

# 山东产忍冬不同药用部位挥发油成分分析及抗氧化活性

贾献慧<sup>1,2</sup>, 张永清<sup>1\*</sup>, 李佳<sup>1</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355;

2. 山东省医学科学院 药物研究所, 山东省罕见病重点实验室, 济南 250062)

**[摘要]** **目的:**对山东产忍冬花、茎、叶不同药用部位进行挥发性成分分析及抗氧化活性研究。**方法:**分别提取忍冬花、茎、叶的挥发油,利用 GC-MS 进行成分分析和比较;用 70% 乙醇分别提取忍冬花、茎、叶,提取液回收溶剂后分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,利用 DPPH 比色法对各萃取物、萃取后的水相部位及挥发油分别进行体外抗氧化能力比较。**结果:**从忍冬花、茎、叶中共分离鉴定了 49 种成分,三者共有成分 11 种,分别占各自挥发油含量的 60.66%, 77.98% 和 80.38%, 含量最高的均为棕榈酸。忍冬花、茎、叶的不同提取物对 DPPH 自由基均有较好的清除作用,且清除能力随着浓度的增加而增加,但各样品间存在一定差异。乙酸乙酯萃取物清除能力最强,依次是正丁醇萃取物、水相、挥发油、石油醚萃取物;花的清除能力最强,茎和叶次之。**结论:**忍冬花、茎、叶中挥发油成分具有较高相似性;三者挥发油及不同极性提取物均具有较好的抗氧化能力。

**[关键词]** 山东; 忍冬; 花; 茎; 叶; 挥发油; 抗氧化; 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0059-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2015200059

**Analysis of Volatile Oils and Anti-oxidative Activities of Flowers, Stems and Leaves of *Lonicera japonica* from Shandong** JIA Xian-hui<sup>1,2</sup>, ZHANG Yong-qing<sup>1\*</sup>, LI Jia<sup>1</sup> (1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China; 2. Key Laboratory for Rare Disease of Shandong Province, Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Ji'nan 250062, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze compositions of volatile oils and anti-oxidative activities of flowers, stems and leaves of *Lonicera japonica* collected in Shandong province. **Method:** The volatile oils were extracted from the flowers, leaves, stems of *L. japonica*, and the compositions were identified and compared by GC-MS; 70% ethanol was used to extract *L. japonica* flowers, stems and leaves, respectively. After solvents were recovered from the extract, petroleum ether, ethyl acetate, *n*-butanol were respectively used for extraction. *In vitro* anti-oxidative activities of the extracts, extracted aqueous phases and volatile oils were compared by employing DPPH scavenging assay. **Result:** The 49 compositions were separated and identified from different parts of *L. japonica* and eleven of which were mutual in the flowers, leaves, stems, respectively accounting for 60.66%, 77.98% and 80.38% of their volatile oils. Palmitic acid represented the highest percentage in these three parts. All samples of extracts could eliminate free radicals, and the scavenging capacity increased with increasing concentration, but there was difference between various samples. Ethyl acetate extract had the strongest scavenging capacity, followed by *N*-butyl alcohol extract, aqueous phase, volatile oils, and petroleum ether extract in turn. **Conclusion:** The volatile oils of flowers, stems and leaves of the plant were highly similar to each other in compositions; all of volatile oils and different polar extracts of these three parts have good antioxidant capacity.

**[Key words]** Shandong; *Lonicera japonica*; flower; stem; leaf; volatile oil; anti-oxidative activity; DPPH

**[收稿日期]** 20141125(017)

**[基金项目]** 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI06B01)

**[第一作者]** 贾献慧,助理研究员,在读博士,从事中药质量控制及制剂研究,E-mail:imjxh@163.com

**[通讯作者]** \*张永清,博士,教授,博士生导师,从事中药质量控制与资源研究,E-mail:zyq622003@126.com

忍冬为忍冬科植物,其花、茎分别作为金银花和忍冬藤入药<sup>[1]</sup>,为常用药材。现代研究表明<sup>[2-4]</sup>金银花、忍冬藤、忍冬叶具有相近的药理活性和化学成分,能解热、抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降压降脂、调节机体免疫等,主要含有有机酸类、黄酮类、三萜类、环烯醚萜类、挥发油类等化学成分。忍冬藤、忍冬叶的资源较金银花更为丰富,四季均可入药,价钱低廉,却不如金银花利用广泛,且对忍冬茎、叶的化学成分及抗氧化活性研究报道较少。为进一步开发利用忍冬茎及叶,本文对忍冬的花、茎、叶分别进行了挥发油成分分析和体外抗氧化活性研究。

### 1 材料

7890N-5973N 型气相色谱-质谱联用仪和 GC-MSD 数据分析系统(NIST 05 质谱库, WILEY 275 质谱库,美国 Agilent 公司), U-3000 型紫外-可见分光光度计(日本 Hitachi), AG245 型 1/10 万电子天平(瑞士 Mettler Toledo)。

维生素 C(德国 Applichem 公司), 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH, 东京化成工业株式会社), 95% 乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、无水硫酸钠等均为分析纯。

忍冬的花、茎、叶均采自山东平邑金银花 GAP 基地,经山东中医药大学张永清教授鉴定分别为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* 的花、茎、叶。

### 2 方法与结果

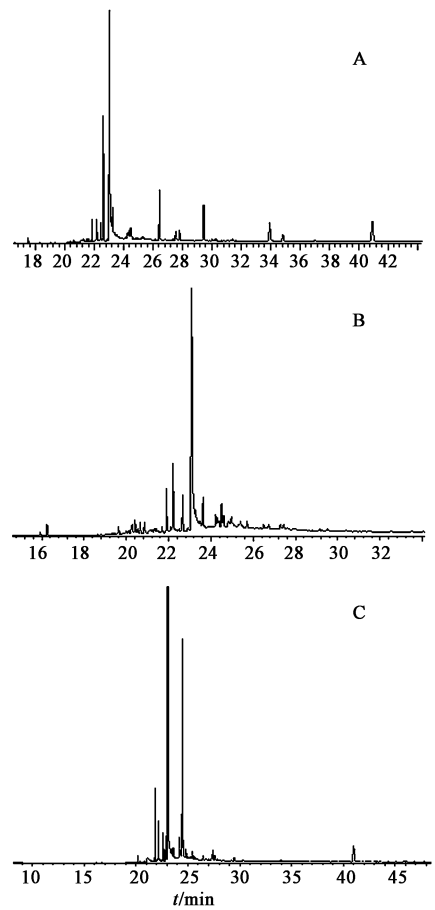
#### 2.1 忍冬花、茎、叶的挥发油成分分析

**2.1.1 挥发油的提取** 分别称取忍冬花粗粉 150 g,忍冬藤粗粉 300 g,忍冬叶粗粉 300 g,分别置圆底烧瓶中,按《中国药典》挥发油提取项下方法提取,得黄棕色油状液体,得率分别为 0.30%, 0.10%, 0.15%。挥发油分别用乙酸乙酯溶解, 0.45 μm 微孔滤膜过滤,备用。

**2.1.2 分析条件** 色谱条件 HP-5MS 石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.50 μm),程序升温,初始温度 50 °C,保持 2 min,以 10 °C · min<sup>-1</sup>升至 120 °C,然后以 20 °C · min<sup>-1</sup>升至 280 °C,保持 30 min,进样口温度 280 °C,载气高纯氮气,恒流流速 1.2 mL · min<sup>-1</sup>,不分流进样,进样量 1 μL;质谱条件为电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV,灯丝发射电流 200 μA,离子源温度 230 °C,接口温度 280 °C,四级杆温度 150 °C,扫描质量范围 *m/z* 35 ~ 400。

**2.1.3 数据分析应用** MSD ChemStation 数据处理软件进行数据处理,检索库为 NIST05 和 WILEY 275 质谱数据库,按照峰面积归一化法计算各组分的相

对百分含量。总离子流图见图 1,测定结果见表 1。



A. 忍冬花; B. 忍冬茎; C. 忍冬叶

图 1 忍冬各部位挥发油 GS-MS 总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatogram of essential oil from flowers, stems and leaves of *Lonicera japonica*

由表 1 可以看出,从忍冬花、忍冬藤、忍冬叶中共分离鉴定了 49 种成分,包括烷烃、烯烃、脂肪酸、酯、醇、醛、酮等。其中从忍冬花中鉴定出 32 种成分,含量较高的依次为棕榈酸、棕榈酸甲酯、十七烷和 2-十七烷酮、十九烷、二十一烷,占总成分的 62.66%;从忍冬藤中鉴定出 22 种成分,含量较高的依次为棕榈酸、植醇、植酮、棕榈酸甲酯、十六烷,占总成分的 67.46%;从忍冬叶中鉴定出 23 种成分,含量较高的依次为棕榈酸、植醇、植酮、二十七烷,占总成分的 66.67%。三者共有成分 11 种,分别占各自挥发油含量的 60.66%, 77.98%, 80.38%, 含量最高的均为棕榈酸,说明三者挥发油成分具有一定的相似性,但是又存在一定差异,如忍冬花挥发油中植醇含量很低,另二者中含量较高;二十七烷只存在于忍冬叶挥发油中等。

#### 2.2 忍冬花、茎、叶不同部位的抗氧化活性研究<sup>[5-6]</sup>

**2.2.1 DPPH 试剂的配制** 称取 DPPH 9.92 mg 定

表 1 忍冬花、茎、叶中挥发油化学成分及相对质量分数

Table 1 Components of volatile oil from flowers, stems and leaves of *L. japonica* and their relative contents

%

No.	化合物	相对质量分数			No.	化合物	相对质量分数		
		忍冬花	忍冬藤	忍冬叶			忍冬花	忍冬藤	忍冬叶
1	2-hexanone	0.31	0.45	0.52	26	hexadecanoic acid, ethyl ester	2.46	2.86	-
2	2-hexanol	0.61	-	-	27	pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	-	-	2.34
3	hexanal	1.35	1.43	0.58	28	3,5,11,15-tetramethyl-1-hexadecen-3-ol	-	-	1.98
4	lauric acid	1.78	0.86	0.42	29	pentadecanal	-	-	1.01
5	undecane	0.34	-	-	30	tetradecanal	-	-	0.72
6	dodecane	0.21	-	-	31	(E)-5-eicosene	-	-	2.29
7	1-tridecene	0.33	-	-	32	tridecyl-oxirane	-	3.01	-
8	(E)-3-nonene	-	-	0.57	33	(tetrahydropyran-4-yl)-(n-pentyl)-ether	-	-	1.55
9	nonanoic acid, 9-oao-, methyl ester	0.85	-	-	34	phytol	1.66	4.74	12.31
10	(E)-2,4-decadienal	-	1.55	-	35	dihydro-5-tetradecyl-2(3H)-furanone	-	1.76	-
11	tetradecene	0.56	1.03	1.52	36	methyl 10-trans, 12-cis-octadecadienoate	-	1.56	-
12	tetradecanoic acid	0.91	1.41	2.31	37	7-pentadecyne	-	2.04	-
13	(Z)-3-tetradecane	0.55	0.34	0.36	38	heptadecane	5.31	-	0.69
14	fumaric acid	1.24	-	-	39	heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	1.07	-	-
15	1,19-eicosadiene	-	1.28	-	40	heptadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	0.98	-	-
16	2,6,6-trimethyl-bicyclo[3,1,1]heptane	-	-	0.24	41	13-tetradecen-1-ol acetate	0.32	-	-
17	pentadecane	1.02	3.02	1.82	42	(Z)-9-octadecenamide	-	-	0.81
18	hexadecane	2.01	3.37	-	43	eicosane	2.37	-	0.51
19	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	1.34	4.66	5.54	44	nonadecane	3.53	-	-
20	undecanoic acid	-	1.04	-	45	pentacosane	0.87	-	-
21	1-octadecene	0.98	-	-	46	heneicosane	3.34	-	-
22	heptadecane	1.86	1.62	-	47	tetratriacontane	2.35	-	-
23	2-heptadecanone	4.12	0.42	-	48	tetracosanoic acid, methyl ester	1.07	-	-
24	palmitic acid	40.64	50.45	44.24	49	heptacosane	-	-	4.58
25	hexadecanoic acid, methyl ester	5.72	4.24	1.21					

溶于 50% 乙醇 250 mL 中, 超声使溶解, 定容, 避光 4 °C 保存。

**2.2.2 样品及阳性对照溶液的配制** 分别称取忍冬花、忍冬藤、忍冬叶粗粉 100 g, 置锥形瓶中, 加 70% 乙醇 500 mL 密闭超声提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 分别合并滤液, 回收乙醇至无醇味, 分别用同体积的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 减压浓缩干燥, 分别得到忍冬花、忍冬藤、忍冬叶的石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物及水相提取物。

准确称取维生素 C 对照品、忍冬花、忍冬藤、忍冬叶的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取物、水相提取物及挥发油各 5 mg, 加 70% 乙醇定容至 25 mL, 得到质量浓度为 0.2 g · L<sup>-1</sup> 的对照品及样品溶液。再分别用 70% 乙醇稀释, 得到质量浓度分别为 200,

100, 50, 20, 10, 5, 2, 1 mg · L<sup>-1</sup> 的样品及对照品溶液。

**2.2.3 抗氧化活性测定** 分别精密量取各质量浓度样品及对照品溶液 2.0 mL 置具塞试管中, 分别加入 DPPH 乙醇溶液 2 mL, 反应体系共计 4 mL, 摇匀, 在暗处放置 30 min。在 517 nm 处, 以 70% 乙醇作为空白, 分别测定各质量浓度样品及对照品溶液 2 mL 加 DPPH 溶液 2 mL 后的吸收光度 A<sub>i</sub>, 各质量浓度样品 2 mL 加 70% 乙醇 2 mL 的吸收光度 A<sub>j</sub>, 70% 乙醇 2 mL 加 DPPH 溶液 2 mL 的吸收光度 A<sub>0</sub>。样品对 DPPH 自由基的清除能力 (SA) 可用公式表示:

$$SA = 1 - (A_i - A_j) / A_0 \times 100\%$$

测定忍冬花、茎、叶各萃取部位各质量浓度条件下对 DPPH 自由基清除率, 计算出清除率为 50% 时

的浓度值 ( $IC_{50}$ )。  $IC_{50}$  越低, 其对应的样品抗氧化活性越强。 结果见图 2, 表 2。

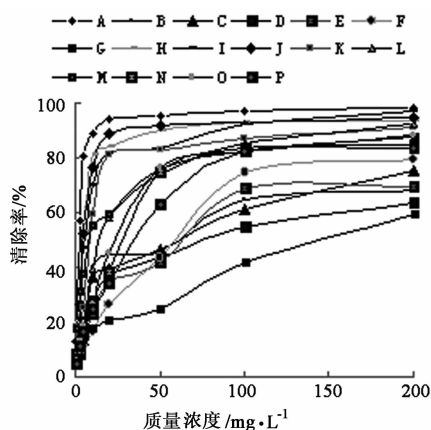


图 2 忍冬不同部位提取物 DPPH 清除能力 (图例编号表 2 同)  
Fig. 2 DPPH scavenging abilities of extracts of different parts of *L. japonica*

表 2 忍冬不同部位 DPPH 清除率  $IC_{50}$   
Table 2  $IC_{50}$  value obtained by DPPH scavenging abilities of extracts of different parts of *L. japonica*  $mg \cdot L^{-1}$

No.	样品	$IC_{50}$
A	维生素 C	2.2
B	忍冬花挥发油	54.7
C	忍冬藤挥发油	59.9
D	忍冬叶挥发油	78.7
E	忍冬花石油醚部位	60.5
F	忍冬藤石油醚部位	59.6
G	忍冬叶石油醚部位	134.8
H	忍冬花乙酸乙酯部位	4.5
I	忍冬藤乙酸乙酯部位	5.8
J	忍冬叶乙酸乙酯部位	4.6
K	忍冬花正丁醇部位	8.2
L	忍冬藤正丁醇部位	16.2
M	忍冬叶正丁醇部位	8.5
N	忍冬花水相	35.6
O	忍冬藤水相	25.7
P	忍冬叶水相	36.8

由图 2 可以看出, 忍冬花、茎、叶的不同提取物对 DPPH 自由基均有较好的清除作用, 且清除能力随着浓度的增加而增加, 但各样品间存在一定差异。

可以看出, 以  $IC_{50}$  作为判定抗氧化活性强弱的综合指标, 就提取物而言, 乙酸乙酯提取物清除能力

最强, 然后依次是正丁醇萃取物、水相、挥发油、石油醚萃取物; 就忍冬部位而言, 花的清除能力最强, 茎和叶次之。

### 3 讨论

课题组前期试验<sup>[7]</sup>通过 HPLC 测定绿原酸、木犀草苷、马钱苷含量和 HPLC 指纹图谱, 发现忍冬的花、茎、叶所含成分种类相近, 三者都含有黄酮类、有机酸类、环烯醚萜类等成分。本实验通过对来源于山东平邑的同一种植区域里的忍冬的花、茎、叶分别进行的挥发油提取、GC-MS 成分分析, 发现三者挥发油成分具有高度相似性, 这为三者具有相似功效提供了化学依据。

课题组前期试验<sup>[7]</sup>也发现, 虽然忍冬的花、茎、叶所含主要成分种类相近, 但含量差别较大: 绿原酸和总黄酮类化合物以花蕾含量最高, 马钱苷含量以茎最高。本试验发现, 虽三者挥发油主要成分相同, 也存在一些差异。而清除自由基实验表明, 三者不同极性的提取物对 DPPH 自由基均有较好的清除作用, 提示有较强的抗氧化活性, 但各样品间也存在一定差异。三者的乙酸乙酯萃取物及忍冬花的提取物清除能力最强, 依次是正丁醇萃取物、水相、挥发油、石油醚萃取物, 这可能与其中酚酸类成分和黄酮类成分含量较高有关, 有较多的酚羟基来清除 DPPH 自由基。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 179.
- [2] 鲁思爱. 忍冬藤的化学成分及其药理应用研究进展[J]. 临沂大学学报, 2012, 34(3): 132-134.
- [3] 庄丽, 张超, 阿里穆斯. 金银花的药理作用与临床应用研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(2): 378-380.
- [4] 赵金凤, 周凤琴, 郭庆梅, 等. 忍冬叶研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(39): 3738-3740.
- [5] 张轩铭, 王冬梅, 王瑾, 等. 不同产地玉竹黄酮提取物体外抗氧化活性研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(3): 628-631.
- [6] 马瑞丽, 李倩倩, 徐秀泉, 等. 虎刺抗氧化和抗菌活性研究[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(4): 16-19.
- [7] 付庆霞. 忍冬不同器官化学成分分析比较[D]. 济南: 山东中医药大学, 2009.

[责任编辑 顾雪竹]