

的特殊功能, 美国、日本、德国等许多国家的学者对它的合成、降解、提取、分离早已进行了研究, 并有高纯度商品辣椒碱产品, 国际市场售价居高不下。

2 辣椒碱的体内代谢

2.1 辣椒碱的合成

辣椒碱主要在果实胎座表皮细胞的液泡中形成积累, 并通过子房隔膜运输到果肉表皮细胞的液泡中。辣椒碱在果实不同部位的含量不同。胎座及隔膜组织中含量最高, 果肉次之, 种子最低。

辣椒碱类物质是由香草基胺和 C_8-C_{12} 支链脂肪酸两部分组成。香草基胺部分是由芳香族氨基酸苯丙氨酸衍生而来, 支链脂肪酸部分则由缬氨酸或亮氨酸衍生而来。辣椒碱合成过程中的酚类前体物(对香豆酸、苯丙氨酸、咖啡酸等)同时是蛋白质、生物碱、类黄酮以及木质素的合成前体物, 因此辣椒碱的生物合成存在着与其他生物合成途径竞争共同前体物的问题。

目前已知辣椒碱合成途径中参与反应的酶有: 苯丙氨酸氨基裂解酶(PAL)、肉桂酸水解酶(CA4H)、对香豆酸水解酶(CA3H)、咖啡酸转甲氧基酶(CAOMT)、辣椒素合成酶(CS)等; 但参与将 3-甲氧基-4-羟基肉桂酸转化为香草醛及香草基胺的酶目前尚不清楚。

辣椒碱合成酶是辣椒碱合成中的关键酶, 主要定位于果实胎座表皮细胞的液泡膜上。在辣椒碱的合成反应中, 辣椒碱合成酶首先催化支链脂肪酸与辅酶 A 形成 $isoC_{10}-CoA$ 复合体, 然后在 ATP 和 Mg^{2+} 辅因子的作用下, $isoC_{10}-CoA$ 与香草基胺合成辣椒碱, 反应的最适 pH 值约为 9.0。对辣椒碱合成酶的结构、酶动力学分析以及酶的分离纯化等方面的研究有待进一步深入。

2.2 辣椒碱的降解

辣椒果实中的过氧化物酶参与了辣椒碱的氧化, 使得辣椒碱转化为其他次生物质, 其产物为 5', 5-二辣椒碱聚合体、4'-O-5-二辣椒碱酯以及一些高度聚合的脱氢产物^[4]。

辣椒果实中的碱性过氧化物酶含量远高于酸性过氧化物酶含量, 而且其氧化能力也比较强。碱性过氧化物同工酶 B6 与辣椒碱共同定位于胎座表皮细胞的液泡中和细胞壁中, 它能强烈氧化辣椒碱及其酚类前体物, 这些氧化产物都具有类木质素特性, 说明在辣椒碱的降解代谢中也存在着氧化竞争, 辣椒碱合成的酚类前体物与辣椒碱竞争氧化产生了类

木质素物质, 用于细胞壁的构成。研究表明^[5,6], 在辣椒果实成熟过程中, 辣椒碱的含量与过氧化物酶及木质素类物质含量呈一定的负相关。进一步说明过氧化物酶直接参与了辣椒碱的氧化过程。

过氧化物酶对辣椒碱的氧化作用受辣椒碱浓度、pH 值及 H_2O_2 浓度的影响。最适宜浓度 H_2O_2 为 0.1 mM, 辣椒碱为 1.0 mM, pH 值在 6.0 左右。此辣椒碱浓度接近于其在水溶液中的最大溶解度。过氧化物酶氧化作用的酶动力学符合米氏模型(Michaelis-Menten), 即在高浓度底物条件下氧化能力受阻。

3 辣椒碱的提取、分离与测定

辣椒碱的提取测定过程一般分为干燥、粉碎、浸提、分离和检测等步骤。干燥一般采用 60℃ 烘干至恒重; 粉碎; 用有机溶剂如乙醇、甲醇、乙腈等提取; 分离一般采用氧化铝柱层析法, 洗脱液采用甲醇、乙醚、水等。

辣椒碱的测定目前常用的有比色法、高效液相色谱法及超临界流体萃取法等。

比色法有: 钼兰法、钼酸钠-亚硝酸钠法及紫外比色法等。比色法在一般条件的实验室应用广泛, 对仪器的精密度要求不高, 但是其操作繁琐、费时, 准确度和灵敏度不高, 目前已被液相色谱法所取代。高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC), 现已被广泛应用于药物分析、环境监测等分析, 具有高分离度、高灵敏度、高准确度及省时快捷等优点。20 世纪 70 年代末, 此法被应用于辣椒碱的定量分析, 此后在提取液、流动相、流速及光波的激发和辐射波长等方面做了一系列改进^[7,8], 从而节约了分析时间, 提高了灵敏度, 降低了分析成本。

超临界流体萃取法(Supercritical Fluid Extraction, SFE)从上世纪 40 年代起逐步应用于工业生产, 目前作为精细化工的一项高新技术, 已在化工、食品、医药、香精等生产上得到广泛应用。超临界流体 CO_2 , 因其具有临界温度(31.1℃)及临界压强(7.38 MPa)均比较低、对被萃取物溶解度高、选择性好、来源方便、价格便宜等优点, 故被广泛应用于超临界流体萃取技术。

Jinpin Yao 等^[9]以超临界 CO_2 和有机溶剂对辣椒果实中的辣椒碱及二氢辣椒碱进行提取, 以 C18 柱纯化并用 HPLC 法测定。结果表明, 以超临界 CO_2 提取可获得辣椒碱及二氢辣椒碱分别为干重的 3.2% 和 0.58%, 用有机溶剂提取仅为干重的 0.5%

和 0.09%, 萃取率提高 6~7 倍。Kyoko Sato 等^[10]以超临界流体萃取法与超临界色谱法(Supercritical Fluid Chromatography, SFC)联用, 测定辣椒果实中的辣椒碱, 并与超临界流体萃取加高效液相色谱法检测相比较, 前者无需样品的预处理, 所用有机溶剂量很少(甚至不用), 所测辣椒碱含量值与 HPLC 法吻合度很好。SFE/SFC 法为辣椒素的测定提供了一种更快捷、安全、高效的测定方法。

目前, 国内研究者已开始了对于辣椒碱提取的超临界流体萃取法的研究, 但尚属起步阶段。

4 辣椒碱的医药作用及机理

辣椒作为药物的应用很早以前就已开始, 中医认为辣椒可“温中散寒、健胃消食”。目前对于辣椒碱的药理作用及临床应用的研究仍是一个十分活跃的领域, 辣椒碱对一些疾病的治疗效果已得到国内外研究者的充分肯定。

辣椒碱临床主要应用于治疗及缓解顽固性疼痛及瘙痒等症状。如治疗带状疱疹后神经痛、糖尿病性神经痛、风湿性关节炎和骨关节炎、银屑病与瘙痒等。

对辣椒碱作用机理的研究表明, 上述这些疾病的共同特征是, 疼痛或瘙痒均由神经传导介质 P-物质(Substance P)进行了有效的传递。P-物质是一种十一肽, 广泛分布于感觉神经纤维、后跟神经纤维和脊髓神经后角, 它能够把疼痛由外周神经传入脊髓神经和高级中枢神经。辣椒碱主要是作用于神经肽 P-物质, 并可能作用于 C 型神经纤维中的一些无髓神经纤维, 实验证明, 对由有害刺激而引起的释放 P-物质所致痛觉, 应用辣椒碱可使局部 P-物质减少, 从而使某些类型的痛觉得到抑制。

辣椒碱临床应用可以治愈或缓解上述一些难治型慢性神经疼痛, 为这些疾病的治疗提供了一条新的途径。另外, 辣椒碱能打开细胞膜上的 Ca^{2+} 、 Na^{+} 通道, 阻碍小肠吸收硫酸素, 可用于猪卵清蛋白诱发的气管机能亢进的治疗; 抑制大鼠体内脂肪沉积; 增强小鼠的游泳能力等。可见辣椒碱是一种很有发展潜力的药物。

5 影响辣椒碱含量的因素

关于影响辣椒碱含量的因素方面的研究, 国外许多研究者已有了相关的研究报道。他们认为除遗传基因控制外, 不同的发育时期, 不同的环境条件, 如肥料、光照、温度、水分, 不同的栽培季节, 及不同的保管条件等都会对辣椒碱的含量产生很大的影

响。甚至有人认为, 环境对辣椒碱的影响超过基因控制的作用。辣椒碱的含量随果实发育而变化。一般认为, 在果实发育前期, 辣椒碱含量逐渐增大, 至果实青熟期; 而后, 在果实转到红熟期期间, 其含量变化因品种不同呈现出差异, 有的继续随果实成熟而增大, 有的则略有减少。

辣椒碱的合成是受遗传基因控制的。Curry 等^[11]对辣椒碱合成途径中对酶的转录水平进行监测, 从辣椒胎座的 cDNA 库中分离并克隆了 Pal、Ca4h 和 Comt3 种基因, 以这 3 种基因测定 6 种不同辣度的辣椒品种果实发育中的酶转录水平。研究表明, 3 种基因的转录水平都与辣椒果实胎座中辣味程度明显相关, 在最辣的品种中, 基因得到了最高水平的转录; 而在不具辣味的果实中, 转录水平最低。

辣椒纯合种, 即使在适宜的条件下生长, 不同植株果实辣味程度也有所不同, 差值甚至达到 6 000 辣度单位(Scoville), 说明环境因素对辣椒碱的代谢和积累起了很大影响。但到目前为止, 对于辣椒碱合成的影响因子及作用大小, 国内外尚无统一论, 仍在研究之中。

一般说来, 施肥有利于辣椒碱的合成, 尤其是适当浓度的氮肥; 磷钾肥的相关研究结论不一。氮素营养之所以能调节辣椒碱代谢水平, 是因为氮能够影响植物体内的各种相关的次生代谢物质的含量; 另一方面, 氮元素也是直接构成辣椒碱的成分元素之一。Estrada B. 等^[12]通过水培浇灌营养液方式, 对辣椒碱代谢情况进行研究表明, 施用氮磷钾肥与不施用氮磷钾肥的同品种辣椒相比, 辣椒碱含量明显增多, 而酚类化合物及木质素含量显著减少, 特别是开花后第 21 d 所测数值更为明显, 此结果也进一步证实辣椒碱合成中的竞争现象。Johnson 等^[13]研究认为适当浓度的氮肥水平促进辣椒碱的合成, 而钾肥浓度对辣椒碱含量影响不大。

缺水有利于辣椒碱积累。Estrada B. 等^[14]对水分对辣椒素及其相关物质代谢情况的影响进行了研究。结果表明, 干旱有利于辣椒碱的合成, 研究者认为此结果是辣椒碱合成过程中与其他苯丙氨酸代谢物竞争合成的结果。

果实的节位不同辣椒碱含量也不同, 有人认为同株辣椒果实中的辣椒碱的含量随结果部位高度升高而升高^[15], 并把这种结果归结于光照在辣椒碱类物质合成中的重要作用, 认为越往上层, 光照强度越高, 越有利于辣椒碱类物质的合成。有研究者^[16]的结论与之恰好相反, 他们认为, 在基因型与生长条件

相同的情况下, 较低节位的果实中辣椒碱类物质含量比高节位的高, 并认为原因在于较低节位的果实数少, 所得养分多, 同时辣椒碱合成的前体竞争作用相对高节位也要弱, 这种条件有利于低节位果实辣椒碱类物质合成。

最近发现^[15], 辣椒碱不仅存在于辣椒果实中, 在结果后, 辣椒茎叶中也有相应的辣椒碱类物质积累, 而且随果实成熟, 积累量逐渐上升, 但其总量相对果实而言比较少; 在茎叶中的辣椒碱类物质中, 二氢辣椒碱所占比重高于辣椒碱; 研究还表明, 辣椒茎叶中的辣椒碱类物质是由果实合成并运输到茎叶中的。

6 展望

我国是世界上重要的辣椒生产及出口国, 但与国外相比, 对辣椒碱的研究尚属起步阶段, 目前仅在医药研究领域取得了一定进展。21 世纪, 随着食品工业和医药工业的不断发展, 辣椒碱的应用与研究必定进一步深入, 其开发前景十分广阔。

鉴于辣椒碱的独特性质及功能, 若能够增加辣椒碱合成酶活性, 降低过氧化物酶活性, 在辣椒碱的代谢过程中限制其他生物合成与辣椒碱的合成竞争, 利用基因工程等技术培育辣椒碱含量高的品种。栽培方面, 研究探索出适合辣椒碱积累的栽培条件, 如光照、温度、水分、肥料等, 势必对辣椒碱的研究产生重要影响。

最近, 在甜椒果实中发现几种无辣味的类辣椒碱类物质, 如: 辣椒酯 (Capsicin, 又叫辣椒素酯)、二氢辣椒酯 (Dihydrocapsicin, 又叫二氢辣椒素酯)、降二氢辣椒酯 (Nordihydrocapsicin, 又叫降二氢辣椒素酯) 等, 统称为辣椒酯类物质。其结构与辣椒碱极为相似。研究表明^[17], 辣椒酯类物质具有类似辣椒碱类物质的性质, 如能加速能量代谢并能抑制脂肪积累等。

对于辣椒酯类物质的研究近两年才见有报道, 且比较少。一些研究者正致力于辣椒酯类物质相关性质及应用的研究。由于辣椒酯类物质具有很多类似于辣椒碱的性质, 而且不具辣味, 对皮肤及组织器官没有刺激性, 这些优点使得辣椒酯类物质具有很大的开发潜力及广阔的应用前景, 这方面的研究也有待于进一步深入。

参考文献:

[1] Margarita Contreras—padilla and Elhadi M. Yahia. Changes in

Capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity[J]. Agri. & Food Chem., 1998; 2075-2079.

- [2] 郭建明, 郭祀远. 辣椒的风味化学及其在调味品中的应用[J]. 中国调味品, 1998, (7): 2-3.
- [3] 北京农业, 2002, 4: 33.
- [4] M. A. Bernal and A. Ros Barcelo, 5, 5'—Dicapsaicin, 4'—O—5—dicapsaicin ether, and dehydrogenation polymers with high molecular weights are the main products of the oxidation of capsaicin by peroxidase from hot pepper[J]. Agri. & Food Chem., 1996; 3085-3089
- [5] Margarita Contreras—padilla and Elhadi M. Yahia. Changes in Capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity[J]. Agri. & Food Chem., 1998; 2075-2079.
- [6] B. Estrada, M. A. Bernal, Jose Diaz et al. Fruit development in Capsicum annum; changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns[J]. Agri. & Food Chem., 2000, 48; 6234-6239.
- [7] M. D. Collins, Loide Mayer Wasmund and Paul W. Bosland. Improved method for quantifying capsaicinoids in Capsicum using high—performance liquid chromatography [J]. HortScience, 1995; 137-139.
- [8] 赵仁邦, 崔同, 果秀敏, 等. 高效液相色谱法测定辣椒素[J]. 河北农业大学学报, 2002, (4): 134-136.
- [9] Jinpin Yao, Muralledharan G. Nair, and Amitabh Chandra. Supercritical carbon dioxide extraction of scotch bonnet (Capsicum annum) and quantification of capsaicin and dihydrocapsaicin[J]. Agri. & Food Chem., 1994, 42; 1303-1305.
- [10] Kyoki Sato, Shihō Sakamoto Sasaki, Yukihiro Goda, et al. Direct connection of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography as a rapid quantitative method for capsaicinoids in placenta of capsicum[J]. Agri. & Food Chem., 1999, 47; 4665-4668.
- [11] Curry, J. Mendoza M. Nevarez, et al. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non—pungent Capsicum[J]. Plant Science, 1999, 148(1): 47-57.
- [12] B. Estrada, F. Pomar, J. Diaz, et al. Effects of mineral fertilizer supplementation on fruit development and pungency in "Padron" pepper[J]. Hort. Sci. & Biotech., 1998, 73(4): 493-497.
- [13] Charles D. Johnson and Dennis R. Decoteau, Nitrogen and potassium fertility affects jalapeno pepper plant growth, pod yield, and pungency, HortScience, 1996, 31(7): 1119-1123.
- [14] B. Estrada, F. Pomar[J]. Diaz et al. Pungency level in fruits of the padron pepper with different water supply, Scientia Hort., 1999, 81; 385-396.
- [15] B. Estrada, M. A. Bernal, Jose Diaz, et al. Capsaicinoids in vegetative organs of Capsicum annum L. in relation to fruiting [J]. Agri. & Food Chem., 2002; 1188-1191.
- [16] Zewdie, Y. and Paul W. Bosland. Pungency of chile (Capsicum annum L.) fruit is affected by node position. Pungency of chile (Capsicum annum L.) fruit is affected by node position[J], Hort Science, 2000; 1174
- [17] Koichiro Ohnuki, Satoshi Haramizu, Kasumi Oki, et al. Administration of capsiate, a non—pungent capsaicin analog, promotes energy metabolism and suppresses body fat accumulation in mice[J]. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2001, 65 (12): 2735-2740.