

多花黄精活性成分生物合成途径研究进展

李翔 梁忠厚 曾智文 贺灵芝 阮晓玲

湖南环境生物职业技术学院, 中国·湖南 衡阳 421005

【摘要】多花黄精为百合科黄精属 (*Polygonatum Mill.*) 植物的干燥根茎, 是传统的中药材之一, 也是重要的药食同源类植物, 具有补气养肾、生津健脾、滋阴润肺的功效。本文从其活性成分、药理作用及生物合成途径方面最新研究进行综述, 为多花黄精的深入开发应用、挖掘多花黄精多糖及皂苷等生物合成途径关键基因和多花黄精多糖及皂苷的生物合成研究提供参考。

【关键词】多花黄精; 多糖; 皂苷; 药理活性; 生物合成

【基金项目】湖南省教育厅科学研究项目优秀青年项目 (20B196); 湖南环境生物职业技术学院培优计划 (PY2021-08)

多花黄精、黄精、滇黄精是《中国药典》(2020版)收录的中药材黄精三个药用基源植物, 其中以多花黄精的功效最佳。多花黄精是百合科黄精属 (*Polygonatum Mill.*) 植物的干燥根茎。作为我国传统的中药之一, 也是药食同源的药用植物, 其具有补气养肾、生津健脾、滋阴润肺的功效。多花黄精主要活性成分有多糖、甾体皂苷和黄酮类等成分, 具有降血糖、抗氧化及抗疲劳、抗肿瘤、消炎抗菌、增强免疫功能等药理活性^[1]。现就其活性成分、药理活性及生物合成途径进行综述。

1 多花黄精中主要活性成分

1.1 多糖

黄精多糖是多花黄精的主要活性成分, 它的含量高低也是评价黄精质量的重要指标。《中国药典》(2020版)中规定黄精中黄精多糖含量不得少于7.0%。不同产地、不同生境、不同采收期多花黄精的多糖含量差别比较大。王丹等^[2]以五个不同产地的多花黄精为材料, 通过检测其活性成分含量表明五个产地多糖含量均较高, 其中湖南娄底地区黄精多糖含量最高。在不同生境下比较多花黄精的活性成分含量, 锥栗林的林下种植多花黄精多糖含量最高, 为7.18%, 总皂苷含量也是最高的, 为84.98mg/g^[3]。不同采收年限和采收时期的多糖含量差异也比较大。多花黄精两年生龄节的多糖含量最高, 到第三年积累总量是最丰富, 其后随着年限的增加含量明显下降。所以最佳采收年限是多花黄精生长到龄节的第三年。当地上部分刚枯萎时根茎积累的多糖含量最高, 因此采收时期定在这个时期为宜^[4]。目前黄精多糖的提取方法主要有溶剂提取法、超高压或减压等物理强化提取法、超声波或微波辅助提取法、酶解提取法等。在实际应用中, 为了获得提取率及活性较高的多糖成分, 会将两种及以上的提取方法进行协同使用, 充分发挥每种提取方法的优点^[5]。王坤等^[6]采用热水以及不同浓度的NaOH溶液对多花黄精的多糖进行分级提取, 得到5个不同组分的多糖样品, 这5个多糖样品中都含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖和半乳糖醛酸, 以及少量的木糖和葡萄糖醛酸等单糖。虽然它们的单糖组成成分相同, 但是每个单糖成分的含量并不相同。红外光谱分析结果表明, 5个不同组分的单糖是以吡喃糖环的酸性多糖的形式存在。

1.2 甾体皂苷

目前在黄精及滇黄精中发现的甾体皂苷类化合物很多, 主要有螺甾烷醇型、异螺甾烷醇型、呋甾烷醇型3种类型^[7]。而多花黄精中发现有4个甾体皂苷类化合物^[8]。不同部位的多花黄精皂苷的

含量检测表明其主要集中在叶部^[9]。毕研文等^[10]采用HPLC法测定多花黄精薯蓣皂苷元的含量, 经过水解后其含量为0.18mg/g。不同产地的薯蓣皂苷元的含量差异显著。目前药典中黄精的质量评价指标主要是多糖的含量, 建议可以将皂苷与多糖一起作为黄精质量的评价指标。

1.3 黄酮

多花黄精主要含高异黄酮类化合物。刘清华等采用U10(108)均匀设计, 通过考察各提取影响因素, 结果表明当乙醇浓度为50%~70%, 提取温度为50~60℃, 提取时间为140~150min, 提取次数为2次, 固液比为1:14~1:18时提取工艺最优。张传海等^[11]优化了多花黄精总黄酮的超声辅助提取条件, 并在此条件下测得不同生境下毛竹林下种植的多花黄精总黄酮含量最高。

2 多花黄精的药理活性

2.1 降血糖

多花黄精的降血糖药理研究比较多。包瑞敏等^[12]通过比较黄精总皂苷和阿卡波糖的对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶最高抑制率, 发现了其降血糖的功效。有研究表明多花黄精多糖可能通过激活T1R2/T1R3介导的cAMP信号通路来刺激肠内分泌细胞膜高血糖素样肽-1(GLP-1)的分泌。曹语珈等^[13]通过与降糖药二甲双胍+抗骨质疏松药依替磷酸二钠作用于斑马鱼幼鱼的2型糖尿病合并骨质疏松症模型对比, 证明多花黄精多糖有较好的降血糖及抗骨质疏松作用。杨光发现多花黄精多糖可显著增加肝门静脉血浆中GLP-1的含量, 并且可以显著地上调胰高血糖素原基因与PC3基因的表达, 提高激素原转化酶PC3的活性, 增加NCIH716细胞内GLP-1的含量, 促进GLP-1的分泌。

2.2 抗氧化及抗疲劳

多花黄精各组织部位抗氧化活性大小依次为: 叶>花>茎>根。从多花黄精根中分离的24种化合物中, 化合物7与IC5077 μ M的阳性对照相比, IC5012具有抗氧化作用。陈杨杨等研究表明多花黄精炮制前后对游泳力竭小鼠都具有抗疲劳抗氧化作用, 且九制黄精15g/kg组对雌性小鼠综合效果最好, 九制黄精10g/kg对雄小鼠综合效果最好。Shen等研究表明多花黄精多糖可能通过调节骨钙素信号来抵抗疲劳。Ling等研究了多花黄精依次提取的多糖(HBSS、CHSS、DASS、CASS)的抗氧化活性, 其中DASS的抗氧化活性最高, 而HBSS的抗氧化活性最低。

2.3 抗肿瘤

Ling等研究了4种多花黄精多糖(HBSS、CHSS、DASS和CASS)

对人宫颈癌Hela细胞增殖抑制、细胞毒性、caspase-3活性、细胞周期和凋亡的影响。Wang等从多花黄精根茎中分离得到一个新的高异黄酮,显示出对人类癌细胞系的细胞毒性,IC₅₀值与顺铂相当。

2.4 其他活性

除上述活性之外,有研究证明多花黄精中的多糖能够增强小鼠的免疫功能。He等研究表明多花黄精中的脂多糖(LPS)可显著抑制腹膜炎模型小鼠血清促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)水平,并通过改善肺细胞的损伤结构减轻肺损伤和减少炎症单核细胞在肺组织积累。

3 多花黄精活性成分生物合成途径

Wang等对多花黄精的叶、根和根茎组织进行了转录组测序分析。共获得164,573条unigene,其中86,063条在公共数据库中得到注释。基于表达谱分析确定差异表达基因(DEGs),然后将根茎组织中的DEG水平与叶和根组织中的相应基因进行比较。这项分析揭示了许多在根茎中上调或独特表达的基因。多个编码重要酶的基因,如UDP糖基转移酶(UGTs),或参与多糖生物合成的转录因子被鉴定和进一步分析,一些编码关键酶的基因通过定量实时PCR进行了实验验证。徐惠龙等以多花黄精和长梗黄精根茎为研究对象,采用Illumina HiSeq测序平台进行高通量转录组测序,结果表明多花黄精与长梗黄精转录组差异性大,但在多糖和薯蓣皂苷相关代谢通路中的关键酶对应的单基因簇差异较少。祝明珠等^[14]研究表明多花黄精多糖生物合成是由光合作用而生成的蔗糖在蔗糖合成酶(SUS)的作用下催化生成尿苷二磷酸葡萄糖,成为多花黄精多糖的第一类组成要素。尿苷二磷酸葡萄糖的另一条合成途径是蔗糖经 β -呋喃果糖苷酶(INV)、己糖激酶(HK)、磷酸葡萄糖苷酶(PGM)、UDP-糖焦磷酸化酶(USP)及UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷转移酶(UGP2)连续催化而得到蔗糖在SUS、HK、果糖激酶(scr K)及甘露糖-6-磷酸异构酶(MPI)的作用下产生6-磷酸甘露糖,得到构成多花黄精多糖的第二类单糖。UDP-葡萄糖分别在GDP-葡萄糖差向异构酶(GALE)、UDP-葡萄糖-6-脱氢酶(UGDH)、UDP-葡萄糖醛酸脱羧酶(UXS1)和UDP-阿拉伯糖差向异构酶(UXE)的催化下分别形成多花黄精多糖的另外3种单糖。这些单糖在后续糖基转移酶的作用下,形成其特征性多糖。

单春苗等^[15]利用转录组测序,检索得到502条与多花黄精甾体皂苷生物合成途径相关的单基因簇,进一步分析得到编码该途径12个关键酶的97条单基因簇。对甾醇生物合成过程中的第一个关键酶环阿屯醇合酶(PcCAS)进行结构分析发现其具有4个保守的QW催化结构域和1个DCTAE底物结合结构域。廖荣俊等^[16]经转录组测序分析鉴定出的113条unigene序列,分别编码27个与甾体皂苷生物合成相关的代谢酶。

4 结语

多花黄精作为我国传统的药食同源中药,有着悠久的用药历史和确切的药用功效,开发前景广阔。目前,与黄精和滇黄精相

比,多花黄精的研究相对较少,且主要集中在多糖和皂苷这两种药用成分中。它们的生物合成途径研究层面还比较少。在今后的研究中可以从它们的代谢组联合转录组分析、多糖及甾体皂苷的生物合成关键酶基因的挖掘方面开展研究。为多花黄精的深度开发提供理论基础。

参考文献:

- [1]罗敏,章文伟,邓才富,谭秋生,罗川,罗舜.药用植物多花黄精研究进展[J].时珍国医国药,2016,27(06):1467-1469.
- [2]王丹,张鸿,刘嘉丽,满琪,董新荣,刘德明,黄立新.不同产地多花黄精植物活性成分含量比较[J].湖南农业科学,2020(07):89-92+96.
- [3]倪天宇,罗晓朦,张春椿,俞冰,张水利,范慧艳.不同生境下多花黄精化学成分比较[J].中成药,2020,42(11):2948-2953.
- [4]苏文田,谢建秋,潘心禾,刘京晶,斯金平.多花黄精多糖与浸出物的时空变异规律[J].中国中药杂志,2019,44(02):270-273.
- [5]Gan L S, Chen J J, Shi M F, et al. A New Homoisoflavanone from the rhizomes of *Polygonatum cyrtoneura* [J]. Nat Prod Commun, 2013, 8(5): 597-598.
- [6]王坤,岳永德,汤锋,苟航,孙焜,王进.多花黄精多糖的分级提取及结构初步分析[J].天然产物研究与开发,2014,26(03):364-369.
- [7]陶爱恩,张晓灿,杜泽飞,赵飞亚,夏从龙,段宝忠.黄精属植物中黄酮类化合物及其药理活性研究进展[J].中草药,2018,49(09):2163-2171.
- [8]张娇,王元忠,杨维泽,杨美权,张金渝.黄精属植物化学成分及药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2019,44(10):1989-2008.
- [9]赵海洋,罗禹,邓小宽,高平.多花黄精的主要化学成分及抗氧化活性[J].安徽农业大学学报,2020,47(05):793-797.
- [10]毕研文,杨永恒,宫俊华,陈宝芳,刘政波.黄精和多花黄精中多糖及薯蓣皂苷元的含量测定[J].长春中医药大学学报,2010,26(05):649-650.
- [11]张传海,林志奎,李宝银,华伟平,陈文翰,杨斌.闽北林下种植多花黄精的总黄酮含量分析及其生物活性评价[J].天然产物研究与开发,2018,30(02):225-231.
- [12]包瑞敏,张智,杜亚飞,高群,王彪,张志峰.黄精总皂苷提取工艺优化及其对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J].食品工业科技,2020,41(16):163-168+175.
- [13]曹语珈,王凯,王子丽,边金焕,安礼友,许舒雯,龚祝南.多花黄精多糖对斑马鱼2型糖尿病合并骨质疏松症模型的药效学研究[J].中草药,2021,52(21):6545-6551.
- [14]祝明珠,俞年军,王秋丽,周安,顾晓,韩荣春,童小慧,彭代银.基于多花黄精转录组的多糖及薯蓣皂苷生物合成路径研究[J].中国中药杂志,2020,45(01):85-91.
- [15]单春苗,王晨凯,施圆圆,张声祥,赵历强,吴家文.多花黄精甾体皂苷生物合成途径分析及关键酶基因研究[J].中国中药杂志,2020,45(12):2847-2857.
- [16]廖荣俊,杨阳,叶碧欢,李楠,陈友吾,翁永发,杜国坚,李海波.多花黄精根茎的转录组分析与甾体皂苷生物合成相关基因发掘[J].中国中药杂志,2020,45(07):1648-1656.