

大叶白麻根中化学成分的预实验 及其抗氧化能力探究^①

曹越^②

(青海大学医学院药理学系 西宁市昆仑路 16 号 810001)

摘 要 为给大叶白麻的合理利用提供理论依据, 对大叶白麻根中可能的化学成分进行了预实验。初步探索证明, 大叶白麻根中含有酚类、糖、多糖、苷类、有机酸、内酯类、香豆素、甾醇、三萜等化学成分。还对大叶白麻的根提取物运用 AB-8 型大孔树脂进行了纯化富集, 并对其中两个主要馏分采用 DPPH · 和 O_2^- · 自由基体系和亚硝酸盐体系进行了抗氧化性能研究。结果表明这两个馏分对 DPPH · 和亚硝酸盐具有较好的清除作用, 且清除作用随着二者的用量的增加而增强。另外, 这两个馏分对 O_2^- · 自由基体系也有较好的清除作用, 且清除作用略强于维生素 C。

关键词 大叶白麻根; 预实验; 抗氧化; DPPH · ; O_2^- · ; 亚硝酸盐

中图分类号: O657.32 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2011)04-4916-06

1 引言

大叶白麻[*Pocynum hendersonii* (Hook. f) Wodson.], 俗称大花罗布麻, 夹竹桃科白麻属多年生草本植物, 与罗布麻属的罗布红麻(*Pocynum venetum*.)、白麻属的白麻(*P. pictum*)被人们统称为罗布麻^[1,2]。因其具有延缓衰老、降压、降脂、抗感冒、镇静安神等功效^[3-6], 大叶白麻叶目前已被广泛应用于药用保健业。鉴于此, 目前与大叶白麻相关的研究大都集中于大叶白麻叶。研究表明, 大叶白麻叶中含有黄酮、木脂素、香豆素、萜类和维生素等成分, 主要成分为黄酮^[7-10]。但到目前为止, 大叶白麻根中化学成分的提取分离及相关活性的研究还未见报道, 为此本研究首先采用系统预实验方法对大叶白麻根中化学成分进行了初步探究, 研究表明大叶白麻根中可能含有酚类、糖及其甙类、有机酸、内酯、香豆素及其甙、甾体、萜类物质等化学成分。另外还运用 AB-8 型大孔树脂对大叶白麻的根提取物进行进一步纯化, 并以纯化后的两个主要馏分为研究对象, 采用 DPPH 和 O_2^- · 自由基体系和亚硝酸盐体系, 对大叶白麻根的抗氧化性能进行了考察, 以期能为大叶白麻的进一步开发利用提供有益的数据支持。

2 实验部分

2.1 实验材料

实验用大叶白麻根于 2008 年 8 月中旬采摘于青海格尔木地区。

2.2 主要试剂

化学成分预试验: 95% 乙醇、盐酸、乙醚、对硝基苯胺、亚硝酸钠、次硝酸铋、碘化钾、硫酸铜、酒

① 青海省科技厅资助项目(2010-H-806)

② 联系人, 手机: (0) 18997089398; E-mail: caoyueqhyxy@163.com

作者简介: 曹越(1964—), 男, 西宁市人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物的研究开发工作。

收稿日期: 2010-01-13; 接受日期: 2011-03-08

石酸钾、氢氧化钾、氯化钠、白明胶、3,5-二硝基苯甲酸、苦味酸、三氯化铁、碳酸钠、氢氧化铵、硫酸、茛三酮、 α -萘酚、镁粉、硼酸、丙酮、枸橼酸、氢氧化钾、氯仿、硫酸钠、冰醋酸、盐酸羟胺、铁氰化钾、甲基红、甲基橙、石蕊、磷钼酸、三氯化铝、醋酸酐均为国产分析纯。

抗氧化性实验: 1,1-二苯基苦基苯肼自由基(DPPH $\cdot$, 美国 Sigma 公司); 无水乙醇、硫酸亚铁、水杨酸、浓盐酸、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、邻苯三酚(焦性没食子酸)、亚硝酸钠、柠檬酸、磷酸氢二钠、对氨基苯磺酸、盐酸萘己二胺等均为国产市售分析纯。实验用水为超纯水(LTLD-5 型实验室专用超纯水机, 沈阳莱特莱德水处理系统有限公司)。

2.3 主要仪器

ZF-2 型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂); AL-104 精密电子天平(上海精密仪器有限公司); HH-1 恒温水浴锅电子恒温水浴锅(上海鑫培仪器设备有限公司); 101 型电热鼓风干燥箱(江苏省吴江市庆霞烘箱电炉制造有限公司); Cary-300 紫外可见分光光度计(美国 Varian 公司); AB-8 型大孔树脂(天津南开大学化工厂)。

2.4 实验方法

2.4.1 大叶白麻根中化学成分预试验方法

2.4.1.1 预试样液制备

取干燥大叶白麻根粉碎后过 20 目筛, 用于制备以下不同提取液。

(1) 冷水提取液(A): 取大叶白麻根粉 2g, 加入 20mL 水, 室温浸泡过夜, 滤取 10mL 滤液供检试氨基酸、多肽和蛋白质等。

(2) 热水提取液(B): 冷水提取液余液及残渣在 50—60℃ 水浴上温浸 0.5h 后抽滤, 滤液供检试糖、多糖, 皂甙、甙类、酚类, 有机、鞣质等成分。

(3) 乙醇提取液(C): 取大叶白麻根粉 5g, 加无水乙醇约 50mL, 水浴回流 15min, 过滤滤液浓缩至 1/2, 供检试黄酮、蒽醌、香豆素, 强心甙、内脂、甾体萜类等。

(4) 酸性乙醇提取液(D): 取大叶白麻根粉 5g, 加无水乙醇约 50mL, 水浴回流 15min, 浓缩至浆状以 2% HCl 10mL 溶解成酸性溶液, 供检试酚类、有机酸、生物碱等。

(5) 石油醚提取液(E): 取大叶白麻根粉 5g, 加乙醚 50mL, 水浴回流 20min, 过滤, 供检试内脂和挥发油等。

(6) 甲醇提取液(F): 石油醚处理过的材料, 用甲醇 20mL 回流提取 10min, 趁热过滤, 供检试黄酮甙、蒽醌甙、强心甙等。

2.4.1.2 系统预试法^[11, 12]

采用化学成分预实验的方法对大叶白麻根提取物的化学成分进行定性鉴定, 具体采用试管法和圆形滤纸层析法。

2.4.2 大叶白麻根提取物的抗氧化性试验

2.4.2.1 根提取物的制备

取烘干、粉碎的大叶白麻根 500g, 于 70℃ 下用 75% 乙醇回流提取 3 次, 合并提取液, 水浴 60℃ 下减压蒸干溶剂, 得浸膏 56g。取 20g 上述浸膏用 AB-8 型大孔树脂进行吸附, 以 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 的乙醇进行梯度洗脱, 分别得浸膏 0.7, 5.7, 6.5, 0.4, 0.2g, 取产率较高的 30%, 50% 部分进行抗氧化活性检测, 其中经 30%, 50% 的乙醇洗脱所得的浸膏分别被命名为 PH-3, PH-5。

2.4.2.2 大叶白麻根提取物对 DPPH · 抑制率测定^[13]

准确吸取不同质量浓度的 PH-3, PH-5 及维生素 C 水溶液 2mL, 加入 4mL 5×10^{-5} mol/L DPPH · (用无水乙醇溶解) 溶液, 摇匀后静置 30min, 以样品溶液做对照, 测 517nm 处的吸光度值 A , 同时测定样品溶液在 517nm 处的 A_0 , 空白对照液溶液在 517nm 的 A_1 , 按下列公式计算其清除率。

$$\text{清除率}\% = (1 - \frac{A - A_0}{A_1}) \times 100\%$$

式中: A —— 样品组与 DPPH · 溶液混合后的吸光度值; A_0 —— 样品本身的吸光度; 以蒸馏水代替显色剂; A_1 —— DPPH · 溶液的吸光度值。

2.4.2.3 大叶白麻根提取物对 O_2^- · 清除率的测定^[14, 15]

在 25mL 的比色管中加入 3mL Tris-HCl 缓冲液(pH= 8.2), 1mL 不同质量浓度的沙棘果粉溶液, $25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴平衡 20min 后, 加入 0.3mL 7mmol/L 的邻苯三酚准确反应 4min, 加入 1mL 10mol/L 的 HCl 终止反应, 在 322nm 处测 A 。同时测定样品溶液在 322nm 处的 A_0 , 空白对照液在 322nm 的 A_1 , 按如以下方法计算清除率。

$$\text{清除率}\% = [A_0 - (A - A_1)] / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 —— 空白对照液的吸光度, 以蒸馏水代替样品液的吸光度; A —— 样品组的吸光度; A_1 —— 样品溶液本身的吸光度, 以蒸馏水代替显色剂的吸光度。

2.4.2.4 大叶白麻根提取物对亚硝酸盐清除率的测定^[16]

将 0.5mol/L 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液(pH= 3.0) 5.0mL 置于 25mL 比色管中, 加入 1mL 0.01% 亚硝酸钠溶液, 再分别加入 10mL 不同浓度待测液, 用水定容至刻度。37℃ 反应 1h。取 0.5mL 反应液于 50mL 容量瓶中, 加入 0.4% (质量分数) 的对氨基苯磺酸 1mL, 0.2% 盐酸 α -萘胺 1mL, 水 3.5mL, 摇匀放置 15min, 用分光光度计在 544nm 处测 A , 空白对照液在 322nm 的 A_1 , 按下列公式计算其清除率。

$$\text{清除率}\% = (1 - \frac{A}{A_1}) \times 100\%$$

式中: A —— 样品加上显色剂的吸光度; A_1 —— 空白对照液, 以超纯水代替样品。

3 结果与讨论

3.1 系统预试结果

实验内容及结果见表 1。由表 1 可看出, 大叶白麻根中含有酚类、糖、多糖、苷类、有机酸、内酯类、香豆素、甾醇、三萜等物质。

3.2 大叶白麻根提取物对 DPPH · 自由基的清除作用

1, 1-二苯基苦基苯肼自由基(DPPH ·) 是一种很稳定的以氮为中心的自由基, 呈紫色, 在 517nm 处有一个特征吸收峰。当遇到自由基清除剂时, DPPH · 的孤对电子与自由基清除剂配对, 其颜色变浅, 在最大吸收波长处的吸光度变小。若受试物能将其清除, 则提示受试物具有降低羟自由基、烷自由基或过氧化氢自由基的有效浓度和打断脂质过氧化链反应的作用。

如图 1 显示, 大叶白麻根提取物的主要馏分 PH-3 和 PH-5 对 DPPH · 都有很强的清除作用, 与 Vc 的清除效果基本相仿, 其中 PH-5 对 DPPH · 的清除作用稍强于 PH-3。另外, 随着提取物浓度的增加, 两种馏分对于 DPPH · 自由基的清除作用迅速增强, 当各自的浓度达到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其对 DPPH · 的清除率分别为 94.2% 和 91.3%, 但当两种馏分的浓度大于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对

DPPH · 的清除作用变化不大。

表 1 大叶白麻根化学成分检测结果

成分类别	反应名称	正反应指标	现象
黄酮及其苷类	盐酸-镁粉实验	呈红色	-
	三氯化铝实验	荧光变黄或加深	-
	氨熏实验	呈黄色荧光	-
蒽醌类	碱性实验	加碱变红色, 酸化后红色退	-
	醋酸镁反应	呈红色	-
酚类	明胶实验	白色沉淀或浑浊	+
	三氯化铁实验	呈绿、蓝或暗紫色	+
香豆素、内酯类	异羟肟酸铁实验	呈紫色	+
	偶合反应	显红或紫色	+
	荧光实验	蓝色或绿色荧光	+
强心苷类	3, 5-二硝基苯甲酸实验	显红色或紫色	-
	碱性苦味酸实验	显红色或橙色	-
	亚硝酰铁氰化钠实验	显红色且红色逐渐且逐渐消失	-
生物碱类	KI 实验	无沉淀生成	-
	KI/I ₂ 实验	无沉淀生成	-
	碘化汞钾	无沉淀生成	-
	硅钨酸实验	无沉淀生成	-
甾醇, 三萜类	醋酸-浓硫酸实验	黄-红-紫-青-污绿色	+
	氯仿-浓硫酸实验	氯仿层显红色或青色, 硫酸层有绿色荧光	+
氨基酸, 多肽, 蛋白质	茚三酮实验	呈蓝、紫色	-
	双缩脲反应	呈紫、红色	-
	蛋白沉淀实验	有沉淀产生	-
糖, 多糖, 苷类	Fehling 反应	棕红色沉淀	+
	Molish 反应	形成紫红色环	+
有机酸	pH 试纸	pH< 7	+
	溴酚蓝实验	黄色斑点	+
挥发油油脂类检测方法	挥发油实验	有油状物, 有芳香味	-
	油脂检验	有气体和白色气体生成	-

注: “+”为正反应, “-”为负反应。

3. 3 大叶白麻根提取物对碱性邻苯三酚体系产生的 O₂⁻ · 的清除作用

生物体内的氧化还原反应中, 大约有 2%—5% 的氧会产生 O₂⁻ ·, O₂⁻ · 是活性氧的一种, 是机体内寿命最长的自由基, 通常作为自由基链式反应的引发剂, 产生活性更强的 H · 自由基, 进一步给机体造成危害。本文通过邻苯三酚自氧化产生 O₂⁻ ·, 来考察大叶白麻根两种主要馏分对 O₂⁻ · 的清除作用。结果如表 2 所示, 两种馏分对于 O₂⁻ · 的清除作用不呈现量效关系, 但二者的清除效果略强于 Vc。

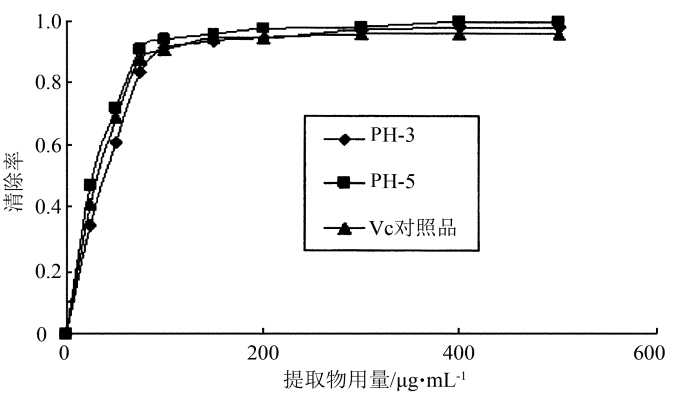


图 1 大叶白麻根提取物用量对 DPPH · 的清除率的影响

3. 4 大叶白麻根提取物对亚硝酸盐清除率的测定

亚硝胺是一类化学致癌物, 它能引起人和动物肝脏等多种器官的恶性肿瘤。正常情况下人们直接从食物中摄入的亚硝胺极少, 但亚硝胺的前体物质(亚硝酸盐)却大量存在于食物中, 其在人和动

物的胃中能合成亚硝胺。因此清除体内外的亚硝酸盐和阻断亚硝胺的合成是预防癌症发生的一条途径。为此本文以 Vc 为对照,测定了大叶白麻根提取物中两种不同馏分对亚硝酸盐自由基清除率(图 2)。在实验浓度范围内,Vc 及大叶白麻根提取物的两种馏分对亚硝酸盐的清除率与其质量浓度存在一定的量效关系,随着质量浓度升高二者对亚硝酸盐的清除率增加。当三者的质量浓度 < 0.5mg/mL 时,清除率随着浓度的增大而急剧增大;当三者质量浓度 > 0.5mg/mL,三者清除率的增加幅度开始变小。另外,大叶白麻根提取物的两种馏分对亚硝酸盐的清除率小于 Vc,其中 PH-5 对亚硝酸盐的清除率强于 PH-3,其 IC₅₀ 分别为 0.48mg/mL 和 1.07mg/mL。

表 2 大叶白麻根提取物对 O₂^{·-} 清除作用

提取物用量 (mg/mL)	清除率 (%)		
	PH-3	PH-5	Vc
0.2	70.2	65.6	49.7
0.3	68.8	57.2	59.4
0.4	61.2	57.8	62.9
0.5	65.7	62.3	61.5
1	65.5	62.2	60.6
2	58.2	49.8	51.3
3	56.8	54.6	49.9
4	43.6	64.3	54.7

4 结论

(1) 经化学成分预试验证实,大叶白麻根中可能含有酚类、糖、多糖、苷类、有机酸、内酯类,香豆素、甾醇、三萜等化学成分。

(2) 大叶白麻根提取物的两个主要馏分对 DPPH·自由基,超氧阴离子及亚硝酸盐均具有较强的清除能力,其清除作用与 Vc 具有一定的可比性。其中,两个馏分对 DPPH·自由基和亚硝酸盐的清除率与其浓度成正相关,随着根提取物浓度的增大而增强;两个馏分对超氧阴离子也具有较强的清除作用,其清除能力与浓度不存在量效关系。上述实验表明大叶白麻根中含有抗氧化物质,具有较强的抗氧化能力,说明我们大叶白麻的根提取物可能是一种天然抗氧化剂的新资源,值得进一步深入研究。

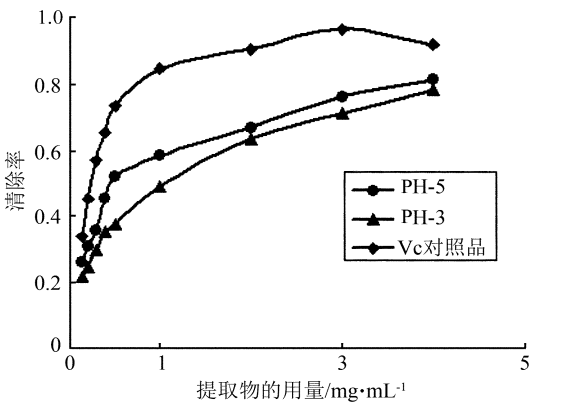


图 2 大叶白麻根提取物用量对亚硝酸盐清除作用的影响

参考文献

[1] 中国科学院植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1977. 157—165.

[2] 董正钧. 罗布麻[M]. 北京: 科学出版社, 1958.

[3] 顾振纶, 钱曾年, 王兆钺等. 大花罗布麻叶的药理学研究-I -对血小板聚集性的影响[J]. 中成药, 1989, 11(11): 28—30.

[4] 钱增年, 顾振纶, 金黎清等. 大花罗布麻的药理学研究-III对心血管系统的影响[J]. 中成药, 1991, 13(7): 27—29.

[5] 钱曾年, 顾振纶, 方几希等. 大花罗布麻叶的药理学研究-II 大花罗布麻叶延缓衰老作用的实验观察[J]. 中成药, 1990, 12(3): 28—31.

[6] 李洪波, 李玉红. 野生纤维之王-罗布麻[J]. 山东纺织经济, 2006, (4): 80—81.

[7] 魏锦萍. 大叶白麻化学成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(9): 1304—1306.

[8] 雷振环, 台玉山, 田瑞华等. 大叶白麻叶化学成分的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报, 2002, 18(1): 99—100.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

- [9] 张云峰, 魏东, 郭祀远等. 大花罗布麻叶化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(6): 954—957.
- [10] 胡碧煌, 田珍, 楼之岑等. 大叶白麻叶中黄酮甙的分离和鉴定[J]. 植物学报, 1988, (5): 565—568.
- [11] 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分的研究(第一分册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1972. 924.
- [12] 中国科学院上海药物研究所. 中草药有效成分提取与分离[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983. 9—19.
- [13] 杨怀霞, 马庆一, 吴平格. DPPH·法评价葡萄籽提取物淬灭自由基的方法研究[J]. 河南科学, 2004, 22(6): 765.
- [14] 吴春, 陈林林. 菟丝子黄酮体外清除自由基活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 553—556.
- [15] 吴雪辉, 张喜梅, 李廷群等. 板栗花粗提物的抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2008, 24(1): 14—19.
- [16] 薛长晖, 王佩维, 姚晨之. 苦荞粉提取液对 NO₂ 清除作用的体外试验研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2002, (10): 48—49.

Preliminary Experiment of Chemical Components in the Root of *Poacynum Hendersonii*(Hook. f) Wodson. and Antioxidant Activity

CAO Yue

(Medical College of Qinghai University, Xining 810001, P. R. China)

Abstract The preliminary experiment of the possible components in root of *Poacynum hendersonii*(Hook. f) Wodson. was established in order to provide the basis for optimal use. The main components in root of *Poacynum hendersonii* (Hook. f) Wodson. were phenolic compounds, monosaccharide, polysaccharide, glycosides, organic acid, inner ester, coumarin, steroids, triterpenes and so on. The crude extracts of *Poacynum hendersonii*(Hook. f) Wodson. root were purified by the AB-8 macroporous resin, and antioxidant activities of the two main fractions were investigated by free radicals system of DPPH· and O₂⁻· and sodiumnitrite free radical. The two fractions had strong scavenging effects on DPPH· radical and sodiumnitrite free radical, and scavenging effects of them had positive correlation to the amount. What is more, these two fractions also had good scavenging effects on the superoxide anion free radical, and the scavenging effects were stronger than that of vitamin C.

Key words *Poacynum Hendersonii*(Hook. f) Wodson.; Preliminary Experiment; Antioxidant Activities; DPPH·; O₂⁻·; Sodiumnitrite Free Radical

招聘启事

本刊招聘“沉潜专注 甘于寂寞”的编辑 1 名

因工作需要, 本刊招聘编辑 1 名, 条件如下:

1. 大学化学或物理学本科(包括同等学力, 博士, 硕士)毕业, 成绩良好;
2. 身体健康, 不吸烟, 对人诚实、守信、和善;
3. 工作认真负责, 任劳任怨, 勤奋节俭, 热爱科学, 沉潜专注, 甘于寂寞;
4. 不限户口, 性别, 年龄, 民族, 党派, 信仰等。

免费提供在北京市住宿, 工资 3000—5000 元/月, 上保险。有意者, 请将本人简历发至 氵谱实验室编辑部电子邮箱: gpsys@periodicals.net.cn。

氵谱实验室编辑部