

疏花假地豆体外抗氧化活性研究

杨保成¹, 彭涛¹, 黄钟碧², 张前军², 康文艺^{1,2*}

(1. 黄河科技学院, 郑州 450063; 2. 贵州大学化学化工学院, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:对疏花假地豆体外抗氧化活性进行研究。方法:采用清除二苯代苦味酰基(DPPH)自由基、清除[2,2'-联氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基及铁离子还原/抗氧化能力(FRAP)测定法,评价疏花假地豆体外抗氧化活性,并与阳性对照二丁基羟基甲苯(BHT)比较。结果:疏花假地豆体外抗氧化活性较好。其中乙酸乙酯提取部位清除DPPH自由基($IC_{50} = 35.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、ABTS自由基($IC_{50} = 8.49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)及还原 Fe^{3+} 的能力($\text{TEAC} = 756.20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)较好,但仍低于阳性对照BHT($IC_{50} = 3.69 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $IC_{50} = 6.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\text{TEAC} = 4\ 997.76 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)。结论:疏花假地豆乙酸乙酯提取部位体外抗氧化活性相对于其他部位最好。

[关键词] 疏花假地豆; 抗氧化活性; 二苯代苦味酰基自由基; 2,2'-联氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐; 铁离子还原/抗氧化能力

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0103-03

In Vitro α -Glucosidase Inhibitory Activity of *Desmodium heterocarpon*

YANG Bao-cheng¹, PENG Tao¹, HUANG Zhong-bi², ZHANG Qian-jun², KANG Wen-yi^{1,2*}

(1. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineer of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate antioxidant activity of *Desmodium heterocarpon* *in vitro*. **Method:** 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulphonic acid] diammonium salt (ABTS) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay were used to evaluate *D. heterocarpon* with BHT as positive control. **Result:** Antioxidant activity of *D. heterocarpon* was good. Ethyl acetate extract of *D. heterocarpon* showed the DPPH radical scavenging ($IC_{50} = 35.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), ABTS radical scavenging ($IC_{50} = 8.49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), and ferric reducing antioxidant power ($\text{TEAC} = 756.20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$) and those were higher than that of other extracts. But it was still inferior to positive control BHT ($IC_{50} = 3.69 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $IC_{50} = 6.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $\text{TEAC} = 4\ 997.76 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively).

Conclusion: Ethyl acetate extract showed the best antioxidant activity in three extracts.

[Key words] *Desmodium heterocarpon*; antioxidant activity; DPPH; ABTS; FRAP

疏花假地豆为豆科山蚂蝗属植物,别名山花生、大叶青等。根据文献记载它具有清热利尿,透邪外出,解毒,消肿止痛的功效。民间用于虚寒性咳嗽,

小儿疳积,小儿惊风,淋巴结核,脓肿,肺热咳嗽,哮喘,尿道结石,小便淋涩,筋骨痛,腰痛。外用可以治毒蛇咬伤,跌打损伤。另外,还可以用于流行性乙型脑炎,肝炎,喉痛,腮腺炎^[1]。

目前,仅有本课题组对疏花假地豆的化学成分进行了报道^[2],未见生物活性的研究报道。本课题对疏花假地豆提取物的生物活性研究,为综合利用该药用植物资源奠定理论基础。

1 材料

电子天平(美国Mettler-Toledo公司),UV-2000型紫外可见分光光度计(上海尤尼科仪器有限公司

[收稿日期] 20120906(011)

[基金项目] 贵州省中药现代化项目(黔科合中药字[2010]5029号);贵阳市科技局项目(筑科合字[2012204])

[第一作者] 杨保成, 博士, 副教授, 从事药物开发研究, E-mail: baochengyang@yahoo.com

[通讯作者] *康文艺, 教授, 从事中药活性成分及新药研究, Tel: 0378-3880680, E-mail: kangwenyi@hotmail.com

司), DELTA 320 型 pH 计(美国 Mettler-Toledo 公司)。二苯代苦味酰基自由基(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH, 日本东京化成工业株式会社); Fe^{3+} -三吡啶三哑嗪(2, 4, 6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ; 比利时 Acros organics 公司); [2, 2'-联氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS, 美国 Fluka 公司); BHT(二丁基羟基甲苯, 比利时 Acros organics 公司); Trolox(6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Aldrich); 其他试剂均为分析纯。

疏花假地豆于 2009 年 7 月采自贵州省贵阳市花溪区, 经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为豆科山蚂蝗属植物疏花假地豆 *Desmodium heterocarpon* (L.) DC. 的全草。

2 方法与结果

2.1 提取物的制备 将疏花假地豆全草阴干, 粉碎, 用 75% 乙醇冷浸提取 3 次(每次 7~10 d), 合并提取滤液, 减压回收乙醇, 得提取总浸膏(JDD 醇提取物)。总浸膏分散于水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 依次得到疏花假地豆石油醚部位(JDDPE)、乙酸乙酯部位(JDDEA)和正丁醇部位(JDDBU)。

2.2 抗氧化活性筛选方法

2.2.1 DPPH 方法 按照文献[3], 将样品用甲醇配制成一系列浓度, 取 0.1 mL 样品加入 3.5 mL DPPH 甲醇溶液($0.06 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 混匀, 30 min 后测定 515 nm 处吸光度; 同法 0.1 mL 甲醇 + 3.5 mL DPPH 溶液混匀测定吸光度。每份样品平行操作 3 次, 取平均值。按照以下公式计算自由基清除率:

$$\text{DPPH}_{\text{自由基清除率}} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

式中, A_{control} 为 DPPH 本身在测定波长的吸收, A_{sample} 为样品对 DPPH 作用后的吸收度数值(除去样品自身吸收)。

2.2.2 ABTS 方法 按照文献[4], 将样品用甲醇配制成一系列浓度, 取 0.15 mL 样品加入 2.85 mL ABTS 自由基工作液, 混匀, 10 min 后测定 734 nm 处吸光度; 同法 0.15 mL 甲醇 + 2.85 mL ABTS 自由基工作液混匀测定吸光度。每份样品平行操作 3 次, 取平均值。按照以下公式计算自由基清除率:

$$\text{ABTS}_{\text{自由基清除率}} (\%) = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

式中, A_{control} 为 ABTS 本身在测定波长的吸收, A_{sample} 为样品对 ABTS 作用后的吸收度数值(除去样品自身吸收)。

2.2.3 FRAP 方法 按照文献[5], 将样品用甲醇

配制成一系列质量浓度, 取 0.2 mL 样品加入 3.8 mL 新鲜配制的 TPTZ 工作液作为反应体系, 混匀后 37 °C 反应 30 min 后测定 593 nm 处吸光度。每份样品平行操作 3 次, 取算术平均值, 计算出清除率, 结果以抗氧化当量(即每克样品的自由基清除能力相当于 Trolox 的自由基清除能力的微摩尔数 TEAC)表示。

2.2.4 IC_{50} 值的计算 依据计算得到的清除率, 用 Origin 6.0 软件处理, 得到样品清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的半数清除率 IC_{50} 值。

2.3 结果与分析

2.3.1 对 DPPH 自由基的清除作用 疏花假地豆各溶剂提取物在初筛浓度为 $55.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对 DPPH 自由基的清除率见表 1。表 1 显示除乙酸乙酯提取部位外, 其他提取物清除率均 < 50%。与阳性对照 BHT ($IC_{50} = 3.69 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 相比, 其清除 DPPH 自由基能力较差。其清除 DPPH 自由基的能力顺序为 BHT > JDDEA > JDD 醇提取物 > JDDBU > JDDPE。

表 1 疏花假地豆不同提取部位的抗氧化活性

提取物	DPPH 方法		ABTS 方法		FRAP 方法
	清除率 /%	IC_{50} / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	清除率 /%	IC_{50} / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	TEAC / $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
JDD 醇提取物	38.78	NT	97.82	22.48	617.2
JDDPE	7.29	NT	57.04	77.5	154.55
JDDEA	64.89	35.66	100.27	8.49	756.2
JDDBU	33.51	NT	93.17	35.79	307.6
BHT	99.86	3.69	100	6.64	4 997.76

注: BHT 为阳性对照品, NT 为未测定。

2.3.2 对 ABTS 自由基的清除作用 表 1 显示疏花假地豆不同溶剂提取物在初筛浓度为 $100.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时清除 ABTS 自由基的能力均较好。不同提取物相比较得出乙酸乙酯提取物清除 ABTS 自由基的能力最好 ($IC_{50} = 8.49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 其清除率与阳性对照 BHT 相当 ($IC_{50} = 6.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。4 种提取物和阳性对照对 ABTS 自由基清除能力顺序为 BHT > JDDEA > JDD 醇提取物 > JDDBU > JDDPE。

2.3.3 对 Fe^{3+} 的还原能力 由表 1 显示, 疏花假地豆乙酸乙酯提取物还原 Fe^{3+} 的能力 ($TEAC = 756.20 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$) 较好, 但仍弱于阳性对照 BHT 还原 Fe^{3+} 的能力 ($TEAC = 4 997.76 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)。4 种提取物和阳性对照对 Fe^{3+} 的还原能力为 BHT > JDDEA > JDD 醇提取物 > JDDBU > JDDPE。

结果表明, 疏花假地豆不同溶剂提取物抗氧化活性有一定的差异, 其中 3 种抗氧化体系得到的结果表明疏花假地豆乙酸乙酯抗氧化活性最好。

LC-MS-MS 法测定参体和参须中 人参皂苷 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 含量

闫寒¹, 赵松岩², 刘运嘉³, 吴睿凡⁴, 范斌¹, 郭娜¹, 彭娟^{1*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700; 2. 沈阳药科大学, 沈阳 110016;
3. 沈阳市药品不良反应和医疗器械不良事件监测中心, 沈阳 110013;
4. 新疆医科大学, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的: 建立检测参体和参须中人参皂苷 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 的 LC-MS-MS 方法。方法: 应用液质联用, C₁₈ 色谱柱系统, 采用梯度洗脱方法, A-水(0.05% FA), B-乙腈, A-B = 65:35, 梯度洗脱(0~3 min, 65% B; 3~4 min, 100% B), 流速 0.35 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 建立了参体和参须中人参皂苷 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 含量测定方法并进行了方法学考察。结果: 建立了同时检测参体和参须中人参皂苷 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 含量测定方法。结论: 该方法准确、简便、快速, 可用于参体和参须的质量控制。

[关键词] 参体和参须; 含量测定; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rc; 人参皂苷 Rb₂

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0105-03

Simultaneous Quantitation of Rb₁, Rb₂ and Rc in Ginseng Tail and the Main Root of Ginseng by LC-MS-MS

YAN Han¹, ZHAO Song-yan², LIU Yun-jia³, WU Rui-fan⁴, FAN Bin¹, GUO Na¹, PENG Juan^{1*}

(1. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. Shenyang Monitoring Center for
Adverse Drug Reaction and Medical Device Adverse Event, Shenyang 110013, China;

[收稿日期] 20120110(120)

[基金项目] 中国中医科学院医学实验中心自主课题项目(zz2007002)

[第一作者] 闫寒, 从事中药质量控制研究, Tel: 010-64014411-3324, E-mail: yanhanarrow@163.com

[通讯作者] * 彭娟, 助理研究员, 硕士, 从事药物分析及药代动力学研究, Tel: 010-64014411-3324, Email: lillejuan@163.com

3 结论

本文采用 DPPH, ABTS, FRAP 3 种方法对疏花假地豆不同溶剂提取物进行了体外抗氧化活性研究, 结果表明疏花假地豆不同溶剂提取物均有一定的抗氧化活性。但是因为溶剂极性不同, 其中提取物极性也不同, 这可能导致了不同溶剂提取物其抗氧化活性有很大差别的根本原因。3 种抗氧化体系结果表明其乙酸乙酯抗氧化活性高于总醇提物的抗氧化活性, 这可能是因为醇提物中含有的其他杂质较多, 在相同浓度时其抗氧化有效成分少于乙酸乙酯提取物。综合上述结果可得出疏花假地豆乙酸乙酯提取部位的抗氧化活性最好。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第4册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 448.
- [2] 黄钟碧, 张前军, 康文艺, 等. 假地豆化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 93.
- [3] Kang W Y, Li C F, Liu Y X. Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* (Roxb.) Kuntze *in vitro* [J]. Med. Chem. Res, 2010, 19: 1222.
- [4] Kang W Y, Wang J M. *In vitro* antioxidant properties and *in vivo* lowering blood lipid of Forsythia suspense leaves [J]. Med Chem Res, 2010, 19: 617.
- [5] 尹震花, 顾雪竹, 张一冰, 等. 三白草体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 99.

[责任编辑 顾雪竹]