

玫瑰茄的化学成分与生物活性^{*}

顾关云^{1,2},蒋 显¹

[1. 复旦大学上海医学院,上海 200032;2. 如新(中国)日用保健品公司,上海 201203]

摘要:玫瑰茄广泛分布于全球热带和亚热带地区。其花药食两用,富含维生素C、氨基酸、有机酸、黄酮类、花青素类等多种成分,亦作为天然色素的资源植物。玫瑰茄除具有消除疲劳、清热解暑的功效外,还具有降压、平喘、解毒、利尿等药理作用,用于心脏病、神经疾病和癌症等的治疗。综述了玫瑰茄花青素类、γ-生育酚等化学成分及其生物活性,为其广泛应用提供参考。

关键词:玫瑰茄;花青素;γ-生育酚;毒理学;药动学;生物活性

中图分类号:R282.71 文献标识码:A 文章编号:1674-5515(2010)02-0109-07

Study on phytochemistry and bioactivities of *Hibiscus sabdariffa*

GU Guan-yun^{1,2}, JIANG Yu¹

(1. Shanghai Medical College, Fu Dan University, Shanghai 200032, China; 2. Nuskin (China) Daily-Use & Health Products Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

玫瑰茄 *Hibiscus sabdariffa* L. (又名芙蓉茄、洛神花) 系锦葵科一年生草本植物,原产西非至南亚,现广泛分布于全球热带和亚热带地区,中国粤、桂、滇、闽、台等省区有栽培,且具相当生产规模。玫瑰茄花是传统的药食两用植物,商业上应用的玫瑰茄花主要是其花期的花萼,外观紫红黑亮,水浸泡色泽鲜艳,具酸果蔓样适宜香气,清醒怡人。玫瑰茄花因富含维生素C、氨基酸、有机酸、黄酮类花青素等大量营养成分,被广泛用来制作茶剂、冷热饮料、果脯、果酱、果汁、汽水,是非洲和墨西哥大宗消费品,阿拉伯人称其茶剂为苏丹茶,欧美人称 karkade 茶,中国称洛神花茶等。从该植物提取的天然色素可作为食品工业的着色、调味添加剂。玫瑰茄除具消除疲劳、清热解暑的功效外,还具降血压、平喘、解毒、利尿,以及治疗心脏病、神经疾病和癌症等多种药理作用和医疗用途。就玫瑰茄中花青素类、γ-生育酚等化学成分、提取与定量、毒理学、药动学、生物活性等方面研究进行概述。

1 化学成分

玫瑰茄含有丰富的蛋白质、有机酸、维生素及多种氨基酸、大量的天然色素及多种矿物质。

1.1 花青素类

玫瑰茄色素为花青素类,主要成分是飞燕草素-

3-接骨木二糖昔(delphinidin-3-sambubioside, Dp-3-sam)、矢车菊素-3-接骨木二糖昔(cyanidin-3-sambubioside, Cy-3-sam)、飞燕草素-3-葡萄糖昔、矢车菊素-3-葡萄糖昔等^[1]。

1.2 常量与微量元素

李泽鸿等^[2]用原子吸收火焰光度法对玫瑰茄中的营养元素进行分析。结果显示,玫瑰茄中的常量元素有钠(0.051 mg/g)、钾(0.112 mg/g)、钙(10.536 mg/g)、镁(5.714 mg/g)等,微量元素有锌(36.306 μg/g)、铁(247.236 μg/g)、锰(194.098 μg/g)、铜(6.487 μg/g)。

1.3 γ-生育酚

Mohamed 等^[3]分析玫瑰茄种子、茎、叶、花萼水溶性和脂溶性提取物的抗氧化活性,发现玫瑰茄种子是脂溶性抗氧剂,尤其是γ-生育酚的优良资源。玫瑰茄种子油属于亚油酸或油酸类型,其较丰富的脂肪酸是十八碳2个双键(表示为C18:2,下同)(40.1%)、C18:1(28%)、C16:0(20%)、C18:0(5.3%)、C19:1(1.7%)。甾醇类有β-谷甾醇(71.9%)、菜油甾醇(13.6%)、δ-5-燕麦甾醇(5.9%)、胆甾醇(1.35%)和棘桐甾醇(0.6%)。油中总生育酚的平均检测量为2 000 mg/kg,包括α-生育酚(25%)、γ-生育酚(74.5%)、δ-生育酚

* 编者按:该作者撰写的“玫瑰茄的药理作用”将刊登在本刊2010年第3期,敬请关注。

(0.5%)。提示玫瑰茄种子油可能有重要的工业用途。

1.4 其他

Tseng 等^[4]从玫瑰茄的干花中分离到原儿茶酸(protocatechuic acid)。Osman 等^[5]从玫瑰茄中分离到谷甾醇-β-D-半乳糖苷。其花萼还含有蛋白质、木槿酸、还原糖、维生素、天然红色素、氨基酸；种子含半干性油和硬蛋白质。

2 玫瑰茄及花青苷的提取与定量

2.1 提取方法及温度对提取物的影响

Segura-Carretero 等^[6]应用固相萃取-毛细管电泳-质谱(CE-TOF-MS)法,从玫瑰茄花萼中选择性提取、分离和鉴定已知的花青苷。与其他几种提取方法进行比较,此法可分离到最高量的花青苷,迅速鉴定其主要成分:Dp-3-sam、Cy-3-sam,以及矢车菊素-3-O-芸香苷、飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷和绿原酸等少量成分。

玫瑰茄新鲜花萼用30%乙醇浸渍提取,提取物分别于150、160、170、180、190、200、210℃下喷雾干燥成粉剂,观察温度对挥发性成分和粉末外观的影响。结果,温度不同使收率和含水量也不同。应用固相微萃取法和气相色谱-质谱法(GC-MS),测定提取物和粉剂样品中的挥发性成分。结果表明提取物有20个挥发性成分,其中有萜类、酯类、碳水化合物和醛类等;粉末样品中有14个挥发性成分,但仅10个是在提取物中存在的。这表明某些化合物在降解过程中消失,而产生另一些化合物。通过对样品的外观观察,发现提取物脱水的最佳条件是在190~200℃喷雾干燥,提取物在pH3.4~3.9无统计学显著差异。提示提取物喷雾干燥的温度对挥发性成分有影响^[7]。

Mourtzinos 等^[8]对从玫瑰茄干花萼分离的花青苷,在存在或缺乏β-环糊精(β-CD)的水溶液中,于60~90℃的热稳定性进行了研究。结果花青苷在缺乏β-CD的水溶液中遇热降解,为一级反应动力学;其热依赖性降解作用符合阿伦尼乌斯方程式(黏度公式),玫瑰茄花青苷在加热时的活化能约为54 kJ/mol。花青苷在β-CD存在下,由于发生络合而使热降解率降低,核磁共振谱法证实了溶液中络合物的形式。进而用差示扫描比色法分析显示,玫瑰茄提取物与β-CD固体状态络合物,较游离的提取物对氧化作用更稳定,在温度达100~250℃,络合物保持完整,而游离提取物则被氧化。研究阐明

无论提取物在溶液或固态状态下,β-CD的存在能增加营养物质的抗氧化热稳定性。

2.2 定量分析

Juliani 等^[9]进行了一项研究,评价了于2004~2005年采收的塞内加尔玫瑰茄花萼的质量,以开发和改进新的工艺,测定其中总花青苷的量并分析2个主要成分Dp-3-sam和Cy-3-sam。结果显示,于2005年收获的玫瑰茄花萼的产品中杂质、总灰分和酸不溶性灰分达到卫生执业标准,通过对其花萼颜色的评价与花青苷活性成分的分析,显示样品有较高量的花青苷。用pH示差紫外-可见分光光度法测定玫瑰茄花萼水提取物中花青苷的方案是适当的。与HPLC法比较,分光光度法定量分析总花青苷显示密切的相关性,提示在质量控制中采用比色法定量评估玫瑰茄花萼中花青苷是可供选择的方法。此项研究表明,在玫瑰茄花萼生产和加工中执行GAP、GMP,可生产出高质量的天然植物产品。

植物食品中所含多酚化合物通常是与膳食纤维相关的。对墨西哥饮食中玫瑰茄花及其传统制备的饮料,进行膳食纤维、相关多酚定量和抗氧化活性定量检测。结果显示,玫瑰茄花的最大组分是膳食纤维(33.9%),并含丰富的酚类化合物(6.13%)。在其饮料中可溶性纤维是0.66 g/L,其花萼中总的可提取多酚的66%可移至饮料中,且经ABTS自由基清除法测定显示,100 mL饮料可产生与335 μmol水溶性维生素E相当的抗氧化活性。这些资料提示,可能从每份玫瑰茄花饮料摄入约166 mg的膳食纤维和约165 mg的多酚化合物。因而,玫瑰茄花饮料具有很好的保健功能^[10]。

Sukwattanasinit 等^[11]开发了一种简便、快速和经济的pH示差分光光度方法,测定玫瑰茄中总花青苷。玫瑰茄中主要的花青苷类成分Dp-3-sam的标准曲线是利用甲基橙及其相关因子构建的,其可信度是经与标准品Dp-3-sam直接比较和HPLC法测定确认的。据报道,泰国已有玫瑰茄产品的质量特征说明书,这是首次发现玫瑰茄重要的理化参数与商业上玫瑰茄的等级相对应。总花青苷和酚类的量是与抗自由基活性成比例的。

3 毒理学

3.1 剂量安全性

Akindahunsi 等^[12]给Wistar大鼠ig玫瑰茄花萼稀醇提取物的水溶部位,进行毒理学研究。大鼠以商业饲料喂饲并自由饮水,共分6组(每组4

只),依次 ig 0、1、3、5、10、15 剂量次的水溶部位,每剂量次 250 mg/kg。对照组给生理盐水。结果与对照组比较,水溶部位处理组动物血清谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)的水平明显升高($P<0.05$),而血清碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶水平无明显改变。仅发现 15 剂量次动物的血清白蛋白水平显著升高。组织病理学检验显示,全部给药组动物的肝、心脏均无病理特征。这些结果表明水溶部位的给药量增至 15 剂量次可能引起肝损害,而较低剂量次(1~10)的作用是温和的。虽然每天平均食用该提取物 150~180 mg/kg 是安全的,但较高剂量次应谨慎,以免影响肝脏功能。

Fakeye 等^[13]连续给大鼠 ig 玫瑰茄干花萼的水和乙醇提取物 90 d,每 30 天进行血液、生化和组织学检测。结果发现给予 2 g/kg 剂量的动物在死亡之前出现严重的体质量减轻并伴腹泻;给予 300 mg/kg 时,动物摄食量增加,红细胞计数明显减少,总白细胞计数无变化。水和 50% 乙醇提取物于较高剂量时,AST 活性增加,ALT 和肌酸酐水平明显受提取物剂量的影响;水提取物在较高剂量时,肌酸酐显著增加。这 2 个提取物通常不影响胆固醇的水平。与对照组比较,给予醇和水提取物的动物的脾质量虽明显减轻,但未观察到组织病理学改变($P<0.01$)。

3.2 对雌性大鼠子代的影响

Iyare 等^[14]研究 SD 大鼠在哺乳期喂饲玫瑰茄水提取物,是否会影响受哺育子代生长和青春期的开始。18 只近交系 10~12 周龄、平均体质量 125 g、有 2 次连续规律的 4 d 发情期未生育过的雌性 SD 大鼠随机分成 3 组,每组 6 只。在产仔后的整个哺乳期(21 d),第 1 组动物饮水为对照组,第 2、3 组分别给予水提取物 0.6、1.8 g/100 mL 为试验组。结果在哺乳期消耗水提取物可明显减少母鼠的液体和食物摄入量,增加产后体质量并推迟雌性子代青春期的发育。

3.3 对大鼠睾丸的毒性

Orisakwe 等^[15]研究玫瑰茄花萼水提取物亚慢性给药对大鼠睾丸的影响,对其作为催欲剂进行毒理学评价。动物分 3 个试验组,分别给予水提取物(溶于水中)1.15、2.30、4.60 g/kg,对照组仅给予等体积的水。给药 12 周,期间允许动物自由饮水。停药后处死动物,取睾丸称质量,并做组织学镜检,记录副睾精子数。结果睾丸的绝对和相对质量均未

发生明显的改变,但 4.6 g/kg 水提取物组大鼠副睾的精子数较对照组显著减少,并观察到有精子解体;1.15 g/kg 组动物细精管变形和正常表皮组织破裂;而 2.30 g/kg 组可见基膜增厚的睾丸肥大。结果表明玫瑰茄花萼水提取物连续亚慢性给药对大鼠睾丸产生毒性。

4 药动学

Frank 等^[16]在 6 个健康志愿者服用玫瑰茄提取物后,对几种食用花青苷的药动学参数进行测定。受试者单剂量口服 150 mL 的提取物,相当于含 Cy-3-sam 62.6 mg、Dp-3-sam 81.6 mg, 总花青苷(TA,以矢车菊素计算)147.4 mg。在服用 7 h 内,尿中排泄的 Cy-3-sam、Dp-3-sam 和 TA(即全部可定量的花青苷总量)分别为给药剂量的 0.016%、0.021%、0.018%。于摄入后 1.5~2.0 h 测得最大排泄率。在曲线下剂量-规范化血浆面积推定值,Cy-3-sam、Dp-3-sam 和 TA 分别为 0.076、0.032、0.050 ng·h·mL⁻¹·mg⁻¹。在相同序列,剂量-规范化 C(最大值)推算值是 0.036、0.015、0.023 ng·mL⁻¹·mg⁻¹。Cy-3-sam、Dp-3-sam 和 TA 的 $t_{1/2}$ 几何平均数分别为 2.18、3.34、2.63 h。完整的花青苷尿排泄是快速的,看来可能是一级指数的(mono-exponential)。为评价玫瑰茄提取物对人健康的保护作用,必需深入研究原型花青苷及其代谢产物或结合物的体内分布和排泄。

5 生物活性

玫瑰茄具有抗氧化、淀粉酶抑制、角化细胞增殖、抑制癌细胞、阻断脂肪细胞生成、舒张血管平滑肌、松弛回肠、预防动脉粥样硬化等多种生物活性。

5.1 抗氧化

Hirunpanich 等^[17]用大鼠低密度脂蛋白(LDL)定量研究玫瑰茄干花萼水提取物的体外抗氧化作用。以共轭二烯和硫代巴比妥酸反应物(TBARS)的形成作标记物,分别表示早、晚期 LDL 的氧化。结果表明该水提取物对由 Cu²⁺介导的 LDL 氧化显示强的抗氧化活性,并于 0.1~5 mg/mL 呈质量浓度相关($P<0.05$)。玫瑰茄干花萼水提物 5 mg/mL 抑制 TBARS 的形成,作用强于 100 μ mol/L 的维生素 E。

5.2 抑制 α-淀粉酶

Hansawasdi 等^[18]发现玫瑰茄茶提取物对猪胰腺的 α-淀粉酶具高度的抑制活性。从玫瑰茄茶

50%甲醇和丙酮提取物中分别分离到活性成分木槿酸(hibiscus acid)及其6-甲酯，并对这些成分与其结构相似的柠檬酸(一种已知的真菌 α -淀粉酶抑制剂)进行了比较。淀粉酶或蔗糖酶的天然抑制剂能减少淀粉和蔗糖在胃肠道中的分解，限制它们的吸收。Preuss等^[19]研究多种作为碳水化合物(CHO)阻断剂的天然物质体内对大鼠和猪淀粉和蔗糖吸收的影响。SD大鼠ig水或水+淀粉或蔗糖，于不同时间点测定循环血糖水平，测算吸收率；在同时摄食玫瑰茄等CHO阻断剂后测定血糖水平，计算曲线下面积。结果表明，玫瑰茄能明显减少淀粉和蔗糖的吸收率。此项结果支持实验假设：适量服用天然的CHO阻断剂能安全地降低淀粉和蔗糖的血糖负荷。

5.3 刺激人角化细胞增殖

Brunold等^[20]从玫瑰茄花分离出多糖粗提取物及其以离子交换色谱法分离的4个亚部位(1个中性亚部位和3个酸性亚部位)。对人角化细胞的增殖和分化试验表明，粗多糖和所有酸性亚部位能强烈地诱导人角化细胞的增殖达40%，而中性亚部位则无此作用。线粒体的活性未受影响。由角化细胞交联外膜蛋白的形成测知，粗多糖能诱导原代人角化细胞早期分化。

5.4 抑制癌细胞

5.4.1 抑制HL-60细胞

Tseng等^[21]研究发现，玫瑰茄花的酸性化合物木槿原儿茶酸(hibiscus protocatechuic acid, HPCA)能抑制人前髓性白血病HL-60细胞的生存，并与剂量、时间相关。用该成分2 mmol/L处理HL-60细胞9 h后，HL-60细胞显示核小体DNA断裂，形态学改变的凋亡特征；处理12 h并经流式细胞仪分析DNA的量，结果表明，细胞主要分布在亚二倍体期(凋亡峰，46.7%)，其次为G₁期(34.2%)、S期(14.0%)，少量为G₂/M期(5.1%)。此外，经木槿原儿茶酸处理引起低磷酸化成视网膜细胞瘤(RB)水平增加(在6 h时间点为对照的180%)，而使高磷酸化RB下降。延长处理时间，观察到RB迅速丧失。该化合物应用1.5 h后，Bcl-2蛋白表达减少至47%，而Bax蛋白表达增加至181%。该项研究提示木槿原儿茶酸是人白血病细胞凋亡的诱导剂，在其早期阶段，RB磷酸化和Bcl-2蛋白可能起着决定性的作用。

Chang等^[22]研究玫瑰茄花青昔(hibiscus an-

thocyanins)对HL-60细胞的作用。用流式细胞仪分析发现，用玫瑰茄花青昔0~4 mg/mL处理HL-60细胞，能明显地诱导其凋亡，并呈时间和剂量相关，也增加p³⁸与c-Jun磷酸化作用、细胞色素C释放，还增加tBid、Fas、FasL表达。进而用p³⁸抑制剂SB 203580、MEK抑制剂PD 98059、JNK抑制剂SP 600125和PI-3K抑制剂渥曼青霉素(wortmannin)评价玫瑰茄花青昔诱导HL-60细胞凋亡的作用，结果仅p³⁸抑制剂SB203580强烈抑制HL-60细胞凋亡及相应的蛋白表达和磷酸化作用。提示玫瑰茄花青昔介导的HL-60细胞凋亡经由p³⁸-FasL和Bid途径，其有望开发成为新的化学预防剂。

Hou等^[23]从玫瑰茄花萼中分离的Dp-3-Sam能剂量相关地诱导HL-60细胞凋亡，这一结果由细胞形态学、DNA断裂、胱天蛋白酶-3、-8、-9激活和多(ADP)核糖聚合酶(PARP)灭活等特征证明。Dp-3-Sam能诱导线粒体膜二平截电位丧失，细胞色素C从线粒体释放至胞质中。Dp-3-Sam还以时间、剂量相关方式升高HL-60细胞内活性氧物质(ROS)水平，而N-乙酰-L-半胱氨酸、过氧化氢酶等抗氧化剂能有效地阻断Dp-3-Sam诱导ROS产生、胱天蛋白酶-3激活和DNA断裂，表明Dp-3-Sam经由ROS介导的线粒体功能异常途径导致HL-60细胞凋亡。

5.4.2 抑制AGS细胞

Lin等^[24]研究玫瑰茄诱导人胃癌细胞(AGS)凋亡的机制。结果显示，玫瑰茄富含多酚的提取物(HPE)质量浓度相关地诱导8种细胞凋亡，其中AGS细胞最为敏感，HPE对AGS的IC₅₀为0.95 mg/mL。AGS细胞用HPE 2.0 mg/mL处理24 h后，显现DNA断裂，亚二倍体期的分布增加(细胞凋亡峰，52.36%)。由p⁵³磷酸化的增加和应用特异性p⁵³抑制剂SB203580证明，HPE对AGS细胞的作用可能是由p⁵³信号与p³⁸MAPK/FasL级联途径介导的。细胞凋亡检测分析法表明，HPE对AGS细胞产生细胞毒活性，可诱导细胞凋亡，而对Chang肝细胞无影响。在HPE处理的AGS细胞中，p³⁸、JNK和Jun磷酸化、细胞色素C释放以及Fas、FasL、Bax、tBid表达增加。用MAPK抑制剂对HPE诱导AGS凋亡作用进行评价，结果p³⁸抑制剂SB203580、JNK抑制剂I和II或用突变的JNK转染表达载体，对AGS细胞凋亡和相关蛋白表达具有强烈的抑制作用。上述结果提示，HPE介导的

AGS 细胞凋亡经由 JNK/p³⁸ 信号级联途径^[25]。

5.5 抑制成脂分化

Kim 等^[26]在细胞和分子水平研究玫瑰茄对 3T3-L1 细胞成脂分化的作用。以不同浓度的玫瑰茄提取物加至 3T3-L1 前成脂细胞中, 保温 36 h。结果玫瑰茄提取物抑制由胰岛素、地塞米松和异丁基甲基黄嘌呤(IBMX)诱导的 3T3-L1 前成脂细胞的脂肪细胞分化, 并呈浓度相关。当分化开始和诱导分化 4 d 后给以玫瑰茄提取物时, 能阻断胞质中脂质的积累。与对照细胞相比, 对前成脂细胞成脂积累的抑制作用明显。玫瑰茄提取物显著减少关键的成脂转录因子的表达, 包括于蛋白水平 CCAAT 元素结合蛋白(C/EBP) α 和过氧化物酶体增生子和激活受体(PPAR) γ 在内。提示该提取物部分通过抑制包括 C/EBP α 和 PPAR γ 在内的成脂转录因子表达而阻断脂肪生成。进一步研究表明, 用玫瑰茄提取物或 PI3-K 抑制剂处理 3T3-L1 前脂肪细胞, 在该细胞分化时的磷酸化和 PI3-K/Akt 表达的增加受到明显抑制, 该提取物明显减弱调控脂肪生成早期的磷酸化和 MEK-1/ERK 表达。总之, 玫瑰茄提取物经由 PI3-K/Akt 和 ERK 途径的调节而抑制脂肪细胞分化^[27]。

5.6 降压

5.6.1 舒张动脉血管

Ajay 等^[28]研究玫瑰茄花萼甲醇粗提物对自发性高血压大鼠离体动脉的作用, 以阐明其抗高血压机制。甲醇粗提物对由 KCl(高 K⁺, 80 mmol/L)和去氧肾上腺素(PE, 1 μ mol/L)预收缩的主动脉环具舒张作用并呈剂量相关, 对 α -肾上腺素能受体激动剂具较强抑制作用。该提取物的血管松弛作用部分地依赖于动脉环内皮功能的存在。用 1 μ mol/L 阿托品、10 μ mol/L L-NAME 或 10 μ mol/L 亚甲蓝预处理, 能明显地阻断该甲醇粗提物的松弛作用。用玫瑰茄甲醇粗提物预处理能明显增强由乙酰胆碱和硝普钠分别诱导的内皮依赖性和非依赖性的血管松弛作用。结果表明, 玫瑰茄花萼甲醇粗提物对离体高血压大鼠动脉环具有舒张作用, 此作用可能通过内皮衍生的 NO-cGMP-松弛途径和 Ca²⁺ 流入血管平滑肌细胞的抑制作用介导的。

Sarr 等^[29]评价了玫瑰茄花萼多种粗提物对离体雄性 Wistar 大鼠胸主动脉的作用。结果玫瑰茄主要诱导内皮依赖性血管舒张。此作用是由 NOS 激活和非内皮依赖性平滑肌钾通道激活所致。以丁

醇提取物作用最强, 植化分析表明该提取物含花青素类化合物。

5.6.2 抑制血管紧张素转化酶

以血管紧张素转换酶(ACE)抑制为生物导向, 从玫瑰茄花萼的水提物中分得活性成分, 飞燕草素 3-O-接骨木二糖苷(1)和矢车菊素 3-O-接骨木二糖苷。化合物 1 和 2 对 ACE 的 IC₅₀ 分别为 84.5、68.4 μ g/mL。动力学测定提示花青苷系竞争性 ACE 抑制剂。此活性与民间将玫瑰茄用于抗高血压的应用相符^[30]。

5.7 松弛回肠条

进行了玫瑰茄甲醇提取物与参考化合物硝苯吡啶和罂粟碱对大鼠回肠条的松弛作用比较研究。结果显示, 甲醇提取物对回肠条产生明显的松弛作用并呈剂量相关, IC₅₀ 为 350 μ mol/L; 该提取物于大鼠腹膜内给药, 能明显减少肠转运 13%~35%, IC₅₀ 为 250 μ mol/L。该甲醇提取物和硝苯吡啶对由蓖麻油诱导的腹泻有更强的作用, 平均止泻率分别为 40%、51%, IC₅₀ 为 350 μ mol/L。玫瑰茄的上述作用可能由槲皮素和丁香酚等成分经由 Ca²⁺ 通道的调节作用产生的^[31]。

5.8 抗动脉粥样硬化

5.8.1 抑制 ox LDL-介导的巨噬细胞凋亡和泡沫细胞形成

在动物实验中发现, 玫瑰茄提取物具有降低兔血清脂质水平, 明显减少动脉粥样硬化病变的作用^[32]。LDL 氧化变性(ox-LDL)在动脉粥样硬化中起着关键作用。抗氧化剂能有效地抑制 LDL 的氧化, 通过减少早期动脉粥样硬化形成和进程, 可能达到预防动脉粥样硬化的目的。Chang 等^[33]通过检测玫瑰茄花青素苷(HAs)在无细胞系统中对 LDL 氧化和对 RAW264.7 细胞的抗凋亡的活性, 评价 HAs 的抗氧化作用。在体外进行 HAs 相对电泳淌度(REM)、载脂蛋白 B 断裂作用、TBARS、DPPH 自由基清除试验。结果显示, 在 Cu²⁺-介导的 LDL 氧化中, HAs 2 mg/mL 减少 ox-LDL 的 REM 50%, 1 mg/mL 抑制 61% 载脂蛋白 B 断裂, 对 TBARS 的 IC₅₀ 为 0.46 mg/mL。HAs > 0.1 mg/mL 能清除 95% 以上的 DPPH 自由基。通过细胞活力、形态学、胱天蛋白酶-3 表达、MTT 分析、leukastate 染色分析、蛋白印迹检测显示, HAs 能抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞凋亡。

动脉粥样硬化性损害致病机制与 ox-LDL 经由

巨噬细胞衍生的泡沫细胞形成有关。评价玫瑰茄富含花青素提取物对泡沫细胞形成、清除剂受体 CD36 基因表达及其上游转录因子 PPAR γ 对 ox-LDL 处理的小鼠 J774A.1 巨噬细胞影响的作用。定量脂质分析结果显示,用 ox-LDL 处理的细胞脂质的积累明显增加,当此细胞用玫瑰茄提取物 0.05~0.2 mg/mL 处理时能很大程度上预防脂质的积累,减少 ox-LDL 介导的泡沫细胞形成。经 ox-LDL 处理的 J774A.1 细胞 CD36 基因表达上调,核中 PPAR γ 蛋白水平显著增加;而经玫瑰茄提取物处理后 CD36 mRNA 和蛋白表达均减少,核中 PPAR γ 蛋白水平显著降低。表明玫瑰茄提取物抑制巨噬细胞摄入 ox-LDL 与 CD36 基因下调,从而防止动脉粥样硬化损害的发生^[34]。

5.8.2 对血管平滑肌细胞的作用

Lo 等^[35]的研究表明,玫瑰茄花青素提取物能抑制由血清刺激的兔主动脉平滑肌细胞(SMC)的增殖进而导致细胞凋亡,并与剂量相关。使用 p³⁸ 抑制剂 SB203580 以阻断细胞凋亡,经 DNA 断片、流式细胞术等细胞凋亡标准,评价花青素提取物诱导 SMC 凋亡的作用。该提取物通过激活 p³⁸ MAP 激酶,随后磷酸化靶蛋白 c-Jun 和转导信号激活凋亡蛋白串联,包括 Fas-介导的信号 Fas/胱天蛋白酶-8 信号调节;激活 p⁵³ 和诱导 bax 表达,从而发生细胞色素 C 自线粒体释放,导致细胞凋亡。表明该提取物由 p³⁸ 和 p⁵³ 途径强烈地诱导 SMC 凋亡,减缓和抑制了动脉粥样硬化的进程和发展。

Huang 等^[36]研究玫瑰茄的多酚分离物能否抑制由高葡萄糖诱导的血管平滑肌细胞(VSMC)增殖、迁移以及假定的转导信号。结果分离物能剂量和时间相关地减少高葡萄糖刺激的细胞增殖和迁移,降低增殖细胞核抗原(PCNA)水平和抑制基质金属蛋白酶(MMP)-2 激活作用,增加由高葡萄糖高度抑制的结缔组织生长因子(CTGF)和受体渐进性糖化终产物(RAGE)的表达。

6 小结

玫瑰茄的花、果、种子、茎叶为功能性食品和药品的资源。尤其果后花萼应用最广,用其制备的饮料加工食品风靡世界。欧美、日本、东南亚诸国每年要从中国进口千吨以上的玫瑰茄;全球需求量亦逐年上升,预计到 2010 年,年需量将达 5~8 万吨。体外研究显示玫瑰茄具有广泛的生物活性,为开发新药和保健产品提供了依据。玫瑰茄的生物活性可涵

盖抗糖尿病、抗肿瘤、降血压、调血脂、抗动脉粥样硬化等病因学的诸多方面,是一种多功能的药用植物,兼用性很强,为研究系列产品打下了基础。虽然玫瑰茄是引种植物,但因国际市场需求的拉动,我国的种植面积已初步形成规模,为医药、食品、保健品工业提供了充裕的原材料,具有良好的开发利用前景。

参考文献

- [1] 黄顺. 食用医用佳品植物——玫瑰茄 [J]. 植物杂志, 2004, (1): 20.
- [2] 李泽鸿, 邓林, 刘树英, 等. 玫瑰茄中营养元素的分析研究 [J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(1): 61-62.
- [3] Mohamed R, Fernandez J, Pineda M, et al. Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of gamma-tocopherol [J]. J Food Sci, 2007, 72(3): S207-S211.
- [4] Tseng T H, Wang C J, Kao E S, et al. Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by tert-butylhydroperoxide in rat primary hepatocyte [J]. Chemicobiological, 1996, 101(2): 137.
- [5] Osman A M, Younes M E, Mokhtar A. Sitosterol- β -D-galactoside from *Hibiscus sabdariffa* [J]. Phytochemistry, 1975, 14(3): 829.
- [6] Segura-Carretero A, Puertas-Mejia M A, Cortacaro-Ramirez S, et al. Selective extraction, separation, and identification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. using solid phase extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry (time-of-flight/ion trap) [J]. Electrophoresis, 2008, 29(13): 2852-2861.
- [7] Gonzalez-Palomares S, Estarron-Espinosa M, Gomez-Leyva J F, et al. Effect of the temperature on the spray drying of Roselle extracts (*Hibiscus sabdariffa* L.) [J]. Plant Foods Hum Nutr, 2009, 64(1): 62-67.
- [8] Mourtzinos I, Makris D P, Yannakopoulou K, et al. Thermal stability of anthocyanin extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in the presence of beta-cyclodextrin [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(21): 10303-10310.
- [9] Juliani H R, Welch C R, Wu Q, et al. Chemistry and quality of (*Hibiscus*) *Hibiscus sabdariffa* for developing the natural product industry in Senegal [J]. J Food Sci, 2009, 74(2): S113-S121.
- [10] Sayago-Ayerdi S G, Arranz S, Serrano J, et al. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(19): 7886-7890.
- [11] Sukwattanasin T, Burana-Osot J, Sotanaphun U. Spectrophotometric method for quantitative determination of total anthocyanins and quality characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) [J]. Planta Med, 2007, 73(14): 1517-1522.
- [12] Akindahunsi A A, Olaleye M T. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 89(1): 161-164.
- [13] Fakaye T O, Pal A, Bawankule D U, et al. Toxic effects of

- oral administration of extracts of dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(3): 412-416.
- [14] Iyare E E, Adegoke A O. Maternal consumption of an aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* during lactation accelerates postnatal weight and delays onset of puberty in female offspring [J]. *Niger J Physiol Sci*, 2008, 23(1/2): 89-94.
- [15] Orisakwe O E, Husaini D C, Afonne O J. Testicular effects of sub-chronic administration of *Hibiscus sabdariffa* calyx aqueous extract in rats [J]. *Reprod Toxicol*, 2004, 18(2): 295-298.
- [16] Frank T, Janssen M, Netzel M, et al. Pharmacokinetics of anthocyanidin-3-glycosides following consumption of *Hibiscus sabdariffa* L. extract [J]. *J Clin Pharmacol*, 2005, 45(2): 203-210.
- [17] Hirunpanich V, Utaipat A, Morales N P, et al. Antioxidant affects of aqueous extracts from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Roselle) *in vitro* using rat low-density lipoprotein (LDL) [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(3): 481-484.
- [18] Hansawasdi C, Kawabata J, Kasai T. Alpha-amylase inhibitors from roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) tea [J]. *Biosci Biotechnol Biotech*, 2000, 64(5): 1041-1043.
- [19] Preuss H G, Echard B, Bagchi D, et al. Inhibition by natural dietary substances of gasteointestinal absorption of starch and sucrose in rats and pigs: 1 acute studies [J]. *Int J Med Sci*, 2007, 4: 196-202.
- [20] Brunold C, Deters A, knoepfel-Sidler F, et al. Polysaccharides from *Hibiscus sabdariffa* flowers stimulate proliferation and differentiation of human keratinocytes [J]. *Planta Med*, 2004, 70(4): 370-373.
- [21] Tseng T H, kao T W, Chu C Y, et al. Induction of apoptosis by hibiscus protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of retinoblastome (RB) phosphorylation and Bcl-2 expression [J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60(3): 307-315.
- [22] Chang Y C, Huang H P, Hsu J D, et al. *Hibiscus* anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 205(3): 201-212.
- [23] Hou D X, Tong X, Terahara N, et al. Delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2005, 440(1): 101-109.
- [24] Lin H H, Huang H P, Huang C C, et al. *Hibiscus* polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2005, 43(2): 86-99.
- [25] Lin H H, Chen J H, Kuo W H, et al. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric car-
- cinoma cells through apoptosis induction and JNK/p³⁸ MAPK signaling activation [J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 165(1): 59-75.
- [26] Kim M S, Kim J K, Kim H J, et al. *Hibiscus* extract inhibits the lipid droplet accumulation and adipogenic transcription factors expression of 3T3-L1 preadipocytes [J]. *J Altern Complement Med*, 2003, 9(4): 499-504.
- [27] Kim J K, So H, Youn M J, et al. *Hibiscus sabdariffa* L. water extract inhibits the adipocyte differentiation through the PI3-K and MAPK pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(2): 260-267.
- [28] Ajay M, Chai H J, Mustafa A M, et al. Mechanisms of the antihypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 109(3): 388-393.
- [29] Sarr M, Ngom S, Kane Mo, et al. *In vitro* vasorelaxation mechanisms of bioactive compounds extracted from *Hibiscus sabdariffa* on rat thoracic aorta [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2009, 6:45.
- [30] Ojeda D, Jimenez-Ferrer E, Zamilpa A, et al. Inhibition of angiotensin convertin exzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin-and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(1): 7-10.
- [31] Salah A M, Gathumbi J, Vierling W. Inhibition of intestinal motility by methanol extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) in rats [J]. *Phytother Res*, 2002, 16(3): 283-285.
- [32] Chen C C, Hsu J D, Wang S F, et al. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(18): 5472-5477.
- [33] Chang Y C, Huang K X, Huang A C, et al. *Hibiscus* anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and ox LDL-mediated macrophages apoptosis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(7): 1015-1023.
- [34] Kao E S, Tseng T H, Lee H J, et al. Anthocyanin extracted from *Hibiscus* attenuate oxidized LDL-mediated foam cell formation involving regulation of CD³⁶ gene [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 179(2/3): 212-218.
- [35] Lo C W, Huang H P, Lin H M, et al. Effect of *Hibiscus* anthocyanins-rich extract induces apoptosis of proliferating smooth muscle cell via activation of p³⁸ MAPK and p⁵³ pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51(12): 1452-1460.
- [36] Huang C N, Chan K C, Lin W T, et al. *Hibiscus sabdariffa* inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and migration induced by high glucose, a mechanism involves connective tissue growth factor signals [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(8): 3073-3079.

(收稿日期 2009-11-21)