



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105055463 B

(45)授权公告日 2019.04.09

(21)申请号 201510449760.5

A61P 19/06(2006.01)

(22)申请日 2015.07.28

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

CN 1544068 A,2004.11.10,

申请公布号 CN 105055463 A

CN 104523767 A,2015.04.22,

(43)申请公布日 2015.11.18

Ji Xiao Zhu et al..Effects of Biota

(73)专利权人 华南理工大学

orientalis extract and its flavonoid
constituents,quercetin and rutin on serum
uric acid levels in oxonate-induced mice
and xanthine dehydrogenase and xanthine
oxidase activities in mouse liver.

地址 511458 广东省广州市南沙区环市大
道南路25号

《Journal of Ethnopharmacology》.2004,

(72)发明人 任娇艳 林泽华 郑亚美 揭异
刘丹

都宏霞.侧柏叶活性成分研究进展.《广东化
工》.2013,第40卷(第20期),

(74)专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限
公司 44102

审查员 杨秦

代理人 何淑珍

(51)Int.Cl.

A61K 36/14(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图8页

(54)发明名称

一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚及其制
备方法和应用

(57)摘要

本发明涉及一种具有降尿酸活性的侧柏叶
多酚及其制备方法和应用。本发明公开的侧柏叶
多酚是经超高压低温浸提、常压高温浸提、过滤
浓缩、大孔吸附树脂纯化获得。本发明制备的侧
柏叶多酚安全性高并且热稳定性好,经黄嘌呤氧
化酶抑制活性试验证明侧柏叶多酚具有良好的
降尿酸活性,可用于制备具有降尿酸功效的功能
性食品或高尿酸血症、痛风等疾病的辅助治疗药
物。本发明的制备工艺合理简单、绿色环保,并且
易于实现工业化大生产。

1. 一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法,其特征在于以侧柏叶为原料,经过如下工艺制备:超高压低温浸提、常压高温浸提、过滤浓缩、大孔吸附树脂纯化后获得;具体包括以下步骤:

(1) 将侧柏叶于50 ~90 °C下干燥3 ~ 6 h,然后用打粉机粉碎,得侧柏叶粉末;

(2) 将侧柏叶粉末与溶剂按料液比混合搅拌均匀,进行超高压浸提,得浸提液,将浸提液离心,收集滤液,并将滤渣进行常压高温浸提,再次离心,合并两次浸提滤液;超高压浸提条件为:溶剂为水,料液比为1:15 ~ 1: 30 g/mL,用包装袋密封后置于聚四氟乙烯传压套筒内,控制浸提液温度30 ~ 40°C,高压处理条件为100 MPa -450 MPa,保压时间10 min~ 20 min;常压高温浸提条件为:高压处理后的滤渣加热水至料液比为1:10~ 1: 15 g/mL,热水温度为70 ~ 95 °C,浸提时间为 3 ~ 6 h;

(3) 采用抽滤法或离心法去除不溶物,取滤液或上清液进行真空旋转蒸发浓缩;

(4) 利用大孔吸附树脂纯化步骤(3)浓缩后的粗提取液,洗脱溶剂为乙醇水溶液,以洗脱液中总酚含量为评价指标,收集侧柏叶多酚洗脱峰;大孔吸附树脂纯化中,所采用的树脂型号为HPD 300、HPD 600、HPD 722、D101、NKA-9、ADS-5、ADS-17中的一种或多种;大孔吸附树脂纯化中所采用的洗脱溶剂是体积分数为30% ~ 80%的乙醇;

(5) 对大孔吸附树脂纯化后的侧柏叶多酚洗脱液进行真空旋转蒸发浓缩,后进行冷冻干燥,得到侧柏叶多酚固体粉末产品。

2. 根据权利要求1所述的一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法,其特征在于步骤(2)所述离心的条件均为4000 r/min,15 min。

3. 根据权利要求1所述的一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法,其特征在于步骤(3)与步骤(5)所述真空旋转蒸发浓缩的温度为70°C。

4. 由权利要求1所述制备方法制得的一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚。

5. 权利要求4所述的一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚在制备具有降尿酸功效的功能性食品或高尿酸血症、痛风疾病的辅助治疗药物中的应用。

一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及天然提取物领域,具体涉及一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 侧柏(*Platycladus orientalis* (L.) Franco),别名香柯树、香树、扁桧、香柏、黄柏,隶属于裸子植物门(Gymnospermae)、松柏纲(Coniferopsida)、松杉目(Coniferales)、柏科(Cupressaceae)、侧柏属(*Platycladus*)。下级分类有金塔柏、金黄球柏、千头柏、窄冠侧柏。侧柏嫩枝、叶及果皆可入药,其味苦、涩,性微寒,入肺、肝、大肠经,有凉血止血、乌须发、止咳喘的功效。在古代,侧柏的枝叶是备受道家推崇的延年上品,具有重要的食疗养生价值。明代李时珍《本草纲目》记载侧柏叶“治风痹关节作痛”。若感受风热之邪,与湿相并,而致风湿热合邪为患。风湿热痹,症见关节疼痛、灼热红肿、发热、口渴等,可用侧柏叶,苦寒清热,祛风降湿而通络止痛。

[0003] 侧柏叶所含的主要成分为多酚类化合物、黄酮类化合物、鞣质及挥发油类等,相关活性研究包括抗肿瘤作用、抗炎作用、抑菌作用、改善睡眠作用、神经保护作用、抗红细胞氧化作用等。

[0004] 蒋继宏等对侧柏叶、种皮及种子的挥发油进行了抗人肺癌细胞实验,结果表明侧柏叶、种皮和种子的挥发油对肺癌细胞NCI-H 460有明显抑制作用,抑制率分别为86.24%、47.80%和97.73%;并且可从侧柏叶挥发油中重结晶得到纯度高达97.06%的雪松醇,其对肺癌细胞NCI-H 460半致死浓度为44.98 μ g/mL(林业科学研究,2006,19(3):311-315)。该论文与本发明所报道内容差异较大,所用原料部位及目标成分不同。

[0005] 梁统等以二甲苯致炎小鼠耳片肿胀及角叉菜胶诱发大鼠足爪肿胀模型研究了侧柏总黄酮的抗炎作用及机制,发现侧柏总黄酮具有较强的抗炎作用,其对中性粒细胞花生四烯酸代谢产物白三烯B₄(LTB₄)、5-羟廿碳四烯酸(5-HETE)生物合成及 β -葡萄糖苷酸酶释放具有抑制作用(中国药理学通报,2005,19(12):1407-1410)。该论文主要关注侧柏总黄酮的抗炎作用,与本发明内容差异较大。

[0006] 李园园等采用菌丝生长速率法测定了侧柏叶、小枝、球果和种子4个不同部位乙醇提取物对21种植物病原真菌的抑菌活性,其中侧柏叶提取物的抑菌效果最好,对供试葡萄白腐病菌、葡萄黑痘病菌、番茄绵腐病菌和青霉病菌的EC₅₀分别为:5.424、3.186、8.913和19.000g/L(西北植物学报,2008,28(5):1056-1060)。该论文主要研究侧柏不同部位(叶、枝、果和种子等),活性重点为抑菌活性,不同于本发明内容。

[0007] 王连萍研究了侧柏叶黄酮的提取和纯化工艺,优化得到的工艺条件为:以70%乙醇提取侧柏叶黄酮,利用溶剂萃取法将侧柏叶醇提取液分为4个部位,测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性,结果发现乙酸乙酯部位活性最高;并利用中低压柱层析法对乙酸乙酯部位进行成分分析,得到2个化合物即槲皮苷和穗花杉双黄酮,测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性,结果显示槲皮苷抑制作用不明显,而穗花杉双黄酮活性较高(吉林农业大学2012年硕士学位论文)。

该论文与本发明所报道提取方法及纯化方法不同,目标化学成分亦不同。

[0008] 专利申请公开号为CN104069135A的专利公开了“一种侧柏叶总黄酮的提取工艺”,公开日期为2014-10-01,申请人为南京泽朗医药科技有限公司。该专利发明一种匀浆-微波协同提取侧柏叶总黄酮的方法,其特点是以匀浆法除去脂溶性物质,再采用微波提取侧柏叶总黄酮,该公开专利与本发明所用提取方法不同,目标化学成分亦不同,且未涉及降尿酸功效。

[0009] 专利申请公开号为CN201310102863.5的专利公开了“一种扁柏双黄酮的制备方法”,公开日期为2013-06-05,申请人为南京中医药大学。方法如下:取侧柏叶,加入其质量5~8倍量体积的石油醚加热回流1~3小时,滤过,取滤渣加水后投入微波萃取装置中进行萃取、过滤、浓缩,通过大孔吸附树脂吸附,水洗脱除杂,然后以60~80%乙醇洗脱,洗脱液减压回收乙醇并浓缩,加到聚酰胺层析柱上,以比例为3:1的二氯甲烷-甲醇混合溶剂作为洗脱剂洗脱,收集对应于聚酰胺薄膜上 $R_f=4\sim 4.5$ 的流份,回收溶剂,加入丙酮结晶,洗涤、干燥。该公开专利与本发明所用提取方法不同,目标化学成分亦不同,且未涉及降尿酸功效。

[0010] 专利申请公开号为CN201310360308.2的专利公开了“一种高从侧柏叶中提取扁柏双黄酮的方法”,公开日期为2013-12-18,申请人为南京标科生物科技有限公司。该发明公开了一种从侧柏叶中提取扁柏双黄酮的方法:取侧柏叶粉碎加入饱和石灰水浸泡提取,提取液用超滤膜超滤,透过液再用纳滤膜浓缩;浓缩液调节pH至3~5后加入大孔树脂柱吸附,乙醇溶液梯度洗脱,洗脱液浓缩调节pH3~5结晶;滤出结晶用50%~80%甲醇溶液溶解,浓缩至醇浓度至10%~30%,加入大孔树脂吸附,乙醇溶液梯度洗脱,洗脱液浓缩结晶,结晶物再用70%乙醇溶液重结晶、干燥。该公开专利与本发明所用提取方法不同,目标化学成分亦不同,且未涉及降尿酸功效。

[0011] 专利申请公开号为US 5773005的美国专利公开了“一种从侧柏中提取纯化具有5 α -还原酶(5 α -reductase)抑制活性的黄酮和二萜的方法”,公开日期为1998-06-30,申请人为Takahashi,Hidehiko等。方法如下:取侧柏叶粉,按料液比1:5加入正己烷混合后加热回流,过滤后真空浓缩;滤饼用初始原料2倍体积的60%乙醇溶解后过滤,将滤液真空浓缩得到组分A。正己烷萃取后的滤饼,加入5倍体积的60%乙醇,加热回流然后过滤;取滤饼加入3倍体积的纯净水,加热回流然后过滤;真空浓缩滤饼即得组分B,滤液回收浓缩即得组分C。因此,该公开专利与本发明所用提取方法不同,目标化学成分及功效功效。

[0012] 专利申请公开号为US 20100112107的美国专利公开了“一种具有睡眠促进作用的侧柏提取物的制备方法”,公开日期为2010-05-06,申请人为Xie,Xueji等。该专利发明了一种具有缓解生理睡眠障的侧柏提取物及其组合物。该组合物还可以包括睡眠促进功效的酸枣仁提取物、远志提取物或它们的混合物的至少一个。活性的评价方法为小鼠动物实验,研究巴比妥钠催眠的睡眠时间诱发、对小鼠自由活动的副作用、牵引试验以及斜板爬坡试验。因此,该公开专利与本发明所用提取方法不同,目标化学成分及功效亦不同。

[0013] 综上所述,目前关于以侧柏叶为原料,依次经过超高压浸提、常压高温浸提、过滤浓缩、大孔吸附树脂纯化,并用分离纯化后的侧柏叶多酚进行降尿酸活性的报道尚无。而本发明提供了一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法及其应用,为侧柏叶的深加工及其高效利用奠定了理论基础和技术基础。

发明内容

[0014] 本发明所要解决的技术问题在于对侧柏叶中的多酚进行有效提取和分离纯化,并对分离纯化后的侧柏叶多酚的降尿酸活性进行研究,提供一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚及其制备方法和应用。

[0015] 本发明的具体技术方案如下。

[0016] 一种具有降尿酸活性的侧柏叶多酚的制备方法,以侧柏叶为原料,经过如下工艺制备:超高压低温浸提、常压高温浸提、过滤浓缩、大孔吸附树脂纯化后获得。

[0017] 进一步地,所述制备方法具体包括以下步骤:

[0018] (1) 将侧柏叶于50~90℃下干燥3~6h,然后用打粉机粉碎,得侧柏叶粉末;

[0019] (2) 将侧柏叶粉末与溶剂按料液比混合搅拌均匀,进行超高压浸提,得浸提液,将浸提液离心,收集滤液,并将滤渣进行常压高温浸提,再次离心,合并两次浸提滤液;

[0020] (3) 采用抽滤法或离心法去除不溶物,取滤液或上清液进行真空旋转蒸发浓缩;

[0021] (4) 利用大孔吸附树脂纯化步骤(4)浓缩后的粗提取液,洗脱溶剂为乙醇水溶液,以洗脱液中总酚含量为评价指标,收集侧柏叶多酚洗脱峰;

[0022] (5) 对大孔吸附树脂纯化后的侧柏叶多酚洗脱液进行真空旋转蒸发浓缩,后进行冷冻干燥,得到侧柏叶多酚固体粉末产品。

[0023] 进一步优化地,步骤(2)的超高压浸提条件为:溶剂为水,料液比为1:15~1:30g/mL,用包装袋密封后置于聚四氟乙烯传压套筒内,控制浸提液温度30~40℃,高压处理条件为100MPa-450MPa,保压时间10min~20min。

[0024] 进一步优化地,步骤(2)的常压高温浸提条件为:高压处理后的滤渣加热水至料液比为1:10~1:15g/mL,热水温度为70~95℃,浸提时间为3~6h。

[0025] 进一步优化地,步骤(2)所述离心的条件均为4000r/min,15min。

[0026] 进一步优化地,步骤(3)与步骤(5)所述真空旋转蒸发浓缩的温度为70℃。

[0027] 进一步优化地,步骤(4)的大孔吸附树脂纯化中,所采用的树脂型号为HPD 300、HPD 600、HPD 722、D101、NKA-9、ADS-5、ADS-17中的一种或多种。

[0028] 进一步优化地,步骤(4)的大孔吸附树脂纯化中,所采用的洗脱溶剂是体积分数为30%~80%的乙醇。

[0029] 经黄嘌呤氧化酶抑制活性试验证明该侧柏叶多酚具有良好的降尿酸活性,可用于制备具有降尿酸功效的功能性食品或高尿酸血症、痛风等疾病的辅助治疗药物。

[0030] 与现有技术相比,本发明具有如下优点和技术效果:

[0031] 本发明所获得的侧柏多酚具有简单易得、安全性好、热稳定性好的优点,经黄嘌呤氧化酶抑制活性试验证明侧柏叶多酚具有良好的降尿酸活性,可用于具有降尿酸功效的功能性食品或高尿酸血症、痛风等疾病的辅助治疗药物。本发明的制备工艺简单合理、绿色环保,并且易于实现工业化大生产。

附图说明

[0032] 图1为大孔吸附树脂纯化侧柏叶多酚柱层析洗脱曲线图。

[0033] 图2为侧柏叶多酚PF1的红外光谱图。

[0034] 图3为侧柏叶多酚PF1的液质连用(LC-MS)谱图。

- [0035] 图4为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物1的质谱图。
[0036] 图5为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物2的质谱图。
[0037] 图6为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物3的质谱图。
[0038] 图7为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物4的质谱图。
[0039] 图8为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物5的质谱图。
[0040] 图9为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物6的质谱图。
[0041] 图10为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物7的质谱图。
[0042] 图11为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物8的质谱图。
[0043] 图12为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物9的质谱图。
[0044] 图13为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物10的质谱图。
[0045] 图14为侧柏叶多酚PF1液质连用分析化合物11的质谱图。
[0046] 图15为侧柏叶多酚PF1对黄嘌呤氧化酶抑制作用效果。

具体实施方式

[0047] 以下结合具体实施例对本发明的实施作进一步说明,但本发明的实施不限于此。

[0048] 实施例1:

[0049] (1) 将150g侧柏叶于50℃下干燥6h,然后用打粉机粉碎,得侧柏叶粉末。

[0050] (2) 将侧柏叶粉末与水按料液比1:15g/mL混合搅拌均匀,用包装袋密封后置于聚四氟乙烯传压套筒内,于超高压下浸提,控制处理过程中样品温度35℃,高压处理条件为450MPa,保压时间10min。处理结束后将浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0051] (3) 将高压处理后的滤渣加热水至料液比为1:15g/mL,热水温度为70℃,浸提时间为6h。将所得浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0052] (4) 合并两次浸提滤液,采用抽滤法去除不溶物,取滤液于70℃下进行真空旋转蒸发浓缩;

[0053] (5) 利用大孔吸附树脂ADS-17纯化步骤(4)浓缩后的粗提取液,上样时样品浓度为0.60mg/mL,先后采用30%和60%(体积分数)的乙醇水溶液进行梯度洗脱,每个浓度的洗脱剂用量为2倍柱体积(柱型号:Φ2.6cm×20cm),洗脱液流速为1mL/min,以洗脱液中总酚含量为评价指标,收集侧柏叶多酚在40%乙醇洗脱下的洗脱峰,记为PF1组分。

[0054] (6) 对大孔吸附树脂纯化后的侧柏多酚PF1组分洗脱液在70℃旋转蒸发浓缩,后进行冷冻干燥,得到侧柏叶多酚PF1组分固体粉末产品。侧柏叶多酚大孔树脂纯化洗脱曲线如图1。

[0055] 实施例2:

[0056] (1) 将150g侧柏叶于70℃下干燥5h,然后用打粉机粉碎,得侧柏叶粉末。

[0057] (2) 将侧柏叶粉末与水按料液比1:20g/mL混合搅拌均匀,用包装袋密封后置于聚四氟乙烯传压套筒内,于超高压下浸提,控制处理过程中样品温度35℃,高压处理条件为300MPa,保压时间15min。处理结束后将浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0058] (3) 将高压处理后的滤渣加热水至料液比1:12g/mL,热水温度为80℃,浸提时间为4h。将所得浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0059] (4) 合并两次浸提滤液,采用抽滤法去除不溶物,取滤液于70℃下进行真空旋转蒸

发浓缩。

[0060] (5) 利用大孔吸附树脂HPD-300纯化步骤(4)浓缩后的粗提取液,上样时样品浓度为0.50mg/mL,先后采用40%和70%(体积分数)的乙醇水溶液进行梯度洗脱,每个浓度的洗脱剂用量为2倍柱体积(柱型号: ϕ 2.6cm $\times$ 20cm),洗脱液流速为1mL/min,以洗脱液中总酚含量为评价指标,收集侧柏叶多酚在40%乙醇洗脱下的洗脱峰,记为PF1组分。

[0061] (6) 对大孔吸附树脂纯化后的侧柏叶多酚PF1组分洗脱液在70℃旋转蒸发浓缩,后进行冷冻干燥,得到侧柏叶多酚PF1组分固体粉末产品(侧柏叶多酚大孔树脂纯化洗脱曲线可参考图1)。

[0062] 实施例3:

[0063] (1) 将侧柏叶于90℃下干燥3h,然后用打粉机粉碎,得侧柏叶粉末。

[0064] (2) 将侧柏叶粉末与水按料液比1:30g/mL混合搅拌均匀,用包装袋密封后置于聚四氟乙烯传压套筒内,于超高压下浸提,控制处理过程中样品温度35℃,高压处理条件为100MPa,保压时间20min。处理结束后将浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0065] (3) 将高压处理后的滤渣加水至料液比1:10g/mL,热水温度为95℃,浸提时间为3h。将所得浸提液离心(4000r/min,15min),收集滤液。

[0066] (4) 合并两次浸提滤液,采用抽滤法去除不溶物,取滤液于70℃下进行真空旋转蒸发浓缩。

[0067] (5) 利用大孔吸附树脂D-101纯化步骤(4)浓缩后的粗提取液,上样时样品为0.50mg/mL,先后采用50%和80%(体积分数)的乙醇水溶液进行梯度洗脱,每个浓度的洗脱剂用量为2倍柱体积(柱型号: ϕ 2.6cm $\times$ 20cm),洗脱液流速为1mL/min,以洗脱液中总酚含量为评价指标,收集侧柏叶多酚在40%乙醇洗脱下的洗脱峰,记为PF1组分。

[0068] (6) 对大孔吸附树脂纯化后的侧柏叶多酚PF1组分洗脱液在70℃旋转蒸发浓缩,后进行冷冻干燥,得到侧柏叶多酚PF1组分固体粉末产品(侧柏叶多酚大孔树脂纯化洗脱曲线可参考图1)。

[0069] 按以上实施例1制得的侧柏叶多酚PF1组分通过以下方法进行结构鉴定和活性分析,实施例2和3的结果与实施例1类似。

[0070] 1、侧柏叶多酚的红外光谱分析

[0071] 取侧柏叶多酚PF1样品2.0mg,加入适量干燥的KBr粉末,混合均匀,在玛瑙研钵中研磨均匀后加入压膜内压片,制成厚约1mm、直径约为10mm左右的透明压片。用FT-IR(傅里叶变换红外光谱仪,型号为VERTEX 70,德国Bruker公司)对PP1压片在500~4000cm⁻¹区间进行扫描,采集样品的红外吸收图谱。由图2侧柏叶多酚的红外光谱图可知,在3377.64cm⁻¹附近有一个强而宽的吸收峰,这是属于羟基的伸缩振动特征吸收峰(3600~3200cm⁻¹);在2935.83cm⁻¹附近的吸收峰是属于C-H伸缩振动吸收峰(2950~2850cm⁻¹);1654.66cm⁻¹附近的吸收峰是属于C=O双键的伸缩振动吸收峰(1680~1620cm⁻¹);1268.00cm⁻¹附近的吸收峰是属于C-O伸缩振动吸收峰。1074.57cm⁻¹和1032.44cm⁻¹是C-C伸缩振动吸收峰;810.56cm⁻¹附近的吸收峰是属于苯环上C-H面外弯曲振动吸收峰;630.49cm⁻¹是O-H面外弯曲振动吸收峰。

[0072] 2、侧柏叶多酚的液质连用(LC-MS)结构分析

[0073] 采用液质连用(LC-MS)分析纯化后的侧柏叶多酚的结构,如图3,其中纵坐标

intens表示强度。仪器型号为Agilent 1100/Esquire HCT PLUS,生产厂家为德国布鲁克公司。色谱分析条件:Agilent Zorbax SB-C18色谱柱(100mm×4.6mm,1.8μm,美国Agilent公司);流速0.2mL/min,柱温25℃,进样量5.0μL。流动相A为水、流动相B为乙腈,梯度洗脱过程:1min,85%A,15%B;3min,15%A,85%B;9min,15%A,85%B;9.1min,85%A,15%B;10min,85%A,15%B。紫外采集数据范围为200~400nm,检测波长360nm。质谱分析条件:ESI负离子模式,喷雾气压力50psig,干燥气流速4.0L/min,干燥气温度180℃,毛细管电压2500V;扫描范围(m/z)50~1000。通过液质连用(LC-MS)的一级质谱图和二级质谱图分析得知,本方法制备的侧柏多酚含有厚朴酚(Magnolol,分子式C₁₈H₁₈O₂、分子量266.32)(图4);丹皮酚(Paeonol,分子式C₉H₁₀O₃、分子量166.18)(图5);阿魏酸(Ferulic acid,分子式C₉H₁₀O₃、分子量194.19)(图6);芥子酸(Sinapic acid,分子式C₁₁H₁₂O₅、分子量224.21)(图7);香豆酸(Coumaric acid,分子式C₉H₈O₃、分子量164.16)(图8)、迷迭香酸甲酯(Methyl rosmarinate,分子式C₁₉H₁₈O₈、分子量374.35)(图9)、芹菜素(Apigenin,分子式C₁₅H₁₀O₅、分子量270.24)(图10)、条叶蓟素(Cirsiliol,分子式C₁₇H₁₄O₇、分子量330)(图11)、胡麻素(Pedalitin,分子式C₁₆H₁₂O₇、分子量316)(图12)、Dicafeoylshikimic acid(分子量498)(图13)、穗花杉双黄酮(Amentoflavone, C₃₀H₁₈O₁₀、分子量538.46)(图14)。其中厚朴酚、丹皮酚、阿魏酸、芥子酸、香豆酸、迷迭香酸甲酯、芹菜素、条叶蓟素、胡麻素、Dicafeoylshikimic acid为首次研究报道的侧柏叶多酚类物质。

[0074] 3、侧柏叶多酚的降尿酸活性测定

[0075] 配制0.1mol/l pH 7.5磷酸盐缓冲液(PBS);配制0.43μmol/mL的黄嘌呤溶液;配制0.4U/mL黄嘌呤氧化酶溶液。将待测样品稀释或者配制成10mg/mL,向96孔酶标板中,每孔加入50μL待测样品以及50μL黄嘌呤氧化酶溶液,以10μg/mL的别嘌呤醇为阳性对照。37℃保温15min,加入200μL黄嘌呤溶液,在292nm波长下每30s读数一次,共读数80次反应40min。得出吸光值后,计算样品抑制率。黄嘌呤氧化酶是促进黄嘌呤转化成为尿酸的关键酶,抑制黄嘌呤氧化酶的活性可以抑制尿酸生成,降低血清尿酸含量。如果样品对黄嘌呤氧化酶活性有抑制作用,则说明样品具有抑制尿酸生成的功效。由图15结果知,侧柏叶多酚PF1具有良好的黄嘌呤氧化酶抑制活性,在较低浓度下,即测定体系中多酚样品终浓度为50mg/L(即50μg/mL)时,对黄嘌呤氧化酶抑制活性可达44.93%。因此,通过黄嘌呤氧化酶抑制活性实验说明侧柏叶多酚具有降尿酸活性,可用于相关功能性健康食品的生产。

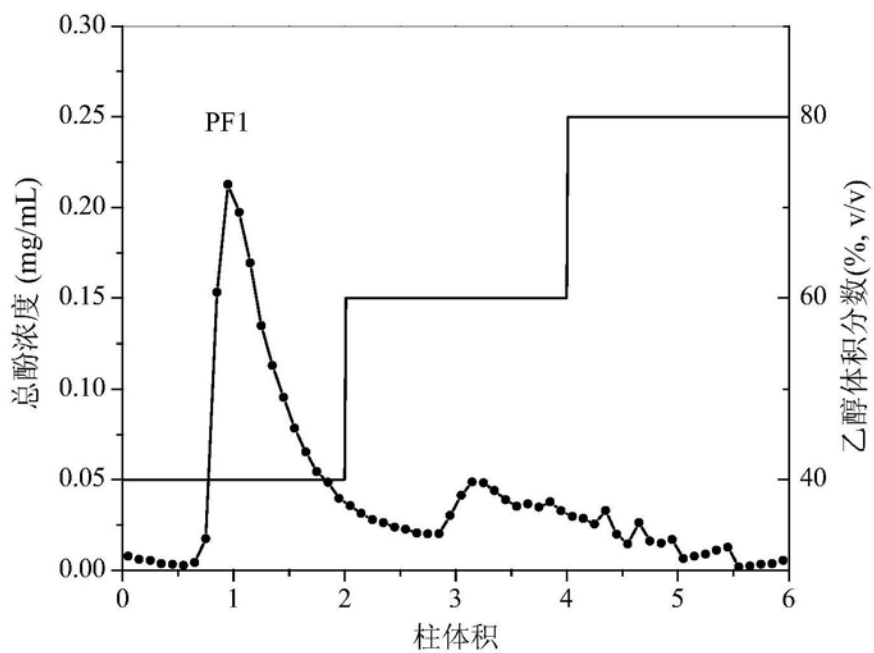


图1

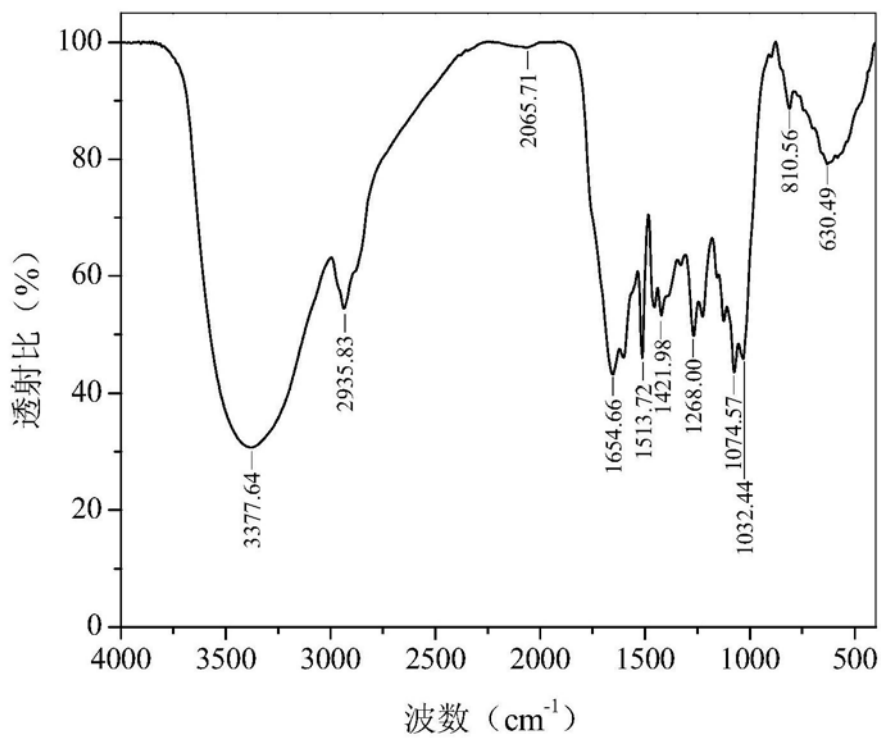


图2

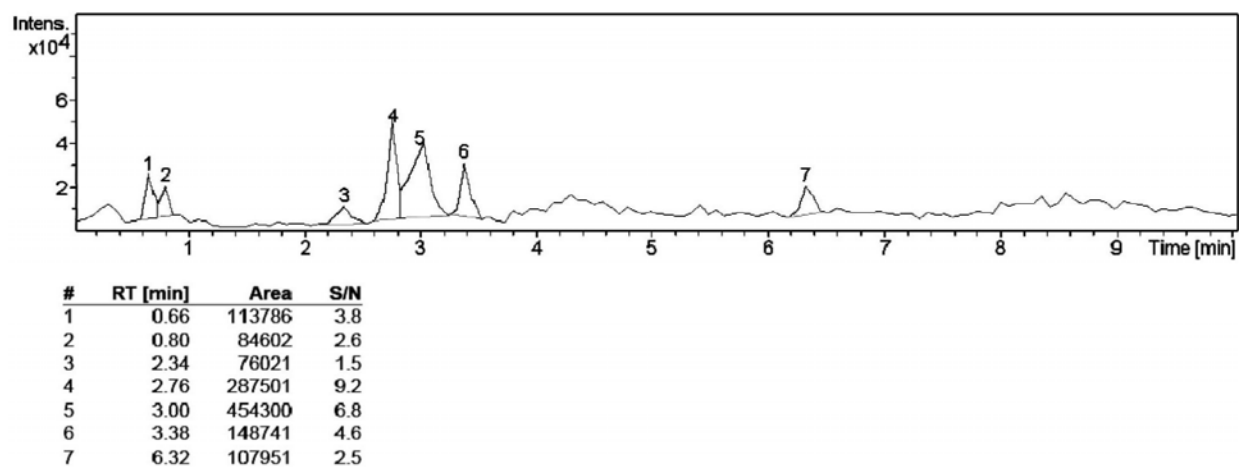


图3

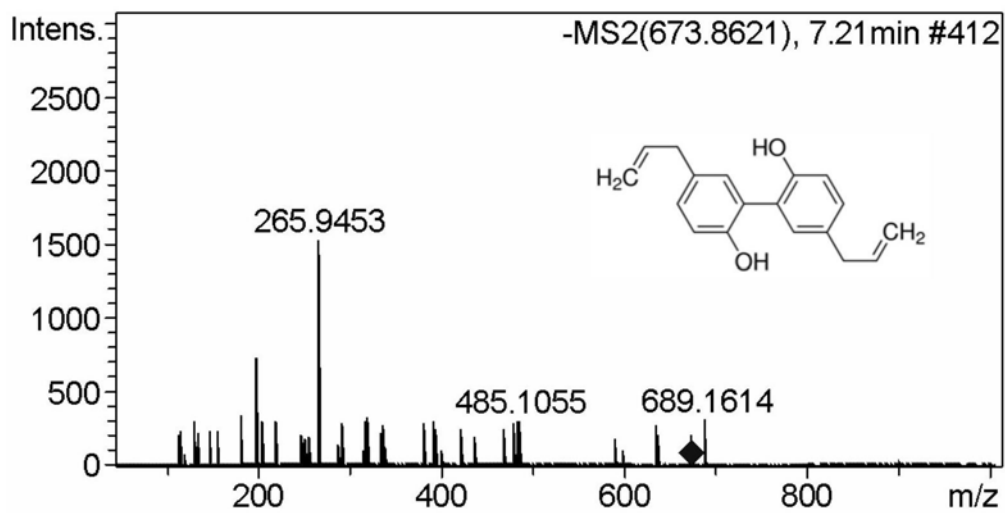


图4

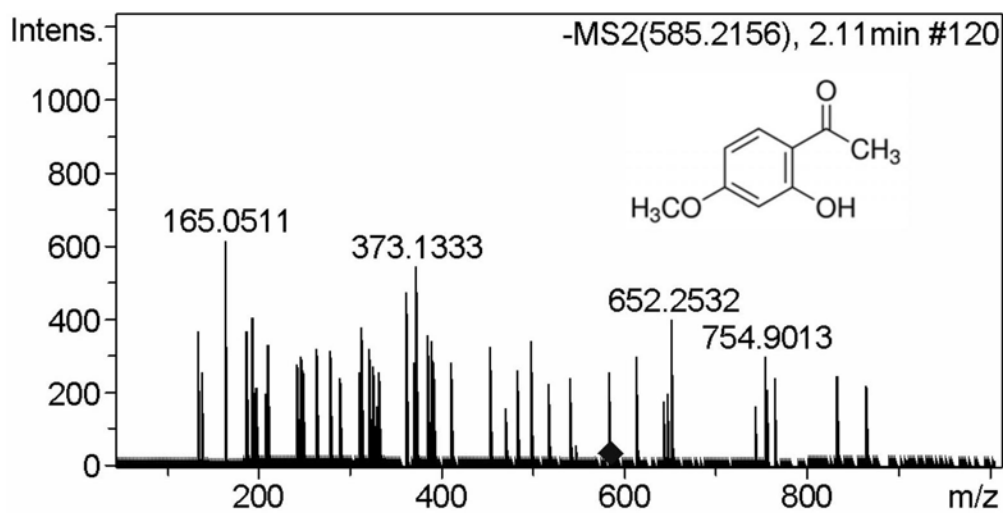


图5

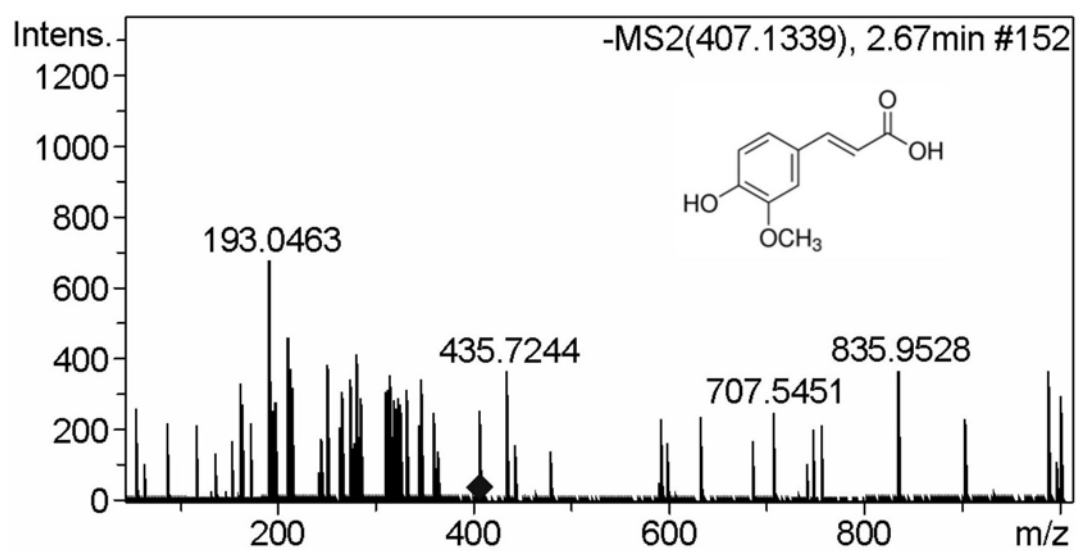


图6

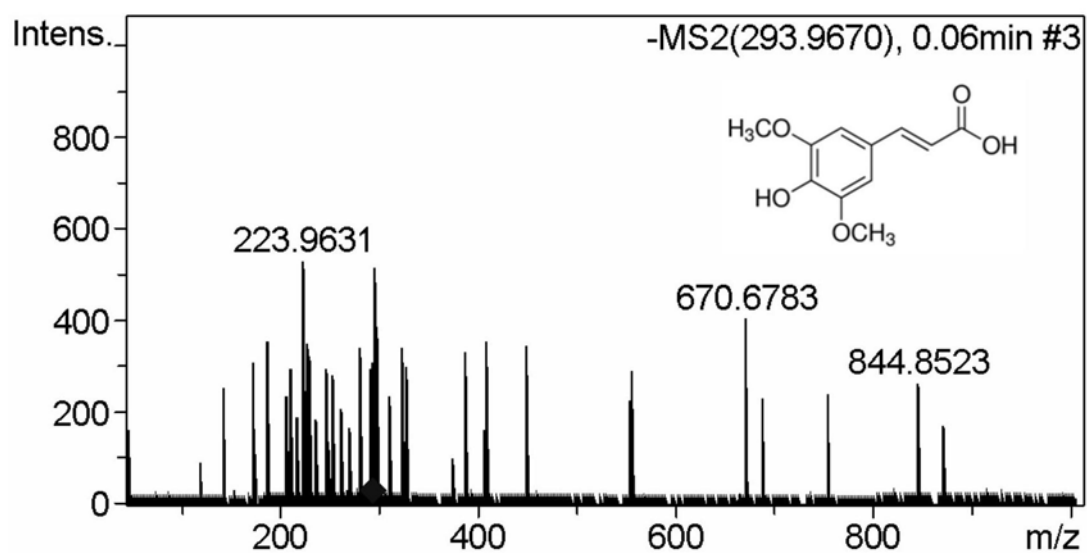


图7

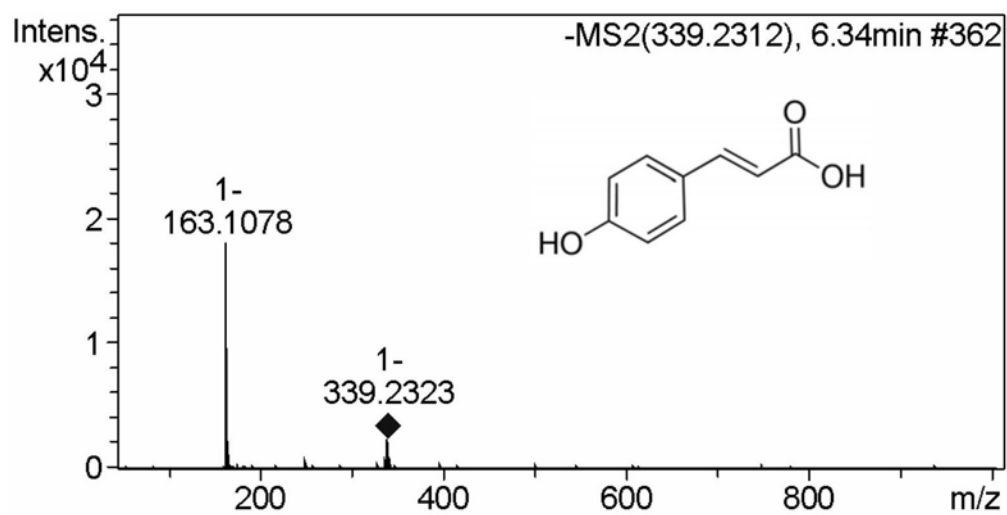


图8

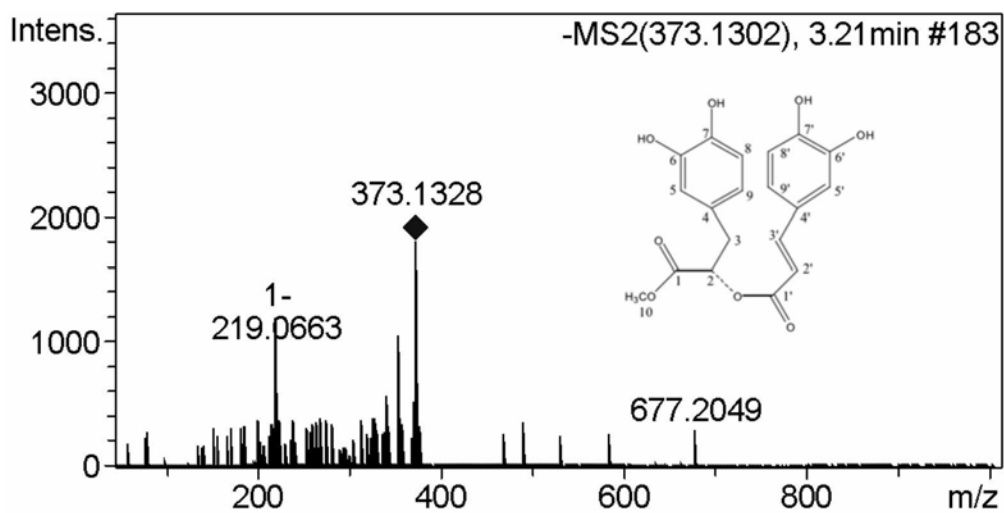


图9

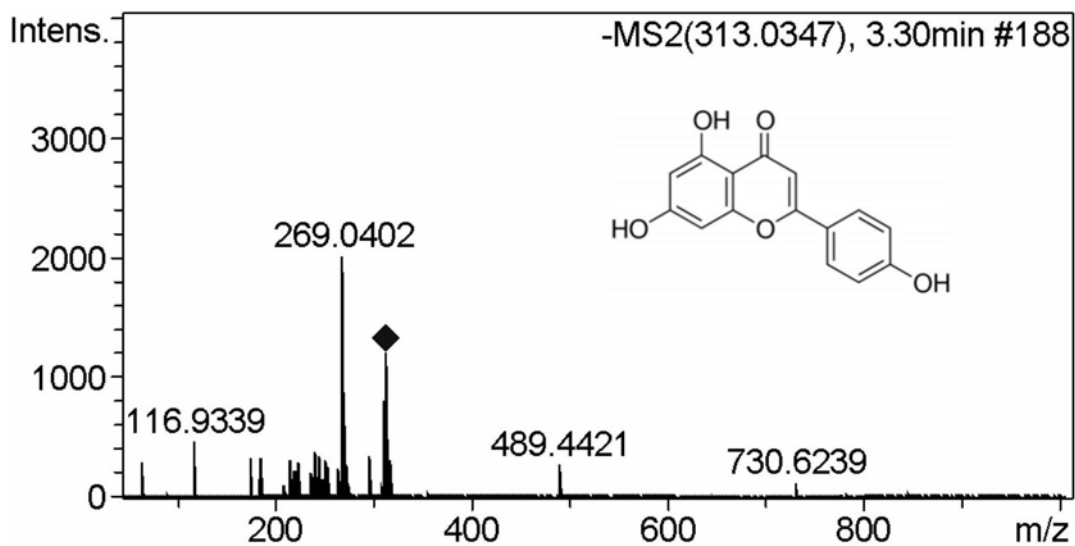


图10

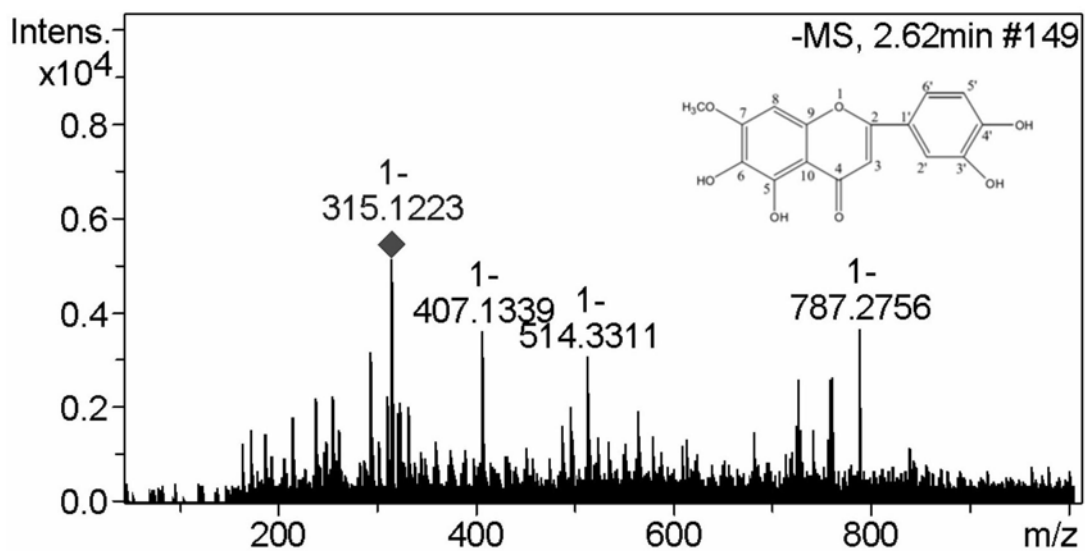


图11

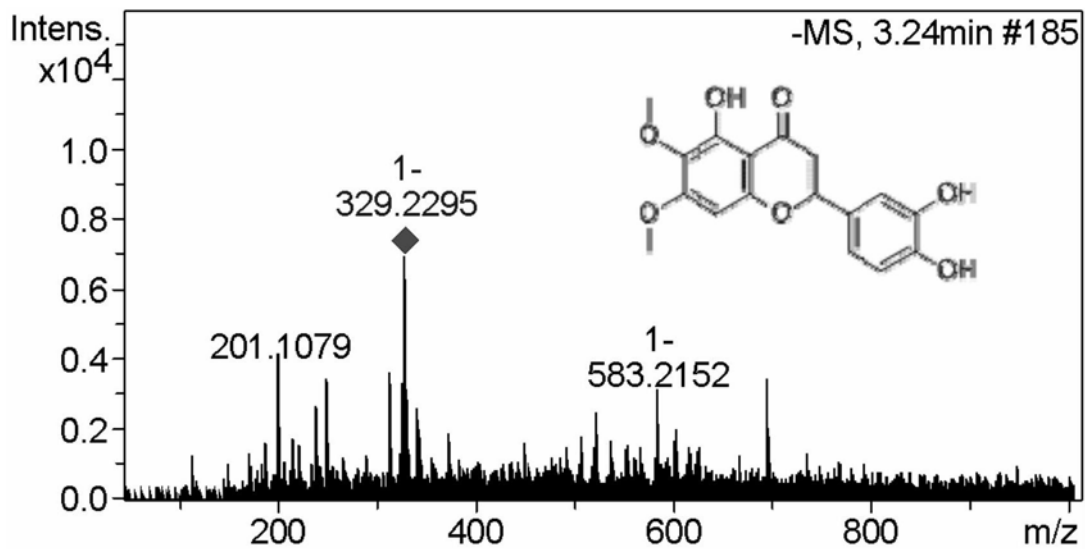


图12

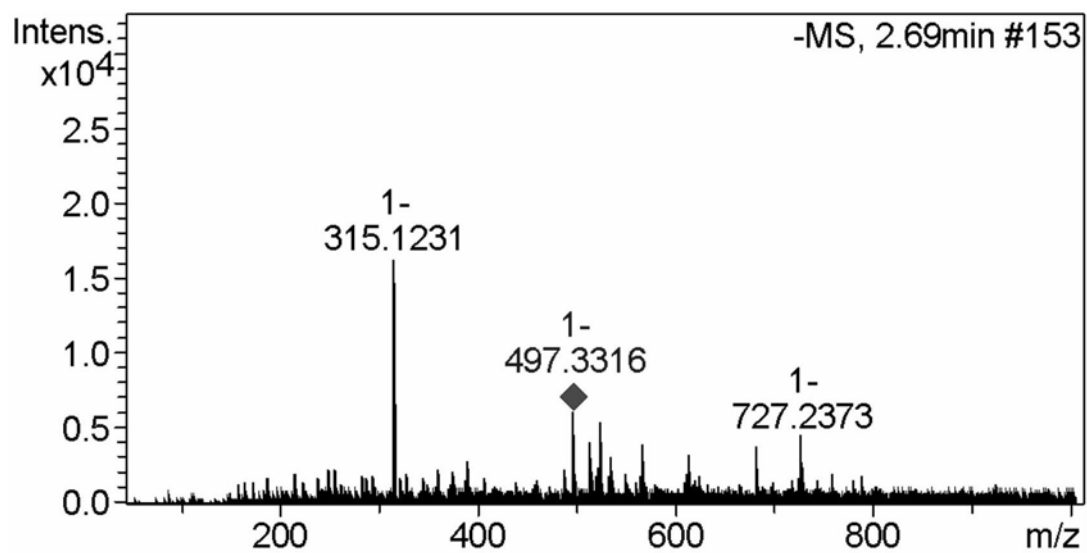


图13

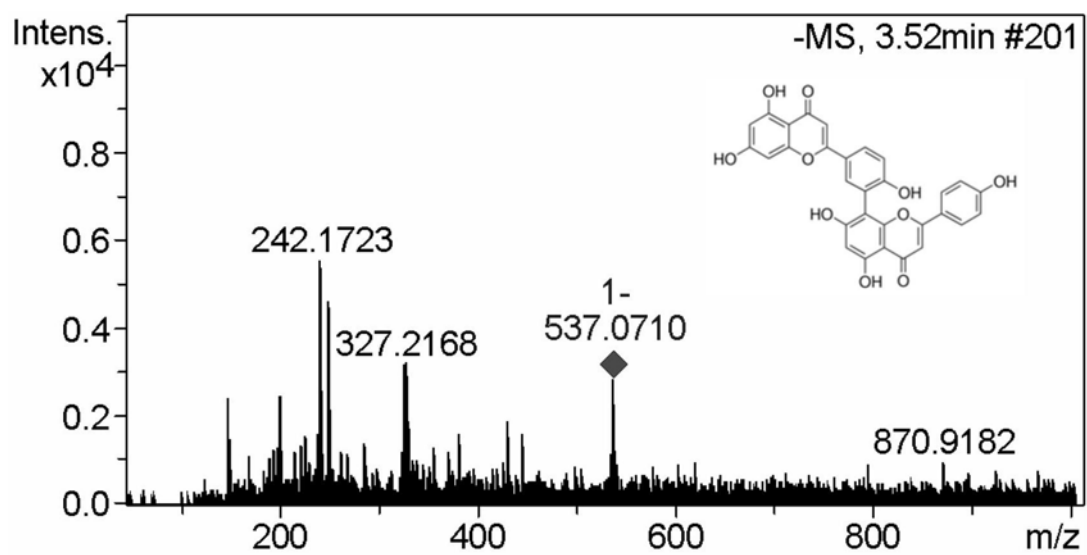


图14

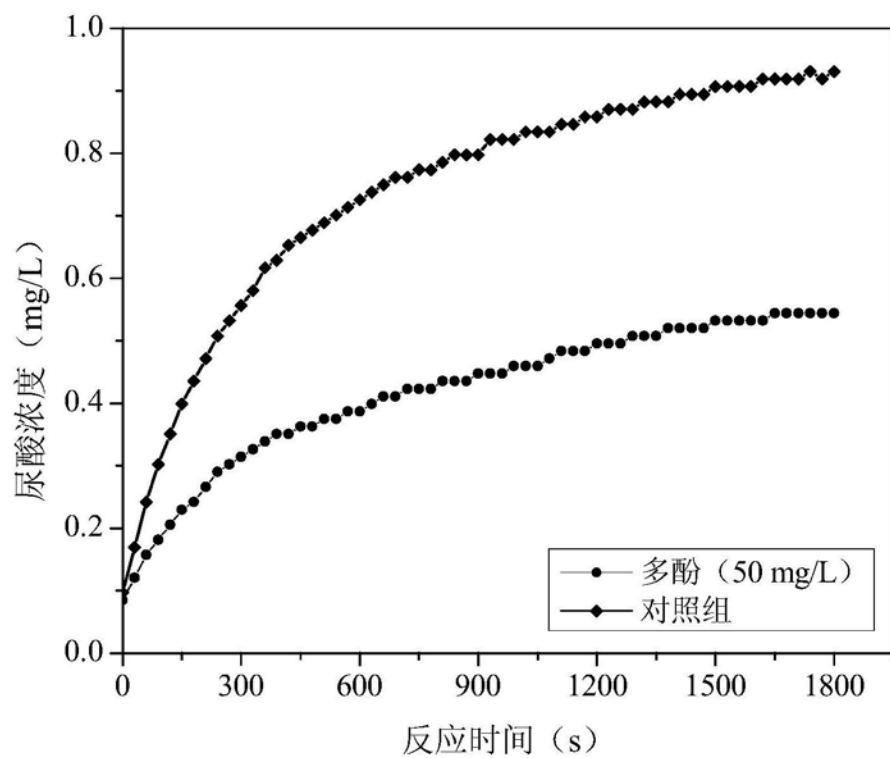


图15