

野漆树苷的生物活性研究进展

刘明浦¹ 廖年生^{2*} 李海荣² 胡贤德² 胡 剑³ 吴 涛³

(1 江西省药品检查员中心, 江西 南昌 330029;

2 江西润泽药业有限公司, 江西 大余 341000; 3 江西赣隆药业有限公司, 江西 赣州 341006)

【摘要】野漆树苷(rhoifolin)又名芹菜素-7-O-β-新橙皮糖苷,是以芹菜素(apigenin)为母核的黄酮苷类化合物,它存在于多种来自芸香科柑橘属的植物或中药材中,还存在于多种药用植物,以及大麦、小麦、大豆等一些可食用植物中。目前已有研究报道野漆树苷具有抗氧化、保肝、抗炎、降血压、壮骨、神经保护、降糖、抗癌和抗病毒等多种生物活性。但相比于其苷元芹菜素,以及其他黄酮类化合物,如柚皮苷(naringin)、橙皮苷(hesperidin)等,野漆树苷的相关研究文献要少得多。使用电子数据库(如PubMed、学术期刊和Springer Link)进行文献检索,对野漆树苷的生物活性进行了综述。

【关键词】野漆树苷; 生物活性; 综述

中图分类号: R96

文献标识码: A

文章编号: 1671-8194 (2023) 36-0062-04

Research Progress on Bioactivity of Rhoifolin

LIU Mingpu¹, LIAO Niansheng^{2*}, LI Hairong², HU Xiande², HU Jian³, WU Tao³

(1 Jiangxi Provincial Drug Inspector Center, Nanchang 330029, China;

2 Jiangxi Runze Pharmaceutical Co., Ltd., Dayu 341000, China; 3 Jiangxi Ganlong Pharmaceutical Co., Ltd., Ganzhou 341006, China)

【Abstract】Rhoifolin also known as Apigenin 7-O-β-neohesperidoside, from some traditional Chinese medicine, has been also found in several herbs and dietary sources, such as wheat, barley and soybean. Preclinical studies have shown that rhoifolin possesses a variety of significant biological activities including antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory, antihypertension, bone strengthening, neuroprotective, antidiabetic, anticancer and antiviral effects. However, compared with its aglycone apigenin and other flavonoids, such as naringin and hesperidin, the relevant research literature of rhoifolin is much less. Literature search was conducted using electronic databases (e.g. PubMed, Academic Journals and Springer Link) about rhoifolin and bioactive properties of rhoifolin were reviewed.

【Key words】Rhoifolin; Bioactivity; Review

野漆树苷(rhoifolin)又名芹菜素-7-O-β-新橙皮糖苷,是以芹菜素(apigenin)为母核的黄酮苷类化合物,它存在于多种来自芸香科柑橘属的植物或中药材中,如枳实^[1]、山香圆^[2]、化橘红^[3]、柚叶^[4]。还存在于络石藤^[5]、胡椒叶^[6]、凤尾草^[7]、兔尾草^[8]、裸花紫珠^[9]等多种药用植物,在牡丹花中含量较高,多达33.87 mg/g^[10]。此外,也存在于大麦、小麦、大豆等一些可食用植物中^[11]。野漆树苷(rhoifolin)结构见图1。本文就野漆树苷的生物活性研究进行综述。

1 野漆树苷生物活性作用概述

目前已有研究报道野漆树苷具有抗氧化、保肝、抗炎、降血压、壮骨、神经保护、降糖、抗癌和抗病毒等多种生物活性。虽然从PubMed近年来发表的全文中提到野漆树苷文献数量(图2)来看,有增加趋势,但相比于其苷元芹菜素,以及其他黄酮类化合物,如柚皮苷(naringin)、橙皮苷(hesperidin)等,野漆树苷的相关研究文献要少得多。

2 野漆树苷生物活性作用

2.1 抗氧化作用 Deng等^[12]研究了从沙田柚果肉中分离的黄酮类化合物的抗氧化能力,柚皮苷和野漆树苷显示出最高氧化自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)。He等^[13]从粗壮女贞

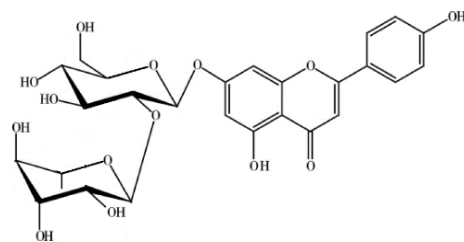


图1 野漆树苷(rhoifolin)结构

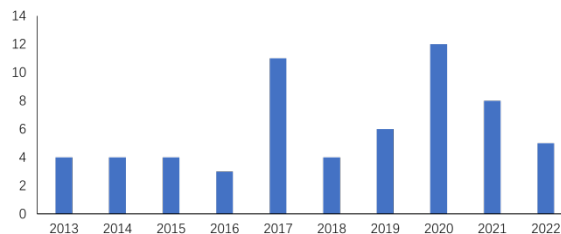


图2 近10年PubMed收录全文中含野漆树苷文献

*通信作者: 廖年生, E-mail: liaoniansheng@139.com

(*ligustrum robustum*) 叶中提取得到包括野漆树苷在内的13种天然产物, 并对其抗氧化活性进行研究, 其中野漆树苷的抗氧化活性强于对照物水溶性维生素E (trolox)。

2.2 保肝作用 野漆树苷对雷公藤甲素诱导的肝损伤具有很好的保护作用, 高书亮等^[14]采用DMEM培养基培养人系L02肝细胞, 加入40 $\mu\text{g/mL}$ 雷公藤甲素孵育, 制备肝细胞损伤模型, MTT法测定各组细胞存活率, 野漆树苷300、150、75 $\mu\text{g/mL}$ 剂量组均能显著提高雷公藤甲素损伤的人系L02肝细胞存活率。0.625 mg/kg剂量的雷公藤甲素灌胃1次, 制备小鼠急性肝损伤模型, 提前给予野漆树苷140、70、35 mg/kg剂量组均能显著降低雷公藤甲素所致急性肝损伤小鼠血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (AST) 活性, 降低肝脏丙二醛 (MDA) 含量, 增强超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和谷胱甘肽S转移酶 (GST) 活力, 并能明显改善肝组织的病理学损伤。另有研究表明, 用 CCl_4 处理的大鼠提前服用野漆树苷, 降低了已经增强的血清肝酶水平, AST、ALT、总胆红素 (TB)、碱性磷酸酶 (ALP) 和血清总蛋白分别降低60%、59%、51%、39%和43%, 表明野漆树苷具有良好的抗肝毒性活性; 口服20 mg/kg的野漆树苷后, CCl_4 中毒小鼠氧化应激的一个指标体内脂质过氧化产物的升高水平明显降低, 其效果与水飞蓟素相当^[15]。

2.3 抗炎作用 宋小欣等^[16]研究了野漆树苷对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠单核巨噬细胞RAW264.7细胞炎症模型释放炎症因子的影响, 与空白对照组相比, 在LPS诱导下, RAW264.7细胞分泌致炎因子NO、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素6 (IL-6) ($P<0.01$); 与模型组相比, 25~100 $\mu\text{mol/L}$ 的野漆树苷可明显下调LPS诱导的RAW264.7细胞释放炎症因子NO、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈现良好的剂量依赖关系; 野漆树苷还不同程度地抑制Erk和JNK激酶的磷酸化。Fang等^[17]用脂多糖诱导小鼠急性炎症模型, 观察野漆树苷对肺和肝脏病理损伤的影响。采用角叉菜胶致大鼠足肿胀模型, 观察野漆树苷对足肿胀体积的影响。野漆树苷能促进急性炎症小鼠肝、肺组织损伤的恢复, 抑制角叉菜胶所致大鼠足肿胀; 显著抑制大鼠和小鼠模型血清中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的分泌。在LPS诱导的RAW264.7细胞中, 100 $\mu\text{mol/L}$ 野漆树苷显著提高细胞活力, 并抑制TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的产生。还能降低iNOS和CCL2的mRNA表达, 抑制I κ B α 和IKK β 的磷酸化。对炎症有潜在的治疗价值。骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种常见的与年龄

有关的关节疾病。它的发展通常被认为与炎症和自噬有关。Yan等^[18]研究了野漆树苷对大鼠骨关节炎的治疗效果以及潜在机制。野漆树苷可以显著减轻IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞炎症反应、软骨降解和自噬下调。P38/JNK和PI3K/AKT/mTOR信号通路参与了野漆树苷的保护作用。在体内, 关节内注射野漆树苷可显著改善大鼠OA模型的软骨损伤, 表明野漆树苷在OA治疗中的潜在作用。类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种涉及疼痛和炎症的膝关节自身免疫性疾病。Peng等^[19]采用完全弗氏佐剂 (CFA) 诱导的大鼠关节炎模型研究野漆树苷相关作用。野漆树苷 (10、20 mg/kg) 治疗大鼠整体健康指数 (如足肿胀和体质量减轻) 有显著改善。形态学参数的改善证实了组织病理学分析中观察到的大体形态学变化。从关节软骨组织中细胞内谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶、MDA和SOD水平的变化可以明显看出, 野漆树苷治疗也能显著降低氧化应激。促炎细胞因子、TNF- α 、IL-1 β 和IL-6显示出基因表达和细胞内蛋白质浓度水平的显著下调。核因子- κ B (NF- κ B) 通路表现出显著的减弱, 这在NF- κ B p65和p-I κ B- α 水平的显著降低中很明显。这些结果表明, 野漆树苷可以作为现有治疗方案, 包括非甾体抗炎药和免疫抑制剂的天然产物替代疗法。野漆树苷的抗氧化和抗炎作用可能是通过NF- κ B途径介导的。野漆树苷对角叉菜胶诱导的大鼠足肿胀具有时间和剂量依赖性的逆转作用^[20], 治疗4 h后, 与对照组 (74%) 相比, 剂量为2.5、25和250 mg/kg的野漆树苷对大鼠足肿胀体积的显著抑制分别为14%、25%和45%。除了显著降低前列腺素 E_2 水平外, 增加野漆树苷的剂量还显著减少炎症渗出液中TNF- α 的释放; 在同一动物模型中, 野漆树苷以相反的剂量顺序增加总抗氧化能力, 在最低的试验剂量时具有最强的抗氧化能力。

2.4 降血压作用 以麻醉犬为实验动物, 比较了木犀草素、芹菜素和野漆树苷与硝苯地平对由缺氧和前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) 体内产生的两种实验性肺动脉高血压模型中对肺血管回路的急性影响, 野漆树苷按5 mg/kg静脉注射对缺氧性肺血管收缩没有影响, 但降低了心排血量和主动脉压; PGF $_{2\alpha}$ 诱导的肺动脉高压对黄酮类化合物和硝苯地平的反应与缺氧诱导的肺动脉高压几乎相同^[21]。在一项关于野漆树苷和牡荆素对麻醉犬血流动力学影响的对比研究中, 野漆树苷可以使平均主动脉压、动脉和肺毛细血管压及心率降低^[22]。

2.5 壮骨作用 人工关节置换术后假体松动是一个非常棘手的临床问题。磨损颗粒诱导的破骨细胞生成已被证明是假体周围骨溶解的主要原因, 最终导致假体

无菌性松动。因此,抑制破骨细胞的生成是控制假体周围骨溶解的一个有前途的策略。Liao等^[23]研究探讨了野漆树苷对破骨细胞生成和钛颗粒诱导的颅骨骨溶解作用的可能机制,野漆树苷可以改善破骨细胞引起的骨溶解,可能是治疗假体松动的潜在药物。体外研究表明,野漆树苷可显著抑制NF- κ B受体激活剂配体刺激的破骨细胞生成、羟基磷灰石再吸收、F-肌动蛋白形成以及破骨细胞相关基因的表达。Western-blot分析表明,野漆树苷可以减弱NF- κ B和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径,以及转录因子活化T细胞核因子c1(NFATc1)和c-Fos的表达。进一步的研究表明,野漆树苷抑制p65向细胞核的移位和NFATc1与NF- κ B的活性,减少抗酒石酸磷酸阳性破骨细胞的数量和钛颗粒诱导的C57小鼠在体颅骨丢失。

2.6 神经保护作用 Brinza等^[24]研究了野漆树苷对东莨菪碱诱导的斑马鱼焦虑、健忘症和脑氧化应激的改善作用,并阐明相关的潜在机制。用野漆树苷(1、3、5 μ g/L)处理斑马鱼,连续9 d,然后加入100 μ mol/L东莨菪碱中30 min,随之进行行为学试验,包括新鱼缸潜水试验(novel tank diving test)、Y迷宫试验和新物体识别试验(novel object recognition test),还评估了体内抗氧化状态和乙酰胆碱酯酶(AChE)活性。在东莨菪碱斑马鱼模型中,野漆树苷可以缓解焦虑、记忆障碍和大脑氧化应激,还可以通过抑制AChE活性来调节胆碱能功能。野漆树苷通过恢复胆碱能活性和改善大脑氧化应激,有望成为抗焦虑和健忘症的候选化合物。

2.7 降糖作用 Rao等^[25]从柚子叶中分离到野漆树苷和大波斯菊苷(cosmosiin, COS),并确定柚子叶是野漆树苷的丰富来源(1.1%, w/w)。在用于对糖尿病有益的生物学研究中,在分化的3T3-L1脂肪细胞中,野漆树苷和COS分别在0.001~5 μ mol/L和1~20 μ mol/L浓度范围内呈剂量依赖性反应。尤其是野漆树苷和COS分别为0.5 μ mol/L和20 μ mol/L,对脂联素分泌水平显示出与10 nmol/L胰岛素相近的作用。此外,5 μ mol/L的野漆树苷和20 μ mol/L的COS与10 nmol/L胰岛素相等的作用,对葡萄糖蛋白4(GLUT4)易位有积极作用外,还可以增强胰岛素受体 β 的磷酸化。野漆树苷和COS可能通过增强脂联素分泌、胰岛素受体 β 的酪氨酸磷酸化和GLUT4易位而有益于糖尿病并发症。有学者综述了柑橘黄酮类化合物在糖尿病方面研究,认为包括野漆树苷在内的19个来自柑橘的黄酮类化合物有抗糖尿病潜力^[26]。

2.8 抗肿瘤作用 ezrin是一种重要的膜细胞骨架连接蛋白,通过组织膜蛋白并协调其信号转导,ezrin有助于调节细胞运动中的细胞骨架重排。野漆树苷对乳

腺癌细胞具有抗运动特性,其在上皮间质细胞转化(EMT)过程中可能下调podocalyxin-ezrin相互作用^[9],10 μ mol/L和40 μ mol/L野漆树苷处理可显著抑制乳腺癌细胞的迁移,并改变肌动蛋白细胞骨架的位置和组织。野漆树苷显著抑制ezrin磷酸化以及随后与PODXL的相互作用,对TGF- β_1 诱导的MDA-MB-231细胞EMT也有明显的抑制作用。RNA干扰试验的数据证实,缺失ezrin可增强野漆树苷对ezrin的抑制作用。以绿原酸等有机酸和野漆树苷为主要成分的苦艾提取物对人结直肠癌上皮细胞(DLD-1)、人子宫内膜腺癌细胞(ECC-1)有细胞毒性^[27],提示野漆树苷具有潜在抗癌作用。用人表皮样喉癌(Hep 2)和人宫颈癌(HeLa)细胞系进行评估时,野漆树苷显示出很好的抗癌活性,几乎与长春花碱相似;针对肝细胞癌(Hep G2)、结肠癌(HCT-116)和人胚肺成纤维细胞癌(MRC-5)细胞系有相当的活性,野漆树苷是对健康正常细胞(Vero细胞)没有细胞毒性活性,这表明该化合物具有很高的选择性^[28]。

2.9 抗病毒作用 全世界都被流感病毒所困扰,从药用植物和(或)草药中分离的粗提物或纯化合物对流感病毒有良好的抑制作用。包括野漆树苷在内93种候选抗病毒天然产物是潜在的抗流感病毒候选药物,而且这些化合物对流感副流感病毒、呼吸道合胞病毒也有很好的抑制作用。利用分子对接方法来评估活性天然产物抑制流感病毒的主要蛋白酶和刺突糖蛋白活性,提示流感病毒治疗中,与奈非那韦(nelfinavir)、氯喹和羟基氯喹硫酸酯相比,研究中所筛选的包括野漆树苷等几种天然化合物有更好的结合自由能,根据量子化学DFT计算,所选化合物的化学反应性为柳穿鱼苷(pectolinarin) > 橙皮苷 > 野漆树苷 > 桑色素(morin) > 表没食子儿茶素没食子酸酯。系统筛选对流感病毒复制周期中的关键酶有抑制活性化合物,草棉黄素(herbacetin)、野漆树苷和柳穿鱼苷能有效阻断该类酶活性,诱导契合对接(induced fit docking)分析表明S1、S2和S30位点与黄酮类化合物结合。Meta分析野漆树苷是一个很有潜力的抗流感病毒候选物^[11]。有专利公开了一种包含川芎嗪、野漆树苷和金丝桃素三种物质的组合物,作为一种神经氨酸酶抑制剂用于预防和治疗流感。

3 讨 论

如前文所述,相比其苷元芹菜素,目前野漆树苷的相关研究文献要少得多,其在大鼠体内主要生成脱新橙皮糖基的苷元芹菜素,而一部分芹菜素又在微粒体酶催化下生成柚皮素^[29]。由此推断,野漆树苷应该具有芹菜素和柚皮素所具有其他一些药理活性,由于野漆树苷具有较好的多方面的药理活性,可以预见,

未来对其的研究将会越来越多,在未来研究中可关注并就和芹菜素或柚皮素似的药理作用方面,对野漆树苷进行研究。

鉴于黄酮类化合物在骨方面的应用,其在骨缺损修复方面的研究值得进一步研究与关注。鉴于天然产物中黄酮类化合物共生存在,与野漆树苷共生黄酮之间的相互作用方面也需要深入地研究。

药理活性的研究是基于广泛的大量得到该化合物的基础之上,目前有关野漆树苷的分离纯化还是保留在传统的天然产物化学的实验室内分离阶段,对该化合物的分离方法同样值得研究关注。

参考文献

- [1] 贾富霞,王秀娟,罗容.酸橙枳实HPLC指纹图谱方法研究及6种黄酮类药效组分的含量测定[J].中华中医药学刊,2016,34(12):2917-2920.
- [2] 刘地发,李志勇,程帆,等.不同产地山香圆叶药材的质量评价[J].时珍国医国药,2012,23(2):476-478.
- [3] 彭维,吴万征,邹威,等.原创中药红珠胶囊基于RRLC-ESI-MS/MS技术的化学成分分析[J].中山大学学报(自然科学版),2014,53(4):119-122.
- [4] 黄友秋,赵雪荔,陈席,等.HPLC-DAD法测定通贤柚叶中两种活性黄酮的含量[J].食品工业科技,2015,36(7):286-289.
- [5] 孔铭,张健,姚楠,等.HPLC同时测定络石藤中5个化学成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):93-96.
- [6] 张水平,谷凤林,贺书珍,等.胡椒叶抗氧化能力分析及其活性成分分离鉴定[J].现代食品科技,2015,31(2):63-69.
- [7] 刘建群,刘健,蒋伟,等.HPLC法同时测定不同产地凤尾草中的3种活性成分[J].中成药,2015,37(7):1518-1521.
- [8] 杨小良,思秀玲,曲磊,等.兔尾草化学成分的研究[J].中成药,2011,33(2):343-345.
- [9] Xiong L, Lu H, Hu Y, et al. In vitro anti-motile effects of rhoifolin, a flavonoid extracted from *Callicarpa nudiflora* on breast cancer cells via downregulating Podocalyxin-Ezrin interaction during epithelial mesenchymal transition[J]. Phytomedicine, 2021, 93:153486.
- [10] 闫慧娇,王志伟,赵恒强,等.菏泽牡丹花HPLC特征图谱研究及8种成分的测定[J].中草药,2017,48(9):1866-1871.
- [11] Sawikowska A. Meta-analysis of flavonoids with antiviral potential against coronavirus[J]. Biometrical Letters, 2020, 57(1):13-22.
- [12] Deng M, Jia X, Dong L, et al. Structural elucidation of flavonoids from *Shatianyu* (*Citrus grandis* L. Osbeck) pulp and screening of key antioxidant components[J]. Food Chem, 2022, 366:130605.
- [13] He ZD, Lau KM, But PPH, et al. Antioxidative glycosides from the leaves of *ligustrum robustum*[J]. J Nat Prod, 2003, 66(6): 851-854.
- [14] 高书亮,卢元元,安利娟,等.野漆树苷对雷公藤甲素诱导肝损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2012,28(6):18-20.
- [15] Gutierrez RMP, Anaya SI, Vadillo CH, et al. Effect of flavonoids from *Prosthechea michuacana* on carbon tetrachloride induced acute hepatotoxicity in mice[J]. Pharm Biol, 2011, 49(11): 1121-1127.
- [16] 宋小欣,韩凌,李宇邦,等.野漆树苷对LPS诱导的RAW264.7细胞的抗炎作用及机制探究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2018,46(2):84-88.
- [17] Fang J, Cao Z, Song X, et al. Rhoifolin alleviates inflammation of acute inflammation animal models and LPS-induced RAW264.7 Cells via IKK β /NF- κ B signaling pathway[J]. Inflammation, 2020, 43(6):2191-2201.
- [18] Yan J, Ni B, Sheng G, et al. Rhoifolin ameliorates osteoarthritis via regulating autophagy[J]. Front Pharmacol, 2021(12):661072.
- [19] Peng S, Hu C, Liu X, et al. Rhoifolin regulates oxidative stress and proinflammatory cytokine levels in Freund's adjuvant-induced rheumatoid arthritis via inhibition of NF- κ B[J]. Braz J Med Biol Res, 2020, 53(6):e9489.
- [20] Eldahshan OA, Azab SS. Anti-inflammatory effect of apigenin-7-neohesperidoside (Rhoifolin) in carrageenin-induced rat oedema model[J]. J Appl Pharm Sci, 2012, 2(8):74-79.
- [21] Occhiuto F, Limardi F. Comparative effects of the flavonoids luteolin, apigenin and rhoifolin on experimental pulmonary hypertension in the dog[J]. Phytother Res, 1994, 8(3):153-156.
- [22] Occhiuto F, Circosta C, De Pasquale A, et al. Comparative haemodynamic effects of the flavonoids rhoifolin and vitexin in the dog[J]. Phytother Res, 1990, 4(3):118-120.
- [23] Liao S, Song F, Feng W, et al. Rhoifolin ameliorates titanium particle-stimulated osteolysis and attenuates osteoclastogenesis via RANKL-induced NF- κ B and MAPK pathways[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10):17600-17611.
- [24] Brinza I, Abd-Alkhalek AM, El-Raey MA, et al. Ameliorative effects of rhoifolin in scopolamine-induced amnesic zebrafish (*Danio rerio*) model[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(7):580.
- [25] Rao YK, Lee MJ, Chen K, et al. Insulin-Mimetic Action of Rhoifolin and Cosmosiin Isolated from *Citrus grandis* (L.) Osbeck Leaves: Enhanced Adiponectin Secretion and Insulin Receptor Phosphorylation in 3T3-L1 Cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 2011:624375.
- [26] Gandhi GR, Vasconcelos ABS, Wu DT, et al. Citrus flavonoids as promising phytochemicals targeting diabetes and related complications: a systematic review of in vitro and in vivo studies[J]. Nutrients, 2020, 12(10):2907.
- [27] Koyuncu I. Evaluation of anticancer, antioxidant activity and phenolic compounds of *Artemisia absinthium* L. Extract[J]. Cell Mol Biol, 2018, 64(3):25-34.
- [28] Eldahshan OA. Rhoifolin; a potent antiproliferative effect on cancer cell lines[J]. Br J Pharm Res, 2013, 3(1):46-53.
- [29] 刘敬,王清,辛贵忠,等.UPLC-Triple TOF-MS方法鉴定野漆树苷在大鼠体内的代谢物[J].中国野生植物资源,2015,34(5): 23-27.