

桂西 少数民族地区 中药材研究

黄锁义 主编



广西科学技术出版社



图书在版编目 (CIP) 数据

桂西少数民族地区中药材研究 / 黄锁义主编. — 南宁: 广西科学技术出版社, 2015. 9
ISBN 978 - 7 - 5551 - 0494 - 0

I. ①桂… II. ①黄… III. ①民族地区—中药材—研究—广西 IV. ①R282

中国版本图书馆CIP数据核字 (2015) 第 247100 号

桂西少数民族地区中药材研究

GUIXI SHAOSHU MINZU DIQU ZHONGYAOCAI YANJIU

黄锁义 主编

责任编辑: 陈勇辉 罗煜涛 黄 璐
封面设计: 韦娇林

责任校对: 何燕英
责任印制: 韦文印

出 版 人: 韦鸿学
社 址: 广西南宁市东葛路 66 号
网 址: <http://www.gxkjs.com>

出版发行: 广西科学技术出版社
邮政编码: 530022

经 销: 全国各地新华书店
印 刷: 广西大华印刷有限公司
地 址: 广西南宁市高新区科园路 62 号
开 本: 787 mm×1092 mm 1/16
字 数: 500 千字
版 次: 2015 年 9 月第 1 版
书 号: ISBN 978 - 7 - 5551 - 0494 - 0
定 价: 36.00 元

邮政编码: 530007

印 张: 24
印 次: 2015 年 9 月第 1 次印刷

版权所有 侵权必究

质量服务承诺: 如发现缺页、错页、倒装等印装质量问题, 可直接向本社调换。

编委会

主 编：黄锁义

编 委：黄锁义 莫 璐 马小庭 黄雅珍
李 琳 李月仕 谭 冰 史柳芝
农邦写 刘胜利 李金花 潘廷啟
谢燕飞 黄礼德 郭立强 刘胜利

前 言

中药材产业是广西发展区域经济的优势特色产业，桂西少数民族地区中草药有近 2000 种，居广西之首，是广西中草药的主要聚集地之一。由国家 11 个部委联合制定的《关于切实加强民族医药事业发展的指导意见》以及国务院《少数民族事业“十一五”规划》都提出了发展民族医药事业的对策。目前，广西已将中医药及民族医药作为优势产业来发展，民族药具有资源优势、地方特色、民族特色和自主知识产权，有希望成为中医药产业发展的突破口，为地方经济发展和社会进步做出特殊的贡献。因此，本书对桂西少数民族地区的中药材资源开展研究具有重要意义。

本书的出版得到右江民族医学院有关领导及有关部门的大力支持，并得到国家自然科学基金资助项目（81160347、81360684）、广西自然科学基金资助项目（2011GXNSFA018046、2013GXNSFAA019240）、广西重点学科药物化学学科建设项目（桂教科研〔2013〕16 号）、广西高校科技创新能力提升工程建设项目和广西高校重点实验室项目（桂教科研〔2014〕14 号）、广西百色市科学研究与技术开发计划第一批项目（百科计 1001013）、广西高等教育教学改革工程项目（2014JGB198）、国家中医药管理局“十二五”中医药重点学科中药化学学科建设项目（国中医药人教发〔2012〕32 号）、2015 年广西研究生教育创新计划项目——广西学位与研究生教育改革专项课题（JGY2015135）、右江民族医学院 2014 年度校级优秀教学团队建设项目（右医教字〔2014〕39 号）、右江民族医学院课程教学方法改革专项课题立项项目（JGZZ2013—03）等的资助，在此表示衷心的感谢！

限于编者水平，书中难免出现错误和不当之处，敬请读者批评指正。

编 者

2015 年 7 月 18 日

目 录

广西壮药鸡骨草多糖的提取及对羟基自由基清除作用的研究	谭冰, 严焕宁, 廖慧娴, 等 (1)
广西茉莉花根总黄酮的抗氧化性研究	梁绍兰, 周金花, 林瑶, 等 (7)
益母草黄酮的提取及体外抗氧化作用研究	史柳芝, 史恒芝 (14)
千根草红色素的提取及其稳定性研究	陈雪, 肖词英, 莫丽玲, 等 (19)
薏苡叶化学成分的预试验	谭冰, 严焕宁, 史柳芝, 等 (24)
酶-超声联合提取土人參多糖的工艺研究	黄礼德, 郭立强, 颜祖弟, 等 (28)
正交设计优化木瓜多糖的超声提取工艺	刘胜利, 郭立强, 黄礼德, 等 (35)
纤维素酶法提取薏苡叶多糖的工艺研究	潘廷啟, 文全泰, 肖林彬, 等 (41)
影响陈皮色素稳定性的因子研究	丘丹萍, 唐燕青, 罗泳林 (46)
茉莉花蕾黄酮的提取及体外抗氧化研究	史柳芝, 史恒芝, 李小凤, 等 (51)
影响红花红色素稳定性的因子研究	孙婷婷, 蒋丽芳, 裴正玲, 等 (56)
玉米须总黄酮的提取及鉴别	黄晔, 龙光锦, 姜林华 (61)
十六烷基三甲基溴化铵催化合成间甲苯氧乙酸	农邦写 (65)
十六烷基三甲基溴化铵催化合成苯氧乙酸	农邦写 (70)
十六烷基三甲基溴化铵催化合成 2,4-二氯苯氧乙酸	农邦写 (75)
广西壮药薏苡仁色素的提取及稳定性的研究	黄连秋, 覃冬, 谢燕飞, 等 (80)
丹参酮体外抗氧化活性研究	农石生, 龚子龙, 周金花 (86)
八角茎多糖的提取及含量测定	李金花, 农石生 (92)
正交设计法优选穿山龙总皂苷的超声提取工艺	刘胜利, 黄礼德, 郭立强 (96)

》》》 桂西少数民族地区中药材研究

- 鸡骨草黄酮体外抗活性氧自由基作用的研究 史柳芝, 史恒芝, 李容 (104)
- 泽泻多糖的提取及含量测定 李小凤, 韦庆宁, 史柳芝 (109)
- 纤维素酶法提取土人參多糖的工艺研究
..... 农小英, 黄礼德, 郭立强, 等 (113)
- 影响蓖麻红色素稳定性的因子研究 莫丽玲, 李盼盼, 陈雪, 等 (118)
- 大孔吸附树脂分离纯化番石榴叶总皂苷
..... 马连荣, 黄丽秀, 欧丽兰, 等 (123)
- 益母草总黄酮提取及对羟基自由基的清除作用 罗建华 (128)
- 影响香菇红色素稳定性的因子研究 农石生, 梁志文, 龚子龙, 等 (133)
- 酶法提取桑甚多糖的工艺研究 刘晓露, 刘胜利 (138)
- Optimization of Enzyme Extracting Process of Polysaccharides from *Coix lachry-*
mal - jobi L. Stems by Orthogonal Design
..... Guo Liqiang, Huang Lide, Zhang Zhaoping, et al (144)
- 艾叶多糖的提取、含量测定及对羟基自由基清除作用的研究
..... 谭冰, 严焕宁, 廖慧娴, 等 (150)
- 广西茉莉花叶总黄酮的抗氧化作用研究
..... 周金花, 梁绍兰, 温昭君, 等 (156)
- 茉莉花茎多糖的分离纯化及抗氧化作用研究
..... 潘廷啟, 文全泰, 顏祖弟, 等 (162)
- 正交设计法优选牛蒡子总木脂素的超声提取工艺
..... 郭立强, 黄礼德, 张照平, 等 (168)
- 薏苡茎化学成分预试验研究 史柳芝, 史恒芝, 谭冰, 等 (172)
- 夜交藤多糖的提取及含量测定 李金花, 农石生 (176)
- 广西凌云茶叶多糖的含量测定 周琼花, 严婷婷, 宋海璐 (180)
- 八角多糖的体外抗活性氧自由基作用的研究
..... 莫基贺, 卢丽菊, 韦金颖 (185)
- 白鹤藤色素的提取及其稳定性研究 罗泳林, 唐燕青, 丘丹萍 (193)
- 广西壮药薏苡茎多糖的提取及抗氧化性研究
..... 谢燕飞, 覃冬, 潘廷啟, 等 (198)
- 薏苡叶提取物对 H_{22} 荷瘤小鼠的体内抗肿瘤作用研究
..... 李远辉, 郭圣奇, 黄挺章, 等 (203)

薄荷中总黄酮的提取及其对羟基自由基的清除作用	黎海妮, 唐玉莲, 刘海花 (209)
广西壮药薏苡叶多糖的提取及体外抗氧化性研究	余珊, 司珂珂, 尤萍, 等 (214)
茉莉花根多糖的体外抗活性氧自由基作用的研究	周金花, 廖春景, 梁绍兰, 等 (220)
夏枯草色素的超声提取及稳定性研究	潘廷啟, 文全泰, 张照平, 等 (229)
茶叶中总黄酮的提取、鉴别及其含量测定	姚小敏, 覃成箭, 羊金梅 (236)
影响广西壮药薏苡叶色素稳定性因子的研究	陈先凤, 莫基贺, 韦金颖, 等 (240)
超声波乙醇浸提法提取龙眼核总黄酮方法的探讨	黎海妮, 刘海花, 唐玉莲, 等 (247)
土人參多糖的分离纯化及抗氧化活性研究	潘廷啟, 文全泰, 黄礼德, 等 (252)
正交设计优化土人參多糖的超声提取工艺	黄礼德, 郭立强, 潘廷啟, 等 (260)
中药多糖分子量测定方法概述	秦建鲜 (266)
茉莉花研究的新进展	吕龙祥 (273)
茉莉花花蕾红色素的理化性质及其稳定性研究	谢燕飞, 梁绍兰, 覃冬, 等 (279)
十六烷基三甲基溴化铵催化合成邻甲苯氧乙酸	农邦写 (285)
朱蕉色素的提取及其稳定性研究	刘胜利, 黄礼德, 郭立强, 等 (290)
广西茉莉花叶色素的提取及其理化性质研究	谢燕飞, 梁绍兰, 覃冬, 等 (295)
广西凌云茶叶多糖的抗氧化活性的研究	宋海璐, 周琼花, 严婷婷, 等 (300)
正交设计优化金樱子多糖的超声提取工艺	潘廷啟, 文全泰, 肖林彬, 等 (306)
土人參的化学成分和药理作用研究进展	梁绍兰 (311)
千日红多糖的提取及含量测定	李金花, 农石生, 卢秋杰 (317)
鸡骨草色素的超声提取及稳定性研究	郭立强, 黄礼德, 文全泰, 等 (320)

》》》 桂西少数民族地区中药材研究

益母草的研究进展	李月仕 (327)
益母草多糖抗氧化性研究	梁绍兰, 周金花, 黄连秋, 等 (335)
芒果叶多糖的提取及含量测定	李金花, 农石生, 韦柳培 (344)
The Total Flavanone of Panaya Leaves Extraction and the Identification by Ethanol	Li Haini, Tang Yulian, Liu Haihua, et al (349)
The Technical Study of Using Cellulase to Extract Polysaccharides from Leaves of <i>Coix lachryma - jobi</i> L.	 Ting Qipan, Quan Taiwen, Hua Fangxiao, et al (354)
The Investigation for Antioxidant Properties of Radix Isatidis and Its Active Component	 Nong Shisheng, Gong Zilong, Zhou Jinhua, et al (361)

广西壮药鸡骨草多糖的提取及对 羟基自由基清除作用的研究

谭冰¹, 严焕宁¹, 廖慧娴², 张强²

(1. 右江民族医学院药学院; 2. 右江民族医学院临床医学院)

指导老师: 黄锁义

【摘要】目的:充分利用鸡骨草植物资源,减少资源浪费,探讨广西壮药鸡骨草多糖的提取、含量测定及其对羟基自由基的清除作用。**方法:**利用热水浸提法,提取鸡骨草多糖,对其进行初步纯化,利用苯酚—硫酸法测定鸡骨草多糖的含量,并利用鸡骨草多糖对羟基自由基作用进行试验。**结果:**测得样品中多糖的含量为 0.617%,回收率为 98.64%, $RSD=0.346\%$ ($n=5$)。**结论:**鸡骨草中含有一定量的多糖,且广西壮药鸡骨草多糖对羟基自由基具有很好的清除作用。

【关键词】鸡骨草; 多糖; 自由基; 清除

多糖 (polysaccharide) 是天然的生物大分子物质,它几乎存在于所有的有机体中,是有机体能量的主要来源,是一切有生命有机体必不可少的组成成分,具有抗肿瘤、免疫、治疗心血管疾病、抗补体、降血压、降血脂等治疗活性。随着人们对多糖认识的不断加深,多糖的作用越发显得突出。大量的药理和临床研究表明,多糖类化合物是一种免疫调节剂,它能激活免疫细胞,提高机体的免疫功能,而对正常细胞几乎没有毒副作用^[1]。近年来对植物多糖的研究已经成为一个热点,对于多糖抗氧化活性的研究大多以粗多糖为主,如刘培勋等研究表明银耳碱提多糖具有抗氧化活性^[2]。

鸡骨草 (*Abrus cantoniensis* Hance), 又名广州相思子、细叶鸡草、小叶鸡骨草,为豆科相思子属植物,具有清热解毒、疏肝止痛之功效,是临床常用中药,广泛用于黄疸,胁肋不舒,胃脘胀痛,急性肝炎、慢性肝炎的治疗^[3]。鸡骨草原产自广西、广东等南部省区,以广西的栽培面积最大,是两广的道地药材,其植株含相思子碱、皂苷、黄酮苷、胆碱、甾醇类、氨基酸、糖类化合物等化学成分^[4]。近年来,医药工作者加强了对鸡骨草的研究,尤其是在有效成分的提取、分离、药理活性等方面进行了深入的研究,并取得了可喜的成果,但是鸡骨草多糖提取和抗氧化方面的研究还未见报道。本文将对广西鸡骨草活性多糖进行提取、分离纯化以及其对羟基自由基的清除作用等方面展开研究,为天然药物的

开发和应用提供参考依据。

1 原料、试剂与仪器

1.1 原料与试剂

95%乙醇 AR; 无水乙醇 AR; 乙醚 AR; 盐酸 AR; 硫酸 AR; 苯酚 AR; 氯仿 AR; 正丁醇 AR; 活性炭 AR; 30%过氧化氢 AR; 硫酸亚铁 AR; 邻菲罗啉 AR; 三(羟甲基)甲胺甲烷 AR; 双蒸馏水; 葡萄糖标准品(J&K Chemical Ltd.)。鸡骨草干品(采自广西贵港), 粉碎成粉末。

1.2 主要仪器设备

FW100 型高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); 电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); DHG-9070A 型电热恒温旋风干燥箱(上海精密设备有限公司); 电热式恒温水浴锅(江苏金坛宏凯仪器厂); 循环水真空抽气泵(上海嘉鹏科技有限公司); RE-52AA 型旋转蒸发器(上海安亭实验仪器有限公司); 78WH-1 恒温磁力搅拌器(杭州蓝天化验仪器厂); 台式离心机(上海安亭科学仪器厂); 722N 型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 鸡骨草多糖的提取

称取粉碎的鸡骨草粉末12 g, 放置烧杯中, 加入约150 ml蒸馏水, 将其置于电热恒温水浴锅中, 温度控制在80℃左右, 3 h后, 用循环水式多用真空泵进行抽滤, 将滤液放入另外的500 ml大烧杯中, 用同样的方法重复提取三次, 合并三次滤液, 用旋转蒸发器浓缩至10~20 ml, 冷却至室温后, 加入60 ml乙醇在背光处静置24 h, 抽滤, 滤饼依次用乙醇和乙醚洗两次, 得到灰色粉末状固体0.165 0 g。

2.2 鸡骨草多糖粗品的提纯

2.2.1 Savage 法脱蛋白^[5]

将上一步骤得到的多糖粗品置于烧杯中, 加入一定量蒸馏水溶解(约50℃), 得多糖水溶液, 加入相当于多糖水溶液1/4体积的氯仿, 再加入相当于氯仿1/4体积的正丁醇, 将混合物剧烈震荡20~30 min后, 静置分离, 通过分液漏斗除去含有变性蛋白的溶剂层, 保留水层, 如此重复3次, 脱去蛋白质。将脱去蛋白质的多糖溶液用恒温磁力搅拌器浓缩成膏状后, 用电热恒温旋风干燥箱烘干, 即得样品多糖记为 W_1 , 称量 $W_1=0.0740$ g。

2.3 鸡骨草多糖含量测定

2.3.1 标准溶液的测定

(1) 精密量取5.00 ml苯酚，置于100 ml容量瓶中，加蒸馏水定容，得 5.0% 苯酚溶液。

(2) 精确称量0.010 g葡萄糖，置于100 ml容量瓶中，加蒸馏水定容，得 0.1 mg/ml的葡萄糖溶液。

2.3.2 标准曲线的测定

精确量取葡萄糖对照标准溶液依次为 5.00 ml、10.00 ml、20.00 ml、30.00 ml、35.00 ml，分别置于50 ml容量瓶中，加蒸馏水定容，分别稀释成 10 μg/ml、20 μg/ml、40 μg/ml、60 μg/ml、70 μg/ml的 5 个不同浓度的对照品系列溶液。分别准确量取1.00 ml样品液 5 份，分别置于10 ml具比色管中，加 1.50 ml苯酚溶液，再加7.50 ml浓硫酸溶液，混合均匀后放置20 min，用 722N 型紫外-可见光光度计，在486 nm测其吸光度，以对照品浓度为横坐标，吸光度为纵坐标做标准曲线，建立回归方程，结果见表 1 和图 1。

表 1 紫外-可见分光光度计测葡萄糖对照液吸光度

浓度 (μg/ml)	0.0	1.0	2.0	4.0	6.0	7.0
吸光度	0.000	0.059	0.129	0.253	0.381	0.458

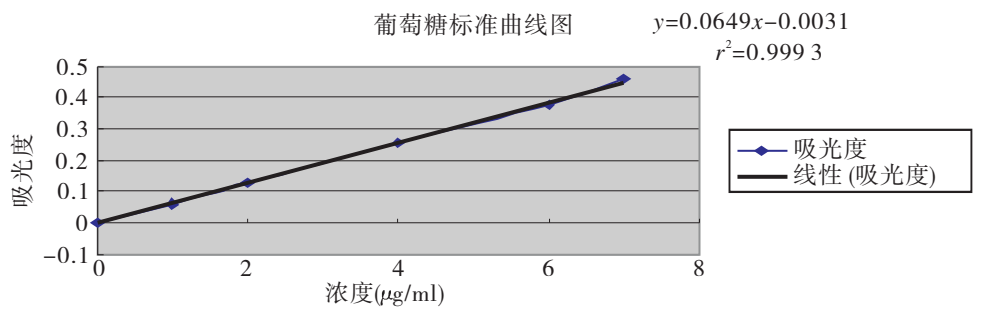


图 1 葡萄糖标准曲线

根据以上数据以及作图求得葡萄糖标准曲线回归方程： $y = 0.0649x - 0.0031$ ， $r^2 = 0.9993$ 。

2.3.3 鸡骨草多糖提取率测定（苯酚－硫酸法^[6-7]）

精确称取鸡骨草粗多糖0.0100 g置于10 ml试管中，加入1 mol/L H₂SO₄ 2 ml，沸水浴水解2 h，冷却至室温，移至100 ml容量瓶中，蒸馏水定容至刻度。按照绘制标准曲线的方法，精密量取1.0 ml样品液 5 份，分别置于10 ml具比色管中，加 5.0% 苯酚溶液1.5 ml，再加浓硫酸溶液7.5 ml，混合均匀后放置 20 min，用可见分光光度计在486 nm处测其吸光度值，由回归方程计算鸡骨草中多糖的含量，其测定结果见表 2。

表 2 紫外可见分光光度计平行测定鸡骨草多糖溶液的吸光度

浓度 (μg/ml)	0.9567	1.003	1.018	1.018	1.034
吸光度	0.059	0.062	0.063	0.063	0.064

根据标准葡萄糖线性回归方程，可以计算出鸡骨草粗多糖相当于葡萄糖的浓度，如上表所示。平均浓度 $C=1.006\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

那么，可以按下式计算鸡骨草粗多糖与葡萄糖之间的换算因子 F ：

$$F=W/(C\times D)$$

式中， W 为称取粗多糖的质量 (μg) (实验中 $W=0.0100\times 10^6\ \mu\text{g}$)， D 为粗多糖稀释倍数 (实验中 $D=1000$)，求得 $F=9.94$ 。

2.3.3.1 粗多糖提取率的计算方法^[8]

$$\text{粗多糖提取率}(\%)=[C\times D\times F\times K/W_0\times 10^6]\times 100$$

式中， C 为粗多糖浸提液通过苯酚-硫酸法测定 A 值，再从回归方程求得的粗多糖相当于葡萄糖的含量 (μg)； D 为稀释倍数 (实验中 $D=1000$)； F 为换算因子 ($F=9.94$)； K 为鸡骨草制备的样品多糖 W_1 与称量的 $0.010\ \text{g}$ 鸡骨草多糖的比值 ($K=7.4$)； W_0 为鸡骨草干粉重量。

代入数据计算得粗多糖提取率 (%) = 0.617%。

2.3.4 回收率的测定

按“2.3.2”方法，分别量取 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $40\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $60\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $70\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 的 5 个不同浓度的对照品溶液 $1\ \text{ml}$ ，置于 $10\ \text{ml}$ 具比色管中，加 5.0% 苯酚溶液 $1.50\ \text{ml}$ ，再加浓硫酸溶液 $7.50\ \text{ml}$ ，混合均匀后放置 $20\ \text{min}$ ，再分别加入“2.3.3”中的粗多糖溶液 $0.1\ \text{ml}$ ，用紫外-可见分光光度计在 $486\ \text{nm}$ 处测其吸光度值，结果回收率为 98.64% ， $\text{RSD}=0.346\%$ ($n=5$)。

2.4 羟基自由基的清除

2.4.1 鸡骨草样品多糖溶液的配制

精确称取 $0.064\ \text{g}$ 鸡骨草样品多糖，放置烧杯中，用少量 $50\ ^\circ\text{C}$ 热水完全溶解后，转移至 $50\ \text{ml}$ 容量瓶，用蒸馏水定容，即得浓度 $C=1.28\ \text{mg}/\text{ml}$ 的多糖样品溶液。

2.4.2 清除羟基自由基的测定

Fenton 反应是生物体内存在的 $\cdot\text{OH}$ 体外模式反应。参照 Fenton 反应的方法建立反应体系模型^[9]，利用 H_2O_2 与 Fe^{2+} 混合产生 $\cdot\text{OH}$ (反应式： $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$)。 Fe^{2+} 与邻菲罗啉 (phen) 在 pH 值在 $2\sim 9$ 范围内可形成稳定的橙红色络合物，在 $510\ \text{nm}$ 处有最大吸收。当加入鸡骨草多糖溶液时，鸡骨草多糖能清除溶液中游离的 $\cdot\text{OH}$ ，因而可以通过测量吸光度间接计算出样品鸡骨草多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

清除率 (%) = (A₂-A₁) / (A₀-A₁) × 100 %

式中，A₀ 为不加 H₂O₂，而加入样品时的吸光度；A₁ 为加入 H₂O₂，但不加样品时的吸光度；A₂ 为加入 H₂O₂ 和样品时的吸光度。

采用 Fenton 反应产生羟基自由基，在10 ml具比色管中依次加入0.2 ml邻菲罗啉（5 mmol/L），1 ml Tris-HCl 缓冲溶液（50 mmol/L，pH=6.0），0.2 ml 硫酸亚铁（7.5 mmol/L），0.2 ml过氧化氢（1%）和不同体积的鸡骨草多糖溶液，无水乙醇定容到10 ml，然后于37 ℃ 超级恒温水浴中反应60 min，在510 nm 处测量吸光值，平行测三次（见表 3）。

表 3 鸡骨草多糖清除 ·OH 的清除率

浓度 (mg/ml)	0.000	0.0256	0.0512	0.0768	0.1024	0.128
清除率 (%)	0	11.29	20.43	23.08	26.17	29.37

根据表 3 可绘制鸡骨草多糖溶液对清除 ·OH 的清除率变化曲线图（如图 2 所示）。

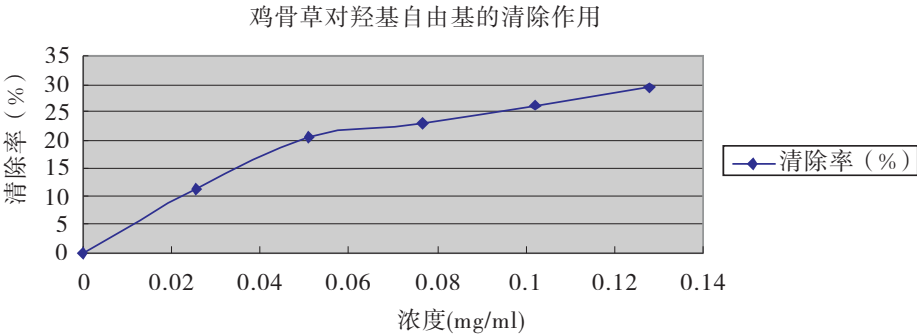


图 2 鸡骨草多糖浓度与清除率的变化关系

从图 2 中可看出，鸡骨草多糖溶液对由 Fenton 体系产生的 ·OH 有一定的清除作用，随着鸡骨草多糖浓度的增加，对 ·OH 的清除能力也增强。说明鸡骨草多糖与 ·OH 的清除有一定的量效关系，即鸡骨草多糖浓度增加时，其清除率也增大。

3 结论与展望

广西壮药鸡骨草中含有一定量的多糖，其多糖提取率为 0.617%，回收率为 98.64%，RSD=0.346%（n=5）。广西壮药鸡骨草多糖对 ·OH 具有较好的清除作用，而且在一定范围内呈现良好的量效关系。

广西壮药鸡骨草多糖所具有的抗氧化活性使其有望作为天然抗氧化剂而得到很好的开发应用，本研究将为进一步促进广西壮药鸡骨草植物资源的开发利用提供科学依据。

参考文献:

- [1] 黄飞, 梁智群. 对山楂叶中多糖活性成分的分离提取研究 [J]. 广西轻工业, 2006 (6): 45 - 46.
- [2] 刘培勋, 高小荣, 徐文清, 等. 银耳碱提多糖抗氧化活性的研究 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21 (4): 35 - 37.
- [3] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版: 一部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 135.
- [4] 郭巧牛. 药用植物栽培学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 41.
- [5] 刘成梅, 万茵, 涂宗财, 等. 百合多糖脱蛋白方法的研究 [J]. 食品科学, 2002, 23 (1): 89 - 90.
- [6] 崔红华, 李超英. 用苯酚-硫酸法测定人参多糖含量的研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6 (2): 24 - 25.
- [7] 赵云涛, 国兴明, 李付振. 金樱子多糖的抗氧化作用 [J]. 生物学杂志, 2003, 20 (2): 23 - 24.
- [8] 刘志成. 艾叶中黄酮和多糖的提取及分析 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2009.
- [9] 莫丽玲, 肖词英, 黄锁义, 等. 八角叶总黄酮的提取及其捕获自由基作用研究 [J]. 中国野生植物资源, 2011, 30 (1): 50 - 53.

广西茉莉花根总黄酮的抗氧化性研究

梁绍兰¹，周金花¹，林瑶²，吕龙祥^{2,3}

(1. 右江民族医学院 2009 年级药学系本科 1 班；2. 右江民族医学院药学院；
3. 广西中医药大学药学院)

指导老师：黄锁义

【摘要】目的：测定广西茉莉花根总黄酮含量和研究其总黄酮的抗氧化性，为充分利用茉莉花资源提供理论依据。**方法：**以 95%乙醇作为溶剂，利用超声辅助法提取广西茉莉花根中黄酮类物质；采取紫外分光光度法测定其总黄酮的含量和对 DPPH· 的清除能力；分别采用邻苯三酚自氧化法和水杨酸法研究其总黄酮提取液清除 $O_2^- \cdot$ 和 $\cdot OH$ 的效果，以及利用普鲁士蓝法测定其总黄酮还原 Fe^{3+} 的能力。**结果和结论：**测得样品中总黄酮含量为 0.0320 mg/ml，回收率为 98.6%。茉莉花根总黄酮提取液具有较强的清除 DPPH·、 $O_2^- \cdot$ 和 $\cdot OH$ 的作用，以及还原 Fe^{3+} 的能力。

【关键词】 超声辅助法；广西茉莉花根；总黄酮；抗氧化性；清除

黄酮属于酚类化合物，植物中的黄酮大体上可分为黄酮类与黄烷酮类两大类物质。已知化学结构的黄酮类物质至少有 8000 余种，其中包括人们熟知的茶多酚（儿茶素）、大豆异黄酮（染料木素与黄豆苷）和来自柑橘的橙皮苷与柚苷等。据文献记载，黄酮类化合物具有降低心肌耗氧量、使冠脉和脑血管的血液流量增加、软化血管、降血糖和血脂等作用，同时它还是一种天然的抗氧化剂，具有清除人体中超氧离子自由基、抗衰老、增加机体免疫力的生理活性^[1]。

茉莉花属木樨科，是一种常绿攀援灌木，性喜炎热、高温，在我国广东、福建、浙江等南方诸省均有广泛栽培。目前，我国茉莉花的种植主要集中在广西横县，有“中国茉莉之乡”之称。有文献记载，茉莉花、叶、根均可作药用，其根性温、味苦，有毒，具麻醉、安眠、止痛之功。茉莉根化学成分比较复杂，主要含有挥发油、脂肪酸、脂肪醇、黄酮、木脂素、环烯醚萜苷等各种类型的化合物^[2]。研究表明，茉莉花根石油醚、氯仿、丙酮提取物对小鼠催瘾后戒断反应有非常好的治疗作用，而水提取物和醋酸乙酯提取物也有一定的治疗作用^[3]。目前，对横县茉莉花根总黄酮提取液抗氧化性的研究尚未见报道，故本试验对横县茉莉花根总黄酮提取液抗氧化性进行了研究，旨在为开发利用茉莉花根总黄酮的药理价值提供依据。

1 原料、试剂与仪器

1.1 原料与试剂

茉莉花根干品（采自广西南宁市横县），芦丁标准品（批号 100080-200707，中国药品生物制品检定所），DPPH（美国 Sigma 公司）。乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、磷酸二氢钾、三氯乙酸、氯化铁、铁氰化钾、邻苯三酚、盐酸、三羟甲基氨基甲烷、过氧化氢、硫酸亚铁、水杨酸等均为分析纯。

1.2 仪器

HC·TP12A-1 架盘药物天平（北京医用天平厂）；2085 电子天平（上海民桥精密科学仪器有限公司）；KQ5200DB 型数控超声波清洗器（昆明市超声仪器有限公司）；HHS-21-4 电热式恒温水浴锅（箱）（江苏金坛宏凯仪器厂）；ZKJ-1002 循环水式真空抽气泵（上海嘉鹏科技有限公司）；RE-52AA 旋转蒸发器（上海安亭实验仪器有限公司）；722N 型紫外-可见分光光度计（上海精密科学仪器有限公司）。

2 方法

2.1 茉莉花根总黄酮的提取

称量茉莉花根干品粉末约 6 g，置蒸馏烧瓶中，加入 95% 乙醇 80 ml，在 78℃ 温度下超声波提取 2.5 h，抽滤。滤渣以同法提取 2.5 h 后抽滤，两次滤液合并，用旋转蒸发仪浓缩至一定的体积，将浓缩液转入 100 ml 容量瓶中，用 60% 乙醇稀释至刻度，得样品液。

2.2 茉莉花根总黄酮含量的测定

2.2.1 波长的确定

取样品液适量，在 5% 亚硝酸钠溶液 0.30 ml 存在的碱性条件下，加入硝酸铝后，以试剂作空白参比液在 420~700 nm 波长范围确定络合物的吸光度。本实验中络合物于 420 nm 波长处有最大吸收，故测定时选用此波长。

2.2.2 标准曲线的绘制

分别精确量取芦丁对照液（0.10 mg/ml）0.00 ml、0.50 ml、1.00 ml、2.00 ml、3.00 ml、4.00 ml、5.00 ml 置 10 ml 容量瓶中，分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.30 ml，摇匀，静置 6 min；再加 10% 硝酸铝溶液 0.30 ml，摇匀，静置 6 min；再加 4% 氢氧化钠溶液 4 ml，用 60% 乙醇稀释至刻度，摇匀，静置 12 min，以试剂作空白参比液，于 420 nm 波长处测其吸光度，以对照品浓度为横坐标，吸光度为纵坐标做标准曲线，建立回归方程，结果见表 1 和图 1。

表 1 紫外-可见分光光度计测芦丁对照液吸光度

浓度 (mg/ml)	0.00	0.005	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
吸光度	0.000	0.072	0.141	0.255	0.372	0.484	0.623

根据上表得回归方程 $y=12.023x+0.0144$, $r^2=0.9992$

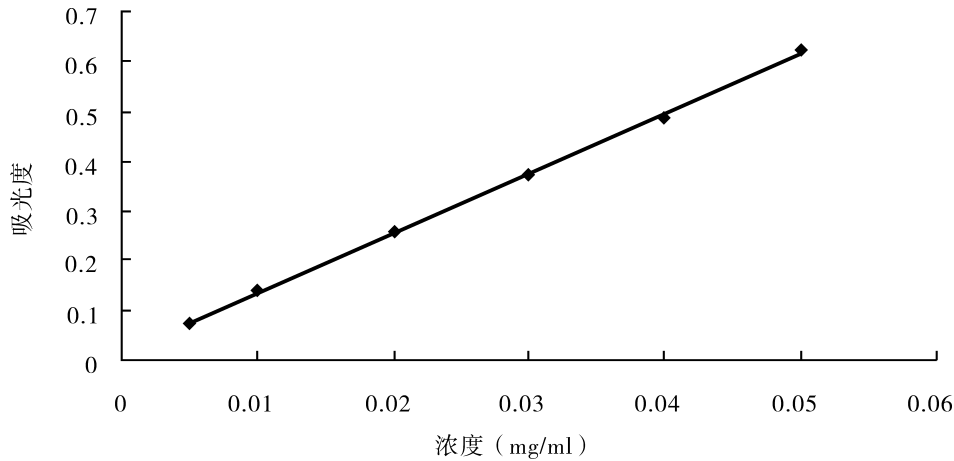


图 1 芦丁对照液的标准曲线

2.2.3 提取物含量的测定

精密吸取样品液0.50 ml, 置10 ml容量瓶中, 按照标准曲线的制备方法测定吸光度 $A=0.399$, 根据回归方程 $y=12.023x+0.0144$, 计算样品中总黄酮的含量 $C=0.0320$ mg/ml。

2.2.4 回收实验

精密量取样品液1.00 ml, 加入标准芦丁对照液1.00 ml (0.10 mg/ml), 同前样品测定方法操作, 测定吸光度, 求出回收率为 98.6%。

2.3 茉莉花根总黄酮抗氧化性测定

2.3.1 清除 DPPH 自由基能力

DPPH· 是一种稳定的自由基, 与抗氧剂发生反应, 提供 H 被还原, 颜色发生变化, 由深紫色变为淡黄色, 可用紫外分光光度法定量测定。以高浓度逐渐稀释的方式检测不同浓度样品溶液对自由基的清除率, 以自由基清除率为 50% 时样品的浓度 (IC_{50}) 来衡量样品对自由基的清除能力。 IC_{50} 越小, 表明样品清除自由基的能力越强。

方法: 取 5 支 10 ml 具塞比色管, 分别加入新配制的 DPPH 溶液 (6×10^{-4} mol/L) 0.50 ml 和不同体积的样品液, 无水乙醇定容至 5 ml, 室温暗光下反应 30 min, 在 517 nm 波长处测定其吸光度, 结果如图 2 所示。

$$\text{清除率}(\%) = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100\%$$