

迷迭香酸的生物学功能及其在畜牧业上的应用前景

王燕

(南京禾嘉牧业有限公司, 江苏 南京 211135)

[中图分类号]S816.7

[文献标识码] A

[文章编号]1005-8613(2013)12-0031-04

[摘要]迷迭香酸在抗氧化、免疫调节、抗辐射、抗微生物、抗肿瘤等方面具有特殊的作用,作为一种绿色饲料添加剂在动物生产中具有广泛的应用前景。因此,对迷迭香酸的生物学功能及其在畜牧业上的应用前景做一综述。

[关键词]迷迭香酸;生物学功能;畜牧业;应用

迷迭香酸(rosmarinic acid)是一种天然的水溶性多酚类化合物,1958年由意大利科学家 Scarpati 和 Oriente 从唇形科植物迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)中首次分离得到,由此定名,并确定其结构是由一分子咖啡酸和一分子 3,4-二羟基苯基乳酸缩合而成的酯。它广泛存在于植物中,尤以唇型科和紫草科植物中含量最高。这一多酚类化合物具有广泛的药理作用,一直倍受关注。与其他天然抗氧化剂相比,迷迭香酸具有极强的清除体内自由基的活性,其抗氧化活性强于咖啡酸、绿原酸、叶酸等。此外,大量的研究表明,迷迭香酸具有免疫调节、抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗损伤、护肝等生理活性功能。本文就其近年来生物学功能及其在畜牧兽药上的应用前景作一简要概述。

1 迷迭香酸的性质与结构

1.1 迷迭香酸的性质

迷迭香酸的化学名称为[R(E)] α -[3-(3,4-二羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氧基]-3,4-二羟基苯丙酸,分子式是 $C_{18}H_{16}O_8$,易溶于水及乙醇水溶液,不溶于油脂、无水乙醇,具有很强的抗氧化能力,其抗氧化能力高于维生素 E。

1.2 迷迭香酸的结构

迷迭香酸的化学结构见图 1。

2 迷迭香酸的提取分离

迷迭香酸的结构和来源确定之后,基于其化学合成进行了大量的研究,同时生物合成与细胞培养产生迷迭香酸的技术研究也有相关研究,但是化学合成步骤复杂,成本高,产率低,生物技术也仅停留在试验阶段,难以实现工业化生产。目前,主要通过从植物中分离纯化而得。

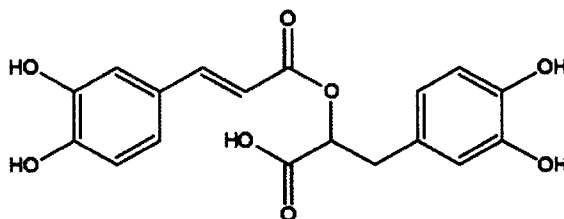


图1 迷迭香酸的化学结构

传统的迷迭香酸提取方法有热水浸提法和乙醇热回流提取法,常常在加热过程中导致某些活性成分发生结构改变而失活。迷迭香酸属多酚类化合物,结构不稳定,对光照、温度、金属离子等都比较敏感,所以对于其提取应避免高温高压,目前已有文献报道采用超声波辅助提取效果比较好。黄宏妙等(2012)采用正交试验优化迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)中迷迭香酸的提取工艺,考察了乙醇体积分数、提取时间、料液比等因素对迷迭香酸提取率的影响。结果表明,迷迭香酸的最佳提取工艺条件为采用超声波辅助提取 40min,乙醇体积分数为 15%,料液比为 1:20(m/V, g:mL)。所筛选出来的

[收稿日期]2013-11-03

[通讯作者]王燕,女,E-mail:wangyan.123.11@163.com。

最佳提取工艺稳定可行,重现性好。

另有试验采用纤维素酶辅助提取紫苏中的迷迭香酸,并对影响因素进行研究,拓宽了迷迭香酸的提取方法(董彦莉等,2013)。纤维素酶是一类复合酶,它能将组成细胞壁的纤维素骨架逐级降解成葡萄糖,进而破坏细胞壁骨架结构,增加细胞内活性成分的溶出。纤维素酶辅助提取法借助纤维素酶对植物细胞壁的分解作用,促进迷迭香酸从植物细胞内快速释放,具有反应条件温和、产物得率高、安全无毒害等优势,目前已经在中药药效成分提取中广为应用,并取得了良好的效果。

周平等(2011)采用大孔吸附树脂法研究迷迭香酸的精制工艺,使用静态吸附法确定大孔吸附树脂 NK109 最适于迷迭香酸的精制,利用大孔吸附树脂,迷迭香酸得到了较好的富集和纯化,纯化后的迷迭香酸纯度可以达到 90%以上。Lin 等(2012)也发现采用大孔吸附树脂 HP-20 和 XAD-7HP 能够大大提高迷迭香酸的提取率。

3 迷迭香酸的生物学功能

3.1 抗氧化作用

迷迭香酸具有极强的清除体内自由基的活性和抗氧化作用。

高辉等(2012)将纯化后的迷迭香酸添加到火腿肠中,与异 VC 钠相比较,考察其抗氧化效果,结果发现添加量为 0.01%迷迭香酸火腿肠的过氧化值和 TBA 值都比较低,对火腿肠的脂质过氧化起到很好的减缓作用。并且发现异 VC 钠对迷迭香酸有一定的增效作用。吕晓玲等(2010)亦研究添加 0.01%迷迭香酸的猪油其过氧化值和酸值都比较低,与相同 TBHQ 添加量的猪油的过氧化值和酸值相近,对猪油的酸败起到了延缓作用,且 TBHQ 对迷迭香酸有一定的协同抗氧化作用。

迷迭香酸的抗氧化作用与其结构有关,Nakamura 等(2011)认为邻二酚羟基是清除自由基活性的物质基础,而且 C3 位的共轭双键具有增效作用。

3.2 调节免疫作用

迷迭香酸对免疫系统的调节作用包括:

①抑制补体系统;

②抑制花生四烯酸代谢途径中 5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LO);

③抑制 T 淋巴细胞系统;

④抑制核因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB)信号通路。迷迭香酸可通过对免疫系统的上述调节作用,发挥对炎症、肿瘤、器官移植排斥反应等的治疗作用。

3.3 抗菌作用

迷迭香酸具有广谱抗微生物活性,对细菌和真菌均有抑制作用。迷迭香酸对枯草杆菌、藤黄细球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及立枯丝球菌等细菌有明显的抑制作用。

李永波等(2011)采用滤纸片扩散法测定迷迭香酸的抑菌活性,试管二倍稀释法测定迷迭香酸的抑菌效力。试验结果表明,迷迭香酸的浓度为 0.25%时,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和沙门氏菌有一定的抑菌活性,迷迭香酸的浓度为 $\geq 0.5\%$ 时,对三种供试菌株都有明显的抑菌活性,经方差分析,迷迭香酸具有广谱的抑菌作用。李利红等(2013)亦研究发现迷迭香酸有较强的抑制大肠杆菌的活性,可以作为抗大肠杆菌药物进行进一步研究。

Neusa 等(2010)发现迷迭香酸可抑制龋齿链球菌、变异链球菌的生长和生物膜形成,降低它们的葡萄糖基转移酶活性。迷迭香酸的抗菌作用机制研究表明:迷迭香酸一方面可增大细菌细胞膜的通透性,造成糖类、蛋白质大量渗漏,影响细菌正常代谢;另一方面也可影响细菌的蛋白代谢,对 TaqD-NA 聚合酶亦有抑制作用。

3.4 抗炎活性

炎症是机体对感染及其伤害治愈的防御机制的表现,长期的炎症可引发一系列疾病的发生,甚至进一步导致癌症的发生。在对卡拉胶诱导产生的小鼠胃肠道急性炎症的研究中发现迷迭香酸呈现出剂量依赖性的显著抗炎作用,且在急性炎症发作阶段其抗炎作用与布洛芬相当(Kuruuzum-Uz 等,2012)。陈怡环等(2013)研究发现迷迭香酸通过降低增强型单次延长应激模型大鼠海马中 IL-1 β 、IL-6 的水平来改善创伤后应激障碍动物焦虑样行为。

吕晓玲等(2010)研究发现,连续给小鼠灌胃 7 d,迷迭香酸能明显抑制角叉菜胶致小鼠后足肿胀,并且显著降低炎症渗出液中前列腺素 E2、丙二醛、组胺和 5-羟色胺的含量,显著提高血清中过氧化氢酶、超氧化物歧化酶活性,显著降低血清中一氧

化氮含量。说明迷迭香酸能够通过抑制炎症部位炎症因子的合成或释放而起到抗炎作用。

关于迷迭香酸的抗炎活性有大量的研究。有研究发现迷迭香酸能抑制急性肺损伤模型动物的炎症反应(Chu等,2012),其还能通过抑制促炎性因子的释放和改善血流动力而缓解大鼠败血症的症状(Jiang等,2009)。

3.5 抗肿瘤作用

迷迭香酸具有显著的抗肿瘤作用。Moon等(2010)利用迷迭香酸与肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α) 联合作用于人白血病 U937 细胞,结果显示:

①迷迭香酸可抑制 TNF- α 诱导的核因子 κ β 抑制蛋白(inhibitor of nuclear factor κ β kinase α , I κ β α)磷酸化及降解,抑制 P50 及 P65 核转位,抑制 NF- κ β 依赖的细胞凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) IAP-1、IAP-2、XIAP 的表达。

②显著抑制 TNF- α 诱导的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)累积。

③与单独使用 TNF- α 相比,迷迭香酸的联合作用可显著诱导 caspase-3、caspase-8 的活性,促进细胞凋亡。系列研究结果表明,迷迭香酸可通过抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ β 激活和 ROS 生成,敏化 TNF- α 引起的细胞凋亡。

迷迭香酸可以影响异生物质代谢酶的活性,主要包括 I 相代谢酶细胞色素 P450(CYP450)家族中的 1A、2B、2E1、3A 和 II 相代谢酶 GST、醌还原酶(QR)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶(UGT),从而阻止致癌物质在体内的代谢活化。

迷迭香酸增强 I 和 II 相解毒酶的活性,促进致癌物二羟甲基丁酸(DMBA)的代谢分解从而减缓皮肤癌的形成(Sharmila,2012)。最新研究发现迷迭香酸能够显著降低 1,2-二甲基肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)诱导的家兔结直肠癌的发生率。实验给予 DMH 诱导患有结直肠癌的家兔 2.5、5、10 mg/kg 迷迭香酸,连续 16 周给药,发现与阴性对照组相比,给予家兔 5 mg/kg 迷迭香酸能明显降低息肉发生率(50%);显著降低肝脏、肠、近侧结肠、末梢结肠和盲肠等组织中硫代巴比妥酸活性物质(TBARS)的水平;能使机体超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)接近正常水平。由此也表明迷迭香酸的抗肿瘤作用与其强抗氧化能力密切相关

(Venkatachalam,2012)。

迷迭香酸不仅自身具有治疗癌症的作用,而且与其他化疗药物联用时也有着一定程度的增效和解毒作用。Tai J 等(2012)在迷迭香酸对人卵巢癌细胞抑增殖作用的研究中发现,迷迭香酸能够显著地提升较低浓度顺铂对卵巢癌细胞的抑增殖能力,起到增强化疗药物作用的效果。

3.6 抗损伤作用

迷迭香酸不论作预防给药还是治疗给药,均能显著降低动物脑组织 DNA 损伤水平,有效保护机体健康(Oliverira等,2012)。最新研究发现具有抗紫外线辐射及细胞保护之效,实验中口服给予辐射损伤的 ICR 种小鼠不同剂量迷迭香酸(50、100、150、200 mg/kg),通过脏器系数、骨髓 DNA 含量、股骨有核细胞数(BMNC)、脾结节数(CFU-S)等指标检测其对小鼠造血系统的作用,并以外周血(WBC、HGB、PLT)及体重等指标,从整体水平上衡量迷迭香酸对小鼠造血功能的影响。研究发现不同剂量迷迭香酸对小鼠造血系统均有一定的保护作用,但呈倒“U”形剂量反应曲线,100 mg/kg 作用尤为突出,各指标与单纯照射组相比均有显著性差异(张玉杰等,2013)。

鲁疆等(2013)研究发现氯化镉(CdCl_2)对斑马鱼胚胎发育具有毒性,可活化胚胎还原型辅酶 II 氧化酶(NADPH oxidase, Nox),促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成,造成胚胎细胞氧化胁迫损伤以至胚胎细胞凋亡,而迷迭香酸可抑制 Nox 活化,改善氧化胁迫状态,从而对 CdCl_2 的发育毒性起保护作用。安晓晶等(2012)采用迷迭香酸(5、10、20 μ g/mL)预处理细胞 1 h,可浓度依赖性地减轻 X 射线诱导的人真皮微血管内皮细胞(HMEC-1)增殖抑制和凋亡程度($P<0.05$),改善细胞内氧化胁迫状态。由此可知,迷迭香酸对 X 射线照射所致 HMEC-1 细胞损伤具有明显保护作用,可能与其提高细胞内抗氧化能力、清除活性氧以改善氧化胁迫有关。

3.7 护肝作用

迷迭香酸的抗氧化特性使其对肝脏、心脏等正常器官组织有一定的保护作用。迷迭香酸可通过增强 Nrf2(NF-E2 相关因子 2)和 HO-1(血红素加氧酶-1)的表达,减缓氧化应激,从而有效地减轻四氯化碳引起的急性肝损伤(Domitrovi 等,2013)。Li 等

(2010)发现迷迭香酸抑制肝星状细胞(Hepatic stellate cells, HSC)增殖,降低HSCs中TNF- α 诱导的 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达,降低转化生长因子- β 1(TGF- β 1)和结缔组织生长因子(CTGF)的表达。在CCl₄诱导的家兔肝纤维化模型中,它能降低血清中白蛋白/球蛋白比值,降低血清HA(透明质酸)、LN(层粘连蛋白)、PCIII(III型前胶原肽)的水平及羟基脯氨酸(Hyp)的含量,同时降低纤维化等级,改善病理学形态,亦能降低肝脏中TGF- β 1和CTGF的表达。因此迷迭香酸有一定的抗肝纤维化的效果。

3.8 抗过敏活性

迷迭香酸具有抗过敏活性。Jang等(2011)研究发现给用2,4-二硝基氟苯(DNFB)诱导的遗传过敏性皮炎NC/Nga鼠腹腔注射迷迭香酸,发现10或50 mg/kg迷迭香酸能显著抑制小鼠皮肤损害的发展,抑制小鼠耳的增厚和血清中IgE(免疫球蛋白E)水平的增高;另外,还发现能够阻止CD₄⁺、CD₈⁺T细胞以及肥大细胞渗入DNFB引起的皮肤损伤处。1或5 μ mol/L迷迭香酸能抑制NC/Nga小鼠CD₄⁺T细胞干扰素- γ (IFN- γ)和白介素-4(IL-4)的产生。亦有研究发现,迷迭香酸对热带无爪螨引起的呼吸过敏症有治疗作用。口服迷迭香酸,能显著降低肺灌流液中粒细胞和嗜酸性粒细胞的比例、促红细胞生成素(EPO)活性;但是对肺组织中EPO活性无作用,说明除了调节IL-4,迷迭香酸对其他调节嗜酸粒细胞从肺组织到肺泡趋化的细胞因子、趋化因子也有作用(Costa等,2012)。

3.9 抑制肾结石的形成

黄幼霞等(2013)迷迭香酸中剂量与高剂量组大鼠的肾小管上皮细胞间 α 胰蛋白酶抑制物的表达,24 h尿草酸、Ca²⁺的排泄量及血尿素氮、肌酐、尿酸含量,均显著低于模型对照组;迷迭香酸中、高剂量组肾组织病理变化、草酸钙结晶分布情况与模型对照组比较也明显减轻。结果显示,迷迭香酸可能通过抑制肾组织内草酸钙晶体的生成和减少肾组织间 α 胰蛋白酶抑制物的表达,从而抑制肾结石的形成,对大鼠草酸钙结石有明显防治作用。

3.10 抗抑郁作用

有研究发现,迷迭香酸可以通过调节小鼠大脑

中单胺能和胆碱能神经元的功能发挥抗抑郁样效应(Sasaki等,2013)。

4 迷迭香酸在畜牧兽医上应用前景

高能饲料中的油脂或饲料中所含有的脂溶性维生素、胡萝卜素及类胡萝卜素等物质在存放过程中,与空气中的氧接触,易发生严重的自发氧化酸败,被氧化的这些成分之间还会相互作用,进一步引致多种成分的自动氧化,破坏脂溶性维生素及叶黄素,产生有毒物质醛及酮等,产生哈喇味、褪色、褐变,轻则导致饲料品质下降,适口性变差,引起动物采食量下降、腹泻、肝肿大等危害,影响动物生长发育,重则造成中毒甚至死亡事故。抗氧化剂可延缓或防止饲料中物质的这种自动氧化作用,因此在饲料中添加抗氧化剂是必不可少的。

配合饲料中必须使用抗氧化剂,按其来源可分为合成抗氧化剂和天然抗氧化剂两大类,近年来,人们不断发现某些人工合成的抗氧化剂有致畸、致癌及致突变作用,其在畜禽产品中的残留随食物链进入人体,危及人类健康,越来越多的国家开始限制或禁止使用某些合成抗氧化剂。因此,天然抗氧化剂取代合成抗氧化剂是今后饲料和食品工业的发展趋势,开发实用、高效、成本低廉的天然抗氧化剂仍是天然抗氧化剂研究的重点。

迷迭香是原产地中海沿岸的多年生常绿小灌木,是一种属于唇形的天然香料植物,目前我国很多地区都有种植。迷迭香酸是一种多功能酚酸类化合物,作为抗氧化剂,具有极强的清除体内自由基的活性,其抗氧化性强于咖啡酸、绿原酸、叶酸等,经受140℃高温油炸,仍具有高效抗氧化性。

以绿色抗氧化剂取代合成抗氧化剂是今后饲料和食品工业的发展趋势。大量的基础研究与动物实验证明迷迭香酸可以作为潜在的天然原料,开发适合家禽、家畜、水产品的新型功能性饲料添加剂,从而增强动物抗氧化、抗应激能力;改善肉质;优化肠道菌群,减少VE使用;促进动物生长、提高饲料转化率、增强动物机体免疫功能,代替或降低抗生素的应用。因此,迷迭香酸作为天然抗氧化和防病促生长的绿色环保饲料添加剂应用于畜牧兽药将具有广阔的前景。

参考文献:(略)