

11种中草药抗氧化活性 与黄酮含量相关性研究

杨利军, 田迪英

(浙江工商大学食品、生物与环境工程学院, 浙江杭州 310035)

摘要:测定了11种中草药的抗氧化活性及总黄酮含量,并比较了它们之间的相关性。结果表明:金银花的抗氧化活性最高,其余依次为山楂、银杏叶、葛根、杜仲、野菊花、黄芩、甘草、忍冬藤、鱼腥草、溪黄草;其抗氧化活性与总黄酮含量的相关系数为0.6088。

关键词:中草药, 抗氧化活性, 总黄酮, 相关性

Investigation on the relativity between flavonoid content and antioxidant activation for eleven kinds of Chinese herbal medicine

YANG Li-jun, TIAN Di-ying

(College of Food Science, Biotechnology & Environmental Engineering,
Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: The antioxidant activation and the content of flavonoid of eleven kinds of Chinese herbal medicine were measured, and the relativity between them was compared. Result showed that honeysuckle had the most antioxidant activation and the next were hawthorn, Folium Ginkgo, Radix Puerariae, Cortex Eucommiae, Wild Chrysanthemum, Baical Skullcap Root, Licorice Root, Caulis Lonicerae, Houttuynia Cordata, Linearstripe Rabdosia Herb. The relative coefficient reaches a value of 0.6088.

Key words: Chinese herbal medicine; antioxidant activation; flavonoid; relativity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)01-0119-03

中草药是我国特有的中医的理论与实践相结合的天然产物,兼有营养和药用双重作用,具有直接杀灭或抑制细菌、增强免疫力的功能,且能促进营养物质的消化吸收。研究表明,大多中草药中含有黄酮类化合物,黄酮类化合物有明显的抗溃疡、抗菌、抗炎、抗衰老、抗肿瘤、抗氧化、降血脂、治疗心脑血管疾病等药用保健功能,是一类具有广阔开发前景的天然抗氧化剂,而抗氧化活性物质可以减少和清除自由基,具有延缓人体衰老、防治疾病的作用^[1-5]。目前,从中草药中提取黄酮、研究其抗氧化活性的报道很多,但研究其抗氧化活性与黄酮含量的相关性研究报道甚少。本实验以金银花、山楂、杜仲、黄芩、鱼腥草、溪黄草、野菊花、银杏叶、忍冬藤、甘草、葛根等常见的、富含黄酮的中草药为材料,分别测定其抗氧化活性和黄酮含量,并比较它们之间的相关性,为人们合理利用中草药提供科学依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2007-06-01

作者简介: 杨利军(1970-),男,本科,讲师,从事食品工程和食品分析工作。

基金项目: 浙江教育厅科研基金资助项目(Z05-113)。

1.1 材料与设备

金银花、山楂、杜仲、黄芩、鱼腥草、溪黄草、野菊花、银杏叶、忍冬藤、甘草、葛根 购于杭州三九大药房文一店;芦丁标准品 中国医药上海化学试剂公司;二苯代苦味酰基自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH·) 日本东京化成工业株式会社;亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇等 均为分析纯。

F2102型微型植物试样粉碎机 河北省黄骅市齐家务科学仪器厂;RE-52CS旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;UV-2100型紫外分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;DK-S28型恒温水浴锅 上海森信实验仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 试液的配制

1.2.1.1 DPPH·溶液 准确称取20mg DPPH·样品,用80%乙醇溶解,定容于250mL棕色容量瓶中,制成 2×10^{-4} mol/L的溶液^[6]。

1.2.1.2 芦丁标准液 准确称取干燥恒重的芦丁标准品20mg,用95%乙醇定容于100mL容量瓶中,制成0.2mg/mL的标准溶液^[5]。

1.2.2 试样中黄酮类活性物质的提取^[5] 分别将11

种中草药干燥后,用植物粉碎机粉碎,各称取 $50 \pm 0.001\text{g}$,分别以 $1\text{g}:3\text{mL}$ 固液比、80% 乙醇浸泡 17h 后,70℃ 水浴浸提 3h,冷却,抽滤。滤渣如前法浸提 2 次,抽滤,合并 3 次滤液,经旋转蒸发仪浓缩至 250mL,移至 250mL 容量瓶定容、编号,放于冰箱中冷藏备用。

1.2.3 抗氧化活性测定^[6-8] 准确移取提取液 2mL 于 10mL 具塞试管中,加入 2mL DPPH· 80% 乙醇水溶液 ($2 \times 10^{-4}\text{mol/L}$),充分混匀,室温静置,30min 后用分光光度计在 517nm 下测定其吸光度 A_i (以 80% 乙醇溶液为参比);同时测定 2mL DPPH· 溶液与 2mL 80% 乙醇溶液混合后的吸光度 A_c ,以及 2mL 提取液与 2mL 80% 乙醇溶液混合后的吸光度 A_j 。平行测定三次,取平均值,根据以下公式计算抑制率。抑制率越大,则表示该试样的抗氧化活性越强。

$$\text{抑制率} = (1 - (A_i - A_j) / A_c) \times 100\%$$

1.2.4 总黄酮含量的测定^[5] 分别准确吸取芦丁溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0mL,置于一系列 25mL 容量瓶中,加 95% 乙醇至 6mL,再加 5% 亚硝酸钠溶液 1mL,摇匀,静置 6min;加入 10% 硝酸铝溶液 1mL,摇匀,静置 6min;加 4.3% NaOH 溶液 10mL,加水稀释至刻度,摇匀,放置 15min,在波长 500nm 处测定吸光度。以芦丁浓度为纵坐标,吸光度值为横坐标,绘制标准曲线,用最小二乘法进行线性回归,得线性方程 $C = 0.0952A + 0.0017$,相关系数 $R = 0.9996$ 。另分别测定各试样的吸光度,重复 3 次,取其平均值,按上述方程计算各试样中的总黄酮含量。

2 结果与讨论

2.1 11 种中草药提取液抗氧化活性和总黄酮含量的测定

DPPH· (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 是一种稳定的自由基,在 517nm 处有强吸收。当有自由基消除剂存在时,DPPH· 的单电子被配对而使其颜色变浅,在最大吸收波长处的吸光度变小,而且这种颜色变浅的程度与配对电子数是成化学计量关系的。因此,利用中草药提取液与 DPPH· 的反应,就可以检测其消除自由基的能力,能力的大小用抑制率来表示。本实验分别测定了 11 种中草药对 DPPH· 的抑制率及黄酮的含量,结果见表 1。

表 1 各试样对 DPPH· 的抑制率及总黄酮含量

样品	对 DPPH· 的抑制率 (%)	总黄酮含量 (mg/g)
金银花	90.63	1.995
山楂	89.72	1.048
银杏叶	87.08	0.324
葛根	86.54	0.707
杜仲	85.82	0.411
野菊花	85.68	0.536
黄芩	84.26	0.728
甘草	83.63	0.285
忍冬藤	81.67	0.256
鱼腥草	79.53	0.178
溪黄草	78.91	0.174

由表 1 可知,各试样对 DPPH· 均具有较好的抑制率,表明各试样的抗氧化活性均较高,其中金银花

的抗氧化活性最高,对 DPPH· 的抑制率达 90.63%,其余依次为山楂、银杏叶、葛根、杜仲、野菊花、黄芩、甘草、忍冬藤、鱼腥草、溪黄草;金银花中的总黄酮含量最高,为 1.995mg/g,溪黄草的总黄酮含量最低,仅为 0.174mg/g。

2.2 11 种中草药提取液抗氧化抑制率与总黄酮含量的相关性

为进一步了解各试样抗氧化抑制率大小与黄酮含量的相关性,以各试样的总黄酮含量为横坐标,抗氧化抑制率为纵坐标作图,结果见图 1。

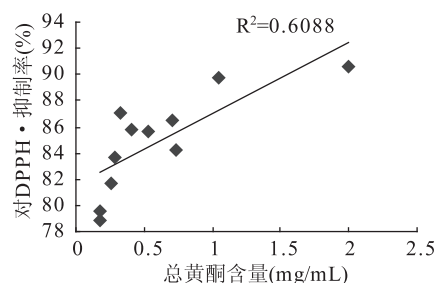


图 1 11 种中草药对 DPPH· 抑制率与总黄酮含量的相关性

由图 1 可知,11 种中草药提取液 DPPH· 抗氧化抑制率与总黄酮的含量的相关系数为 0.6088,表明它们之间有一定的相关性,但线形关系不显著,表明本实验测定的 11 种中草药提取液抗氧化活性主要成分不仅是黄酮。曾佑炜等^[8]比较了 45 种花卉提取液对 DPPH· 的清除能力及其与黄酮含量的关系,也发现与黄酮含量不呈明显的相关性。究其原因,可能由于黄酮类物质的多样性及各个样品中具有抗氧化的有效黄酮的种类和含量不同,显示出的抗氧化活性有一定的差异。黄酮类化合物种类繁多,但并不是所有的黄酮类化合物都具有相同的清除自由基的功效,而是与每种化合物的结构有关。胡春等^[9]提出,黄酮化合物 B 环上的 3',4'-邻二羟基是其具有清除自由基生物活性的关键结构,其它位上的羟基起一定作用。Ishik 等^[10]和张红雨^[11]采用分子轨道计算方法(如 AMI 法)对诸多黄酮类化合物的电子结构进行了半经验性计算,从而对结构-活性关系提出了一些理论上的解释。类黄酮邻二酚羟基清除自由基的活性强于间二酚羟基,原因一是前者半醌式自由基与邻位酚羟基形成分子内氢键,从而更稳定;二是前者半醌式自由基通过共振式形成邻苯醌,这使其未成对电子密度在邻位氧上有较多分布,内能更低。马双成等^[12]报道,金银花中黄酮类成分主要有 8 种,其中含量较大的有芦丁、槲皮素、木犀草素、木犀草素-7-葡萄糖苷 4 种黄酮类化合物,这 4 种黄酮均具有邻二酚羟基结构,由此我们可以推定本实验中金银花的高氧化活性主要就是来自于黄酮类物质。而比较黄芩、银杏叶的抗氧化活性和黄酮含量可以发现,虽然黄芩的黄酮含量比银杏叶高,而其抗氧化活性却比银杏叶低,这可能与黄芩中的主要黄酮物质黄芩素的 B 环上不含邻二酚羟基的结构有关^[13];而杜仲虽然黄酮含量不是很高,但具有较高的抗氧化活性,这主要是杜仲的抗氧化活性还与其绿

(下转第 123 页)

表3 产脂肪酶菌株的筛选

菌株	D(mm)	d(mm)	D/d
ZS13	11.0	2.00	5.5
ZS16	11.8	2.50	4.7
ZS24	10.8	5.00	2.2
Z4	19.2	6.50	3.0
Z13-1	18.9	5.80	3.3
Z13-2	22.0	4.50	4.9
Z36	17.0	11.8	1.4
1-3	10.0	5.50	1.8
2-26	11.0	1.50	7.3
PTW2-1	18.8	7.20	2.6
PTW2B	11.8	4.80	2.5
PTS1	13.5	2.80	4.8
2-S3	10.5	6.80	1.5
2-W1	10.0	5.20	1.9
2-W2	11.8	4.90	2.4
2-W13	20.5	11.0	1.9
2-W2-1	10.5	5.00	2.1

从表3可以看出,在分离出的海洋细菌中,不透明晕圈较大的有19株,占7.2%。分泌能力最强的是2-26, D为11.0mm, D/d为7.3;次之为ZS13, D为11.0mm, D/d为5.5;分泌胞外脂肪酶能力最弱的菌株为Z36, D为17.0mm, D/d为1.4。

3 结论

3.1 本实验从采集到的海水和海泥样品中,采用2216E培养基分离筛选出海洋细菌237株。

3.2 利用产蛋白酶筛选培养基,从分离出的海洋细菌中筛选出有较强的胞外蛋白酶分泌能力的菌株49株,占总菌株数的20.8%,其中分泌能力最强的菌株

(上接第120页)

原酸的含量有关^[14],此外在所测11种中草药提取液中,可能还存在黄酮类以外的其它多酚类天然抗氧化性物质,且各种天然抗氧化性物质往往具有增效作用^[15],这些因素都影响着黄酮含量与抗氧化活性的相关性。

3 结论

本实验研究了11种中草药提取物的抗氧化活性,结果表明:金银花的抗氧化活性最高,其余依次为山楂、银杏叶、葛根、杜仲、野菊花、黄芩、甘草、忍冬藤、鱼腥草、溪黄草;比较各试样对DPPH·的抑制率与总黄酮含量的相关性发现,它们之间的相关系数为0.6088,相关性不明显,这可能与黄酮种类以及含有其他抗氧化活性类物质有关。

参考文献:

- [1] 方允中,郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京:科学出版社,2002. 1~2.
- [2] 龚盛昭. 黄酮类化合物保健食品大有开发价值[J]. 广州食品工业科技,2000,18(1): 63~65.
- [3] 梁富荣,黄伟雄. 广东省保健品黄酮类产品现状分析[J]. 中国卫生检验杂志,2001,11(2):192~193.
- [4] 陈君石,闻芝梅主译. 功能性食品的科学[M]. 人民卫生出版社,2002. 114~118.

是PT5, D为17.0mm, D/d为17.0。

3.3 利用产淀粉酶筛选培养基,从分离出的海洋细菌中筛选出有较强的胞外淀粉酶分泌能力的菌株31株,占总菌株数的13.1%,分泌能力最强的菌株是4-2B, D为19.0mm, D/d为9.5。

3.4 利用产脂肪酶筛选培养基,从分离出的海洋细菌中筛选出有较强的胞外脂肪酶分泌能力的菌株17株,占总菌株数的7.2%,其中分泌能力最强的菌株是2-26, D为11.0mm, D/d为7.3。

3.5 筛选出的菌株中,有19株菌株具有分泌2~3种较强的胞外酶的能力,其中2-W1、2-W2-1和1-3的胞外酶分泌能力较强,三种筛选培养基上的现象都比较明显。

参考文献:

- [1] 骆祝华,黄翔玲,王琳,等. 海洋细菌抑菌活性菌株的筛选[J]. 台湾海峡,2002,21(2):181~185.
- [2] 曾胤新,俞勇,涂雪梅,等. 北极海冰细菌产胞外酶及主要环境因子的初步研究[J]. 极地研究,2003,15(4): 303~309.
- [3] 林丽玉,高霞灵,吴萍茹,等. 海洋药物资源的微生物分离技术[J]. 中国海洋药物,1999,71(3):15~18.
- [4] Markland F S, Smith E L. Subtilisin: primary structure chemical and physical properties [M]. New York: Academic Press Inc,1971. 561~648.
- [5] 张士瑾,范晓,马军英主编. 海洋生物技术原理和应用[M]. 海洋出版社,1998.
- [6] 王志,蔡俊鹏,徐丽. 九孔鲍肠道中产酶菌株的筛选及其与深圳湾菌株的比较[J]. 粮食与饲料工业,2004(5):34~36.
- [5] 易昌华,贺建华,等. 中草药提取物中总黄酮含量测定[J]. 饲料研究,2004,5(1):34~35.
- [6] 彭长连,陈少薇,林植芳,等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展,2000,27(6):658~661.
- [7] 翁新楚,吴侯. 抗氧化剂的抗氧化活性的测定方法及其评价[J]. 中国油脂,2000,25(6):119~122.
- [8] 曾佑炜,徐良雄,彭永宏. 45种花卉清除自由基能力的比较[J]. 应用与环境生物学报,2004,10(6):699~702.
- [9] 胡春,丁霄霖. 黄酮类化合物在不同氧化体系中抗氧化作用研究[J]. 食品与发酵工业,1996(3):46~49.
- [10] Ishiki HM, et al. Electronic structure of chromone and its hydroxylated derivatives on positions 2 and 3 [J]. Journal of Molecular Structure(Theochem), 1998, 423:235~243.
- [11] 张红雨. 黄酮类抗氧化剂结构活性关系的理论解释[J]. 中国科学(B辑),1999,29(1):91~96.
- [12] 马双成,刘燕,毕培曦,等. 金银花药材中抗呼吸道感染黄酮类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志,2006(4): 426~430.
- [13] 郭玉海,丁自勉. 黄芩 紫菀 款冬花[M]. 中国中医药出版社,2001,1. 18.
- [14] 陈晓娟,周春山. 酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮[J]. 精细化工,2006,23(3):257~260.
- [15] 熊皓平,杨伟丽,张友胜. 天然植物抗氧化活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2001,13(5):75~79.