

黄酮类化合物对脂氧合酶活性的影响及其生物学作用

黄 云, 胡建安*

(中南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 湖南长沙 410078)

摘要: 脂氧合酶(LOX)与急慢性炎症、动脉粥样硬化、高血压和肿瘤等多种疾病的发生发展有关,抑制其活性可能对这些疾病的预防和治疗起重要作用。多种黄酮类化合物,如查耳酮、黄酮醇、黄酮和黄烷醇等对5-LOX, 12-LOX和15-LOX具有抑制作用,其机制可能为抑制LOX的表达、与酶结合或与酶活性中心产生的自由基反应等,且抑制作用与结构有关。黄酮类化合物对LOX的抑制作用可能是其具有抗炎、抗肿瘤和抗心脑血管疾病等生物学作用的原因之一。

关键词: 黄酮类; 脂氧合酶

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2009)06-0490-07

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2009.06.012

脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)是一类非血红素含铁酶,普遍存在于动植物体内。LOX可催化含有1,4-顺,顺-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸(如亚油酸和花生四烯酸)的双加氧作用,最终生成重要的生物活性分子白三烯和脂氧素等。按照LOX对花生四烯酸氧化位置的特异性,可分为5-LOX, 8-LOX, 12-LOX和15-LOX。除对多不饱和脂肪酸的双加氧作用外,在不饱和脂肪酸、脂肪酸氢过氧化物或过氧化氢等参与下,LOX对外源化学物表现为协同氧化酶活性。LOX可能是肝外组织中内源性及外源性化学物质氧化代谢的重要替代酶^[1]。LOX的代谢活性作用与许多疾病,如炎症、哮喘、动脉粥样硬化、高血压和肿瘤等的发生和发展有关。因此,寻找高效低毒的选择性LOX抑制剂成为探索这类疾病治疗药物的一个重要的方向。黄酮类化合物种类繁多,在植物中分布广泛,具有抗氧化、抗炎和抗肿瘤等生物学特性,已成为研究的热点之一。

1 黄酮类化合物的结构与种类

黄酮类化合物指分子结构中具有C₃(3碳链或吡喃环或吡喃酮环)连接A(C₆)和B(C₆)两苯环组成C₆-C₃-C₆基本骨架的一类化合物,广泛分布于植物体内。

已报道的天然黄酮类化合物大约有4000多种,主要分为查耳酮、3-黄烷醇、二氢黄酮、黄酮、黄酮醇、二氢黄酮醇、

双黄酮、异黄酮、橙酮、花青素及黄烷等类别,其结构见图1^[2]。其中,黄酮醇类最为常见,其次为黄酮类。

2 黄酮类化合物对脂氧合酶的抑制作用

研究表明,查耳酮、黄酮醇、黄酮、二氢黄酮醇、黄烷醇、双黄酮和异黄酮等黄酮类化合物对5-LOX, 12-LOX和15-LOX具有抑制作用(表1)。其中,多种具有3,4-二羟基结构的查耳酮以及5'-羟基桑根皮素等异戊烯基黄酮类化合物、槲皮素、去甲中国葎醇和银杏素等对5-LOX具有很强抑制作用;对12-LOX抑制作用较强的有3,4,2',4'-四羟基查耳酮、槲皮素、黄芩黄素、(-)-没食子儿茶素没食子酸酯、(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)和儿茶素没食子酸酯;对15-LOX抑制作用较强的是木犀草素、漆树黄酮、芹菜素、黄芩黄素和槲皮素。黄酮类化合物对LOX的抑制作用与其生物学作用有关,并表现有结构活性关系。

3 黄酮类化合物与抑制脂氧合酶有关的生物学作用

3.1 抗炎作用

5-LOX和12-LOX均参与激活炎症反应和变态反应性疾病发生过程。5-LOX催化花生四烯酸生成的5-羟基廿碳四烯酸(5-hydroxyeicosatetraenoic acid, 5-HETE)、白三烯A₄和B₄是炎症的强化学诱导剂,白三烯C₄, D₄和E₄是过敏性慢反应物质,可收缩呼吸平滑肌,引起哮喘。12-LOX催化合成的12-HETE能聚集血小板,并引起炎症反应。研究显示,黄酮类化合物在体外和体内均具有抗炎活性。而黄酮类化合物对5-LOX和12-LOX的抑制作用被广泛认为是其抗炎活性的作用机制^[2]。

3.2 抗肿瘤作用

花生四烯酸经LOX途径代谢所产生的类花生酸类物质与癌症的发生有关。研究表明,在许多种癌症,如乳癌、结肠直肠癌和前列腺癌,以及许多癌细胞系中都有12-LOX的过表达^[25]。胃癌、直肠癌、胰腺癌、前列腺癌和肺癌等多种人类恶性肿瘤中5-LOX的表达明显增高^[26]。抑制LOX可预防恶性肿瘤的发生,而外源性添加LOX代谢产物,如5-HETE可逆转LOX抑制剂对肿瘤的抑制作用,提示LOX可能在肿瘤的发生、发展和转移中起重要作用。

黄酮类化合物对LOX的抑制作用可能是其抗肿瘤作用的机制之一。①黄酮类化合物对LOX的抑制活性与其对肿瘤的抑制活性一致。槲皮素、3,4,2',4'-四羟基查耳酮^[9]、桑色素、漆树黄酮和山奈酚等黄酮类化合物对LOX的抑制活性与其对12-O-十四烷酰佛波醋酸酯-13(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TPA)诱发肿瘤的抑制活性一致,提示

收稿日期: 2009-04-09 接受日期: 2009-10-05

作者简介: 黄 云(1977-),女,湖南省汉寿人,讲师,医学硕士,博士研究生,主要从事脂氧合酶介导外源化学物的代谢研究。

* 联系作者 E-mail: jiananhu@xysm.net Tel: (0731)84805460

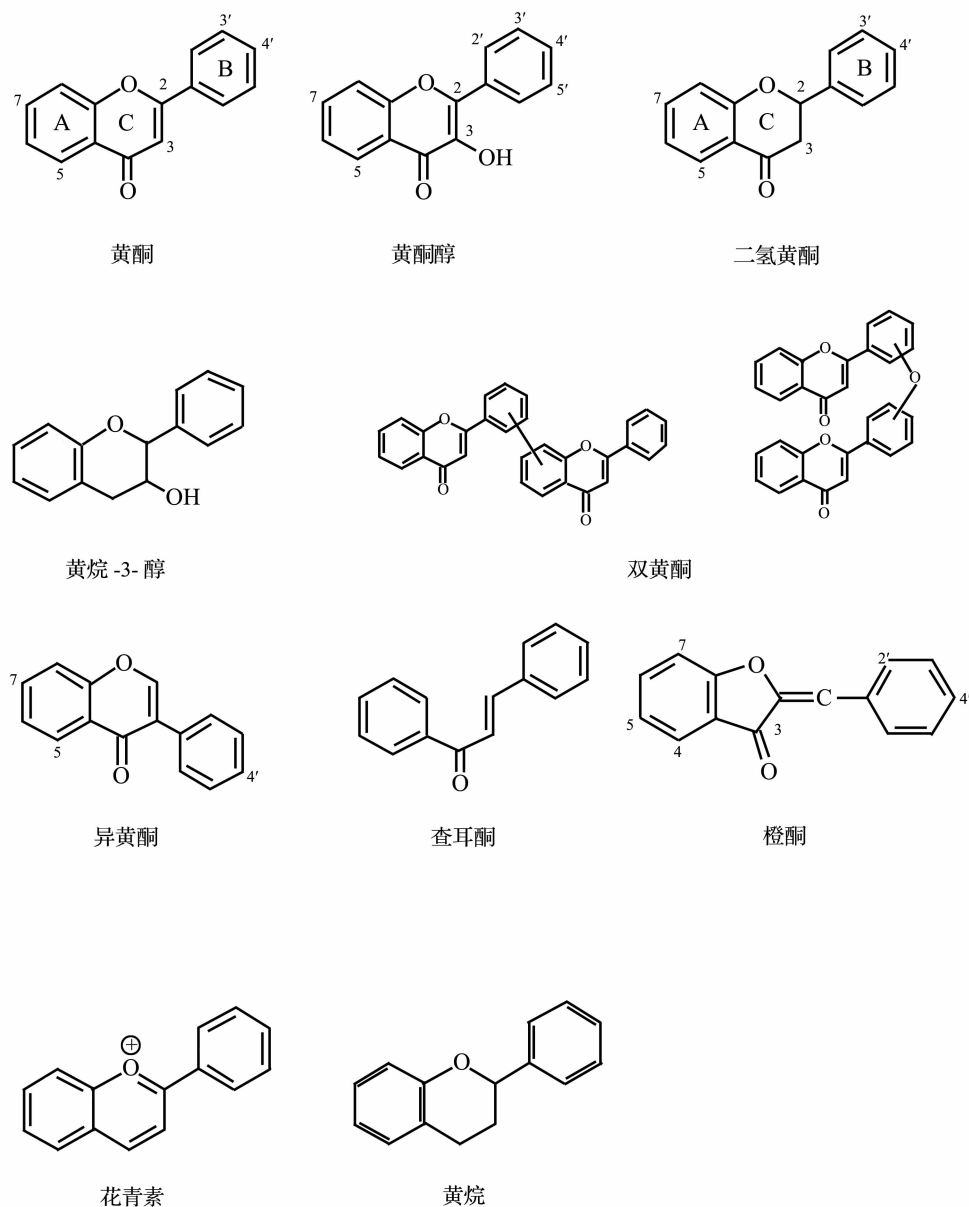


图1. 黄酮类化合物的基本结构

这些黄酮类化合物可能是通过抑制 LOX 而抑制 TPA 诱发肿瘤的作用^[27]。② 黄酮类化合物可通过抑制 LOX, 促进细胞凋亡, 抑制细胞增殖。花生四烯酸等多不饱和脂肪酸的 LOX 途径代谢产物, 包括氢过氧化脂肪酸或羟脂肪酸, 是通过调节细胞增殖与抑制细胞凋亡从而调节肿瘤细胞生长的重要因素之一^[28]。因此, 通常认为 LOX 抑制剂是通过抑制 LOX 及其所致代谢产物水平而发挥诱导细胞凋亡及预防肿瘤的作用。黄芩素作为 12-LOX 抑制剂常用于 LOX 与肿瘤关系的研究。大量研究发现, 黄芩素可诱导小鼠膀胱癌细胞株 MBT-2、人肾细胞癌细胞 (Caki-1, A498 和 RC-1)、人非小细胞肺癌 H460 细胞^[29]、人胃癌细胞系 AGS 和 MKN-28、结肠癌细胞、肝癌细胞、前列腺癌细胞^[25] 和人肝癌细胞株

HepG2^[30] 等的细胞凋亡, 抑制其细胞增殖。去甲中国菹醇^[31]、槲皮素、3,4,2',4'-四羟基查耳酮^[32] 等黄酮类化合物亦有相似抗肿瘤及抗化学物 (如: 苯巴比妥、7-溴甲基苯 [a] 蒽) 诱发肿瘤的报道, 其作用与典型 LOX 抑制剂 NDGA 和 AA861 等相似。③ 黄酮类化合物的抗肿瘤作用被 LOX 代谢产物逆转。实验中加入 12-HETE 或 15-HETE 可逆转黄芩素等的肿瘤抑制作用^[25]。④ 黄酮类化合物抑制 LOX 介导的致癌物的氧化活化。体外实验表明, 茶多酚、槲皮素和芦丁等黄酮类化合物可抑制 LOX 介导的致癌物联苯胺的氧化活化^[33]。

3.3 抗心脑血管疾病

大量研究表明, 12-LOX 代谢产物 12-(S)-HETE 参与多种与高血压和动脉粥样硬化相关的生物学事件, 如介导血管

表 1. 黄酮类化合物对脂氧合酶抑制的 IC₅₀ 值

种类	代表化合物	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		
		5-脂氧合酶	12-脂氧合酶	15-脂氧合酶
经典脂氧合酶抑制剂	去甲二氢愈创木酸 (nordi-hydroguaiaretic acid, NDGA) ^a	0.8 ^[4] ; rN:1 ^[5]	Ph:2.6 ^[6] ; PhS:2 ^[7]	S:3.6 ^[5] ; h1:0.25; h2:11 ^[6]
查耳酮 (chalcones)	3,4-二羟基查耳酮、3,4,2'-三羟基查耳酮、3,4,3'-三羟基查耳酮、3,4,4'-三羟基查耳酮、3,4,2',4'-四羟基查耳酮	4 ~ 43 nmol·L ⁻¹ ^[8]	mE:0.2 ^[9]	
黄酮醇 (flavonols)	槲皮素 (quercetin)	Rh:0.6 ^[10] , 4 ^[4] ; rN:3.2 ^[5]	Ph:0.44 ^[6] ; PhS:1 ^[7]	68 ^[11] ; S, R, h1: 2.2 ~ 4.5 ^[5,6,12] ; h2: >100 ^[6]
	3-羟基黄酮, 棉黄素 (gossypetin), 印棉黄素 (gossypin)	16, 10, 250 ^[4]		
	漆黄素 (fisetin)	11 ^[4]	Ph:0.95 ^[6]	R, S, h1: 1.4 ~ 3.5 ^[6,12] ; h2: >100 ^[6]
黄酮 (flavones)	杨梅黄素 (myricetin)	13 ^[4]		R:18; S:60 ^[12]
	山奈酚 (kaempferol)	20 ^[4]	PhS:8 ^[7]	R:15; S:50 ^[12]
	桑 (色) 素 (morin)	160 ^[4]		R:6; S:18 ^[12]
	高良姜黄素 (galangin)	20 ^[4]		R:45; S:200 ^[12]
	去甲中国藜醇 (cirsiliol)	0.1 ^[13]	1 ^[13]	
	hypolaetin, hypolaetin-8-glucoside	4.5, 56 ^[14]		
	黄芩黄素 (baicalein)	9.5 ^[15]	Ph:0.64 ^[16] ; Ph:0.86 ^[6] ; PhS:1 ^[7]	h1:1.6 ^[16] , 9.1 ^[6] ; R:1, S:35 ^[12] ; h2: >100 ^[6]
二氢黄酮醇 (dihydroflavonols)	木犀草素 (luteolin)			R:0.6; S:3 ^[12]
	芹菜素 (apigenin)		Ph:81 ^[16]	h1:3.4 ^[16]
	黄酮 (flavone), 白杨素 (chrysin)	32, 18 ^[4]		
	3,5,6,7,3',4'-六甲氧黄酮			49 ^[11]
水飞蓟素 (silibinin)	<20 ^[17]		R:25 ^[12]	
双氢槲皮素 (taxifolin)				
黄烷醇 (flavanols)	(-)-没食子儿茶素没食子酸酯 (gallo catechin gallate), (-)-儿茶素没食子酸酯 (catechin gallate)		Ph:0.14, 0.31 ^[18]	
	(-)-表儿茶素 (epicatechin)	Rh:22 ^[10]	15 ^[19] ; Ph:2.12 ^[18]	R:60 ^[19]
	(+)-表儿茶素		Ph:3.46 ^[18]	
	表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate)		Ph:0.25 ^[18]	R:5 ^[19-20]
	(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate)	Rh:3.1 ^[10]	Ph:0.37 ^[18]	R:4 ^[19]
	(+)-儿茶素 (catechin), (-)-表没食子儿茶素 (epigallocatechin), (-)-没食子儿茶素 (gallo catechin)		Ph:1.13 ~ 1.88 ^[18]	
	(-)-儿茶素		Ph:5.84 ^[18]	
	染料木黄酮 (genistein)	hPMNL:125 ^[20]		R:18 ^[12]
大豆黄素 (daidzein)	hPMNL:157 ^[20]			
双黄酮 (biflavones)	金连木黄酮 (ochnaflavone)	6.56 ^[21]		
	银杏黄素 (ginkgetin)	0.33 ^[22]		
异戊烯基黄酮类化合物 (prenylflavones)	sophoraflavanone G 和 kenusanone A	0.09 ~ 0.25, 0.5 ~ 0.9 ^[23]		
	5'-羟基桑根皮素 (artoinin E)	0.36 ^[24]	L:2.3; Ph: 11 ^[24]	R:5.2 ^[24]

a: NDGA 不是黄酮类化合物, 用作对比; b: 为 3,4,2',4'-四羟基查耳酮的 IC₅₀ 值。Rh: 人重组体; hPMNL: 人多形核淋巴细胞; rN: 大鼠中性粒细胞; P: 血小板; PhS: 人血小板 12(S)-LOX; L: 白细胞; mE: 小鼠表皮; S: 大豆; R: 网织红细胞; h1: 人网织红细胞; h2: 人前列腺上皮。

张力变化、诱导血管内皮生长因子生成等;抑制白细胞型12/15-LOX可明显减轻载脂蛋白E基因缺陷小鼠和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体缺陷模型小鼠的动脉粥样硬化程度;此外,12/15-LOX产物可介导LDL转变为氧化型LDL,而后者是LDL致动脉粥样硬化的主要形式。这些都提示,LOX途径在高血压和动脉粥样硬化等心血管疾病的发展过程中起关键作用^[34]。

槲皮素及槲皮素单糖苷[如槲皮素3-O-β-吡喃葡萄糖苷(querceetin 3-O-beta-glucopyranoside, Q3G)、Q4'G及Q7G]和表儿茶素等均可显著抑制哺乳动物15-LOX诱导的LDL脂质过氧化,其抑制作用显著强于抗坏血酸和α-生育酚。黄酮类化合物对LOX介导LDL氧化及其细胞毒性的抑制作用可能是其预防动脉粥样硬化和降低心血管疾病危险性的机制之一^[35]。

黄芩黄素可能通过抑制12-LOX,抑制血管紧张素II诱导的血管收缩、血压升高^[36]和血管平滑肌细胞的肥大反应,也能抑制牛毛细血管内皮细胞和主动脉平滑肌细胞的生长^[37],将高糖条件下培养的猪血管平滑肌细胞的过度增殖降低至正常水平^[38],还抑制血小板源性生长因子BB诱导猪主动脉血管平滑肌细胞的增殖和迁移^[39],从而预防血小板源性生长因子、血管紧张素II和糖尿病的高血糖对心血管疾病的促进作用。

此外,应用12/15-LOX基因敲除小鼠的研究表明,黄芩黄素可通过抑制12/15-LOX途径发挥对脑局部缺血再灌注损伤的保护作用^[40]。黄芩苷^[41]和5-己氧-3',4'-二羟-6,7-二甲氧黄酮-4'-磷酸二钠可通过抑制5-LOX降低缺血再灌注后半胱氨酸白三烯的合成,从而发挥对脑局部缺血再灌注损伤的保护作用^[42]。黄芩苷可通过抑制N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl D-aspartate, NMDA)受体介导的5-LOX的激活,从而对氧糖剥夺诱导的局部缺血样神经损伤发挥保护作用^[43]。

3.4 对细胞增殖的影响

花生四烯酸经LOX途径的代谢产物被认为与多种细胞生长有关。细胞实验中发现,黄芩黄素可通过抑制LOX催化的12-(S)-HETE的生成,从而抑制生长因子诱导的细胞生长,如表皮生长因子依赖性的晶体上皮细胞生长^[44],10%胎牛血清或血小板源性生长因子诱导的肾小球膜细胞生长^[45]。在兔血管平滑肌细胞中,除黄芩黄素外,黄芩苷和汉黄芩(黄素)也可剂量依赖性地抑制5%胎牛血清诱导的增殖反应。黄芩苷和汉黄芩(黄素)对血清诱导的平滑肌细胞增殖的抑制作用弱于黄芩黄素,提示5,6,7-三羟基结构对于充分表现血管平滑肌增殖的抑制活性是必要的。黄芩黄素对血小板衍生生长因子诱导细胞增殖的抑制作用强于对血清诱导增殖反应的抑制作用^[46]。

3.5 其他

研究表明,黄芩黄素还可通过抑制12-LOX,减弱盐酸纳洛酮激发的吗啡戒断综合征^[47];降低血管紧张素II诱导的醛固酮的分泌^[48];阻断NO触发的细胞死亡,可能对帕金森病具有重要的预防作用^[49];降低淀粉样β-蛋白片段25~35诱导的神经元凋亡和c-Jun蛋白的过度表达,可能在预防阿尔茨海默病中起作用^[50]。

水飞蓟素对5-LOX途径的显著抑制作用可能是其对急、

慢性肝损伤具有保肝作用的原因之一^[51]。

槲皮素和七叶亭等可抑制人脾脏的自然杀伤细胞活性及其介导的细胞毒作用,可能是通过抑制LOX发挥调节自然杀伤细胞活性的作用^[52]。

4 黄酮类化合物抑制脂氧合酶作用机制

4.1 作用机制

黄酮类化合物对LOX抑制作用的可能机制:①与酶活性中心所产生的自由基反应。黄酮类化合物的自由基清除功能已为众多学者证实,且有研究表明,茶多酚、槲皮素和芦丁等黄酮类化合物可能通过清除LOX催化形成的自由基中间产物,从而抑制LOX介导的双加氧作用和协同氧化作用^[33]。②与酶结合。EGCG与大豆LOX-3相互作用的X线分析结果表明,EGCG分解为缺乏没食子酰基结构的表没食子儿茶精,后者的A环接近铁辅基,通过氢键与酶的羧基端相结合,B环羟基参与与周围氨基酸和水分子形成的氢键和范德瓦耳斯结合,从而与酶结合发挥抑制作用^[53]。黄芩黄素为15-hLO-1的还原性抑制剂,可能通过儿茶酚羟基与酶活性中心的铁结合,使其还原,自身被氧化成醌而发挥抑制作用;分子模型分析亦证实黄芩黄素能接近铁并与其螯合(与铁的距离=0.26 nm)。芹菜素不是还原性抑制剂,其抑制LOX可能是末端羟基与LOX的T591氢键结合(0.18 nm),将芹菜素分子固定在LOX上,从而阻碍了底物接近活性中心的铁原子所致^[16]。③抑制LOX的表达。在A549肺上皮细胞中,染料木黄酮作为较强的酪氨酸激酶抑制剂,可阻碍Janus激酶/信号传导因子和转录激活子6的磷酸化,从而阻碍其与15-LOX-1启动子结合,抑制15-LOX-1的蛋白表达^[54]。黄芩黄素可抑制人非小细胞肺癌细胞系H460^[29]和人肝癌细胞株HepG2^[30]中12-LOX的基因和蛋白质表达。此外,黄芩苷还可抑制NMDA受体介导的5-LOX的激活^[43]。染料木黄酮可通过抑制P38促分裂原激活蛋白激酶和其下游MAPKAPK-2的磷酸化从而减少5-LOX向核膜的转移^[55]。

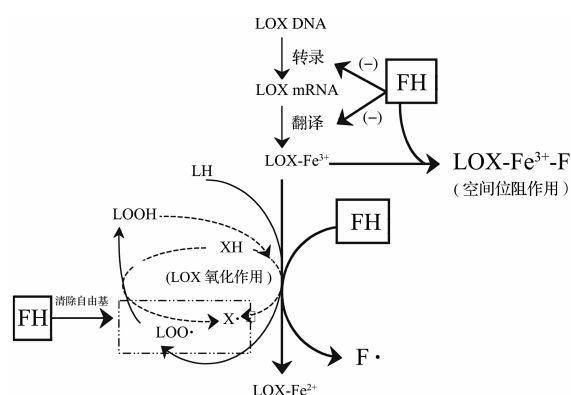


图2. 黄酮类化合物抑制LOX的机制。FH:黄酮类化合物; LH:脂肪酸; LOO·:脂肪酸过氧化自由基; LOOH:脂肪酸氢过氧化物; XH:外源化学物; X·:外源化学物自由基

4.2 黄酮类化合物的结构活性关系

根据有关研究,黄酮类化合物对LOX的抑制活性起作

用的结构有以下几种。

4.2.1 C-3 位羟基

黄酮醇对 LOX 的抑制活性普遍强于黄酮化合物^[2],提示具有 3-位羟基通常有助于 LOX 抑制活性。

4.2.2 3'-和 4'-位的 *o*-二羟基(邻苯二酚)结构

多种具有 3'-和 4'-位的 *o*-二羟基(邻苯二酚)结构的黄酮醇及黄酮化合物^[3,24]对 5-LOX, 12-LOX 和 15-LOX^[12]有较强抑制作用,其对 LOX 的抑制活性及其选择性与邻苯二酚结构有关^[6,14]。邻苯二酚结构在 LOX 抑制活性中的重要性可能是由于他能将酶活性中心的三价铁还原成无活性的二价铁,从而干扰催化循环^[6]。

4.2.3 C-2,3 位双键

无 C-2,3 位双键的黄酮类化合物,如二氢黄酮化合物柚皮素,对 5-和 12-LOX 均无抑制作用^[27],柚皮素、橙皮素、表儿茶素及双氢槲皮素对兔网织红细胞 15-LOX-1 的抑制活性均低于槲皮素^[12],双氢槲皮素对白三烯 B₄ 的抑制活性亦显著低于槲皮素^[56],提示 C-2,3 双键的还原可降低对 LOX 的抑制活性。C-2,3 位双键结构的重要性可能在于以下 2 个方面:①它使分子结构中的 3 个环包括 C 环羰基形成 1 个共轭体系,而使黄酮化合物所形成的复合物或者自由基中间产物更为稳定;②它使分子结构平面化,分子更容易嵌入 LOX 活性中心部位的芳香族与杂环芳香族氨基酸残基间^[12]。

4.2.4 糖基化

Hypolaetin/hypolaetin-8-葡萄糖苷及其他 3 种黄酮类化合物的配糖/配基对的研究结果表明,加入糖基可显著降低其对 5-LOX 的抑制活性同时保持其对 5-LOX 抑制的选择性^[14]。

4.2.5 没食子酸结构

与(-)-表儿茶素和(+)-儿茶素等相比,EGCG 和表儿茶素没食子酸酯是 15-LOX-1^[19]和 5-LOX^[10]的更为有效的抑制剂,且脂肪烃没食子酸盐也是 5-LOX 和 15-LOX 的强抑制剂^[57],提示这种高抑制活性可能是由于没食子酸结构的作用。

4.2.6 羟基的数量

研究发现,在黄酮基本骨架上仅有单羟基或二羟基取代基的黄酮类化合物多对血小板 12-hLO 和网织红细胞 15-hLO-1 无抑制作用或仅有较低的抑制作用,而具有多羟基取代基的黄酮类化合物,如槲皮素、漆树黄酮和黄芩黄素对 12-hLO 和 15-hLO-1 具有强抑制作用^[6];此外,对于含有邻苯二酚结构的黄酮类化合物,其对 5-LOX^[14]和 15-LOX^[12]的抑制活性及其选择性与除邻苯二酚结构以外的羟基取代基的数目有关。

4.2.7 C 环的芳香族化合物的结构特性和氧化状态

异黄酮和异黄烷酮对 12-hLO 的抑制作用较强,而异黄烷对 15-hLO-1 的抑制作用较强^[6]。

4.2.8 黄酮类化合物结构的平面性及前沿轨道的最低未占分子轨道的离域作用

黄酮类化合物结构的平面性及前沿轨道的最低未占分子轨道的离域作用对其 LOX 抑制活性具有积极的作用^[58]。

综上所述,多种黄酮类化合物是 5-LOX,12-LOX 及 15-

LOX 的良好抑制剂。它们对 LOX 的抑制活性至少能部分解释黄酮类化合物的抗炎、抗变态反应和抗肿瘤等生物活性。然而黄酮类化合物在体内抑制 LOX 实际效果及其在降低癌症及其他疾病发生中的作用仍需进一步研究。

5 参考文献:

- [1] Kulkarni AP. Lipoxygenase - a versatile biocatalyst for biotransformation of endobiotics and xenobiotics[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, **58**(12-13):1805-1825.
- [2] Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms[J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, **96**(3):229-245.
- [3] Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomás-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, et al. Flavonoids in food and their health benefits[J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2004, **59**(3):113-122.
- [4] Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Houlst JR, Halliwell B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability[J]. *Biochem Pharmacol*, 1991, **42**(9):1673-1681.
- [5] Chang J, Skowronek MD, Cherney ML, Lewis AJ. Differential effects of putative lipoxygenase inhibitors on arachidonic acid metabolism in cell-free and intact cell preparations[J]. *Inflammation*, 1984, **8**(2):143-155.
- [6] Vasquez-Martinez Y, Ohri RV, Kenyon V, Holman TR, Sepúlveda-Boza S. Structure-activity relationship studies of flavonoids as potent inhibitors of human platelet 12-hLO, reticulocyte 15-hLO-1, and prostate epithelial 15-hLO-2[J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, **15**(23):7408-7425.
- [7] Bednar W, Holzmann K, Marian B. Assessing 12(S)-lipoxygenase inhibitory activity using colorectal cancer cells overexpressing the enzyme[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, **45**(3):508-514.
- [8] Sogawa S, Nihro Y, Ueda H, Izumi A, Miki T, Matsumoto H, et al. 3,4-Dihydroxychalcones as potent 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 1993, **36**(24):3904-3909.
- [9] Aizu E, Nakadate T, Yamamoto S, Kato R. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-mediated epidermal ornithine decarboxylase induction and skin tumor promotion by new lipoxygenase inhibitors lacking protein kinase C inhibitory effects[J]. *Carcinogenesis*, 1986, **7**(11):1809-1812.
- [10] Schewe T, Kühn H, Sies H. Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase[J]. *J Nutr*, 2002, **132**(7):1825-1829.
- [11] Malterud KE, Rydland KM. Inhibitors of 15-lipoxygenase from orange peel[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, **48**(11):5576-5580.
- [12] Sadik CD, Sies H, Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, **65**(5):773-781.
- [13] Yoshimoto T, Furukawa M, Yamamoto S, Horie T, Watanabe-Kohno S. Flavonoids: potent inhibitors of arachidonate 5-lipoxygenase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983, **116**(2):

- 612-618.
- [14] Moroney MA, Alcaraz MJ, Forder RA, Carey F, Hoult JR. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1988, **40**(11):787-792.
- [15] Butenko IG, Gladchenko SV, Galushko SV. Anti-inflammatory properties and inhibition of leukotriene C4 biosynthesis *in vitro* by flavonoid baicalein from *Scutellaria baicalensis* Georgy roots[J]. *Agents Actions*, 1993, **39**:C49-C51.
- [16] Deschamps JD, Kenyon VA, Holman TR. Baicalein is a potent *in vitro* inhibitor against both reticulocyte 15-human and platelet 12-human lipoxygenases[J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, **14**(12):4295-4301.
- [17] Dehmlow C, Murawski N, de Groot H. Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells[J]. *Life Sci*, 1996, **58**(18):1591-1600.
- [18] Yamamoto S, Katsukawa M, Nakano A, Hiraki E, Nishimura K, Jisaka M, *et al.* Arachidonate 12-lipoxygenases with reference to their selective inhibitors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **338**(1):122-127.
- [19] Schewe T, Sadik C, Klotz LO, Yoshimoto T, Kühn H, Sies H. Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase[J]. *Biol Chem*, 2001, **382**(12):1687-1696.
- [20] Mahesha HG, Singh SA, Rao AG. Inhibition of lipoxygenase by soy isoflavones: evidence of isoflavones as redox inhibitors[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, **461**(2):176-185.
- [21] Son MJ, Moon TC, Lee EK, Son KH, Kim HP, Kang SS, *et al.* Naturally occurring biflavonoid, ochnaflavone, inhibits cyclooxygenases-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2006, **29**(4):282-286.
- [22] Son JK, Son MJ, Lee E, Moon TC, Son KH, Kim CH, *et al.* Ginkgetin, a biflavone from *Ginkgo biloba* leaves, inhibits cyclooxygenases-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, **28**(12):2181-2184.
- [23] Chi YS, Jong HG, Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP. Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, **62**(9):1185-1191.
- [24] Reddy GR, Ueda N, Hada T, Sackeyfio AC, Yamamoto S, Hano Y, *et al.* A prenylflavone, artonin E, as arachidonate 5-lipoxygenase inhibitor[J]. *Biochem Pharmacol*, 1991, **41**(1):115-118.
- [25] Pidgeon GP, Kandouz M, Meram A, Honn KV. Mechanisms controlling cell cycle arrest and induction of apoptosis after 12-lipoxygenase inhibition in prostate cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2002, **62**(9):2721-2727.
- [26] Li Y, Li JY, Wang XZ. Research progress on tumor-promoting mechanism of 5-lipoxygenase[J]. *World Chin J Dig*(世界华人消化杂志), 2006, **14**(8):800-804.
- [27] Nakadate T, Yamamoto S, Aizu E, Kato R. Effects of flavonoids and antioxidants on 12-*O*-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate-caused epidermal ornithine decarboxylase induction and tumor promotion in relation to lipoxygenase inhibition by these compounds[J]. *Gann*, 1984, **75**(3):214-222.
- [28] La E, Kern JC, Atarod EB, Kehrer JP. Fatty acid release and oxidation are factors in lipoxygenase inhibitor-induced apoptosis[J]. *Toxicol Lett*, 2003, **138**(3):193-203.
- [29] Leung HW, Yang WH, Lai MY, Lin CJ, Lee HZ. Inhibition of 12-lipoxygenase during baicalein-induced human lung nonsmall carcinoma H460 cell apoptosis[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, **45**(3):403-411.
- [30] Zhao JX, Wang GY, Yang ZM. Apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell induced by 12-lipoxygenase inhibitor and effect of 12-lipoxygenase inhibitor on expression of survivin gene[J]. *J Jilin Univ:Med Sci*(吉林大学学报:医学版), 2007, **33**(6):1013-1017.
- [31] Tsukada T, Nakashima K, Shirakawa S. Arachidonate 5-lipoxygenase inhibitors show potent antiproliferative effects on human leukemia cell lines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, **140**(3):832-836.
- [32] Nakadate T, Yamamoto S, Aizu E, Kato R. Inhibition by lipoxygenase inhibitors of 7-bromomethylbenz[a]anthracene-caused epidermal ornithine decarboxylase induction and skin tumor promotion in mice[J]. *Carcinogenesis*, 1989, **10**(11):2053-2057.
- [33] Hu J, Huang Y, Xiong M, Luo S, Chen Y, Li Y. The effects of natural flavonoids on lipoxygenase-mediated oxidation of compounds with a benzene ring structure - a new possible mechanism of flavonoid anti-chemical carcinogenesis and other toxicities[J]. *Int J Toxicol*, 2006, **25**(4):295-301.
- [34] Jiang LP, Lu Y, Chen HZ. Advances in studies on lipoxygenase and its inhibitors[J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2005, **21**(8):897-901.
- [35] da Silva EL, Abdalla DS, Terao J. Inhibitory effect of flavonoids on low-density lipoprotein peroxidation catalyzed by mammalian 15-lipoxygenase[J]. *IUBMB Life*, 2000, **49**(4):289-295.
- [36] Stanke-Labesque F, Devillier P, Bedouch P, Cracowski JL, Chavanon O, Bessard G. Angiotensin II-induced contractions in human internal mammary artery: effects of cyclooxygenase and lipoxygenase inhibition[J]. *Cardiovasc Res*, 2000, **47**(2):376-383.
- [37] Dethlefsen SM, Shepro D, D'Amore PA. Arachidonic acid metabolites in bFGF-, PDGF-, and serum-stimulated vascular cell growth[J]. *Exp Cell Res*, 1994, **212**(2):262-273.
- [38] Natarajan R, Gu JL, Rossi J, Gonzales N, Lanting L, Xu L, *et al.* Elevated glucose and angiotensin II increase 12-lipoxygenase activity and expression in porcine aortic smooth muscle cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(11):4947-4951.
- [39] Natarajan R, Bai W, Rangarajan V, Gonzales N, Gu JL, Lanting L, *et al.* Platelet-derived growth factor BB mediated regulation of 12-lipoxygenase in porcine aortic smooth muscle cells[J]. *J Cell Physiol*, 1996, **169**(2):391-400.
- [40] van Leyen K, Kim HY, Lee SR, Jin G, Arai K, Lo EH. Baicalein and 12/15-lipoxygenase in the ischemic brain[J]. *Stroke*, 2006, **37**(12):3014-3018.
- [41] Zhang RL, Ren HM, Dong Q, Chen GH, Liu XF, Lü CZ. Effect of baicalein on the metabolism of arachidonic acid in rats following cerebral ischemia-reperfusion and its mechanism[J]. *J Med Post-*

- grad(医学研究生学报), 2008, 21(6):591-598.
- [42] Ban M, Tonai T, Kohno T, Matsumoto K, Horie T, Yamamoto S, *et al.* A flavonoid inhibitor of 5-lipoxygenase inhibits leukotriene production following ischemia in gerbil brain[J]. *Stroke*, 1989, 20(2):248-252.
- [43] Ge QF, Hu X, Ma ZQ, Liu JR, Zhang WP, Chen Z, *et al.* Baicalin attenuates oxygen-glucose deprivation-induced injury via inhibiting NMDA receptor-mediated 5-lipoxygenase activation in rat cortical neurons[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(2):148-157.
- [44] Seth RK, Haque MS, Zelenka PS. Regulation of c-fos induction in lens epithelial cells by 12-(S)-HETE-dependent activation of PKC[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(13):3239-3246.
- [45] Nakahama K, Morita I, Murota S. Effects of endogenously produced arachidonic acid metabolites on rat mesangial cell proliferation[J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1994, 51(3):177-182.
- [46] Huang HC, Wang HR, Hsieh LM. Antiproliferative effect of baicalin, a flavonoid from a Chinese herb, on vascular smooth muscle cell[J]. *Eur J Pharmacol*, 1994, 251(1):91-93.
- [47] Trang T, Sutak M, Quirion R, Jhamandas K. Spinal administration of lipoxygenase inhibitors suppresses behavioural and neurochemical manifestations of naloxone-precipitated opioid withdrawal[J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 140(2):295-304.
- [48] Nadler JL, Natarajan R, Stern N. Specific action of the lipoxygenase pathway in mediating angiotensin II-induced aldosterone synthesis in isolated adrenal glomerulosa cells[J]. *J Clin Invest*, 1987, 80(6):1763-1769.
- [49] Canals S, Casarejos MJ, de Bernardo S, Rodríguez-Martín E, Mena MA. Nitric oxide triggers the toxicity due to glutathione depletion in midbrain cultures through 12-lipoxygenase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(24):21542-21549.
- [50] Lebeau A, Esclaire F, Rostène W, Pélaprat D. Baicalein protects cortical neurons from beta-amyloid 25-35 induced toxicity[J]. *Neuroreport*, 2001, 12(10):2199-2202.
- [51] Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin[J]. *Hepatology*, 1996, 23(4):749-754.
- [52] Bray RA, Brahmi Z. Role of lipoxygenation in human natural killer cell activation[J]. *J Immunol*, 1986, 136(5):1783-1790.
- [53] Skrzypczak-Jankun E, Zhou K, Jankun J. Inhibition of lipoxygenase by (-)-epigallocatechin gallate: X-ray analysis at 2.1 Å reveals degradation of EGCG and shows soybean LOX-3 complex with EGC instead[J]. *Int J Mol Med*, 2003, 12(4):415-420.
- [54] Shankaranarayanan P, Chaitidis P, Kühn H, Nigam S. Acetylation by histone acetyltransferase CREB-binding protein/p300 of STAT6 is required for transcriptional activation of the 15-lipoxygenase-1 gene[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(46):42753-42760.
- [55] Kalhan R, Smith LJ, Nlend MC, Nair A, Hixon JL, Sporn PH. A mechanism of benefit of soy genistein in asthma; inhibition of eosinophil p38-dependent leukotriene synthesis[J]. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38(1):103-112.
- [56] Loke WM, Proudfoot JM, Stewart S, McKinley AJ, Needs PW, Kroon PA, *et al.* Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin; lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity[J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(5):1045-1053.
- [57] Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators[J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81(1 Suppl):304S-312S.
- [58] Redrejo-Rodríguez M, Tejeda-Cano A, del Carmen Pinto M, Macías P. Lipoxygenase inhibition by flavonoids: semiempirical study of the structure-activity relation[J]. *J Mol Struct: Theoret Chem*, 2004, 674(1-3):121-124.

Effects of flavonoids on lipoxygenase activities and their biological functions

HUANG Yun, HU Jian-An*

(Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: Lipoxygenase (LOX) is related to emergence and development of many diseases, such as acute and chronic inflammation, atherosclerosis, hypertension and tumor. Therefore, the inhibition of LOX may play an important role in the prevention and treatment of these diseases. Many kinds of flavonoids, such as chalcones, flavonols, flavones and flavanols, have inhibitory effect on 5-LOX, 12-LOX and 15-LOX probably through inhibiting expression of LOX, bonding to the enzyme or reacting with free radicals generated at the active site of the enzyme. Their inhibitory activities

are related to their structures. The inhibitory effects of flavonoids on LOX maybe one of mechanisms of flavonoids' some biological functions, such as anti-inflammatory, anti-tumor and reducing the risk of cardiovascular disease and cerebrovascular disease.

Key words: flavonoids; lipoxygenase

* Corresponding author.