

几种中药不同溶剂组分的抗氧化活性研究^{*}

陈 玫^{1,2}, 张海德^{1,3}, 陈 敏², 古练权², 余海虎⁴

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

2. 中山大学药学院, 广东 广州 510080;

3. 华南热带农业大学理工学院, 海南 儋州 571737;

4. 香港理工大学应用生物与化学技术系, 香港)

摘 要: 采用连苯三酚自氧化法, 对 8 种中药浙贝母、茵陈、柴胡、青蒿、桑皮、山楂、三七和薏仁, 分别用石油醚、二氯甲烷、乙醇和水分级萃取进行提取分离, 测试各提取物的抗氧化活性。结果表明, 其中 7 种中药都有一定抑制连苯三酚自氧化, 清除超氧阴离子自由基的能力, 且脂溶性或醇溶性的提取物抗氧化作用较强。

关键词: 连苯三酚自氧化; 溶剂分级萃取; 抗氧化; 超氧阴离子; 筛选

中图分类号: R962 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2006) 06-0131-03

人体内产生的自由基与动脉粥样硬化、冠心病、帕金森病、癌症等多种疾病都有关系, 并可加速人体衰老, 由氧自由基参与介导的连锁反应是引起多种疾病的重要因素。抗氧化剂能有效的清除自由基, 延缓人体的衰老和预防上述疾病的产生^[1-2]。目前一些合成抗氧化剂如 BHT、BHA、TBHQ 等经动物实验发现有毒, 加上人们日益追求绿色环保, 因此, 近年来, 寻找天然的、安全的生物抗氧化剂逐渐成为研究热点^[3]。

我国中草药资源极其丰富, 是天然抗氧化物质的重要来源。中草药的抗氧化性已经引起了充分的重视, 如从中药中发现的黄酮类、多酚类和多糖类等均表现出强的抗氧化活性^[4-5]。所以, 从中药中筛选抗氧化和清除氧自由基的活性物质, 是可行且有效的。

本实验应用连苯三酚自氧化法^[6], 选取浙贝母、茵陈、柴胡、青蒿、桑皮、山楂、三七和薏仁等 8 种常见的中药, 采用溶剂分级萃取, 对其进行抗氧化活性研究, 旨在提供可靠的药理依据。连苯三酚自氧化过程为链式反应, 可产生超氧阴离子自由基 O_2^- , 其自身氧化产物的含量可用分光光度计检测。在 pH 值低于 9.0 时, 连苯三酚自氧化速率与生成的超氧阴离子自由基的浓度呈正相关, 故可通过紫外分光光度仪来定量测定天然抗氧化剂在此体系中对超氧阴离子自由基的清除作用。该法操作简单快捷、实验价廉, 适合进行多个样品的快速筛选。

1 实验部分

1.1 仪 器 UV-2501 PC 紫外分光光度仪 (日本岛津公司)、UVPC V3.9 操作软件、XT200A 电子分析天平 (瑞士 Precisa 公司)、PH B3 便携式 pH 计 (上海三信仪表厂)、H-1 微型漩涡混合器 (上海精科实业有限公司)。

1.2 试 剂 三羟甲基氨基甲烷 (生化试剂); 乙二胺四乙酸、连苯三酚、盐酸、DMSO 均为分析纯。磷酸缓冲溶液配制用水为去离子水。中药浙贝母、茵陈、柴胡、青蒿、桑皮、山楂、三七和薏仁, 购自广州清平中药材市场。

1.3 实验方法

1.3.1 中药化学成分的提取 采用溶剂分级萃取, 利用极性由小到大的各种有机溶剂连续提取, 针对不同的药材, 因其有效成分不同, 而分别使用不同的提取剂^[7], 如表 1 所示。

将药材粉碎, 过 10 目筛, 取 10 g 于 250 mL 具塞三角瓶中, 依次用表 1 所示溶剂室温振荡提取。每种溶剂提取 3 次, 合并 3 次的提取液减压浓缩, 真空干燥, 即得 8 种中药不同部分的提取物, 再用提取剂配制成 10 mg/mL 的样品溶液供测试用。

1.3.2 连苯三酚自氧化系统测试样品抗氧化活性

①连苯三酚自氧化产物最大吸收波长的确定: 在 25 mL 的三角瓶中加入 4.2 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (pH 8.2, 含乙二胺四乙酸 2 mmol/L) 和 0.1 mL 连苯三酚溶液 (6 mmol/L) 的 10 mmol/L HCl 溶

* 收稿日期: 2006-02-10

基金项目: 广州市重大科技基金资助项目 (2002Z1-E5011); 中山大学凯思奖学金海外研究资助项目

作者简介: 陈玫 (1978 年生) 女, 博士研究生; 通讯联系人: 古练权; E-mail: cedc42@zsu.edu.cn

表 1 几种中药材化学成分的分离表
Tab 1 The separation methods of some Chinese herb medicines

中药材名称	非极性	弱极性	中等极性	强极性
浙贝母	—	二氯甲烷	乙醇	水
茵陈	—	二氯甲烷	乙醇	水
柴胡	石油醚	二氯甲烷	乙醇	水
青蒿	石油醚	二氯甲烷	乙醇	水
桑皮	—	二氯甲烷	乙醇	水
山楂	石油醚	三氯甲烷	丙酮	水
三七	石油醚	三氯甲烷	丙酮	水
薏仁	石油醚	乙酸乙酯	乙醇	水

液），混合均匀后，在 UV 2501 PC 紫外分光光度仪上采用扫描程序在 240 s 内每隔 60 s 扫描一次， $\lambda_{\max}=320\text{ nm}$ 。

② 连苯三酚自氧化速率的测定：溶液配制同①，混合均匀后，采用时间程序在 $\lambda_{\max}=320\text{ nm}$ 处连续测量 120 s。连苯三酚自氧化速率用每分钟其自氧化产物在波长 320 nm 处的吸光度增加量表示。

③ 样品对连苯三酚自氧化速率的影响：在 25 mL 的三角瓶中加入 4.1 mL Tris-HCl 缓冲溶液，0.1 mL 连苯三酚溶液，0.1 mL 样品溶液，混合均匀后，采用时间程序在 $\lambda=320\text{ nm}$ 处连续测量 120 s。此时，连苯三酚自氧化速率用自氧化产物在 $\lambda=320\text{ nm}$ 处每分钟的增加量 $\frac{dA}{dt}$ 表示。

④ 样品对连苯三酚自氧化速率抑制率的计算：样品对连苯三酚自氧化速率的百分抑制率下式计算。

$$\text{抑制率} = \left[\frac{dA}{dt} - \frac{dA}{dt} \right] \left(\frac{dA}{dt} \right)$$

式中， $\frac{dA}{dt}$ 为对照组连苯三酚自氧化速率； $\frac{dA}{dt}$ 为加入样品时的连苯三酚自氧化速率。

表 2 几种中药材提取物对连苯三酚自氧化的抑制作用¹⁾
Tab 2 The effect of eight Chinese herb medicines on inhibition of autoxidation of pyrogallol

中药名称	石油醚提取物	三氯甲烷提取物	二氯甲烷提取物	丙酮提取物	乙酸乙酯提取物	乙醇提取物	水提取物
浙贝母	—	—	NA	—	—	NA	NA
茵陈	—	—	2.40±0.02	—	—	8.34±0.10	9.62±0.03
柴胡	NA	—	10.02±1.07	—	—	34.91±0.62	12.08±0.27
青蒿	NA	—	NA	—	—	13.64±0.15	1.81±0.02
桑皮	—	—	NA	—	—	NA	10.8±0.58
山楂	36.39±0.34	NA	—	1.60±0.96	—	—	3.53±0.03
三七	10.88±1.08	—	—	—	1.26±0.62	NA	2.94±0.59
薏仁	24.72±2.38	NA	—	NA	—	—	17.06±0.08

1) NA 代表无效；抑制率/%， $\bar{x} \pm S$ ，n=3，中药材提取物样品溶液的最终浓度均为 0.23 mg/mL。
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果与讨论

如表 2 所示，在连苯三酚自氧化体系中，山楂、薏仁和三七的石油醚提取物，茵陈、柴胡、青蒿的乙醇提取物以及茵陈、柴胡、桑皮、薏仁的水提取物都具有较好的抑制连苯三酚自氧化，清除超氧阴离子的作用。其中山楂的石油醚提取物和柴胡的乙醇提取物抗氧化效果最强，在样品浓度条件 (0.23 mg/mL) 下，抑制率分别达到 36.39% 和 34.9%。实验测试中每种中药的水提取物都有着一定的抗氧化能力。可见实验中大多数中药都具有抗氧化清除自由基的能力，这可能与中药含有丰富的黄酮类、醌类、皂甙及环烯醚萜类等成分有关，这些化合物含酚羟基数越多，清除自由基能力也越强^[1]。

据文献报道，柴胡有效成分主要为皂苷、挥发油、植物甾醇和黄酮类^[8]。青蒿中的药用成分可分为挥发性和非挥发性两部分^[9]。挥发性成分主要为挥发油：包括蒿酮、异蒿酮、桉油精、左旋樟脑、丁香烯、蒾烯、龙脑、石竹烯氧化物、倍半萜醇等成分。非挥发性成分主要有：青蒿素、青蒿甲素、乙素、丙素及青蒿酸、香豆素、黄酮、豆甾醇等。茵陈主要活性成分分为绿原酸、咖啡酸、胆碱、6,7-二甲氧基香豆素、对羟基苯乙酮等^[10]。桑皮中分离得到香豆素类、植物甾醇、黄酮类化合物^[11]。浙贝母地上茎叶的化学成分有甾体生物碱：丁香脂素、浙贝甲素、浙贝乙素等，苷类生物碱，甾醇类物质等^[12-13]。山楂主要成份有金丝桃苷、槲皮素、芦丁、枸橼酸、柠檬酸、山楂酸、延胡索酸、熊果酸、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、酒石酸等^[14]。山楂黄酮类成分具有抗氧化、降血压血脂、抗动脉粥样硬化等药理作用^[15]。三七中除含有皂苷外，还含有止血活血成分三七素、黄酮苷、多

糖、氨基酸、挥发油等^[16]。薏仁含有丰富的蛋白质、脂肪、碳水化合物和多种氨基酸、维生素、无机盐以及一定量的多糖、薏仁酯及三萜类化合物等多种药用成分^[17]。长期以来, 对这些中药其他方面药理活性的报道居多, 而单一组分抗氧化作用的报道则较为少见。由于中药富含具有抗氧化能力的黄酮、多酚、多糖等化合物^[3], 是很有希望的天

参考文献:

[1] 赵保路. 氧自由基和天然抗氧化剂[M]. 北京: 科学出版社, 1999

[2] PRATICO D Alzheimer's disease and oxygen radicals new insights[J]. Biochemical Pharmacology 2002 63 (4): 563—567.

[3] 宋怀恩, 闻韧. 抗氧化剂筛选方法的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2003 13(2): 119—124

[4] NICOLE C Role of flavonoids in oxidative stress[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry 2001 1(6): 569—590

[5] LEE S E HWANG H J HA J S et al Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity[J]. Life Sciences 2003 73(2): 167—179

[6] GAO R YUAN Z B ZHAO Z Q et al Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity[J]. Bioelectrochemistry and

Bioenergetics 1998 45(1): 41—45

[7] 杨云, 冯卫生. 中药化学成分提取分离手册[M]. 北京: 中国医药出版社, 1998

[8] 白焱晶, 赵玉英, 谭利, 等. 南柴胡化学成分的研究(英文)[J]. J Chinese Pharmaceutical Sciences 1999 8 (2): 105—107.

[9] 赵兵, 王玉春, 欧阳藩. 青蒿药用成分提取分离技术现状[J]. 中草药, 1998 29(11): 784—786

[10] 李秀珍, 韩芳堂, 初志丹, 等. 中药茵陈中微量元素及其活性成分对其药理作用的影响[J]. 中医药学报, 1996 (3): 43

[11] 罗士德, NEMEC J 宁冰梅. 桑白皮中抗人爱滋病病毒(HIV)成分研究[J]. 云南植物研究, 1995 17(1): 89—95

[12] 王文杰, 贝母[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990

[13] 严铭铭, 金向群, 徐东铭. 浙贝母茎叶化学成分的研究[J]. 中草药, 1994 25(7): 343—346

[14] 高光跃, 冯毓秀. 山楂属植物研究概况[J]. 国外医药: 植物药分册, 1994 9(2): 56—60

[15] 朱玉军. 单籽山楂提取物的抗氧化活性[J]. 国外医药: 植物药分册, 1995 10(3): 126—127

[16] DONG T X CUI X M SONG Z H et al Chemical assessment of roots of Panax notoginseng in China: regional and seasonal variation in its active constituents[J]. J Agric Food Chem 2003 51(16): 4617—4623

[17] 刘庆华. 实用植物本草[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1998 286—287.

Studies on the Antioxidative Activities of
Different Solvents Extracts from Chinese Herbal Medicine

CHEN Mei², ZHANG Hai de³, CHEN Ming, GU Lian quan, YU Hai hong

- (1. School of Chemistry and Chemical Engineering Sun Yat sen University Guangzhou 510275 China
2. School of Pharmaceutical Science Sun Yat sen University Guangzhou 510080 China
3. College of Technology South China University of Tropical Agriculture Danzhou Hainan 571737 China
4. Department of Applied Biology and Chemical Technology Hong Kong Polytechnic University Hong Kong China)

Abstract Eight kinds of Chinese herbal medicines: Fritillaria thunbergii Miq., Artemisia capillaris Thunb., Radix Bupleurii, Artemisia annua L., Morus alba L., C. Pinnaefida Bge., Panax notoginseng and Coixachryma phi L. var. ma-yuen were sequentially extracted with petroleum ether, dichloromethane, ethanol and water. The extracts were measured for their antioxidant effects by pyrogallol autoxidation method. The results showed that seven of these Chinese herb medicines exhibited antioxidant activities and free radical scavenging activities, and most of these active extracts were liposoluble or ethanol soluble.

Key words: pyrogallol autoxidation; extract; antioxidant activity; superoxide radical; screening