

黄芩苷及其金属配合物的抗氧化性研究

Study on the Inhibition Effect of Baicalin and Baicalin Metallic Coordination

武荣兰/WU Rong-lan, 封 顺/FENG Shun, 王吉德/WANG Ji-de

新疆大学化学化工学院, 乌鲁木齐 830046

School of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

[摘要] 中药黄芩具有多种药理作用,对免疫、心脑血管、消化、神经等系统均有保护作用,其主要作用是通过抗氧化、清除自由基等作用实现的。黄芩苷是黄芩中的主要成分,但不论在药材中还是在人体内,黄芩苷并不完全以游离态存在,而是与金属元素形成金属配合物的形式存在的,为此,通过紫外-可见光谱法研究了在黄芩苷以及黄芩苷与7种金属离子分别作用下其抗氧化性的变化情况,发现不同金属离子对黄芩苷抗氧化性具有促进作用,但其影响机理不同。

[关键词] 应用化学, 超氧阴离子自由基, 黄芩苷, 抗氧化性

[中图分类号] R 284

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)02-0036-03

Abstract: The Chinese traditional medicine baical skullcap root has been used for many diseases by anti-oxidation and radical scavenging mechanisms. baicalin as the main component of baical skullcap root mainly exists not in free form but in mixture with metal elements in solutions. The inhibition effect of baicalin and baicalin combine with 6 metal elements respectively were inspected by the UV-Vis spectrum. The results indicated that all 6 metal elements can improve the antioxidant action of baicalin, but the effects and mechanisms of them is different.

Key Words: applied chemistry, superoxide anion radical, baicalin, antioxidant action

CLC Number: R284

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)02-0036-03

1 引言

超氧阴离子自由基(O_2^-)是生物体内有氧化代谢过程中产生的重要自由基之一。它的存在能够直接或间接地引起生物大分子的氧化破坏,诱发脂质过氧化,降低膜脂流动性,是生物体衰老和许多疾病产生的重要原因。中药黄芩具有较明显的抗氧化活性,黄芩苷作为其主要成分也有一定的抗氧化活性^[1-3]。由前阶段研究可知,不论在药材中还是在人体内,黄芩苷并不完全以游离态存在,特别是在人体小肠的酸度下黄芩苷更易与金属元素结合从而以结合形式存在。因此对在有金属元素存在时黄芩苷抗氧化性的分析,寻找出不同金属离子与黄芩苷共同作用时其抗氧化性的变化,对提高黄芩苷的抗氧化活性、增强其药效作用有着十分重要的意义。

目前产生 O_2^- 的方法主要有邻苯三酚自氧化法、肾上腺素自氧化法、黄嘌呤氧化酶法、核黄素光照法、碱性二甲基亚砷法等。我们根据黄芩苷在弱碱性条件下可与金属络合的性质,选用邻苯三酚自氧化法作为反应体系分析测定了金属离子对黄芩苷抗氧化性的影响。

邻苯三酚自氧化体系可产生活性氧的机理极为复杂,至今还不十分清楚,但从实验看来,邻苯三酚在碱性条件下发生反应,在反应滞后30~45 s后,产生稳定浓度的 O_2^- 与中间产物(A),中间产物A又与 O_2^- 反应,得到一种带有颜色的中间产物(F),此化合物在紫外下有吸收,引起某一波长处吸光度的线性积累,吸光度的值随时间变大,而吸光度随时间的变化率对应着体系中 O_2^-

浓度随时间的变化率(即邻苯三酚的自氧化速率)。当加入具有抑制 O_2^- 作用的化合物后,该化合物会与A竞争 O_2^- ,抑制A转化为F,其自氧化速率变慢,即降低了这一吸光度值的增长速度($V_t = \Delta A / \Delta t$)。由此即可算出该化合物对 O_2^- 的抑制率:

$$\eta = -[(V_t - V_0) / V_0] \times 100\%$$

(V_0 : 邻苯三酚的自氧化速率; V_t : 有抑制剂存在时邻苯三酚的氧化速率)。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

UV-2450 型分光光度计(日本, Shimadzu), 恒温水浴。

三羟甲基氨基甲烷(Tris): 生化试剂, 邻苯三酚、盐酸均为析醇试剂, 高纯水(石英亚沸二次蒸馏水)。

2.2 溶液配置

2.2.1 pH=8.2、0.1 mol/l 的 Tris-HCl 缓冲溶液的配制

称取 2.08137% 的盐酸加入二次蒸馏水, 定容为 250 ml, 即为 0.1 mol/l 盐酸溶液。准确称取 3.0285 g Tris, 加入二次蒸馏水定容至 250 ml 容量瓶, 即为 0.1 mol/l Tris 溶液。量取 250 ml 0.1 mol/l Tris 溶液, 114.5 ml 0.1 mol/l 的盐酸溶液混合用二次蒸馏水定容至 500 ml 容量瓶, 即为 Tris-HCl 缓冲溶液。

2.2.2 邻苯三酚溶液的配制

称取 10 mL 0.1 mol/l 盐酸溶液用二次蒸馏水定容至 100 ml 容量瓶为 10 mmol/l 盐酸溶液。准确称取 0.0390 g 邻苯三酚, 用

收稿日期: 2005-06-13

作者简介: 武荣兰, 女, 新疆乌鲁木齐胜利路4号新疆大学化学化工学院, 讲师, 主要从事天然产物分离分析及配合物研究;

E-mail: wuronglan@163.com

10 mmol/l 盐酸溶液溶解后定容到 100 ml, 即为 3 mmol/l 的邻苯三酚溶液。

2.3 实验步骤

2.3.1 测试波长的选择

取 5.00 ml、50 mmol/l 缓冲溶液与 4.7 ml 二次蒸馏水混合后在 25℃水浴中保温 20 min, 然后取出混液, 立即加入在 25℃预热过的 3 mmol/l 邻苯三酚 0.3 ml, 迅速摇匀倒入比色皿中 50~450 nm 波长下, 分不同时间 1 min、3 min、5 min、7 min、9 min 进行扫描, 找到自氧化积累的初始中间产物(F)最大的吸收峰所对应的波长 $\lambda_{\max}$ (见图 1)。

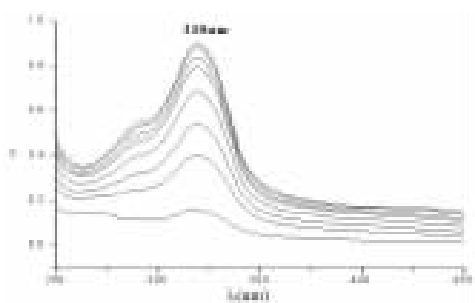


图 1 邻苯三酚自氧化波长扫描图

Fig. 1 Wavelength scan for autoxidation rate of pyrogallol acid

2.3.2 邻苯三酚自氧化速率的测定

取 5.00 ml、50 mmol/l 的 Tris-HCl 缓冲溶液及 4.70 ml 二次蒸馏水, 混匀后在 25℃水浴中保温 20 min, 取此液立即与 0.30 ml 25℃预热过的 3 mmol/l 的邻苯三酚溶液混合均匀, 倒入比色皿中待测。以 10 mmol/l HCl 为试样空白, 在 $\lambda_{\max}$ 处进行测试, 每隔 30 s 测吸光度一次(测 6~10 个点)。以吸光度 A 对时间(t)作图, 其斜率即为邻苯三酚自氧化速率 V_0 。测得 $V_0=0.000858$ 。

2.3.3 黄芩苷抗 $O_2^{\cdot-}$ 性能的研究

准确称取 1 mmol/l 的黄芩苷溶液 2.00 ml, 甲醇定容至 10 ml 容量瓶, 分取表 1 中 7 种组成的溶液, 摇匀后, 在 25℃水浴中恒温 20 min, 迅速与预热过的 3 mmol/l 邻苯三酚 0.30 ml 混合, 倒入比色皿中(以 10 mmol/l 的盐酸作参比), 每隔 30 s 测吸光度 1 次, 共测 6~10 个点。以所加入的黄芩苷的量与其对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制率作图(见图 2), 可知黄芩苷自身就具有抗活性 $O_2^{\cdot-}$ 的性能, 其对 $O_2^{\cdot-}$ 生成的抑制率随浓度的增大而增强, 当黄芩苷含量达到 8 $\mu\text{mol/l}$ (即表中 1 mmol/l 的黄芩苷 1.00 ml) 时抑制率较稳定。

表 1 混合溶液组成表

Tbl. 1 Table of component solution

Tris-HCl(mL)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
二次蒸馏水(mL)	4.60	4.40	4.20	4.00	3.70	3.20	2.70
1mmol/L 黄芩苷(mL)	0.10	0.30	0.50	0.70	1.00	1.50	2.00

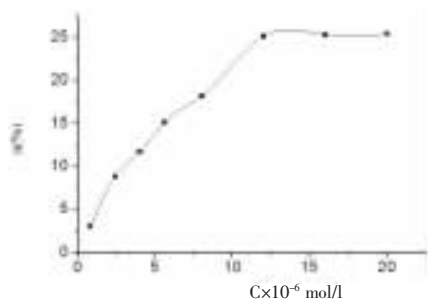


图 2 黄芩苷对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用

Fig. 2 Inhibition effect of baicalin on superoxide radicals

2.3.4 金属离子对黄芩苷抗 $O_2^{\cdot-}$ 性能的影响

按 2.3.3 中黄芩苷抗超氧自由基活性测定的步骤, 分别在 2.2.2 中所配置溶液及与 2.2.2 系列溶液中金属离子浓度相当但不含黄芩苷的相应溶液为供试品, 研究了金属离子存在时对黄芩苷抗超氧自由基活性的影响, 以及单独金属离子存在时对邻苯三酚自氧化速率的影响。从图 3 中可以看出, 所测试的 6 种金属离子均可增强黄芩苷抑制 $O_2^{\cdot-}$ 生成的活性, 但增强作用及程度又各不相同。其中当 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 存在时, 黄芩苷对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制率随金属离子浓度的增大而增强, 当溶液中金属离子含量与黄芩苷为 2:1 时, 再增加金属离子的含量对黄芩苷抑制 $O_2^{\cdot-}$ 的活性已无明显的增强作用。而 Al^{3+} 含量与黄芩苷含量达 1:1 时, 再增加 Al^{3+} 的量对黄芩苷活性则无明显增强作用。而有 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 存在时, 黄芩苷抑制 $O_2^{\cdot-}$ 的活性随着金属离子浓度的增加先增强后又逐渐下降。可见不同的金属离子与黄芩苷作用后对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用是不同的, 这可能因为金属离子自身对 $O_2^{\cdot-}$ 的生成有促进或抑制作用。从图 4 金属离子对邻苯三酚自氧化速率的影响可以看出, Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Al^{3+} 4 种金属离子对 $O_2^{\cdot-}$ 的生成无明显的促进或抑制作用。 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 离子对 $O_2^{\cdot-}$ 的生成都有一定的促进作用, 其中 Cu^{2+} 的促进作用强于 Fe^{3+} 。因此当 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 离子存在时黄芩苷对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制率先增强后降低是因为过量的 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 离子又促进了 $O_2^{\cdot-}$ 的生成从而削弱了黄芩苷配合物对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用而造成的。

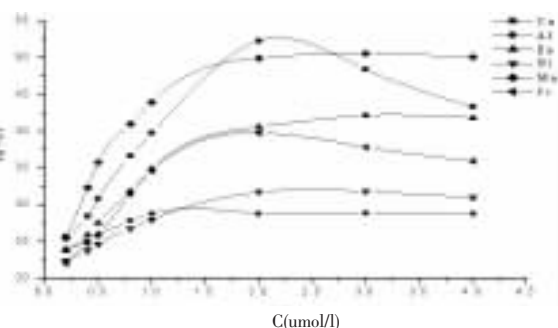


图 3 金属离子对黄芩苷抗氧活性的影响

Fig.3 Inhibition effect of baicalin combine with cation on superoxide radicals

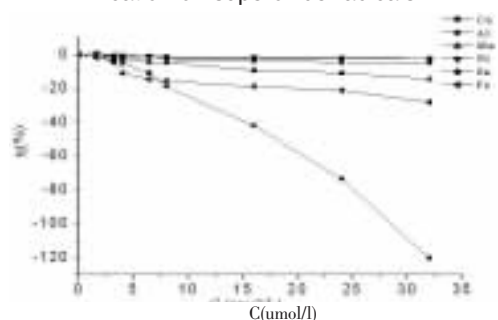


图 4 金属离子对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用

Fig.4 Inhibition effect of cation on superoxide radicals

3 结论

对黄芩苷与金属离子在不同的溶液体系中抗氧化性能比较可知, 黄芩苷金属配合物的抗氧化性能较单纯黄芩苷或单纯金属离子的抗氧化性能都要强, 且不仅仅是二者的简单相加, 其生物利用度及抗氧化活性都大于单纯的黄芩苷。

张红雨等用半经验量子化学方法 AM1 以及 DFT 和 AM1 结合的量子化学方法, 从理论上论证了黄酮类抗氧化剂的抗氧化机理, 认为在极性溶剂中黄酮类抗氧化剂主要是酚羟基通过质子转移伴随的电子转移反应与氧自由基发生反应, 形成共振稳定的半

正交曲线坐标下 Boussinesq 方程的初步研究

Research on Boussinesq Equations in Orthogonal Curvilinear Coordinate System

张素香/ZHANG Su-xiang,李瑞杰/LI Rui-jie,罗 锋/LUO Feng,张 扬/ZHANG Yang

河海大学海洋环境实验室,南京 210098

Laboratory of Ocean Environment, Hehai University, Nanjing 210098, China

[摘要] 从质量守恒方程和 Euler 方程出发,推导出包含底摩擦耗能、波浪破碎效应和亚格湍流效应的改进型 Boussinesq 方程,并对该方程以及边界条件进行了正交曲线转换;建立了正交曲线坐标系下的二维波浪模型并用实验地形对该模型进行了验证,计算结果与实测数据吻合很好,这说明该模型可以较好地模拟波浪传播过程中的浅水变形、折射、绕射和反射等现象。

[关键词] 波浪变形,Boussinesq 方程,非线性,正交曲线坐标

[中图分类号] P753, P731.22

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)02-0038-05

Abstract: In this paper, based on the mass conservation equation and Euler's equation, the modified form of Boussinesq equations is derived, which includes the effects of bottom friction, wave breaking and subgrid turbulent mixing. Through transferring the governing equations and boundary condition by orthogonal curvilinear coordinate, a 2D wave model in orthogonal curvilinear coordinate systems is established. The numerical model is tested by computing wave field for several experiment terrain, and agreement between model results and available experimental data is found to be quite reasonable, which demonstrates the model's ability to simulate wave shoaling, refraction, diffraction and reflection etc.

Key Words: wave transformation, Boussinesq equations, nonlinearity, orthogonal curvilinear coordinates.

CLC Numbers: P753, P731.22

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)02-0038-05

收稿日期: 2005-11-06

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(50339010)

作者简介: 张素香,女,江苏省南京市西康路1号河海大学环境海洋实验室,博士生,主要从事物理海洋学、河口海岸动力学研究;

E-mail: zhangsuxiang@hhu.edu.cn

酰式自由基而中断链式反应的,因此共振半酰式自由基的稳定性与抗氧化活性成正相关^[4-5]。黄芩苷的结构式见图5。

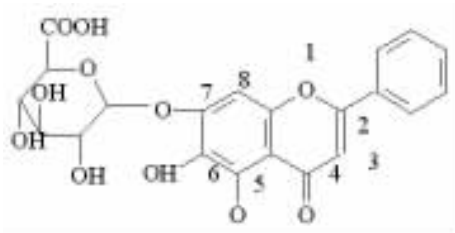


图5 黄芩苷的结构式
Fig.5 Structure of baicalin

该结构式因具有C4位羰基和C5位羟基,在极性溶剂中可析出质子并形成分子内氢键,因此具有一定的抗氧化活性。当金属离子存在时,加速质子离去的的同时与C4羰基和C5羟基的氧配位形成稳定的配合物,从而增强了黄芩苷的抗氧化活性。至于 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 与黄芩苷计量比达2:1后抗氧化活性不再有明显增强,

可能是糖苷上的羧基也发生了质子转移并参与了配位反应。

参考文献(References)

- [1] GAO ZHANGHONG, HUANG KAIXUN, YANG XIANGLIANG, et al., Free radical scavenging and antioxidant activations of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi[J], *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999,1 472:643-650.
- [2] YOSHINO, MURAKAMI, KEIKO. Interaction of Iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization [J]. *Analytical Biochemistry*, 1998,257:40-44.
- [3] DENG WUGUO, FENG XINGWANG, WU JILAN, Flavonoids function as antioxidants: by scavenging reactive oxygen species or by chelating iron? [J].*Radiation Physics and Chemistry*. 1997, 50:271-276.
- [4] 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.
- [5] 王兰芬,孙振令,张红雨. 6种天然抗氧化剂活性的理论评价[J].*山东理工大学学报(自科版)*, 2003, 17(4):13-17.

(责任编辑 王 芷)