Izzo A A, et al. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationship [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1993, 45(12): 1054-1059.
 [17] Uda Y, Price K R, Williamson G. Induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in murine hepatoma cells *in vitro* by flavonoids [J]. *Cancer Lett*, 1997, 120(2): 213-216.
 [18] Moini H, Arroyo A, Vaya J. Bioflavonoid effects on the mitochondrial respiratory electron transport chain and cytochrome C redox state [J]. *Redox Rep*, 1999, 4(1-2): 35-41.
 [19] Tiukavkina N A, Rulenko I A, Kolesnik I A. Dihydro-

quercetin a new antioxidant and biologically active food additive [J]. *Vopr Pitan*, 1997(6): 12-15.

[20] Tiukavkina N A, Rulenko I A, Kolesnik I A. Natural flavonoids as dietary antioxidants and biologically active

additives [J]. *Vopr Pitan*, 1996 (2): 33-38.

[21] Nanayakkara N P, Hussain R A, Pezzuto J M. An intensely sweet dihydroflavonol derivatives based on a natural product lead compound [J]. *J Med Chem*, 1988, 33(6): 1250-1253.

盾叶薯蓣资源、成分及组培学研究进展

康阿龙¹, 孙文基^{1*}, 汤迎爽², 庞来祥³, 黄黎明³, 陈千良¹

(1. 西北大学 生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069; 2. 解放军第 323 医院, 陕西 西安 710054

3. 解放军第 451 医院, 陕西 西安 710054)

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright 又名黄姜, 火头根。为我国特有的薯蓣品种(薯蓣科薯蓣属根状茎组)。其根茎内薯蓣皂素的含量最高达 16.15%^[1], 是目前世界上最好的激素类药源植物。具有清肺止咳、利湿通淋、通络止痛、解毒消肿的功能, 可治肺热咳嗽、湿热淋痛、风湿腰痛、痈肿恶疮、跌打扭伤、蜂螫虫咬^[2]。其水溶性甙体皂苷成分对心肌缺血、胸痹、高脂血症等具有明显治疗作用^[3]。

1 资源

盾叶薯蓣分布于东经 98°53'~112°50', 北纬 23°42'~34°10' 内。生长在河谷及低、中山丘陵的落叶阔叶与常绿阔叶混交林或稀疏的常绿林的灌木林内。由于长期大量采挖, 野生资源日益衰竭, 质量下降(皂素含量从 2% 降至 1%, 皂素熔点低于 195℃), 因此, 近年来对其引种栽培日益受到重视。周雪林等^[4]对野生盾叶薯蓣的资源进行了调查, 并进行了引种试验, 发现野生盾叶薯蓣以四川盆地和云贵高原为界可分成不连续的两片, 一片分布于横断山脉地区的金沙江、澜沧江、怒江沿岸峡谷地带, 主要是云南和四川西南部; 另一片分布在秦岭以南, 南岭以北的大巴山、武当山、米仓山等地区和嘉陵江、汉水、沅江、资水等流域的低、中丘陵地带, 主要是湖南、湖北、陕西南部、甘肃东南部和四川东部, 其中以湖北西北部的武当山地区和陕西南部的安康、石泉一带分布的盾叶薯蓣所含皂素较高。有性(种子)和无性(根茎)繁殖试验均获得成功, 温度是种子繁殖的主要影响因素(20℃~25℃最适宜)。根茎繁殖操作简便, 成苗率高, 生长健壮, 凡带有芽头的根茎都能发芽正常生长。周雪林等^[5]还对盾叶薯蓣进行了多年引种栽培的研究, 掌握了它的生物特性, 总结出一套适合大田种植的栽培技术。对四地(南京、江苏宜兴、江苏大丰、浙江仙居)栽培根茎的生长量、皂素含量进行了比较, 结果以浙江仙居二年生栽培品单株生长量最高达 550.2 g; 皂素含量以江苏宜兴三年生栽培品最高, 达 5.39%。怀志萍等^[6]采用简单相关、多元回归及逐步回归分析等方法对我国湖南、湖北等 27 个县的盾叶薯蓣皂素含量与 7 个气候生态

因子的关系进行了分析研究, 结果表明, 年降水量和年平均 5 cm 土温为影响盾叶薯蓣皂素含量的主要因素; 盾叶皂素的合成与积累的最适气候生态条件为: 年降水量 800~900 mm, 以 850 mm 最佳, 年平均 5 cm 处土温 15℃~17℃, 以 16℃最佳。从最适指标外推, 不难发现湖北的郧阳地区及陕西的白河、汉阴和西乡等县, 具备建立高含量基地的条件, 因此建议在那里大力发展盾叶薯蓣的栽种。我国现有的 3 个主要盾叶薯蓣栽培基地为湖北郧西 5 300~6 650 km², 陕西安康 3 300 km², 湖北安化 2 000~2 500 km²。但由于这些基地的产量和效益低下, 已严重制约着盾叶薯蓣人工栽培的发展。其原因是多方面的, 不科学的采收制度(1 年采收)是造成生产低产低效的直接原因之一, 只有改 1 年采收为 3 年采收或至少 2 年采收, 其产量、质量和经济效益在不改变其他栽培条件下, 才可能得到迅速增长^[7]。另外河南洛阳、南阳地区也有大面积栽培盾叶薯蓣^[8]。

2 化学成分

盾叶薯蓣根茎含薯蓣皂苷元(diosgenin)^[2], 又名皂素。它是目前世界上合成 300 多种甙体激素和避孕药的原料。刘承来等^[9]从其干燥根茎的乙醇提取物得到 4 个甙体化合物, 即表拔葵皂苷元(*epi-smilagenin*); 延令草次苷(*tillin*), 结构为 3-O-(β-D-葡萄糖吡喃糖)薯蓣皂苷元 [3-O-(β-D-glucopyranosyl) diosgenin]; 薯蓣皂苷元双葡萄糖苷(*diosgenin-diglucoside*), 结构为 3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖-薯蓣皂苷元 {3-O-β-D-glucopyranosyl(1→4)-β-D-glucopyranosyl]-diosgenin}; 纤细皂苷(*gracillin*), 结构为 3-O-(β-D-葡萄糖吡喃糖(1→3)-[α-L-鼠李糖(1→2)]β-D-葡萄糖吡喃糖)-薯蓣皂苷元 {3-O-(β-D-glucopyranosyl(1→3)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)]β-D-glucopyranosyl)-diosgenin}。他们^[10]又从其新鲜根茎的甲醇提取物分离到薯蓣皂苷元棕榈酸酯(*diosgenin palmitate*), β-谷甾醇(β-sitosterol), 纤细皂苷(*gracillin*), 原纤细皂苷(*protograccillin*)和原盾叶皂苷(*protozingiberensissaponin*), 其中原盾叶皂苷为一

* 收稿日期: 2001-10-31

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室项目(2001年)

作者简介: 康阿龙(1972-), 男, 主管中药师, 1994年毕业于陕西中医学院中药专业, 工作于解放军第 451 医院, 现为西北大学在职硕士研究生, 主要研究方向: 中药鉴定与资源开发、中药制剂工艺、质量标准研究。Tel: (029) 7789267(0)

* 通讯作者