



博士后文库

中国博士后科学基金资助出版

山楂叶研究

英锡相 主编



科学出版社



博士后文库

中国博士后科学基金资助出版

山楂叶研究

英锡相 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是国内第一部系统深入研究山楂叶的专著，主要包括山楂叶的研究概况、药效学、化学成分及质量、药动学，以及黄酮单体化合物首过效应、药理作用机制及剂型研究等内容。书中回顾了山楂叶研究现状及未来发展趋势，对脂肪肝发病机制做了较详尽的阐述，并以山楂叶防治脂肪肝作用为切入点，重点研究了山楂叶提取物及其黄酮类单体化学成分的药动学、黄酮单体化合物的首过效应及其药理作用机制，对生物样品制备及生物分析方法建立与验证也做了较详实的介绍，使读者能在短时间内掌握生物样品处理及中药药动学研究方法。

本书可作为致力于系统研究中药的中医药科研人员、相关专业本科生和研究生的参考书，对山楂叶感兴趣的爱好者也可选择性地阅读部分章节。

图书在版编目(CIP)数据

山楂叶研究 / 英锡相主编. —北京：科学出版社，2016.6

(博士后文库)

ISBN 978-7-03-048418-5

I. ①山… II. ①英… III. ①山楂-树叶-研究 IV. ①S661.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 119785 号

责任编辑：刘 亚 黄 敏 / 责任校对：张怡君

责任印制：徐晓晨 / 封面设计：陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码：100717

<http://www.sciencep.com>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 7 月第 一 版 开本：720×1000 1/16

2016 年 7 月第 一 次印刷 印张：20 1/4

字数：420 000

定价：98.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换)

《博士后文库》编委会名单

主 任 陈宜瑜

副主任 詹文龙 李 扬

秘书长 邱春雷

编 委 （按姓氏汉语拼音排序）

傅伯杰	付小兵	郭坤宇	胡 滨	贾国柱
刘 伟	卢秉恒	毛大立	权良柱	任南琪
万国华	王光谦	吴硕贤	杨宝峰	印遇龙
喻树迅	张文栋	赵 路	赵晓哲	钟登华
周宪梁				

《山楂叶研究》编委会名单

主 审 康廷国

主 编 英锡相

副主编 李海波 刘 晶 张文洁

编 委 （按姓氏笔画排序）

王思源 李翠玉 杜 洋 陈映辉

孟一晗 英哲铭 徐 靓 高瑜聪

薛禾菲

《博士后文库》序言

博士后制度已有一百多年的历史。国内外普遍认为，博士后研究经历不仅是博士研究生在取得博士学位后找到理想工作前的过渡阶段，而且也被看成是未来科学家职业生涯中必要的准备阶段。中国的博士后制度虽然起步晚，但已形成独具特色、相对独立和完善的人才培养及使用机制，成为造就高水平人才的重要途径，它已经并将继续为推进中国的科技教育事业和经济发展发挥越来越重要的作用。

中国博士后制度实施之初，国家就设立了博士后科学基金，专门资助博士后研究人员开展创新探索。与其他基金主要资助“项目”不同，博士后科学基金的资助目标是“人”，也就是通过评价博士后研究人员的创新能力给予基金资助。博士后科学基金针对博士后研究人员处于科研创新“黄金时期”的成长特点，通过竞争申请、独立使用基金，使博士后研究人员树立科研自信心，塑造独立科研人格。经过30年的发展，截至2015年年底，博士后科学基金资助总额约26.5亿元人民币，资助博士后研究人员5.3万余人，约占博士后招收人数的1/3。截至2014年年底，在我国具有博士后经历的院士中，博士后科学基金资助获得者占72.5%。博士后科学基金已成为激发博士后研究人员成才的一颗“金种子”。

在博士后科学基金的资助下，博士后研究人员取得了众多前沿的科研成果。将这些科研成果出版成书，既是对博士后研究人员创新能力的肯定，也可以激发在站博士后研究人员开展创新研究的热情，同时使博士后科研成果在更广范围内传播，更好地为社会利用，进一步提高博士后科学基金的资助效益。

中国博士后科学基金会从2013年起实施博士后优秀学术专著出版资助工作。经专家评审，评选出博士后优秀学术著作，中国博士后科学基金会资助出版费用。专著由科学出版社出版，统一命名为《博士后文库》。

资助出版工作是中国博士后科学基金会“十二五”期间进行基金资助改革的一项重要举措，虽然刚刚起步，但是我们对它寄予厚望。希望通过这项工作，使博士后研究人员的创新成果能够更好地服务于国家创新驱动发展战略，服务于创新型国家的建设，也希望更多的博士后研究人员借助这颗“金种子”迅速成长为国家需要的创新型、复合型、战略型人才。

中国博士后科学基金会理事长

李尔奇

目 录

《博士后文库》序言

第一章 山楂叶的研究概况	1
第一节 山楂叶的基源	1
第二节 山楂叶的本草考证	1
第三节 山楂叶的化学成分研究	1
第四节 山楂叶总黄酮提取工艺及单体成分分析	3
第五节 山楂叶的药理作用研究	5
第二章 山楂叶防治脂肪肝药效学研究	12
第一节 脂肪肝发病机制	12
第二节 中医治疗脂肪肝的研究	15
第三节 AFLD 与 NAFLD 大鼠模型的复制及血脂等指标的比较研究	17
第四节 山里红叶抗脂肪肝有效部位的筛选	21
第五节 山楂叶总黄酮对 NAFLD 大鼠疗效研究	40
第六节 山楂叶总黄酮对 AFLD 大鼠疗效的实验研究	45
第三章 山楂叶的化学成分及质量研究	53
第一节 山楂叶的化学成分与鉴定	53
第二节 HPLC 法同时测定山楂叶中 8 种活性成分	70
第三节 不同产地、不同采收期山楂叶 8 种活性成分变化研究	75
第四节 不同采收期山里红叶总黄酮及牡荆素-2"-O-鼠李糖苷含量研究	78
第五节 ICP-MS 法测定山楂叶中的微量元素	83
第四章 山楂叶提取物及单体成分药动学研究	89
第一节 中药药动学研究概况	89
第二节 山楂叶提取物在正常及 NAFLD 大鼠体内的药动学研究	96
第三节 山楂叶提取物药动学研究	129
第四节 金丝桃苷药动学研究	142
第五节 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷药动学研究	148
第六节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷药动学研究	166
第七节 异槲皮苷药动学研究	185

第八节 牡荆素药动学研究	192
第九节 液质联用等技术研究山里红叶提取物及单体成分药动学	209
第五章 山楂叶中单体成分首过效应研究	229
第一节 牡荆素首过效应研究	229
第二节 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷首过效应研究	236
第三节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷首过效应研究	243
第六章 山楂叶中单体成分抗氧化活性研究	252
第一节 HPLC 法测定 MDA 含量的抗氧化作用研究	252
第二节 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷及牡荆素-2"-O-鼠李糖苷对人脂肪干细 胞(hADSC)增长及氧化应激反应的影响	263
第三节 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷保护 TBHP 诱导 ECV-304 细胞损伤机制研究	272
第四节 金丝桃苷保护 ECV-304 细胞氧化损伤的机制研究	279
第七章 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷滴丸研究	287
第一节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷剂型选择	287
第二节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷滴丸制备工艺优化研究	287
第三节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷滴丸质量标准研究	292
第四节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷与丹参滴丸对大鼠急性心肌缺血药效的比较 研究	304
第五节 牡荆素-2"-O-鼠李糖苷滴丸在大鼠体内药动学研究	307
附录 本书编者发表山楂叶研究论文	314
编后记	316

第一章 山楂叶的研究概况

第一节 山楂叶的基源

山楂属 *Crataegus* 为蔷薇科 Rosaceae 梨亚科 Maloideae 的一个大属, 对其准确分类极其困难^[1]; 北美洲的植物学家曾将山楂属定为 1100 种, 但经后人重新审定后, 大部分定为亚种和变种。目前, 山楂属被认定的有 100~200 种^[2], 分为两亚属: 一亚属为山楂亚属 *Crataegus*, 主要分布在欧亚大陆; 另一亚属为 *Americanene*, 主要分布在北美洲。药用的山楂属植物均属于山楂亚属。中国有山楂属植物 17 种 2 变种。中国山楂属植物常见的有 8 种 2 变种^[3], 如山楂、山里红、野山楂、云南山楂、湖北山楂、甘肃山楂、辽山楂、毛山楂、山楂无毛变种等。另外, 高光跃等^[4]还提到了华中山楂、绿肉山楂、菊红山楂。广西的黄燮才^[5]却发现山楂原植物有 5 种 1 变种, 即山楂、山里红、野山楂、云南山楂、光萼林檎和台湾林檎。历代本草记载入药品种为野山楂, 地区用药有云南山楂^[6]; 山楂叶为山楂及其变种山里红的叶。

第二节 山楂叶的本草考证

山楂叶为蔷薇科植物山楂 (*Crataegus pinnatifida* Bge.) 或山里红 (*Crataegus pinnatifida* Bge. var *major* N. E. Br) 的干燥叶, 经本草考证, 山楂之名始载于《本草纲目》^[7], 在此之前以“赤爪草”之名始载于《新修本草》^[8]。

第三节 山楂叶的化学成分研究

山楂化学成分的研究始见于 1921 年, 20 世纪 50 年代之前, 研究多集中于其所含的维生素、鞣质、三萜类成分。随着研究发现山楂所含黄酮类成分对心血管有明显的药理作用后, 人们对山楂叶及山里红叶有了进一步的了解, 分离出了各种黄酮类化合物、有机酸类化合物及一些微量化合物。丁杏苞等^[9]从山楂叶中分离出槲皮素、金丝桃苷、牡荆素、牡荆素-2"-O-鼠李糖苷、盐酸二乙胺、山梨醇、对羟基苯甲苹果酸; 董英杰等^[10]从大果山楂叶中分离出了 5, 7, 4'-三羟基黄酮-8-C-β-D-葡萄糖苷; 斯建勇和陈迪华^[11]从云南山楂叶中分离出了芦丁、熊果酸、胡萝卜苷、二十九烷醇等 6 个化合物; 容小翔和宁在兰^[12]对芸香苷、山楂苷、牡荆素 4', 7-O-葡萄糖苷、乙酰牡荆素-4'-鼠李糖苷进行了报道; Zhang 和 Xu^[13]从山楂果及叶中分离得到了淫羊

藜芦素、山柰酚、7-*O*- α -L-鼠李糖-3-*O*- β -D-葡萄糖山柰酚、3-*O*- β -D-葡萄糖槲皮素、3-*O*- β -D-半乳糖槲皮素、3-*O*- β -D-葡萄糖(6 $\rightarrow$ 1)- α -L-鼠李糖槲皮素、3-*O*- β -D-半乳糖(6 $\rightarrow$ 1)- α -L-鼠李糖槲皮素、6"-*O*-乙酰基牡荆素、8-C- β -D-(2"-*O*-乙酰基)-吡喃葡萄糖芹菜素、pinnatifinoside A~D; 刘茵华和余伯阳^[14]首次从山里红叶中分离得到槲皮素 3-*O*-[α -L-鼠李糖(1-4)- α -L-鼠李糖(1-6)- β -葡萄糖苷]和正三十烷醇。国外还分离出低聚无色矢车菊素、无色矢车菊素和表儿茶精的共聚物、二聚无色矢车菊素、无色缔纹天竺素和缔纹天竺苷^[15]; 许洛^[16]通过研究证明山楂叶总黄酮(total flavone of hawthorn leave, TFHL)中不存在二氢黄酮和二氢黄酮醇; 黄肖霄^[17, 18]从山楂叶中分离得到 α -tetrahydrobisabolen-2, 5, 6-triol、10, 11-dihydroxynerolidol、3, 5, 4'-三甲氧基-4-羟基-联苯(3, 5, 4'-trimethoxy-4-hydroxyl-biphenyl)、(+)-7*R*, 8*S*-5-methoxy dihydrodehydroconiferyl alcohol、5, 4'-二甲氧基-联苯-4-羟基-3-*O*- β -D-葡萄糖苷(5, 4'-dimethoxy-biphenyl-4-ol-3-*O*- β -D-glucoside)、18, 19-seco, 2 α , 3 β , -dihydroxy-19-oxo-urs-11, 13(18)-dien-28-oicaci、3, 9-dihydroxy-megastigma-5-ene、(3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*)-megastigmane-7-ene-3-hydroxy-5, 6-epoxy-9-*O*- β -D-glucopyranoside、(Z)-3-hexenyl-6-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1"-6')- β -D-glucopyranoside(β -primeveroside)、苯甲酸、对羟基苯丙酸、反式对羟基桂皮酸。周晨晨等^[19]从山楂叶中分离得到 3-乙氧基-4-羟基苯甲酸、3, 4-二甲氧基苯丙醛、对乙氧基苯甲酸、对甲基苯甲酸、对羟基苯甲酸、3-甲氧基-4-甲基苯甲酸、对甲氧基苯丙酸、对甲氧基苯丙醛、反式对乙氧基桂皮酸、1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)乙烷-1'*S*, 2'-二醇、3-甲氧基对羟基苯甲醛、对羟基苯甲醛、6-羟基苯甲酸苄酯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷。郝东方等^[20]从山楂叶中分离得到扩谷甾醇。目前已报道的化合物还有绿原酸、山楂酸、熊果酸、嘌呤衍生物、五加皮酸、咖啡酸、对羟基肉桂酸、皂苷、胆碱、挥发油等^[109, 110]。从各种山楂叶及花中分离的成分主要有: ①黄酮类: 目前从该属植物中分离出的黄酮类化合物有近 50 种, 其苷元主要为芹菜素、木犀草素、山柰酚、槲皮素等。②黄烷及其聚合物: 花青素、无色花青素及儿茶精类广泛存在于山楂属植物中, 它们多以单体、二聚物或多聚物形式存在, 现分离得到的这类成分有矢车菊素、表儿茶精、儿茶精、无色缔纹天竺素、缔纹天竺苷和其他黄烷聚合物。③三萜类成分: 熊果酸、齐墩果酸、山楂酸。④脂肪类和芳香族酸类化合物。⑤有机胺类化合物: 乙酰胆碱、三甲胺、乙胺、异戊胺。⑥其他: 糖类、谷甾醇和大量维生素 C 及一些微量元素。

目前认为山楂属植物的主要活性成分为黄酮和原花色苷元的二聚体及多聚体, 其中的黄酮大部分以苷的形式存在于植物体中, 原花色苷元的含量很少。其黄酮和黄酮醇的苷元分别为芹菜素、木犀草素、槲皮素、山柰酚和 8-甲氧基山柰酚; 其糖的部分为葡萄糖、L-鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、芸香糖和新橙皮糖。其以黄酮为苷元的苷多为碳苷, 而以黄酮醇为苷元的苷多为氧苷^[21, 22], 如牡荆素、牡荆素-2"-*O*-鼠李糖、异牡荆素、异牡荆素-2"-*O*-鼠李糖苷、荭草素、荭草素-2"-*O*-鼠李糖苷、异荭草素、异荭草素-2"-*O*-鼠李糖苷、牡荆素-2"-*O*(4"-乙酰基)-*O*-鼠李糖苷、槲皮素、金丝桃苷、绣线菊苷、芦丁、8-甲氧基-山柰酚、8-甲氧基-山柰酚-3-葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*- β -D-

葡萄糖苷、(-)-表儿茶素/(+)-儿茶素、(-)-表儿茶素/(-)-儿茶素、(+)-儿茶素/(+)-儿茶素、(+)-儿茶素/(-)-表儿茶素。

除黄酮外，还有一类重要的化合物，即原花色苷元的聚合物，为儿茶素或表儿茶素经 C-4、C-8 位连接而成，这些化合物经矿酸处理可形成花青素，因此称为原花色苷元。4, 8-位连接的二聚原花色苷元有很多立体异构体，这类聚合物一般由 2~8 个儿茶素构成^[23]。

第四节 山楂叶总黄酮提取工艺及单体成分分析

一、山楂叶总黄酮提取工艺

冯宝树^[24]以稀乙醇浸渍提取为基础，采用吸附性树脂进行分离去杂，并结合使用少量的聚酰胺精制，获得了 TFHL 含量高于 80% 的产品，具有无毒害、成本低的优点；王威和王春利^[25]利用水煮法所提样品中的总黄酮含量为 3.9%，此方法采取全物理过程，无任何化学变化及污染，是一条理想的提取山楂黄酮类物质的途径。利用酶法提取山楂叶中的总黄酮，与传统提取工艺相比，提取率提高了 16.9%，提取条件温和^[26]；山楂叶中黄酮类化合物的最佳提取条件是：70% 乙醇为溶剂，山楂叶质量与溶剂体积比为 1 : 10，在 80℃ 条件下回流 4 次，每次 0.5h^[27]；徐淑卿和郑宝玉^[28]利用正交试验法筛选的山楂叶最佳提取工艺条件为 60℃ 时用 60% 乙醇提取 4h^[28]；有人采用了水煮醇沉法、稀醇渗漉法、铅盐沉淀法和石灰水沉淀法等综合方法，以防山楂叶黄酮的遗漏^[29]。用正交法探讨山楂叶中黄酮类化合物的乙醇提取工艺结果表明，70% 乙醇溶液为提取剂，在煮沸下浸提 4~5h，用 50% 乙醇溶液作树脂的洗脱剂为提取效果最佳^[30]。山楂叶黄酮类化合物的最佳提取工艺研究表明，60% 乙醇为溶剂，山楂叶质量与溶剂体积比为 1 : 6，80℃ 浸提两次，每次 3h，可将叶中 95% 的黄酮浸提出来^[31]。有采用大孔吸附树脂分离纯化葛根与山楂叶中总黄酮的报道，D101 型树脂对混合物中的总黄酮有良好地吸附，其吸附分离的工艺条件为山楂叶黄酮的饱和吸附量为 11.28mg/g^[32]。丁氏等则用 80% 乙醇回流提取山楂叶粗粉，他们将提取液浓缩至糖浆状，用热水萃取数次，合并萃取液，减压浓缩，硅藻土拌料，依次用乙醚、丙酮与乙醇回流提取。其中丙酮提取物经硅胶柱层析，氯仿-甲醇-水梯度洗脱，薄层层析检控，相同部分合并，分别得到槲皮素、金丝桃苷、牡荆素、牡荆素-2''-O-鼠李糖苷、盐酸二乙胺等化合物^[33]。《山楂叶中黄酮类化合物及提取方法》一文中归纳出了三种总黄酮的提取方法，即水煎煮法、溶剂萃取法及树脂吸附法^[34]；《山楂叶中黄酮类化合物的提取方法研究》一文中采用醇类进行浸提，萃取后得到的黄酮化合物，在山楂叶中可达 2% 以上，具有很高开发价值^[35]。欧山楂花、叶、果中含有的黄酮化合物大不相同，花中主要的黄酮为金丝桃苷，叶中则以牡荆素-2''-O-鼠李糖苷为主，而果实中含有的黄酮量极少，主要以金丝桃苷为主。果实中没有发现牡荆素的衍生

物,原花色苷元聚合物的含量与采收期关系极大,一般5月含量最高,8月含量最低,约为5月的50%^[112]。山楂果实与叶中的黄酮类成分含量有所不同。高光跃和冯毓秀^[36]认为三种黄酮成分(芦丁、金丝桃苷、牡荆素)在果实与叶中的含量有很大差异,均表现为叶中含量较高,即叶中含牡荆素0.95%,果实含0.038%;叶中含芦丁0.16%,果实含0.018%;叶中含金丝桃苷0.16%,果实含0.023%。吉林的刘氏等也认为山楂果实与叶中所含有的黄酮单体化合物种类及总黄酮含量有所不同,叶中的总黄酮含量高于果实中的^[37];而江苏的陈氏等却认为山楂果肉中的黄酮成分最高,叶中较低^[38]。8种山楂属植物叶中的总黄酮含量表现为:野山楂最高为3.8%,其次是山楂及湖北山楂;山楂、山里红、云南山楂和湖北山楂叶子中均含有牡荆素、芦丁和金丝桃苷三种成分,其含量比果实中的高2~10倍,表明以上数种山楂的叶具有开发利用前途,其他几种山楂叶中的有效成分含量低或资源不多,利用价值较差^[39]。

二、山楂叶单体黄酮类成分分析

从20世纪80年代初起,国内对山楂资源调查、临床应用和开发研究进行了一系列的工作,同时在研究山楂的基础上,对山里红叶也进行了化学、药理、临床等多方面的研究。对山里红叶化学成分的研究表明,其叶中主要含有黄酮类(主要有牡荆素及其苷类)、三萜、鞣质及微量元素,基本与山楂相同。为了充分开发利用山里红叶资源,对山里红叶的化学成分、药理作用进行了多方面的研究,开发了总黄酮制剂(片剂和胶囊等),应用在缓解心绞痛、降低胆固醇及甘油三酯等方面,建立了山楂叶化学成分测定,但大多为单一成分测定,用来控制药品质量。例如,广山楂及其叶质量分析研究中测定总黄酮及有机酸类成分并采用TLC法鉴别不同山楂叶中的黄酮及有机酸^[40]。Liu等^[41]采用高效液相色谱(HPLC)法分析山里红叶中的8种主要多元酚类成分,结果表明,不同种、不同产地及不同采收期的山楂叶中这8种主要多元酚类成分的含量存在明显的差异;仲英和杨尚军^[42]采用高效液相色谱法测定TFHL中的牡荆素含量,结果表明,样品经提取、分离、水解,去掉大部分杂质,可达到基线分离,为TFHL提供了准确、灵敏的含量测定方法;李标等^[43]采用高效液相色谱法测定山楂叶中金丝桃苷的含量,结果表明,金丝桃苷浓度在一定范围内与峰面积线性关系良好,可作为山楂叶的定量分析方法;胡光祥和於洪建^[44]采用RP-HPLC法测定山楂叶中的牡荆素含量,结果表明,牡荆素样品处理方法适当,杂质少,可作为山楂叶的定量分析方法;王晓燕^[45]给出了两种“益心酮”粉针剂含量的测定方法:紫外-可见分光光度法和高效液相色谱法,结果表明,两种方法均能很好地测定其有效成分,达到质量控制的目的;郑河平^[46]采用高效液相色谱法测定心安胶囊中牡荆素鼠糖苷的含量;孙国兵^[47]采用高效液相色谱测定心安胶囊中槲皮素的含量,并采用酸水解甲醇超声提取样品,可在10min完成分析;马艳蓉^[48]采用分光光度法测定复心片中总黄酮的含量,结果表明,该方法简便、灵敏、准确,可用于该制剂质量控制;Svedstrom等^[49]采用高效液相色谱法测定了山楂中的原花青素

2~6 聚体并对多元酚成分进行了比较分析;Rehwald^[50]等采用反相高效液相色谱法对山楂叶中的花黄酮类成分进行了定性定量研究^[50];还有许多文献报道采用高效液相色谱法测定人体及大鼠体内的芦丁、金丝桃苷及槲皮素等成分^[51-53]。Zhang 等^[54]采用液质联用技术同时测定大鼠血浆中牡荆素-4"-O-葡萄糖苷、牡荆素-2"-O-鼠李糖苷、芦丁、牡荆素的含量。Cheng 等^[55]采用高效液相色谱法与紫外光电二极管阵列检测法同时测定山楂叶提取物中牡荆素-4"-O-葡萄糖苷、牡荆素-2"-O-鼠李糖苷、芦丁、金丝桃苷的含量。

三、山楂叶中其他成分分析

赵中杰和江佩芬^[56]用氨基酸自动分析仪测定山楂和其叶中的 17 种氨基酸的含量。结果表明,叶中的氨基酸含量达 10.3%,而山楂叶仅为 2.4%,两者之比为 4.3:1;被测各种氨基酸的含量,叶比果实高 3~8 倍。同一样品不同氨基酸含量的高低顺序大致为:叶中谷氨酸>亮氨酸、天冬氨酸>丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、精氨酸、苯氨酸>苏氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、酪氨酸>组氨酸、甲硫氨酸>胱氨酸。果实中天冬氨酸、谷氨酸>亮氨酸、赖氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、脯氨酸>组氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸、胱氨酸。

孙树英和王洪存^[57]采用高频等离子体发射光谱法测定了山楂叶中的 17 种微量元素,其中有 8 种是必需的微量元素,钾、钙、磷、镁的含量较高,锌、铜的含量比值为 2.7,这些微量元素的存在对维持人体健康极为重要。赵中杰和江佩芬^[58]用电感耦合等离子体发射光谱法测定山楂和山楂叶中 25 种元素的含量,结果表明,山楂叶中有益元素的含量高于或接近于山楂中有益元素的含量。火焰原子吸收法测定山楂叶中钙、锰、铁、锌、镁、铜、铅、铬的含量表明其钙、铁的含量高,山楂叶中钙的含量接近鸡蛋中钙的含量,铁、锰、铜的含量均高于鸡蛋中的^[59]。

成熟期山楂叶中维生素的含量是果实中的 10 倍左右,新鲜山楂叶浸膏中维生素的含量高于存放时间过长样品中的^[60]。

第五节 山楂叶的药理作用研究

山楂叶被《中华人民共和国药典》2015 版(以下简称为《中国药典》)收载^[61],其提取物主要含黄酮类成分,本节主要对山楂叶治心血管药理、其他药理作用及临床应用作简要阐述。

一、山楂叶治疗心血管药理作用

1. 增加心肌的收缩力 研究表明,各种山楂花与叶的提取物均对离体心脏显示

出增强心肌收缩的作用^[62]。山楂花、叶的提取物中主要含有黄酮和原花色苷元的聚和物,对豚鼠离体显示出剂量依赖性的增加心肌收缩作用^[63];灌注山楂花与叶的提取物,可以抑制由于高钾、低钙所致的豚鼠离体心肌收缩力下降,拮抗利血平所致的豚鼠心肌收缩力减弱^[64]。麻醉狗注射山楂花提取物显示改善心肌收缩作用的剂量相关性;注射含有二聚原花色苷元的提取物,可以拮抗 β 受体阻断剂心得安所致的豚鼠心肌收缩力减弱,但对心得安所致的动脉压下降和心律降低无影响;静脉注射提取物能够补偿豚鼠经异博定所致的豚鼠心肌收缩力减弱^[65]。

2. 降低血管外周阻力 山楂叶提取物静脉注射 30mg/kg,可以明显增加与动脉压和总外周血管阻力相关联的麻醉大鼠心时观察时间 30min;提取物静脉注射 15mg/kg,可以增加麻醉狗的心时输出量、降低外周血管阻力,明显升高心率。灌胃 12.5mg/kg 生药给正常大鼠和 3.2~25mg/kg 生药给高血压大鼠,1~2h 后,二者的血压均下降^[65];12.5mg/kg 生药连续灌胃 15 天,高血压动物和正常血压动物的血压均显著下降^[66]。将山楂叶中总黄酮制成的益心酮以 45mg/kg 腹腔注射家兔,测定血小板聚集百分率,结果表明,益心酮和阿司匹林在体外对家兔血小板聚集均有抑制作用,益心酮在体内对家兔血小板聚集有抑制作用^[67]。静脉注射山楂叶提取物 30min 后,全血比黏度数值与对照组相比有显著下降^[68]。有报道牡荆素-2"-O-鼠李糖苷对血管内皮细胞血管活性物质有明显的影晌^[69]。将山楂叶中提取的总黄酮山楂聚烷以 12.5mg/kg、5.0mg/kg、10.0mg/kg 静脉注射对急性实验性心肌缺血犬有降压作用^[70]。山楂叶、花、果实混合制成的剂型,具有降压和利尿的作用^[71]。

3. 提高冠状动脉和心肌的血流量 山楂叶提取物灌注离体兔心可以大大提高冠状动脉血流量可能并非与黄酮化合物有关,而是可能与生物胺有关^[68]。以山楂叶提取物灌注豚鼠,可以拮抗过量钾所致的离体豚鼠心脏血流量减少,并超过高钾中毒前的正常值^[62]。成年狗口服山楂叶提取物,以左心室植入的热电偶测量,经第三次给药后 1h,冠状动脉血流量和心肌血流量可以分别提高到 39%和 28%;第二次给药后 1.5h,冠脉血流量和心肌血流量并未恢复到给药前的水平^[64]。同法注射山楂叶和花中的原花色苷元 12~70mg/kg,成年狗也显示出剂量依赖性增加心肌血流量的作用。在有效剂量 35mg/kg、70mg/kg 条件下,平均心肌血流量增加约 70%。另外,给麻醉猫注射 35mg/kg 山楂叶提取物,也同样显示增加心肌血流量的作用^[72]。山楂叶提取物中黄酮类成分对豚鼠离体心脏收缩频率有一定影响,但当浓度较高时则有减速作用。山楂叶和花的提取物都有正性肌力作用^[73]。

4. 增加心肌耐缺氧能力 家兔每天口服 30mg 山楂叶提取物,6 周后,发现对缺氧心肌细胞具有保护作用^[68]。豚鼠窒息试验及白鼠缺氧试验表明,山楂花与叶的提取物均能显著提高动物的耐缺氧能力和延长动物缺氧状态下的存活时间^[65]。以 150mg/kg 提取物给予实验性心肌梗死的家兔,并于造模前 2 天给药,造模后持续给药 10 天,可以防止家兔心肌梗死面积的增大^[74];一次给药或多次给予山楂叶聚合黄酮,均能抑制垂体后叶素诱发的家兔急性实验性心肌缺血,对实验性犬急性心肌缺

血也有保护作用^[75]。豚鼠颈静脉注射垂体后叶素后,可产生急性心肌缺血,但从颈静脉注入山楂叶提取物,5min 后再注入上述剂量的后叶素,结果山楂叶提取物能显著减少后叶素引起的 T 波增高,降低或恢复后叶素引起的 ST 段上移,增快后叶素引起的心率减慢^[76]。山楂叶提取物可减少家兔血小板聚集并具有改善大鼠实验性心肌缺血的作用^[77];益心酮片对实验性心肌缺血具有保护作用,用山楂提取物预处理对心肌缺血也具有保护作用^[78, 79]。山楂干燥果实、花和叶水提取中的主成分鞣质,可引起显著而持久的豚鼠冠状动脉扩张作用,并可同时增强豚鼠心脏收缩的振幅,还可增加狗冠状动脉的血流量。Nikolov^[8]证明,单子山楂叶中的总黄酮具有扩张冠状动脉血管的作用,还具有改善心脏活力和兴奋中枢神经系统的作用^[64]。研究表明,TFHL 对大鼠心肌缺血性损伤、异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血、麻醉犬冠脉结扎所致心肌缺血均具有保护作用^[80-82],对培养心肌细胞的缺氧再给氧损伤具有保护作用,提示其作用机制与增强细胞抗氧化作用、减少自由基及脂质过氧化物导致的细胞膜损伤和抑制细胞凋亡有关^[83, 84]。叶希韵等研究表明,TFHL 能够抑制氧自由基对 VEC 的伤害,对血管内皮细胞氧化损伤具有保护作用,证明其可治疗 AS 鹌鹑高血脂引起的 AS 病变^[85, 86]。山楂叶汤等可改善冠状动脉粥样硬化性心脏病患者的血脂载脂蛋白和血小板聚集^[87]。山楂叶的主要成分牡荆素-2"-O-鼠李糖苷对缺氧再给氧损伤心肌细胞的保护作用,表明牡荆素-2"-O-鼠李糖苷可明显保护心肌细胞缺氧再给氧性损伤^[88];山楂叶提取物有明显的改善冠状动脉作用,证明山楂属黄酮类化合物具有治疗心肌缺血的作用^[89, 90];山楂、山楂叶及其有效成分牡荆素-2"-O-鼠李糖苷可增加小鼠心肌血流量,具有一定的增加大鼠心肌能量和收缩的作用^[91, 92]。

5. 增加心率等 豚鼠离体心脏灌注 0.1mL 山楂花与山楂叶的提取物,或灌注其二聚原花色苷元均显示有心率加快、加速传导、消除折反及抗心率失常的作用^[93];大鼠口服不同山楂花、叶的制剂和提取物均显示剂量依赖性作用^[74]。

二、山楂叶其他药理作用

山楂叶对蛋黄乳剂快速形成的小鼠高胆固醇血症有非常显著的降低作用,但剂量无显著差别,灌胃给药也能显著降低结扎冠脉大鼠的血清肌酸激酶(CPK)活性和心肌梗死面积^[94]。益心酮口服液能明显降低大鼠测定心肌酶 CPK、LDH、CK-MB 水平,缩小心肌缺血面积;降低高血脂大鼠的血清胆固醇及甘油三酯水平^[93]。最近报道山楂叶提取物具有抗炎、镇痛^[95],以及降低血脂和血压作用^[96, 97];给药山楂叶浸膏具有利尿作用,且山楂叶利尿作用温和、缓慢而持久,利尿时对电解质影响较小,血钾水平无明显变化,山楂叶制剂改善心肌代谢的利尿作用可能与强心作用有关^[98];与山楂叶提取物中类似成分的山楂具有抗补体活性的药理作用^[99];TFHL 对脑缺血^[101, 102]、脑水肿有保护作用,能促进神经细胞生长、改善学习记忆障碍及保护神经细胞^[103],且具有明显的抗氧化^[104, 105]和调脂^[106, 107],能改善由酒精引起的肝组织脂肪样变和炎症坏死^[108],可抑制 α -葡萄糖苷酶并对 II 型糖尿病大鼠具有保护作用^[109, 110]。山楂的茎、叶还对

金黄色葡萄球菌、炭疽杆菌有较强的抑菌作用^[111]。

三、山楂叶制剂的临床应用

心安胶囊(主成分为山楂叶提取物), 每日3次, 每次3粒, 3个月为一个疗程。治疗80例高脂血症(空腹血清总胆固醇 $\geq 250\text{mg/dL}$ 和/或甘油三酯 $\geq 160\text{mg/dL}$), 治疗3个月后显效34例, 总有效率70.0%。治疗冠心病53例, 其中显效7例, 有效者46例; 心电图明显好转16例, 占30.2%^[112]。

山楂酮片(主成分为山楂叶总黄酮), 每日3次, 每次4片(每片含25mg)4周为一个疗程, 治疗心绞痛219例, 结果症状有效率92.2%, 心电图有效率47.1%^[113]。

益心酮(主成分为山楂叶总黄酮), 每次服60mg, 日服3次, 1月为一个疗程, 治疗冠心病心绞痛28例, 结果显效13例, 有效11例, 无效4例, 总有效率85.71%^[114]。研究表明, 山楂叶提取物和益心酮片在临床上均明显改善急性心肌缺血大鼠的血清心肌酶损伤程度, 降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量, 对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血损伤具有显著的保护作用^[115]; 益心酮分散片为预防冠心病、心绞痛、高血脂的新药^[78]。

山楂黄酮片(主成分为山楂叶总黄酮), 每片含山楂总黄酮75mg, 每日3次, 每次4片, 4周为一个疗程。结果33例心律失常患者, 除一例房颤治疗前后心律无明显改变外, 其余32例早搏病例, 治疗前5min早搏次数平均为 (55.66 ± 47.15) 次, 治疗后平均为 (21.50 ± 30.23) 次, 总有效率为62.5%^[116]。

醒脑安心胶囊(由山楂叶等中药组成)具有活血益气、疏经通络、清脑醒脑、散瘀止痛之功效^[117]。

参 考 文 献

- [1] Hegi G. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* Munchen. Lehmann-Verlag, 1908~1931, 725.
- [2] Mabberley D J. *The Plant Book*. Cambridge: Cambridge University Press, 1987. 152.
- [3] 吴征镒. 新华本草纲要. 第三册. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 97.
- [4] 高光跃, 冯毓秀, 秦秀芹. 山楂类果实的化学成分分析及其质量评价. 药学学报, 1995, 30(2): 138-143.
- [5] 黄燮才. 中药山楂原植物的研究. 广西植物, 1989, 9(4): 303-310.
- [6] 高光跃, 冯毓秀. 中药山楂的本草考证. 中国中药杂志, 1994, 19(5): 259-260.
- [7] 李时珍. 本草纲目(校点本). 第三册. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 1773.
- [8] 苏敬, 李励. 新修本草(辑复本). 合肥: 安徽科学技术出版社, 2005: 357.
- [9] 丁杏苞, 姜碉青, 佐春旭, 仲英. 山楂叶化学成分的研究. 中国中药杂志, 1990: 15(5): 39-41.
- [10] 董英杰, 戴宝合, 张乃先, 张明磊. 大果山楂叶黄酮成分研究. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(1): 31-33.
- [11] 斯建勇, 陈迪华. 云南山楂叶化学成分的研究. 中国中药杂志, 1998, 23(7): 422-423.
- [12] 容小翔, 宁在兰. 山楂研究新进展述略. 黑龙江中医药, 1995, (4): 54-56.
- [13] Zhang P C, Xu S X. Flavonoid Kethexosefuranosides from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. *Phytochemistry*, 2001, 57(8): 1249-1253.
- [14] 刘荣华, 余伯阳. 山里红叶化学成分研究. 中药材, 2006, 29(11): 1169-1173.
- [15] 中国人民解放军175医院. 山楂综述. 中草药通讯, 1975, 5(46): 23-24.
- [16] 许洛. 山楂叶总黄酮的提取与分析. 泰山医学院学报, 1988, 9(2): 116-119.
- [17] 黄肖霄, 李殿明, 李玲芝, 郭东东, 任瑞涛, 宋少江. 山楂叶化学成分的分离与鉴定. 沈阳药科大学学报, 2012,