

夏桑菊提取物对自由基的清除作用^①

马 稳^② 吴香梅^a 张凯歌

(信阳师范学院化学化工学院 河南省信阳市长安路 237 号 464000)

^a 商丘职业技术学院 河南省商丘市 476000)

摘 要 探讨夏桑菊提取的最佳工艺条件, 并比较提取物在不同提取剂中对羟自由基的清除作用。结果表明夏桑菊提取物除石油醚层外, 对羟自由基都有一定的清除作用, 其中乙酸乙酯提取物清除作用最强。

关键词 夏桑菊; 提取物; 羟自由基

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)05-2313-04

1 引言

自由基是生物在氧化代谢过程中不断产生的物质, 羟自由基是目前所知道的活性氧中对生物体毒性最强, 危害性最大的一种自由基, 羟自由基清除率是反映药物抗氧化作用的重要指标^[1,2]。夏桑菊是由夏枯草、冬桑叶和甘菊混合而成, 源自清代著名温病学家吴鞠通《温病条辨》的经典名方“桑菊饮”^[3]。夏桑菊的提取物中含挥发油、黄酮类及氨基酸、微量元素等, 具有降血压, 扩张冠状动脉, 防止冠脉粥样硬化等作用, 是一类天然有机抗氧化剂, 清除自由基的检测评价方法有许多, 如电子顺磁共振法, 电子自旋共振法, 发光法^[4-6]等, 这些方法一般需要昂贵的设备和复杂的自由基捕集技术。本文用乙醇从夏桑菊中提取具有抗氧化作用的物质, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇提取, 以吸光度大小比较不同体系对自由基的清除作用。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

95%乙醇、无水乙醇、硫酸亚铁、水杨酸、双氧水、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等均为分析纯; 夏桑菊颗粒(河南羚锐制药有限公司信阳分公司, 批号: 060804, 060808, 060721)。实验用水为由UPW-25N型超纯水器(北京普析通用仪器有限公司)制备的超纯水。

SartoriusBS210S 电子天平(北京赛多利安天平有限公司); T6-紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); 102 型电热恒温干燥箱(山东潍坊医药集团股份有限公司); DZKW-4 型电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司)。

① 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2006150023)

② 联系人, 手机: (0) 13567799315; E-mail: xymawen@126.com

作者简介: 马稳(1968—), 女, 河南省宁陵县人, 副教授, 主要从事仪器分析研究工作。

收稿日期: 2010-10-27; 接受日期: 2010-12-15

2.2 实验方法

2.2.1 探索提取有效成分的最佳固液比

分别称取 6 份 10g 夏桑菊颗粒, 研细, 依次按固液比(g/mL) 为 1:3、1:5、1:7、1:8、1:10、1:12 的比例加入 30、50、70、80、100、120mL, 75% 乙醇溶液于 80℃ 水浴回流 1.5h, 减压抽滤, 向滤渣中再加同样体积的 75% 乙醇溶液, 再次减压抽滤, 合并两次提取液, 减压蒸馏, 除去乙醇, 冷却后, 再用 20mL 乙酸乙酯溶解, 转移到 100mL 容量瓶中备用。

移取 9mmol/L FeSO_4 溶液 2mL、饱和水杨酸-乙醇溶液 2mL, 置于 25mL 小烧杯中, 向烧杯中加入备用液 2mL, 然后加入 2mL 9.8mmol/L H_2O_2 , 置于恒温(80℃) 水浴上加热 30min 后, 产生有色物质^[6]。用分光光度计在 520nm 处扫描, 比较吸光度大小得到最佳固液比。

2.2.2 探索提取有效成分的最佳乙醇体积百分数

称取 6 份 10g 的夏桑菊颗粒, 研细, 依次加入体积百分数为 95%、80%、75%、70%、60%、50% 乙醇溶液溶解样品, 80℃ 回流提取, 以下操作步骤按 2.2.1 节所述。测得各体系的吸光度, 得到最佳体积百分数。

2.2.3 探索提取有效成分的最佳温度

称取 6 份 10g 的夏桑菊颗粒, 研细, 按最佳固液比, 依次加入一定体积乙醇最佳体积百分数的溶液, 将体系分别在室温(29℃)、40、50、55、60、65℃ 恒温水浴锅 30min 后, 以下操作步骤如 2.2.1 节所述。测得体系的吸光度, 得到最佳反应温度。

2.2.4 比较不同提取剂中有效成分对自由基的清除功效

称取 10g 夏桑菊颗粒, 按上述探索的最佳条件加入乙醇溶液提取夏桑菊颗粒中有效成分。将试液冷却后依次用 20mL 乙酸乙酯、石油醚、正丁醇提取, 分别提取 3 次。将所得的提取液分别转移到 3 个 100mL 容量瓶中, 得到待测溶液。

移取 9mmol/L FeSO_4 溶液 2mL、饱和水杨酸-乙醇溶液 2mL, 置于 3 个 25mL 小烧杯中, 分别加入石油醚、乙酸乙酯、正丁醇的提取液 2mL, 然后加入 2mL 9.8mmol/L H_2O_2 产生有色物质。在体系最佳温度下恒温反应 30min 后, 测得各个体系的吸光度值 A_1 。考虑到夏桑菊提取物本身的吸光度, 另取 3 个同样的小烧杯, 分别移取 9mmol/L FeSO_4 溶液 2mL、饱和水杨酸-乙醇溶液 2mL, 并向 3 个烧杯中分别加入石油醚、乙酸乙酯、正丁醇的提取液 2mL, 不加入 H_2O_2 溶液, 分别以石油醚、乙酸乙酯、正丁醇为参比, 在 520nm 下测量各提取物溶液本底的吸光度 A_2 , 即空白试验 1。

另取两个小烧杯, 分别移取 9mmol/L FeSO_4 溶液 2mL、饱和水杨酸-乙醇溶液 2mL, 然后向其中一个烧杯中加入 2mL 9.8mmol/L H_2O_2 , 在 520nm 下测量加 H_2O_2 体系的吸光度 A_3 , 即空白试验 2, 不加 H_2O_2 的体系的吸光度 A_0 。表观羟自由基的产生量可用 $A_3 - A_0$ 表示。清除率的计算公式为: 清除率(%) = $[A_3 - (A_1 - A_2)] / (A_3 - A_0) \times 100\%$

3 结果与讨论

3.1 确定最佳实验条件

3.1.1 最佳固液比

按步骤 2.2.1 节所述的方法, 分别测定了按不同固液比体系, 将夏桑菊颗粒溶于不同体积 75% 乙醇反应体系的吸光度, 结果如图 1。从图中可以看出, 最佳固液比(g/mL) 为 1:7, 即加入乙醇体积 70mL。

3. 1. 2 所用乙醇最佳百分数

按步骤 2. 2. 2 节所述的方法, 将夏桑菊颗粒溶于不同体积百分数的乙醇溶液中, 测得反应体系的吸光度, 结果如图 2。从图中看出, 乙醇百分数为 80% 时有最大的吸光度值, 因此最佳体积百分数为 80%。

3. 1. 3 体系 最佳反应温度

按步骤 2. 2. 3 节所述的方法, 反应体系室温 (29℃)、40、50、55、60、65℃ 的恒温水浴中反应 30min, 并测量各个有色物质体系的吸光度。结果如图 3。从图中看出, 最佳反应温度为 40℃。

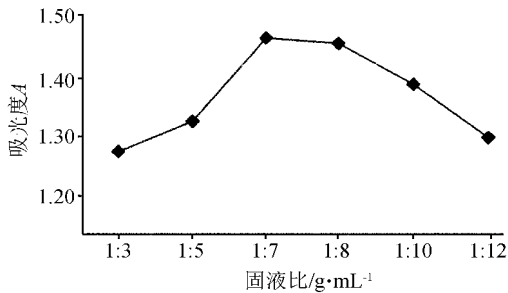


图 1 不同固液比体系的吸光度值

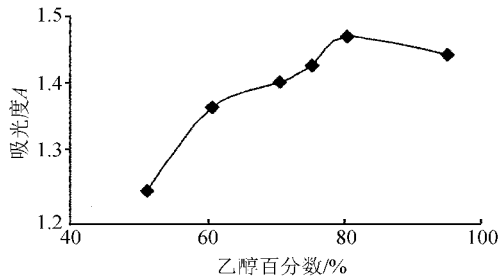


图 2 不同体积百分数的乙醇溶液体系吸光度值

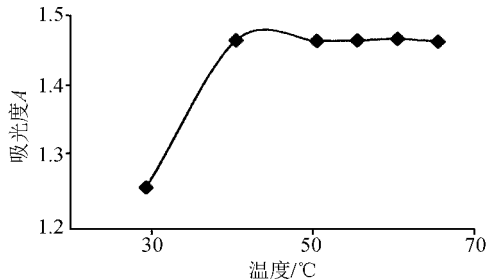


图 3 不同温度下体系吸光度值

3. 2 对自由基清除作用的比较

按步骤 2. 2. 4 节所述的方法, 测得不同提取剂中对自由基清除率, 结果如下表 1。

表 1 不同萃取溶剂对自由基清除作用的比较

样品质量(g)	提取剂	清除率(%)
10	乙酸乙酯	34
10	石油醚	0
10	正丁醇	10

4 结论

夏桑菊提取物各萃取部分除石油醚层外, 对羟自由基都具有一定的清除作用。其中乙酸乙酯提取部分的清除效果最佳。各提取部分对 $\cdot\text{OH}$ 清除作用的差异可能是因为提取液的极性不同, 其对夏桑菊提取物中抗氧化物质的溶解度不同, 所萃取的抗氧化物质的总量和种类也就不同, 导致了抗氧化能力的不同。夏桑菊的提取物中含有挥发油、黄酮等成分, 这些物质是清除活性自由基的活性物质。实验结果为进一步研究夏桑菊抗氧化有效成分提供了实验依据, 同时也为中药夏桑菊在临床中的应用提供了理论依据。

参考文献

[1] 莫简生. 医用自由生物学导论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 21—25.
[2] 韩鹤友, 何治柯. 羟自由基的分析研究进展[J]. 分析科学学报, 2001, 17(1): 83—87.
[3] 成喜雨, 崔馨, 刘春朝等. 中草药抗氧化活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, (18): 514—518.
[4] 付为琳, 孙桂菊. 菊花的有效成分、功效、提取工艺及开发前景[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 296—299.
[5] 欧阳娜娜, 李湘洲, 罗正. 不同预处理方法对银杏提取液清除 DPPH 自由基的比较研究[J]. 食品科技, 2008, (8): 155—156.
[6] 颜军, 郭晓强, 郭晓勇等. 银耳多糖的提取及其清除自由基作用[J]. 成都大学学报, 2006, 25(1): 35—38.

Scavenging Effects of Extraction from Xiasangju on Hydroxy Free Radical

MA Wen WU Xiang-Mei^a ZHANG Kai-Ge

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinyang Normal University, Xinyang, Henan 464000, P. R. China)

^a(Shangqiu Vocational and Technical College, Shangqiu, Henan 476000, P. R. China)

Abstract The best technological conditions of extracting effective form from xiasangju was studied, and the scavenging effects of extraction on hydroxy free radical in the different solvent were compared. The extractions from xiasangju had scavenging effects on hydroxy free radical, besides extraction of petroleum ether, and the scavenging effect of the ethyl acetate extract part was strongest.

Key words Xiasangju; Extraction; Hydroxy Free Radical

穷酸的西南联大与 3 位诺贝尔奖得主 ——真正意义上的世界一流大学

西南联大的历史,前后不过 8 年半(1937 年 9 月至 1946 年 5 月)。当年的物质条件可够穷酸的:学生宿舍无一砖一瓦,全是夯黄土为墙,堆茅草为顶,窗户没有一块玻璃,仅有几根树枝聊以象征。绝大多数师生经常是食不果腹,衣不蔽体,不时还要在敌机轰炸下逃生。在校学生不超过 2000。可是当年的西南联大,在三不管的地方,坚守大学理想,主张“教授是大学的灵魂”,实行“不妄用一钱,不妄用一人”;教师为爱国而教,学生为救国而学,吃红薯干,点桐油灯,以苦为乐;励精图治,弦歌不辍;为人师表,一身正气;人格独立,不党不官;不亢不卑,敢于批判;沉潜专注,甘于寂寞。一言以蔽之,“五·四”运动所倡导的“科学和民主”精神之传承与发扬光大也!因此,培养出 3 位诺贝尔奖得主——杨振宁和李政道,另一位则是朱棣文(其父朱汝瑾是联大助教,其姑朱汝华是教授——曾昭抡的得意门生)。

拥有国家一流的教授阵容;运行一套“思想自由,兼容并包”、纯粹研究学问的办学理念;推行一种通才教育的培养目标;有一位深孚众望的校长——这些因素奠定了西南联大堪称世界一流大学的基础。

西南联大身后的三校(北大、清华和南开),当今在校学生总数当在 60000—70000 之间,相当于当年的 30 多倍,三校校园内高楼大厦林立,与当年西南联大的茅屋草舍相比,真是天壤之别。所耗费的资金当在西南联大的数百倍以上。三校的年寿,从 1950 年算起,已有 59 年,若从改革开放算起,亦有 30 年,为当年西南联大寿命的 4 倍至 5 倍。以人力、财力和时间来看,都是当年西南联大无法望其项背的。以如此优越的条件和实力,却培养不出世界一流杰出的人才——60 年来无 1 人获得诺贝尔奖,其故安在!?

清华大学 1 位教授在美国访问时发现,世界一流的哈佛大学大门,却是十分古旧俭朴的:拱型的门洞是用红砖砌的,中间是铁制的大门,门框上面是三角形的尖顶。两边的围墙也是红砖砌的,中间是陈旧的铁制护栏。但是而今中国学校的大门,甭说大学,就是一些重点中学的校门,也比哈佛大学的壮观。在一些国人看来,似乎要成为世界一流大学、一流中学就在于校门以及办公大楼的气派和壮观!?

我国是世界最大的发展中国家(最大的穷国),美国是世界最大的发达国家(最大的富国)。这位清华大学教授还看到在这世界最大的富国中,名牌大学的办公大楼和办公家具仍是俭朴的:楼房大多是 3 层的,上个世纪的转盘电话和用过多年的木制家具还在使用。而在我们这个世界最大的穷国中的某些名牌大学,转盘电话和古朴的木制家具早已(淘汰)不见踪影!仿佛这些“过时”的东西,与名牌大学的“身份”太不相称了吧!。

清华大学前校长梅贻琦说过:“大学者,非谓有大楼之谓也,有大师之谓也”。靠浮华的“形象工程”能建成世界一流名牌大学吗?

早在两千多年前,古希腊哲学大师亚里士多德就说过,产生杰出的思想家和杰出发明家需要三个条件:一是对学问有真正的兴趣,二是有充分的思想自由,三是有充足的闲暇时间。

北京大学前校长蔡元培说过,“大学并不是贩卖毕业证的机关,也不是灌输固定知识的机关,而是研究学问的机关。所以,大学的学生并不是熬资格,也不是硬记教员讲义,是在教员指导之下自动地研究学问的。”“尤当养成学问家之人格”。“所以延聘教员,不但是求有学问的,还要求于学问上很有研究的兴趣,并能引起学生的研究兴趣的。”

这些学术大师是许多人、甚至一些大人物推崇备至的,但其办学理念在现实中却常弃之如敝屣,也许正是我们需要深刻反思的。(2011-05-06)

(本刊摘编自《随笔》杂志 2008 年第 2 期何兆武《关于诺贝尔奖情节》等文)