

山楂多糖药理作用和提取工艺研究进展

吕玲霞¹, 辛立红¹, 管仁伟², 路俊仙², 王 萌², 郭瑞齐¹, 胡春苗¹, 林慧彬^{2*}

1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250014

2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

摘 要: 山楂含有黄酮、多糖、有机酸等生物活性物质, 对黄酮、有机酸等有效成分研究较多, 而对山楂多糖的研究较少。山楂多糖具有抗疲劳、增强免疫力、抗氧化、抗肿瘤以及调血脂等药理作用, 其提取方法主要有水提、超声波提取、微波提取。主要综述近年来国内外对山楂多糖的药理作用以及其提取工艺的研究进展, 为更好地开发利用山楂这一植物药资源, 进而研发相关新药提供依据。

关键词: 山楂; 多糖; 提取工艺; 药理作用; 抗疲劳; 增强免疫

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2016)06-1081-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.06.035

Research progress on extraction technology and pharmacological effects of Hawthorn polysaccharides

LV Ling-xia¹, XIN Li-hong¹, GUAN Ren-wei², LU Jun-xian², WANG Meng², GUO Rui-qi¹, HU Chun-miao¹, LIN hui-bin²

1. Pharmacy College of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250114, China

2. Shandong Institute of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract: Hawthorn contains flavonoids, polysaccharides, organic acids, and other biologically active substances, such as flavonoids, organic acids and other active ingredients more research, and hawthorn polysaccharide less. Hawthorn polysaccharide has anti fatigue, enhancing immunity, anti oxidation, anti tumor, lowering blood lipid, and other pharmacological effects, and its extraction methods are mainly water extraction, ultrasonic extraction, and microwave extraction. In recent years, the research progress on the pharmacological effects of Hawthorn polysaccharides and its extraction technology were reviewed. In order to develop and utilize the plant medicine resources, the research and development of new drug supply.

Key words: Hawthorn; polysaccharide; extraction technology; pharmacological action; anti fatigue; enhance immunity

山楂 *Crataegus pinnatifida* Beg. 为蔷薇科山楂属植物, 是一种食药两用的果品, 且有较高营养和医疗价值^[1-2]。山楂常被作为“长寿食品”, 集营养、保健于一体, 具有消积化滞、补脾健胃、活血化瘀等功效^[3]。近年来, 山楂得到广泛药用, 如山楂消脂胶囊对痰湿体质肥胖患者具有减肥作用^[4], 山楂叶总黄酮缓释胶囊能够治疗心脑血管系统疾病^[5], 含有山楂的中药复方制剂能调节冠心病患者的血脂^[6], 楂曲平胃合剂能治疗脾胃不和、呕吐恶心^[7],

山楂化滞丸具有消食导滞等功效^[8]。市场上由山楂组成的中成药包括健胃消食片、小儿消食片、小儿化食丸、化积口服液等, 广泛应用于临床^[9]。山楂也是古老的西方药用植物, 作为植物药在西方应用广泛^[10]。现代研究发现山楂提取物能有效治疗充血性心力衰竭^[11], 山楂中黄酮和原花青素具有显著的强心、利尿和血管扩张作用^[12]。山楂及其有效成分在治疗外周血管病、高血压、高血脂症、心绞痛、糖尿病等方面也得到很好的应用^[13-18]。

收稿日期: 2016-08-28

基金项目: 国家中医药行业科研专项 (201407002); 山东省科技攻关计划 (2014GSF119018、2015GSF119011); 山东省第三批五级中医师承教育项目; 中央本级重大增减支项目一名贵中药资源可持续利用能力建设 (2060302); 泰山学者工程 (NO.ts201511107); 山东省中医药科技发展计划 (2015-053、2015-166)

作者简介: 吕玲霞, 在读硕士研究生, 研究方向为中药资源与质量控制。Tel: 15688832234 E-mail: 1650826499@qq.com

***通信作者** 林慧彬, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药资源与质量控制。E-mail: linhuiyin68@163.com

山楂多糖是山楂中一类重要的生物活性物质,是由 10 个以上单糖组成的聚合糖高分子碳水化合物,具有抗疲劳、增强免疫力、抗氧化、抗肿瘤以及降血脂作用^[19-20]。植物多糖是比较受欢迎的天然产物,国内外进行了大量的从生物材料中提取多糖的研究^[21],如 Enrique 等^[22]分析研究了海藻多糖的提取方法和化学组分。多糖的提取条件和提取过程影响多糖的纯度,多糖纯度又直接影响多糖的生物活性。然而目前对山楂中黄酮、有机酸等生物活性研究较多,而对山楂多糖的研究较少。研究山楂多糖的药理作用及提取工艺可以为山楂多糖医疗、保健功效的合理开发应用奠定理论及实验基础。为此,本文综述山楂多糖的药理作用与提取工艺的研究进展。

1 山楂多糖的药理作用

1.1 抗疲劳

山楂多糖具有抗疲劳活性,能够较显著的消除运动型疲劳。唐礼可^[23]用山楂多糖粗品进行实验,将 40 只雄性 ICR 小鼠分为对照组、高剂量组(300 mg/kg)、中剂量组(100 mg/kg)、低剂量组(30 mg/kg),每组 10 只,分别按照 0.2 mL/10 g 体质量 ig 给药。连续给药 15 d,1 次/d。结果发现山楂多糖的粗品可以延长小鼠常压耐缺氧时间、增加小鼠负重游泳时间,降低尿素氮含量,促进糖原储备,降低体内乳酸。

研究结果表明山楂多糖可以提高机体耐缺氧耐力,提高运动负荷适应力,能够增加糖原储备来对抗运动型疲劳,降低乳酸来促进疲劳的消除,从而有利于提高机体抗疲劳能力。

1.2 免疫调节

多糖能够提高机体免疫力,可多层面、多途径地发挥免疫调节作用^[24]。细胞免疫功能的突出代表是淋巴细胞体外转化,它也是重要的免疫功能指标。闫启光等^[25]发现山楂能增强小鼠的免疫力。罗燕等^[26]运用小鼠脾淋巴细胞增殖试验,研究山楂多糖和中药复方多糖能否增强细胞免疫功能。在培养板中每孔加入 100 μ L 脾细胞悬液,试验组加入中药多糖,对照组加入培养液,结果发现各单味中药都可以不同程度地增强小鼠淋巴细胞增殖,中药复方的增强作用最强,而山楂多糖的增强作用比较弱。另有研究表明,复方总多糖及含有复方总多糖的药物血清都能够显著增强小鼠淋巴细胞的体外增殖^[27]。

上述研究提示中药复方在发挥对小鼠淋巴细

胞增殖作用时具有协同作用,山楂与其他中药配伍,更能充分发挥其免疫调节作用。由此可见,山楂多糖可作为免疫调节剂,增强机体免疫功能。

1.3 抗氧化

为了研究山楂多糖的抗氧化作用,设计其体外抗氧化性试验。郑朋朋等^[28]通过自由基清除试验测定山楂多糖抗氧化活性,结果发现山楂多糖能够清除 ABTS 自由基、DPPH 自由基以及 $\cdot$ OH 自由基。王玉荣等^[29]通过实验证实山楂多糖对 DPPH 自由基和 $\cdot$ OH 自由基具有一定的清除能力,是有效的自由基清除剂,4 $^{\circ}$ C 提取时清除作用最强,印证了山楂多糖的抗氧化活性。

多糖具有抗氧化作用,是通过增强抗氧化酶活性,抑制脂质过氧化,清除自由基,保护生物膜来发挥作用的。而山楂多糖这种清除自由基,抗氧化的能力,与山楂多糖的抗衰老作用关系密切。

1.4 抗肿瘤

山楂活性多糖还具有抗肿瘤作用^[30]。多糖发挥防癌、抗癌的作用,很大程度上是通过增强机体免疫功能和提高对肿瘤细胞的防御能力来实现的,并不是直接作用于肿瘤细胞。多糖的抗肿瘤活性主要受结构、理化性质、是否含有缀合物等方面影响^[31]。多糖类微量元素能够使癌基因过度表达或抑制从而诱导肿瘤细胞凋亡^[32]。

1.5 调血脂

山楂还具有降血脂,改善冠状动脉循环,保护心血管的作用^[33]。它能够显著降低总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白的含量^[34]。果胶本质上是一类线性的多糖聚合物,粗山楂果胶五糖是山楂中降血脂活性物质。Zhu 等^[35]以雄性昆明小鼠为研究对象,正常组以标准饮食喂养,高脂肪控制组以高脂饮食喂养,发现山楂果胶五糖能降低肝脏总胆固醇和低密度脂蛋白-胆固醇水平,提高粪便中胆汁酸水平。Li 等^[36]发现山楂果胶五糖对大鼠的降血脂作用是通过降低甘油-3-磷酸酰基转移酶和磷脂酸磷酸水解酶的活性、三酰甘油水平,降低蛋白质和 mRNA 表达而实现的。

从以上研究可以看出,山楂果胶是一类良好的降血脂物质,具有开发成调血脂药品或者保健品的潜力。

2 山楂多糖的提取方法

山楂多糖的提取方法主要有水提、超声波提取和微波提取。

2.1 水提法

溶剂提取法提取山楂多糖包括水提取、酸法提取以及碱法提取,其中水提法最为常用。水提法提取山楂多糖主要影响因素是提取温度、提取时间和液料比。戴远臣等^[37]采用热水法提取山楂多糖时发现,当料液比为1:20时,提取温度90℃提取6h,多糖获得最高提取率为3.92%。李艳红等^[38]同样选择传统热水法提取山楂多糖,发现山楂多糖在液固比为15(mL/g)、提取温度80℃、提取时间6h的实验条件下获得最高提取率为1.67%。

王玉荣等^[28]在研究水提山楂果肉和山楂全果多糖时发现,温度对提取率和黏度均有影响。在提取温度100℃时山楂多糖提取率最高,其中果肉和全果提取率分别为3.72%、3.65%。提取温度为4℃时山楂多糖黏度最高。郑朋朋等^[39]采用水提醇沉法提取山楂多糖,得到山楂多糖在温度79℃、乙醇体积分数71%、液料比28:1(mL:g)的实验条件下提取率最高,达到7.97%。刘巧利等^[40]筛选出最优提取条件为水提取3次,分别加14、12、12倍水,浸泡60min,提取时间分别为3.0、2.5、2.5h。高铎迅等^[41]利用正交实验研究发现,山楂多糖在温度80℃、料液比1:40、提取时间4h、提取次数3次的条件下提取率最高,达到1.52%。

水提是提取山楂多糖常用的传统方法,具有成本低,安全性高的优点。虽然水提法在提取率上稍逊于酸提取和碱提取法,但是酸提取和碱提取法常引入杂质,非常容易破坏多糖的立体结构及生物活性,给后续工序带来困难^[42]。

2.2 超声波提取法

超声波提取法作为一种物理破碎技术,在山楂多糖的提取中获得广泛应用。李艳红等^[43]研究发现,随着提取温度的升高,多糖的溶解率随之增大,提取率随之增高;随着时间延长,多糖提取率呈现先增大后下降的趋势;随着提取功率增大,多糖提取率降低。韩秋菊等^[44]采用正交实验筛选出山楂多糖提取优选方案为料液比1g:25mL、超声时间20min、超声功率80W、浸提温度60℃,在此提取条件下山楂多糖提取率高达1.85%。

超声波辅助提取技术具备简单、高效和节约溶剂的优点。超声波提取技术也可以有效避免高温对提取物的影响,是提取山楂多糖的有效途径,是以后重点研究和应用的领域。

2.3 微波提取法

微波提取法是一项新型萃取技术,其作用原理是通过高频电磁波的穿透作用,使细胞因为吸收微波能而破裂,从而实现有效成分的提取。研究微波法提取工艺,应主要考察微波功率、液固比和提取时间3个因素的影响。

骆新峥等^[42]选用单因素实验优选的山楂多糖最优提取方案为提取时间40min,功率600W,液固比20(mL/g)。王熊飞等^[45]通过正交试验摸索出提取山楂多糖的最佳条件为浸提温度60℃、料液比1:20、微波时间3min、功率560W。在此条件下山楂多糖获得最高提取率为1.53%,而且重复性较好,提取效果也比较稳定。刘红等^[46]在微波提取研究中发现,运用微波加热法提取山楂中的多糖,相比传统的加热回流法提取具有显著的提取效率高、用时较短的优点,多糖含量提高了60%。

微波提取法具备高效节能、安全无污染的优点。在与传统热水法的比较研究中发现,微波法提取山楂多糖具有诸多优点,不仅节省时间,选择性高,成本低投资少,设备简单,操作便捷,而且获得的收率也高,是强化固液提取过程的新型提取技术,适用于工业化提取山楂多糖。值得关注的一点是,微波和超声波辅助提取具有可能会导致提取物组分变得更复杂,分离困难的缺点。

3 结语

山楂作为我国的传统中药,含有丰富的营养成分,药理作用广泛、疗效显著^[47]。目前为止,对山楂各方面的研究都取得了显著进展,使人们充分的认识到了山楂的综合利用价值。多糖作为生物体内重要的信息分子,具有多种生物活性。目前对植物来源多糖的研究取得了显著进展,其中茯苓、猪苓、香菇、云芝等中药里所含多糖被广泛应用于临床,在抗衰老、抗肿瘤和抗病毒等方面发挥了很好的作用。山楂多糖用于医疗保健的潜力巨大,开发利用前景广阔。但是,山楂多糖在发挥各种药理作用时是单独作用还是跟其他活性物质协同作用尚需研究者进一步探讨。

山楂多糖的提取方法,应综合考虑效率、成本、可行性、提取率等方面的因素。超声波法、微波法、水浴法提取山楂多糖各有利弊,有人认为传统水浸提法要优于超声波法及微波法,这与山楂多糖自身的性质、超声波及微波的处理时间、超声波及微波的功率都具有明显的相关性^[21]。除此以外,还应考虑绿色、节能、环保方面的因素,以及所用提取溶

剂能否循环利用等,以保证产业健康发展。

山楂有效成分的提取工艺研究和深加工是发展山楂产业的新出路,但其提取工艺尚未成熟,还需进一步深入研究以提高提取率、减少工作量、节约成本。目前可以尝试新的提取分离技术双水相分配技术等,以提高山楂多糖的品质。

从分子水平分析山楂多糖生物活性物质的作用机制是研究山楂多糖的新出路,也可以用分子修饰来改善山楂多糖的生物活性。进行山楂多糖的成分研究,搞清山楂多糖的结构及构效关系,以及进行山楂多糖的药理作用机制研究,将为山楂多糖的合理利用提供理论依据,为山楂的开发应用提供理论基础。

参考文献

- [1] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用 [M]. 北京: 学苑出版社, 1997: 597-625.
- [2] 赵焕淳, 丰宝田. 中国果树志: 山楂卷 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1996.
- [3] 于栋华, 包顺茹, 于纯淼, 等. 山楂叶总黄酮药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(3): 174-176, 2.
- [4] 梁绮君, 胡晨鸣, 赖锦兰, 等. 山楂消脂胶囊对痰湿体质肥胖症的减重作用 [J]. 广州中医药大学学报, 2016, 05: 625-629.
- [5] 俞洁琼, 张 锴, 留 萍, 等. 山楂叶总黄酮缓释胶囊的研制及释药机制考察 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(15): 1758-1764.
- [6] 邹宇丽, 张 红, 冯 萱, 等. 中药复方制剂对冠心病患者血脂的影响 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(15): 2190-2191.
- [7] 张 立, 刘金英, 马灵珍. 楂曲平胃合剂中 6 个成分的 HPLC 法测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(7): 915-918.
- [8] 商志儒. 消化系常用中成药与其他药物的配伍禁忌 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1301-1302.
- [9] 阮 凤. 中成药鉴别之小儿积食 [J]. 中国药店, 2015, 6: 70-71.
- [10] Czygan F C. A short cultural history in retrospect. *Crataegus* as a cardiac agent [J]. *Pharm Unserer Zeit*, 2005, 34: 10-13.
- [11] Tauchert M. Efficacy and safety of *Crataegus* extract WS 1442 in comparison with placebo in patients with chronic stable New York Heart Association class-III heart failure[J]. *Am Heart J*, 2002, 143: 910-915.
- [12] Barnes J, Anderson L A, Phillipson J D. Herbal Medicines 2002 [M]. London: United Kingdom Pharmaceutical Press, 2002.
- [13] Chang Q, Zuo Z, Harrison F, et al. Hawthorn [J]. *J Clin Pharmacol*, 2002, 42: 605-612.
- [14] Ling S. Effects of four medicinal herbs on human vascular endothelial cells in culture [J]. *Int J Cardiol*, 2007, 111: 34-38.
- [15] Brixius K, Willms S, Napp A, et al. *Crataegus* special extract WS 1442 induces an endothelium-dependent, NO-mediated vasorelaxation via eNOS-phosphorylation at serine 1177 [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2006, 20: 177-184.
- [16] Veveris M, Koch E, Chatterjee S S. *Crataegus* special extract WS(R) 1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion. [J]. *Life Sci*, 2004, 74: 1945-1955.
- [17] Abdul Kareem M, Krushna G S, Hussain S A, et al. Effect of aqueous extract of Nutmeg on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and cardiac histology associated with isoproterenol-induced myocardial infarction in rats [J]. *Trop J Pharm Res*, 2009, 8(4): 337-344.
- [18] 袁燕燕, 步世忠, 王福艳. 山楂树资源防治 2 型糖尿病及其并发症的研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2182-2187.
- [19] Masuda Y, Ito K, Konishi M, et al. A polysaccharide extracted from *Grifola frondosa* enhances the anti-tumor activity of bone marrow-derived dendritic cell-based immunotherapy against murine colon cancer [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2010, 59: 1531-1541.
- [20] 王章姐, 郁万杨, 张梦茹, 等. 植物多糖研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(6): 39-40.
- [21] 李艳红. 山楂多糖的提取、分离纯化及结构研究 [D]. 太原: 山西大学, 2006.
- [22] Enriqu G, Jose A, Iasi P R. Isolation and chemical characterization of algal polysaccharides from the green seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh [J]. *J Appl Phycol*, 2011, 23: 537-542.
- [23] 唐礼可. 山楂多糖抗疲劳作用实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(2): 32-33, 68.
- [24] 邓小云, 丁登峰, 戴美红, 等. 植物多糖药理作用研究进展 [J]. 中医药导报, 2006, 09: 86-88.
- [25] 闫启光. 山楂多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国中医药咨讯, 2009(6): 134.
- [26] 罗 燕, 谷新利, 赵宗胜, 等. 中药复方多糖及其各单味中药多糖对小鼠淋巴细胞增殖的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2008(2): 89-90.
- [27] 邵永斌. 中药免疫增强剂复方和单味中药多糖的免疫

- 增强作用研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2005.
- [28] 郑朋朋, 李 珊, 戚丽蓉, 等. 山楂多糖的提取及其抗氧化性作用 [J]. 中国酿造, 2015, 34(6): 107-113.
- [29] 王玉荣, 金玉兰, 朴美子, 等. 山楂中多糖的提取及化学特性分析 [J]. 中国酿造, 2013, 32(9): 102-105.
- [30] 李 刚, 梁新红, 葛晓虹. 山楂化学成分及其保健功能特性 [J]. 江苏调味副食品, 2009, 26(6): 25-27, 30.
- [31] 谢好贵, 陈美珍, 张玉强. 多糖抗肿瘤构效关系及其机制研究进展 [J]. 食品科学, 2011, 11: 329-333.
- [32] Schnellldorfer T, Gansauge S, Gansauge F, et al. Glutathione depletion causes cell growth inhibition and enhanced apoptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Cancer*, 2000, 89(7): 1440-1442.
- [33] Kim S H, Kang K W, Kim K W, et al. Procyanidins in *Crataegus* extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta [J]. *Life Sci*, 2000, 67: 121-131.
- [34] Andrade-Cetto A, Heinrich M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 99, 325-348.
- [35] Zhu R G, Li T P, Dong Y P, et al. Pectin pentasaccharide from hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge. var. *major*) ameliorates disorders of cholesterol metabolism in high-fat diet fed mice [J]. *Food Res Int*, 2013, 54(1): 262-268.
- [36] Li T P, Li S H, Dong Y P, et al. Antioxidant activity of penta-oligogalacturonide, isolated from haw pectin, suppresses triglyceride synthesis in mice fed with a high-fat diet [J]. *Food Chem*, 2014, 145: 335-341.
- [37] 戴远臣, 侯红漫, 张公亮. 山楂多糖的提取条件优化及对保加利亚乳杆菌的增殖影响 [J]. 中国酿造, 2012, 31(1): 136-140.
- [38] 李艳红. 微波法与热水法提取山楂多糖的比较研究 [J]. 基层医学论坛, 2009, 13(4): 346-348.
- [39] 郑朋朋, 李 珊, 戚丽蓉, 等. 山楂多糖的提取及其抗氧化性作用 [J]. 中国酿造, 2015, 34(6): 107-113.
- [40] 刘巧利, 王柳云, 严建业, 等. 山楂中总黄酮和多糖的提取工艺研究 [J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(9): 162-165.
- [41] 高铎迅, 韩秋菊, 马宏飞. 正交试验优化山楂多糖提取工艺 [J]. 食品与发酵科技, 2013, 02: 59-60, 88.
- [42] 骆新峥. 植物多糖的研究现状 [J]. 质量技术监督研究, 2010(3): 46-50.
- [43] 李艳红, 林勤保, 罗 莹. 山楂多糖提取的研究 [J]. 农产品加工: 学刊, 2006, 5(5): 43-46.
- [44] 韩秋菊, 赵 佳, 马宏飞, 等. 超声辅助法提取山楂多糖工艺优化 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 258-259.
- [45] 王熊飞, 韩秋菊, 高铎迅. 微波法提取山楂多糖的工艺优化研究 [J]. 湖南农业科学, 2013(8): 32-33.
- [46] 刘 红, 薛 梅, 李炳奇, 等. 山楂多糖的微波提取和含量测定 [J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2004, 22(3): 204-266.
- [47] 吴士杰, 李秋津, 肖学风, 等. 山楂化学成分及药理作用的研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 316-319.