

密蒙花总黄酮抗氧化活性^①

蔡凌云^{②a,b} 韩素菊^c 肖杭^b 邹利娟^c

a(凯里学院环境与生命科学学院 贵州省凯里市开发区开元大道3号 556011)

b(西华师范大学生命科学学院 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室 四川省南充市顺庆区师大路1号 637002)

c(绵阳师范学院 四川省绵阳市游仙区仙人路一段30号 621000)

摘要 用对 DPPH 自由基清除率来考察密蒙花的体外抗氧化活性大小,并与同浓度的 Vc 做比较。结果表明,密蒙花对 DPPH 自由基清除作用比 Vc 强,密蒙花是一种良好的天然抗氧化剂来源。

关键词 密蒙花;总黄酮;抗氧化活性

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)03-1343-04

1 引言

密蒙花 [*Buddleja officinalis* Maxim] 又名小锦花、黄饭花、鸡骨头花、染饭花。为马钱科 (Loganiaceae) 醉鱼草属 (*Buddleja* Linn) 灌木,高 1—4m。小枝略呈四棱形,灰褐色;小枝、叶下面、叶柄和花序均密被灰白色星状短绒毛。花期 3—4 月,果期 5—8 月。性味:甘,微寒。用于目赤肿痛,多泪羞明,眼生翳膜,肝虚目暗,视物昏花。产于山西、陕西、甘肃、江苏、安徽、福建、河南、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南和西藏等省区。不丹、缅甸、越南等也有分布^[1,2]。密蒙花中含有醉鱼草甙、刺槐素等多种黄酮类。国内对其组织培养、化学成分和药理等都有研究^[3-5],但目前密蒙花的抗氧化性研究在国内外都未见报道,对其同属植物的抗氧化性研究有少量报道^[6,7],表明醉鱼草属植物具有良好的抗氧化活性。因此本实验提取它的黄酮类物质并纯化,通过对 DPPH· 的清除作用来考察密蒙花黄酮清除自由基的能力,并与传统公认的抗氧化剂 Vc 做比较,为密蒙花的进一步开发提供参考。并为开发天然的食品抗氧化剂提供理论依据。

2 实验部分

2.1 材料与试剂

密蒙花 2010 年 3 月采集于贵州省黔东南州台江县,经西华师范大学生命科学学院黎云祥教授鉴定为马钱科醉鱼草属植物密蒙花。标本保存于西华师范大学生命科学学院标本室。

2,2-二苯基苦味肼基 (DPPH,日本和光纯药,供应商为上海如吉生物技术有限公司);抗坏血酸 (Vc,药用级,上海医药有限公司信谊制药总厂);芦丁(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,

① 贵州省凯里学院重点项目(2009Z0903);西南野生动植物资源保护教育部重点实验室开放基金(XNYB-0903);贵州省教育厅自科项目(黔教科[2010078])

② 联系人,手机:(0)15185627292;传真:(0855)8558300;E-mail:cailingyun2005@sina.com

作者简介:蔡凌云(1972—),女,成都市人,高级实验师,硕士,主要从事天然产物提取、分离和结构鉴定研究工作。

收稿日期:2010-12-03;接受日期:2010-12-25

纯度 $\geq 98\%$, 编号: 1097-060918); HPD-600 药用大孔吸附树脂(沧州宝恩化工有限公司); 实验所用其他试剂均为分析纯。实验用水为蒸馏水。

2.2 仪器与设备

R-200 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); Eppendorf Research 移液器(德国 Eppendorf AG 公司); UV-2102C 型紫外分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]; G 8023CSL-K3 格兰仕微波炉(广东格兰仕微波炉电器有限公司); 层析柱(上海亚荣生化仪器厂); LD4-2 低速离心机(北京医用离心机厂); BT 124S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 样品处理和提取液制备

自然干燥的密蒙花粉末过 60 目筛, 置于干燥器中备用。准确称取上述粉末 50.000g, 置锥形瓶中, 加 80% 乙醇, 料液比(g/mL) 1:15, 微波间歇提取两次, 每次 100s, 微波功率 320W, 合并提取液, 浓缩至无醇味, 上 HPD-600 药用大孔吸附树脂柱, 水洗除杂质, 70% 乙醇洗脱。吸附流速 0.5mL/min, 洗脱流速 2mL/min。洗脱液用于测定其中黄酮含量和抗氧化活性实验。洗脱液总体积为 1500mL。

2.3.2 芦 葎 校准曲线制作和样品黄酮总含量测定^[8]

采用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2\text{-NaOH}$ 比色法, 在波长为 510nm 处测定吸光度。取洗脱液 0.1mL 测定吸光度。

2.3.3 DPPH 自由基的清除率测定

2, 2-二苯基苦味肼基自由基(DPPH·)是一种合成的有机自由基。常用来研究酚类抗氧化剂的构效关系, 此法是依据 DPPH· 在 517nm 处有强吸收和 DPPH· 乙醇溶液呈紫色的特性, 在有自由基清除剂时, 由于与 DPPH· 单电子配对而使 DPPH· 乙醇溶液呈现的紫色消失或减弱, 其褪色程度与其接受的电子数呈定量关系, 因而可用分光法进行定量分析。有人^[9]用 DPPH 法测石榴汁、维生素 C 和葡萄酒的总的抗氧化能力, 将清除 DPPH· 50% 所用量定义为 EC_{50} , 用来作为抗氧化能力的指标。郝晓丽等^[10]用 DPPH 自由基清除法测定了多种植物(马齿苋, 扁蓄, 车前等)清除自由基的能力。在测定样品对 DPPH· 的清除能力时可通过计算 EC_{50} , TEC_{50} (清除 DPPH· 50% 所需用量时所用的时间)和 AE (清除效率)等参数来反映抗氧化剂清除自由基反应的动力学行为^[11]。

在试管里分别加入不同浓度的洗脱液和 V_c 溶液各 2mL(20、25、30、35、40、45mg/L, 每个浓度做 3 个平行), 然后依次加入 2.0mL 2 mmol/L DPPH·, 摇匀, 在 25℃ 水浴加热反应 30min, 取出, 在 517nm 处测定吸光度, 记作 A_i 。另取试管, 加入 2mL 蒸馏水代替样品和 V_c , 测样品和 V_c 的吸光度 A_0 , 另取试管, 用蒸馏水代替 DPPH· 测定样品和 V_c 本底吸光度, 记作 A_j 。根据下式计算对 DPPH· 的清除率, 比较样品和 V_c 的抗氧化能力。

$$E = \{[A_0 - (A_i - A_j)] / A_0\} \times 100\%$$

3 结果与讨论

实验结果用 SPSS11.5 进行差异性和相关性分析。

3.1 芦丁校准曲线和样品总黄酮含量

在 510nm 下测定标准品溶液的吸光度值, 作线性回归, 可得芦丁浓度 C 与吸光度 A 间的回归方程为 $A = -12.702C - 0.0209$ 。相关系数 $r = 0.9996$ 。在 510nm 下测定样品溶液的吸光度值, 带入

上面的回归方程得到洗脱液中总黄酮含量为 7.16mg/mL。密蒙花中总黄酮含量为 215mg/g。

3.2 密蒙花、V_c 对 DPPH 自由基的清除率

如表 1 所示, 不同浓度密蒙花、V_c 对 DPPH· 的清除率影响极其显著 ($P < 0.01$)。密蒙花对 DPPH· 的清除率比 V_c 强, 随浓度增大黄酮、V_c 对 DPPH· 清除率都增大。分析表明, 在所选浓度范围内, 密蒙花在黄酮浓度为 45mg/L 时, 对 DPPH· 的清除率最高, 并且与其他浓度具有极显著差异 ($P < 0.01$)。V_c 浓度为 45mg/L 时, 对 DPPH· 的清除率最高, 并且与其他浓度具有极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 1 对 DPPH· 的清除率的考察

浓度 (mg/L)	密蒙花对 DPPH· 的清除率 (%)	V _c 对 DPPH· 的清除率 (%)
20	20.856 ^f	10.885 ^f
25	23.925 ^e	12.810 ^e
30	25.702 ^d	14.131 ^d
35	26.760 ^c	15.365 ^c
40	30.507 ^b	19.141 ^b
45	33.555 ^a	25.435 ^a

注: $P < 0.01$, a, b, c, d, e, f 是密蒙花、V_c 对 DPPH· 清除率大小的排序。

4 结论

在生命活动的过程中, 氧化代谢反应会产生各种自由基, 适量自由基对细胞的分裂、生长、消炎、解毒等起积极作用。但是自由基过多或清除过慢会使生物大分子受到攻击, 加速机体的衰老进程, 并诱发炎症、恶性肿瘤、免疫失调等多种疾病^[12]。为了抑制自由基损伤, 人工合成的抗氧化剂被大量应用于食品、化妆品和医药等领域。化学合成制品大多有毒副作用, 长期摄入合成抗氧化剂可导致肝损伤并诱发恶性肿瘤^[13], 因此从天然产物中寻找低毒或无毒的抗氧化有效成分具有十分重要的意义。黄酮类化合物一直是人们所关注的抗氧化剂和自由基清除剂。本文中密蒙花对 DPPH· 清除作用的实验证实了密蒙花黄酮具有清除自由基的能力, 密蒙花对 DPPH· 的清除作用比传统抗氧化剂 V_c 强, 在浓度范围 20—35mg/L 内 DPPH· 的清除率是 V_c 的近 2 倍。密蒙花总黄酮是一种有效的自由基清除剂, 为以后密蒙花黄酮在保健食品、药品领域中的开发利用提供理论依据。

参考文献

- [1] 中国科学院植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1992. 277.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 269.
- [3] 白洁, 刘将新, 曾宇等. 密蒙花愈伤组织培养研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2002, **39**(5): 965—967.
- [4] 韩澎, 崔亚君, 郭洪祝等. 密蒙花化学成分及其活性研究[J]. 中草药, 2004, **35**(10): 1086—1091.
- [5] 姚小磊, 彭清华, 吴权龙. 密蒙花提取物对去势兔干眼症的治疗作用[J]. 眼视光学杂志, 2008, **10**(1): 21—26.
- [6] Ahmad I, Ahmad N, Wang F H. Antioxidant Phenylpropanoid Glycosides from *Buddleja Davidii*[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2009, **24**(4): 993—997.
- [7] Ahmad I, Chen S L, Peng Y *et al.* Lipxygenase Inhibiting and Antioxidant Iridoids from *Buddleja Crispata*[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, **23**(1): 140—143.
- [8] 蔡凌云, 黎云祥, 陈蕉. 白总黄酮提取工艺的研究和含量比较[J]. 中成药, 2009, **31**(2): 308—310.
- [9] Gil M I, Toma-Barberan F A, Hess-Pierce B *et al.* Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Pressing[J]. *J. Agric Food Chem.*, 2000, **48**(10): 4561—4569.
- [10] 郝晓丽, 许申鸿, 杭瑚等. 用两种方法评价四种食品抗氧化剂的抗氧化活性[J]. 食品化学, 2003, **24**(2): 127—129.

- [11] Butterfield D A, Castenga A, Pocernich C B. Nutritional Approaches to Combat Oxidative Stress in Alzheimers Disease[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, **13**(8): 444—461.
- [12] Grice H C. Safety Evaluation of Butylated Hydroxyanisole from the Perspective of Effects on Forestomach and Oesophageal Squamous Epithelium[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1998, **26**(8): 717—723.
- [13] Chen Y, Xie M Y, Nie S P. Purification, Composition Analysis and Antioxidant Activity of a Polysaccharide from the Fruiting Bodies of *Ganoderma Atrum*[J]. *Food Chemistry*, 2008, **107**(1): 231—241.

Antioxidant Activity of Total Flavonoids from *Buddleja Officinalis Maxim*

CAI Ling-Yun^{a,b} HAN Su-Ju^c XIAO Hang^b ZOU Li-Juan^c

a(School of Environmental and Life Science, Kaili University, Kaili, Guizhou 556011, P. R. China)

b(Key Laboratory for Southwest Wildlife Resources Conservation, Ministry of Education, College of Life Science, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637002, P. R. China)

c(Mianyang Normal University, Mianyang, Sichuan 621000, P. R. China)

Abstract Antioxidant activity in vitro for total flavonoids from *Buddleja officinalis Maxim* was evaluated by DPPH radical scavenging activity. Compared with same concentration of VC, *Buddleja officinalis Maxim* had higher DPPH radical scavenging activity, which was an effective and multifunctional natural antioxidants.

Key words *Buddleja Officinalis Maxim*; Total Flavonoids; Antioxidant Activity

本刊编辑部再次忠告: 请勿将作者联系人地址省略! 尽管你单位的名称和你的姓名大名鼎鼎, 但并非人人皆知

某作者联系人只告诉了本编辑部他所在单位的所在城市, 未告知街道名称和门牌号数。确实, 他单位是该城市鼎鼎有名的大单位, 所以编辑部发给他的信每次都能收到, 但是后来给他寄样刊时, 印刷品却被退回了, 邮局在上盖了个戳: 地址不详, 退! 可见, 虽然你单位大名鼎鼎, 但还并不是邮局人人皆知。“退”! 这还是一个好运。因为“退”! 毕竟你还遇上一个邮局负责任的人, 他还要花费人力物力来“退”! 也好让邮件寄出者清楚“退”的缘故。若碰上一个不负责的, 将邮件丢进了垃圾箱, 你到哪儿去叫苦呢! 有的作者联系地址只写上他单位的大名, 好像他在本单位也是大名鼎鼎, 本单位人人皆知的, 但情况往往并非如此。这种邮件, 单位的收发室, 也通常予以退回, 甚至丢进垃圾箱。所以, 请各位作者勿将你单位的地址(县、区、街道名称, 门牌号)和你自己的地址(院、部、系、室、组)省略, 举手之劳, 何乐不为? 邮件丢失才是一件大事, 请勿因小失大。

以上意见也是邮局对我们的要求。

作者联系人不可是“挂名”的、“摆设”的, 其地址也不得是“挂名”的、“摆设”的, 因为这容易造成错误和邮件丢失。联系人地址必须正确、真实、详细地写在论文中相应位置, 写在论文外无效。

《光谱实验室》编辑部