

新疆鼠尾草不同部位不同极性提取物抗氧化活性

王新玲, 王晓梅, 胡君萍, 热娜·卡斯木*, 王小青, 王启文
(新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的:**研究新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物体外抗氧化活性。**方法:**新疆鼠尾草地上部分和根部药材的95%乙醇提取物依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取得相应的提取物和水层部分,将各提取物分别配制成适当浓度的溶液,以Vc为阳性对照,采用1,1-二苯基-2-苦基胍(DPPH)自由基法、超氧阴离子自由基(O_2^-)法和铁离子还原法分别测定各提取物的自由基清除能力和铁离子还原能力。**结果:**新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物清除自由基的能力均强于阳性对照Vc,地上部分乙醇层清除自由基的能力(DPPH·法 IC_{50} 0.039 g·L⁻¹, O_2^- 法 IC_{50} 0.130 g·L⁻¹)强于根部乙醇层(DPPH·法 IC_{50} 0.160 g·L⁻¹, O_2^- 法 IC_{50} 0.160 g·L⁻¹)。对铁离子还原能力的强弱顺序为根部不同极性提取物 > Vc > 地上部分不同极性提取物。**结论:**新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物均具有较强抗氧化作用,地上部分可替代根部使用,为合理开发新疆鼠尾草资源提供科学依据。

[关键词] 新疆鼠尾草; 抗氧化活性; 极性部位; 铁离子还原法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0062-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017230062

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170906.1414.066.html>

[网络出版时间] 2017-09-06 14:14

Antioxidant Activities of Different Polarity Extracts from *Salvia deserta*

WANG Xin-ling, WANG Xiao-mei, HU Jun-ping, RENA Kasimu*, WANG Xiao-qing, WANG Qi-wen
(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antioxidant activities of the different polarity extracts from the aerial parts and the root of *Salvia deserta*. **Method:** 95% alcohol extract of the aerial parts and the root of *S. deserta* were partitioned in petroleum ether, ethyl acetate and *n*-butanol orderly to obtain corresponding extracts and water layer. Different extracts were configured to the appropriate concentrations of solution. The antioxidant activities of the extracts were determined by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and O_2^- · radical scavenging and Fe^{3+} reduction capacity experiments *in vitro*. The results were compared with those of positive control Vitamin C (Vc) then. **Result:** All of the extracts showed stronger free radical scavenging activity than that of Vitamin C, and the free radical scavenging activity of alcohol extract from the aerial parts (DPPH· IC_{50} 0.039 g·L⁻¹, O_2^- · IC_{50} 0.130 g·L⁻¹) was stronger than that of the root (DPPH· IC_{50} 0.160 g·L⁻¹, O_2^- · IC_{50} 0.160 g·L⁻¹). The order of reduction power of Fe^{3+} was: different polarity extracts of the root > Vc > that of the aerial parts. **Conclusion:** All of the extracts showed antioxidant activity, suggesting that the aerial parts of *S. deserta* can replace the root for use. The study provided a scientific basis for the rational development of *S. deserta*.

[Key words] *Salvia deserta*; antioxidant activities; polarity fractions; ferric reducing antioxidant power

[收稿日期] 20170517(011)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金联合项目(2016D01C160)

[第一作者] 王新玲, 博士, 副教授, 从事天然药物活性成分研究, Tel:0991-4363345, E-mail:wangxlyl@sina.com

[通讯作者] *热娜·卡斯木, 博士, 教授, 从事天然药物有效成分及药理学研究, Tel:0991-4362473, E-mail:renakasimu@vip.sina.com

新疆鼠尾草拉丁学名含义为荒漠鼠尾草,是我国鼠尾草属植物中独特的品种,主要分布在新疆天山山脉和中亚诸国。该属植物大多以根入药,但新疆鼠尾草在民间以全草入药,具有清热解毒、止咳祛痰、消肿利尿和抗菌消炎的功效^[1]。课题组前期主要对其地下部分根进行了化学成分和相关药理活性的研究,发现新疆鼠尾草根中主要含有水溶性酚酸类和脂溶性萜类化合物^[2-3],其中酚酸类成分对糖尿病并发症具有一定防治作用,萜类化合物可以防治心脑血管疾病的发生,总酚酸提取物及其纯化物还具有较强的抗氧化作用^[4-6];而对于其地上部分仅限于化学成分的研究报道,发现主要含有酚酸类、萜类和黄酮类化合物^[7-9],活性研究还是空白,为保护生态资源,更合理使用新疆鼠尾草资源,本文采用体外化学模拟的方法研究新疆鼠尾草地上、地下部分不同极性提取物抗氧化作用,为进一步合理开发新疆鼠尾草药材资源提供一定的科学理论依据。

1 材料

新疆鼠尾草全草采自新疆乌鲁木齐市郊艾维尔沟地区,由新疆医科大学药学院热娜·卡斯木教授鉴定为唇形科植物新疆鼠尾草 *Salvia deserta*,标本保存于新疆医科大学药学院天药/生药教研室。

1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH,美国Sigma公司),抗坏血酸(Vc,天津市致远化学试剂有限公司,批号20151201),铁氰化钾(郑州市德众化学试剂厂),邻苯三酚(郑州市德众化学试剂厂),过氧化氢(郑州市德众化学试剂厂),硫酸亚铁(郑州市德众化学试剂厂),甲醇(天津市致远化学试剂有限公司),上述试剂均为分析纯。

T6型新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),AB104-N型1/10万电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),TDL-5A型离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 样品的制备

2.1.1 新疆鼠尾草地上和根部不同极性提取物的制备 分别称取新疆鼠尾草地上部分和根各500g,粉碎,加95%乙醇回流提取3h,过滤,药渣同法提取(2h×2),合并提取液,回收溶剂,分别得地上部分醇提浸膏99.2g,根部醇提浸膏103.2g。各留取醇提浸膏适量作为抗氧化实验样品。剩余醇提浸膏加水混悬均匀,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,各萃取溶液分别减压回收溶剂得各萃取物,萃取

后剩余溶液为水提物,即得地上部分和根部各石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇提取物和水提物共10个提取物,作为抗氧化实验样品。精密称取10个提取物各0.5g,分别置25mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,得 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同部位不同极性提取物的储备液。测定时,吸取适量储备液至10mL量瓶中,配成一系列浓度梯度的样品溶液。

2.1.2 Vc储备溶液的制备 精密称取Vc对照品4.97mg,置50mL瓶中,加甲醇定容至刻度,得 $0.0994\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液。精密吸取0.5,1.0,1.5,2.0,3.0,4.0mL的Vc储备液至10mL量瓶,分别配成4.97,9.94,14.91,19.88,29.82,39.76 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列浓度Vc对照品溶液。

2.2 还原 Fe^{3+} 能力的测定 采用普鲁士兰法测定样品的还原能力^[10]。取样品溶液2.5mL于试管中,依次加入 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(PBS,pH6.6)2.5mL和1%铁氰化钾溶液2.5mL,混合均匀后于50℃水浴中保温20min,迅速冷却后加入10%三氯乙酸溶液2.5mL,混匀,以 $3000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min,移取上清液2.5mL于具塞试管中,加入蒸馏水2.5mL和0.1% FeCl_3 溶液0.5mL,常温反应10min后,于700nm处测定吸光度A(以蒸馏水作参比溶液),吸光度A越高,说明这种反应混合物的还原力越强。

2.3 对DPPH·的清除作用^[11-12]

2.3.1 DPPH溶液的配制 精密称取DPPH4.00mg至100mL的量瓶中,加甲醇溶解并定容,配成0.004%的溶液,避光保存(0~4℃)。

2.3.2 清除DPPH自由基能力的测定 用UV法在200~800nm处扫描,得到DPPH原液的最大吸收波长在517nm,分别吸取0.004% DPPH溶液4mL各加Vc浓度系列溶液1mL,30℃水浴30min,在517nm处测定吸光度 A_1 ;以甲醇1mL代替样品溶液1mL测得吸光度 A_0 ;以甲醇4mL代替DPPH溶液4mL测得吸光度 A_2 ;每组测定3次,按照公式计算清除率,然后按照上述方法测定样品。

$$\text{清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

2.4 清除超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)能力的测定 采用邻苯三酚自氧法测定^[13]。在试管中依次加入 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Tris-HCl缓冲液(pH8.28)9mL,以及不同浓度的样品溶液各1mL,置25℃水浴恒温15min。取混合液3mL,加入 $45\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻苯三酚0.1mL,摇匀,在第4分钟加入 $10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸

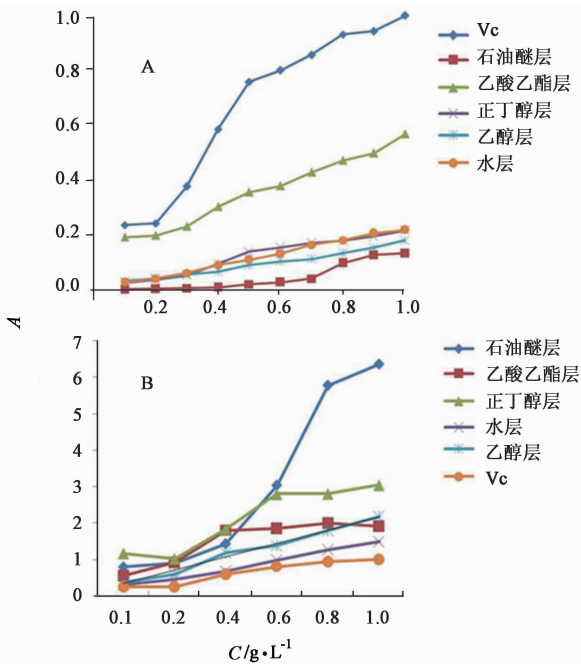
1 滴终止反应,于 325 nm 处测定样品吸光度 A_1 ,同时分别测定不加邻苯三酚的样品溶液和 Tris-HCl 缓冲液的吸光度 A_2 ,以溶剂 1 mL 代替样品液的 Tris-HCl 缓冲液和邻苯三酚混合液的 A_0 ,每组测定 3 次。

$$O_2^- \cdot \text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2/A_0)] \times 100\%$$

2.5 数据处理 采用 SPSS 16.0 软件中 PROBIT 方法对数据进行回归分析、处理,得 IC_{50} , IC_{50} 越小表示抗氧化能力越强。

3 结果与分析

3.1 新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物 Fe^{3+} 还原力的测定 在试验浓度范围内,新疆鼠尾草地上部分和根部的不同极性提取物的还原能力呈良好的量-效关系。地上部分的不同极性提取物还原能力均弱于 Vc,而其根部的各提取物还原力均强于 Vc,且根部石油醚层在质量浓度 $>0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时还原能力显著增强。见图 1。



A. 地上部分;B. 根部(图 2,3 同)

图 1 新疆鼠尾草不同极性提取物还原力

Fig.1 Fe^{3+} deoxygenation activity of different polarity extracts from *Salvia deserta*

3.2 新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物对 DPPH·清除能力 新疆鼠尾草地上部分各提取物和 Vc 在试验浓度范围内对 DPPH·清除能力呈良好的量-效关系,根部各提取物和 Vc 在低质量浓度 ($<0.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 时也呈良好的量-效关系,即随着质量浓度的增加,清除率也逐渐增加。新疆鼠尾草地上部分各不同极性提取物对 DPPH·的清除能力均强于 Vc,清除能力正丁醇层 $>$ 乙醇层 $>$ 乙酸乙酯层 $>$

石油醚层 $>$ 水提层 $>$ Vc。新疆鼠尾草根部分不同极性提取物对 DPPH·的清除能力也均强于 Vc,清除能力乙酸乙酯层 $>$ 正丁醇层 $>$ 乙醇层 $>$ 水提层 $>$ 石油醚层 $>$ Vc。见图 2 和表 1。

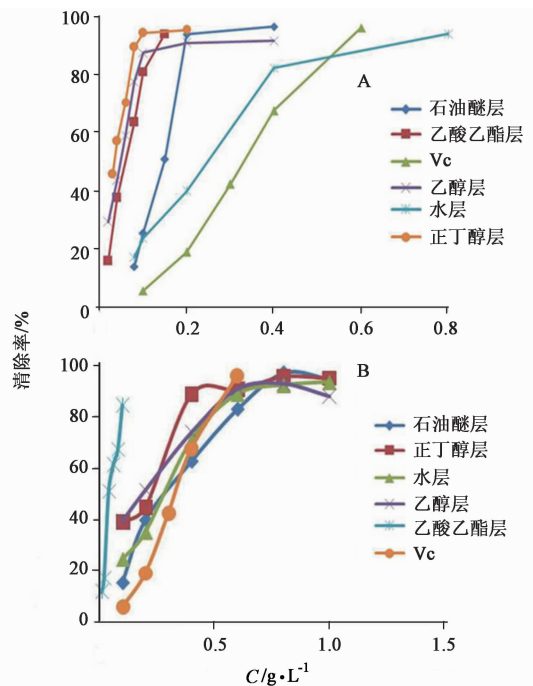


图 2 新疆鼠尾草不同极性提取物对 $\cdot\text{DPPH}$ 的清除能力

Fig. 2 DPPH radical scavenging activity of different polarity extracts from *Salvia deserta*

表 1 不同极性提取物抗氧化活性

Table 1 Antioxidant activities of different polarity extracts from *Salvia deserta*

组别	对 DPPH 自由基的清除力		对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力	
	地上部分	根	地上部分	根
石油醚层	0.133	0.254	0.077	0.038
乙酸乙酯层	0.051	0.043	0.058	0.050
正丁醇层	0.034	0.154	0.082	0.029
乙醇层	0.039	0.160	0.130	0.160
水层	0.201	0.229	0.427	0.294
Vc	0.330	0.330	0.321	0.321

3.3 新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物对 $O_2^- \cdot$ 清除能力 超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 是活性氧自由基的一种,易自行结合成为稳定的分子,或与其他物质发生反应产生新的更强的自由基,通常作为自由基链式反应的引发剂。可以看出,新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物及 Vc 在实验浓度范围内对 $O_2^- \cdot$ 的清除力呈良好的量效关系,且新疆鼠尾草地上部分除水层外其他不同极性提取物对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力均强于 Vc,其清除能力强弱顺序

为乙酸乙酯层 > 石油醚层 > 正丁醇层 > 乙醇层 > Vc > 水层。新疆鼠尾草根部分不同极性提取物和 Vc 对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力均强于 Vc, 其清除能力强弱顺序为正丁醇层 > 石油醚层 > 乙酸乙酯层 > 乙醇层 > 水层 > Vc。见图 3 和表 1。

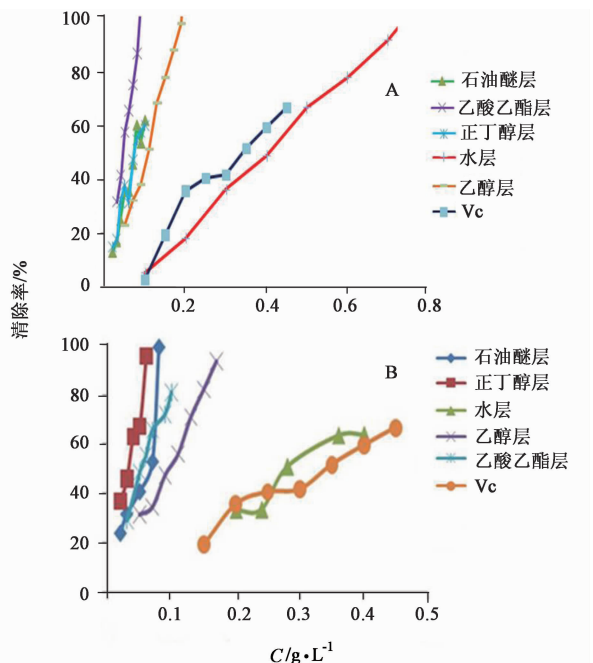


图 3 新疆鼠尾草不同极性提取物对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力
Fig. 3 Superoxide anion scavenging activity of different polarity extracts from *Salvia deserta*

4 讨论

本文对新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物进行了对 Fe^{3+} 的还原能力、对 DPPH· 和 $O_2^- \cdot$ 两种自由基的清除能力比较测定。结果显示,新疆鼠尾草地上部分和根部不同极性提取物清除自由基的能力均强于阳性对照 Vc, 其中地上部分的乙醇提取物清除 DPPH· 和 $O_2^- \cdot$ 自由基的能力均强于根部的乙醇层;就还原力而言,根部不同极性提取物的还原能力 > Vc > 地上部分不同极性提取物的还原能力。综合分析,不论是新疆鼠尾草地上部分还是根部,2 个部位的正丁醇层和乙酸乙酯层抗氧化作用和还原能力均强于其他提取物,2 个部位的正丁醇层和乙酸乙酯层之间抗氧化作用相当,提示新疆鼠尾草地上部分可替代根部使用。

新疆鼠尾草地上部分化学成分的研究结果发现,其中除了含有与其根部相同的酚酸类和萜类以外,还含有根部至今未发现的黄酮类成分,酚酸和黄

酮类成分一直是人们关注的天然自由基清除剂,本试验研究结果表明地上部分具有较强的抗氧化作用,因此提示新疆鼠尾草地上部分可替代根部使用,有关新疆鼠尾草地上部分药材的进一步开发利用有待后续研究,这对保护新疆植物资源具有重要意义。

[参考文献]

[1] Konta F, Shimizu T. *Flowering Plants and Ferns of the Tianshan Mountains in China* [M]. Osaka: Tombow Publisher, 1996: 110-195.

[2] Tezuka Y, Kasimu R, LI J X, et al. Constituents of roots of *Salvia deserta* Schang (Xinjiang-Danshen) [J]. Chem Pharm Bull, 1998, 46(1): 107-112.

[3] 王新玲, 王小青, 王晓梅, 等. 新疆丹参乙酸乙酯提取物的化学成分研究 [J]. 华西药理学杂志, 2014, 29(3): 257-259.

[4] 王晓梅. 新疆鼠尾草对糖尿病肾病的防治作用及其物质基础的研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.

[5] 王新玲. 新疆鼠尾草抗血栓作用物质基础及其作用机制研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.

[6] 王晓梅, 王小青, 王新玲, 等. 新疆鼠尾草总酚酸的体外抗氧化活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 162-165.

[7] 王新玲, 热娜·卡斯木, 早然木·尼亚孜, 等. 新疆鼠尾草花化学成分的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2003, 26(6): 583-585.

[8] 马燕, 热娜·卡斯木, 王晓梅, 等. 新疆鼠尾草茎化学成分的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2004, 27(6): 577-579.

[9] 王晓梅, 热娜·卡斯木, 马燕, 等. 新疆鼠尾草叶化学成分的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2005, 28(1): 21-23.

[10] 白莹, 符永鹏, 王文英, 等. 二色补血草不同部位总黄酮类物质提取及抗氧化能力的研究 [J]. 光谱实验室, 2009, 26(3): 467-470.

[11] 陈瀚, 李进, 李祥, 等. 板蓝根不同提取部位的体外抗氧化活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 184-186.

[12] 潘乔丹, 熊媛媛, 陈文东, 等. 扁担藤不同极性成分体外抗氧化活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 232-235.

[13] 陈斌, 钱骅, 赵伯涛, 等. 薰衣草叶提取物不同极性部位抗氧化及抑制酪氨酸酶活性研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(7): 1610-1612.

[责任编辑 顾雪竹]