

槟榔的化学及药理研究概况

张渝渝 杨大坚 张毅

(重庆市中药研究院 重庆 400065)

摘要: 槟榔为我国四大南药(槟榔、益智、砂仁、巴戟)之首,含有多种活性成分,具有驱虫、提神、兴奋 M3 胆碱受体等作用,增加膀胱逼尿肌肌条的张力和收缩波平均振幅,还具有延缓动脉粥样硬化、抗菌抗病毒、抗老化、降低胆固醇、抗氧化、抗突变、抗抑郁、除口臭等功效。它的应用非常广泛,是许多中药复方的组成成分,但同时槟榔又被国际癌症研究中心认定为一级致癌物^[1],有调查表明台湾 80% 的口腔癌患者都有咀嚼槟榔的习惯,所以对槟榔内的有效成分的提取和分离以及如何减小其毒副作用的研究具有重大的意义。本文对相关研究进行了综述。

关键词: 槟榔 综述

1 槟榔的简介

槟榔为棕榈科植物槟榔的干燥成熟种子,原产马来西亚,在我国福建、台湾、海南等有栽培,又名宾门、橄榄子、大肚子、青仔等。槟榔是海南省热带作物中仅次于橡胶的第二大经济作物,也是海南省第二大支柱产业,更是世界三大口腔嗜好之一(香烟、口香糖、槟榔)。它味苦、性辛、温,归胃、大肠经,具有杀虫消积、降气、行水、截疟的功效,入药历史悠久,疗效确切,是中医常用的驱虫、消积药物。槟榔全身是宝,其药用部位主要有槟榔果实、槟榔种子、槟榔花等;其药效成分主要为槟榔碱、槟榔次碱、槟榔油、多酚物质、芸苔素内酯、对羟基苯甲酸酯类等;临床应用主要有治疗绦虫病、治疗姜片虫病、治疗鞭虫(钩虫、蛔虫)病、治疗青光眼等^[2]。

2 近年来有关研究槟榔碱的提取分离及含量测定的方法及其优缺点

由于近年来对槟榔的应用逐渐增加,国内外有关槟榔中功能成分的研究也较多,通过对大量文献资料的研读,总结出来槟榔中有效成分的提取方法大致为:采用乙醇、氯仿等溶剂

回流提取槟榔总碱,也可采用超声波提取法、水提取法、索氏提取法、酶法和超临界萃取法进行提取,研究结果表明:槟榔中槟榔碱最佳提取工艺参数为温度 31℃ 下,摇床振摇 7h、浸提 24 h、在最佳工艺参数条件下鲜槟榔的功能性成分提取可达到 0.174%,同时,确定槟榔核中槟榔碱含量最高以及 50℃ 的回收温度较为理想。常用的分离纯化技术为滴加氢溴酸、溶剂萃取、树脂法和膜分离技术等,膜分离技术因其无相变、能耗低、工艺简单、易于连续化和不污染环境等优点,发展前景极为广阔。在槟榔活性物质的提取与分离过程中,需注意保护其生理活性物质,防止它们因降解、变性和氧化等因素而失去生理功能。至于其含量测定的方法就更多了,主要有酸碱滴定法、非水滴定法、安培滴定法、电位滴定法、极谱法、比色法、酸性离子比色法、薄层扫描法、高效液相色谱法以及毛细管电泳法,液相色谱法主要是阳离子交换色谱、反相高效液相色谱法、离子对液相色谱法。这些年对槟榔的研究主要集中在槟榔碱等方面,最常用的方法为高效液相色谱法,通过对大量文献资料的对比,笔者发现,采用此法研究槟榔碱的成分及含量有方法简

便、快速、灵敏、可靠、重现性好、准确率高等特点。但同时采用此法时流动相和提取液多为乙腈,是有毒试剂,如果我们改变流动相的条件,例如改用无水乙醇为提取液、0.02mol/L 乙酸铵 + 甲醇 = 50 + 50 为流动相测定槟榔中对羟基苯甲酸酯类,既能保护环境又能减少对人体的伤害,还不影响实验效果。在 HPLC 的应用中反相高效液相色谱法应用最多,但考虑到反向柱应用 pH 值范围多在 2~8,且槟榔碱为小分子量碱,在色谱柱上的保留比较弱,流动相 pH 值对试验影响较大(流动相 pH 值较低时,出峰极早;高 pH 值流动相对色谱柱的损害较大),所以选择对生物碱的分离有专属性的阳离子型交换色谱柱分离会比较好,但阳离子交换色谱法虽然操作简便,具有良好的专属性和准确度,可有效控制产品质量,但由于槟榔碱在 215 nm 处有紫外最大吸收值,属于末端吸收,在紫外检测下最低只能定量检测到 500ng,不适合用来测定药理学试验或药物残留试验中微量槟榔碱的含量。目前,槟榔中槟榔碱含量的测定,通常采用滴定法测定槟榔中总生物碱的含量来代替,但是这种方法不能准确测定槟榔碱的含量,而薄层扫描法、毛细管电泳法对仪器的要求较高或操作繁琐^[3-8]。高敏等人就采用柱色谱法从槟榔中提取分离槟榔碱,使槟榔碱与其他生物碱很好地分离,继而采用溴甲酚绿光度法测定槟榔碱的含量,方法操作简便,对仪器要求不高,精密度良好,准确度较高^[9]。研究者们最新采用水蒸汽蒸馏——电位滴定法对含槟榔成药中槟榔碱含量测定方法作了探讨,由实验结果表明:此法测定成药中的槟榔碱时其他药材不干扰槟榔碱的测定,结果稳定,回收率较好^[10]。所以在对槟榔的研究过程中要对各方面进行综合取舍以及通过实验研究找到更合适的分离、含量测定方法具有非常重要的意义与实用价值。

3 近年来有关槟榔多酚及槟榔油的研究进展

大量实验研究表明槟榔中主要有四种生物碱,分别是槟榔碱、槟榔次碱、去甲基槟榔碱、去甲基槟榔次碱;后来研究人员又发现了异去甲基槟榔次碱、高槟榔碱。其他有效成分还有槟榔多酚,总黄酮、槟榔油等^[11]。目前对酚类物质的研究比较少,从槟榔中检测出了缩合单宁、水解单宁、非单宁黄烷和简单多酚物质,测定多酚的常用方法有高锰酸钾滴定法、香草醛法、Folin—酚法(包括 Folin—Denis 法和 Folin—Ciocalteus 法)和铁氰化钾分光光度法(PB 法)等,其中高锰酸钾滴定法,滴定终点较难观察,测定灵敏度较低。香草醛法和铁氰化钾分光光度法对测定条件要求严格,稳定性较差,干扰因素较多,易出现沉淀。Folin—酚法灵敏度较高,简便易行。国内常用 Folin—Denis 法测定植物及其加工品中的多酚含量,有研究者采用 Folin—Ciocalteus 法对榔鲜果、榔烟果和榔籽中的多酚类化合物进行了定量测定,Folin—Ciocalteus 法是 Folin—Denis 法的改进方法,它是在 Folin—Denis 法显色剂中加入锂盐,克服了 Folin—Denis 法显色剂的不稳定性,较之更为灵敏。采用 Folin—Ciocalteus 法测定榔在加工过程中酚的变化简便易行,显色灵敏、范围宽且稳定,具有很好的精密度和准确度,很适合榔中多酚的测定^[12]。最近为了研究榔中的抗氧化活性物质,韩林以海南品种的榔为研究对象,以体外抗氧化试验为活性评价手段,采用不同提取方法,结合高效液相色谱分析和核磁共振波谱分析,研究了榔果中抗氧化活性物质的分离、活性及结构,比较了榔不同部位中的抗氧化物质含量及其活性。试验以乙醇作为提取溶剂,对榔不同部位(榔花、榔壳、榔籽)进行加热回流提取,测定其中的总酚和总黄酮含量,同时比较不同部位提取物之间的抗氧化活性。结果表明,榔籽乙醇提取物的得率、总酚含量和总黄酮含量都显著高于榔花和榔壳的提取物,同时榔籽乙醇提取物对 DPPH 自

由基的清除能力、羟自由基清除能力及还原力均比槟榔花和槟榔壳乙醇提取物要强^[13]。对槟榔油的研究主要是在它的提取技术方面,研究者用不同的溶剂对槟榔种子中的脂肪酸进行提取,经过反复实验确定了乙酸乙酯为较好的提取溶剂,并考察了提取温度、提取时间和料液比 3 个因素对提取槟榔种子油的影响,得出提取温度 60℃,提取时间 4h,料液比 1:10 为最佳提取条件,且槟榔油的得率为 95.01%^[14-16],还有就是采用超临界 CO₂ 萃取法提取槟榔籽油,对其工艺条件进行优化,并用气相色谱-质谱法(GC-MS)对槟榔籽油所含的脂肪酸种类及含量进行测定。但是得率没有之前的溶剂提取法高,只有 17.81%。槟榔籽中所含的主要脂肪酸是亚油酸、油酸、棕榈酸和硬脂酸,其中亚油酸是人体不能合成的必需脂肪酸,所以槟榔籽具有很大的潜在价值^[17]。但目前槟榔加工一般是以槟榔壳为原料,而将槟榔籽作为废物抛弃,既污染环境,又浪费资源,失去了它的附加价值。我国热带地区的槟榔种质资源丰富,如果利用槟榔籽提取脂肪酸,原料廉价,利用率高,具有巨大的商业潜力^[18]。国内外已有很多关于超临界 CO₂ 萃取技术的应用报告,但利用超临界 CO₂ 萃取槟榔籽油的却很少。因此以食品企业加工后废料中的槟榔籽为原料,利用超临界 CO₂ 萃取技术提取其中的油脂,通过实验确定超临界 CO₂ 萃取的最佳工艺参数,这个方向的研究对促进槟榔的综合开发利用,加快槟榔加工产业链的延伸,提高企业的经济效益,具有重要的意义。

4 近年来对槟榔花研究现状的概括

近十年来对槟榔花的研究也不是很多,仅有的文献表明,槟榔花有效成分的提取方法有三种:①100℃沸水浴提取 3 次,每次 30 min;②超纯水常温提取 3 次,每次 6 h;③95%的乙醇常温提取 3 次,每次 6 h。每种方法的提取液过滤后分别合并滤液,15 000 r/min 离心 30min,旋转蒸发,定容,获得采用该方法的提取

物,冷藏备用^[19]。其有效成分为芸苔素内酯和单宁酸。槟榔花是槟榔的雄花蕾,花粉味淡、性凉、开花多、花期长,可增加机体 SOD 酶的活性、调节免疫系统、抗炎降脂、止咳祛痰、驱虫健胃、利尿除积、消除疲劳和防止衰老,对人体新陈代谢、生长发育有着重要的营养和调节作用,具有独特的食疗、保健功效,素以“微型营养品”、“长寿食品”美誉^[20-22]。笔者认为,槟榔花的潜在价值不比槟榔籽小,如果我们充分的利用槟榔花,不仅能提高人们的生活质量,还增加了槟榔的附加价值,这将是一笔巨大的财富。

5 与槟榔有关的毒性的研究

根据欧美、印度等国家和地区的学者认为:槟榔可以使 DNA 分子单链断裂,姐妹染色单体交换频率增高,基因突变,具有致癌作用。国内对槟榔的有关毒性研究也比较多,研究者采用不同的实验方法,例如:从应用短期的体外、体内致突变试验检测槟榔的遗传效应;胡怡秀等采用交配试验观察槟榔提取液对雄性小鼠生育力造成的影响;以及对神经系统;口腔细胞毒性等方面对食用槟榔进行了研究。结果表明,槟榔对口腔粘膜细胞、人类部上皮细胞、免疫细胞、生殖功能均造成损害^[23]。台湾专家发现槟榔所含成分不但会致癌,促癌,嚼食槟榔还会使机体整个免疫体系功能低下,增加致癌机会,也会使支气管收缩,加重哮喘。很多文献指出槟榔中的生物碱是槟榔具有毒性的主要原因,实验也证明了槟榔碱可导致小鼠骨髓细胞和中国仓鼠肺细胞(CHO)染色体畸变,增加姐妹染色单体交换频率,使小鼠生殖细胞形态异常,DNA 合成紊乱等,导致 DNA 分子结构异常是由于槟榔碱具有烷化、羟化作用造成的,使正常细胞转化为癌前细胞潜伏下来,且潜伏期不定^[24]。目前对槟榔生物碱的毒副作用研究最多是其对细胞的影响,而这主要又集中在口腔细胞,槟榔也因此被科研工作者认为是引发口腔癌的主要病源因子,所致口腔

癌的发病机制可能就是通过它的基因毒性或细胞毒性致使口腔癌中的相关细胞的重要因子的表达发生改变。实验研究还表明槟榔碱虽然可以缓和血管紧张,但是高剂量时则抑制内皮细胞生长, Lee 等人研究指出:延长接触槟榔碱的时间会抑制人类上皮细胞生长,使细胞循环反常。冯云枝等人对人类口腔黏膜成纤维细胞进行分离培养,然后用四唑盐比色试验法检测口腔黏膜下纤维性变患者和正常人口腔黏膜成纤维细胞增殖状况,并且观察槟榔提取物对纤维细胞增殖的影响。结果显示槟榔提取物对口腔黏膜成纤维细胞有细胞毒作用,会导致口腔黏膜下纤维化,并随时可能会转化为癌症^[25-26]。最新的研究还探讨了槟榔碱在口腔黏膜下纤维性变发病过程中的作用机制,得出当槟榔碱浓度大于 25 μg/ml 时,明显抑制口腔黏膜成纤维细胞 αPARAP 的表达,将导致成纤维细胞胶原吞噬能力下降,可能是 OSF 发生、发展的机制之一^[27]。研究者以小鼠为实验对象,其因槟榔碱和氢溴酸槟榔碱中毒的主要病理变化表现在胃肠道,死亡动物均胃肠道充血、出血,肝脏、脾脏变色,体积增大,肺脏出血,最终因呼吸麻痹死亡,实验动物死亡时间主要集中在给药后 2—5h 内^[28]。同时还证实了槟榔能通过睾丸屏障影响小鼠的精子发育过程,对小鼠的生殖细胞有一定的遗传毒性。就在 2010 年,任军方利用 ISSR 标记对海南保亭槟榔遗传多样性的研究,摸索出了有效的槟榔基因组 DNA 提取方法,采用改良的 CTAB 法进行槟榔叶片基因组 DNA 的提取,此方法提取的 DNA 质量好,纯度高,完全能满足槟榔 ISSR-PCR 扩增的要求,并建立了槟榔 ISSR 反应体系^[29]。这些年来,嚼槟榔人数在不断增加,范围不断扩大。口腔癌症患者趋于低龄化,随着时间推移,其癌变率将会逐渐增加。为了对槟榔碱的毒性作用进行深入研究及对长期嚼槟榔的危险度进行评价,研究者们用 RP-HPLC 法对肝组织中的槟榔碱含量做了初步研

究,因此非常有必要对槟榔毒理进行更深入的研究。加强人们对咀嚼槟榔危害性认识,避免受到毒害。同时研究改变槟榔加工生产工艺,或添加治疗咀嚼槟榔相关病变的生物制剂来减少或终止口腔癌发生。至于槟榔所含的成分中还有哪些能对人体产生毒害,具体产生什么样的伤害,还有待于进一步的研究。

6 存在的问题与展望

通过研读这些文献资料,笔者发现目前国内学者特别是台湾学者对槟榔的研究主要集中在其毒性、致口腔癌及对生殖功能影响等一些负面作用上,而对槟榔及其提取物正面效应的系统研究比较少。特别是对槟榔多酚的研究与功能评价更少,国内外学者对槟榔所做的研究基本都是集中在槟榔提取液、槟榔碱及其与人体健康的关系,国内外对槟榔碱的研究主要集中于驱虫、杀菌、抗血栓形成、抗动脉粥样硬化、口腔和神经系统等方面,而在槟榔碱对血管张力影响方面的报道则较少。因此,加强槟榔碱对血管张力影响的研究则具有重要的理论和现实意义,同时也为开发与槟榔碱和槟榔等相关产品方面提供新的线索。槟榔多酚的生物活性还没有被充分地挖掘出来,尤其是一些对人体有益的作用机制的相关报道非常少,关于槟榔多酚与人体健康的关系还有待于进一步研究。此外,国内外目前对槟榔的研究也存在一些自相矛盾的地方,如:有文献指出槟榔碱可以使人的血糖降低,槟榔中的一些元素也对糖尿病起着调节作用,最新研究表明:采用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立 INS-1 胰岛细胞损伤模型,通过观察槟榔碱对 INS-1 细胞增殖活性,胰岛素的释放以及对 STZ 损伤 INS-1 细胞的保护和修复作用,并初步探讨槟榔碱促进胰岛素释放的可能机制为通过提高细胞的总抗氧化能力,降低脂质过氧化产物的生成,部分通过 L-型钙离子通道和胆碱能 M 受体介导,以及抑制细胞凋亡实现的,为槟榔碱治疗糖尿病提供可靠的理论依据。试

验结果也证明了槟榔碱能促进了 INS - 1 细胞的增殖和胰岛素的释放量^[30]。但咀嚼槟榔也可能导致产生糖尿病,tung 等人就指出嚼食槟榔是台湾男性患高血糖及 II 型糖尿病的原因,但由嚼食槟榔所带来的正负面生理效应是由槟榔果本身引起的还是由其他成分引起的,抑或是两者的加成引起的都没有被清楚地认知^[31]。

展望未来,提取槟榔内的多酚成分并对其进行功能评价,挖掘槟榔多酚的生物活性尤其是研究其对人体的正面效应是槟榔研究的重要课题。如何减少和降低槟榔的负面效应,为槟榔的综合利用与深度开发打基础,也弥补当今市场上含有槟榔成分食品形式的不完善,满足消费者对槟榔与健康的双重需求,也为含有槟榔成分的(功能性)食品的开发提供一定的理论与现实依据。

参考文献:

- [1] 倪依东,王建华等. 槟榔的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(3):224-226.
- [2] 申秀丽. 槟榔的化学成分及药理研究进展[J]. 宜春学院学报,2009,31(2):95-97.
- [3] 史载锋,吴亚弟. 槟榔碱提取分离工艺的研究[J]. 海南师范学院学报:自然科学版,2006,19(3):246-247.
- [4] 袁炜. 槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析[J]. 分析化学,2000,28(6):749-752.
- [5] 张春江,吕飞杰,台建祥等. 槟榔及其产品中生物碱成分的反相离子对高效液相色谱法测定[J]. 食品科学,2008,29(7):345-347.
- [6] 宋英,朱兰,谈静. 反相高效液相色谱法测定痛风口服液中槟榔碱的含量[J]. 时珍国医国药,2006,17(5):742-744.
- [7] 陈浩桢,赖宇红,王晓钰,杨卫荣. 高效阳离子交换色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中药材,2002,01:27-28.
- [8] 金德磊,李剑勇,周绪正. 高效液相色谱法测定氢溴酸槟榔碱的含量[J]. 安徽农业科学,2008,36(34):14841-14842.
- [9] 高敏. 光度法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 化学分析计量,2003,12(1):28-30.
- [10] 赵仁泰,吕方军. 对含槟榔成药中槟榔碱含量测定方法的探讨[J]. 齐鲁药事,1986,04:11-13.
- [11] 郑锦星. 槟榔提取物功能评价的研究[D]. 中南林业科技大学,2006.
- [12] 郑仕宏,张海德,何双等. Folin - Ciocalteus 法测定槟榔中多酚含量的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2009,29(6):165-169.
- [13] 韩林. 槟榔中抗氧化成分的提取及分离研究[D]. 海南大学,2010.
- [14] 周文化,张海德,何双等. 槟榔油提取技术的研究[J]. 热带农业工程,2008,32(2):1-4.
- [15] 张海德,黄玉林,韩林. 槟榔油的分离及 GC - MS 分析[J]. 食品科学,2009,(22):298-300.
- [16] 周文化,张海德,何双,郑仕宏,李忠海. 槟榔油提取技术的研究[J]. 热带农业工程,2008,02:1-4.
- [17] 朱莉,罗士数. 槟榔籽油的超临界 CO₂ 萃取及其成分分析[J]. 食品科学,2010,(24):151-154.
- [18] 海南省热带棕榈植物重点实验室(筹). 海南文昌
- [19] 李军. 花粉的药理和有效成分[J]. 中国药学杂志,1990,05:259-262.
- [20] 王明月. 高效液相色谱法测定槟榔花粉中的芸苔素内酯[J]. 安徽农业科学,2008,36(4):1305-1306.
- [21] 邱启雄. 槟榔花生物学特点及单宁酸含量分析[J]. 中国野生植物资源,2006,25(3):47-48.
- [22] 吴生. 槟榔花粉的生物学、氨基酸和化学元素含量研究[J]. 海南大学学报:自然科学版,1999,17(2):148-151.
- [23] 臧雪冰. 槟榔的遗传毒性研究[J]. 实用预防医学,1999,6(4):265-267.
- [24] 赵云霞,于蕾,季宇彬. 槟榔的毒理研究进展[J]. 药品评价,2006,3(6):457-458.
- [25] 冯云枝. 槟榔提取物抑制人类口腔黏膜成纤维细胞生长的实验研究[J]. 临床口腔医学杂志,2002,18(3):222-223.
- [26] 郑景晖. 嚼食槟榔的健康危害【M】. 台北:国家卫生研究院,2003:1.62.

(下转第 44 页)

- [9] 皮肤性病寻常痤疮常识相关.
- [10] 郭顺, 张恩虎, 魏跃钢. 痤疮的中医药试验研究进展. 2009, (15) 1: 87-89
- [11] 白由稳, 雷少琼, 吴梅金等. 耳穴贴压治疗痤疮及对性激素的影响. 中国针灸, 1997, 17(5): 277-278
- [12] 吴艳华, 李其林. 知柏地黄汤加减对女性寻常痤疮血清睾酮的影响及疗效分析. 岭南皮肤性病科杂志, 2003, 10(2): 87-89
- [13] 马尊峰, 贾敏名. 中医治疗痤疮的临床经验. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(2): 8-10
- [14] 周计春, 汪五清, 闫晓红. 消痤饮治疗寻常性痤疮及其对皮脂分泌的影响. 山东中医杂志, 2003, 22(7): 405-406
- [15] 黄畋, 孔俐君, 孔令等. 48种中药对痤疮丙酸杆菌的抑制作用. [J] 中华皮肤科杂志, 1992, 5: 307
- [16] 王伟. 活血化瘀法在顽固性痤疮治疗中的运用. 世界中两医结合杂志, 2011, 6(7): 599
- [17] 赵庆利, 张景龙等. 痤疮中医体质类型与临床特征间关系分析[J]. 中国美容医学, 2009, 18(11): 1670-1672
- [18] 张梅. 枇杷清肺饮治疗痤疮60例报告. 中国社区医生, 2011, 19: 211
- [19] 柴瑞震. 丹参的药理研究近况. [J] 中国中医药科技, 2003, 10(6): 390-392
- [20] 邓士贤, 施越华. 紫草的药理研究[J]. 云南医药, 1983, 4(4): 232-237

(上接第41页)

- [27] 张博. 槟榔碱对口腔粘膜成纤维细胞 uPARAP 表达的影响[D]. 中南大学, 2010.
- [28] 陈潮燕. 槟榔碱的提取分离及其对胃肠道平滑肌收缩作用的影响[J]. 广东药学, 2000, 10(2): 48-50.
- [29] 任军方. 利用 ISSR 标记对海南保亭槟榔遗传多样性的研究[D]. 海南大学, 2010.
- [30] 李中平. 槟榔碱对 STZ 所致 INS-1 细胞损伤的保护和修复作用[D]. 兰州大学, 2010.
- [31] 郑锦星, 李忠海. 槟榔生理效应研究进展[J]. 食品科技, 2006, 31(9): 302-305.