

# 车前子总黄酮的纯化及其成分的液相质谱联用分析

万茵, 谢明勇\*, 曾小星

(南昌大学 食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

**摘要:** 采用 DPPH 自由基清除法和邻苯三酚自氧化抑制法对车前子黄酮初提液的不同溶剂萃取液的体外抗氧化能力进行了比较, 发现正丁醇萃取液具有与初提液相近的抗氧化能力, 说明用正丁醇能萃取出大部分有效成分。并比较了 AB-8、D101、NKA-2、NKA-9 四种大孔吸附树脂对车前子黄酮的吸附及解吸性能, 以选择合适的车前子黄酮纯化工艺。将纯化液进行液质联用分析其组成。结果表明, AB-8 型树脂吸附和解吸率最高, 适合萃取后的车前子黄酮的纯化, 纯化后黄酮含量可从 4% 提高到 30% 以上。采用液质联用技术分析纯化液, 确定其主要成分为苯乙醇苷类毛蕊花苷、异毛蕊花苷、大车前苷和黄酮类物质野漆树苷。

**关键词:** 车前子总黄酮; 纯化; 液相质谱联用

## Purification of *Semen Plantaginis* Flavonoids and Components Analysis by LC-MS

WAN Yin, XIE Ming-yong\*, ZENG Xiao-xing

(Key Laboratory of Food Science, Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** The *in vitro* antioxidative activities of different solvent extracts were compared by examining the decoloration of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and the superoxide generated from autoxidation of pyrogallol. It is found that the antioxidative activities of n-butanol extract was most closed to ethanol extract, which means n-butanol is the best solvent to extract main functional components in ethanol extract. Then the performance of absorption and desorption for flavonoids from *Semen Plantaginis* with four types of macroreticular resins AB-8, D101, NKA-2, NKA-9 were determined, in order to select the better purification process of *Semen Plantaginis* flavonoids. The results showed that the AB-8 resin had the highest ratio of absorption and desorption and was the most suitable absorbent. The purify of flavonoids was raised from 4% to 30% after absorption and separation by this resin. It was determined by LC-MS chromatograms that the main components in the solution purified were several phenylethanoid glycosides such as Verbascoside, Isoverbascoside and Plantamajoside, an iridoid i. e. Geniposidic acid and two flavonoids i. e. Rhoifolin and Apigenin-7-O-glucoside.

**Key words** *Semen Plantaginis* flavonoids purification; LC-MS

中图分类号: O623.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)02-0328-05

车前子(*Semen Plantaginis*)为车前科(*Plantaginaceae*)植物车前(*Plantago asiatica* L.)或平车前(*P. depressa* Willd.)的干燥成熟种子。据《神农本草经》记载:“主气塞止痛, 利水通小便, 除湿痹。久服轻身耐老。”但车前子在临床上主要用作利尿剂, 其他功能未得到有效利用。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是由外源性氧化剂和细胞有氧代谢过程中产生的具有很高生物活性的氧分子。ROS 很容易与生物大分子反应, 可直接损害或者通过一系列过氧化链引起广泛生物结构的破坏<sup>[1]</sup>。研究发现车前子具有较强的抗氧化作用。据王素敏等报道<sup>[2-3]</sup>, 喂饲车前子可降低高脂血症大鼠血清总胆固醇、

收稿日期: 2007-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30660226); 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT0540);

2004年江西省科技 攻关项目; 2006年南昌大学分析测试中心资助项目

作者简介: 万茵(1976-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为天然产物开发、食品营养。E-mail: wanyin\_0@tom.com

\* 通讯作者: 谢明勇(1957-), 男, 教授, 研究方向为食品科学、食品安全与营养、中药现代化。

E-mail: myxie@ncu.edu.cn

三酰甘油和脂质过氧化物水平并提高超氧化物歧化酶、过氧化氢酶以及谷胱甘肽过氧化物酶的活性,改善机体对自由基的防御能力。王勇等<sup>[4]</sup>发现,车前子水提液对过氧化氢导致的实验型晶状体损伤所致晶体上皮细胞凋亡有较强的抑制作用。笔者在前期研究中发现,车前子总黄酮初提液具有较强的体外抗氧化能力,具有潜在天然抗氧化剂开发前景<sup>[5]</sup>。

大孔吸附树脂为具有立体结构的多孔性海绵状聚合物,外观为白色或微黄色球形颗粒,粒度多为20~60目,是一类有效的有机高聚物吸附剂,于20世纪70年代开始应用于从中药及其复方中有选择性地吸附其中的有效成分,去除无效部分。用大孔吸附树脂对不同植物中提取的黄酮化合物进行分离提纯,取得了很大进展<sup>[6-9]</sup>。

在本实验中对用不同有机溶剂萃取初提液后所得各萃取液的抗氧化能力,及不同型号大孔吸附树脂分离纯化车前子总黄酮的效果进行比较,以选择合适的车前子黄酮纯化工艺,并用反相高效液相-质谱联用技术分析其中主要成分,以期对车前子的深入研究和利用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

车前子原料 由江西吉安生产基地提供的大粒车前(*Plantago asiatica* L.)的种子,粉碎,过标准筛;芦丁标准品 中国药品生物制品检定所;毛蕊花苷、异毛蕊花苷、野漆树苷由本实验室从车前子中提取获得,经UV、IR、MS和NMR鉴定结构,HPLC测得其含量均大于96%;抗坏血酸、BHT为食品级;各种树脂为南开大学树脂厂生产;其他试剂均为国产分析纯。

WFZUV-2000型紫外可见分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司;FA1104电子天平 上海精天电子仪器厂;RE-85Z型旋转蒸发器 巩义市英峪予华仪器厂;DZG-6050型真空干燥箱 上海森信实验仪器有限公司;SHZ-III型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂;HH-4数显恒温水浴锅 深圳国华电器有限公司;飞鸽牌TDL-5-A台式离心机 上海安亭科学仪器厂;BCD-177BK冰箱 广东科龙电器股份有限公司;配2996检测器的HPLC仪、Waters液相色谱-ZQ4000质谱联用仪(配有电喷雾离子化源) Waters公司。

### 1.2 试剂的配制

二苯基苦味酰基苯肼(DPPH)( $2 \times 10^{-4}$ mol/L):称取20mg DPPH用相应溶剂溶解并定容于250ml容量瓶中,使DPPH浓度为 $2 \times 10^{-4}$ mol/L。

邻苯三酚(焦性没食子酸)(50mmol/L):称取0.6300g邻苯三酚,用50mmol/L的HCl定容于100ml容量瓶中,

现用现配。

Tris-HCl缓冲液(50mmol/L, pH8.2):取1.8172g三羟甲基胺基甲烷(Tris),加560 $\mu$ l浓HCl,以蒸馏水定容于100ml,调pH到8.2。

盐酸(50mmol/L):取浓盐酸4.5ml,用蒸馏水定容到1000ml容量瓶中。

### 1.3 醇提液及各萃取部分的制备

称取10g车前子,用30倍量浓度为60%的乙醇,于90℃提取3次,每次2h。将三次提取液合并浓缩至无醇,得醇提物的水溶液。将此液平均分成两份,一份用60%乙醇直接定容至50ml,为A液;另一份依次用等体积的乙醚、乙酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取三次,合并相同溶剂部分,浓缩后定容至等体积,得乙醚萃取部分(B液)、乙酸乙酯萃取部分(C液)、正丁醇萃取部分(D液)及萃取过后剩下的水溶液(E液)。用时将各提取部分稀释到不同浓度梯度进行测定。

### 1.4 体外抗氧化活性的测定

采用DPPH自由基清除体系和邻苯三酚自氧化法,在同等条件下进行比较。

#### 1.4.1 提取物对DPPH自由基的清除作用

将样品溶液2ml与 $2 \times 10^{-4}$ mol/L DPPH溶液均匀混合。30min后在525nm处测定其吸光度 $A_i$ ,同时用同法测定 $2 \times 10^{-4}$ mol/L DPPH溶液与2ml溶剂混合后的吸光度 $A_c$ ,以及2ml提取液与2ml溶剂混合后的吸光度 $A_j$ 。依据下列公式计算抑制率:

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100$$

#### 1.4.2 提取物对氧自由基的清除作用

邻苯三酚自氧化速率的测定:在25℃的恒温水浴锅中,将pH8.2 Tris-HCl缓冲液和50mmol/L邻苯三酚水浴保温10min后,取5ml pH8.2 Tris-HCl缓冲液,加5 $\mu$ l 50mmol/L邻苯三酚,摇匀,在325nm下立即测定,每隔0.5min测一次吸光度(以pH8.2 Tris-HCl缓冲液为空白),自氧化速率控制在0.060~0.065A/min,一般以测定3.5min平均计。

加入样品后氧化率测定:取5ml pH 8.2 Tris-HCl缓冲液,加待测样品5~20 $\mu$ l,5 $\mu$ l 50mmol/L邻苯三酚,摇匀,立即同上测定(以pH8.2 Tris-HCl缓冲液为空白对照)。

$$\text{结果计算:抑制率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中, $A_0 = A_{\text{自氧化}} - A_{\text{空白}}$ ;  $A_1 = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

### 1.5 大孔树脂纯化

#### 1.5.1 树脂的预处理

由于新购的大孔树脂含有未聚合单体、致空剂、分散剂及防腐剂等,故在使用前需要先行处理去除。

分别取非极性树脂D101、弱极性树脂AB-8、极性树脂NKA-2和NKA-9四种树脂,预先用无水乙醇浸泡24h,然后用醇洗至流出液加水不混浊(1ml乙醇加5ml水不混浊),水洗至无醇。用2BV的5%盐酸溶液浸泡2h,水洗至近中性;再用2BV的2%氢氧化钠溶液浸泡2h,水洗至近中性,过滤,备用。

### 1.5.2 芦丁标准曲线的制备

按照文献[5]方法进行,得标准曲线 $A=0.0013 \times C(\mu\text{g})+0.0078$ ,  $R^2=0.9986$ 。

### 1.5.3 树脂吸附率的测定

将四种树脂各称取三份,每份500mg,于具塞三角瓶中,每个瓶里加入待测液20ml,于电动振荡机上振荡20h,频率120n/min。温度20℃。过滤,准确移取滤液1ml,加1ml水,测定剩余总黄酮浓度,按下式计算各树脂在室温下的吸附量(mg/g)。

$$Q=(C_1-C_2) \times V/W$$

式中,  $Q$  为吸附量(mg/g);  $C_1$  为提取液的总黄酮浓度(mg/ml);  $C_2$  为剩余浓度(mg/ml);  $V$  为溶液体积(ml);  $W$  为树脂重量(g)。

### 1.5.4 解吸率的测定

将上述三种吸附饱和的树脂,分别精确加入体积分数为70%、80%、90%的乙醇水溶液20ml,按1.5.3的方法浸泡振摇20h。过滤测定滤液黄酮浓度,根据黄酮解吸量计算解吸率(%)。

### 1.5.5 吸附动力学曲线

准确称取AB-8树脂0.5g,平行三份。分别加入待测液20ml,于具塞三角瓶中,放置于摇床上,按照前面的条件振摇吸附,每隔一定时间取液1ml测定吸光度。

## 1.6 LC-MS 联用技术分析纯化液主要成分

色谱柱: Waters Symmetry  $C_{18}$  柱(2.5 × 460mm)。流动相为A(100%甲醇):B(0.1%甲酸溶液)=40:60。流速:0.55ml/min。质谱条件:ESI源;正离子和负离子检测;鞘气( $N_2$ )流速250L/Hr;辅助气( $N_2$ )流速50L/Hr;源电压3.0kV;毛细管温度350℃;毛细管电压30V。

## 2 结果与分析

### 2.1 各溶剂萃取部分的体外抗氧化活性比较

前期研究发现,车前子醇提液具有一定的清除DPPH自由基活性和邻苯三酚自氧化抑制能力,具有潜在天然抗氧化剂开发前景。本研究对各溶剂萃取液后所得各部分的体外抗氧化能力进行了比较,以选择能富集较多有效成分的溶剂。

#### 2.1.1 对DPPH自由基的清除作用

由图1可知,各液用量越大,对自由基的清除率越大。从曲线的趋势看来,在同等用量下,A液的作用最强,D液仅次,C液介于其中,E液、B液的作用最弱。

#### 2.1.2 对邻苯三酚自氧化的抑制作用

由图2可知,在同等用量下,各液抑制邻苯三酚自氧化能力稍弱于对DPPH自由基的清除能力,但曲线整体趋势与图1类似,对邻苯三酚自氧化的抑制作用由强到弱依次为A液>D液>C液>E液>B液,D液的抑制率与A液相近。

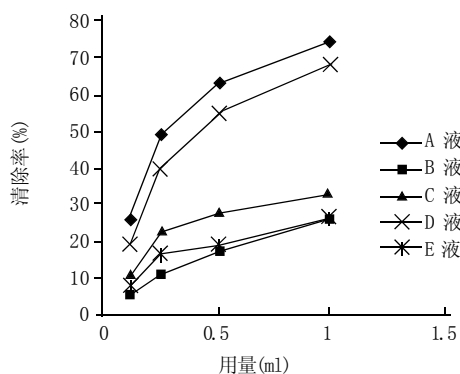


图1 各液对DPPH自由基的清除作用  
Fig.1 Scavenging effects on DPPH radical

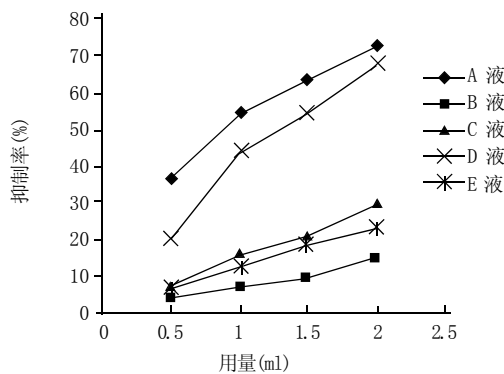


图2 各液对邻苯三酚自氧化的抑制作用  
Fig.2 Restraining effects on pyrogallol autooxidation

乙醚萃取液(B液)清除DPPH自由基和抑制邻苯三酚自氧化的能力很低,说明用乙醚难以萃取出有效成分,故可用乙醚萃取除脂溶性成分。而乙酸乙酯虽然能萃取出一些有效成分,但效果远不如水饱和和正丁醇。水饱和和正丁醇萃取液的体外抗氧化能力只略低于醇提液,意味着水饱和和正丁醇能萃取出总黄酮提取液中的绝大部分有效成分。

用配有2996二极管阵列检测器的HPLC仪对醇提液及其正丁醇萃取液进行谱图分析,发现初提液出峰很多,且看不到有黄酮类似物紫外特征吸收的峰;而经正

丁醇萃取后峰数减少, 黄酮类似物的含量增加, 也说明正丁醇比较适合用来富集初提液中的目的物。故针对水饱和正丁醇萃取液进行以下研究。

### 2.2 大孔树脂的纯化

欲通过此步来选择一种合适的树脂对正丁醇萃取液进行纯化, 以提高流出液中黄酮类似物的含量, 达到进一步富集的目的。

#### 2.2.1 树脂吸附率的测定

由表 1 可见, 弱极性树脂 AB-8 的吸附率较高, 其次是非极性树脂 D101, NKA-2 吸附率最低。

表 1 各树脂对车前子黄酮的吸附性能(n=3)  
Table 1 Absorption properties of different resins for *Semen Plantaginidis* flavonoids (n=3)

树脂型号	吸附量Q(mg/g)	吸附率(%)
D101	41.72	72.21
AB-8	42.29	73.16
NKA-2	12.93	22.37
NKA-9	17.77	55.36

#### 2.2.2 树脂解吸率的测定

由表 2 可见, 除 NKA-2 外, 其余三种树脂都能达到很高的解吸率。在乙醇浓度为 90% 时, NKA-9 的解吸率最高, AB-8 次之。

表 2 各树脂在不同乙醇浓度下的解吸率(n=3, %)  
Table 2 Desorption ratios of resins with different concentration of ethanol solution (n=3, %)

树脂型号	乙醇浓度		
	70%	80%	90%
D101	81.81	85.54	87.55
AB-8	87.01	94.36	94.10
NKA-2	48.36	55.22	62.41
NKA-9	71.06	82.54	95.46

综合看来, NKA-9 虽然有很高解吸率, 但其吸附率低, 而 D101 的吸附率和解吸率均弱于 AB-8。再由方差分析结果(表 3)可知因素 A(树脂型号)和 B(乙醇浓度)都有显著差异( $p < 0.05$ ), 且因素 A 有极显著差异( $p < 0.01$ ), 故最佳纯化工艺应选 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>, 即采用 AB-8 型树脂和 90% 的乙醇浓度。

#### 2.2.3 吸附动力学曲线

表 3 方差分析表  
Table 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
树脂型号(A)	2328.85	3	776.28	39.7	**
乙醇浓度(B)	331.09	2	165.54	8.5	*
误差(e)	117.41	6	19.57		

注: \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ 。

由图 3 可见, AB-8 树脂对车前子总黄酮的吸附, 在 70min 后即可达到平衡。

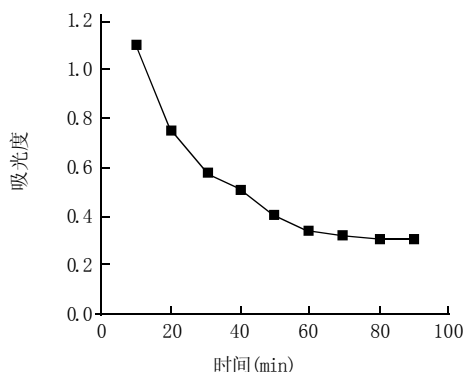


图 3 AB-8 对车前子总黄酮的吸附动力学曲线  
Fig.3 Absorption kinetics curve of AB-8 resin for *Semen Plantaginidis* flavonoids

#### 2.2.4 AB-8 型树脂对正丁醇萃取液的纯化

将车前子醇提物的正丁醇萃取部分浓缩至无醇, 将处理好的 AB-8 大孔树脂投入所得水溶液, 振摇 70min 后装柱, 先用水洗至无色, 再用 90% 乙醇溶液洗脱, 所得洗脱液中黄酮含量从 4% 增加到 30% 以上。因为车前子中含有大量苯乙醇苷类物质, 其分子中含有苯环、酚羟基和糖基结构, 化学性质与黄酮相似, 对纯化有较大影响, 导致纯化液中总黄酮含量难以再提高。

#### 2.3 纯化液的 LC-MS 分析

正丁醇萃取液过 AB-8 后所得纯化液上液相质谱联用仪所得总离子流图如图 4 所示, 结合紫外特征吸收谱图对其中主要成分分析如下。

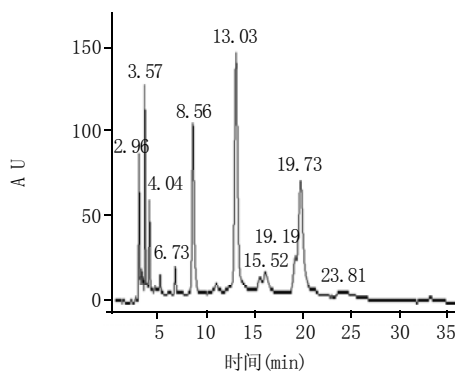


图 4 纯化液的 LC-MS 总离子流图  
Fig.4 Total ion chromatograms of purified solution

8.5min UV  $\lambda_{max}$ (nm): 240. ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 373.08 [M-H]<sup>-</sup>、747.87 [2M-H]<sup>-</sup>. ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 375.08 [M]<sup>+</sup>、749.60 [2M+H]<sup>+</sup>、212.86 [M-Glu+H]<sup>+</sup>、194.81 [M-C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup>。所得数据与京尼平苷酸基本吻合。据文献资料<sup>[10-11]</sup>记载环烯醚萜类是车前属植物含量较高的主要有效成分之一, 故推测此物质为京尼平苷酸(geniposidic acid, C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>)。

13.0min 峰, UV  $\lambda_{max}$ (nm): 220、246(sh)、289(sh)、

330. 具有典型苯乙醇苷类的紫外吸收特征。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 623.32[M-H]<sup>-</sup>、624.45[M]<sup>-</sup>、1247.50[2M-H]<sup>-</sup>。ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 625.20[M+H]<sup>+</sup>、479.31[M-rha+H]<sup>+</sup>、471.26[M-C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、325.34[M-caffeoyl-Hydroxytyrosol+H]<sup>+</sup>、162.90[Caffeoyl]<sup>+</sup>。高效液相色谱毛蕊花苷纯品的高效液相色谱保留时间与其一致,故鉴定此物质为毛蕊花苷(verbascoside, C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>)。

15.5min 峰, UV λ<sub>max</sub>(nm): 220, 246(sh), 289(sh), 329. 具有典型苯乙醇苷类的紫外吸收特征。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 623.32[M-H]<sup>-</sup>、624.45[M]<sup>-</sup>、1247.50[2M-H]<sup>-</sup>。ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 625.20[M+H]<sup>+</sup>、479.31[M-rha+H]<sup>+</sup>、471.26[M-C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、325.34[M-Caffeoyl-Hydroxytyrosol+H]<sup>+</sup>、162.90[Caffeoyl]<sup>+</sup>。主要碎片与9.0min峰和16.3min峰基本一致,说明此物质应属苯乙醇苷类,具有与(异)毛蕊花苷类似结构。尚未能推测为何物质。

16.1min 峰, UV λ<sub>max</sub>(nm): 220, 246(sh), 287(sh), 329. 具有典型苯乙醇苷类的紫外吸收特征。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 623.32[M-H]<sup>-</sup>、624.45[M]<sup>-</sup>、1247.50[2M-H]<sup>-</sup>。ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 625.20[M+H]<sup>+</sup>、479.31[M-rha+H]<sup>+</sup>、471.26[M-C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、325.34[M-Caffeoyl-Hydroxytyrosol+H]<sup>+</sup>、162.90[Caffeoyl]<sup>+</sup>。主要碎片与8.5min峰基本一致,说明这两个物质具有相似结构。异毛蕊花苷纯品的高效液相色谱保留时间与其一致,故鉴定此物质为异毛蕊花苷(isoverbascoside, C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>)。经过对异毛蕊花苷和毛蕊花苷质谱图的对比,发现毛蕊花苷质谱图中强度最高的碎片峰为分子量325.2,分子量479.7碎片峰和分子离子峰强度不及325.2峰的一半;而异毛蕊花苷的分子量325.2和479.7这两个碎片峰都较强,且强度基本一致,分子离子峰强度也很接近。这种在ESI质谱图上表现出来的裂解差异可用在没有标准品的情况下作为区分两者的理论依据。

19.1min 峰, UV λ<sub>max</sub>(nm, CH<sub>3</sub>OH): 267、338. 具有典型黄酮化合物的紫外吸收特征,带I、带II的位置与5,7,4'-三羟基黄酮相似。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 431.09[M-H]<sup>-</sup>。ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 433.29[M+H]<sup>+</sup>、271.12[苷元]。将所得数据与文献资料<sup>[10]</sup>对比,推测此物质为芹菜素-7-O-葡萄糖苷(apigenin-7-O-glucoside, C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>)。

19.7min 峰, UV λ<sub>max</sub>(nm, CH<sub>3</sub>OH): 267、337. 具有典型黄酮化合物的紫外吸收特征,带I、带II的位置与5,7,4'-三羟基黄酮相似。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 577.40[M-H]<sup>-</sup>、578.56[M]<sup>-</sup>。ESI-MS<sup>+</sup> m/z: 579.47[M+H]<sup>+</sup>、270.99[苷元+H]<sup>+</sup>。推测此物质应该是一个带双糖的黄酮苷。野漆树苷纯品的高效液相色谱保留时间与其一致,故鉴定此物质为野漆树苷(rhoifolin, C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub>)。

23.8min 处峰的 UV λ<sub>max</sub>(nm): 218、247(sh)、290

(sh)、330, 具有典型苯乙醇苷类的紫外吸收特征。ESI-MS<sup>-</sup> m/z: 639.15[M-H]<sup>-</sup>、640.15[M]<sup>-</sup>。将所得数据与文献资料<sup>[10-12]</sup>对比,推测此物质为大车前苷或β-羟基毛蕊花苷。但该物质质谱图中有个341.43碎片峰,应为分子离子脱去咖啡酰基和邻二羟基苯乙基后产生的双葡萄糖基碎片,异于(异)毛蕊花苷的鼠李糖苷葡萄糖基325.34碎片峰,所以最终推测该物质为大车前苷(plantamajoside, C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>16</sub>)。

### 3 结论

3.1 可先用乙醚萃除初提液中的脂溶性物质后,再用水饱和正丁醇萃取出大部分抗氧化有效成分。

3.2 用大孔吸附树脂纯化时,树脂型号影响极其显著,乙醇洗脱浓度影响显著。实验表明吸附率和解吸率均较高的树脂为弱极性AB-8型树脂,可使总黄酮含量从纯化前的4%提高到30%以上,达到较好的纯化效果。

3.3 对纯化液进行液相质谱联用技术分析,发现其化学成分主要是苯乙醇苷类(毛蕊花苷、异毛蕊花苷和大车前苷)、环烯醚萜类(京尼平苷酸)和黄酮类(野漆树苷、芹菜素-7-O-葡萄糖苷)。至于哪种成分对抗氧化起着关键作用或是多种成分的联合作用,还有待进一步的深入研究。

### 参考文献:

- [1] 惠宏襄, 赵小宁. 自由基与细胞凋亡[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(1): 13.
- [2] 王素敏, 张杰, 李兴琴, 等. 车前子对高脂血症大鼠脂质过氧化的影响[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2003, 25(2): 212-214.
- [3] 王素敏, 张杰, 李兴琴, 等. 车前子对高脂血症大鼠机体自由基防御性能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2003, 23(8): 529-530.
- [4] 王勇, 祁明信, 黄秀榕, 等. 车前子对晶状体氧化损伤所致LEC凋亡抑制作用的实验研究[J]. 现代诊断与治疗, 2003, 14(4): 199-202.
- [5] 万茵, 谢明勇, 梁丽军, 等. 车前子总黄酮的提取工艺优化及体外抗氧化作用研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 371-374.
- [6] 周小华, 陈器, 吴方国. D241树脂分离纯化黄芩总黄酮的研究[J]. 离子交换与吸附, 2002, 18(1): 36-44.
- [7] 刘中秋, 赖小平, 吴燕红, 等. 大孔树脂吸附法富集保和丸中橙皮苷的工艺研究[J]. 中成药, 2001, 23(8): 550-552.
- [8] 郑亚杰, 张长弓, 李晓斌. 大孔吸附树脂分离纯化山楂总黄酮的研究[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2004, 33(2): 136-138; 142.
- [9] 杨星昊, 刘海, 丁安伟. 大孔吸附树脂分离纯化小蓟总黄酮的研究[J]. 浙江中医杂志, 2006, 41(1): 50-52.
- [10] SAMUELSEN A B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 71: 1-21.
- [11] RILKA T, LJUBKA E, NEDJALKA H, et al. Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance[J]. Journal of Biosciences, 2002, 57(1/2): 42-50.
- [12] 陈蕙芳. 植物活性成分辞典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 773.