

DOI:10. 16305/j. 1007-1334. 2016. 11. 028

# 知母皂苷 AⅢ 药理活性及机制研究进展

陈燕芳<sup>1</sup>, 卞卡<sup>1,2</sup>

1. 上海中医药大学穆拉德中药现代化研究中心(上海 201203); 2. 美国乔治华盛顿大学生物化学与分子生物学系(美国 华盛顿 20052)

**【摘要】** 对知母皂苷 AⅢ 的药理作用及机制研究进展进行综述。知母皂苷 AⅢ 是知母的最主要活性成分之一。研究表明,知母皂苷 AⅢ 具有改善学习和记忆障碍、抑制血小板聚集和血管扩张、抗肿瘤、降糖、降血压、抗炎、抗氧化、抗辐射、抗病毒和抗真菌等药理活性。

**【关键词】** 知母皂苷 AⅢ; 药理活性; 作用机制; 研究进展

## Research progresson pharmacological activity and mechanism of Timosaponin AⅢ

CHEN Yan-fang<sup>1</sup>, BIAN Ka<sup>1,2</sup>

1. *Murad Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203*; 2. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, George Washington University, Washington, 20052*

**Abstract:** This paper reviewed the research progress on pharmacological effects and mechanism of Timosaponin AⅢ. Timosaponin AⅢ was one of the major active components from *RhizomaAnemarrhenae*. Studies showed that it had a wide range of pharmacological effects such as improvement of learning and memory deficits, inhibition of platelet aggregation and blood vessel expansion, anti-tumor, hypoglycemic effect, anti-hypertension, anti-inflammation, anti-oxidation, anti-radiation, anti-virus and antifungal activity.

**Keywords:** Timosaponin AⅢ; pharmacological effects; action mechanism; research progress

中药知母为百合科多年生草本植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎,主产于河北、陕西、内蒙古等地,习称“毛知母”<sup>[1]</sup>。其中河北易县出产的知母外皮金黄、根条肥大、加工精细,品质为全国之首,为道地药材,素有“西陵知母”之称<sup>[2]</sup>。知母性寒,味苦甘,归肺、胃、肾经。始载于《神农本草经》:“主消渴热中,除邪气肢体浮肿,下水,补不足,益气。”2015 版《中国药典》记载:具有清热泻火、滋阴润燥等功效,主治外感热病、高热烦渴、肺热燥咳、骨蒸潮热、内热消渴、肠燥便秘等<sup>[3]</sup>。研究发现,知母具有改善老年性痴呆、学习记忆障碍和骨质疏松症状,抗病原微生物,抗血小板聚集,抗肿瘤,抗抑郁,降血糖,解热,抗炎,降低转氨酶和磷酸酶抑制剂作用等多种药理活性。主要化学成分为甾体皂苷、双苯吡酮类,尚有木脂素类、多糖类、有机酸类,大量的黏液质以及无机元素

等<sup>[4-5]</sup>。甾体皂苷及其苷元是具有广泛药理活性的最主要成分,根茎含皂苷约为 6%<sup>[6]</sup>,且种类较多,经鉴定的化合物有 20 多种,主要为知母皂苷 A、B,以及异菝葜皂苷等。皂苷元是皂苷水解后去掉结合糖基的产物,主要有菝葜皂苷元(*sarsasapogenin*,也称萨尔萨皂苷元)、马尔可皂苷元(*markogenin*)、新吉托皂苷元(*neogito-genin*)和薯蓣皂苷元(*dosgenin*),均为螺甾皂苷元<sup>[7]</sup>。知母皂苷 AⅢ 又称为西陵皂苷 AⅢ,为典型的螺甾皂苷类成分,是以菝葜皂苷元为母核,由菝葜皂苷元 C-22 位的羟基脱氢后与两个果糖和一个葡萄糖缩合而成的多糖苷。

近年来国内外专家对知母皂苷及其苷元的药理活性进行了深入研究,尤其对知母皂苷 AⅢ 的药效与药理作用机制有了许多进展,现综述如下。

### 1 改善学习和记忆障碍

脑组织中胆碱能 M 受体密度下降与患老年痴呆密切相关,N 受体数量与大脑的学习记忆功能密切相关<sup>[8]</sup>。实验表明,知母皂苷元能使痴呆模型大鼠脑内 M1 受体密度增加,其学习记忆能力明显增强<sup>[9]</sup>;能显著提高衰老大鼠脑内 N 受体数量,而其在大鼠体内经吸收转化后可抑制大鼠脑皮质乙酰胆碱酯酶的活性,从而改善学习和记忆障碍<sup>[10]</sup>。Lee 等<sup>[11]</sup>发现,知母皂

[基金项目] 上海市教委高校一氧化氮与炎症医学 E 研究计划(04010)

[作者简介] 陈燕芳,女,硕士生,主要从事心血管药理与炎症医学研究

[通讯作者] 卞卡,教授,博士生导师。

E-mail: kaban3@gmail. com

昔 AⅢ (40mg/kg) 能显著降低谷氨酸诱导的老年痴呆模型小鼠在被动回避实验中的错误次数, 并缩短错误潜伏期, 其作用机制可能是通过抑制乙酰胆碱酯酶以及抑制炎症因子的表达, 从而升高痴呆小鼠脑内去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺浓度, 进而提高小鼠记忆力; 同时知母皂昔 AⅢ 能减少痴呆小鼠背海马和齿状回内  $\beta$ -APP 阳性神经元个数, 因而改善小鼠老年痴呆症状。

## 2 抗血小板聚集和血管扩张作用

早在 20 世纪 80 年代就发现知母皂昔 AⅢ 对由二磷酸腺苷 (ADP)、5-羟色胺 (5-HT) 和花生四烯酸 (AA) 诱导的兔和人血小板聚集均有很强的抑制作用<sup>[12]</sup>。Zhang 等<sup>[13]</sup> 通过体外离心获得人血小板成分, 结果表明知母皂昔 AⅢ 等 6 种甾体皂昔类成分对血小板聚集有显著的抑制作用, 活化部分凝血激酶时间 (APPT) 对这些成分很敏感, 且 APPT 随成分浓度增加而延长。Niwa 等<sup>[14]</sup> 报道, 知母皂昔 AⅢ 及马尔可皂昔元对人血小板聚集有抑制作用。李素燕等<sup>[15]</sup> 进行知母皂昔 AⅢ 体内体外抗血栓活性实验, 结果表明其在体内体外对大鼠血小板聚集和血栓形成都具有抑制作用, 但不影响体内凝血时间, 这说明知母皂昔 AⅢ 可能只是影响血小板的聚集、黏附和活化, 而对血液中的各种凝血因子和血细胞因子没有影响。知母皂昔 AⅢ 具有抗血小板聚集作用, 提示其可能具有抗血栓形成的潜在药理活性, 表明知母中的此类有效成分可用于心肌梗死后抗血栓形成的治疗药物。

Wang 等<sup>[16]</sup> 在离体主动脉环实验中发现, 知母皂昔 AⅢ 对预先给予去甲肾上腺素刺激挛缩的主动脉具有舒张作用。进一步研究表明, 知母皂昔 AⅢ 能促进血管内皮细胞和平滑肌细胞的钙流入, 从而缓解血管紧张。知母皂昔 AⅢ 刺激钙离子内流的机制还有待进一步研究。

## 3 抗肿瘤作用

研究表明, 知母皂昔 AⅢ 通过线粒体介导诱发 Hela 肿瘤细胞的凋亡<sup>[17]</sup>, 还可以通过自噬机制, 抑制 Hela 肿瘤细胞的生长<sup>[18]</sup>。知母皂昔 AⅢ 诱导人乳腺癌细胞 BT474 凋亡与抑制 mTOR 靶点的磷酸化和诱导内质网应激阻断真核起始因子的磷酸化和半胱天冬酶的激活有关<sup>[19]</sup>。知母皂昔 AⅢ 还能诱导人结肠癌 HCT-15 细胞移植瘤动物模型肿瘤生长, 其抗肿瘤作用机制在于其能有效阻止细胞周期进行<sup>[20]</sup>。Wang 等<sup>[21]</sup> 实验研究表明, 知母皂昔 AⅢ 能够抑制 XI-AP 的表达, 诱导肝癌中的依赖半胱天冬酶的细胞凋亡, 并使细胞产生免疫耐受。潘会君等<sup>[22-23]</sup> 实验组先后研究发现, 知母皂昔 AⅢ 能一定程度抑制人胰腺癌 PANC-1 细胞生长, 并能显著抑制 PANC-1 移植瘤生长, 其抗肿瘤作用除了抑制 VEGF, 还与活化 Caspase-3 促进肿瘤凋亡有关; 知

母皂昔 AⅢ 能明显抑制黑色素瘤 B16 和 A375 细胞生长, 并能抑制巨噬细胞炎症, 其抗肿瘤作用可能与抑制肿瘤炎症有关。Okkeun 等<sup>[24]</sup> 研究证实, 知母皂昔 AⅢ 能诱导 A549 人非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞凋亡和细胞周期阻滞; 并发现知母皂昔 AⅢ 能抑制 A549 人肺癌细胞的迁移和侵袭, 其可能作用机制是知母皂昔 AⅢ 能抑制与 MMP-2 和 MMP-9 这两种金属基质蛋白酶密切相关的 ERK1/2, Src/FAK 和  $\beta$ -catenin 信号, 发挥其对 MMP-2 和 MMP-9 的抑制作用, 而 MMP-2 和 MMP-9 被公认参与癌转移。

知母皂昔 AⅢ 的抗肿瘤活性是多靶点的综合作用, 其开发成一种新的抗肿瘤制剂的可能性值得考虑。

## 4 降糖、降血压

有报道称知母皂昔 AⅢ 能降低四氧嘧啶致糖尿病小鼠模型的血糖水平, 且呈剂量依赖性关系, 其作用机制可能为抑制肝内糖原异生<sup>[25]</sup>。有文献报道, 知母皂昔 AⅢ 确有降低高血糖 (450 mg/dL) 作用且其作用强度呈现浓度依赖性, 其浓度 200 mg/kg 效果接近罗格列酮, 浓度 300 mg/kg 效果甚至优于罗格列酮<sup>[26]</sup>。

知母皂昔 AⅢ 能拮抗去氧肾上腺素引起的血管收缩, 可能是由于其促进血管内皮细胞和平滑肌细胞钙离子内流而导致 NO 的释放增加, 从而发挥调控血管内皮细胞功能达到降低血压的作用<sup>[17]</sup>。

## 5 抗炎、抗氧化、抗辐射

菝葜皂昔元可以提高痴呆模型小鼠脑中超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性, 降低脑组织中的丙二醛、褐脂素含量, 有利于抗衰老<sup>[27]</sup>。Sun 等<sup>[28]</sup> 研究发现, 知母皂昔 AⅢ 等是 EMP 抗炎和抗哮喘的主要活性成分。Zhang 等<sup>[29]</sup> 研究发现, 知母皂昔 AⅢ 等多种知母皂昔类成分对多种条件诱导生成的过氧化物具有抑制作用, 且作用强度与浓度成正比; 其中知母皂昔 AⅢ 对吡啶醇肉豆蔻酸乙酸酯 (PMA) 诱导的过氧化物具有增强作用, 而对花生四烯酸 (AA) 诱导的过氧化物具有显著的抑制作用。也有文献报道知母皂昔 AⅢ 能够抗辐射<sup>[30]</sup>。

## 6 抗病毒及真菌

Youn 等<sup>[31]</sup> 发现, 知母皂昔 AⅢ 能够明显抑制感染人上皮细胞 (HEp-2) 呼吸道合胞病毒 (RSV) 活性, 其抗病毒活性可能与其螺甾烷骨架相关。尚有报道称知母皂昔 AⅢ 具有很强的杀灭软体动物的活性<sup>[32]</sup>。另外知母皂昔有杀血吸虫宿主钉螺的作用, 其中 AⅢ 活性最强<sup>[33]</sup>。最近还有研究表明知母皂昔 AⅢ 等对皮肤过敏和瘙痒具有抑制作用<sup>[34]</sup>。

## 7 小结

知母皂昔 AⅢ 具有丰富的生物活性和药理作用。尤其在抗肿瘤方面的预防和治疗作用, 逐渐被人们深

入认识和广泛报道。但仍未被开发成适合静脉注射的药物,其原因是菝葜皂苷元 C-22 位上的糖苷键导致知母皂苷 AⅢ具有强大的溶血作用<sup>[14]</sup>,加上有报道称其有肝损伤作用<sup>[35]</sup>和尚未明确机制的细胞毒性<sup>[19]</sup>,大大加深了临床应用的难度。知母皂苷及其苷类具有抗骨质疏松、抗抑郁、降血脂等药理功效<sup>[36-38]</sup>,但知母皂苷 AⅢ是否有此类作用尚未见文献报道,其药效及物质基础,药理活性作用机制及体内代谢等方面还需要进一步系统深入阐明。

## 参考文献:

- [1] 黄兆胜. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:66-67.
- [2] 中国药材公司. 中国中药区划[M]. 北京:科学出版社,1995:65-66.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(I部)[M]. 北京:化学工业出版社,2015:255-256.
- [4] 杨丽蓉. 知母的化学成分及药理作用研究进展[J]. 国外医学:中医中药分册,2002,24(4):207-210.
- [5] 孙兴欢,张宇伟,黄雪峰,等. 知母的化学成分和药效研究进展[J]. 海峡药学,2015,27(3):6-12.
- [6] 廖洪利,王伟新,赵福胜,等. 知母化学成分研究进展[J]. 药学实践杂志,2005,23(1):12-14.
- [7] 王颖异,郭宝林,张立军,等. 知母化学成分的药理研究进展[J]. 科技导报,2010,28(12):110-115.
- [8] Hu Y, Xia Z, Sun Q, *et al.* Role of CREB in the regulatory action of sarsasapogenin on muscarinic M1 receptor density during cell aging[J]. FEBS Lett, 2010, 584(8):1549-1550.
- [9] 王顺宫,徐江平. 知母皂苷对衰老大鼠乙酰胆碱受体的调节作用[J]. 解放军药学报,2001,17(2):71-73.
- [10] 欧阳石,孙莉莎,徐江平,等. 知母皂苷对大鼠脑皮质乙酰胆碱酯酶的抑制作用[J]. 中国药理学杂志,2006,41(19):1472-1474.
- [11] Lee B, Jung K, Kim DH. Timosaponin A-Ⅲ, asaponin isolated from *Anemarrhena asphodeloides*, ameliorates learning and memory deficits in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2009, 93(2):121-127.
- [12] 边际,徐绥绪. 知母化学及药理研究进展[J]. 沈阳药学院学报, 1993,10(2):141-146.
- [13] Zhang JY, Meng ZY, Zhang MY, *et al.* Effect of six steroidal saponins isolated from *anemarrhenae* rhizome on platelet aggregation and hemolysis in human blood[J]. Clinica Chimica Acta, 1999, 289(5):79-88.
- [14] Niwa A, Takeda O, Ishimaru M, *et al.* Screening test for platelet aggregation inhibitor in natural products. The active principle of *Anemarrhenae* Rhizoma[J]. Yakugaku Zasshi, 1988, 108(6):555-561.
- [15] 李素燕,赵振虎,裴海云,等. 知母皂苷 AⅢ抗血栓作用研究[J]. 军事科学院院刊,2006,30(4):340-342.
- [16] Wang GJ, Lin LC, Chen CF, *et al.* Effect of timosaponin A-Ⅲ, from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge (Liliaceae), on calcium mobilization in vascular endothelial and smooth muscle cells and on vascular tension[J]. Life Sciences, 2002, 71(12):1081-1090.
- [17] Sy LK, Yan SC, Lok CN, *et al.* Timosaponin A-Ⅲ induces autophagy preceding mitochondria-mediated apoptosis in HeLa cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(24):10229-10237.
- [18] Lok CN, Sy LK, Liu F, *et al.* Activation of autophagy of aggregation-prone ubiquitinated proteins by timosaponin A-Ⅲ[J]. J Biol Chem, 2011, 286(36):31684-31696.
- [19] King FW, Fong S, Griffin C, *et al.* Timosaponin AⅢ is preferentially cytotoxic to tumor cells through inhibition of mTOR and induction of ER stress[J]. PLoS One, 2009, 4(9):e7283.
- [20] Kang YJ, Chung HJ, Nam JW, *et al.* Cytotoxic and antineoplastic

activity of timosaponin A-Ⅲ for human colon cancer cells[J]. J Nat Prod, 2011, 74(4):701-706.

- [21] Wang N, Feng Y, Zhu M, *et al.* A novel mechanism of XIAP degradation induced by timosaponin AⅢ in hepatocellular carcinoma[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(12):2890-2899.
- [22] 潘会君,聂绪强,刘朵,等. 4种中药单体对人胰腺癌 PANC-1 细胞移植瘤生长的影响及分子机制[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2):245-248.
- [23] 潘会君,陈中建,章丹丹,等. 知母皂苷 AⅢ对 2 种黑色素瘤细胞生长及巨噬细胞活化的影响[J]. 中国药师, 2015, 18(2):181-185.
- [24] Jung O, Lee J, Lee YJ, *et al.* Timosaponin AⅢ inhibits migration and invasion of A549 human non-small-cell lung cancer cells via attenuations of MMP-2 and MMP-9 by inhibitions of ERK1/2, Src/FAK and b-catenin signaling pathways[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26(16):3963-3967.
- [25] Nakashima N, Kimura I, Kimura M, *et al.* Isolation of pseudoprotimosaponin AⅢ from rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* and its hypoglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. J Nat Prod, 1993, 56(3):345-350.
- [26] Gu JG. A composition containing timosaponin A-Ⅲ for prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus; KR, WO 2007/024108A1[P]. 2007-01-03.
- [27] 何薇,曾祖平. 知母皂苷及其苷元抗衰老作用的研究进展[J]. 北京中医, 2006, 25(6):376-378.
- [28] Sun YG, Du YF, Yang K, *et al.* A comparative study on the pharmacokinetics of a traditional Chinese herbal preparation with the single herb extracts in rats by LC-MS/MS method[J]. J Pharm and Biomed Anal, 2013, 101:1016/j. jpb. 2013. 03. 022. Epub 2013 Apr 6.
- [29] Zhang JY, Zhang MY, Sugahara K, *et al.* Effect of steroidal saponins of *anemarrhenae* rhizoma on superoxide generation in human neutrophils[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 259(3):636-639.
- [30] Kaname N, Zhang J, Meng Z, *et al.* Effect of timosaponin E1 and E2 on superoxide generation induced by various stimuli in human neutrophils and on platelet aggregation in human blood. [J]. Clin Chim Acta, 2000, 295(1-2):129-140.
- [31] Youn UJ, Jang JE, Nam JW, *et al.* Anti-respiratory syncytial virus (RSV) activity of timosaponin A-Ⅲ from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides*[J]. J Med Plan Res, 2011, 5(7):1062-1065.
- [32] 吉星,冯毅凡. 知母中皂苷类成分研究进展[J]. 中草药, 2010, 41(4):12-15.
- [33] Takeda O, Tanaka S, Yamasaki K, *et al.* Screening for molluscicidal activity in crude drugs[J]. Chem Pharm Bull(Tokyo), 1989, 37(4):1090-1091.
- [34] Lee B, Trinh HT, Jung K, *et al.* Inhibitory effects of steroidal timosaponins isolated from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* against passive cutaneous anaphylaxis reaction and pruritus[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2010, 32(3):357-363.
- [35] 武之涛,盛晶晶,戚新明,等. 中药知母皂苷组分 A3 的肝毒性机制[C]//中国毒理学会第六届全国毒理学大会论文摘要. 广州:广东省疾病预防控制中心, 2013:1.
- [36] 杨茗,季晖,张树平,等. 知母皂苷元对成骨细胞活性和破骨细胞分化及功能的影响[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(6):544-548.
- [37] 韩兵,李春梅,李敏,等. 知母皂苷的降脂及抗动脉粥样硬化作用[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(11):68-70.
- [38] Ren LX, Luo YF, Li X, *et al.* Antidepressant-Like Effects of Sarsasapogenin from *Anemarrhena asphodeloides* BUNGE(Liliaceae)[J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(11):2304-2306.

编辑:张立艳

收稿日期:2016-04-10