

- [4] 张培德,胡琛,余文博. 添加蜗牛酶对纤维素酶产生菌发酵的影响初探[J]. 工业微生物, 2000, 30(4): 8-10.
- [5] 董志扬,祝令香,于巍等. 纤维素酶高产菌株的诱变选育及产酶条件研究[J]. 核农学报, 2001, 15(1): 26-31.
- [6] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生华实验方法和技术[M]: 高等教育出版社, 1997.
- [7] 崔福绵,刘茵,韩辉. 康宁木霉 CP88329 纤维素酶产生条件的研究[J]. 微生物通报, 1995, 22(2): 72-76.
- [8] 李忠兴,焦旭东,郝志军. 康宁木霉液体深层发酵生产纤维素酶[J]. 微生物通报, 1999, 26(6): 403-405.
- [9] 谭宏,谢小保,莫勇等. 里氏木霉液体发酵产纤维素酶的研究[J]. 工业微生物, 1996, 26(1): 7-11.

大黄属三种植物不同部分提取物清除羟基自由基的体外实验研究

熊辉岩¹, 张晓峰¹, 谭大风², 巨霞²

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

(2. 青海大学农牧学院农学系, 西宁 810003)

摘要:利用 Fenton 反应产生的羟基自由基, 采用比色法对大黄属药用植物: 唐古特大黄、波叶大黄、穗序大黄不同部分提取液清除羟基自由基的活性进行了研究, 结果表明: 三种植物不同部分的提取液均有一定的清除羟基自由基的能力, 清除能力因种、植株部分和提取方法的不同而异。三种植物中清除率最高的部分分别是: 唐古特大黄根及根茎的水提液, 为 79.0%; 波叶大黄叶片的乙醇提取液, 为 84.5%; 穗序大黄叶片水提液和叶柄的乙醇提取液, 分别为 70.1% 和 70.7%。正品大黄植株地下部分清除率较非正品高, 但地上部分清除率却低于非正品。

关键词: 大黄; 不同部分; 提取物; 清除; 羟基自由基

Abstract: The hydroxyl free radical ($\cdot\text{OH}$) scavenging capabilities of extracts produced in Fenton reaction from various parts of three Chinese Rheum species were studied by colorimetry method. The results showed that extracts produced from all of the three species had strong scavenging effect on hydroxyl radical while the scavenging rate varied with the difference in species parts and extracting methods. Among them the highest scavenging rates were: the water extract in roots and stems of *R. tanguticum* (79.0%), the ethanol extract in leaves of *R. undulatum* (84.5%), the ethanol extract in leaves and petioles of *R. spiciforme* (70.1% and 70.7% respectively): The hydroxyl radical - scavenging effect of roots from authentic Rheum species was higher than that of non-authentic Rheum species, but the effect of the aerial parts was lower than that of the non-authentic Rheum species.

Key words: rheum; various parts; extract; scavenging; hydroxyl free radical

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)01-0128-03

大黄, 藏名君木扎, 蓼科 (*Polygonaceae*) 大黄属 (*Rheum L.*) 多年生草本植物唐古特大黄 (*Rheum tanguticum Maxim. ex Regel*)、掌叶大黄 (*Rheum palmatum Linn.*) 和药用大黄 (*Rheum officinale Baill.*) 干燥的根及根茎, 是我国传统的中草药, 使用历史悠久, 始载于《神农本草经》, 具有泻下通便, 破积滞, 行淤血, 外敷清热解毒功效^[1]。该属在我国分布的约有 45 种植物, 除 2~3 种外均有药效, 其中唐古特大黄、掌叶大黄、药用大黄为正品。在我国西藏、四川、青海和甘肃等地区,

少数民族群众不仅使用大黄的根及根茎做药材, 也食用地上部分的基生叶柄和幼嫩的茎叶, 称为“秋久”, 在《四部医典》、《妙音本草等药典中亦有记载。山大黄 (包括华北大黄、波叶大黄等), 是我国华北地区的野生资源, 为食用大黄的一种, 当地群众用叶柄作蔬菜或食品加工的原料^[2], 所含营养成分与大多数水果蔬菜相似^[3], 味酸, 多汁。国外在十八世纪就有食用大黄叶柄的记载, 通常作为蔬菜食用或加工成酒类^[4]。大黄属植物含有蒽醌及甙类、苯丁酮甙类、芪类、鞣质类等生理活

收稿日期: 2002-09-18

作者简介: 熊辉岩 (1973-), 女, 硕士研究生, 主要从事药用植物化学成份及活性研究。

性物质^[5]。据文献报道^[6-10],大多数大黄属植物的根及根茎具有较强的抗氧化活性,可清除超氧阴离子自由基和羟基自由基,但关于地上部分抗氧化活性的研究不多,本研究旨在探讨正品药用植物唐古特大黄、非正品波叶大黄和穗序大黄不同部分清除羟基自由基的能力,并对正品与非正品药用植物、同一植物的不同部分、不同提取方法的清除能力进行了比较,为合理利用药用植物的地上生物资源、进一步开发大黄的保健效用提供一定的理论基础。

越来越多的证据表明,氧自由基在人类很多重大疾病的发生和发展过程中起着非常重要的作用,与机体的衰老密切相关。抗氧化剂利用本身的氧化还原性质,广泛参与、介导和调节机体的生化反应链等基本生命过程,对神经-内分泌-免疫系统处于稳定状态起极为重要的作用^[10]。能够从中草药中寻找植物抗氧化剂,充分利用我国丰富的大黄资源,具有很大意义。

本文利用 Fenton 反应产生的·OH,采用比色法对唐古特大黄、波叶大黄、穗序大黄的根及根茎、茎、叶片、叶柄等不同部分,分别进行水提取和乙醇提取,并测定清除·OH的活性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

唐古特大黄、波叶大黄,采自青海省果洛州,穗序大黄采自西藏自治区拉萨市郊。

1.2 主要仪器与试剂

日产岛津型 UV-紫外分光光度计及其配套设备;德国 ABI04-N 型电子天平;国产 Y-46-1 型烤箱。

200mmol/L 二甲亚砷, 80mmol/L 过氧化氢, 15mmol/L 坚牢蓝 BB 盐, 18mmol/L 硫酸亚铁,吡啶,正丁醇,甲苯等,所用试剂均为分析纯。试剂用去离子水配制。

1.3 实验方法

1.3.1 提取液制备

将新鲜的三种植物全株洗净,自然干燥,分根(根茎)、茎、叶片、叶柄、果实等部分磨碎,过 100 目筛,精确称取 0.05g,生药浓度为 5μg/ml 以水和乙醇(75%)

^[11]为提取溶剂,提取条件分别为:

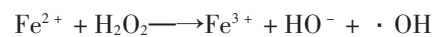
提取方法	温度(℃)	时间(h)	溶剂量(ml)
水提取	20	4	10
乙醇提取	20	4	10

提取液以 3000 × g 离心 30min,取上清液冰箱储

存,备用。

1.3.2 羟自由基的产生^[12]

利用 Fenton 反应产生羟基自由基:



反应体系是在 10ml 刻度具塞试管中,加入 2ml 200mmol/L 二甲亚砷, 1ml 0.1mmol/L HCl, 2.5ml 18mmol/L FeSO₄, 再加入 3ml 80mmol/L H₂O₂ 启动反应,加去离子水补充到刻度,混匀,其中以二甲亚砷水相中·OH 的分子探针。

1.3.3 羟基自由基的测定^[12]

取 1.3.2 体系反应液 1ml,加入 2ml 15mmol/L 坚牢蓝 BB 盐,在暗室中反应 10min,加 1ml 吡啶使颜色稳定,再加 3ml 甲苯:正丁醇(3:1)混合液,充分混合,静置分层。下相中含有未反应的偶氮盐,用吸管移走。甲苯/正丁醇相用 5ml 经正丁醇饱和的水冲洗,移去未反应的偶氮盐,将上清液移到比色皿中,于 420nm 测定吸光度值 A₀。

1.3.4 羟基自由基清除率的测定

在上述的反应体系中加入一定量的提取液,测定吸光度值 A_s,并按下式计算:

$$\text{清除率} = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 唐古特大黄各部分清除羟基自由基的效果

从表 1 中可以看出,唐古特大黄植株的各个部分均有清除能力,其中地下部分较地上部分强,各部分水提液的清除率比相应部分乙醇提取液的清除率高,其强弱顺序分别是:水提液:根(及根茎)>果实>主茎>叶片>叶柄,醇提液:根(根及根茎)>果实>叶柄>叶片>主茎。

表 1 唐古特大黄各部分水提液和乙醇提液的清除率及效果(n=3)

植株部分	水提液(%)	乙醇提液(%)
根(根茎)	79.0	77.1
茎	71.0	44.6
叶片	69.5	46.5
叶柄	59.9	51.6
果实	75.3	65.9

2.2 波叶大黄和穗序大黄各部分清除羟基自由基的效果

由表 2 可知,波叶大黄地上部分的清除率较根部高,不同部分提取方法不同,清除率不同,叶柄以水提液较好,叶片则以乙醇提取液较好,这种差异主要是叶

表2 波叶大黄各部分水提液和醇提液的清除率及效果(n=3)

植株部位	水提液(%)	乙醇提液(%)
根(根茎)	71.4	69.8
叶	72.2	84.5
叶柄	80.7	70.7

表3 穗序大黄各部分水提液和醇提液清除率及效果(n=3)

植株部位	水提液(%)	乙醇提液(%)
根(根茎)	69.6	59.0
叶	70.1	50.6
叶柄	56.0	70.7

片与叶柄中生理活性物质的含量和种类分布不同所致。穗序大黄中叶片水提液与叶柄乙醇提取液的清除效果相当,均比根部强。

2.3 唐古特大黄、波叶大黄和穗序大黄羟基自由基清除率的比较

表4 三种植株地上、地下部分清除率的比较

提取方法	唐古特大黄		波叶大黄		穗序大黄	
	地下	地上	地下	地上	地下	地上
水提液(%)	79.0	68.9	71.4	76.5	69.6	63.1
乙醇提取液(%)	77.1	52.2	69.8	77.6	59.0	63.4

从表4的比较来看,正品唐古特大黄根的清除率比非正品波叶大黄、穗序大黄高,为79.0%和77.1%,而地上部分的清除率却低于波叶大黄,乙醇提取液甚至比穗序大黄更低。不同种和部位,所含生理活性物质的分布不同,因此不能笼统地确定提取溶剂。

3 讨论

我国已在从中草药中发掘抗氧化剂的研究领域进行了探索,创造性地以单味中草药作为抗氧化剂进行了研究。植物中抗氧化成分最多是酚羟基化合物,郑俊华等认为大黄中的蒽醌类、苯丁酮甙类、鞣质类化合物

均有抗氧化活性^[13]。从我们的测定结果来看,不仅可利用正品唐古特大黄的根及根茎这一药用部分的抗氧化活性,且从其地上部分和波叶大黄、穗序大黄中寻找抗氧化剂不失为一种利用生物资源的有效方法。

参考文献:

- [1] 楼之岑. 大黄研究的回顾与前瞻 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 1.
- [2] 李积宏, 刘一和. 食用大黄资源及其加工利用 [J]. 中国野生植物资源, 1994, (1): 29-31.
- [3] 韩雅珊, 蔡同一等. 食用大黄的生物化学成分及其利用的研究 [J]. 中国农业科学, 1985, (1): 92.
- [4] 苏艳芳, 郑旭, 郑俊华. 北美食用大黄的生产: 历史回顾与最新统计 [J]. 北京医科大学学报, 1998, 30(6): 56.
- [5] 王映芬, 郑俊华, 王京霞等. 大黄植株不同部分40中主要化学成分的比较 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 93-94.
- [6] 沈传勇, 郑俊华, 尚安明等. 中国大黄属植物清除羟自由基活性的研究 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 57-58.
- [7] 沈传勇, 郑俊华, 薛峰. 中国大黄属植物31种生药清出超氧阴离子自由基活性的研究与比较 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 29-31.
- [8] 沈传勇, 郑俊华, 张殿芬等. 大黄植株不同部分超氧阴离子活性的研究 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 20-20.
- [9] 张殿霞, 安根录, 郑俊华等. 大黄清除羟自由基作用的ESR研究 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 106-107.
- [10] 孙存普, 张建中. 自由基生物学导论 [M]. 合肥: 中国科学技术出版社, 1999: 236.
- [11] 张永红. 大黄中蒽醌类成分提取条件的选择 [J]. 西北药学杂志, 1997, 12(2): 59.
- [12] 徐向荣, 王文华, 李华斌. 比色法测定反应产生的羟基自由基及其应用 [J]. 生物物理与生物物理进展, 1999, 26(1): 67-69.
- [13] 殷卫, 郑俊华. 大黄的药理研究近况 [J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(5): 141-143.

美国《化学文摘》收录期刊
中国科技论文统计源期刊