

# 黄豆苷元神经保护作用研究进展

周丽<sup>1</sup>, 张永忠<sup>2,3,\*</sup>

(1.东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2.东北农业大学理学院, 黑龙江 哈尔滨 150030;  
3.教育部大豆生物学重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:** 黄豆苷元是大豆异黄酮的3种苷元中的一种, 具有多种生物学活性。动物实验、临床研究及流行病学调查表明黄豆苷元对更年期综合症、骨质疏松、乳腺癌、前列腺癌等具有防治作用。近来黄豆苷元的神经保护作用也日益受到重视。故本文对黄豆苷元神经保护方面的作用及其机理进行综述。

**关键词:** 黄豆苷元; 神经保护; 作用机理

## Research Progress in Neuronal Protection Mechanisms of Daidzein

ZHOU Li<sup>1</sup>, ZHANG Yong-zhong<sup>2,3,\*</sup>

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. College of Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 3. Key Laboratory of Soybean Biology, Ministry of Education, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Daidzein is an isoflavone in an aglycone form. It has a series of biological activities. The animal experiments, clinical researches and epidemiological investigations indicated that daidzein has multiple functions for preventing and treating menopausal symptom, osteoporosis, breast cancer, prostate cancer and other diseases. More attentions have been paid to its capability for neuronal protection. In this paper, the functions and the neuronal protection mechanisms of daidzein have been discussed.

**Key words:** daidzein; neuroprotection; mechanism

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)05-0281-04

大豆中存在的大豆异黄酮(soy isoflavones)共有12种, 可以分为3类, 即黄豆苷类(daidzin groups)、染料木苷类(genistin groups)和黄豆黄素苷类(glycitin groups), 分别以游离型、葡萄糖苷型、乙酰基葡萄糖苷型、丙二酰基葡萄糖苷型4种形式存在<sup>[1]</sup>。游离型大豆异黄酮苷元有3种: 染料木黄酮(genistein)、黄豆苷元(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)。染料木黄酮(genistein)是染料木苷类的苷元, 具有多种生物活性和生理功能。美国国家癌症研究所于1996年已将染料木黄酮列入肿瘤化学预防药物临床发展计划之中, 主要预防目标是乳腺癌和前列腺癌<sup>[2]</sup>。它能抗氧化、消炎, 有弱雌激素活性, 对更年期综合症、骨质疏松、心血管疾病等均有防治作用<sup>[3-7]</sup>。国外一直应用染料木黄酮进行临床试验研究。染料木黄酮和黄豆苷元二者在化学结构上只差一个羟基, 但是在雌激素活性和与雌激素受体亲和力方面, 染料木黄酮都要强于黄豆苷元。由于染料木黄酮的生理活性相对较强, 在抗肿瘤方面作用显著,

因此长期以来人们对染料木黄酮的研究较多而对黄豆苷元的关注相对较少。但是近年来不断有动物实验表明黄豆苷元具有神经保护作用。2010年伯克康奈尔医学研究所、纽约亨特学院生物系等8所重要研究机构对含有2000种美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)许可使用的药物、天然产物和其他生物活性化合物的药物库进行了筛选, 实验结果表明黄豆苷元能够促进神经元的保护和再生<sup>[8]</sup>。此外, 黄豆苷元对中枢神经系统(CNS)神经元在谷氨酸兴奋性中毒<sup>[9]</sup>和氧/葡萄糖剥夺模型中均有保护作用<sup>[10]</sup>。关于黄豆苷元对神经的保护作用等研究在国内还未见报道。因此, 本文对有关黄豆苷元神经保护方面的作用进行综述, 并简述其作用机理。

## 1 黄豆苷元简述

### 1.1 黄豆苷元的雌激素活性

黄豆苷元, 化学名称4',7-二羟基异黄酮, 相对分

收稿日期: 2011-03-27

基金项目: 国家“863”计划项目(2008AA10Z331)

作者简介: 周丽(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: water\_1022050306@163.com

\*通信作者: 张永忠(1953—), 男, 教授, 本科, 研究方向为天然产物化学。E-mail: zyz1953@sohu.com

子质量 254, 为无色片状结晶, 是苷元形式的大豆异黄酮, 广泛存在于豆科植物中。它同时也是葛根异黄酮的重要成分之一<sup>[11]</sup>。由于黄豆苷元和染料木黄酮在化学结构上与哺乳动物内源雌激素——雌二醇相似, 都具有雌激素的活性基团——二酚羟基, 且功能基团在分子中的位置接近雌二醇, 可与雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合发挥弱雌激素样作用, 对细胞的生长和功能有调节作用, 因此被称为植物雌激素。

黄豆苷元和染料木黄酮二者在结构上只差一个羟基, 但是前者的雌激素活性仅为后者的 1/10, 为雌二醇的 1/10000 到 1/50000, 这表明化学结构上的微小差别可能对异黄酮的活性产生很大的影响<sup>[12]</sup>。黄豆苷元对人体的雌激素水平具有双向调节作用, 当体内雌激素水平低于正常时, 它可发挥雌激素样活性, 临床上利用这一作用治疗更年期综合症、骨质疏松等疾病; 而当体内雌激素水平高于正常时, 则表现出抗雌激素作用, 与内源雌激素竞争结合雌激素受体, 使雌二醇不能再被结合发挥雌激素作用, 从而避免了雌激素对靶细胞的过度刺激, 临床上应用这一机理治疗乳腺癌、前列腺癌等与激素相关的癌症<sup>[13]</sup>。

## 1.2 黄豆苷元的代谢产物

在植物中, 异黄酮大多以 7- $\beta$ -D 葡萄糖苷和 6''-O-丙二酰葡萄糖苷的形式存在。这些糖苷形式的异黄酮在肠道内酶的作用下水解, 将其中的苷元释放出来, 其中一部分通过肠内细菌进行还原代谢。黄豆苷元的典型细菌代谢产物是二氢黄豆苷元(dihydro-DAI)、O-去甲安哥拉紫檀素(O-desmethylangolensin)和雌马酚(equol)。其中雌马酚是黄豆苷元细菌代谢的最主要的产物, 也是细菌生物转化的最终代谢产物。它具有雌激素活性, 对雌激素受体  $\beta$  (ER $\beta$ ) 的亲性与染料木黄酮的相似, 大约为 17- $\beta$  雌二醇的 1/200<sup>[14]</sup>。据研究雌马酚诱导转录的能力比任何其他异黄酮都要强, 其抗氧化活性也明显高于其他异黄酮, 对黄豆苷元发挥的活性起着重要作用。然而并非所有摄取大豆食品或黄豆苷元的健康成年人都能在体内产生雌马酚, 这个还原代谢是由结肠内的细菌介导的, 只有大约 53% 的人是“雌马酚-产生者”, 这取决于体内肠道菌群产生的酶的活力。上述那些细菌代谢产物和没有被细菌生物转化的黄豆苷元进入肠壁组织, 经葡萄糖酸化后释放入血液并转运到肝脏, 在肝脏中与葡萄糖醛酸和硫酸盐进行化合, 然后将合成物分泌到尿和胆汁中, 胆汁代谢物进入肝肠循环<sup>[15]</sup>。

据近来报道<sup>[16]</sup>黄豆苷元和染料木黄酮除了有细菌还原和合成代谢外, 在人和小鼠中还会发生氧化代谢。通过对摄入富含大豆饮食的志愿者的尿液进行分析, 在其中发现了 3 种氧化的黄豆苷元代谢产物, 分别是 6,7,4'-

三羟基异黄酮、7,3',4'-三羟基异黄酮和 6,7,3',4'-四羟基异黄酮, 还有两种染料木黄酮的氧化产物。这些大豆异黄酮的氧化代谢产物的活性还有待更深入的研究。

## 2 黄豆苷元的神经保护作用及其机理

### 2.1 黄豆苷元是精氨酸酶 1(arginase1, Arg1)的转录诱导物, 能够有效克服轴突生长的髓鞘相关糖蛋白(MAG)抑制

对于中风和脊髓损伤理想的治疗方法, 应该是具有促进中枢神经系统中神经元的存活和再生双重作用的, 损伤后的功能恢复需要克服包括髓磷脂蛋白抑制分子(如 MAG)在内的许多障碍<sup>[17]</sup>。而 Arg1 可以保护运动神经元免受营养因子的缺乏, 帮助感觉神经元克服由 MAG 引起的轴突生长的抑制作用<sup>[18]</sup>。Ma 等<sup>[18]</sup>通过构建精氨酸酶 1 启动子/荧光素酶报道基因体系(Arg1 promoter/Luc), 对一个含有 2000 种 FDA 许可的药物、天然产物和其他生物活性化合物的药物库进行筛选, 想要找出那些对 Arg1 有保护和促进再生作用的小分子。通过上述筛选方法证实黄豆苷元是一种 Arg1 的转录诱导物, 在体外用黄豆苷元预处理过的 CNS 神经元和副交感神经系统(PNS)神经元都能克服轴突再生的 MAG 抑制。此外, 黄豆苷元能有效的促进在无晶状体损伤的眼内视神经压碾模型中轴突的再生, 而且是通过皮下给药的途径。以往的神经保护剂大都是通过提高环磷酸腺苷(cAMP, 可诱导 Arg1 转录)含量来促进轴突再生的, 但是中枢系统中 cAMP 的增加可能会引起丧失呕吐能力等副作用, 而黄豆苷元安全性较高, 可以避免这些副作用。

为了评价黄豆苷元是否在大脑的不同部位都能有效克服 MAG 的抑制, 研究者分别使用小脑颗粒神经元(CGNs)、背根神经节神经元(DRG)和胚胎皮质神经元(Cort), 用黄豆苷元分别对这 3 种神经元进行处理, 结果表明黄豆苷元在这 3 种神经元中都能有效的克服 MAG 抑制, 但是最大效应剂量不同, 在 CGN 中为 20  $\mu$ mol/L, 在 DRG 中为 30~40  $\mu$ mol/L, 而在 Cort 中为 10  $\mu$ mol/L, 表明黄豆苷元的灵敏度与神经元细胞的类型有关。除此之外, 黄豆苷元还有助于成熟的 DRG 神经元的生长锥抵抗 MAG 引起的萎陷和排斥。当向培养物中加入核酸合成抑制剂(DRB)时, 黄豆苷元的效应完全消失了, 这是由于 DRB 抑制了这些成熟 DRG 培养物中大于 90% 的新 RNA 的合成<sup>[19]</sup>。这表明黄豆苷元是通过依赖转录的方式来克服神经元中 MAG 抑制。

据研究<sup>[20]</sup>, 当神经元中的 cAMP 升高时, 可以通过激活蛋白激酶 A(PKA)来克服 MAG 抑制, 这导致了反应结合蛋白(CREB, 是细胞内受 cAMP 水平调节的转录调控因子)在 Ser133 位点的磷酸化作用, 接着出现辅激

活蛋白CBP/p的募集,进而激活包括*Arg1*在内的许多基因。然而实验结果表明用黄豆苷元处理时,*Arg1*是由非cAMP和CREB依赖性诱导的,因为细胞内cAMP水平和CREB的磷酸化作用都没有改变,这表明黄豆苷元并没有通过激活脂苷酸环化酶,抑制磷酸二酯酶(PDE)或者参与其他依赖CREB的途径来诱导*Arg1*转录。尽管黄豆苷元的多种神经保护功能都是缘于它的雌激素受体活性,对*Arg1*的诱导也是依赖雌激素受体的,但是单独的17 $\beta$ -雌二醇却不能激活*Arg1*启动子,这表明虽然黄豆苷元诱导*Arg1*需要雌激素活性,但是还需要黄豆苷元的其他的活性才能完成。染料木黄酮的雌激素活性虽然比黄豆苷元高,但是它也不能诱导*Arg1*蛋白质水平。因此是否由于黄豆苷元和染料木黄酮化学结构上的差异而导致活性上的不同,还有待更深入的研究。

## 2.2 黄豆苷元可促进海马神经元轴突的再生

大脑中的海马部位与学习和记忆密切相关,一直是众多研究课题关注的热点。体外研究表明黄豆苷元对海马神经元有神经营养诱导作用。黄豆苷元以依赖剂量的方式增加海马轴突的形成和延伸,其最佳剂量为30 $\mu$ mol/L,在此浓度条件下轴突的长度是对照组的1.7倍。与用二甲亚砜(DMSO,起溶媒作用)处理的神经元相比,黄豆苷元处理组的细胞中有更多生长锥发生延伸,并带有许多凸出的丝状伪足<sup>[21]</sup>。

在成骨细胞中,黄豆苷元可结合一种特异的ER $\beta$ 相关膜蛋白,导致由蛋白激酶C(PKC)的信号级联放大引起的肌动蛋白细胞骨架的修饰<sup>[22]</sup>。在神经元中PKC的作用底物主要是神经生长相关蛋白(GAP-43),它对神经元极性、信息传递和神经再生均有调节作用<sup>[23]</sup>。而且GAP-43还是生长锥的一个主要成分,是神经系统生长过程中突触前的标志。研究发现<sup>[24]</sup>黄豆苷元可加强生长锥GAP-43的免疫染色强度,增加生长锥中GAP-43的分布,这可能与生长锥向前生长期间,黄豆苷元通过结合细胞膜上的膜收缩蛋白引发神经细胞黏着分子(NCAM)/膜收缩蛋白/GAP-43复合物的形成有关。此外,黄豆苷元可增加GAP-43的磷酸化作用,但它的膜转位不会影响总GAP-43水平。

对于黄豆苷元保护初期海马神经元的作用机理,Wang Pei等<sup>[21]</sup>通过对细胞体膜和轴突的生长进行观察得知,当有黄豆苷元存在时,它会显著增加雌激素受体ER $\beta$ 的免疫反应性,而不会增加ER $\alpha$ 的免疫反应性。这与其他报道<sup>[25]</sup>中指出的黄豆苷元与ER $\beta$ 结合的亲和性比ER $\alpha$ 高相一致(大约4倍)。用黄豆苷元处理1h后,膜部分中PKC $\alpha/\beta$  II和PKC $\alpha$ 水平都有增加,这表明黄豆苷元激活了PKC $\alpha$ ,而黄豆苷元诱导的PKC $\alpha$ 磷酸化作用可被ER $\beta$ 拮抗剂ICI182,780抑制。此外黄豆苷元诱导的膜部分的GAP-43的磷酸化作用可被Go6976(PKC抑制剂)

抑制,而GAP-43上的Ser41位点是PKC磷酸化的唯一部位,这表明PKC $\alpha$ 是GAP-43的上游效应物。以上实验结果表明黄豆苷元是通过触发一个由ER $\beta$ /PKC $\alpha$ /GAP-43组成的信号级联放大反应来促进海马神经元的轴突生长。

## 2.3 黄豆苷元在神经变性病中的作用

随着人类寿命的延长,慢性神经变性病对公众健康的影响也日渐增加。帕金森症(Parkinson's disease, PD)是中枢神经系统中的一种变性性紊乱疾病,以运动系统紊乱导致的脑中多巴胺产生减少为特征<sup>[26]</sup>。6-羟基多巴胺(6-OHDA)是多巴胺的羟化物,被广泛用于模仿PD神经变性的特征,它能选择性地毁坏儿茶酚胺能神经元,还会导致细胞线粒体功能障碍,氧化性应激和细胞凋亡<sup>[27]</sup>。Lin Chienmin等<sup>[28]</sup>研究认为昔葛藤中的黄豆苷元对6-OHDA诱导的PC12细胞中的细胞毒性具有神经保护作用,它可以减弱6-OHDA诱导的细胞凋亡,其作用机理可能与抑制细胞内半胱天冬氨酸蛋白酶(caspases,也称细胞凋亡蛋白酶)的激活有关。近来研究<sup>[29]</sup>表明6-OHDA可导致Caspases的激活并诱导细胞凋亡。Caspase是一类细胞内半胱氨酸蛋白水解酶,它可以控制细胞死亡,同时也是介导细胞凋亡的关键物质,对细胞凋亡起调节作用。在细胞凋亡的信号途径中,死亡受体(death receptors)的刺激导致了Caspase-8的激活,结果激活的Caspase-8被释放到细胞质中,并引发一个包括Caspase-3、Caspase-6和Caspase-7在内的Caspase级联<sup>[30]</sup>。而实验表明黄豆苷元可抑制Caspase-8的激活,部分抑制Caspase-3的激活。虽然黄豆苷元对6-OHDA诱导PC12细胞中的细胞毒性的保护作用机理还没有完全研究清楚,但是它对Caspase-8和Caspase-3激活的调节可能有助于细胞存活,并能有效阻止早期和末期的细胞凋亡。此结果表明黄豆苷元将来有可能用于开发新的治疗帕金森病的药物。

## 3 结 语

中枢神经系统受损或病理原因引起的再生问题一直是临床研究的热点。对于中风、脊髓损伤、帕金森症等神经性疾病的理想治疗药物应该是具有促进神经存活和提高再生双重作用的,尽管人们已经开发出一些具备这种特点的药物,如PDE抑制剂类,但是它们往往会带来副作用,而黄豆苷元安全性较高,可以避免这些副作用,并可穿过血脑屏障,不需经过预处理就能发挥作用,这些优点可能使它成为未来治疗神经损伤疾病的理想候选药物。黄豆苷元至少有一部分功能是通过*Arg1*转录诱导介导的,是非cAMP依赖途径的,但是还有一个重要的问题尚不清楚,就是黄豆苷元是如何执行这些功能的。此外,目前虽然已发现黄豆苷元在许

多方面都表现出神经保护作用, 但多限于动物模型研究, 临床应用也只限于对多种疾病的辅助治疗, 所以对黄豆苷元的开发应用还需继续探索。鉴于黄豆苷元将有可能成为治疗中风、脊髓损伤、帕金森症等神经性疾病的理想药物, 因此进行大豆异黄酮的水解制备黄豆苷元, 或应用葛根等其他植物资源制备黄豆苷元将具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 张永忠, 孙艳梅. 大豆异黄酮研究中的名词术语[J]. 中国粮油学报, 2004(4): 46-49.
- [2] KELLOFF G J, CROWELL J A, BOONE C W, et al. Strategy and planning for chemopreventive drug development: clinical development plants II [J]. Cellular Biochem, 1996, 56(Suppl 20): 55-62.
- [3] DIXON R A, FERREIRA D. Genistein[J]. Phytochemistry, 2002, 60(3): 205-207.
- [4] CRAFT C S, XU L, ROMERO D, et al. Genistein induces phenotypic reversion of endoglin deficiency in human prostate cancer cells[J]. Mol Pharmacol, 2008, 73: 235-244.
- [5] MAJID S, KIKUNO N, NELLES J, et al. Genistein induces the p21WAF1/CIP1 and p16INK4a tumor suppressor genes in prostate cancer cells by epigenetic mechanisms involving active chromatin modification[J]. Cancer Res, 2008, 68(8): 2736-2744.
- [6] NOEI J, ANDREA T, ELENA V, et al. Antileukemic activity of genistein, a major isoflavone present in soy products[J]. Net Prod, 2008, 71: 3-7.
- [7] VELA E M, BOWICK G C, HERZOG N K, et al. Genistein treatment of cells inhibits arenavirus infection[J]. Antiviral Research, 2008, 77: 153-156.
- [8] MA T C, CAMPANA A, LANGE P S, et al. A large-scale chemical screen for regulators of the arginase 1 promoter identifies the soy isoflavone daidzein as a clinically approved small molecule that can promote neuronal protection or regeneration via a cAMP-independent pathway[J]. The Journal Neuroscience, 2010, 30(2): 739-748.
- [9] OCCHIUTO F. The phytoestrogenic isoflavones from *Trifolium pratense* L.(Red clover) protects human cortical neurons from glutamate toxicity [J]. Phytomedicine, 2008, 15(9): 676-682.
- [10] SCHREIHOFFER D A. Soy phytoestrogens are neuroprotective against stroke-like injury *in vitro*[J]. Neuroscience, 2009, 158: 602-609.
- [11] 井乐刚, 张永忠. 大豆异黄酮的物理化学性质[J]. 中国农学通报, 2006, 22(1): 85-87.
- [12] CHOI S Y, HA T Y, KIM S R. Estrogenic activities of isoflavones and flavones and their structure-activity relationships[J]. Planta Med, 2008, 74: 25-32.
- [13] GUO J M, XIAO B X, LIU D H, et al. Biphasic effect of daidzein on cell growth of human colon cancer cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 42: 1641-1646.
- [14] LUND T D, MUNSON D J, HALDY M E, et al. Equol is a novel anti-androgen that inhibits prostate growth and hormone feedback[J]. Biol Reprod, 2004, 70: 1188-1195.
- [15] JACKMAN K A. Isoflavones, equol and cardiovascular disease: pharmacological and therapeutic insights[J]. Current Medicinal Chemistry, 2007, 14: 2824-2830.
- [16] KULLING S E. Oxidative metabolism and genotoxic potential of major isoflavone phytoestrogens[J]. Chromatography, 2006, 777: 211-218.
- [17] CAFFERTY W B, STRITTMATTER S M. The Nogo-Nogo receptor pathway limits a spectrum of adult CNS axonal growth[J]. Neuroscience, 2006, 26: 12242-12250.
- [18] ESTÉVEZ A G, SAHAWNEH M A, LANGE P S. Arginase 1 regulation of nitric oxide production is key to survival of trophic factor-deprived motor neurons[J]. Neuroscience, 2006, 26: 8512-8516.
- [19] WILLIS D E, van NIEKERK E A, SASAKI Y, et al. Extracellular stimuli specifically regulate localized levels of individual neuronal mRNAs[J]. Cell Biol, 2007, 178: 965-980.
- [20] CAI Dong, DENG Kuo, MELLADO W, et al. Arginase I and polyamines act downstream from cyclic AMP in overcoming inhibition of axonal growth MAG and myelin *in vitro*[J]. Neuroscience, 2007, 35: 711-719.
- [21] WANG Pei, JENG Chungjuan, CHIEN Chungliang, et al. Signaling mechanisms of daidzein-induced axonal outgrowth in hippocampal neurons [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 366: 393-400.
- [22] de WILDE A, HEBERDEN C, CHAUMAZ G, et al. Signaling networks from Gbeta1 subunit to transcription factors and actin remodeling via a membrane-located ERbeta-related protein in the rapid action of daidzein in osteoblasts[J]. Cell Physiol, 2006, 209: 786-801.
- [23] FUKATA Y, KIMURA T, KAIBUCHI K. Axon specification in hippocampal neurons[J]. Neuroscience, 2006, 43: 305-315.
- [24] KORSHUNOVA I, NOVITSKAYA V, KIRYUSHKO D, et al. GAP-43 regulates NCAM-180-mediated neurite outgrowth[J]. Neurochem, 2007, 100: 1599-1612.
- [25] KUIPER G G, LEMMEN J G, CARLSSON B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta[J]. Endocrinology, 2005, 139: 4252-4263.
- [26] GIROTTI F, SOLIVERI P. Cognitive and behavioral disturbances in Parkinson's disease[J]. Neuroscience, 2008, 24: 30-31.
- [27] SEGURA-AGUILAR J, KOSTRZEWA R M. Neurotoxins and neurotoxic species implicated in neurodegeneration[J]. Neurotox Res, 2004, 6: 615-630.
- [28] LIN Chienmin, LIN Rongdih, CHEN Shuhtein. Neurocytoprotective effects of the bioactive constituents of *Pueraria thomsonii* in 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-treated nerve growth factor (NGF)-differentiated PC12 cells[J]. Phytochemistry, 2010, 8: 10-16.
- [29] FUJITA H, SHIOSAKA M, OGINO T, et al. Alpha-lipoic acid suppresses 6-hydroxydopamine-induced ROS generation and apoptosis through the stimulation of glutathione synthesis but not by the expression of heme oxygenase-1[J]. Brain Res, 2008, 1206: 1-12.
- [30] CHOWDHURY I, THARAKAN B, BHAT G K. Caspases: an update [J]. Biochem Mol Biol, 2008, 151: 10-27.