

常用抑制或影响蛋白质合成的大环内酯类、四环素类和喹诺酮类抗生素^[9]。但目前越来越多的研究显示 Uu对各种抗菌素已产生明显耐药性^[10,11],这给单纯使用抗菌素对泌尿生殖道 Uu感染治疗带来很大困难。目前,很多科研工作者都在努力寻找新的、有效的抗 Uu药物。中医药治疗 Uu感染有着很好的疗效,但作用机理和作用成分不明确一直是妨碍其发展的主要原因之一。

蛇床子为伞形科蛇床属植物蛇床 *Cnidium mummieri* (L.) Cusson的果实,具有强阳补肾、散寒祛风、燥湿杀虫之功效。临床上以外用为主,取其燥湿祛风杀虫作用,治阳痿囊湿、女子阴痛阴痒等症。蛇床子主要含有蛇床子素等香豆素类,具有多种药理作用^[12]。许多文献报道蛇床子对部分病毒、细菌和真菌有抑制作用,但以蛇床子素为主要成分的提取物抗解脲支原体作用尚未见报道。

我们通过体外抑菌实验测得蛇床子提取物抗 Uu的 MIC和 MBC值,为中医药治疗 Uu感染提供了一定的理论依据,也为耐药性不断增加的情况下寻找新的抗 Uu药物提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 魏庭骏. 百部外擦治疗急性荨麻疹[J]. 中医外治杂志, 1999, 8 (4): 9.
- [2] 杨小红, 李斯明, 马福广. 复方蛇床子水剂杀菌效果的研究[J]. 广州医药, 1997, 28 (5): 14.

- [3] Roberson JA, Stanke GM. Expanded serotyping scheme for Ureaplasma urealyticum strains isolated from humans[J]. J Clin Microbiol, 1982, 15: 812.
- [4] Kenny GE, Hooton TM, Roberts MC, et al. Susceptibilities of genital mycoplasmas to the newer quinolones as determined by the agar dilution method[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989, 33: 103.
- [5] 吕志红, 齐荔红. 复方百部洗剂治疗阴道炎 102例[J]. 福建中医药, 1998, 29 (5): 27.
- [6] Nikos Kanakas, M. D. Ureaplasma urealyticum in semen: 15 there any effect on in vitro fertilization outcome[J]. Infertility and Sterility, 1999, 71 (5): 523.
- [7] X. Zheng, H. Watson. Serotype diversity and antigen variation among invasive isolates of Ureaplasma urealyticum from neonates[J]. Infection and Immunity, 1992: 3472.
- [8] 四川抗菌素工业研究所. 抗生素及抗感染药物[M]. 上海: 上海科技出版社, 1981: 5.
- [9] 陈统辉. 上海实用药物手册[M]. 上海: 上海文汇出版社, 1992: 72.
- [10] Oggini MR, Dowson CG, Smith JM, et al. The tetracycline resistance gene tet-M exhibits mosaic structure[J]. Plasmid, 1996, 35: 156.
- [11] 张文波, 吴移谋, 尹卫国, 等. 解脲支原体拓扑异构酶基因突变与耐喹诺酮类药物关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24 (6): 346.
- [12] 连其深. 蛇床子的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中药材, 2003, 26 (2): 141.

甘草黄酮提取方法及抗氧化活性研究

汪河滨¹, 周忠波¹, 罗 锋¹, 杨 玲²

(1. 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护与利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300;

2 塔里木大学文理学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘要:目的 比较不同提取方法对甘草黄酮含量和抗氧化活性的影响。方法 采用常规法、超声波、微波、超声-微波协同萃取 4种不同提取方法提取甘草黄酮,用分光光度法测定其含量;用活性氧法测定黄酮粗品的抗氧化活性。结果 4种方法提取的甘草黄酮含量分别为 1.78%, 1.85%, 1.92%, 2.04%。抗氧化活性为常规水浴提取法 >微波提取法 >超声波提取法 >超声-微波协同萃取法。结论 超声-微波协同萃取法提取甘草黄酮效果好。4种提取方法所得的甘草黄酮粗品均具有较强的抗氧化作用。

关键词:甘草黄酮; 超声-微波协同萃取; 抗氧化性

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805 (2008) 09-2106-02

Study on Extraction Method of Flavonoids from Glycyrrhiza and Its Anti-oxidant Activity

WANG He-bin¹, ZHOU Zhong-bo¹, LUO Feng¹, YANG Ling²

(1. Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Alar, Xinjiang 843300, China; 2 College of Art and Science, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)

Abstract: **Objective** To compare the effect of different extraction methods on the content of flavonoids and antioxidant activity from Glycyrrhiza. **Methods** Water bath method, ultrasonic, microwave and ultrasonic-microwave synergistic extraction technology were used in the flavonoids extraction, and colorimetry was used to determine the content. Active oxygen content was used to determine its antioxidant activity. **Results** The content of flavonoids were: 1.78%, 1.85%, 1.92%, 2.04% respectively. Antioxidant activity of different methods were: water bath extraction > microwave extraction > ultrasonic extraction > ultrasonic-microwave synergistic extraction. **Conclusion** Ultrasonic-microwave synergistic extraction technology applied in extracting flavonoids from Glycyrrhiza is better than the others. The extract got from the four methods all have great anti-oxidation.

Key words: Glycyrrhiza flavonoids; Ultrasonic-microwave synergistic extraction; Anti-oxidation

收稿日期: 2007-10-16; 修订日期: 2008-02-20

基金项目: 新疆生产建设兵团高新技术发展项目 (Na 2006GJS19);

塔里木大学校长重点基金项目 (Na 2004-6)

作者简介: 汪河滨 (1980-), 男 (汉族), 甘肃会宁人, 现任新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护与利用重点实验室讲师, 硕士学位, 主要从事天然产物化学研究工作。

甘草是豆科植物乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch、胀果甘草 *G. inflata* Bat 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根茎, 是临床最常用的中草药品种^[1], 其主要有效成分为甘草酸和甘草黄酮。据报道, 甘草黄酮是一类生物活性较强的物质, 有抗溃疡、抗菌、抗炎、解痉、降血脂、镇痛等作用^[2], 傅乃武等^[3]证实甘草中的黄酮类成分有明显的抗氧化作用; 1986年以来还发现甘草黄酮具有防治艾滋病的功效。对甘草黄酮的研究越来越引起

人们的注意和重视。本研究以新疆地产乌拉尔甘草为研究材料,利用 4 种不同的方法提取甘草黄酮,并采用活性氧法(AOM法, 97.8%)^[4]在 Rancimat 743 食用油氧化稳定性测定仪中测定黄酮粗品的抗氧化活性,为进一步开发利用甘草优势资源提供理论依据。

1 器材

1.1 材料 乌拉尔甘草(新疆塔里木盆地人工栽培),洗净,烘干,粉碎,用 70%乙醇提取后,浓缩,干制,得甘草粗黄酮粉。食用油(菜籽油),购于市场。

1.2 试剂 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所);乙醇(天津市化学试剂二厂);硝酸铝(北京化工厂);氢氧化钠(北京化工厂);亚硝酸钠(北京化工厂),均为分析纯。

1.3 仪器 Sartorius 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);超声-微波协同萃取仪(上海新拓微波溶样测试有限公司);WTS03-1 微波提取设备(南京杰全微波设备有限公司);超声波清洗器(上海精密仪器仪表有限公司);T6-紫外可见分光光度计(北京普析通用有限公司);Rancimat 743 食用油氧化稳定性测定仪(瑞士万通);RE52-A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

2 方法

2.1 甘草黄酮的定量测定方法

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取 120 干燥至恒重的芦丁对照品 25.00 mg,加适量 70%乙醇在水浴微热溶解,放冷后转移至 250 ml 容量瓶中,加 70%乙醇稀释至刻度,摇匀,配成浓度为 0.1 mg·ml⁻¹的标准品溶液,备用。

2.1.2 最大吸收峰的确定 精确吸取芦丁对照品溶液 2 ml,加 70%的乙醇至 5 ml,然后加入 5%的 NaNO₂ 溶液 1 ml,室温放置 6 min,再加入 10%的 Al(NO₃)₃ 1 ml,混匀,室温放置 6 min,加入 4%的 NaOH 10 ml,用水稀释至 25 ml,混匀,放置 15 min,在分光光度计上扫描波长从 400~600 nm 之间的吸收度,结果在 510 nm 波长处有最大吸收值。

2.1.3 标准曲线的绘制 精确吸取芦丁对照品溶液 0, 1, 2, 3, 4 ml,分别加 70%的乙醇至 5 ml,然后加入 5%的 NaNO₂ 溶液 1 ml,室温放置 6 min,再加入 10%的 Al(NO₃)₃ 1 ml,混匀,室温放置 6 min,加入 4%的 NaOH 10 ml,用水稀释至 25 ml,混匀,放置 15 min,以不加样品的溶液为参比液,在 510 nm 处测定其吸光度值。测定结果计算得直线方程: $A = 0.0177C + 0.0002$, $r = 0.9996$ 。

2.2 不同方法提取甘草黄酮及含量测定

2.2.1 常规方法提取甘草黄酮 取 1.00 g 甘草粉末,精密称定,加 70%乙醇 50 ml,称重,索氏提取两次,60 min/次,称重,补足损失重量,过滤,合并收集滤液,按上述方法测定其吸光度值,计算黄酮的含量。

2.2.2 超声波提取法 取 1.00 g 甘草粉末,精密称定,加 70%乙醇 50 ml,称重,在超声波清洗器中提取两次,30 min/次,称重,补足损失重量,过滤,合并收集滤液,按上述方法测定其吸光度值,计算黄酮的含量。

2.2.3 微波提取法 取 1.00 g 甘草粉末,精密称定,加 70%乙醇 50 ml,称重,在微波提取器中提取两次,30 min/次,温度控制在 40℃,称重,补足损失重量,过滤,合并收集滤液,按上述方法测定其吸光度值,计算黄酮的含量。

2.2.4 超声-微波协同萃取法 取 1.00 g 甘草粉末,精密称定,加 70%乙醇 50 ml,称重,超声-微波协同萃取两次,30 min/次,温度控制在 40℃,称重,补足损失重量,过滤,合并收集滤液,按上述方法测定其吸光度值,计算黄酮的含量。

2.3 甘草黄酮对油脂抗氧化性研究 分别精密称取上述 4 种提取方法所得的甘草黄酮粗品 0.010 g,用 1 ml 无水乙醇溶解,按 ISO5555 标准采样方法分别加入到放有 3.000 g 左右食用油的反应管中,搅匀,以空白样品为对照。插入反应池中,通过连接管传输气体至测量池,设定温度为 120℃,气体流量为 15 L/h,采用活性氧法(AOM法, 97.8%) 在 743 食用油氧化稳定性测定仪中测定氧化稳定性值。得出甘草黄酮对油脂的抗氧化活性。

3 结果

3.1 甘草黄酮提取方法的比较 将常规方法提取、超声波提取、微波提取以及超声-微波协同萃取所得的甘草黄酮粗品按标准曲线的方法测定其吸光度值,计算黄酮的含量。结果见表 1。

表 1 甘草中黄酮的含量 %

提取方法	黄酮含量			平均含量	RSD
	1	2	3		
常规方法	1.77	1.78	1.80	1.78	0.86
超声波提取法	1.87	1.85	1.82	1.85	1.36
微波提取法	1.92	1.90	1.93	1.92	0.79
超声-微波协同萃取法	2.02	2.05	2.06	2.04	1.02

实验表明,超声波提取、微波提取以及超声-微波协同萃取法提取甘草黄酮提取效果都比常规提取方法好,其中以超声-微波协同萃取法效果最好,微波提取次之。

3.2 甘草黄酮抗氧化活性比较 4 种不同提取方法所得甘草黄酮粗品的抗氧化活性以诱导时间(h)计,实验结果见表 2。

表 2 不同提取方法对油脂(菜籽油)的氧化稳定性值

样品	实验温度 T/℃	诱导时间 t/h	标准时间 t/h	
			97.8	20
空白油	120	2.59	12.07	2 652.16
恒温水浴	120	2.97	13.84	3 041.28
微波提取	120	2.80	13.05	2 867.20
超声波提取	120	2.69	12.53	2 754.56
超-微波协同萃取	120	2.66	12.39	2 723.84

由表 2 可以看出,在食用油中添加黄酮粗品之后,4 种提取方法所得黄酮粗品均具有明显的抗氧化作用,保存时间明显增加。恒温水浴提取得黄酮抗氧化作用效果最好,微波提取次之,超声提取、超声-微波协同萃取所得黄酮粗品抗氧化作用最小。

4 讨论

超声波提取、微波提取以及超声-微波协同萃取都具有缩短提取时间,提高有效成分的提出率的优点。在甘草黄酮的提取中效果明显,尤其是超声-微波协同萃取法,使样品介质内各点受到的作用一致,降低目标物与样品基体的结合力,加速目标物从固相进入溶剂的过程。

甘草黄酮具有明显的抗氧化作用,但不同的提取方法所得的黄酮粗品抗氧化作用不同,其中恒温水浴提效果最好,微波提取次之,超声提取、超声-微波协同萃取所得黄酮粗品抗氧化作用最小。综合黄酮得率和抗氧化活性,微波提取有其优点,值得推广。

参考文献:

- [1] 金 宏. 浅谈甘草药理作用[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(1): 78.
- [2] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物学有效成分分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 465.
- [3] 傅乃武, 刘朝阳, 张如意, 等. 甘草黄酮类和三萜类化合物抗氧化作用的研究[J]. 中药药理与临床, 1994, 10(5): 26.
- [4] 何碧烟, 欧光南. 茶多酚、BHT 和 TBHQ 抗氧化活性的比较研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 1999, 4(3): 40.