

- [16] Li D, Mehta JL. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells; evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(4): 1116.
- [17] Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, et al. Oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL) binding to Ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF- κ B through an increased production of intracellular reactive oxygen species [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(17): 12633.
- [18] Li D, Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and
- [19] Aoyama T, Chen MY, Fujiwara H, et al. LOX-1 mediates lysophosphatidylcholine-induced oxidized LDL uptake in smooth muscle cells [J]. *FEBS Lett*, 2000, 467(2-3): 217.
- [20] Nagase M, Hirose S, Sawamura T, et al. Enhanced expression of endothelial oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in hypertensive rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 237(3): 496.
- [21] Chen HJ, Li D, Sawamura T, et al. Upregulation of LOX-1 expression in aorta of hypercholesterolemic rabbits: modulation by losartan [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(3): 1100.

(收稿日期: 2001-06-06)

大豆异黄酮的药理作用和保健功能的研究进展

李琳, 钱忠明* (香港理工大学应用生物及化学科技学系铁代谢实验室, 香港)

摘要: 目的 介绍大豆异黄酮药理作用和保健功能的研究进展。方法 总结近 10 余年(1990 年以来)发表的 SCI 相关文章并进行分析。结果 大豆异黄酮是一类具有雌激素样作用的非固醇类物质。近年它的其他作用也已相继被发现。大量研究显示, 这类物质具有多种保健和药理功效, 包括抗肿瘤、防止骨质疏松、抗胆固醇和心血管保护等作用。结论 雌激素样作用和抗氧化性质显示大豆异黄酮用于防治铁代谢紊乱引起的神经退行性疾病有良好前景。

关键词: 大豆异黄酮; 雌激素样作用; 抗氧化; 神经退行性疾病; 脑铁代谢

中图分类号: 284.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494(2002)10-0724-03

大豆异黄酮(soybean isoflavone)是一类具有广泛营养学价值、健康保护和治疗学意义的非固醇类物质。由于它能与雌激素受体结合, 具有雌激素样作用, 故称之为植物雌激素。随着近年研究的深入, 大豆异黄酮的其他作用也已被相继发现。这些新的发现使人们对大豆异黄酮对多种疾病包括肿瘤、心血管疾病、骨质疏松症和神经退行性疾病等的预防和治疗作用有了新的认识, 相关研究的兴趣也日渐增加。本文概要讨论了近年大豆异黄酮在保健和药理研究方面的进展。

1 化学结构及在体内的代谢和分布

异黄酮是黄酮醇类黄酮的一个亚型。黄酮醇化合物的基本结构是由一个杂环型的吡喃环连接着两个苯环(A 环和 B 环)形成黄酮核。黄酮醇类可分成黄酮类似物和异黄酮两类。大豆所含的异黄酮主要是三羟异黄酮(genistein)和二羟异黄酮(daidzein)以及其 β 葡糖苷(糖与 A 环第 7 号碳相连)形式(genistin 和 daidzin)。异黄酮在结构和功能上与雌激素有相似之处, 因此被认为是植物雌激素^[1]。摄入的异黄酮在肠道微生物作用下, 生物转换形成异黄酮葡糖苷, 再经绒毛吸收。三羟异黄酮与内源性雌激素一道参与肝胆循环。口服三羟异黄酮和二羟异黄酮后在血浆中仅发现少量结合型异黄酮。代谢后的异黄酮经尿液排除。摄入量增加, 排除

量也增加。一般饮食情况下, 成人血浆三羟异黄酮和二羟异黄酮浓度 $< 40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。日本男性血浆异黄酮的含量较高, 可达到芬兰男性的 7~110 倍, 部分人达到 $2.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[2]。最近, Chang 等^[3]对三羟异黄酮在体内的分布进行了药动学分析。动物分别接受缺乏大豆异黄酮及三羟异黄酮(500 和 $5100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 食物)饮食, 结果显示雌性、雄性动物的三羟异黄酮排出半衰期明显不同, 分别为 (4.26 ± 0.29) 和 $(2.97 \pm 0.14) \text{ h}$ 。曲线下面积(area under the concentration-time curve)也有显著差异, 雄性鼠为 $(22.3 \pm 1.2) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, 而雌性则为 $(45.6 \pm 3.1) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。内分泌-反应组织(endocrine-responsive tissues), 如脑、肝、乳腺、卵巢、前列腺、睾丸、甲状腺及子宫的三羟异黄酮浓度显示出显著的剂量依赖性。雌性动物肝脏三羟异黄酮含量最高($7.3 \text{ pmol} \cdot \text{mg}^{-1}$), 雄性动物脑含量最低($0.04 \text{ pmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)。

2 雌激素、抗雌激素和非雌激素样作用

长期以来, 人们就知道低浓度异黄酮具有很弱雌激素样作用(约为 17 羟 β 雌二醇的 $10^{-4} \sim 10^{-3}$)。给雌性小鼠皮下注射三羟异黄酮, 可抑制其子宫发育, 显示三羟异黄酮对雌激素有拮抗作用。在去卵巢小鼠, 不补充雌激素时, 大豆饮食可以增加动物子宫重量, 但对雌激素替代动物, 大豆饮食

基金项目: 香港政府 RGC(A/C; PolyU5270/01M/B- Q445)和香港理工大学研究基金(A/C; A-PC98, A-PC23 和 G12. XX. 93A2)

作者简介: 李琳, 男, 博士, 研究员 *通讯作者: 钱忠明, 男, 博士, 副教授 Tel: (852)27666694 E-mail: bczmqian@polyu.edu.hk

反使动物子宫重量降低^[4]。对这种矛盾现象的解释是,在一个高雌激素环境里(如绝经前妇女体内)三羟异黄酮显示激素拮抗作用,而在低雌激素环境里(如绝经后妇女体内)三羟异黄酮显示拟激素作用。异黄酮的激素拮抗作用机制可能是受竞争性抑制,异黄酮可能通过其它机制实现抗雌激素作用^[2]。在人体内究竟异黄酮是拟雌激素,还是抗雌激素,或是以其它形式发挥作用,是一相当复杂的课题,也引起了极大的关注。近年来,关于配体-雌激素受体复合物关系的研究^[5]及异黄酮特异结合的雌激素受体(β 受体)的发现^[6]有助于解释异黄酮作用的复杂性。除了拟雌激素、抗雌激素作用外,三羟异黄酮也具有抗氧化特性^[7]及增强转移生长因子 β (transforming growth factor, TGF β)的作用^[8],而且它也是多种信号传递酶抑制剂。可被三羟异黄酮抑制的酶包括酪氨酸蛋白激酶、微管相关蛋白激酶、核糖体 S6 激酶和 DNA 拓扑异构酶等^{9~10}。

3 主要药理作用和保健功能

3.1 抗肿瘤

大豆食品是中国、日本等亚洲国家的重要食物,这些国家激素依赖性疾病发病率相对较低^[11]。新加坡和日本两项大样本(分别为 620 例和 24349 例)流行病学调查显示,大豆饮食可降低绝经前妇女乳腺癌发病率。美国的研究(1554 例)显示,豆腐摄入与降低绝经前、后妇女乳腺癌发病率相关^[12]。在体及离体研究均证明,二羟异黄酮抑制白血病细胞 HL-60 生长,三羟异黄酮在 5 及 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时广泛抑制多个器官如乳腺、前列腺、大肠、皮肤的多种激素依赖性和非激素依赖性肿瘤细胞。在化学诱导的乳腺癌动物模型,大豆饮食明显降低肿瘤发生率,去除异黄酮后,大豆饮食的保护作用随之消失。三羟异黄酮所具有的抗肿瘤机制可能涉及到其抗氧化特性,抑制多种信号传递酶作用,及其增加具有抑制肿瘤作用的 TGF β 的功能。日前普遍认为单独服用异黄酮或配合化疗可能是一种有效的抗癌疗法^[13],因三羟异黄酮具有抑制成纤维细胞生长因子刺激微血管生成的作用,是一种抗血管形成剂。而抑制血管形成可以限制肿瘤生长。

3.2 预防骨质疏松

世界卫生组织的报告显示日本绝经后妇女骨质疏松及髌骨骨折发生率显著低于美国,并认为大豆饮食可能是其原因之一。然而,目前尚缺乏异黄酮增加骨密度的确切资料^[13]。研究发现,三羟异黄酮对去卵巢鼠骨发育可能具有双重性。饲喂低浓度三羟异黄酮($1\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}$)2 周对发育期小鼠,5 周对泌乳期小鼠及去卵巢诱发的骨变化有保护作用。Arjmandi 等^[14]研究了正常鼠、去卵巢加雌激素鼠、去卵巢加大豆($0.227\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 食物)鼠及去卵巢加酪蛋白鼠骨密度。结果显示,饲喂大豆鼠的骨密度低于补充雌激素鼠及正常鼠,但高于饲喂酪蛋白鼠。饲喂大豆鼠的第四腰椎骨密度与补充雌激素鼠相当,但高于正常鼠及饲喂酪蛋白鼠。这说明大豆饮食能增强去卵巢动物腰椎骨骨密度。临床研究显示,绝经后妇女每天口服大豆蛋白 40 g(每克含 2.25 mg 异黄酮蛋白),6 个月后其椎骨矿物质密度增加。当大豆蛋白中异黄

酮含量降到 $1.39\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 蛋白时,这种作用则消失^[15]。异黄酮的骨保护机制可能是多方面的。已有报道,三羟异黄酮可增加造骨细胞数目和血清骨钙素浓度。另一项研究显示三羟异黄酮可抑制破骨细胞合成,并认为这可能是三羟异黄酮抑制酪氨酸磷酸化的结果。雌激素抑制骨吸收,引起破骨细胞凋亡,该作用可为抗 TGF β 抗体所拮抗。由于三羟异黄酮具有增强 TGF β 作用,因此三羟异黄酮也可能通过具有细胞因子介导抑制骨吸收的作用。

3.3 降胆固醇和心脏保护作用

人们很早就已认识到大豆蛋白具有降胆固醇作用。有人对 38 项大豆蛋白降胆固醇作用研究进行了汇总分析,肯定了大豆蛋白能够降胆固醇的结论。每天摄入 47 g 大豆蛋白,可平均降低血清总胆固醇 $0.59\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (约 9.3%)。大豆蛋白的雌激素样特性与其降血胆固醇效应相关。研究已证明,雌激素缺乏可引致血清胆固醇增高,雌激素替代疗法可逆转之。大豆饮食可增加兔和大鼠的胆酸分泌,也可间接降低血胆固醇。最近的研究也证实,饲喂大豆的降血清胆固醇效应与增加总胆固醇排泄分泌相关。此外,大豆异黄酮的降血胆固醇作用也可能与血甲状腺素浓度改变相关。大豆异黄酮首先引起血甲状腺素浓度增高,然后是血胆固醇浓度降低,但二者间的因果关系尚待进一步研究确定。大豆异黄酮的心脏保护作用受益于动脉顺应性的改善。绝经前妇女摄入三羟异黄酮(45 mg/5~10 周)明显改善体动脉顺应性^[16]。饲喂低程度三羟异黄酮雌性短尾猿动脉对乙酰胆碱的反应是收缩,而饲喂高浓度三羟异黄酮的反应是舒张。给低浓度三羟异黄酮组静脉补充三羟异黄酮,则使本已收缩的血管扩张。大豆异黄酮对心血管保护作用的细胞机制可能还包括异黄酮对血管平滑肌细胞增殖、迁移的抑制作用;维持血管反应性作用;抑制细胞黏附;改变诸如血小板衍化生长因子和细胞因子等参与动脉粥样硬化斑块形成的特殊生长因子活性。研究也已证明异黄酮的抗脂质过氧化作用是其抗动脉粥样硬化的重要机制^[7]。

3.4 神经保护及抗神经退行性疾病

大量研究业已证明,雌激素是一种中枢神经保护剂,具有抗神经退行性疾病的作用。缺乏雌激素的保护易患阿尔茨海默病^[17]或帕金森氏病^[18]。White 等^[19]研究了中年人豆腐摄入与脑老化及智力损伤的关系,证明长期食用豆腐是一个保护老年人智力,减轻脑萎缩的独立因素。Trieu 和 Uckun 的研究^[20]显示,三羟异黄酮治疗肌萎缩脊髓侧索硬化有一定疗效。这种疾病是一种神经退行性疾病,有明显的性别差别(男女比例为 2:1)。病变广泛累及皮层、脑干、脊髓。三羟异黄酮治疗($16\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, bid)动物侧索硬化症模型动物,可有效地阻止雄性动物疾病的发展,而对雌性动物无显著疗效。说明三羟异黄酮可能具有内源性雌激素类似的神经保护作用。静脉注射四碘四氯荧光素诱发脑缺血性损伤,腹腔注射三羟异黄酮 $16\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 6, 24 h 后显示三羟异黄酮能缩小脑的坏死病灶。虽然三羟异黄酮对雌、雄动物均有保护作用,但对雄性动物的保护作用更为明显。离体外

周细胞的研究已证实大豆异黄酮具有明显的抗氧化作用^[7]。我们使用培养的神经元的初步研究也得到了同样的结果^[21]。除雌激素样作用外异黄酮的抗氧化功能可能是它能够保护神经的另一个重要机制。过量铁积聚导致氧化应激,进而导致神经细胞死亡已在许多神经退行性疾病证实^[22-23]。由于异黄酮具有雌激素样作用和抗氧化功能,因此,将异黄酮用于预防铁代谢异常引起的神经退行性疾病的前景是光明的。大豆异黄酮的抗氧化作用是多方面的。它能够抑制自由基形成,减弱脂质氧化,刺激抗氧化酶合成等。Ruiz-Larrea等^[24]的研究证明,三羟异黄酮的抗氧化活性大于二羟异黄酮。Wiseman等^[25]以8-epi-前列腺素F_{2α}(一种F₂-isoprostane, IsoPs)、氧化低密度脂蛋白为指标研究了大豆异黄酮在健康人的抗氧化作用。他们证明,接受高异黄酮食物者血浆8-epi-前列腺素F_{2α}浓度显著低于低异黄酮组。而且高浓度异黄酮食物更能明显地延迟低密度脂蛋白氧化时间。这些结果支持三羟异黄酮的抗氧化作用是其广泛的保护作用之基础的假说。

参考文献

[1] Boersma BJ, Patel RP, Kirk M, et al. Chlorination and nitration of soy isoflavones[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 368: 265.

[2] Adlercreutz H, Mazur W. Phyto-estrogens and western disease [J]. *Ann Med*, 1997, 29: 95.

[3] Chang HC, Churchwell MI, Delclos KB, et al. Mass spectrometric determination of genistein tissue distribution in diet-exposed Sprague-Dawley rats[J]. *J Nutr*, 2000, 130: 1963.

[4] Makela SI, Santti R, Salo L, et al. Phytoestrogens are partial estrogen agonists in the adult male mouse[J]. *Environ Health Perspect*, 1995, 103: 123.

[5] McDonnell DP, Norris JD. Analysis of the molecular pharmacology of estrogen receptor agonists and antagonists provides insights into the mechanism of action of estrogen in bone[J]. *Osteoporos Int*, 1997, 7: S29.

[6] Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β [J]. *Endocrinology*, 1997, 138: 863.

[7] Wei H, Bowen R, Cai Q, et al. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1995, 208: 124.

[8] Markowitz SD, Roberts AB. Tumor suppressor activity of the TGF- β pathway in human cancers[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1997, 7: 93.

[9] Constantinnou A, Kiguchi K, Huberman E. Induction of differentiation and DNA strand breakage in human HL-60 and K-562

leukemia cells by genistein[J]. *Cancer Res*, 1990, 50: 2618.

[10] Thorburn J, Thorburn T. The tyrosine kinase inhibitor, genistein, prevents α -adrenergic-induced cardiac muscle cell hypertrophy by inhibiting activation of the Ras-MAP kinase signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 202: 1586.

[11] Kim H, Peterson TG, Barnes S. Mechanisms of action of the soy isoflavone genistein; emerging role for its effects via transforming growth factor β signaling pathways[J]. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68: 1418S.

[12] Wu AH, Ziegler RG, Horn-Ross PL. Tofu and risk of breast cancer in Asian-Americans[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1996, 5: 901.

[13] Messina MJ. Legumes and soybeans; overview of their nutritional profiles and health effects[J]. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70: 439S.

[14] Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis[J]. *J Nutr*, 1996, 126: 161.

[15] Potter SM, Baum JA, Teng H, et al. Soy protein and isoflavone; their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women[J]. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(Suppl): 1375S.

[16] Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, et al. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 3392.

[17] Honjo H, Kikuchi N, Hosoda T, et al. Alzheimer's disease and estrogen[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2001, 76: 227.

[18] Dulzen DE, McDermott JL. Gender differences in neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system; implications for Parkinson's disease[J]. *J Genet Specif Med*, 2000, 3: 36.

[19] White LR, Petrovitch H, Ross GW, et al. Brain Aging and midlife tofu consumption[J]. *J Am Coll Nutr*, 2000, 19: 242.

[20] Trieu VN, Uckun FM. Genistein is neuroprotective in murine models of familial amyotrophic lateral sclerosis and stroke[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 258: 685.

[21] Ho KP, Li L, Qian ZM, et al. Genistein protects primary cortical neurons from iron-induced lipid peroxidation[J]. *Mol Cell Biochem*, 2002, in press.

[22] Qian ZM, Wang Q. Expression of iron transport proteins and excessive iron accumulation in brain in neurodegenerative disorders [J]. *Brain Res Rev*, 1998, 27: 257.

[23] Qian ZM, Shen X. Brain iron transport and neurodegeneration [J]. *Trend Mol Med*, 2001, 7: 91.

[24] Ruiz-Larrea M, Mohan A, Paganga G, et al. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones[J]. *Free Radic Res*, 1997, 26: 63.

[25] Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, et al. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F₂-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72: 395.

(收稿日期: 2002-03-05)

药物肠道吸收的生物学研究方法

李高, 方超 (华中科技大学同济药学院药剂教研室, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的 介绍目前药物肠道吸收的生物学方法。方法 对国内外有代表性的论文进行分析、整理和归纳。结果 综述了研究药物肠道吸收的生物学方法的基本操作步骤、要领和特点。结论 正确选用合适的研究方法, 综合实验结果和模型特点

作者简介: 李高 Tel: (027)83692892