

黄酮类化合物的促氧化作用及其细胞毒性研究进展

龚金炎¹, 洪辉², 吴晓琴¹, 张英^{1*}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310029;

2. 杭州尤美特科技有限公司, 浙江 杭州 310009)

摘要: 黄酮类化合物是植物化学素中的重要类别, 其膳食摄入对人体心脑血管保护和健康维护具有特殊意义。随着研究的深入, 不断发现黄酮类化合物在一定条件下存在促氧化作用和细胞毒性。对近年来国内外有关黄酮类化合物促氧化作用与细菌毒性及其构效关系的研究进行了综述, 以期对植物黄酮在天然药物和功能食品领域的靶向性开发提供科学依据。

关键词: 黄酮类化合物; 植物化学素; 促氧化作用; 细胞毒性

中图分类号: R285 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)12-1905-05

Advances in study on prooxidation and cytotoxicity of flavonoids

GONG Jin-yan¹, HONG Hui², WU Xiao-qin¹, ZHANG Ying¹

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. Hangzhou U-mate Co., Ltd., Hangzhou 310009, China)

Key words: flavonoids; phytochemicals; prooxidation; cytotoxicity

黄酮类化合物广泛分布于蔬菜、水果及药用植物中, 是一类具有 C₆-C₃-C₆ 母核的植物次生代谢产物, 按其结构可分为黄酮、黄酮醇、黄烷醇、黄烷醇、异黄酮、双黄酮、花青素、查耳酮等 10 余个类别。至 2002 年底, 自然界已鉴定出的黄酮类化合物达 8 000 多个^[1]。大量的研究发现黄酮类化合物具有抗氧化、抗 HIV、抗辐射、扩张血管、降血糖、抗肿瘤、抗抑郁等多种生理和药理活性^[2-5]。

由于黄酮类化合物在维持人体健康和预防心脑血管疾病方面所起的重要作用, 其作为保健食品功能成分、膳食补充剂和食品添加剂的应用日渐增多。随着人群暴露量的不断增大, 全面、客观地了解和评价其食用安全性显得愈来愈重要和迫切。已有不少体外评价实验和动物试验发现某些黄酮类化合物具有毒性^[1,6], 且其毒性与促氧化作用密不可分^[7-10]。本文对黄酮类化合物促氧化作用与细胞毒性以及构效关系作一综述, 以期对植物黄酮在天然药物和功能食品领域的靶向性开发提供科学依据。

1 黄酮类化合物的促氧化作用

黄酮类化合物具有抗氧化和促氧化的双重作用。大部分黄酮类化合物特别是高浓度时, 具有明显的促氧化作用。黄酮类化合物的还原形式主要起抗氧化作用, 其氧化形式半苯醌(*O*-semiquinone)、苯醌(*O*-quinone)和甲基醌(quinone methides)有很强的促氧化作用, 会导致谷胱甘肽(GSH)减少, 与尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸[NAD(P)H]和其他细胞还原剂的协同氧化, 并伴随活性氧(ROS)的产生^[7]。

1.1 黄酮类化合物自身引起的促氧化作用: 有些多酚类物质(包括黄酮类化合物)暴露在空气中会慢慢氧化, 其促氧化作用随着浓度的增加而加强; Cu²⁺的存在, 能使促氧化作用增强^[8]。

槲皮素(querctetin)作为黄酮类化合物促氧化作用的研究代表物, 3 大结构特征使其具有典型的抗氧化和促氧化的潜力: ①拥有儿茶素的结构, 即含有 3' 和 4' 位羟基; ②4 位拥有羰基和 3, 5 位两个羟基; ③2 和 3 位间含有双键^[7]。在许多氧化过程中, 槲皮素吸收一个或两个 H· 形成半苯醌和苯醌, 而半苯醌和苯醌的活性形式直接与 DNA 的氧化损伤有关^[9]。在高浓度时(>0.2 mmol/L)槲皮素会促进 O₂⁻ 和 H₂O₂ 的产生, 导致活性酶 SH-基团的氧化^[10]。37℃ 时, 槲皮素在 50 μmol/L 的剂量下作用 2 h 能显著抑制胰腺 β 细胞的增殖, Lapidot 认为这与产生 H₂O₂ 有关^[11]。

1.2 过渡态金属离子导致的促氧化作用: Cu²⁺、Fe³⁺ 等过渡金属离子是黄酮类化合物促氧化作用的最重要因素。在 O₂ 存在下, 过渡态金属离子刺激黄酮类化合物氧化, 导致活性氧自由基和其他自由基的形成, 进而损伤 DNA、脂质和其他生物大分子, 导致诱变、致癌^[12]。

黄酮类化合物促氧化的能力依赖于其还原金属、螯合金属和氧化 O₂ 的能力^[12]。Cu²⁺ 可催化黄酮类化合物氧化的最初步骤是把黄酮类化合物氧化为半苯醌和形成 Cu⁺, 半苯醌将 O₂ 氧化成 O₂⁻, 并伴随苯醌的产生, 其过程以槲皮素为

收稿日期: 2008-06-25

基金项目: 浙江大学曹光彪高科技发展基金(2008ZD005)

作者简介: 龚金炎, 男, 博士研究生, 研究方向为天然产物研究与开发。 Tel: (0571)86971388 E-mail: gongjinyan1982@163.com

* 通讯作者 张英 Tel: (0571)86049803 E-mail: yzhang@zju.edu.cn

例^[13],见图 1。 Cu^+ 进一步与 O_2^- 反应,形成 H_2O_2 和 Cu^{2+} , Cu^{2+} 可与 H_2O_2 产生高浓度的 $\cdot\text{OH}$,它会导致 DNA 链的断裂和在 8 位与鸟嘌呤反应形成 8-OH-2'-脱氧鸟苷^[14]。槲皮素也能和 DNA、 Cu^{2+} 一起形成三重复合体,并发生氧化还原反应,将 Cu^{2+} 转变成 Cu^+ , Cu^+ 可以诱导产生各种 ROS^[15]。

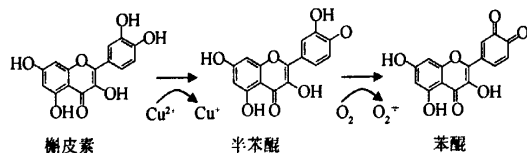
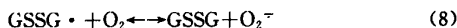
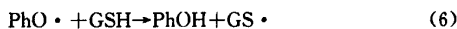
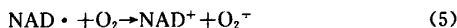
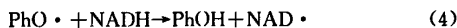
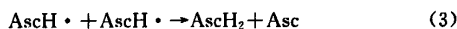
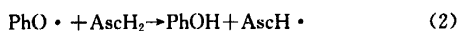
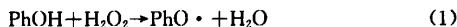


图 1 槲皮素在过渡态金属离子的促进下形成半苯醌和苯醌的过程

Fig. 1 Quercetin metabolic pathway for activation to O-semiquinone and O-quinone by transition metal ions

1.3 过氧化物酶导致的促氧化作用:过氧化物酶能作用于黄酮类化合物产生苯醌和甲基醌,并对细胞产生毒性^[15]。乳过氧化物酶促进槲皮素氧化,在 Zn^{2+} 促进下,产生半醌复合物^[16]。当 H_2O_2 存在时,髓过氧化物酶促进黄酮类化合物氧化,增强其毒性。HL-60 细胞中,过氧化物酶促进高浓度($\geq 50 \mu\text{mol/L}$)的芹菜素(apigenin)产生半醌和 ROS,对 HL-60 细胞产生毒性^[17]。当存在少量 H_2O_2 时,过氧化物酶会促进苯酚类黄酮化合物(B 环上只含一个羟基,PhOH)的氧化,如芹菜素、柚皮素(naringenin),产生大量的半醌自由基($\text{PhO}\cdot$),使 NAD(H)、Vc (AscH_2)和谷胱甘肽(GSH)氧化^[17]。过氧化物酶促进黄酮类化合物单电子氧化产生自由基的过程,见反应式(1~8)^[18]。黄酮类化合物二电子氧化产生苯醌和苯醌甲基物的过程,以槲皮素为例,见图 2^[18]。



1.4 黄酮类化合物对 GSH 消耗作用:GSH 的浓度对人体抗氧化防御体系至关重要。某些黄酮类化合物在一定条件下会降低 GSH 浓度和 GSH 还原酶的活性,削弱人体氧化防御能力,显示一定的促氧化作用^[19]。如槲皮素、木犀草素(luteolin)、非瑟酮(fisetin)在无氧或不激活的条件下,会消耗 GSH。在摄入槲皮素情况下,无论是否摄入 V_E ,大鼠肝细胞中的 GSH 浓度都显著降低($P < 0.05$),GSH 还原酶的活性也有下降并呈量效关系^[18]。其他体外试验也发现,芹菜素诱导肝细胞中 GSH 损耗,产生 GSSG,也呈量效关系;槲皮素、杨梅酮(myricetin)等也能降低肝细胞的 GSH 浓度,但不产生 GSSG^[18]。研究显示,每天摄入槲皮素 20 mg 可显著降低大鼠肝细胞的 GSH 浓度和 GSH 还原酶活性($P < 0.05$),同

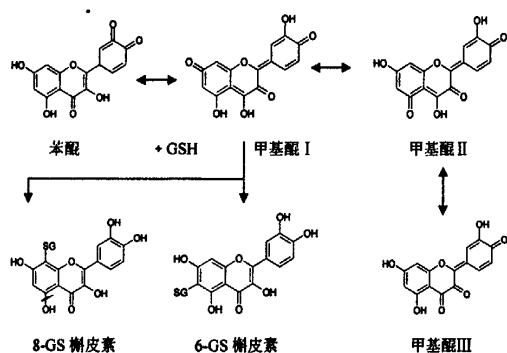
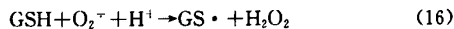
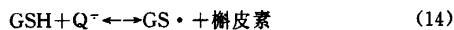
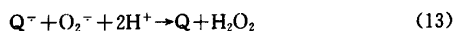
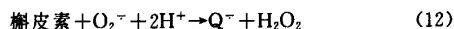
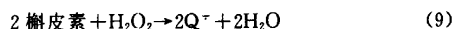


图 2 槲皮素的苯醌及其甲基醌和 GSH 的加合反应产物的结构

Fig. 1 Prooxidative metabolism of quercetin and structures of metabolites in presence of GSH

浓度的大豆苷元(daidzein)却没有这种作用;当两者同时摄入时,也无此效应,可见大豆苷元能抑制槲皮素的促氧化作用^[20]。但是,也有其他的实验证实,每天摄入 20 mg 大豆苷元会显著降低大鼠大脑中 GSH 的浓度^[21]。在过氧化物酶的作用下,槲皮素会促进 GSH 氧化消耗,消耗的过程见反应式(9)~(16)^[16]。



在过氧化物酶的催化下,苯酚类黄酮化合物,如芹菜素、柚皮素、柚皮苷(naringin)等能与 GSH 协同氧化,并产生 ROS,过程见反应式(6)~(8)。而含儿茶素结构的黄酮类化合物却不能与 GSH 协同氧化^[22]。黄酮类化合物对 GSH 的协同氧化作用,与其单电子氧化还原电势有关,只有氧化还原电势超过了协同反应所需的 850 mV,才有可能促使协同氧化的发生。橙皮素(hesperitin)和山奈酚(kaempferol)正是由于其单电子氧化还原电势低的原因没被激活,包含儿茶素结构的黄酮类化合物也是因为这个原因不能与 GSH 协同氧化,但是它们消耗部分 GSH 无需氧化或者无 GSSG 的形成^[22]。

槲皮素、木犀草素、山奈酚等黄酮类化合物会与 GSH 形成单个或者多个复合物,而芹菜素、柚皮素不能。MS/MS 扫描发现槲皮素、木犀草素与 GSH 单个共价物的[M+H]⁺分别在 m/z 608 和 592。¹H-NMR 扫描发现,槲皮素和 GSH 形成的加合物在槲皮素的 A 环上。紫外扫描发现在生理 pH 条件下,木犀草素和 GSH 形成的加合物在 260 nm 有最大吸收;而槲皮素、山奈酚和 GSH 形成的加合物最大吸收波长在 335 nm^[23]。在黑色素瘤细胞中,槲皮素和 GSH 形成加合物,其最先在细胞内形成,随后排出细胞,主要有两种类型的加合物,

分别是6-GS槲皮素和8-GS槲皮素^[24],结构见图2。在过氧化物酶的作用下,3'-O-甲基槲皮素、4'-O-甲基槲皮素和GSH也生成6和8位的加合物^[25]。

2 影响黄酮类化合物促氧化作用的因素

影响黄酮类化合物促氧化作用的因素颇多,包括黄酮类化合物的种类和浓度、过渡态金属离子的种类和浓度、体系pH值等。

在没有 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 或 Fe^{3+} 的条件下,槲皮素对DNA没有损伤作用。槲皮素在低浓度时,有促氧化作用,并依赖于 Cu^{2+} 的浓度;但在高浓度 Cu^{2+} 条件下,却无促氧化作用^[26]。在低浓度 Cu^{2+} 条件下($<5\text{ }\mu\text{mol/L}$),槲皮素浓度小于 $2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时有促氧化作用;当槲皮素浓度大于 $2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时却显示抗氧化作用,Filipe认为槲皮素促氧化与抗氧化作用的临界点可能在 $1.5\text{ }\mu\text{mol/L}$ 左右^[26]。当槲皮素浓度为底物浓度的2倍左右时,促氧化作用最强,当远离底物浓度2倍时,DNA损伤作用反而会降低^[27]。在 Cu^{2+} 存在下,槲皮素会导致DNA链的断裂和在8位与鸟嘌呤反应形成8-OH-2'脱氧鸟苷,而 Fe^{3+} 存在下没有这种作用,这可能归因于 Cu^{2+} 优于 Fe^{3+} 与DNA的G和GC形成共价键有关^[28]。

苯醌和甲基醌的形成非常迅速,它们有与DNA共价结合的能力,是槲皮素与DNA作用导致基因突变的主要原因。在 H_2O_2 /过氧化物酶条件下,槲皮素与细胞内DNA和蛋白质的共价现象已经在体外试验得到了证实^[29]。而氧化的条件(如 H_2O_2 和辣根过氧化物酶的量)显著影响槲皮素($25\text{ }\mu\text{mol/L}$)和人血清蛋白($13.8\text{ }\mu\text{mol/L}$)的共价能力,但在细胞内添加 $5\text{ }\mu\text{mol/L}$ GSH会显著抑制共价物的形成^[30]。

体系pH 7.4时,山奈酚-7-新橙皮糖苷(kaempferol-7-neohesperidosid)促进DNA的降解和去氧核糖的降解,活性很强,pH 5.8时其活性减弱^[31]。体系pH 6.0时,杨梅酮会促使羟基自由基产生,并随着pH值上升至7.4和8.0,羟基自由基的数量显著上升,槲皮素和非瑟酮也有类似效果^[32]。

3 黄酮类化合物促氧化作用引起的毒性

黄酮类化合物促氧化作用产生的活性氧自由基和其他自由基,对生物体细胞具有毒性。但是,放射治疗和临床使用的抗癌药物阿霉素、丝裂霉素C,都是通过增加ROS水平破坏肿瘤细胞的。因此,黄酮类化合物对肿瘤细胞的毒性作用,具有一定的积极意义。

3.1 促氧化作用导致的致癌性和遗传毒性:在高浓度时,一些黄酮类化合物成为促氧化剂,产生自由基,造成DNA损伤,包括槲皮素在内的大部分黄酮醇在Ames试验及其他体外试验中都表现出了遗传毒性^[6]。某些黄酮化合物的促氧化作用能损伤人红细胞膜蛋白的构象^[33]。

在 Cu^{2+} 存在下,黄酮类化合物与DNA交互,导致广泛的DNA损伤,包括氧化修正、链的断裂和形成DNA加合物^[12]。曾报道槲皮素在有氧条件下,导致老鼠肝脏细胞核和小牛胸腺苷DNA的降解,并呈量效关系,这种作用在 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 存在下得到加强,研究者认为这与黄酮醇的自动氧化、产生ROS密不可分^[29]。在 Cu^{2+} 存在下,槲皮素可诱导人

瘤抑制基因p53的DNA损伤,DNA损伤的位置在胸腺嘧啶和胞嘧啶上,这些特定位置和抑制作用显示DNA-铜-氧复合体的损伤作用强于 $\cdot\text{OH}$ 引起的损伤^[26]。

曾报道长期摄入过量的槲皮素会引起雄性大鼠肾小管腺癌、癌和膀胱癌^[26]。Oikawa等^[34]研究显示在过渡态金属离子参与下,儿茶素对人体细胞内DNA和游离DNA可产生损伤作用,还能增加化学致癌剂产生的大鼠肠癌发生风险。含1%或0.1%绿茶儿茶酚的膳食能促进F344雄鼠的结肠肿瘤生长,但在此试验条件下对肺癌和甲状腺癌却没有影响^[35]。染料木黄酮(genistein)在体外仓鼠胚胎细胞模型中能诱导细胞分化,并有一定的致突变效果^[36]。

Matsuo等^[37]评价了芹菜素、圣草酚(eriodictyol)、3-羟基黄酮(3-hydroxyflavone)、山奈酚、木犀草素、柚皮素、槲皮素、芦丁(rutin)和二氢槲皮素(taxifolin)等黄酮类化合物对人肺胚胎纤维原细胞(TIG-1)和人脐静脉细胞(HUVE)的毒性。在接触24h后,一些黄酮类化合物在高浓度有显著的毒性,并呈量效关系;3-羟基黄酮、木犀草素和芹菜素对TIG-1的毒性高于其他黄酮类化合物,木犀草素、槲皮素和3-羟基黄酮对HUVE的毒性比其他黄酮强,发现木犀草素和芹菜素、3-羟基黄酮、槲皮素、山奈酚在细胞内产生的ROS明显增加。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)比表儿茶素(EC)更有效地还原 Cu^{2+} ,产生更多的ROS,EGCG会使超螺旋pBR322质体DNA完全降解成线性和不断增多的片断,而EC使其转变成圆形,一些线性和小片段^[13]。

3.2 黄酮类化合物促氧化作用带来的抗癌效应:在人大肠癌HT-29细胞中,细胞凋亡速率与线粒体中产生 O_2^- 的速率有关。由于黄酮类化合物的作用,乳酸盐和丙酮酸盐在线粒体中氧化增强,当肉毒碱以十六酰肉毒碱形式出现时,线粒体中会产生大量的 O_2^- ,并促进肿瘤细胞凋亡^[38]。在Jurkat细胞培养中, $50\sim 200\text{ mg/L}$ 的黄芩苷(baicalin)能导致细胞凋亡,并呈量效关系^[39]。在HL-60细胞中,槲皮素、杨梅酮、二氢槲皮素、桑色素(morin)、橙皮素、山奈酚和柚皮素的 CL_{50} 分别为(120 ± 20)、(20 ± 5.0)、(600 ± 150)、(250 ± 40)、(500 ± 100)、(125 ± 20)和(700 ± 100) $\mu\text{mol/L}$,增加它们的亲脂性就会增强其毒性,显然是多酚穿过细胞膜进入细胞后产生毒性^[14,16,18]。

4 构效关系

黄酮类化合物的促氧化作用不仅与其浓度和环境条件有关,与其本身的结构,如含有羟基的数目和位置、黄酮类化合物的种类以及羟基的衍生化密切相关。

4.1 黄酮类化合物的羟基数目及其位置对促氧化活性的影响:在 Cu^{2+} 存在下,黄酮类化合物的促氧化作用依赖于黄酮骨架上存在的羟基数目和位置。通常认为相同骨架的黄酮类化合物的促氧化活性与其羟基的数量成正比。而对于羟基的位置,普遍认为4'位的羟基和3'、4'位的邻二羟基对促氧化作用贡献巨大。

没有或仅有一个羟基的黄酮,检测不到促氧化活性,山奈酚、槲皮素和杨梅酮,分别有4、5和6个羟基,拥有很强的

促氧化活性,槲皮素和杨梅酮最大的促氧化活力为71和91个单位^[40]。

4.2 不同的黄酮类化合物种类对促氧化活性的影响:2,3位含有双键以及3位上含有羟基有利于黄酮醇(槲皮素等)被氧化成苯醌中间体,B环上的质子会给出3位羟基成酮类异构,产生促氧化作用^[41]。在 Cu^{2+} 存在的条件下,2,3位的双键和4位的羰基会加强ROS的产生^[42]。A环和B环的连接方式对黄酮类化合物抗氧化作用没有影响,但在 Cu^{2+} 诱导下,对促氧化作用影响显著^[40]。

在一般的情况下,促氧化作用较强的黄酮类化合物依次为:黄酮醇、黄酮、黄烷醇、黄烷酮。黄酮醇中促氧化作用较强的化合物主要有:槲皮素、杨梅酮、桑色素、山柰酚、3-羟基黄酮、非瑟酮、高良姜素(galangin);黄酮为:芹菜素、木犀草素、白杨素、芦丁、黄芩素(baicalin)、黄芩苷、金合欢素;黄烷醇为:二氢槲皮素;黄烷酮为:柚皮素、橙皮素、圣草酚、柚皮苷。在相同的羟基个数条件下,黄酮促氧化能力强于黄烷酮^[40]。

杨梅酮和黄芩素被报道有促进 H_2O_2 产生的作用,以致产生大量的 $\cdot\text{OH}$ 。在杨梅酮的作用下,pBR322超螺旋质体会开裂和降解成小片段,槲皮素和非瑟酮、黄芩素和二氢槲皮素对DNA开链也非常有效,而高良姜素、金合欢素和白杨素却只显示微弱的活性,甚至没有^[28]。杨梅酮、槲皮素、非瑟酮显示很强的氧化裂解DNA活性,黄芩素和二氢槲皮素也有此作用,这些作用与质粒降解的结果一致^[28]。黄酮类化合物会与DNA加合,产生8-OH-2'脱氧鸟苷,按产生8-OH-2'脱氧鸟苷多少的顺序依次为:杨梅酮>槲皮素、黄芩素>非瑟酮>高良姜素,而金合欢素(acacetin)和白杨素几乎无此作用^[28]。

4.3 黄酮类化合物羟基衍生化的影响:羟基的甲基化和其他的修饰都会使抗氧化性和促氧化性削弱甚至消失。由于3和5位羟基的甲基化或糖基化,影响黄酮醇B环上的质子传递到3位羟基形成酮类异构,而形成苯醌异构体^[41]。槲皮素3或5位的羟基被甲基化后,其对沙门氏菌TA98的致突变率显著下降。同样,芦丁是槲皮素-3-芸香糖苷,其对沙门氏菌TA98的致突变率也显著下降^[42]。3'或4'位羟基被甲基化的槲皮素也会和GSH形成加合物,但是促氧化作用有所下降^[25]。山柰酚在3,4'位双甲基化或3,4'-7位-三甲基化,会使其促氧化作用下降,而减弱降解DNA的活性^[40]。

5 展望

人类膳食中含有丰富的黄酮类化合物。在美国人的膳食中,黄酮类化合物日摄入量在500~1 000 mg,当刻意补充时,量可达数克^[43]。在日常摄入黄酮类化合物时,血浆浓度可达0.4 $\mu\text{mol/L}$,这个浓度是安全的,也有预防心血管疾病作用^[26]。

但是,目前国内外已有多种黄酮类制剂被开发成保健食品、膳食补充剂和食品添加剂等,如以槲皮素为主要成分的膳食补充剂已在美国上市,其推荐日摄入量高达200~1 200 mg^[30],是人体正常膳食摄入量的10~60倍。随着新的植物黄酮类制剂的成功开发,黄酮类化合物的膳食暴露量不断加

大,这就需要关注产品不当使用时可能发生的促氧化作用,及由此带来的细胞毒性对人体可能造成的影响,以避免不良反应的发生。

虽然有关黄酮类化合物毒性的阳性结果大多来自于体外或动物实验,对于人群试验,只有在某些特定情况下才出现不良影响,而且日常膳食摄入黄酮类化合物的量往往低于上述体外和动物试验的剂量。然而,在任何天然产物的研究、开发和应用过程中,关注其正反两方面的生物学作用及其机制,尤其是关注“双向调节作用”,并选择其有效浓度范围和合适作用条件,趋利避害,不失为是一种科学、务实的态度。

参考文献:

- [1] 陆柏益,张英,吴晓琴. 黄酮类化合物的潜在毒性作用[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 533-536.
- [2] 焦晶晶,张英. 黄酮类化合物在防治糖尿病及其并发症方面的最新研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(7): 481-484.
- [3] 汤立建,赵良才,李庆林,等. 黄芩黄酮类成分抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 21-26.
- [4] 龚金炎,张英,吴晓琴. 黄酮类化合物体外抗病毒活性的研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(4): 623-627.
- [5] 王卫星,胡新颖,刘鹏,等. 金丝桃苷等10个天然黄酮类化合物的抗抑郁活性筛选研究[J]. 中草药, 2007, 38(6): 900-902.
- [6] 汪何雅,赵显峰,王茵,等. 黄酮类化合物的潜在毒性[J]. 卫生研究, 2007, 36(5): 640-642.
- [7] Nemeikaite-Ceniene A, Imbrasaitė A. Quantitative structure-activity relationships in prooxidant cytotoxicity of polyphenols: Role of potential of phenoxyl radical/phenol redox couple[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2005, 441(2): 182-190.
- [8] Fukumoto I R, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(8): 3597-3604.
- [9] Fiorucci S, Golebiewski J, Cabrol-Bass D, et al. DFT Study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes[J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(3): 903-911.
- [10] Schmalhausen E V, Zhlobek E B, Shalova I N, et al. Antioxidant and prooxidant effects of quercetin on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(10): 1988-1993.
- [11] Lapidot T, Walker M D, Kanner J. Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic β -cells in vitro[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(25): 7220-7225.
- [12] Sakihama Y, Cohen M F, Grace S C, et al. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants[J]. *Toxicology*, 2002, 177(1): 67-80.
- [13] Azam S, Hadi N, Khan N U, et al. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties[J]. *Toxicol In Vitro*, 2004, 18(5): 555-561.
- [14] Seredien E, Jonsson K, Szymusiak H, et al. Prooxidant toxicity of polyphenolic antioxidants to HL-60 cells: description of quantitative structure-activity relationships[J]. *FEBS Lett*, 1999, 462(3): 392-396.
- [15] Hadi S M, Bhat S H, Azmi A S, et al. Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: A putative mechanism for anticancer properties[J]. *Semin Cancer Biol*, 2007, 17(5): 370-376.
- [16] Metodiewa D, Jaiswal A K, Cenas N, et al. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product[J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 26(1-2): 107-116.
- [17] Miyoshi N, Naniwa K, Yamada T, et al. Dietary flavonoid apigenin is a potential inducer of intracellular oxidative stress: The role in the interruptive apoptotic signal[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 466(2): 274-282.
- [18] Galati G, Sabzevari O, Wilson J X, et al. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics[J]. *Toxicology*, 2002, 177(1): 91-104.
- [19] Choi E J, Chee K M, Lee B H. Anti-and prooxidant effects of chronic quercetin administration in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 482(1-3): 281-285.
- [20] Choi E J, Lee B H, Lee K, et al. Long-term combined ad-

- ministration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses [J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(5): 793-798.
- [21] Choi E J. The prooxidant, rather than antioxidant, acts of daidzein *in vivo* and *in vitro*: Daidzein suppresses glutathione metabolism [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 542(1-3): 162-169.
- [22] Galati G, Chan T, Wu B, *et al.* Glutathione-dependent generation of reactive oxygen species by the peroxidase-catalyzed redox cycling of flavonoids [J]. *Chem Res Toxicol*, 1999, 12(6): 521-525.
- [23] Galati G, Moridani M Y, Chen T S, *et al.* Peroxidative metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: glutathione oxidation and conjugation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(4): 370-382.
- [24] Awad H M, Boersma M G, Boeren S, *et al.* Identification of o-quinone/quinone methide metabolites of quercetin in a cellular *in vitro* system [J]. *FEBS Lett*, 2002, 520(1-3): 30-34.
- [25] van der Woude H, Boersma M G, Alink G M, *et al.* Consequences of quercetin methylation for its covalent glutathione and DNA adduct formation [J]. *Chem Biol Interact*, 2006, 160(3): 193-203.
- [26] Filipe P, Haigle J, Silva J N, *et al.* Anti-and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation quercetin as an effective. antioxidant against pro-oxidant effects of urate [J]. *Eur J Biochem*, 2004, 271(10): 1991-1999.
- [27] Yamashita N, Tanemura H, Kawanishi S. Mechanism of oxidative DNA damage induced by quercetin in the presence of Cu (I) [J]. *Mutat Res*, 1999, 425(1): 107-115.
- [28] Yoshino M, Haneda M, Naruse M, *et al.* Prooxidant activity of flavonoids: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA [J]. *Mol Genet Metab*, 1999, 68(4): 468-472.
- [29] Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca J F, *et al.* A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of *in vivo* toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(1): 2179-2205.
- [30] Kaldas M I, Walle U K, van der Woude H, *et al.* Covalent binding of the flavonoid quercetin to human serum albumin [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(10): 4194-4197.
- [31] Moran J F, Klucas R V, Grayer R J, *et al.* [J]. *Free Radic Biol Med*, 1997, 22(5): 861-870.
- [32] Silva I D, Gaspar J, da Costa G G, *et al.* Chemical features of flavonols affecting their genotoxicity. Potential implications in their use as therapeutic agents [J]. *Chem Biol Interact*, 2000, 124(1): 29-51.
- [33] 卢景芬, 李 霆, 金 铮, 等. 黄酮抗氧化和促氧化双重性初探(英) [J]. *Chin Pharm Sci*, 1999, 8(1): 15-20.
- [34] Oikawa S, Furukawa A, Asada H, *et al.* Catechins induce oxidative damage to cellular and isolated DNA through the generation of reactive oxygen species [J]. *Free Radic Res*, 2003, 37(8): 881-890.
- [35] Hirose M, Hoshiya T, Mizoguchi Y, *et al.* Green tea catechins enhance tumor development in the colon without effects in the lung or thyroid after pretreatment with 1,2-Dimethylhydrazine or 2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine in male F344 rats [J]. *Cancer Lett*, 2001, 168(1): 23-29.
- [36] Tsutsui T, Tamura Y, Yagi E, *et al.* Cell-transforming activity and mutagenicity of 5 phytoestrogens in cultured mammalian cells [J]. *Int J Cancer*, 2003, 105(3): 312-320.
- [37] Matsuo M, Sasaki N, Saga K, *et al.* Cytotoxicity of Flavonoids toward Cultured Normal Human Cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(2): 253-259.
- [38] Wenzel U, Nickel A, Daniel H. Increased mitochondrial palmitoylcarnitine/carnitine countertransport by flavone causes oxidative stress and apoptosis in colon cancer cells [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62(24): 3100-3105.
- [39] Ueda S, Nakamura H, Masutani H, *et al.* Baicalin induces apoptosis via mitochondrial pathway as prooxidant [J]. *Mol Immunol*, 2002, 38(10): 781-791.
- [40] Cao G, Sofic E, Prior R L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships [J]. *Free Radic Biol Med*, 1997, 22(5): 749-760.
- [41] Rietjens I M, Boersma M G, van der Woude H, *et al.* Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk [J]. *Mutat Res*, 2005, 574(1-2): 124-138.
- [42] Heim K E, Tagliaferro A R, Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. *J Nutr Biochem*, 2002, 13(10): 572-584.
- [43] Skibola C F, Smith M T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 29(3-4): 375-383.

当归中有效成分阿魏酸的生物合成及调控

刘 敬¹, 李文建^{1*}, 王春明², 顾红梅¹

(1. 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 作为我国传统中药材当归的有效成分之一, 含阿魏酸量的高低是决定当归品质的重要指标。现代分子生物学技术的发展为通过基因改造的方法提高当归品质提供了可能, 这需要对阿魏酸的生物合成途径有详细的了解。综述阿魏酸在植物体内的生物合成机制及生物调控研究现状, 为提高当归品质提供新的研究思路。

关键词: 当归; 阿魏酸; 生物合成; 基因

中图分类号: R282.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)12-1909-04

Biosynthesis and regulation of ferulic acid in *Angelica sinensis*

LIU Jing¹, LI Wen-jian¹, WANG Chun-ming², XIE Hong-mei¹

(1. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2. School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; ferulic acid; biosynthesis; gene

收稿日期: 2008-05-28

基金项目: 西部之光联合学者项目(0506160XLO); 中科院院地合作项目(0506040ZY0)

作者简介: 刘 敬(1976-), 女, 河北衡水人, 中国科学院近代物理研究所博士后, 主要从事分子生物学研究。

Tel: 13519314929 E-mail: liuj@impcas.ac.cn

* 通讯作者 李文建