

槐花米中清除自由基活性成分的提取及其性能研究

潘英明¹, 梁 英², 王恒山¹, 韦小芳¹, 朱金婵¹, 朱志仁¹

(1. 广西师范大学化学化工学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林电子工业学院八系, 广西 桂林 541004)

摘要:用体积分数 75% 的乙醇提取了槐花米中具有清除自由基活性的粗提物, 然后用碱提酸沉法从槐花米中提取了芦丁, 并制备了芦丁的水解产物槲皮素。测定了不同质量浓度的粗提物、芦丁和槲皮素对 DPPH 自由基的清除能力, 它们对 DPPH 自由基均有良好的清除作用, 清除能力大小顺序为: 槲皮素 > 粗提物 > 芦丁 > BHT; 0.5 mg/mL 的槲皮素、芦丁、粗提物对 DPPH 自由基的最高清除率分别为 83.75%、80.16%、80.89%; 而 1.0 mg/mL 的槲皮素最高清除率可高达 88.95%。

关键词:槐花米; 芦丁; 槲皮素; 自由基

中图分类号: Q946.833

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2006)S1-0188-03

Study on separation and free radical scavenging activities of components from *Sophra japonica*

PAN Ying-ming¹, LIANG Ying², WANG Heng-shan¹, WEI Xiao-fang¹, ZHU Jin-chan¹, ZHU Zhi-ren¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;

2. The Eighth Department, Guilin Institute of Electronic Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: *Sophra japonica* was extracted with 75% of alcohol to give crude extraction. Subsequently, rutin was separated, and quercetin was prepared by hydrolyzing rutin. Then free radical scavenging activities of them were tested with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), and compared with BHT. The results indicated that crude extraction, rutin and quercetin showed strong free radical scavenging activities. The capability of DPPH radical scavenging was as follows: quercetin > crude extraction > rutin > BHT. When the concentration was 0.5 mg/mL, the scavenging rate of quercetin, rutin and crude extraction would reach 83.75%、80.16% and 80.89%, respectively. When the concentration was 1.0 mg/mL, the scavenging rate of quercetin would reach 88.95%.

Key words: *Sophra japonica*; rutin; quercetin; free radical

近年来自由基在食品氧化变质及人体诸种疾病中的作用越来越引起人们的重视^[1-4], 研究者一直寻找能够有效清除自由基而无副作用的物质添加于化妆品中(如 SOD)、食品和医药工业中, 而从天然动植物, 尤其是从具有悠久历史的中草药中寻找高效的自由基清除剂更是引起了研究者及化妆品厂商的极大兴趣^[5-7]。黄酮类化合物广泛存在于植物中, 是常见植物和中草药的主要抗氧化成分, 现已发现黄酮类化合物具有多种生理功能和药用价值, 如保护心脑血管、保肝、抗菌消炎、抗辐射和抗肿瘤等^[8-10], 其中引起人们高度重视的是其清除自由基的作用, 使该研究成为近年来国内外热点之一。槐花(*Sophra japonica* L.)为豆科槐属植物槐的干燥花及花蕾, 前者习称为“槐花”, 后者习称为“槐米”, 原

产于我国北部, 华南及西南地区亦产, 其成份主要有芸香甙, 有少量的槲皮素(quercetin)、山柰酚, 微寒, 味苦, 归肝、大肠经, 用于便血、痔血、血痢、崩漏、吐血、肝热目赤、头痛眩晕、痈疽疮毒^[11], 其凉血、止血、清肝泻火的主要有效成分为芸香甙, 即芦丁(rutin)。笔者研究了槐花米粗提物、芦丁及其水解物槲皮素对自由基的清除作用, 并探讨了它们代替 BHT 作为自由基清除剂的可能性。

1 实验部分

1.1 主要原料和仪器

槐花米购于桂林药材公司; 二苯代苦味酰自由基(DPPH), SIGMA 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

UV-1100 紫外可见分光光度计; RE-52AA 旋

收稿日期: 2005-11-24

基金项目: 国家自然科学基金(30460153, 20361002)资助; 广西教育厅科研项目

作者简介: 潘英明(1972-), 男, 硕士, 副教授, 主要从事天然产物的研究与开发, panym2004@yahoo.com.cn。

转蒸发仪;DZF-150型数显小型真空干燥箱。

1.2 槐花米中清除自由基活性成分的提取

1.2.1 槐花米粗提物

称取10g槐花米粗粉,用 $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 75\%$ 的水溶液回流提取4h,旋转蒸发回收乙醇,蒸至圆底烧瓶中仅剩少量水,将其放于冰箱冷藏室过夜,即析出粗提物,减压抽滤,用少量冷的无水乙醇洗涤1~2次,抽干,即得干燥的槐花米粗提物,产率为4%。

1.2.2 芦丁的提取与精制^[12]

取槐花米140g于研钵中压碎,加蒸馏水800mL,直火加热,在不断搅拌下加石灰乳调pH至8~8.5,升温到80℃,加硼砂3.2g,搅拌后直火加热至沸,再放入95℃水浴中保温50min,趁热抽滤,得滤液。如法再提取1次,合并滤液,用 $\varphi(\text{HCl}) = 10\%$ 的水溶液调pH至6.0~6.5,放置过夜,析出淡黄色晶体,倾去上清液,结晶抽滤后,先用pH=2盐酸溶液洗1次,再用冷蒸馏水洗3~4次,抽干,得芦丁粗品。

将芦丁粗品置于800mL烧杯中,加适量(约400mL)蒸馏水,再用石灰水调pH至8。加热煮沸数分钟,使充分溶解。趁热抽滤,滤液滴加3mol/L HCl调pH至7,放置18h以上,即析出沉淀。抽滤,并用少量蒸馏水洗涤沉淀2~3次,于45℃真空干燥,即得精制芦丁,产率2.14%,熔点176~177℃(文献值177~178℃^[12])。

1.2.3 槲皮素的制备^[12]

取精制芦丁2g,置于500mL圆底烧瓶中,加 $\varphi(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2\%$ 的水溶液150mL,于直火上加热煮沸30min(要补充蒸发掉的水分),析出的黄色沉淀为槲皮素,趁热抽滤,沉淀经水洗后再用95%乙醇重结晶1次,得黄色针状结晶,产率20%,熔点314~315℃(文献值313~314℃^[12])。

1.3 对DPPH自由基的清除作用^[4]

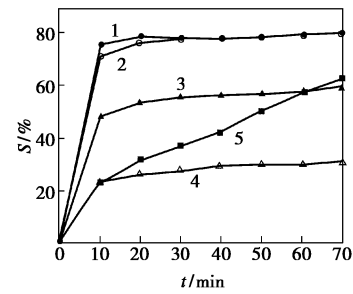
将样品质量浓度分别为0.1、0.25、0.5、1.0mg/mL的乙醇溶液0.2mL,加到8mL $\rho(\text{DPPH}) = 0.004\%$ 的乙醇溶液中。水浴28℃恒温,在515nm下测其吸光度,每10min测定一次,直至反应达到平衡(吸光度变化不大),同时测定不含提取物的空白样品吸光度,按计算清除率 $S(\%) = (1 - A_{\text{样品}}/A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 值,作 $S-t$ 图。

2 结果与讨论

2.1 槐花米粗提物对DPPH自由基的清除作用

图1是不同质量浓度的槐花米粗提物对DPPH

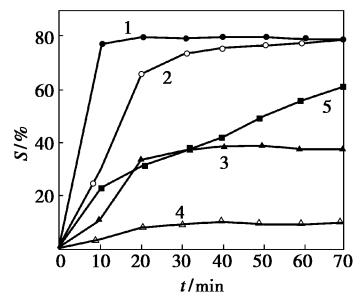
自由基的清除能力,可知槐花米粗提物清除自由基的能力很强,清除率随质量浓度及时间的增加而增大。在加入10min时各浓度粗提物的清除率均接近其最大值,而二丁基羟基甲苯(BHT)要达到最佳清除效果则需要较长时间(70min以上)。0.5mg/mL粗提物已能达到了最佳清除效果。总的来说,槐花米粗提物对DPPH自由基的清除能力远强于BHT。



1—1.00 mg/mL; 2—0.50 mg/mL; 3—0.25 mg/mL;
4—0.10 mg/mL; 5—0.50 mg/mL
1~4为粗提物,5为BHT

图1 不同质量浓度的粗提物对DPPH的清除能力

2.2 芦丁对DPPH自由基的清除作用



1—1.00 mg/mL; 2—0.50 mg/mL; 3—0.25 mg/mL;
4—0.10 mg/mL; 5—0.50 mg/mL
1~4为芦丁,5为BHT

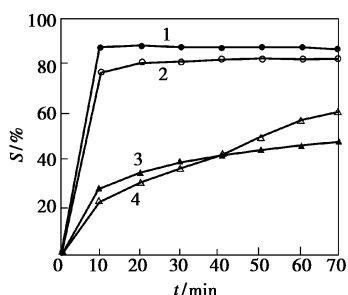
图2 不同质量浓度的芦丁对DPPH的清除能力

图2是不同质量浓度的芦丁对DPPH的清除能力。在加入20min时芦丁的清除率均接近其最大值,而BHT要达到最大清除效果则需要经过较长的时间,芦丁对DPPH自由基的清除能力强于BHT。从图2不难看出芦丁的清除能力随其质量浓度的增加而增大,这是由于芦丁含量增加,其活泼氢的数目增加。

2.3 槲皮素对DPPH自由基的清除作用

图3是不同质量浓度的槲皮素对DPPH自由基的清除能力,在加入40min内,各质量浓度的槲皮素清除自由基能力均大于0.5mg/mL的BHT,能在较短的时间内发挥最佳清除效果。还可看出槲皮素

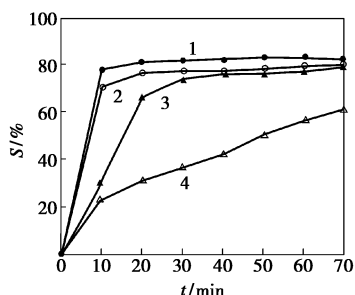
在较小的质量浓度时就可发挥最佳清除效果。对比图 2 和图 3 可知芦丁的水解产物槲皮素的自由基清除能力明显大于芦丁,原因是水解后芦丁形成糖甙键的酚羟基释放了出来,获得了更多的活泼氢,从而提供了更多的活性部位。槲皮素的清除能力随其质量浓度的增加而增大,其原理与芦丁相同。



1—1.00 mg/mL; 2—0.50 mg/mL; 3—0.10 mg/mL; 4—0.50 mg/mL
1~3 为槲皮素, 4 为 BHT

图 3 不同质量浓度的槲皮素对 DPPH 的清除能力

2.4 同浓度的不同物质对 DPPH 自由基的清除作用比较



1—0.50 mg/mL 槲皮素; 2—0.50 mg/mL 粗提物;
3—0.5 mg/mL 芦丁; 4—0.50 mg/mL BHT

图 4 0.5 mg/mL 各样品和 BHT 对 DPPH 清除能力

图 4 为同质量浓度的不同物质对 DPPH 自由基的清除能力。可知 0.5 mg/mL 的槲皮素、芦丁、粗提

物对 DPPH 自由基的最高清除率分别为 83.75%、80.16%、80.89%, 因此它们对自由基清除能力的强弱顺序为: 槲皮素 > 粗提物 > 芦丁 > BHT, 3 种提取物清除 DPPH 自由基的能力均强于 BHT。

3 结语

槐花米粗提物、芦丁、槲皮素具有良好的自由基清除能力, 对 DPPH 自由基的清除能力明显强于同质量浓度的 BHT。相同质量浓度下, 不同物质对 DPPH 的清除率大小顺序: 槲皮素 > 粗提物 > 芦丁 > BHT。槐花米的 3 种不同提取物都是效果良好的自由基清除剂, 用它们代替 BHT 是可行的, 又能避免 BHT 的毒性, 颇有应用前景。

参考文献

- [1] 孙丽芹, 董新伟. 脂类的自动氧化机理[J]. 中国油脂, 1998, 23: 56-57.
- [2] 郑荣梁. 自由基生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1992.
- [3] Hayaishi O, Imamura S. The Biological Role of Reactive Oxygen Species in Skin[M]. Tokyo: University of Tokyo Press, 1987: 37-41.
- [4] 潘英明, 张晓璞, 朱金婵, 等. 虎杖中抗氧化成分的提取分离及其活性研究[J]. 精细化工, 2005, 22(11): 69-72.
- [5] Pan Y M, Liang Y, Wang H S, et al. Antioxidant activities of several Chinese medicine herbs[J]. Food Chemistry, 2004, 88: 347-350.
- [6] Wanasundara U N, Shahidi F. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oil[J]. Food Chemistry, 1998, 63: 335-342.
- [7] 潘英明, 梁英, 黄志清, 等. 苏木、紫草等五种中草药抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(1): 43-45.
- [8] 汤容, 樊瑞霞. 大豆异黄酮抗癌作用的研究进展[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(7): 435.
- [9] 赵保路. 自由基和天然抗氧化剂[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [10] Jankun J, Selman S H, Swiercz R, et al. Why drinking green tea could prevent cancer[J]. Nature, 1997, 387(6): 561.
- [11] 董艳芬, 李坚. 槐花的现代研究与临床应用[J]. 中医药信息, 2001, 18(6): 21-23.
- [12] 孙文基. 天然药物成分提取分离与制备[M]. 中国医药科技出版社, 1999: 357-358. ■

(上接第 187 页)

- [2] Degussa Aktiengesellschaft. Method for the asymmetric hydrogenation of alpha-ketocar-bonyl compounds to optically active alpha-hydroxycarbonyl compounds: US, 5177220[P]. 1993-01-05.
- [3] Alps Pharmaceutical Ind Co, Ltd. Optical resolution of DL-pantolactone: US, 4045450[P]. 1977-04-30.

- [4] 孔诚, 冯晓亮, 徐建忠, 等. α -羟基- β , β -二甲基- γ -丁内酯清洁生产工艺研究[J]. 上海化工, 2003, 28(1): 10-11.
- [5] 冯晓亮, 孔诚, 徐建忠, 等. 3-氨基丙醇合成新工艺研究[J]. 精细化工中间体, 2002, 32(5): 13-14.
- [6] A E C Societe de Chimie Organique et Biologique. Guanidine pantoate: US, 4167522[P]. 1979-09-11. ■