

小叶丁香皮不同溶剂提取物的抗氧化活性

徐蕊¹, 张崇禧², 蔡恩博¹, 田阳¹, 朱启光¹, 李蕾¹, 郑友兰^{1,*}

(1.吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118; 2.山东大学威海分校海洋学院, 山东 威海 264209)

摘要:目的: 研究小叶丁香皮中不同溶剂提取物的抗氧化活性。方法: 采用 ABTS⁺•、DPPH 自由基及还原性反应体系, 利用分光光度法测定小叶丁香皮的总提液、乙酸乙酯层、正丁醇层和石油醚层在不同质量浓度下的抗氧化能力及总酚含量。结果: 小叶丁香皮的不同溶剂提取物对 DPPH 自由基均具有较强的清除能力及还原能力, 其清除率与质量浓度呈良好的量效关系。其中正丁醇层抗氧化能力最强, 在质量浓度 0.62mg/mL 时, 对 ABTS⁺• 的最大清除率为 96.28%, 对 DPPH 自由基的最大清除率为 96.16%, 与同质量浓度 VC 的清除率接近, 且其 IC₅₀ 分别为 0.074、0.012mg/mL; 测得的正丁醇层总酚含量最高, 为 120.1 μg/20mg。结论: 小叶丁香具有较好的抗氧化能力, 其正丁醇层抗氧化能力显著, 这与总酚含量有较大的相关性。

关键词: 小叶丁香; 抗氧化; 总酚; 相关性

Antioxidant Activities of Different Solvent Extracts from *Syringa pubescens* Turcz Bark

XU Rui¹, ZHANG Chong-xi², CAI En-bo¹, TIAN Yang¹, ZHU Qi-guang¹, LI Lei¹, ZHENG You-lan^{1,*}

(1. College of Chinese Medicinal Material, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Marine College, Shandong University at Weihai, Weihai 264209, China)

Abstract: Objective: To explore the antioxidant activities of different solvent extracts from *Syringa pubescens* Turcz bark. Methods: ABTS⁺• and DPPH free radical scavenging and ferric reducing assay were used for antioxidant activity evaluation. The content of total phenols in 75% ethanol extract and its different solvent fractions (ethyl acetate, *n*-butanol and petroleum ether) were determined spectrometrically. Results: All the investigated samples had strong ability to scavenge DPPH free radicals and reduce ferric ions in a dose-dependent fashion. Among them, the strongest antioxidant activity was observed in *n*-butanol fraction. The maximum scavenging rate of *n*-butanol fraction against ABTS⁺• was 96.28% at the concentration of 0.62 mg/mL. However, its maximum scavenging rate of against DPPH radicals was 96.16%, which was close to that of vitamin C. The IC₅₀ of the fraction against ABTS⁺• and DPPH radicals were 0.074 mg/mL and 0.012 mg/mL, respectively. In addition, it had the strongest antioxidant activity, which might be largely associated with its high level of total phenols, 120.1 μg/20 mg. Conclusion: *Syringa pubescens* Turcz bark has good antioxidant capacity, in which components soluble in both 75% ethanol and *n*-butanol reveal the strongest antioxidant capacity.

Key words: *Syringa pubescens* Turcz; antioxidant; total phenols; correlation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)13-0075-03

小叶丁香(*Syringa pubescens* Turcz)又名巧玲花、雀舌花、毛丁香, 为木樨科(Oleaceae)丁香属(*Syringa*)植物, 分布于我国河南、河北、陕西、山西、甘肃等地, 生长在海拔 800~2400m 的山地、沟内或崖石上^[1]。民间对其药用价值早有认识, 曾采其花、果实泡茶饮用, 有消炎、镇咳、治疗肝炎和肝硬化之疗效^[2-4]。目前, 国内外对小叶丁香这种植物的研究少有报道, 对茎皮的研究更属罕见。

自由基是一类具有不配对电子的活泼化学基团。目

前认为, 人类疾病如各种炎症、动脉粥样硬化、老年性痴呆、帕金森氏病、急性脑血管病、癌症、衰老等, 均与自由基的氧化刺激密切相关。由于氧化损伤的机制在疾病的发生发展中起着重要的作用, 因此, 中药的抗氧化作用是其达到治疗效果的重要因素。研究发现, 当前主要使用的抗氧化剂多为人工合成抗氧化剂, 其对人的健康存在许多负面影响。因此, 近年来, 学术界对植物中存在的天然抗氧化剂的研究兴趣与日俱增^[5]。为了寻找高效的抗氧化物质, 对天然抗氧化剂的研究显

收稿日期: 2010-09-25

作者简介: 徐蕊(1986—), 女, 硕士研究生, 主要从事天然产物化学成分研究。E-mail: caienbo8251@163.com

* 通信作者: 郑友兰(1956—), 女, 教授, 本科, 主要从事天然产物化学成分研究。E-mail: zcx_11@126.com

得非常重要。目前抗氧化的研究已成为热点但对小叶丁香
的抗氧化活性的研究还未见报道。本实验采用 3 个体外抗
氧化模型对小叶丁香皮不同提取部位进行体外抗氧化活性
筛选, ABTS、DPPH 法是用以评价物质抗氧化活性的快
速、简便、灵敏、可行的方法, 物质的还原能力可以看
作是其潜在抗氧化性能的重要体现, 本实验旨在探讨小
叶丁香不同提取部位总酚含量及其抗氧化活性, 为医学、
食品科学等领域对天然抗氧化剂的研究开发提供新资源。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

小叶丁香采自吉林农业大学校园, 由吉林农业大学
园艺学院胡全德教授鉴定为木樨科(Oleaceae)丁香属
(*Syringa*)植物小叶丁香(*Syringa pubescens* Turcz.)的树皮。

DPPH 试剂 日本东京化成工业株式会社; 过硫酸钾、
无水乙醇 北京化工厂; ABTS 试剂 瑞士 Fluka 公司; 抗
坏血酸(批号: 080408) 上海惠世生化试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

T6 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; 百灵 LA114 型电子天平(110g/0.0001g)
常熟市百灵天平仪器有限公司; 电子计数天平(500g/0.001g)
金羊天平仪器厂; KQ-250DB 型超声波清洗器 昆山市
超声仪器有限公司; 101-2A 型数显电热鼓吹干燥箱 上
海锦屏仪器仪表有限公司通州分公司; 旋转蒸发器 上
海亚荣生化仪器厂。

1.3 方 法

1.3.1 样品组分的提取

取小叶丁香皮样品 1000g, 经粉碎后分别加 10 倍、
8 倍、6 倍量的 75% 乙醇各浸泡过夜后, 超声 30min,
静置过滤, 经抽滤后合并 3 次滤液, 将滤液置于旋转蒸
发仪中回收, 将回收液倒入蒸发皿中, 用水浴锅(温度
60℃)将溶液蒸干, 即得总提取物, 提取率为 18.32%。
取出部分浸膏约 40g, 用水稀释成混悬液, 依次用等量
的石油醚、乙酸乙酯和水饱和正丁醇分别萃取 3 次, 合
并石油醚层、乙酸乙酯层和正丁醇层萃取液, 减压浓
缩, 冷冻干燥, 分别得到石油醚层萃取物 1.2g, 乙酸
乙酯层萃取物 5.2g, 正丁醇层萃取物 7.9g, 水层萃取物
13.6g, 即石油醚层、乙酸乙酯层、正丁醇层、水层
得率分别为 3%、13%、19.75%、34%, 备用。

1.3.2 ABTS 法测定抗氧化活性

按照文献[6-7], 配制 ABTS⁺· 工作液。将样品用
甲醇配制成一系列质量浓度, 取 3mL 样品溶液加入 158 μL
ABTS⁺· 工作液(A_{sample}), 用乙醇做空白, 158 μL ABTS⁺·
工作液和 3mL 水为标准液(A_{control}), 6min 后在 734nm 波
长处测定吸光度, 用 VC 作对照。

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除率} / \% = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \quad (1)$$

1.3.3 DPPH 法测定抗氧化活性

1.3.3.1 样品溶液的制备^[8-10]

分别准确称取干燥至恒质量的总提取物、石油醚
层、乙酸乙酯层和正丁醇层萃取物 30mg, 用无水乙醇
定容于 10mL 容量瓶中, 配成质量浓度为 3mg/mL 的样
品母液, 将样品母液用无水乙醇逐级稀释成质量浓度
为 0.018、0.037、0.075、0.15、0.31、0.62、1.25mg/mL
的样品溶液待用。

1.3.3.2 DPPH 溶液的制备^[8-10]

精密称取 DPPH 样品 0.01g, 加入无水乙醇定容至
50mL 容量瓶中, 得到 DPPH 母液(质量浓度 0.2mg/mL)。
从母液中移取 10mL, 用无水乙醇定容至 50mL 容量瓶
中, 得到 DPPH 溶液(质量浓度 0.04mg/mL), 整个过程避光。

1.3.3.3 样品测定^[11]

总提取物、石油醚层、乙酸乙酯层和正丁醇层萃
取物样品溶液加入反应液, 摇匀后于室温避光静置
30min, 在 515nm 波长处测定吸光度。用 VC 作对照。

$$\text{DPPH 自由基清除率} / \% = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A₀ 为无水乙醇+DPPH 溶液; A₁ 为样品溶液+
DPPH 溶液; A₂ 为样品溶液+无水乙醇。

1.3.4 半数抑制率的计算

半数抑制率(IC₅₀)指清除率为 50% 时所需抗氧化剂的质量
浓度, 根据不同质量浓度抗氧化剂的清除率作曲线求出。

1.3.5 还原性的测定

参考文献[12-13], 用分光光度计于 700nm 波长处测
定吸光度, 以 BHT、VC 作为对照。采用铁离子还原
法测定, 其吸光度越高则代表该化合物还原力越强。

1.3.6 总酚含量测定^[14-16]

取样品 20mg 于 10mL 容量瓶中, 用甲醇定容,
取 0.5mL 样品溶液于 25mL 容量瓶中, 加入福林-酚
试剂 2.5mL, 在 0.5~8min 范围内间断加入 2mL 无水 Na₂CO₃
(75g/L), 在 50℃ 水浴中加热 5min, 冷却后用蒸馏水配
平, 于 760nm 波长处测吸光度, 用蒸馏水作对照。

1.3.7 数据处理

用 SPSS16.0 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 小叶丁香皮不同溶剂提取物清除 ABTS⁺· 作用

由图 1 可知, 小叶丁香皮的不同溶剂提取物在不同
质量浓度条件下清除 ABTS⁺· 能力大小为: 正丁醇层>

乙酸乙酯层>总提取液>石油醚层, 正丁醇层清除率接近于同质量浓度 VC。

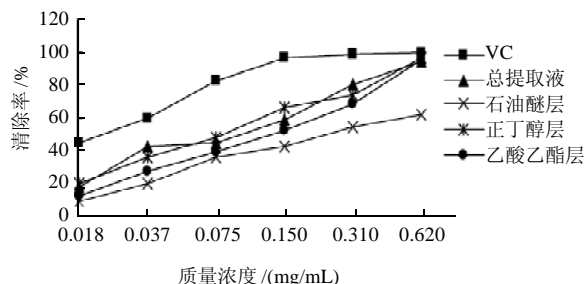


图1 小叶丁香皮的不同溶剂提取物对 ABTS⁺ 的清除作用

Fig.1 ABTS⁺ scavenging activity of 75% ethanol extract and its different solvent fractions from *Syringa pubescens* Turcz bark

2.2 小叶丁香皮不同溶剂提取物清除 DPPH 自由基作用

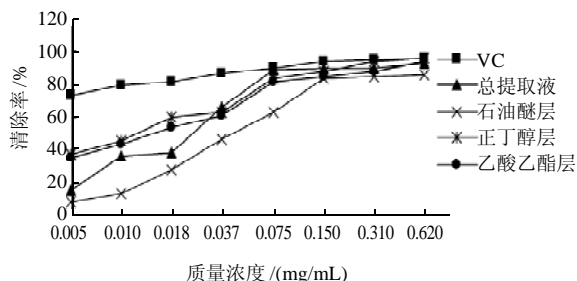


图2 小叶丁香皮的不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.2 DPPH radical-scavenging activity of 75% ethanol extract and its different solvent fractions *Syringa pubescens* Turcz bark

由图2可知, 小叶丁香皮的不同溶剂提取物在不同质量浓度条件下清除 DPPH 自由基能力大小为: VC>正丁醇层>乙酸乙酯层>总提取液>石油醚层。

2.3 小叶丁香皮不同溶剂提取物的还原性

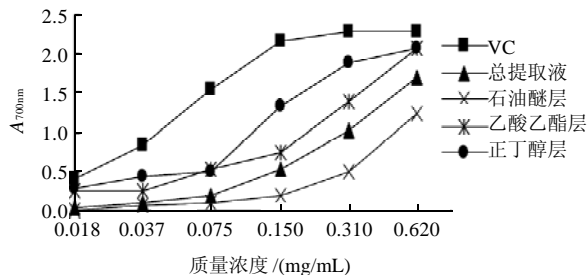


图3 小叶丁香皮的不同溶剂提取物的还原能力

Fig.3 Ferric reducing power of 75% ethanol extract and its different solvent fractions *Syringa pubescens* Turcz bark

由图3可知, 小叶丁香皮的不同溶剂提取物在不同质量浓度条件下还原能力大小为: 正丁醇层>乙酸乙酯层>总提取液>石油醚层。

2.4 小叶丁香皮不同溶剂提取物的 IC₅₀ 及总酚含量

由表1可知, 小叶丁香皮正丁醇层的总酚含量最高, 为 120.1 μg/20mg, DPPH 法测得小叶丁香皮的正丁醇层的 IC₅₀ 值为 0.012mg/mL, ABTS 法测得小叶丁香皮的正丁醇层次之, 为 0.074mg/mL。

表1 小叶丁香皮不同溶剂提取物的抗氧化活性及总酚含量

Table 1 IC₅₀ against ABTS⁺ and DPPH free radicals and total phenol contents of 75% ethanol extract and its different solvent fractions

Syringa pubescens Turcz bark

小叶丁香皮 提取物	IC ₅₀ /(mg/mL)		总酚含量/ (μg/20mg)
	DPPH 法	ABTS 法	
正丁醇层	0.012 ± 0.001	0.074 ± 0.003	120.1 ± 0.1
乙酸乙酯层	0.014 ± 0.002	0.108 ± 0.002	88.5 ± 0.2
石油醚层	0.045 ± 0.001	0.29 ± 0.001	22.8 ± 0.2
总提取液	0.021 ± 0.002	0.082 ± 0.002	80.8 ± 0.9
VC	0.005 ± 0.001	0.024 ± 0.001	

对小叶丁香皮不同溶剂提取物抗氧化能力与总酚含量进行相关性分析, DPPH 法与总酚含量的相关系数为 1, ABTS 法与总酚含量的相关系数为 1, 说明相关性较好。

3 讨论

小叶丁香皮提取物具有较强的抗氧化能力, 能明显地清除 ABTS⁺、DPPH 自由基, 还原能力较强。随着质量浓度的增加, 小叶丁香皮提取物的抗氧化能力随之增强, 呈现良好的量效关系。3 种抗氧化方法均显示正丁醇层有较强的还原能力, 其还原能力明显高于其他各部位。总酚的测定结果显示正丁醇层的总酚含量最高。综上所述, 小叶丁香皮不同提取部位抗氧化能力正丁醇层最强, 这为下一步小叶丁香皮提取物抗氧化成分的定向分离、纯化指明了方向。抗氧化能力与总酚含量的相关系数为 1, 该结果也客观地反映了 DPPH 法、ABTS⁺ 法测定小叶丁香抗氧化活性的准确性。通过对小叶丁香不同提取部位的抗氧化活性的研究, 确定小叶丁香是天然抗氧化剂较好的资源。

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: 化学工业出版社, 2005: 143-144.
- [2] 尹卫平, 赵天增, 张占旺, 等. 丁香属河南小叶丁香挥发油成分的研究[J]. 中草药, 1998, 29(4): 225-226.
- [3] 吴鸣建, 赵天增, 张海燕, 等. 小叶丁香化学成分的研究(I)[J]. 中草药, 2003, 34(1): 10-12.
- [4] 尹卫平, 赵天增, 张占旺. 丁香属河南小叶丁香挥发油成分的研究[J]. 中草药, 1998, 29(4): 225-226.
- [5] 王小淞. HPLC-DPPH 在线法筛选黄芩提取物中抗氧化活性成分[J]. 中草药, 2009, 40: 224-227.
- [6] LEE I K, YUN B S. Hispidin analogs from the mushroom *Inonotus xeranticus* and their free radical scavenging activity[J]. BiorgMed Chem Lett, 2006, 16: 2376-2379.
- [7] CHUN S S, VATTEM D A, LIN Y T, et al. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*[J]. Process Biochem, 2005, 40: 809-816.
- [8] 孟洁, 杭瑚. 核桃仁活性成分的提取及体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2001, 22 (12): 44-47.
- [9] 孙建霞, 孙爱东, 白卫滨, 等. 苹果中多酚物质的抗氧化研究[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(3): 122-124.
- [10] 张立新, 杭瑚, 王宗花, 等. 某些常见蔬菜抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 1999, 20(11): 21-23.
- [11] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27 (6): 658-662.
- [12] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 344-345.
- [13] 夏向东, 吕飞杰, 台建祥. 抗氧化剂的功效及抗氧化活性的体外分析评价[J]. 食品科学, 2001, 22(1): 89-93.
- [14] 杨崇仁, 张颖君. 苹果果实中的酚性成分[J]. 云南植物研究, 2009, 31(3): 284.
- [15] 刘小红, 张尊听. 市售天然植物香料的抗氧化作用研究[J]. 食品科学, 2002, 23(1): 143-145.
- [16] 刘士德, 余玉雯, 张建华, 等. 迷迭香抗氧化提取物的应用研究[J]. 食品科技, 2003(2): 59-62.