

花色苷分离鉴定方法及其生物活性

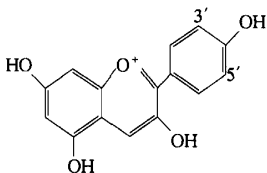
徐渊金 杜琪珍

(浙江工商大学食品与生物工程研究所,杭州,310035)

摘要 系统介绍了花色苷类物质的薄层色谱、柱色谱、高效液相色谱、高速逆流色谱分离,色谱、光谱、质谱、核磁共振波谱鉴定及抗氧化、抗癌和抗突变等生物活性。

关键词 花色苷,生物活性,抗氧化,抗突变,抗癌

花色苷是类黄酮——以黄酮核为基础的一类物质中能呈现红色的一类化合物,广泛存在于植物的花、果实、茎、叶和根器官的细胞液中,使其呈现由红、紫红到兰等不同颜色。现已查明,天然花色苷糖苷配基的基本结构为 3,5,7-三 羟基-2-苯基苯并呋喃,结构式如图 1 所示。



化合物名称	B 环取代	
	3'	5'
天竺葵色素 (pelargonidin)	—H	—H
矢车菊素 (cyanidin)	—OH	—H
飞燕草色素 (delphinidin)	—OH	—OH
芍药色素 (peonidin)	—OCH ₃	—H
矮牵牛色素 (peturidin)	—OCH ₃	—OH
锦葵色素 (malvidin)	—OCH ₃	—OCH ₃

图 1 6 种主要的花色苷元

由于苯环中取代基、羟基和甲氧基数量和位置不同,衍生出 6 种主要的花色苷元(见图 1)^[1]。在花色苷 A 环 3,5,7 位上的羟基以糖苷键与糖结合时使形成花色苷,由于糖结合的方式(结合糖的种类、数量、位置)的不同花色苷的种类也不相同。只结合一个糖时,一般结合于花色苷骨架的 3 位上,结合 2 个糖时,一般分别结合于 3 位和 5 位的羟基处,有时也发生 3 位和 7 位的结合。根据花色苷所结合的糖、有机酸的种类以及数量,其天然存在的种类将是非常多的。

1 分离提纯

花色苷的粗提物往往有较多的杂质,难于对其进

行鉴定,只有将各组分进行分离提纯为单体花色苷后,才能进行鉴定,确定其化学结构。目前较常用的提取方法是溶剂浸取法,通常采用酸性溶液进行提取,此外还有微生物破壁法^[2]、CO₂ 超临界萃取^[3]及酶工程技术等^[4]。分离纯化的方法主要是层析法,包括纸层析(PC),薄层层析(TLC),柱层析(CC),高效液相色谱法(HPLC)以及高速逆流色谱法(HSC-CC)等。

1.1 纸层析

纸层析是分离天然色素的一种较为传统的方法,其具有快速,设备简便等优点。对于花色苷的分离常用新华 No.3 或 whatman No.3 层析,以水系溶液为展开剂,如酸化正丁醇水溶液(BAW;正丁醇-乙酸-水体积比=4:1:5)。展开后,剪下色斑,以酸化甲(乙)醇洗涤,浓缩,即可得到样品。

苏红等人^[5]采用 3 次纸层析法得到甘蓝红色素的主要花色苷——矢车菊素-3-双芥子酰槐二糖-5-葡萄糖苷,3 次的展开剂分别为 BAW、BAW、BH(正丁醇-2mol/L 盐酸体积比 1:1),15cm×30cm 新华 No.3 层析纸,上行法。

1.2 柱层析

柱层析也常被应用在花色苷类色素的分离提纯中。早期主要填料为氧化铝,后来多采用阳离子交换树脂、聚酰胺、聚乙酰吡咯烷酮(PVP),或甲醛酚醛树脂等。

Sulyok 和 Balint 等人^[6]将除去乙酸乙酯的提取液上 Amberlitech AD-7 柱,用蒸馏水洗脱至流出液无色为止。再用质量分数 0.033% HCl 洗柱,洗脱液在 40℃ 减压浓缩。残余物溶于含 5% 乙酸的甲醇中,再通过一根 Sephadex LH-20 凝胶柱。将只含紫颜色的流出液再在 40℃ 减压浓缩,残余物反复在上述凝胶柱上分离 2 次以上,从甲醇中重结晶,得到暗紫色的飞燕草色素-3-芸香糖苷-5-葡萄糖苷晶体。

1.3 薄层层析

第一作者:硕士研究生。

收稿日期:2005-12-07,改回日期:2006-03-12

薄层层析原理与纸层析法相同,也可采用与纸层析法相同的展开剂。Harbon^[7]以硅胶为层析支持剂,以乙酸乙酯-甲酸-2mol/L 盐酸体积比 85:6:9 为展开剂分离花色苷,适用于锦葵苷和芍药苷。

纤维素薄层表面积大、颗粒细,具有速度快、分辨力好的优点 Andesen 和 Francis^[8]发现,HCl-HCOOH-H₂O(体积比分别为 24.9:23.7:51.4)这一展开剂适于分离含有除三糖苷外所有结构类型的混合物;HCl-HCOOH-H₂O(体积比分别为 19.0:39.6:41.4,30.8:27.8:41.4 和 7.1:51.4:41.4)均适于分离配基和单糖苷、单糖苷和双糖苷,后者尤适用于配基的分离。

1.4 高效液相色谱法

高效液相色谱法应用于花色苷物质的分离具有分析时间短,分辨率高,无热分解的危险,需样量少等优点。

Maurizio^[9]采用 HPLC 技术从草莓分离出矢车菊色素-3-葡萄糖苷、天竺葵色素-3-葡萄糖苷和天竺葵色素-3-阿拉伯糖苷。操作条件,液相柱是 Spherisorb ODS-2 (250mm × 4.6mm I.D.) (phase separations, deeside, clwyd, UK) 色谱柱,流动相是甲醇-水-甲酸,体积比为 35:60:5,等梯度洗脱,柱温为室温,流速 3 mL/min。

1.5 高速逆流色谱法

HSCCC 是一种无载体的液液分配色谱,在分离柱体内不加入任何固态载体或支持体,因而完全排除了载体对分离过程的影响,在色谱过程中,样品在一对互不混溶(或很少混溶)的溶剂相中分配、传递,各组分依据它在这两相中的分配系数的差异实现分离。它基于运转螺旋管内两相溶剂的单向性流体动力学现象(unique hydrodynamic phenomenon)使逆流色谱体系的分离效率更高,更符合于分离分析和制备纯化工作的需要。

Degenhardt 等人^[10]用装有 3 个螺旋管柱的 CCC-1000 高速逆流色谱仪分离用 XAD-7 柱纯化过的黑加仑提取物,得到 4 个峰,它们依次是飞燕草色素-3-芸香糖苷、矢车菊色素-3-芸香糖苷、飞燕草色素-3-葡萄糖苷和矢车菊色素-3-葡萄糖苷。所用溶剂系统是正丁醇-甲基叔丁基醚-乙腈-水-三氟乙酸(体积比 2:2:1:5:0.01),上相做固定相,流动相流速为 5 mL/min。用此方法进 430mg 的花色苷提取物,分离得到上述 4 种花色苷的纯组分分别为 16、11、5 和 3mg。

Du 等人^[11]用一台柱容量 364 mL(PC. Inc, 柱

内径 2.6mm) 的高速逆流色谱仪分离了越橘 (*Vaccinium myrtillus*) 中的花色苷,所用溶剂系统是甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-水-三氟乙酸体积比=1:4:1:5:0.01 的上相为固定相,下相做流动相,流速为 1.5 mL/min。进样 500 mg 越橘的花色苷粗提取物可分离得到 130 mg 飞燕草色素-3-O-β-d-葡萄糖-(2 → 1)-β-d-木糖苷和 77 mg 矢车菊色素-3-O-β-d-葡萄糖-(2 → 1)-β-d-木糖苷。

2 鉴定

2.1 纸层析法

纸层析法在 1940 年代就广泛采用,到目前已经积累了很多的实验数据。在鉴定时,即使没有标准品,通过同一样品在 3~4 种不同展开剂的 R_f 值,对照数据库的 R_f 值,也可以粗略估计出样品所含花色苷的种类。常用的展开剂有 1% HCl(浓盐酸:水体积比=3:97),BAW, BH, AHW(乙酸:浓盐酸:水体积比=15:3:82)。叶兴乾^[12]就采用该法与高效液相法结合推测荸荠种杨梅中所含主要花色苷为矢车菊色素-3-葡萄糖苷,以及少量天竺葵色素-3-单糖苷和飞燕草色素-3-葡萄糖苷。

2.2 花色苷的水解分析法

将花色苷在特定条件下水解,分离出花色苷元和糖,再分别测定。苏金为^[13]在分析黑糯米花色苷时,参照细菌细胞壁糖的分析方法,采用硅胶 H 作为层析支持剂,标准糖作为平行样,色素水解物点样,乙酸乙酯-甲醇-乙酸-水体积比=12:3:3:2 作展开剂,茴香醛-硫酸作为显色剂的方法分析出糖为葡萄糖和鼠李糖两种。

2.3 光谱分析法

2.3.1 紫外-可见光谱法(UV-VIS Spectrum)

早在 1958 年 Harbone^[14]就撰文讨论了紫外-可见光谱法在花色苷类物质结构鉴定中的应用。目前通常采用该方法对花色苷的结构作初步了解。该法主要有如下几点:(1)花色苷最大吸收波长一个在可见光区的 500~540nm 附近,另一个在紫外 275nm 附近,通过测定色素的最大吸收波长即可判断是否为花色苷类色素。(2)如果向花色苷的 0.01% 盐酸甲醇溶液中滴加 3~5 滴 AlCl₃ 甲醇或乙醇溶液,出现蓝移,即最大吸收波长增加,说明 B-环有邻位酚羟基,即可区分 B-环无邻位酚羟基的天竺葵色素、芍药色素、锦葵色素和 B-环有邻位酚羟基的矢车菊色素、牵牛花色素、飞燕草色素。(3)根据花色苷最大吸收

波长处的吸光度和 440nm 处的吸光度的比值 A_{440}/A_{max} , 参考相关的文献, 可以判断糖苷的位置。(4) 根据花色苷在 300~330nm 间有无吸收峰可判断该色素分子是否有酰基, 如果有吸收峰, 表明该色素有酰基存在。(5) 根据花色苷在 440nm 处是否有肩峰, 可以判断该色素 5 号位的羟基是否被取代。如果该色素在 440nm 处有肩峰, 则说明该色素的 5 号位的羟基没有被取代。(6) 根据花色苷在紫外光下是否有荧光, 可判断该色素是否在 5 号位有取代基, 如果有荧光则表明该色素在 5 号位有取代基。

2.3.2 红外吸收光谱法

早在 1950 年代, 国外的科学家就开始应用红外光谱研究花色苷, 目前也积累了较多的数据。将样品作出的(多为溴化钾压片)红外光谱与标准图谱及数据对照, 可以对花色苷的结构有进一步的了解。

花色苷的红外光谱主要有苯环、含氧杂环、糖和羟基和甲氧基 4 部分。吴信子等人^[15]曾用红外吸收光谱对蓝靛果花色苷进行研究。

2.4 质谱法

质谱是 20 世纪初发展起来的物理分析方法。在一定条件下能对复杂的有机物给出确定的, 可以重复的质谱图, 由分子的断裂规律得到许多的结构信息。FAB(fast atom bombardment)是 1980 年代发展出的新离子源, 多采用惰性气体, 如氩等中性原子流轰击样品使之离子化。FAB-MS 具有较高的灵敏度, 适用于分析极性大分子质量较大的化合物^[16]。

2.5 核磁共振波谱法(NMR)

核磁共振技术是有机结构鉴定的重要手段之一。在分子生物学、药物化学、植物化学等诸多方面有广泛的应用。1970 年代末就开始应用于花色苷的分析。常用的有 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱法。

赵昶灵等人^[17]利用 NMR, 结合 HPLC 和 GC 等方法从梅花“南京红”中分离并鉴定得到 3 种花色苷, 分别是花青素-3-O-(6"-O- α -吡喃型鼠李糖基- β -吡喃型葡萄糖)苷、花青素-3-O-(6"-O-没食子酰- β -吡喃型葡萄糖)苷和花青素-3-O-(6"-O-反式阿魏酰- β -吡喃型葡萄糖)苷。

3 生物活性

3.1 抗氧化以及清除自由基功能

花色苷的天然缺电子性使得其反应活性很强, 但同时也使得其对 pH 和温度变化较敏感。尽管有人担心花色苷在生理 pH 条件下的不稳定性, 但这类化

合物还是被列为有强抗氧化活性的天然产物。它们的抗氧化活性与它们的化学结构有一定的关系。改变芳香环上的化学基团的位置和种类, 它们从自由基分子接受未配对电子的能力就会发生变化^[18, 19]。花青素-3-葡萄糖苷(C3G)的抗氧化活性引起了许多研究者的兴趣, 其中 Tsuda 和他的同事在体外体内的抗氧化活性方面的研究值得关注。

3.1.1 体外研究

Yasuko 等人^[20]从茄子皮中提取出飞燕草色素-3-(p-香豆酰芸香糖苷)-5-葡萄糖苷(nasunin), 并对其进行抗氧化作用研究, 结果表明 nasunin 具有清除自由基功能, 并且能够有效防止脂质的过氧化反应。Wang 等人^[19]用自动的测定方法测定了花色苷的氧自由基吸收能力(ORAC), 发现在 14 种花色苷中, 花青素-3-葡萄糖苷(C3G)有最高的 ORAC 活性, 其活性是 Trolox(V_E 同系物)的 3.5 倍。Proteggente 等人^[21]测定了草莓、红李、悬钩子提取物的 ORAC 活性、TEAC 活性(Trolox 等价抗氧化活性)和 FRAP 活性(血浆还原能力)。结果表明, 提出物中的 C3G、花青素-3-芸香苷和花青素-3-槐糖苷含量越高, 则抗氧化活性越强。Seeram 等人^[22]比较了从樱桃中得到的花青素-3-葡萄糖芸香苷和花青素-3-芸香苷与合成的抗氧化剂 BHQ、BHT、BHA 及 V_E 的抗氧化活性, 发现其活性比 V_E 还强。基于 C3G 和其他酚类化合物的抗氧化性, Tsuda 等人^[23]试图通过与烷基过氧自由基的反应来解释 C3G 的抗氧化机理。从反应产物看, Tsuda 认为 C3G 的抗氧化机理与 V_E 不同, C3G 可以分解产生另一种自由基清除物来清除自由基。Sarma 等人^[24]的研究表明, 添加从 *Oryza sativa* 变种中分离的花色苷的抗氧化活性可以被金属离子如 Cu^{2+} 阻止。另外, 他们还提供了证据, 即不仅是花色苷能与金属离子形成螯合物, 花色苷、金属离子、 V_C 也能形成复合物(复合色素)。

Sarma 和 Sharma^[25]的研究表明, 花青素与 DNA 能形成花青素-DNA 复合色素而对 DNA 有保护作用。复合物的形成先于羟基自由基的暴露, 从而保护了花青素和 DNA 的氧化损伤。相反, 当花青素与 DNA 单独被暴露, 二者均会受到严重损伤。Russo 等人^[26]研究了富含 C3G 的红橙提取物对 DNA 分裂和清除自由基的能力; 另外还评价了提取物对鼠肝微粒体中黄嘌呤氧化酶活性和脂质过氧化的作用。该提取物显示出保护 DNA 分裂和剂量依赖性的游离自由基清除作用。

3.1.2 体内研究

Tsuda 和他的同事的研究表明,当体内遭受强烈的氧化,C3G 可以作为一种潜在的抗氧化剂。给小鼠喂饲 C3G 可以降低其尿中的丙二酰硫脲反应物(TBARS)浓度、增加 2,2-二(2-脒基丙烷)偶氮盐酸盐(AAPH)或 Cu^{2+} 唤起的血浆中的脂质过氧化的阻碍作用^[27]。在另一项研究中^[28],作者用使鼠肝局部缺血/多次灌注(I/R)损伤作为抗氧化活性测定模型进行实验,结果证实了 C3G 在体内具有抗氧化活性。I/R 导致血浆中 TBARS 浓度的提高和肝损伤的标记酶的活性提高,同时还能降低肝中被还原的谷胱甘肽的浓度。给小鼠喂饲 C3G 能显著抑制上述现象,表明 C3G 确实能在体内起抗氧化作用。作者推测,口服 C3G 后,部分 C3G 被肠道吸收进入血液进而分布到组织内。在组织内 C3G 和它的代谢物和 ROS 发生反应,从而减少由 I/R 诱导的肝组织损伤。其次,作者还研究发现,C3G 对 I/R 损伤的保护是由于它能使鼠中嗜中性的化学诱导物减少^[29]。其次,在一些食用黑加仑和接骨木(富含 C3G)的志愿者身上发现花色苷在血浆中确有抗氧化活性^[30]。

3.2 抗突变活性

许多突变诱导物和致癌物在日常饮食中被发现,其中一些是食品在贮藏、加工和消化过程中产生的。Yoshimoto 等人^[31~33]在 *Salmonella typhimurium* TA 98 中观测到了一些致癌物的致突变性,如烤牛肉中色氨酸的热解物 Trp-P-1 和 Trp-P-2、从烤鱼中分离得到的 2-氨基-3-甲磺酸基(4,5-f)喹啉、从烧烤牛排中提取的苯[α]蒽烯-4-硝基喹啉-1-氧化物和二甲亚砷。一种紫色的红薯(*Ayamurasaki* 变种)能非常有效地减少突变诱导物诱导的可逆性突变。从这种紫红薯分离获得 2 种色素,其中的 1 种 3-(6,6'-咖啡酸阿魏酸槐糖苷)-5-花青素苷有很强的抗致突变能力,比甲基花青素取代物还强。该化合物经脱酰后,活性依然不受影响。

3.3 抗癌活性

最近几年的一些研究表明,花色苷可能具有抗癌活性。通常这些研究不是测定纯的花色苷,而是富含花色苷的浆果提取物。Hagiwara 等人^[34]通过鼠实验发现,紫玉米色素(PCC),一种从 *Zea mays* 提取的富含 C3G 的提取物,能抑制由 1,2-二甲胍和 2-氨基-1-甲基-6-咪唑[4,5-*b*]吡啶诱导的肠腺瘤和癌。Miyata 等人^[35]还证实了葡萄汁能抑制 2-氨基-1-甲基-6-咪唑[4,5-*b*]吡啶诱导的鼠大肠 DNA 损伤。Liu 等

人^[36]研究表明,人肝癌细胞 HrpG2 的增生能被悬钩子提取物显著抑制、且有剂量效应;Bomser 等人^[37]证实 4 个富含花色苷的 *Vaccinium* 种有抗癌效果,它们能抑制鸟氨酸苯醌脱羧酶的诱导,该酶能限制多胺的合成速率。Meiers 等人^[38]发现,花青素能抑制体外人肿瘤细胞的生长,如人阴道癌细胞株 A431。其作用是通过关闭下游的信号串联,强烈抑制表皮生长受体。

3.4 其他活性

Auger 等人^[39]报道,红酒多酚能显著减少胆固醇、三甘油酯、阿朴蛋白质血浆 B 浓度,减少高血脂症引起的金色叙利亚大鼠动脉脂肪条纹面积。酸樱桃中的花色苷具有抗炎效果,多吃樱桃能减轻关节炎和疼痛。越橘中的花青素氯化物(IdB 1027)对胃的保护作用已被多位学者研究。Barzaghi 等人^[40]研究表明,IdB 1027 对阿斯匹林诱导的粘膜损伤有保护作用,口服 IdB 1027 能显著降低胃转化粘质膜电位差。Cristoni 等^[41]亦获得了相似的结果,他们的研究表明,IdB 1027 对胃的保护作用是通过改善胃粘膜阻碍物、增加胃内重碳酸盐的分泌。Mertz-Nielsen 等人^[42]认为,IdB 1027 对胃的保护作用和抗胃溃疡作用是通过显著增加胃粘膜前裂腺素 E2 的释放。

Matsumoto 等人^[43]最近的研究表明,口服含 C3G 的黑加仑提取物,能改进由长时间暴露在视觉显示终端的黑暗适应症和视觉瞬间改变。Knox 等人^[44]的研究表明,从 *Ribes nigrum* L. 果中得到的花青素-3-鼠李糖-葡萄糖苷和 C3G 有抑制流感病毒 A 和 B 及单纯疱疹病毒的效果。Joseph 等人^[45]研究发现了包括越橘和草莓等富含花色苷的食物能显著减少与年龄(老鼠)相关的二乙溴乙酰胺信号转换、认识和运动行为缺乏。

4 展 望

花色苷的提取分离鉴定方法主要有纸层析、柱层析、HPLC、HSCCC、NMR 等,并且已发展比较成熟。相反在花色苷生物活性方面还有很多事情需要探讨、研究。相对于其他黄酮类化合物,必须认识到,花色苷类的研究还处于初级阶段。已有的研究表明花色苷对人类健康有益,可望成为日常饮食的营养成分。当然,更多的生物活性评价是非常必要的。在花色苷的生物活性中,抗氧化是研究最多的,已有数十篇研究报告。然而,大多数研究是基于体外的实验,而体外实验取决于测试所采用的方法,这些方法中有些与

生物系统毫不相关。因此,进一步通过体内的实验进行证实是非常必要的。已有研究的结果还存在不确定性,这些不确定性可能来自于以下原因:(1)提取物或提纯的花色苷纯度;(2)活性组分的定量测定;(3)分析方法的有效性;(4)提取物获得的工艺方法。以上是获得实验重现性和可比性必须解决的问题。目前,花色苷的抗癌活性方面的大部分数据来自含花色苷的提取物,而从单体成分获得的数据甚少。进一步的研究还需包括:(1)花色苷在人体内的代谢;(2)影响生物活性的多因素分析,包括和其他存在于饮食中的化合物的相互作用(如其他黄酮类化合物);(3)不同人群之间的饮食差异;(4)流行病学研究,以上建议主要针对花色苷的营养作用。如从药用考虑,还需要对皮下注射、口服、静脉注射等不同的给药方式对花色苷的吸收、在体内的分布、代谢过程、排泄等进行研究。花色苷的毒副作用研究亦非常欠缺,在长期毒性和致畸等方面的作用也有待进行。

参 考 文 献

- 1 庞志申. 花色苷研究概况[J]. 北京农业科学, 2000, 18(5): 37~42
- 2 王振宇, 杨 谦. 微生物破壁法提取大花葵花色苷[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(1): 56~57
- 3 王振宇, 杨 谦. CO₂ 超临界——超声波联用技术萃取花色苷工艺[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(1): 56~57
- 4 王振宇, 杨 谦. 酶法制备花色苷的研究[J]. 中国甜菜糖业, 2004(4): 26~30
- 5 苏 红. 由红甘蓝(*Brassica oleracea*)中提取甘蓝红色素的初步研究[D]. 天津轻工业学院硕士学位论文, 1993
- 6 Sulyok G Y, Balint J. Flavonoids and Bioflavonoids, Elsevier [M]. New York: Amsterdam Orford, 1986. 261
- 7 Harbone J B 编著. 黄酮类化合物[M]. 北京: 科学出版社, 1983
- 8 Andersen O M, Francis G W. Chromatog[M]. New York: Amsterdam Oxforo, 1985. 318, 450
- 9 Maurizio F. Preparative high-performance liquid chromatography for the purification of natural anthocyanins[J]. Journal of Chromatography A, 1995(692): 213~219
- 10 Degenhardt A, Knapp H, Winterhalter P. Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity[J]. Agric Food Chem, 2000, 48(2): 338~343
- 11 Qizhen Du, Jerz G, Winterhalter P. Isolation of two Anthocyanins sambubiosides from Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) by High-speed Countercurrent Chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1 045: 59~63
- 12 叶兴乾, 陈健初, 苏 平. 荸荠种杨梅的花色苷组分鉴定[J]. 浙江农业大学学报, 1994, 20(2): 188~190
- 13 苏金为. 黑米色素的提取和组分分析[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(2): 233~237
- 14 Harborne J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins[J]. J Biochem, 1958, 70: 22
- 15 吴信子, 朴京一, 张小勇, 等. 蓝靛果花青素的分离与鉴定[J]. 延边大学学报, 2001, 27(3): 191~194
- 16 起瑶兴, 孙祥玉. 光谱分析与有机结构鉴定[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1992
- 17 赵昶昶, 郭维明, 陈俊愉. 梅花“南京红”花色色素花色苷的分子结构[J]. 云南植物研究, 2004, 26(5): 549~557
- 18 SatueGracia M T, Heinonen M, Frankel E N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems [J]. Agric Food Chem, 1997, 45: 3 362~3 367
- 19 Wang H, Cao G H, Prior R L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins[J]. Agric Food Chem, 1997, 2: 304~309
- 20 Yasuko N, Takao K, Kiharu I, et al. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in egg plant peels [J]. Toxicology, 2000(148): 119~123
- 21 Prottogente A R, Pannala A S, Pagana G, et al. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition[J]. Free Radic Res, 2002, 36: 217~233
- 22 Seeram N P, Momin R A, Nair M G, et al. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries[J]. Phytomedicine, 2001, 8: 362~369
- 23 Tsuda T, Ohshima K, Kawakishi S, et al. Oxidation products of cyanidin 3-O-β-D-glucoside with a free radical initiator[J]. Lipids, 1996, 31: 1 259~1 263
- 24 Sarma A D, Sreelakshmi Y, Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation[J]. Phytochemistry, 1997, 45: 671~674
- 25 Sarma A D, Sharma R. Anthocyanin-DNA copigmentation complex: mutual protection against oxidative damage[J]. Phytochemistry, 1999, 52: 1 313~1 318
- 26 Russo A, Bonina F, Acquaviva R, et al. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of a red orange extract[J]. Food Sci, 2002, 67: 2 814~2 818
- 27 Tsuda T, Horio F, Osawa T. Dietary cyanidin 3-O-β-D-Glucoside increases *ex vivo* oxidation resistance of serum in rats[J]. Lipids, 1998, 33: 583~588
- 28 Tsuda T, Horio F, Kitoh J, et al. Protective effects of dietary cyaniding-3-O-β-D-Glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Arch Biochem Biophys, 1999, 368: 361~366
- 29 Tsuda T, Horio F, Kato Y. Cyanidin 3-O-β-D-glucoside attenuates the hepatic ischemia-reperfusion injury through a decrease in the neutrophil chemoattractant production in rats

- [J]. Nutr Sci Vitaminol, 2002, 48:134~141
- 30 Bertuglia S, Malandrino S, Colantuoni A. Effect of *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides on ischemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation[J]. Pharmacol Res, 1995, 31:183~187
 - 31 Yoshimoto M, Okuno S, Kumagai T, et al. Distribution of antimutagenic components in colored sweetpotato [J]. JARQ, 1999, 33:143~148
 - 32 Yoshimoto M, Okuno S, Kumagai T, et al. Antimutagenicity of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) roots[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63:537~541
 - 33 Yoshimoto M, Okuno S, Kumagai T, et al. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple-fleshed sweetpotato[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65:1 652~1 655
 - 34 Hagiwara A, Miyashita K, Nakanishi T, et al. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1, 2-dimethylhydrazine [J]. Cancer Lett, 2001, 171:17~25
 - 35 Miyata M, Takano H, Takahashi K, et al. Suppression of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine-induced DNA damage in rat colon after grapefruit juice intake[J]. Cancer Lett, 2000, 183:17~22
 - 36 Liu M, Qi Li X, Weber C, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries [J]. Agric Food Chem, 2002, 50:2 926~2 930
 - 37 Bomser J, Madhavi D L, Singletary K, et al. In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species[J]. Planta Med, 1996, 62:193~198
 - 38 Meiers S, kemeny M, Weyand U, et al. The anthocyanidins cyanidin and delphinidin are potent inhibitors of the epidermal growth-factor receptor [J]. Agric Food Chem, 2001, 49:958~962
 - 39 Auger C, Caporiccio B, Landrault N, et al. Red wine phenolic compounds reduce plasma lipids and apolipoprotein B and prevent early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic Golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*)[J]. Nutr Metab, 2001, 131:2 837~2 842
 - 40 Barzaghi N, Gatti G, Crema F, et al. Protective effect of cyaniding (IdB 1027) against aspirin-induced fall in gastric transmucosal potential difference in normal subjects[J]. Ital J Gastroenterol, 1991, 23: 249~252
 - 41 Cristoni A, Malandrino S, Magistretti M J. Effect of a natural flavonoid on gastric mucosal barrier [J]. Arzneimittelforschung, 1989, 39: 590~592
 - 42 Mertz-Nielsen A, Munck L K., Bukhave K, et al. A natural flavonoid, IdB 1027, increases gastric luminal release of prostaglandin E2 in healthy subjects[J]. Ital J Gastroenterol, 1990, 22:288~290
 - 43 Matsumoto H, Inaba H, Kishi M, et al. Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms[J]. Agric Food Chem, 2001, 49:1 546~1 551
 - 44 Knox Y M, Hayashi K, Suzutani T, et al. Activity of anthocyanins from fruit extract of *Ribes nigrum* L. against influenza A and B viruses[J]. Acta Virol, 2001, 45:209~215
 - 45 Joseph J A, Shukitt-Hale B, Denisova N et al. Reversals of age-related declines in neuronal signal trasduction, cognitive, and motor behavioral deficits whit blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation[J]. Neurosci, 1999, 19:8 114~8 121

Review on Isolation, Identification and Bioactivities of Anthocyanins

Xu Yuanjin Du Qizhen

(Institute of Food and Biological Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

ABSTRACT The isolation of Anthocyanins was reviewed including thin layer chromatography, traditional liquid chromatography, high performance liquid chromatography and high-speed countercurrent chromatography. The identification involving chromatographic, spectral, mass spectroscopic and nuclear magnetic resonance spectroscopic technologies and bioactivities such as anti-oxidation, anti-cancer and anti-virus were also summarized.

Key words anthocyanins, bioactivity, anti-oxidation, anti-virus, anti-cancer

新蜂王浆国家标准将出台

据中国蜂产品协会相关人士介绍,新的蜂王浆国家标准已于2005年11月4日定稿,目前正在审定中,预计2006年上半年就可出台。蜂王浆国家标准将由原来的推荐性标准变为强制性标准,其中最大的变化就是规定蜂王浆内10-HAD(蜂王浆的特殊成分,有抗病及增加人体免疫力的作用)含量不得低于1.4%。中国蜂产品协会2004年曾对全国13个城市蜂王浆进行了一次大型抽查,发现不合格产品占20%~30%,其中大部分都是经过过滤处理的无营养蜂王