

一点红黄酮类化合物分离及其抗菌性能研究

李军生, 阎柳娟, 苏辉武, 林帧

(广西工学院生物与化学工程系, 广西 柳州 545006)

摘 要: 本实验采用 70% 的乙醇水溶液回流提取一点红中的黄酮类化合物, 然后通过石油醚萃取除掉其中色素等杂质。提取物进一步通过聚酰胺薄板进行薄层色谱分析[展层剂为正丁醇:水:醋(10:5:1)], 且通过聚酰胺柱进行分离纯化(洗脱液为 70% 乙醇水溶液)。薄层色谱分析结果(以芦丁标样为对照)以及相关的黄酮化学检识实验结果表明, 一点红黄酮类化合物具有与芦丁成分相似的黄酮类化合物和较高的纯度, 对金黄色葡萄球菌具有较强的抑菌作用, 对大肠杆菌及枯草杆菌的抑菌效果次之。

关键词: 一点红提取物; 黄酮; 抗菌性能

Study on Separations of *Emilia sonchifolia* Flavonoids and Their Antibacterial Activities

LI Jun-sheng, YAN Liu-juan, SU Hui-wu, LIN Zheng

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: The flavonoids of *Emilia sonchifolia* were firstly extracted by 70% alcohol-water and then petroleum ether were used to eliminate the pigment or other ingredients inside. The *Emilia sonchifolia* flavonoid extracts were purified by the polyamide thin layer chromatography (TLC) (the developing solvent is n-butyl alcohol: H₂O: acetic acid=10:5:1) or by polyamide column (70% aqueous ethanol as the eluent). The results of TLC (rutin as control) and flavonoid identification experiments showed that the *Emilia sonchifolia* flavonoid has a similar components with rutin flavonoids and higher purity. The *Emilia sonchifolia* flavonoid showed stronger antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and weaker antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

Key words *Emilia sonchifolia* extracts; flavonoids; antibacterial activities

中图分类号: R282.4 Q935

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)09-0196-03

一点红, 别名野芥蓝、红背紫丁、羊蹄草、红背叶、叶下红、红背果等。菊科一点红属一年生或多年生草本植物, 学名 *Emilia sonchifolia* (Linn.) DC, 全草入药。味苦, 性微寒, 清热解毒, 凉血消肿。一点红是一味重要的传统中药药材。据《广西本草选编》介绍, 一点红可用于急性结膜炎, 急性扁桃体炎, 肺炎, 胆囊炎, 急性阑尾炎, 传染性肝炎, 钩端螺旋体病, 痢疾, 腹泻, 尿路感染等症的治疗^[1]。事实上, 一点红也是中国南方部分地区人们喜爱的野菜或消炎解暑的凉菜^[2]。广西花红药业股份有限公司生产的妇科药物花红片的主要药物成分之一就是点红提取物。本实验采用 70% 的乙醇水溶液回流提取一点红中的黄酮类化合物, 然后通过石油醚萃取除掉其中色素等杂质。提取物进一步通过聚酰胺薄层色谱分析和聚酰胺柱分离纯化黄酮类化合物, 并探讨一点红黄酮化合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯芽孢草杆菌的抗菌性能, 为进

一步揭示一点红的抗菌性能提供参考。

1 材料与方法

1.1 药材和菌种

一点红中药材由柳州花红药业股份有限公司提供。所用的菌种均为水、空气和食品中的常见菌: 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯芽孢草杆菌(*Bacillus subtilis*), 由广西工学院生物与化学工程系微生物实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 一点红黄酮类化合物的提取与分离

称取干燥粉碎后的一点红药全草粉 50 g, 置入 1000 ml 圆底烧瓶中, 加入 70% 乙醇约 600 ml, 水浴加热回流提取 2~3 次, 每次 1.5 h, 过滤提取液, 合并提取液并减压浓缩后备用。加适量热水溶解浓缩物, 用石

收稿日期: 2007-07-22

基金项目: 广西自然科学基金项目(桂科基 0575023)

作者简介: 李军生(1963-), 男, 教授, 博士, 研究方向为生物分子的化学修饰与功能研究。

油醚萃取三次, 萃取掉其中的色素等杂质, 合并萃取液浓缩备用。采用聚酰胺薄层层析来进行薄层色谱检识, 将一点红的提取样品与芦丁标样在聚酰胺薄膜上点样, 以正丁醇:水:醋(10:5:1)为展开剂, 展开, 用1%的 AlCl_3 乙醇液显色后, 在紫外灯上观察, 薄层层析分析鉴定。

浓缩物进一步用聚酰胺湿法上柱, 萃取浓缩液上柱后加入水为洗脱剂, 洗脱直到洗脱液无颜色为止。加入70%的乙醇洗脱黄酮类化合物, 分段收集洗脱液, 各分段收集液与芦丁标样在聚酰胺薄膜上点样进行薄层层析分析鉴定, 并用化学检识进行进一步鉴定, 合并阳性层析液浓缩、静置、陈化、结晶, 样品备用。

1.2.2 一点红黄酮类化合物的化学检识

参照姚新生^[3]介绍的方法进行: 取少量上述浓缩液或样品经稀释后进行以下实验: (1) 与锌粉盐酸反应: 取试液1ml加入锌粉0.1g后加入6mol/L HCl 4滴, 含有黄酮会显浅红色; (2) 与碱反应: 取试液1ml, 加入10%的NaOH溶液 5滴, 含有黄酮会显浅黄色; (3) 铅盐沉淀反应: 取试液2ml加入滴加2% 乙酸铅试剂5滴, 含有黄酮会有浅黄绿色絮状沉淀; (4) 三氯化铝实验: 取试液滴于滤纸上, 喷1% AlCl_3 乙醇溶液。在紫外光下显亮黄色或显天蓝色荧光。

1.2.3 培养基、菌种液及样品药液制备

营养肉汤培养基的制作: 按照每18g 营养肉汤粉配制1L 培养基的比例配制, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 调节pH7.4 \pm 0.2, 分装试管或三角瓶, 121℃高温灭菌20min 备用。

营养琼脂培养基的制作: 按照每33g 营养琼脂粉配制1L 培养基的比例配制, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 调节pH7.3 \pm 0.2, 分装试管或三角瓶, 高压蒸汽灭菌(121℃, 20min) 备用。

菌种液的制作: 将菌种进行斜面活化2~3次后, 分别用接种环挑取一环纯化菌体于肉汤培养基中混匀(每种菌做3瓶), 置于摇床, 控温37℃, 培养18~24h(每

次培养的时间力求一致), 也可采用固体斜面培养18~24h 再用适量生理盐水洗下, 做为菌种液, 备用。

样品药液制备: 用无菌蒸馏水溶解上述一点红黄酮提取物纯品分别配制成400、480和560mg/ml三个浓度药液, 备用。

1.2.4 抑菌圈的测定

采用滤纸片法测定一点红不同溶剂提取物的抑菌作用。通过测定各种提取物或样品的抑菌圈来判断其是否具有抗菌性以及比较不同提取物或样品抗菌性能的强弱。其过程如下: 将吸水力较强而质地均匀的双层滤纸用打孔器打成直径6 mm的圆形滤纸片, 置洁净干燥的培养皿中, 121℃灭菌20min。把配制好的细菌 10^8 个/ml左右菌悬液, 振荡均匀。在净化工作台上, 用无菌移液枪吸取菌液0.2ml, 将其均匀地涂布于平板表面, 正置在培养箱1h(37℃)。1h后取到净化工作台上, 在每皿中心放入1张滤纸片, 然后再用无菌移液枪吸取配制好的480mg/ml或560mg/ml的一点红黄酮类化合物药液10 μ l垂直滴加到滤纸片。在37℃恒温正置培养1h后倒置培养24h, 观察抑菌情况, 并测量抑菌环直径, 每种菌重复实验三个平板, 求其平均值, 以此评价其抑菌效果。以硫酸链霉素(1000单位/ml)10 μ l作为阳性对照。

2 结果与分析

2.1 一点红黄酮类化合物的化学检识

一点红黄酮类化合物的化学检识结果见表1。根据黄酮类化合物的显色反应结果^[3-4], 可以推测一点红黄酮类化合物中可能含有黄酮类、二氢黄酮类或黄酮醇类化合物, 特别是含有3-羟基、4-羟基, 或5-羟基、4-羰基, 或邻二酚羟基的黄酮类化合物。

2.2 一点红黄酮类化合物的薄层色谱分析

聚酰胺薄层色谱可以较好地对一点红粗提物或一点红黄酮类化合物样品进行进一步鉴定。由正丁醇:水:醋酸(10:5:1)构成的展开剂, 1%三氯化铝乙醇溶液显色剂, 在

表1 一点红黄酮提取物化学检识结果

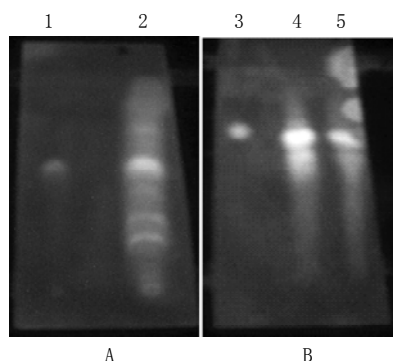
Table 1 Chemical determination results of flavonoids in *Emilia sonchifolia* extracts

化学检识类型	现象	结果
盐酸-锌粉实验	由无色逐级变为浅红色	可能含有黄酮类、黄酮醇类或二氢黄酮类化合物
与碱反应	浅黄色, 加热浅黄色不减	可能含有黄酮类
铅盐沉淀反应	浅黄绿色沉淀	可能含有邻二酚羟基或3-OH、4-酮基或5-OH、4-酮基结构的黄酮类化合物
三氯化铝实验	浅黄色斑点, 紫外光下显亮黄色	可能含有3-羟基、4-羟基, 或5-羟基、4-羰基, 或邻二酚羟基的黄酮类化合物

表2 一点红黄酮类化合物的抑菌效果 (mm)

Table 2 Antibacterial activities of *Emilia sonchifolia* flavonoids(mm)

菌种	硫酸链霉素(1000单位/ml)	黄酮类提取物浓度(400mg/ml)	黄酮类提取物浓度(480mg/ml)	黄酮类提取物浓度(560mg/ml)
金黄色葡萄球菌	21	8.25	9	15
大肠杆菌	32	6	7	8
枯草杆菌	28	6	7	9



A. 70% 乙醇水溶液提取物; B. 聚酰胺柱分离纯化样品。1、3. 芦丁样品;
2. 70% 乙醇水溶液提取物; 4、5. 聚酰胺柱分离纯化样品。

图1 一点红黄酮类化合物的薄层色谱分析
Fig.1 TLC analysis of *Emilia sonchifolia* flavonoids

紫外光下黄酮类化合物产生鲜明的荧光,不同黄酮化合物所产生的荧光不同(见图1)。一点红黄酮类化合物的主要成分与芦丁的主要成分相似。从图1可知,利用聚酰胺柱可以较好地纯化一点红黄酮类化合物产品。

2.3 一点红黄酮类化合物的抗菌性能

一点红黄酮类化合物的抗菌性能见表2。从表2的实验结果可以看出,一点红黄酮类化合物对金黄色葡萄

球菌有较强的抗菌作用,而对大肠杆菌及枯草杆菌的抑菌效果较弱。一点红黄酮类化合物在不同的细菌中表现出不同的抗菌效果可能与细菌的代谢途径不同有关。

3 结 论

采用70%的乙醇水溶液回流提取,然后通过石油醚萃取除掉其中色素等杂质,再通过聚酰胺柱进行分离纯化一点红黄酮类化合物可行。一点红黄酮类化合物经薄层色谱分析结果(以芦丁标样为对照),以及相关的黄酮化学检识表明其主要成分为与芦丁成分相似的黄酮类化合物,对金黄色葡萄球菌具有较强的抑菌作用,对大肠杆菌及枯草杆菌的抑菌效果较弱。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编(下册)[M]. 南宁: 广西人民出版社, 1974: 940-941.
- [2] 关佩聪, 罗冠英, 刘厚诚. 8种野菜的特征、生境、食法及保健作用[J]. 长江蔬菜, 1999(11): 28-30.
- [3] 姚新生. 天然药物化学[M]. 北京: 北京人民卫生出版社, 1988: 191-240.
- [4] 李秀信, 王荣花, 杨秀萍. 一点红黄酮成分的分析及含量测定[J]. 西北植物学报, 2003, 23(4): 671-673.

握行业脉搏 浓缩技术精华 满足读者需求 指导企业生产

欢迎订阅 2008 年《粮食流通技术》

《粮食流通技术》是郑州科学研究设计院主办的以粮食流通为主题的科学技术性期刊,是粮食流通行业知名的刊物。是一本融可读性、实用性、技术性和服务性为一体的粮食流通行业的综合性期刊。

《粮食流通技术》自1995年创刊以来,荣获《中国学术期刊检索与评价数据规范》执行优秀期刊称号;并被《中国学术期刊(光盘版)》,《中国期刊网》和科技部《万方数据—数字化期刊群数据库》全文收录;是《中国核心期刊(遴选)数据库》,《中国学术期刊评价数据库》和《中文科技期刊数据库》的来源期刊。

《粮食流通技术》现辟有粮食流通专论、工程设计、工艺设备、粮食储藏、制粉工业、饲料工业和食品加工等栏目,内容丰富详实、新颖实用,是粮食、食品、油脂、饲料等行业研究、设计、生产、制造、管理和教育等有关人员及大中专院校学生的得力助手和理想读物。

《粮食流通技术》为彩色胶印大16开本的双月刊。连续出版物号:ISSN 1007-3583, CN41-1241/TS. 每册定价10元。全年定价60元(含邮费),各地邮局均可订阅,邮发代号:36-53。也可直接与本刊编辑部联系订阅。

地址: 河南省郑州市南阳路153号

邮编: 450053

电话 0371-63731409

传真 0371-63753609

E-mail: ls1tjs@vip.sohu.com