

41-43

药用植物花粉酶类多样性

114

(一) 酶类组分含量、活性及酶促作用的原因

吴燕丽^① 何和明^②

(①海南省海口市第十中学 海口市 570302 ②海南师范学院 海口市 571158)

Q 949.95
Q 946.5
567.01

摘要 采用动力法,测定与分析了5种药用植物花粉8种酶类组分含量、活性变化及酶促作用的原因,结果表明不同植物花粉的酶类组分含量活性变化差异显著,酶促反应的变化来自活性部位基因与辅基相互关系所致。

关键词 药用植物; 花粉; 酶类; 酶活性

槟榔(*Areca catechu*),芦荟(*Aloe*),绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*),白花蛇舌草(*Hedyotis dif-fusa*)和叶下珠(*Phyllanthus urinaria*),粉源丰富、泌蜜芳香、化学成分配比均衡,药理活性十分广泛^[1-3]。据“中药志”、“海药本草”记述,这些药用植物花粉具有增强机体SOD活性、调节免疫系统、健胃驱虫、抗炎降脂、抗衰老、抑制癌细胞等功效。大量的临床检验与药理研究结果表明,不少药用植物有效成分的生物合成与各种活性酶化学反应密切相关,但花粉酶类活性变化、组分含量及其催化原因的报道尚少。本文论及这5种药用植物花粉酶类化学变化、酶活性组分含量及其催化机理,为加大综合开发利用资(药)源的潜在力度,提供理论基础与生化指标。

1 材料与方 法

1.1 材料采集 用多点法分别在海南岛中部(琼中乌石)、西南部(保亭七指岭)和北部(澄迈白莲)3个试验区随机集聚槟榔(棕榈科)、绞股蓝(葫芦科)、芦荟(百合科)、白花蛇舌草(茜草科)、叶下珠(大戟科)的开花植株作为供试材料,并按不同类别的样品,进行各项生化指标测定。

1.2 测试方法

1.2.1 样品处理 利用采粉器分别收集各试区不同类别的花粉,经外观、镜检选取纯花粉团粒,置于恒温箱(40℃)干燥48h,待花粉散出后过筛(100目),再装入恒温箱干燥24h,冷却后备于检测用。

1.2.2 粗酶液制备 称取预冷试样各1g,按每克鲜重加入0.1mol/L磷酸钠缓冲液(pH6~6.5),用高速组织捣碎机磨碎组织3~4min,其中间歇1min,以防过热,过滤后的纯花粉团粒,再以3000~4000rpm离心20min(4℃),用吸管取上清液贮于水浴中,即为制备的粗酶液。

1.2.3 测定方法 采用动力法。把粗酶提取液按2~3 μ l的比例注入反应杯,置于瑞士产的Colas Fara II型自动检测仪上连续检测,含量以U/L表示。

2 结果与分析

2.1 5种不同植物花粉酶类组分含量的差异比较 高等植物花粉酶类活性物质种类繁多多样,组

成特异。因此,花粉所含酶量值水平变化可随不同科、属、种间各有差别。经取样检测定量分析结果(表 1)。

表 1 5 种不同科、属、种间植物花粉酶类组成含量 U/L n=4

序号	种类	科名	GPT	AST	ALP	LDH	CK	β -HBDH	AMY	G-GT	总量 (T)	平均值 (\bar{x})
I	槟榔	棕榈科	39.40	1.93	9.21	4.57	1.24	2.24	1.99	0.89	61.47	7.68
II	绞股蓝	葫芦科	11.12	121.01	5.08	2.98	4.03	6.13	1.90	1.95	154.20	19.26
III	芦荟	百合科	298.75	1138.05	1.25	0.11	2.46	36.15	2.28	0.79	1479.84	184.98
IV	白花蛇舌草	茜草科	15.02	23.51	10.50	1.10	2.21	1.59	2.63	0.68	57.24	7.16
V	叶下珠	大戟科	45.21	132.07	1.04	1.16	1.78	30.55	1.94	0.62	214.37	26.80

注:表内测定数据为 3 次重复测得的平均值,下表同。

从表 1 可知,5 种不同植物花粉所含 8 种酶类活性物质组成总含量相比,花粉总量差异依列顺序递减为芦荟(1479.84) > 叶下珠(214.37) > 绞股蓝(154.20) > 槟榔(61.47) > 白花蛇舌草(57.24)。其中芦荟植株活性酶类的 AST(谷草转氨酶 1138.05,占总量 76.90%)含量最高,GPT(谷丙转氨酶 298.75,占总量 20.19%), β -HBDH(β -羟丁酸丁酸脱氢酶 36.15,占总量 2.44%)次之,CK(磷酸肌酸激酶 2.46,占总量 0.17%)、AMY(淀粉酶 2.28,占总量 0.15%)再次,ALP(碱性磷酸酶 1.25)、G-GT(转肽酶 0.79)和 LDH(乳酸脱氢酶 0.11)偏低。叶下珠、绞股蓝、槟榔、白花蛇舌草的花粉酶类活性物质组分含量总的变化范围差异程度分别顺序为(0.62 - 132.07U/L)、(1.90 - 121.01U/L)、(0.89 - 39.40U/L)和(0.68 - 23.51U/L),其中各酶类量值变化除槟榔花粉的 AST 含量(1.93)偏低外,其余的都以 AST、GPT 的含量最高,而 G-GT、LDH、AMY 的含量较低。

2.2 同科属、不用种植物花粉中酶类活性物质组分含量的差异程度 经取样定量分析与测定结果显示槟榔植株种源各异,种间花粉酶类活性物质组分含量水平总的量值变化趋势是泰国槟榔(A) > 海南槟榔(B) > 云南槟榔(C)详见表 2 所示。总量值变化范围为 60.77 - 66.56U/L。

表 2 不同品种槟榔植株酶类组成含量比较 U/L n=4

序号	取样点	品种	GPT	AST	ALP	LDH	CK	β -HBDH	AMY	G-GT	总量 (T)	平均值 (\bar{x})
(A)	琼中县	泰国槟榔	43.00	1.56	9.80	4.31	1.11	3.80	2.14	0.78	66.56	8.32
(B)	乌石	海南槟榔	36.90	2.35	9.63	5.21	1.53	2.41	2.05	1.01	61.09	7.64
(C)	农场	云南槟榔	30.30	1.87	8.21	4.12	1.08	4.52	1.78	0.89	60.77	7.60

表 2 还表明种(A)酶类各组分含量相比,差异程度依下列顺序递减以 GPT 占总量 64.60% > ALP(14.72%) > LDH(6.57%) > β -HBDH(5.71%) > AMY(3.22%) > AST(2.34%) > CK(1.67%) > G-GT(1.17%)。经 t 值检验得知各树种间酶类组成含量差异显著(S, P < 0.05);种(B)、种(C)酶类组成变化也是如此,海南槟榔与云南槟榔的酶类组成含量仍以 GPT 最高,ALP 次之,LDH、 β -HBDH 再次,余者递减顺序与泰国槟榔大体相似。

2.3 不同植物花粉中酶活(性)力及其催化机理的分析 花粉酶在植物体中的占有量微乎其微,但酶的活(性)力是化学反应加速的催化能力,酶促反应速度越大,酶的活(性)力越强。从酶学角度来说,酶的活(性)力与量值变化呈正相关。取样测定结果(表 3)。

表 3 3 种药用植物花粉酶活性及理化性质 n=4

种类	蛋白质 (mg·g ⁻¹ FW)	酶总量 U/L	活(性)力 U/L	类 型		辅基含离子状况				
				生态	显色反应	Mn	Cu	Zn	Ca	Mg
槟榔	40.32	61.47	13.08	木本	腺黄	√ ③④	-	-	-	√ ③④⑥
绞股蓝	48.16	154.20	32.81	藤本	绿蓝	√	⑦	⑤⑦	-	-
白花蛇舌草	21.72	57.24	12.18	草本	浅紫	-	-	-	√ ①②	-

注:①GPT, ②AST, ③ALP, ④LDH, ⑤CK, ⑥β-HBDH, ⑦AMY, ⑧G-GT

从表 3 可以看到绞股蓝花粉酶总量比槟榔花粉和白花蛇舌草高 2.51 倍、2.69 倍,其酶活(性)力亦随之提高。说明药用植物花粉酶活性大小或强弱与酶的含量水平变化密切相关。花粉的酶促催化如此迅速而又井然有序,依其酶分子结构与活化特点,酶基本上可分成金属酶类与被金属活化的酶类两种。费德男(W. Ferdinand)指明,由于酶是一种与其催化反应的活化复合物在结构上互补的生物大分子,酶的催化过程具有与非酶(金属)催化类似的机理。但由于药用植物花粉酶的活性部位基因相当多,它的通导能力比非酶(金属)催化强得多,致使药用植物花粉的化学反应速率显著增大加快。酶催化活性来自构成活性位点的少数氨基酸侧基以及酶的活性中心上的侧链(如羟基、巯基、咪唑基),而活性位点的排布方式,常使构成这个位点的氨基酸残基、咪唑基和羟基等在催化过程中作为催化的供体及受体,促使花粉酶催化反应迅速增大。另外是被金属活化的酶类(ALP、LDA 和 α-HBDH)的活化,就必需外加金属离子(Zn、Cu、Mn、Mg)作为辅基,方可显示其催化能力。

3 小结

以上罗列了不同科属种的 5 种药用植物花粉酶组成含量、活性的相关性,并分析了花粉酶催化的(原因)机理,如把这些药用植物花粉作为新型食疗药源来开发,研制成系列新产品,具有较高的营养价值和特殊的保健功效,对多种疾病均有治疗作用。因此,随着花粉成分、应用研究的逐步深入,在食疗医用的基础上探索机理,是具有--定学术价值的。

致谢:本研究部分样品的测试得到中国人民解放军 187 医院检验科曾学平、周佑林同志的支持与协助。

参 考 文 献

- 1 何和明著. 槟榔、益智、绞股蓝的生理生态. [M]上海:同济大学出版社,1995:249~257
- 2 [日]芦川良江著. 1995:249~257. 芦荟[M]. 海南:华南热带作物科学研究院科技情报所出版,1987:20~28
- 3 江西药科学学校编. 草药手册. [M]. 南昌:江西科技出版社,1970:434.488.