

文章编号:2095-7386(2019)05-0024-03

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2019.05.005

硫酸酯化千层塔多糖的制备及其抗氧化活性

徐长远,陈雪娇,夏洁,袁帅,张西锋

(武汉轻工大学 生物与制药工程学院,湖北 武汉 430023)

摘 要:采用水提醇沉法制得千层塔多糖,用浓硫酸法对千层塔多糖进行硫酸酯化修饰,制备硫酸酯化千层塔多糖,采用 FTIR 和 UV 对硫酸酯化多糖进行表征分析,研究硫酸酯化千层塔多糖对金属离子、ABTS 自由基以及羟基自由基的清除活性。结果表明:采取氯化钡—明胶法计算硫酸根取代度为 0.5574,对金属离子、ABTS 自由基、羟基自由基的最大清除率分别为 47.0%、66.5% 和 68.4%。

关键词:千层塔;硫酸酯化;多糖;抗氧化

中图分类号:R 284.1

文献标识码:A

Preparation of sulfated polysaccharides from Thousand-layer tower and its antioxidant activity

XU Chang-yuan, CHEN Xue-jiao, XIA Jie, YUAN Shuai, ZHENG Xi-feng*

(School of Biological and Pharmaceutical engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, 430023, China)

Abstract: In this experiment, Thousand-layer tower polysaccharide was obtained by water extraction and alcohol precipitation, and the polysaccharide was sulfated by concentrated sulfuric acid method to prepare sulfated Thousand-layer polysaccharide. The sulfated polysaccharide was characterized and analyzed by FTIR and UV, and the scavenging activity of sulfated Thousand-layer tower polysaccharide to metal ions and ABTS radical to hydroxyl radical was studied. The results showed that the degree of sulfate substitution calculated by barium chloride gel method was 55.74%. The maximum scavenging rates of metal ions, ABTS radical and hydroxyl radical were 47.0%, 66.5% and 68.4%, respectively.

Key words: Thousand-layer tower, sulfation; polysaccharides; anti-oxidant oxygen

1 引言

千层塔,石松科石杉属植物,多年生草本植物,又被叫做金不换等,主要分布在我国东北部、华北地

区、长江流域等地。现代研究和临床试验表明,千层塔用于治疗幼儿智力发育缓慢、重度肌无力和其他疾病均有治疗效果^[1-2]。多糖是一种广泛存在于自然界的大分子化合物。硫酸酯化多糖是指羟基上带

收稿日期:2019-07-30.

作者简介:徐长远(1996-),男,硕士研究生,E-mail:364725303@qq.com.

通讯作者:张西锋(1977-),男,副教授,E-mail:zhangxf9465@163.com.

基金项目:国家自然科学基金(21602166).

有硫酸根的多糖,可以从天然植物中提取,或者是经人工合成、半合成的各种硫酸酯化多糖^[3,4]。查阅文献发现,千层塔黄酮类化合物已有相关报道,鲜有对千层塔多糖进行修饰的文献,笔者采用浓硫酸法修饰千层塔多糖,为千层塔多糖的应用提供了一个新的途径。

2 材料与方法

2.1 材料

实验中千层塔为湖北恩施本地产出药材,将其粉碎后过 60 目筛,得到千层塔粉末。 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ABTS, 过氧化氢(30%)溶液,浓硫酸,正丁醇,过硫酸钾, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,水杨酸均为分析纯,购自国药集团。

2.2 方法

2.2.1 多糖的提取

采用水浴加热、回流,去色素,Savage 溶液除蛋白后经酒精醇沉、离心的方法得千层塔多糖^[5-6]。

2.2.2 多糖硫酸酯化及硫酸根取代度的测定

在冰浴条件下向正丁醇与浓硫酸的混合溶液中加入硫酸铵,冰水浴搅拌冷却至 0℃ 后,缓慢加入千层塔多糖,反应后将反应液调至中性,离心取上层清液,流水透析、醇沉、干燥后得修饰后的硫酸化千层塔多糖。

硫酸根取代度的测定采用氯化钡—明胶法^[7]。

2.2.3 硫酸酯化多糖表征分析

采用傅里叶红外光谱仪(FTIR)和紫外可见光度计(UV)对硫酸酯化多糖进行分析^[8]。

2.2.4 硫酸酯化多糖抗氧化分析

细胞在正常或不正常的活动中会产生自由基,而过量的自由基会对人体造成损害从而引发一系列如癌症等疾病,通过测定多糖对金属离子、羟基自由基、ABTS 自由基的清除能力对体外抗氧化活性修饰后的硫酸酯化千层塔多糖进行体外抗氧化实验,抗氧化的检测按文献方法进行^[9,10]。

3 结果与分析

3.1 硫酸酯化多糖的红外光谱学分析

对样品进行红外光谱扫描,结果如图 1 所示。在 3526 cm^{-1} 处、 1627 cm^{-1} 处、 1156 cm^{-1} 处和 650 cm^{-1} 处的峰分别对应着 O-H 伸缩振动吸收峰, C = O 伸

缩振动吸收峰, S = O 特征吸收峰, C-O-S 的拉伸振动吸收峰,这些硫酯键的特征吸收峰表明硫酸基已与多糖分子结合为酯,成功合成出硫酸酯化千层塔多糖。

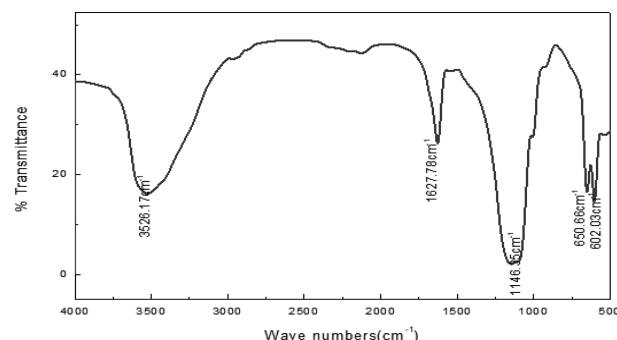


图 1 硫酸酯化多糖的 FTIR 分析

3.2 硫酸酯化多糖的紫外扫描

千层塔多糖(HPS)和硫酸酯化千层塔多糖(SHPS)的紫外-可见光谱如图 2 所示。显然两条曲线极为相似。多糖在 212 nm 处有最大吸峰,而硫酸酯化后在 203 nm 处有最大吸收分峰。在 260 nm 处和 280 nm 处均无特征吸收峰,说明核酸和蛋白质已全部去除。

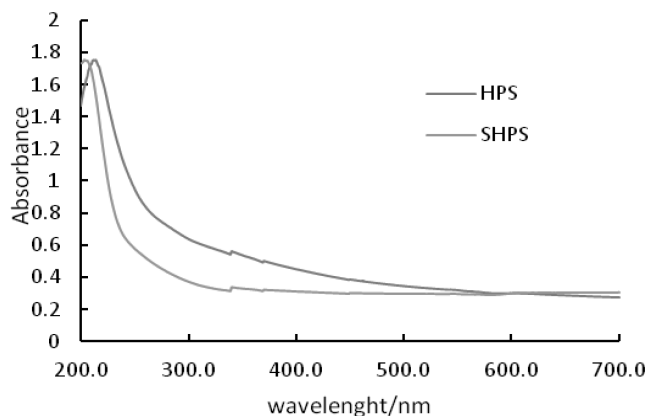


图 2 硫酸酯化多糖的 UV 分析

3.3 抗氧化分析

硫酸酯化千层塔多糖对金属离子、羟基自由基和 ABTS 自由基清除活性分别如图 3、图 4 和图 5 所示。从图 3-5 中可以看出,硫酸酯化千层塔多糖对三种自由基均有清除作用。当浓度在 4 mg/ml 时,对金属离子清除率最高,可以达到 47.0%,清除效果较好;当其浓度在 10 mg/mL 时,硫酸酯化千层塔多糖对羟基自由基和 ABTS 自由基的清除效果最好,清除率分别达到 66.5% 和 68.4%。

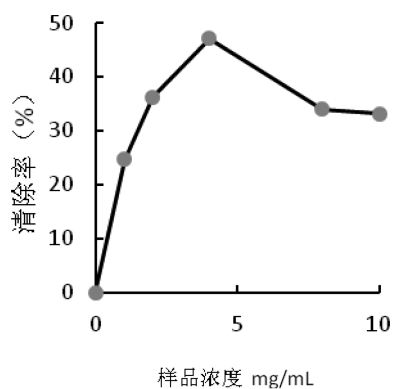


图3 金属离子清除活性

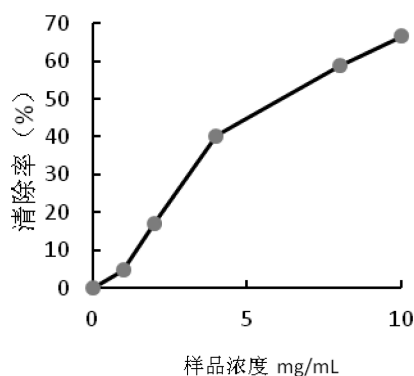


图4 羟基自由基清除活性

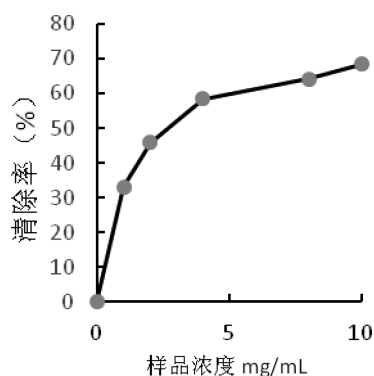


图5 ABTS 自由基清除活性

4 结论

本实验所修饰的硫酸酯化千层塔多糖,根据 FTIR 和 UV 对其进行表征分析,确定硫酸酯化成功

改变原多糖结构,通过体外抗氧化活性实验表明硫酸酯化千层塔多糖在浓度为 4 mg/ml 时对清除亚铁离子有明显作用,清除率达到 47.0%;当浓度为 10 mg/ml 时,对羟基自由基和 ABTS 自由基清除效果最好,清除率分别达到 66.5% 和 68.4%,均有较好的清除效果,并有显著的浓度依赖性。

参考文献:

- [1] 郭斌,徐玲玲,尉亚辉,等. 千层塔的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2018-2023.
- [2] 程丹华,戴克敏. 千层塔的生药学鉴定[J]. 基层中药杂志, 1992, 6(4): 7-9.
- [3] 周本宏,谭璐,张婵,吴玥,刘刚. 硫酸酯化天麻多糖的制备及其抗氧化活性[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(17): 1685-1691.
- [4] 郑子瑞,戴玲,钟辉. 多糖抗病毒活性的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2008(05): 763-764 + 780.
- [5] 王庆,冯阁,姚依兰,赵帅,宋萍萍,张西锋,孙璐宏*. 天麻水溶性多糖提取工艺的研究. 武汉轻工大学学报, 2018, 37(3): 101-105.
- [6] 赵帅,舒畅,王庆,李雄武,张西锋,鄢又玉. 苍术多糖的提取条件优化及抗氧化活性的研究. 武汉轻工大学学报, 2018, 37(3): 38-42.
- [7] 周本宏,谭璐,张婵,等. 硫酸酯化天麻多糖的制备及其抗氧化活性. 中国医院药学杂志, 2017, 37(17): 1685-1691.
- [8] 夏洁,徐长远,俞启扬,陈雪娇,张西锋*. 党参多糖的提取及抗氧化性质的研究. 武汉轻工大学学报, 2019 年, 38(3): 1-3, 31.
- [9] 展锐,邵金辉. 大枣多糖抗氧化及抗炎活性的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(12): 38-43.
- [10] Singh N, Rajini P S. Free radical scavenging activity of anaqueous extract of potato peel [J]. Food Chemistry, 2004, 85: 611-616.