

3 讨论

3.1 火麻仁油中化学成分复杂,主要含有几种高级脂肪酸及其甲酯,大麻二酚与其性质相近,其他方法不易分离提取。本实验所用方法简便快速,提取效率高,同时比较了提取时间、提取次数及所用溶剂量对提取的影响。结果表明:采用5 mL 甲醇,提取15 min,提取两次的效果最好。

3.2 紫外扫描结果显示,大麻二酚在258 nm有一最大吸收峰,但在220 nm处仍有较强吸收,因此,本实验根据参考文献^[4,5]选择220 nm作为检测波长,灵敏度高,干扰小。

3.3 目前国内外对火麻仁油中大麻酚类化合物的分析多采用气相色谱法,但操作烦琐,因此本实验采用HPLC法对其主要活性成分大麻二酚进行分析。

结果证明本方法简便易行,结果准确可靠,适宜测定火麻仁油中大麻二酚的含量。

References:

- [1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [2] Li F C. Clinical analysis of 15 cases on hemp seed oil poisoning [J]. *Shanxi Med J* (山西医药杂志), 1978, 6: 33.
- [3] Ferioli V, Rustichelli C, Pavesi G, et al. Analytical characterisation of hashish samples [J]. *Chromatographia*, 2000, 52: 39-44.
- [4] Ndjoko K, Wolfender J L, Hostettmann K. Analysis of cannabinoids by liquid chromatography-themospray mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 1998, 47(12): 72-76.
- [5] Rustichelli C, Ferioli V, Vezzalmi F, et al. Simultaneous separation and identification of hashish constituents by coupled liquid chromatography mass spectrometry (HPLC-MS) [J]. *Chromatographia*, 1996, 43(34): 129-134.

生物化学发光法测定酸枣仁的抗氧化活性

王少敏, 李萍*, 赵明强*

(中国药科大学 生药教研室, 江苏 南京 210038)

酸枣仁能养肝宁心、敛汗生津,具有养心安神、催眠的功能。主要含有脂肪油、黄酮和皂苷等物质^[1]。现代药理研究表明酸枣仁对内毒素诱发发热小鼠超氧化物歧化酶(SOD)的降低具有保护作用^[2],提示酸枣仁可能具有抗氧化活性。为进一步确证酸枣仁的抗氧化活性及其有效部位,本实验采用化学发光方法,应用邻苯三酚-鲁米诺(Luminol)-碳酸盐缓冲液,邻菲罗啉-Cu²⁺-抗坏血酸-H₂O₂, H₂O₂-鲁米诺-碳酸盐缓冲液3个产生自由基的体系和中国科学院生物物理研究所改进的BPCL-4微弱发光测定仪,检测了酸枣仁的乙醇提取物、总黄酮和总皂苷部位清除O₂^{•-}, •OH, H₂O₂自由基的能力,为从酸枣仁类中药中寻找和筛选自由基清除剂提供参考依据。

1 材料与仪器

酸枣仁采自河北邢台,经中国药科大学生药教研室李会军博士鉴定为酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bge.) Hu ex H. F. Chou 的干燥种子。

BPCL-4微弱发光测定仪及BPCL-APP2.6数据处理工作站(中国科学院北京生物物理研究所);

焦性没食子酸(邻苯三酚,遵义第二化学厂,分析纯),3-氨基邻苯二甲酰肼(鲁米诺, Luminol, Sigma公司),邻菲罗啉(上海试剂三厂,分析纯),其他试剂均为国产分析纯。

2 实验方法

2.1 样品制备:实验所用药材粉碎后,精密称取约5.0 g,石油醚索氏提取法除脂后,用70%乙醇热回流(1 h × 2次),提取液浓缩得到半液体状稠膏,用适当体积蒸馏水溶解稠膏得相当于0.6 g生药/mL的原液,作为酸枣仁醇提物的样品,使用时用蒸馏水稀释。

另取粉碎药材200 g,按上述方法进行操作,所得稠膏用适当体积蒸馏水溶解后,用正丁醇萃取;用5%氢氧化钾溶液洗涤正丁醇层,正丁醇层蒸干得总皂苷部位;碱液层用稀盐酸中和至中性后用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯层蒸干得总黄酮部位。用蒸馏水稀释得总黄酮部位原液(1 g生药/mL)和总皂苷部位原液(1 g生药/mL),使用时用蒸馏水稀释。

2.2 O₂^{•-}清除能力检测^[3]:取待测样品各10 μL于测量管中(以蒸馏水做空白对照),加入20 μL 1

* 收稿日期:2002-08-02

作者简介:王少敏(1978—),女,安徽滁州人,中国药科大学2000级生药学在读硕士,2000年毕业于沈阳药科大学药理学系,获理学学士学位。研究方向为天然药物活性成分的研究。

* 通讯作者 Tel: (025)5322256 Fax: (025)5322448 E-mail: lipingli@public1.ptt.js.cn

mmol/L 邻苯三酚溶液, 原位注入 970 μ L 鲁米诺 (1 mmol/L)-碳酸盐缓冲液 (pH 10.2), 反应总体积为 1 mL, 启动发光, 记录 240 s 内发光强度。

2.3 \cdot OH 清除能力检测^[4]: 取待测样品各 50 μ L 于测量管 (以蒸馏水做空白对照), 依次加入 50 μ L $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 mmol/L 溶液, 20 μ L 1 mmol/L 抗坏血酸溶液, 50 μ L 1 mmol/L 邻菲罗啉溶液, 50 μ L 0.15 mol/L H_2O_2 溶液, 原位注入 780 μ L 0.05 mol/L 硼砂溶液 (pH 9.24), 反应总体积为 1 mL, 启动发光, 记录 180 s 内发光强度。

2.4 H_2O_2 清除能力检测^[3]: 取待测样品各 50 μ L 于测量杯中 (以蒸馏水作空白对照) 加入 50 μ L 0.15 mol/L H_2O_2 (0 $^\circ\text{C}$), 原位注入 900 μ L 鲁米诺-碳酸盐缓冲液 (pH 9.5), 反应总体积为 1 mL, 启动发光, 记录 240 s 内发光强度。

2.5 发光抑制率的计算

计算公式如下:

发光抑制率 = (空白发光曲线面积 - 样品发光曲线面积) / 空白发光曲线面积 \times 100%

以发光抑制率为纵坐标, 样品浓度为横坐标, 绘出发光抑制曲线并算出发光抑制率为 50% 时的浓度 IC_{50} , 用来衡量样品对自由基的清除能力。 IC_{50} 值越小, 表明样品清除自由基能力越强。

3 结果与讨论

以发光强度为纵坐标, 时间为横坐标记录发光动力学曲线, 见图 1。可以看出酸枣仁醇提取物部位的加入使发光曲线发生明显变化, 表现为发光峰值和曲线积分面积的降低, 提示醇提取物部位对 3 种自由基均有清除作用, 而且都呈明显的量效关系; 其对 3 种自由基的清除能力大小为: $\text{H}_2\text{O}_2 > \cdot\text{OH} > \text{O}_2^{\cdot-}$, IC_{50} 值见表 1。

进一步对酸枣仁的抗氧化活性部位进行确认, 分别检测了醇提物的两个部位: 总黄酮部位和总皂苷部位。结果在醇提物有效抑制率为 98% 的相同生药浓度 (1 g 生药/mL) 下, 总皂苷部位无明显的清除自由基的作用 (抑制率为 2%), 总黄酮部位的抑制率大于 99%; 而且总黄酮部位能显著地清除 3 种体系产生的 $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 自由基, 且呈明显量效关系 (图 2), 其对 3 种自由基的清除能力大小为: $\text{H}_2\text{O}_2 > \cdot\text{OH} > \text{O}_2^{\cdot-}$, IC_{50} 值见表 1。

本实验结果表明, 酸枣仁的醇提物具有很强的清除自由基的作用。总黄酮部位是酸枣仁清除自由基的有效部位, 对 3 种自由基的清除能力依次为 $\text{H}_2\text{O}_2 > \cdot\text{OH} > \text{O}_2^{\cdot-}$ 。 IC_{50} 分别为 3.4, 0.41, 0.013 mg/mL,

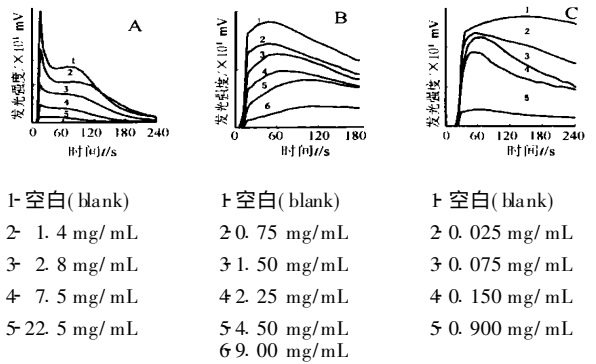


图 1 酸枣仁醇提取物抑制 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (A), $\cdot\text{OH}$ (B) 和 H_2O_2 (C) 发光曲线

Fig. 1 Luminous curves of $\text{O}_2^{\cdot-}$ (A), $\cdot\text{OH}$ (B) and H_2O_2 (C) inhibited by ethanol extract from *Z. jujuba* var. *spinosa*

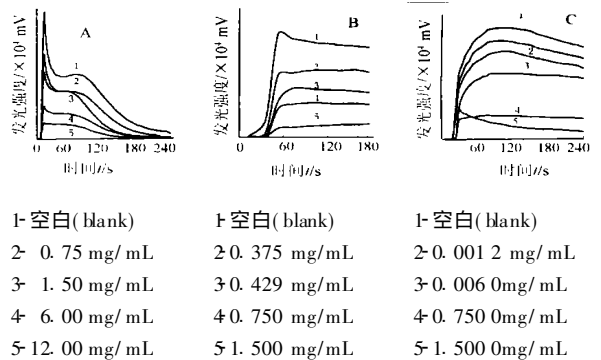


图 2 酸枣仁总黄酮抑制 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (A), $\cdot\text{OH}$ (B) 和 H_2O_2 (C) 发光曲线

Fig. 2 Luminous curves of $\text{O}_2^{\cdot-}$ (A), $\cdot\text{OH}$ (B) and H_2O_2 (C) inhibited by flavone part from *Z. jujuba* var. *spinosa*

表 1 酸枣仁各部位的抗氧化活性 (n = 3)

Table 1 Antioxidation of various parts of *Z. jujuba* var. *spinosa* (n = 3)

样品	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$		
	$\text{O}_2^{\cdot-}$	$\cdot\text{OH}$	H_2O_2
醇提物	7.43	3.49	0.15
总黄酮	3.40	0.41	0.013
总皂苷	-	-	-

显示了很强的抗氧化活性。酸枣仁资源丰富, 总黄酮含量较高且易分离, 有可能开发成为具有抗氧化作用的药物或保健品。

References:

[1] Zeng L, Zhang R Y, Wang X. Studies on chemical constituents of *Semen Ziziphi Spinosa* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1987, 22(2): 114-117.
 [2] Peng Z C, Zhang H N, Cheng S, et al. Protective effect of *Semen Ziziphi Spinosa* on SOD reduction in mice with endotoxin [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(6): 369-370.

[3] Xu H, Liu J, Wang ZT, et al. The scavenging of reactive oxygen species by crude drugs and cultured tissues of five species of *Herba Dendrobii* [J]. *J Plant Res Environ* (植物资源与环境学报), 2001, 10(2): 35-37.

[4] Qin M J, Liu J, Ji W L, et al. Scavenging capacities on radicals of *Rhizome Belamcandae* and *Rhizome Iris* determined by chemiluminescence [J]. *J Pharm Pract* (药学实践杂志), 2000, 18(5): 304-306.

喜树果实油脂的超临界 CO₂ 萃取

殷丽君¹, 李再贵¹, 李宽^{2*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100086; 2. 北京百事(中国)有限公司北京分厂, 北京 102600)

喜树 *Camptotheca acuminata* Decaisne 为蓝果树科喜树属(*Camptotheca* Decne.) 多年生亚热带落叶阔叶树, 此属仅喜树一种植物, 是我国特有种, 现广泛分布于长江流域及其以南诸省区。喜树可全株用药, 用于治疗恶性疔毒、肿瘤^[1]。喜树资源相对短缺, 单纯从喜树中提取喜树碱使得珍贵的喜树资源无法有效利用。研究表明: 喜树是富含有人体必需脂肪酸 α 亚麻酸的植物新资源。 α 亚麻酸及其代谢产物能够多选择性地参与动物的某些器官如大脑皮质、视网膜、睾丸和精子的乙醇胺磷脂和神经磷脂中, 在人体内对于稳定细胞膜功能、调节基因表达、维持细胞因子和脂蛋白平衡、抗心血管疾病、抗炎症、抑制肿瘤并保持癌症患者正常代谢和体能、增强自身免疫能力、促进生长发育等方面具有重要的作用^[2]。

传统的植物油溶剂提取工艺流程长, 设备复杂, 操作麻烦, 油脂的品质在加工中受到一定的影响。超临界 CO₂ 萃取技术的发展为油脂加工提供了一个全新的工艺。近 30 年来, 国内外在超临界 CO₂ 萃取植物油脂方面的基础理论研究和应用开发上都取得了一定的进展, 并在油脂工业化生产上得到应用^[3,4]。到目前为止, 尚未见到有关喜树果实油脂的萃取方法、工艺条件方面的报道。

1 材料与设备

喜树种采自四川都江堰, 经东北林业大学森林植物生态学开放研究实验室聂绍权教授鉴定。自然干燥粉碎后于 60 °C 的恒温干燥箱中干燥 24 h, 贮于塑料袋中。

HA 121-01-50 超临界 CO₂ 萃取仪(南通华安超临界萃取设备有限公司), Platform 气相色谱-质谱仪(英国 VG 公司)。

2 超临界 CO₂ 萃取喜树果实油脂

在半连续超临界 CO₂ 萃取设备上对喜树果实油脂萃取的实验研究。实验参数: 粉碎粒度: 40~60 目; 萃取压力/温度: 27.5 MPa/40 °C; 分离压力/温度: 5.5 MPa/45 °C; CO₂ 流量: 10 kg/h; 萃取时间: 120 min。在本研究中除为了考察参数对超临界 CO₂ 萃取喜树果实油脂萃取效果的影响而特殊说明需要变更参数外, 其余的参数均与上述参数相同。

出油率的计算公式为:

$$\text{出油率} = \frac{\text{出油量(g)}}{\text{原料质量(g)}} \times 100\%$$

3 结果与讨论

3.1 温度和压力对萃取结果的影响: 见图 1。

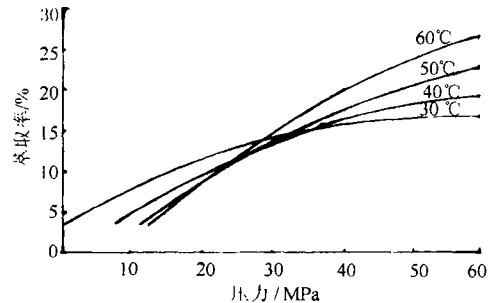


图 1 压力和温度对喜树果实油脂出油率的影响

Fig. 1 Effects of pressure and temperature on ratio of extracted oil of *C. acuminata* fruit

从图 1 可见, 在相同的温度下随着压力的提高喜树果实油脂的萃取得率明显提高; 但是温度对超临界 CO₂ 溶剂性质的影响是两个竞争因素的综合结果, 在压力为 25 MPa 以下时, 随着温度的提高, 喜树种子出油率降低; 而当压力高于 30 MPa 后, 喜树种子出油率随着温度的上升而提高, 说明超临界 CO₂ 萃取喜树果实油脂系统的出油率在 27.5 MPa 的压力附近具有一个转折点。尽管实验结果表明高温高压有利于喜树果实油脂的萃取, 但是高压操作

* 收稿日期: 2002-09-10

基金项目: 国家林业局引进国际先进林业技术项目资助(964/10/11)