

山茱萸功能性成分的提取分离及生物活性研究进展

陈巧霞¹ 杨光明² 潘 扬^{2,3}

(1.南京市鼓楼区虹桥社区卫生服务中心,江苏南京 210003;2.南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室、国家中医药管理局中药炮制标准重点研究室、国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心,江苏南京 210023; 3.南京中医药大学药用菌与中药生物技术研究所,江苏南京 210023)

摘 要 采用网络检索、分类与汇总,将国内外文献中山茱萸功能性成分的提取分离和生物活性等内容进行归纳总结:山茱萸功能性成分主要有五环三萜类、环烯醚萜苷类、黄酮类、有机酸及其酯类、挥发性成分、多糖等,具有抗肿瘤、抗休克、降血糖、抗菌、抗病毒、抗血栓、降血脂和增强免疫力等功效。目前随着对山茱萸生物活性及药理作用研究的不断深入,为其进一步开发提供了物质基础和理论前提。

关键词 山茱萸 中药有效成分 提取和分离 药理学 综述

中图分类号 R282.71

文献标志码 A

文章编号 1672-397X(2016)01-0082-04

山茱萸科(Cornaceae)植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)始载于《神农本草经》,主产山西、陕西、山东、江苏、浙江、安徽、江西、河南、湖南等省,在四川省也有引种栽培^[1]。其干燥成熟果肉即为山茱萸(亦称为“萸肉”、“枣皮”),秋末冬初果皮变红时采收果实,用文火烘或置沸水中略烫后,及时除去果核,干燥。山茱萸为药食两用的中药,功能补益肝肾,收涩固脱。用于眩晕耳鸣,腰膝酸痛,阳痿遗精,遗尿尿频,崩漏带下,大汗虚脱,内热消渴^[2]。十多年前我们曾对植物山茱萸化学成分的研究概况进行了综述^[3],本文在此基础上,将山茱萸功能性成分的提取分离和生物活性研究进展概述如下。

1 五环三萜类

1.1 提取分离 山茱萸中的五环三萜类化合物主要有熊果酸、2 α -羟基熊果酸、齐墩果酸、阿江榄仁树葡萄糖苷(Ⅱ)等。朱崇梅^[4]通过响应面分析法,获得提取山茱萸中熊果酸的最佳工艺:提取温度为74.0℃,提取时间为154.5min,乙醇体积分数为85.8%,液料比为15.8:1。张艳萍等^[5]采用分光光度法测定三萜的总量,并通过响应面分析法对山茱萸中三萜酸的提取工艺进行优选,最佳提取工艺为17倍量的91%乙醇,超声提取22min,三萜酸得率为2.91%。

1.2 生物活性 五环三萜类化合物具有抗肿瘤、抗糖尿病、抗菌、抗病毒、增强免疫功能和降血脂等多种生物活性^[6-7]。张明发等^[8-10]阐述了齐墩果酸和熊果

酸在抗四氯化碳(CCl₄)、抗乙酰氨基酚等需细胞色素P450活化的化学品、抗镉(Cd)等化合物急性肝损伤、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等方面的药理作用及其作用机制。施凤等^[11]探讨熊果酸对活化型HSC的NOX其他亚基gp91^{phox}、p22^{phox}、p67^{phox}、Rac1蛋白的表达及其调控的信号通路PI3K/Akt、P38MAPK的影响,以进一步阐明熊果酸选择性诱导活化型HSC凋亡及抗纤维化机制。崔兵兵等^[12]研究发现熊果酸对肝癌细胞SMMC-7721增殖有明显抑制作用,该抑制作用可能与诱导肝癌细胞凋亡有关。李艳红^[13]研究显示熊果酸能够通过线粒体内源性途径诱导宫颈癌细胞凋亡,提高H22荷瘤小鼠的免疫调节能力、促进H22肝癌细胞产生免疫原性,激发小鼠对肿瘤生长的抑制作用。

2 环烯醚萜苷类

2.1 提取分离 环烯醚萜苷类化合物主要包括马鞭草(即山茱萸苷)、马钱子苷、7-脱氢马钱子苷、莫诺苷、7-O-甲基莫诺苷、7-O-乙基莫诺苷、7-O-丁基莫诺苷、脱水莫诺苷、獐牙菜苦素及山茱萸新苷等成分。蔡黎明等^[14]以马钱苷和莫诺苷含量为指标,比较了5种不同大孔树脂富集山茱萸中环烯醚萜苷的效果,证实了HPD-400型大孔树脂的分离效果最好。贺娟娟^[15]以马钱苷、獐牙菜苦素和山茱萸新苷为考察指标,并用响应面法优化最佳微波提取工艺为:以体积分数72%的乙醇作溶剂,液料比15:1,在微波功率400W下提取10min,连续提取两次。

基金项目:江苏省高校自然科学研究重大项目(12KJA360001);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

2.2 生物活性 近年来的研究发现,山茱萸环烯醚萜苷能够保护神经^[16],并对记忆损伤模型大鼠有明显的改善作用^[17]。褚思娟^[18]研究发现山茱萸环烯醚萜苷在体外具有双重抑制 AChE 和 BuChE 的作用,并且对 ChAT 活性有一定的促进作用,提示其可增强胆碱能系统功能,对阿尔茨海默病(AD)的防治可能具有良好的应用前景。此外,山茱萸环烯醚萜苷能够激活抗凝因子,改变血液高凝状态,抑制血栓模型大鼠血小板聚集,具有抗血栓作用^[19]。

3 黄酮类

3.1 提取分离 黄酮类成分主要包括 3-O- β -吡喃型半乳糖苷-飞燕草苷元、3-O- β -吡喃型半乳糖苷-矢车菊苷元、3-O- β -吡喃型半乳糖苷-天竺葵苷元、山柰酚、柚皮素、槲皮素、山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖苷等。王英豪等^[20]研究并优化大孔吸附树脂分离纯化山茱萸总黄酮,结果表明 HPD-600 型大孔吸附树脂对山茱萸总黄酮的吸附与解析性能较好,并确定最佳洗脱条件为 50%乙醇洗脱,溶剂用量 5BV。刘瑞林等^[21]以总黄酮含量为考察指标,采用响应面优化法优化山茱萸籽总黄酮的提取工艺,结果表明优化的山茱萸籽总黄酮微波辅助提取工艺参数为:微波功率 350W,乙醇体积分数 50%,液料比 20:1,提取时间 13min,在此最佳条件下,山茱萸籽总黄酮的一次提取率为 6.68%。

3.2 生物活性 黄酮类化合物具有很强的生物活性,如抗抑郁^[22]、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗心血管疾病、免疫调节等作用^[23]。Navindra P.Seeram 等^[24]在对 3-O- β -吡喃型半乳糖苷-飞燕草苷元、3-O- β -吡喃型半乳糖苷-矢车菊苷元和 3-O- β -吡喃型半乳糖苷-天竺葵苷元进行研究时,发现三者均有很强的抗氧化活性。Bolleddula 等^[25]研究表明,山茱萸中的花色苷可以提高体内胰岛素的水平,降低血糖,减少肥胖的发生。

4 多糖类

4.1 提取分离 赵惠茹等^[26]采用水提醇沉法提取山茱萸中多糖,采用正交试验优选提取工艺,确定最佳提取工艺为:料液比 1:16、提取时间 1.5h、提取温度 80℃。王丽丽等^[27]研究了苯酚-硫酸法测定山茱萸多糖含量的方法简单、快捷,并得出最佳水提醇沉法提取工艺为:料液比 1:30,提取时间为 4h,提取温度为 100℃,提取次数为 3 次。常玲彬^[28]采用正交设计试验,对山茱萸浸提液中山茱萸多糖的酶水解法提取工艺进行了优化研究,结果表明,山茱萸多糖浸提的最佳工艺为:料液比 1:5,浸提时间 4h,浸提温度 80℃,果胶酶添加量 0.55g/L。

4.2 生物活性 姚海涛等^[29]发现山茱萸多糖可通

过抑制 p-tau(Ser422)、p-tau(Ser396)生成,改善 AD 大鼠学习记忆能力。李娟等^[30]初步探讨山茱萸多糖治疗年龄相关性白内障的可能机制,得出山茱萸多糖可能通过调节 Sirt1 的表达,从而调节下游基因 p53 的表达,最终抑制或延缓晶状体上皮细胞的凋亡,减缓年龄相关性白内障的进展。此外,山茱萸多糖还可提高 SIRT mRNA 及蛋白的表达,延缓衰老过程^[31]、扶植肠道正常菌群的生长,促进有益菌(双歧杆菌和乳杆菌)的增殖,调节肠道菌群失调^[32]。

5 有机酸及其酯类

山茱萸中分离出的有机酸及其酯类化合物主要包括:对羟基桂皮酸、没食子酸、没食子酸甲酯、联二没食子酸内酯、原儿茶酸、3,5-二羟基苯甲酸、白桦酯酸、苹果酸、酒石酸、苹果酸甲酯、二甲基苹果酸、苹果酸丁酯、3-羟基-2,4-二氨基戊酸等。

陈磊磊等^[33]采用正交设计实验,考察了提取方法、溶剂、提取时间及次数对山茱萸总有机酸提取率的影响,最佳提取工艺为:80%乙醇超声提取两次,每次 1h,山茱萸总有机酸含量为 10.51%。李晓明^[34]采用树脂富集和萃取两种方法制备山茱萸果核提取物,利用多种分离介质如聚酰胺、Diaion HP20、Sephadex TMLH-20 对山茱萸果核提取物进行进一步分离纯化,利用核磁共振和薄层色谱技术对分离得到的化合物进行结构鉴定,结果共得到 4 个化合物:白桦脂酸、没食子酸、6-O-没食子酰基- β -D-吡喃葡萄糖、1-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖苷,果核中的成分以没食子酸类相关化合物为主。

研究表明这类化合物具有很好的体内外抗氧化活性^[33]。

6 挥发性成分

温媛媛等^[35]采用同时蒸馏萃取法(SDE)从山茱萸中提取挥发油,用气象色谱-质谱(GC-MS)联用技术对提取的挥发油进行定性和定量分析,共鉴定出 48 种主要化合物,含量最高的是棕榈酸,其次是亚麻酸甲酯。胡劲光^[36]检测出山茱萸中的 63 种挥发性成分,其中醇类 19 种、醛类 6 种、酸类 12 种、酯类 6 种、杂环类 4 种、酮类 3 种、烯炔类 5 种、酚类及其他 8 种,含量较高的有:4-羟基苯乙醇、松油醇、间呋喃醛、十一酸、辛酸乙酯、苯并噻唑、胡薄荷酮等。这类化合物主要是香气成分。

7 其他类成分

其他成分包括: β -谷甾醇、胡萝卜苷、5,5'-二甲基糠醛醚、5-羟甲基糠醛、蔗糖等。据现有文献报道,山茱萸中还含有维生素 A、B₁、C 和微量元素及氨基酸等。另外,山茱萸中还有种类繁多的鞣质成分。该类化合物的生物活性有抗氧化、抗肿瘤、免疫

调节、抗病毒、保肝等作用。

8 结语与展望

山茱萸作为我国传统的名贵中药,资源丰富,具有多种生物活性,在调节免疫、抗菌、降血糖等方面有显著作用,临床应用前景广阔。山茱萸含有丰富的皂苷等功能性成分,用于保健品制造的潜力巨大。目前,已有多种山茱萸保健品正在开发与研究,如山茱萸保健醋饮料^[37]、山茱萸保健果汁饮料^[38]、酒山茱萸^[39]、山茱萸保健果脯^[40]、山茱萸糕^[41]以及山茱萸保健果冻^[42]等,作为食品和功能型保健品具有很好的经济价值。

山茱萸被列为国药四十种大宗品种之一,在中医药界有着广泛的市场,山茱萸有多种药理作用及临床应用,其用途被广泛开发,是多种中成药的要药,除了用于中成药原料及饮片,还在保健品及酒类方面有积极拓展,有着良好的开发前景。目前山茱萸果实的年需求量在 5000 吨以上,而年产量只有需求量的一半多,发展山茱萸生产也具有广阔的市场前景。近年来随着对山茱萸的研究越来越多,尤其是对于山茱萸生物活性及药理作用研究的不断深入,为其进一步开发提供了物质基础和理论前提。此外,越来越多的研究人员着手山茱萸的研究与开发,进一步拓展了山茱萸的发展空间,但仍有很多与其有关的生物活性及有效开发利用问题有待解决。如山茱萸炮制中发生了美拉德反应,反应过程复杂,反应产物具有药理活性,目前已有研究人员开始开展山茱萸美拉德反应的研究,包括理化参数的研究^[43],山茱萸美拉德反应产物对肝损伤的保护作用^[44],但相关研究还不多,美拉德反应相关内容尚值得展开深入的研究。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.山茱萸:中国植物志(第 56 卷)[M].北京:科学出版社,1990:84.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:26.
- [3] 潘扬,王天山.植物山茱萸化学成分的研究概况[J].南京中医药大学学报,1998,14(1):61.
- [4] 朱崇梅.山茱萸熊果酸提取的响应面法优化及其抑菌性研究[J].食品工业,2014,35(1):17.
- [5] 张艳萍,傅晓航,俞远志.山茱萸中总三萜酸的超声提取工艺[C].中国食品科学技术会第十一届年会论文摘要集,2014.
- [6] 李娇妹,郑纷,翟丽娟,等.三萜类化合物抗肿瘤活性研究进展[J].中草药,2014,45(15):2265.
- [7] 谭世强,谢敬宇,郭帅,等.三萜类物质的生理活性研究概况[J].中国农学学报,2012,28(36):23.
- [8] 张明发,沈雅琴.齐墩果酸和熊果酸保肝药理作用的研究进展[J].抗感染药理学,2012,9(1):13.
- [9] 张明发,沈雅琴.齐墩果酸和熊果酸的抗动脉粥样硬化作用[J].上海医药-药物研发,2014,35(23):73.
- [10] 张明发,沈雅琴.熊果酸和齐墩果酸抗皮肤癌与白血病药理作用的研究进展[J].抗感染药理学,2012,9(3):177.
- [11] 施凤,何文华,朱莹,等.熊果酸(UA)对大鼠活化型肝星状细胞(HSC)的 NADPH 氧化酶(NOX)亚基及 PI3K/Akt、P38MAPK 信号通路活化的影响[J].复旦学报:医学版,2014,41(3):328.
- [12] 崔兵兵,程丽芳,侯立静,等.熊果酸对人肝癌SMMC-7721 细胞增殖作用的实验研究[J].辽宁中医杂志,2014,41(2):356.
- [13] 李艳红.熊果酸抗肿瘤及作为小鼠肝癌细胞疫苗佐剂的作用研究[D].石河子大学,2014.
- [14] 蔡黎明,周盈,蔡宝昌,等.不同大孔树脂富集山茱萸中环烯醚萜苷的效果比较[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(13):39.
- [15] 贺娟娟.山茱萸中三种环烯醚萜苷的微波提取及高效液相色谱测定[D].西安:陕西师范大学,2011.
- [16] 张兰,杨翠翠,郑学先,等.山茱萸环烯醚萜苷抑制 Tau 蛋白过度磷酸化的机制研究[C].2013 全国老年性痴呆及相关疾病学术会议论文汇编,2013.
- [17] 丁月霞,张丽,叶翠飞,等.山茱萸环烯醚萜苷对穹隆海马伞切断大鼠海马区神经元存活和细胞凋亡调控因子的影响[J].首都医科大学学报,2011,32(1):73.
- [18] 褚思娟.山茱萸环烯醚萜苷对乙酰胆碱代谢酶系统的影响[D].北京:首都医科大学,2013.
- [19] 白颖,王世全,张兰,等.山茱萸环烯醚萜苷对家兔、大鼠血小板聚集及出血时间的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2010,15(12):1373.
- [20] 王英豪,邱颂平,刘清华.大孔吸附树脂对山茱萸总黄酮的分离纯化研究[J].中药与临床,2012,3(1):18.
- [21] 刘瑞林,詹汉英,张志琪.山茱萸籽总黄酮的响应曲面法优化微波辅助提取工艺的研究[J].食品工业科技,2012,(7):228.
- [22] 龚金炎,吴晓琴,毛建卫,等.黄酮类化合物抗抑郁作用的研究进展[J].中草药,2011,42(1):195.
- [23] 王慧.黄酮类化合物生物活性的研究进展[J].食品与药品,2010,12(9):347.
- [24] SEERAM N P, SCHUTZKI R, CHANDRA A, et al. Characterization, Quantification, and Bioactivities of Anthocyanins in Cornus Species[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(9):2519.
- [25] JAYAPRAKASAM B, OLSON L K, SCHUTZKI R E, et al. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (Cornus mas) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(1):243.
- [26] 赵惠茹,张小娟.山茱萸多糖提取工艺和含量测定方法的研究[J].时珍国医国药,2013,24(10):2396.
- [27] 王丽丽,许海丹,裴秋燕.山茱萸多糖含量测定方法的研

- 究[J].科学技术与工程,2010,10(30):7494
- [28] 常玲彬.山茱萸多糖提取工艺优化及马钱苷含量测定[J].甘肃农业科技,2011,(11):26
- [29] 姚海涛,马金丽,张晓波,等.山茱萸多糖对阿尔茨海默病模型大鼠 tau 蛋白的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(12):2838
- [30] 李娟,陈丽娟,胡珊珊,等.山茱萸多糖对衰老大鼠晶状体中 Sirt1 基因表达的影响[J].中国医院用药评价与分析,2014,14(10):875
- [31] 丁乙夫,江旭东,李晶,等.山茱萸多糖对衰老小鼠肝组织中 SIRT1 基因表达的影响[J].黑龙江医药科学,2014,37(6):6
- [32] 王艳,杨静,沈媛珍.山茱萸多糖调节小鼠肠道菌群失调的作用[J].华西药理学杂志,2014,29(4):390
- [33] 陈磊磊,陈随清,王静.不同采收期山茱萸总有机酸的含量变化规律研究[J].世界中医药,2011,6(3):268
- [34] 李晓明.山茱萸果核抗氧化活性的相关研究[D].洛阳:河南科技大学,2012
- [35] 温媛媛,任琪,张桂敏,等.同时蒸馏萃取-气质联用分析山茱萸挥发油的组分[J].食品与发酵工业,2010,36(4):165
- [36] 胡劲光.山茱萸果实与山茱萸利口酒香气成分研究[D].咸阳:西北农林科技大学,2008
- [37] 樊振江,纵伟.山茱萸保健醋饮料的研制[J].四川食品与发酵,2008,44(3):68
- [38] 曹莹莉,张存莉.山茱萸保健果汁饮料的研究[J].食品研究与开发,2012,33(4):123
- [39] 刘丽丽,杜先锋.山茱萸酒发酵工艺研究[J].食品研究与开发,2009,30(6):85
- [40] 王丽霞.低糖山茱萸保健果脯的研制[J].试验研究农产品加工,2011:2
- [41] 皮文霞,赵冕,孙倩,等.山茱萸糕的研制[J].食品研究与开发,2012,33(4):90
- [42] 秦汝兰,王俏.山茱萸保健果冻的研制[J].安徽农业科学,2010,38(9):4816
- [43] 张玉玲,李伟东,杨光明,等.山茱萸炮制过程中美拉德反应的理化参数变化[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(21):28
- [44] 杨光明,张玉玲,戴婷婷,等.山茱萸美拉德反应产物对 CCl₄ 致小鼠肝损伤的保护作用[J].中药新药与临床药理,2015,26(6):786
- 第一作者:陈巧霞(1985—),女,硕士,中药师,中药学专业。
- 通讯作者:杨光明,博士,副研究员。ygmm0901@hotmail.com
- 收稿日期:2015-09-03
- 编辑:傅如海

(上接第 81 页)

其粉末。黑顺片的一般炮制方法是将附子洗净后,浸入食用胆巴水中数日,连同浸液煮至透心,捞出,水漂,纵切成片,再用水浸漂,用调色液使附片染成浓茶色,取出,蒸到出现油面、光泽后,烘至半干,再晒干或继续烘干^[10],与传统的炮制方法相比,其中的多道工序汲取了其他各种加工方法的优点,使得加工技术更加完善,减毒效果更加科学,成为临床安全使用附子的重要保证,也保证了本实验中对大鼠的镇痛效果。

综上,蒸附片具有显著的抗炎作用,黑顺片也有一定的抗炎作用,但黑顺片在镇痛方面效果更加显著,说明中药不同炮制品在不同的药效方面各有所长,临床应用时应注意对症选择饮片的炮制和煎煮方法。

参考文献

- [1] 王立岩,张大方,曲晓波,等.附子炮制前后有效部位强心作用的实验研究[J].中国中药杂志,2009,34(5):596.
- [2] 李志勇,孙建宁,张硕峰,等.近 10 年乌头碱类中药中毒临床文献分析[J].中国中医药信息杂志,2008,15(3):100.
- [3] 黄勤挽,周子渝,王瑾,等.附子炮制历史沿革研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):269.
- [4] 周林,李飞,任玉珍,等.附子产地加工方法演变分析[J].中国现代中药,2013,15(12):1073.
- [5] CHAPLAN S R, BACH F W, POGREL J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1):55.
- [6] DIXON W J. Efficient analysis of experimental observations[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20:441.
- [7] 徐端正.生物统计在实验和临床药理学中的应用[M].北京:科学出版社,2004:149.
- [8] 李志勇,李彦文,孙建宁,等.乌头类植物药三种双酯型生物碱研究进展[J].中央民族大学学报(自然科学版),2009,18(2):87.
- [9] COBOS E J, GHASEMLOU N, ARALDI D, et al. Inflammation-induced decrease in voluntary wheel running in mice: a nonreflexive test for evaluating inflammatory pain and analgesia[J]. Pain, 2012, 153(4):876.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:化学工业出版社,2005:177.
- 第一作者:宋阔魁(1989—),男,硕士研究生,研究方向为中药(民族药)物质基础发现。
- 通讯作者:李飞,教授,博士研究生导师。Lf668@sina.com
- 收稿日期:2015-05-03
- 编辑:吴宁