

异槲皮苷研究进展

谭显锐, 张剑*

中国药科大学 江苏南京

【摘要】异槲皮苷作为一种常见于各种植物中的黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗病毒及神经保护等多种生物活性。然而, 由于其结构的独特性和在自然资源中含量有限, 通过化学合成或从植物中提取分离异槲皮苷均面临诸多挑战。本文从化学结构、药理活性、制备工艺三个方面介绍异槲皮苷的研究进展, 并对其未来的生物合成研究方向进行展望。

【关键词】异槲皮苷; 药理活性; 制备工艺

【收稿日期】2024 年 5 月 12 日

【出刊日期】2024 年 6 月 27 日

【DOI】10.12208/j.imrf.20240001

Research progress of isoquercitrin

Xianrui Tan, Jian Zhang*

China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu

【Abstract】 Isoquercitrin, as a flavonoid commonly found in various plants, has various biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, antiviral and neuroprotective. However, due to its unique structure and limited content in natural resources, the isolation of isoquercitrin by chemical synthesis or extraction from plants faces many challenges. In this paper, the research progress of isoquercitrin was reviewed from the aspects of chemical structure, pharmacological activity and preparation technology, and the future research direction of biosynthesis of isoquercitrin was prospected.

【Keywords】 Isoquercitrin; Pharmacological activity; Preparation technology

1 异槲皮苷简介

异槲皮苷 (isoquercitrin, CAS: 482-35-9), 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$, 又被称为罗布麻甲素、异槲皮素等, 是常见于草药、水果、蔬菜和植物性食品、饮料中的一种黄酮类化合物, 在紫荆、苹果皮、槐花等不同植物中都可以分离提取得到。

其化学结构如图 1 所示, 为槲皮素 3-O- β -D-葡萄糖苷, 3 位又比芦丁 (rutin) 少了一个鼠李糖基,

同属于槲皮素和芦丁衍生物。虽然异槲皮苷结构与芦丁和槲皮素相似, 但在物理、化学和生物特性上均存在一些差异。槲皮素在丙酮中的溶解度高 (80 mmol/L), 在叔戊醇中低 (67 mmol/L), 在乙腈中更低 (5.40 mmol/L), 而异槲皮苷和芦丁在叔戊醇中具有高溶解度 (分别为 66 和 60 mmol/L), 这说明黄酮醇的糖基化降低了它们在极性溶剂中的溶解度。

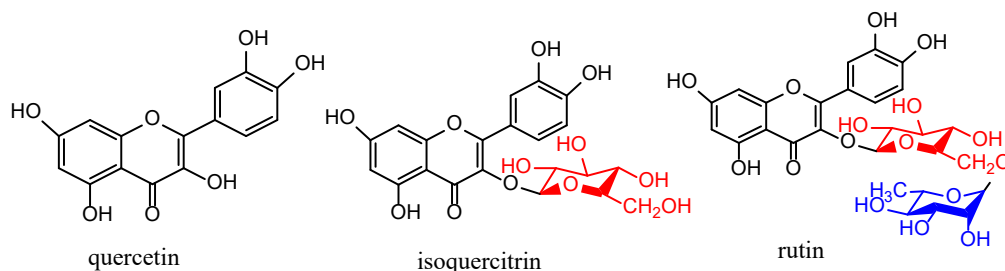


图 1 槲皮素、异槲皮苷和芦丁的结构

*通讯作者: 张剑

2 异槲皮苷的价值

异槲皮苷对人体健康的有益作用主要归因于其抗氧化和抗炎活性, 它的抗氧化和/或抗自由基作用可以通过直接清除活性氧/氮 (ROS/RNS)、抑制促氧化酶或诱导抗氧化酶来介导。以人 HGL5 永生化细胞系为材料, 研究日粮中添加异槲皮苷对卵巢颗粒细胞的影响, 实验发现异槲皮苷能在较低浓度下清除细胞内 ROS 的产生, 并能在体外降低 HGL5 细胞的氧化应激^[1]。

Xie 等^[2]研究表明异槲皮苷还可能是一种潜在的肝保护剂, 它通过抑制氧化应激、亚硝化应激和炎症, 以及调节对乙酰氨基酚 (APAP) 代谢, 保护肝脏免受 APAP 诱导的损伤。此外, 异槲皮苷还可以通过调节半乳糖凝集素-3 介导的胰岛素抵抗和脂质代谢^[3], 减轻小鼠非酒精性脂肪性肝炎; 通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路, 调节肠道菌群, 减轻 LPS 诱导的小鼠肠黏膜屏障损伤^[4]。以槲皮素-3-O-葡萄糖苷为主要化合物的多花苜蓿叶甲醇提取物被报道可以通过调节代谢综合征、减少炎症和促进抗氧化酶活性来缓解 Wistar 大鼠的高脂肪和高果糖饮食引起的脂肪肝疾病^[5], 从而达到预防肥胖的作用。

异槲皮苷还可以作为一种潜在的预防帕金森病的药物, 据研究表明, 通过抑制氧化应激和细胞凋亡, 减轻 MPTP 诱导的帕金森模型小鼠行为障碍和多巴胺能神经元丢失, 具有神经保护作用^[6]。避免氧化损伤抗肿瘤活性也是异槲皮苷药理作用的另一个研究热点, 异槲皮苷主要通过抑制细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡^[7]和抑制癌基因表达来发挥抗肿瘤作用。异槲皮苷除了良好的抗氧化及抗炎活性, 还具有广泛的抗病毒活性, 异槲皮苷可以抑制流感病毒感染引起的细胞因子过度产生和严重的肺损伤^[8]。Cho 等^[9]证明了异槲皮苷可以作为一种有效的抗病毒药物来预防流感病毒感染, 在甲型流感病毒感染的早期通过抑制血凝素和发挥杀病毒作用来阻断流感病毒与细胞的结合, 并在后期通过抑制神经氨酸酶活性来减弱病毒后代的释放。

3 异槲皮苷的制备方法及工艺

异槲皮苷分布广泛, 已有从苹果皮^[10]、麻黄^[11]中采用超声辅助溶剂提取异槲皮苷的报道。但由于其在植物中的含量极低, 且提取分离困难使得很难获得足够的量供食品和制药工业使用。

与异槲皮苷相比, 芦丁在植物中含量更高, 因此在工业上, 通常采用酸水解、加热、酶转化或微生物转化的方法将芦丁的末端鼠李糖水解脱得到异槲皮苷。其中, 在温和的酸性水解条件及适当的温度下, 芦丁的糖苷很容易被降解, 但酸性和加热非特异性地水解鼠李糖苷键和糖苷键, 同时产生槲皮素和异槲皮苷, 降低了异槲皮苷的产率, 增加了纯化成本。

数十年来, 业界围绕从天然糖苷中制备高值产物开展了大量研究, 相比之下, 酶解芦丁制备异槲皮苷的方法优于酸解法, 出于经济和环保的考虑, 酶水解已成为当前将糖苷转化为其他重要化合物的主要方法之一, 柚皮苷酶、橙皮苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶等多种酶已被提出用于将芦丁转化为异槲皮苷, 或糖基转移酶催化槲皮素糖基化生成异槲皮苷。其中, 柚皮苷酶和橙皮苷酶也能同时产生槲皮素和异槲皮苷, 因为它们同时具有 α -L-鼠李糖酶和 β -D-葡萄糖苷酶的活性, 但离子液体和适宜的 pH 值可有效提高酶的选择性, 使芦丁的转化率和异槲皮苷的得率分别达到 93.40%和 91.41%^[12], 此外 Jun Wang 等^[13]建立了一种新型双相系统用于加速橙皮苷酶催化生成异槲皮苷, 反应 3 h 就能使芦丁转化率最高达 99.5%, 异槲皮苷得率最高达 93.9%, 该反应途径温和环保, 两相体系可重复使用。

α -L-鼠李糖苷酶主要来源于细菌和真菌, 如假单胞菌、曲霉菌、短双歧杆菌、黑斑病菌及链霉菌等。与橙皮苷酶、柚皮苷酶相反, α -L-鼠李糖苷酶可特异性水解天然糖苷中的末端 L-鼠李糖, 避免了槲皮素的生成, 从而将芦丁单独转化为异槲皮苷。Saritad 等^[14]在灰青霉菌中纯化和表征了一种 α -L-鼠李糖苷酶, 可用于从芦丁中制备 L-鼠李糖和异槲皮苷。Lenka 等^[15]从土曲霉中筛选出了一种新的高效且稳定的热碱性胞外 α -L-鼠李糖苷酶, 以粗酶形式生物转化芦丁, 经过优化并扩大到约 10 公斤的产量。虽然 α -L-鼠李糖苷酶对芦丁转化为异槲皮苷具有特异性, 但其纯化率和细胞内的酶量较低, 修饰和纯化的遗传过程也比较复杂, 此外, 芦丁的低溶解度也限制了酶再循环或固定化酶的使用, 增加了生产成本, 因此橙皮苷酶、柚皮苷酶水解芦丁制备异槲皮苷的方法又优于 α -L-鼠李糖酶。除了使用上述 α -L-鼠李糖苷酶的纯酶或粗酶, 还可以在工程菌中表达重组 α -L-鼠李糖苷酶, 如 Chen 等^[16]在毕赤酵母 GS115 中表达具有高活性、高特异性的重组 α -L-鼠

李糖苷酶, 并将其用于芦丁的酶水解, 开发出一种通过芦丁酶促水解制备异槲皮苷和鼠李糖的新方法, 芦丁浓度为 20 g/L 时, 在优化后的反应条件下 2 h 内完全水解并转化为异槲皮苷和鼠李糖, 并通过 HPD-100 树脂纯化后得到异槲皮苷, 通过脱色和结晶富集鼠李糖。当然酶通常会比全细胞系统表现出更高的效率和可控性。

上述酶促反应的底物都是芦丁, 当底物为槲皮素时也可以通过糖基转移酶生成异槲皮苷, 如 Lim 等^[17]发现并表征了丝状真菌中的酚类糖基转移酶 MhGT1, 以 UDP-葡萄糖作为糖供体, 可对 72 个结构不同的药物样支架和甾醇进行区域和立体特异性 O-糖基化, 其中包括催化槲皮素生成异槲皮苷等三个糖苷衍生物。虽然糖基转移酶来源广泛, 在植物、动物、微生物中都有存在, 能够快速应用于异槲皮苷的合成, 但糖供体价格昂贵, 使得采用此法制备异槲皮苷缺乏经济性, 并且糖基化位点不专一, 生成多个产物降低异槲皮苷的产率, 也不利于后期分离制备。

目前, 合成异槲皮苷的主要方法除酶转化法外, 还有微生物转化法, 两者均具有环境友好、反应条件简单、安全、产物得率高等优点。微生物转化是利用生物系统将底物转化为产物的过程, 其本质是微生物体内产生的酶对化合物进行了催化。当用酶法生产活性物质时, 需要各种辅助因子和供体的供应, 然而, 微生物的生物转化不需要提供这些因素, 由于这些原因, 微生物转化已经成功地应用于新药和化妆品生物活性材料的大规模工业生产中。为建立微生物降解芦丁制备异槲皮苷的工艺, 从槐树土壤样品中分离得到可水解芦丁生成异槲皮苷的菌株斜纹芽孢杆菌 C44, 在含 50 mg 湿细胞和 0.1% 芦丁的 4 mL 反应体系中, 25°C 条件下转化 72 h, 转化率为 50.36%^[18]。除此, 还有许多微生物具有降解芦丁生成异槲皮苷的能力, 如黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、皱褶青霉 (*Penicillium rugulosu*) 等, 其中参与的酶大多为 α -L-鼠李糖苷酶, 但是由于大多数菌株体内同时存在橙皮苷酶和 β -D-葡萄糖苷酶, 橙皮苷酶能催化芦丁生成槲皮素, β -D-葡萄糖苷酶能催化异槲皮苷生成槲皮素, 这两个副反应大大降低了异槲皮苷的得率, 因此, 微生物转化法存在一定的局限性, 还不能实现异槲皮苷大量制备。

4 总结与展望

近几十年来, 槲皮素一直是大量生物学研究的主题。相比之下, 槲皮素苷类化合物的研究较少, 2020 年, PubMed 数据库显示槲皮素有 2141 条记录, 芦丁有 712 条记录, 异槲皮苷只有 108 条记录。虽然不断有更多的实验数据表明异槲皮苷更优异的生物活性, 并且也开发了很多从芦丁出发制备纯异槲皮苷的生物催化方法。然而, 低收率和高生产成本阻碍了异槲皮苷的工业化制备。

如今, 人工构建的微生物细胞工厂在合成天然产物方面显示出独特的优势, 已成为国际工业生物技术研究的焦点。随着合成生物学和代谢工程技术的持续进步, 利用菌株工程手段提升目标代谢物的产量已经成为一种广泛采用的方法。从合理设计生物合成途径以产生所需的产品开始, 使用组成型启动子工程、途径酶工程或终止子工程来调控基因的表达, 高表达关键基因与失活竞争途径中基因并行, 将碳通量导向目标代谢物的形成。

综上, 随着代谢工程和合成生物学的发展, 挖掘或改造高活性酶、开发定向进化或代谢工程策略、构建性能优越的微生物细胞工厂, 是以生物为基础生产异槲皮苷的未来障碍和机遇。

参考文献

- [1] Kolesarova A., Michalcova K., Roychoudhury S., et al. Antioxidative Effect of Dietary Flavonoid Isoquercitrin on Human Ovarian Granulosa Cells HGL5 In Vitro [J]. *Physiological Research*, 2021: 745-754.
- [2] Xie Wenyan, Wang Meng, Chen Chen, et al. Hepatoprotective effect of isoquercitrin against acetaminophen -induced liver injury [J]. *Life Sciences*, 2016, 152: 180-189.
- [3] Jin Hong-Liu, Feng Xiao-Ying, Feng Sen-Ling, et al. Isoquercitrin attenuates the progression of non-alcoholic steatohepatitis in mice by modulating galectin-3-mediated insulin resistance and lipid metabolism [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123.
- [4] Tang Enhui, Hu Tong, Jiang Zhaokang, et al. Isoquercitrin alleviates lipopolysaccharide-induced intestinal mucosal barrier damage in mice by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and intestinal flora [J]. *Food & Function*, 2024, 15(1): 295-309.

- [5] Khelifi Rihab, Dhaouefi Zaineb, Toumia Imène Ben, et al. Erica multiflora extract rich in quercetin-3-O-glucoside and kaempferol-3-O-glucoside alleviates high fat and fructose diet-induced fatty liver disease by modulating metabolic and inflammatory pathways in Wistar rats [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2020, 86.
- [6] Liu Cong, Wang Wenjuan, Li Hao, et al. The neuroprotective effects of isoquercitrin purified from apple pomace by high-speed countercurrent chromatography in the MPTP acute mouse model of Parkinson's disease [J]. Food & Function, 2021, 12(13): 6091-6101.
- [7] Orfali Gd, Duarte A. C., Bonadio V., et al. Review of anticancer mechanisms of isoquercitrin [J]. World J Clin Oncol, 2016, 7(2): 189-199.
- [8] Luo R., Lv C., Wang T., et al. A potential Chinese medicine monomer against influenza A virus and influenza B virus: isoquercitrin [J]. Chin Med, 2023, 18(1): 144.
- [9] Cho W. K., Lee M. M., Ma J. Y. Antiviral Effect of Isoquercitrin against Influenza A Viral Infection via Modulating Hemagglutinin and Neuraminidase [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(21).
- [10] Vasantha Rupasinghe H. P., Kathirvel Priya, Huber Gwendolyn M. Ultrasonication-Assisted Solvent Extraction of Quercetin Glycosides from 'Idared' Apple Peels [J]. Molecules, 2011, 16(12): 9783-9791.
- [11] El Maaiden Ezzouhra, Qarah Nagib, Ezzariai Amine, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Isoquercetin from Ephedra alata (Decne): Optimization Using Response Surface Methodology and In Vitro Bioactivities [J]. Antioxidants, 2023, 12(3).
- [12] Wang Jun, Sun Guo-Xia, Yu Liang, et al. Enhancement of the selective enzymatic biotransformation of rutin to isoquercitrin using an ionic liquid as a co-solvent [J]. Bioresource Technology, 2013, 128: 156-163.
- [13] Wang Jun, Gong An, Yang Cai-Feng, et al. An effective biphasic system accelerates hesperidinase-catalyzed conversion of rutin to isoquercitrin [J]. Scientific Reports, 2015, 5(1).
- [14] Yadav S., Yadava S., Yadav K. D. alpha-L-rhamnosidase selective for rutin to isoquercitrin transformation from Penicillium griseoroseum MTCC-9224 [J]. Bioorg Chem, 2017, 70: 222-228.
- [15] Weignerová Lenka, Marhol Petr, Gerstorferová Daniela, et al. Preparatory production of quercetin-3-β-d-glucopyranoside using alkali-tolerant thermostable α-L-rhamnosidase from Aspergillus terreus [J]. Bioresource Technology, 2012, 115: 222-227.
- [16] Yufei Chena Liwei Wang, Yuao Guoa, Mingjing Zhanga, Haicheng Xiea, Guohua Xiaa,B, Lili Xua, Huan Yanga,B, Yuping Shen. Preparation of isoquercitrin and rhamnose from readily accessible rutin by a highly specific recombinant α-L-rhamnosidase (r-Rha1) [J]. Natural Product Research, 2024: 1-6.
- [17] Lim E. K., Ashford D. A., Hou B., et al. Arabidopsis glycosyltransferases as biocatalysts in fermentation for regioselective synthesis of diverse quercetin glucosides [J]. Biotechnol Bioeng, 2004, 87(5): 623-631.
- [18] Zhitang Lu1 Jinglu Wang, Shengxun Lin, Yating Zhang. Degradation of Rutin into Isoquercitrin by Bacillus litoralis strain C44 [J]. 2012, 2(5): 1151-1161.

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS