

眼树莲不同极性溶剂提取物的体外抗氧化活性

霍丽妮*, 李培源, 邓超澄, 卢汝梅, 陆婷婷, 卢澄生
(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的:研究眼树莲 *Dischidia chinensis* 不同极性提取部位的体外抗氧化活性。方法:以 95% 乙醇、丙酮和乙酸乙酯为溶剂分别对眼树莲进行冷浸提取,得到各种溶剂提取物 EE, AE, EAE, 测定了其总酚和总黄酮含量,并采用 DPPH·法、ABTS⁺法和铁离子还原能力法对其抗氧化能力进行研究。结果:眼树莲各提取部位具有较强 ABTS⁺清除能力,最高清除率达 88.97%,其 ABTS⁺清除率强弱顺序为 EAE > EE > AE;对 DPPH·清除能力较差,最高清除率仅达 38.37%;以 BHT 为阳性对照,眼树莲各提取部位还原能力强弱顺序为 BHT > EAE > EE > AE。结论:眼树莲乙酸乙酯部位(EAE)具有较强抗氧化性,可作为天然抗氧化剂及功能性食品的开发资源。

[关键词] 眼树莲;自由基;还原能力;抗氧化性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0219-03

Antioxidant Activity of Different Extracts of *Dischidia chinensis*

HUO Li-ni*, LI Pei-yuan, DENG Chao-cheng, LU Ru-mei, LU Ting-ting, LU Cheng-sheng
(College of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant activity of different extracts of *Dischidia chinensis*. **Method:** The total phenol and total flavonoids content of ethanol extract, acetone extract and ethyl acetate extract from *D. chinensis*. Their antioxidant activities were investigated in present study, employing various methods established *in vitro* systems, such as the scavenging activities on DPPH radical and ABTS⁺ radical, and reducing power. **Result:** These plants possessed good scavenging activities on ABTS⁺ radical (reaching to 88.97%) in the sequence of EAE > EE > AE, but weak scavenging activities on DPPH· radical (only reaching to 38.37%). Their reducing power activities are in the sequence of BHT > EAE > EE > AE with BHT as a control. **Conclusion:** This study showed that EAE of *D. chinensis* might be valuable antioxidant natural sources and seem to be applicable in both healthy medicine and foods.

[Key words] *Dischidia chinensis*; free radical; reducing power; antioxidant activity

眼树莲别名瓜子金、乳汁藤,为萝藦科眼树莲属植物眼树莲 *Dischidia chinensis* Champ. ex Benth 的全株,分布于广西、广东、海南等地,具有清肺化痰、凉血解毒的功效,主治肺燥咳血、疮疖肿毒、小儿疳积、痢疾、跌打肿痛、毒蛇咬伤等^[1],为民间的常用药材。目前,对同属植物的研究不多,仅从金瓜核藤

Dischidia esquirolii (lévl.) Tsing 的氯仿部位分出 3 个乌斯烷类型三萜化合物^[2],至今未有文献对眼树莲生物活性及其化学成分研究进行报道。为寻找一种具有保健功能的新型天然抗氧化剂,进一步扩大该属植物的应用范围,本研究以眼树莲为研究对象,采用 DPPH·法、ABTS⁺法和铁离子还原能力法,评价不同极性溶剂提取物的抗氧化能力,旨在揭示其抗氧化活性部位,为眼树莲作为功能性食品及天然抗氧化剂的进一步开发利用提供参考。

1 材料

北京 Tu-1800 SPC 紫外-可见分光光度计(北京

[收稿日期] 20101220(010)

[通讯作者] *霍丽妮,硕士,讲师,从事中药有效成分提取分离与活性研究, Tel: 15994365816, E-mail: huolini@126.com

普析通用仪器有限责任公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限责任公司); RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 眼树莲购于广西靖西县, 经广西中医学院壮医药学院韦松基教授鉴定为萝藦科眼树莲属植物眼树莲 *D. chinensis* 的全株; DPPH·(二苯代苦味酰自由基), ABTS(2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸), BHT(2,6-二叔丁基对甲酚), Trolox(水溶性维生素 E), TPTZ(2,4,6-三吡啶基三嗪), 购于美国 Sigma Aldrich 公司, 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 部位提取 将眼树莲全株阴干, 粉碎后各称取 50 g, 用 250 mL 95% 乙醇冷浸 2 d, 过滤。滤渣加等量溶剂同法再提取 1 次, 过滤, 合并 2 次滤液。滤液置旋转蒸发器中减压蒸馏, 回收溶剂, 残留物低温真空干燥至干, 得眼树莲乙醇提取物 (EE), 得率为 6.90%。同法制备丙酮提取物 (AE) 和乙酸乙酯提取物 (EAE), 得率分别为 9.34%, 4.37%。

2.2 总酚含量测定 精确称取没食子酸标准品 25 mg, 用蒸馏水溶解并定容到 250 mL, 得到 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品标准溶液。精密吸取对照样品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加入 1 mL Folin-Ciocalteu 试剂, 摇匀后加入 3 mL 2% Na_2CO_3 溶液, 用蒸馏水定容到 10 mL, 室温下反应 2 h 后在 760 nm 处测定吸光度, 绘制标准曲线, 推出回归方程。将各提取物溶液分别测定吸光度, 多次测量求平均值。根据回归方程计算总酚的没食子酸当量, 总酚含量以每克干物质的没食子酸当量 (mg) 表示。

2.3 总黄酮含量测定 精密吸取 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 芦丁对照品溶液 ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 于 10 mL 量瓶中, 分别加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL, 静置 6 min, 加入 5% 硝酸铝 0.4 mL, 静置 6 min。加 5% 氢氧化钠试液 4.0 mL, 用 95% 乙醇稀释至刻度, 摇匀。静置 15 min, 在 510 nm 处测定吸收度。以吸收度对溶液浓度进行回归分析, 绘制标准曲线, 推出回归方程。将各提取物溶液分别测定吸光度, 多次测量求平均值。根据回归方程计算总黄酮的芦丁当量, 总黄酮含量以每克干物质的芦丁当量 (mg) 表示, 并计算提取得率。

2.4 清除 ABTS⁺ 自由基的能力测定 参照 Re 等^[4] 的方法, 略有改进。用蒸馏水将 ABTS 配制成 $7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 储备液。将上述储备溶液与 $2.45 \text{ mmol} \cdot$

$\text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 水溶液 (最终浓度) 混合均匀, 于室温避光放置 2 d 备用, 反应产生 ABTS⁺。为了测定抗氧化性, 将 ABTS⁺ 溶液用磷酸盐缓冲液 (PBS) 稀释, 使其在 732 nm 下测得吸光度在 (0.700 ± 0.050) , 将 200 μL 不同浓度 ($0.2 \sim 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 眼树莲药液, 混合 1.9 mL ABTS⁺ 溶液, 在室温下放置 3 min 后测其吸光度。 $\text{SC} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100\%$, A_{control} = 不加药液的 ABTS⁺ 溶液的吸光度

2.5 清除 DPPH· 自由基的能力测定 参照 Kim 等^[3] 的方法, 略有改进。用 95% 乙醇将眼树莲各提取物配制成 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 储备液, 将其稀释成 $0.2 \sim 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, 取 1 mL 上述药液加入 4 mL 0.002% DPPH 溶液中, 室温放置 10 min, 在最大吸收波长 517 nm 处测其吸光度 (A_1), 各测 3 次取平均值。以不加提取液的 DPPH 为空白对照 (A_0)。最后根据下列公式计算各种药液对 DPPH 自由基的清除率: 清除率 (SC) = $(1 - A_1/A_0) \times 100\%$, 式中 A_1 为加药液后 DPPH 溶液的吸光度, A_0 为未加提取液时 DPPH 溶液的吸光度。

2.6 还原能力测定 按参考文献 [4-5], 将样品及阳性对照品 BHT 用 95% 乙醇配制成一系列浓度, 取 0.15 mL 样品加入试管中, 再加入 2.85 mL 新鲜配制的 TPTZ 工作液, 混匀, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min 后, 在最大吸收波长 593 nm 下测吸光度, 结果以 Trolox 浓度表示。所有测定平行进行 3 次, 取平均值。

3 结果与讨论

3.1 总酚和总黄酮含量测定结果 眼树莲乙醇提取物 (EE)、丙酮提取物 (AE) 和乙酸乙酯提取物 (EAE) 的总酚和总黄酮含量测定结果列于表 1。EAE 的总酚和总黄酮含量最高, 分别为 78.9, 63.3 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。3 种提取物总酚和总黄酮含量高低的顺序一致, 为 EAE > EE > AE。

表 1 眼树莲 3 种提取物的总酚和总黄酮质量分数 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

眼树莲溶剂提取物	总酚	总黄酮
EE	72.3	58.9
EAE	78.9	63.3
AE	69.0	58.2

3.2 ABTS⁺ 自由基清除能力 图 1 表示的是眼树莲不同极性溶剂提取部位清除 ABTS⁺ 的能力。结果表明, EE, AE, EAE 均具有很好地清除 ABTS⁺ 的能力, 清除率均与药液质量浓度成正比。在最高质量浓度 ($2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 时, EAE, EE, AE 的 SC% 分别达到

88.97%,88.09%,73.60%,其半清除浓度(IC_{50})分别为0.27,0.32,0.41 $g \cdot L^{-1}$,3种提取物清除 $ABTS^{\cdot+}$ 的能力强弱顺序为EAE > EE > AE,其中,EAE和EE的清除 $ABTS^{\cdot+}$ 自由基的能力较为接近。

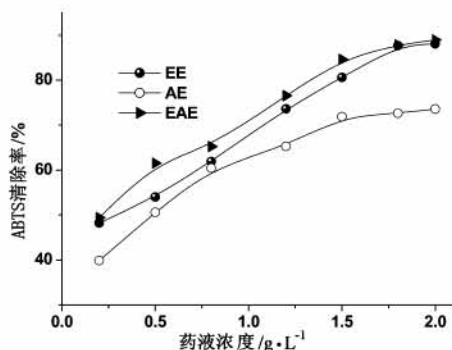


图1 眼树莲不同极性溶剂提取部位清除 $ABTS^{\cdot+}$ 自由基能力

3.3 DPPH·自由基清除能力 从图2可看出EE, AE, EAE对DPPH·均呈量效关系,在0.5~1.2 $g \cdot L^{-1}$ AE清除能力强于EE;而在1.5~2.0 $g \cdot L^{-1}$ EE清除能力略强于AE。总体而言,眼树莲对DPPH·清除能力较弱,最高SC%仅达38.37%。

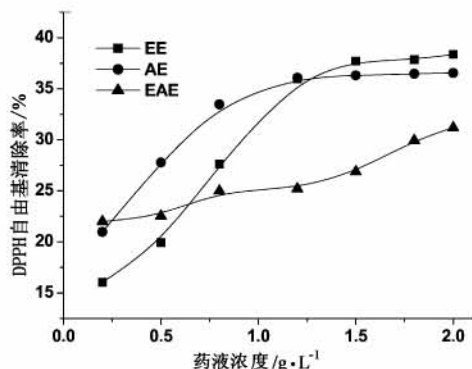


图2 眼树莲不同极性溶剂提取部位清除DPPH·自由基能力

3.4 还原能力 EAE, EE, AE, BHT4种提取物的还原能力分别为(189.53 ± 2.90), (162.84 ± 3.19), (103.09 ± 2.75), (250.62 ± 3.77) $\mu mol \cdot g^{-1}$,眼树莲EAE的还原能力最强。3种溶剂提取物作用强度顺序为EAE > EE > AE,与清除 $ABTS^{\cdot+}$ 能力的顺序一致。但眼树莲各提取物还原能力弱于

阳性对照BHT。

4 结论

实验结果可知,EAE的总酚和总黄酮含量最高,分别为78.9,63.3 $mg \cdot g^{-1}$ 。眼树莲3种提取物总酚和总黄酮含量高低的顺序一致,为EAE > EE > AE。 $ABTS^{\cdot+}$ 清除率和还原能力表明,EAE部位抗氧化活性最强,且抗氧化能力随药液浓度增大而增强,抗氧化能力次序与总黄酮和总酚含量一致,其抗氧化能力可能与植物中所含的黄酮和酚类物质有关。但在DPPH·自由基体系中发现其清除能力较差,最高清除率仅达38.37%,且抗氧化能力次序与前两个体系差别较大,这可能与眼树莲各个提取部位中所含主要抗氧化成分的种类及结构有关,故在不同的抗氧化体系中,其抗氧化作用不同。本研究表明,眼树莲提取物,特别是乙酸乙酯提取物,具有较强开发天然抗氧化物质的潜力,这为进一步开发利用眼树莲资源、深入挖掘眼树莲在食品、医学领域的应用提供了一定的参考价值。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:5672.
- [2] Ma X X, Yang C R, Zhang Y J. Complete assignments of 1H and ^{13}C -NMR spectral data for three polyhydroxylated 12-ursen-type triterpenoids from *Dischidia esquirolii* [J]. Magn Reson Chem, 2008, 46:571.
- [3] Kim D, Lee K W, Lee H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50 (13):3713.
- [4] 李彩芳,宋艳丽,刘瑜新,等. 珍珠菜抗氧化活性研究[J]. 精细化工, 2008, 25(12):1191.
- [5] 康文艺,宋艳丽,李彩芳. 核桃仁抗氧化活性研究[J]. 精细化工, 2009, 26:269.

[责任编辑 邹晓翠]