

刺梨不同药用部位中鞣花酸的含量测定及其醇提物的体外抗氧化活性研究[△]

谭登航^{1*}, 王鹏娇¹, 张 硕², 赵 梅³, 刘 燕¹, 张 敏^{1,3}, 高秀丽^{1,2,3#}(1. 贵州医科大学药学院/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学实验动物中心, 贵阳 550025; 3. 贵州高等学校微生物与生化药学工程中心, 贵阳 550025)

中图分类号 R285.5; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1236-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.17

摘 要 目的: 比较刺梨果、刺梨根和刺梨叶中3个药用部位中游离鞣花酸与总鞣花酸含量, 并评价刺梨不同药用部位醇提物的体外抗氧化活性。方法: 采用超声提取和酸水解的方法分别得到刺梨不同药用部位的游离鞣花酸和总鞣花酸, 并使用超高效液相色谱法(UPLC)分别测定其含量。以半数清除浓度(IC₅₀)为抗氧化活性为评价指标, 对不同药用部位醇提物进行1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2'-联氮基双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)自由基清除试验, 并以维生素C(VC)为阳性对照。结果: 游离鞣花酸和总鞣花酸在刺梨药用不同部位中的含量均存在明显差异, 游离鞣花酸含量高低顺序为刺梨叶(38.49 mg/g) > 刺梨果(20.59 mg/g) > 刺梨根(11.35 mg/g), 总鞣花酸含量高低顺序为刺梨叶(197.08 mg/g) > 刺梨果(49.36 mg/g) > 刺梨根(21.86 mg/g), 且刺梨果和刺梨根中总鞣花酸含量约为相应部位游离鞣花酸含量的2倍, 刺梨叶中总鞣花酸含量约为相应部位游离鞣花酸含量的5倍。在DPPH自由基和ABTS自由基清除试验中, 抗氧化活性强弱顺序均为VC > 刺梨叶 > 刺梨果 > 刺梨根, 并且刺梨叶[对DPPH自由基和ABTS自由基的IC₅₀分别为(4.57 ± 0.70)、(115.99 ± 2.21) μg/mL]和刺梨果[对DPPH自由基和ABTS自由基的IC₅₀分别为(5.12 ± 0.24)、(127.61 ± 3.31) μg/mL]的作用效果与VC[对DPPH自由基和ABTS自由基的IC₅₀分别为(4.47 ± 0.38)、(121.42 ± 2.65) μg/mL]比较差异无统计学意义(P > 0.05)。结论: 在刺梨果、刺梨根和刺梨叶3个药用部位中, 刺梨叶的游离(总)鞣花酸含量最高, 并且其醇提物的体外抗氧化活性最强。

关键词 刺梨果; 刺梨根; 刺梨叶; 鞣花酸; 超高效液相色谱法; 酸水解; 抗氧化活性

Study on Content Determination of Ellagic Acid in Different Medicinal Parts of *Rosa roxburghii* and *in vitro* Antioxidant Activity of Its Ethanol Extract

TAN Denghang¹, WANG Pengjiao¹, ZHANG Shuo², ZHAO Mei³, LIU Yan¹, ZHANG Min^{1,3}, GAO Xiuli^{1,2,3}(1. State Key Lab of Functions and Applications of Medicinal Plants/School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Experimental Animal Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 3. Guizhou Provincial College of Microbiological and Biochemical Pharmacy Engineering Center, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: Compare the contents of free ellagic acid and total ellagic acid in fruits, roots and levels of *Rosa roxburghii*, and to evaluate the *in vitro* anti-oxidant activity of ethanol extract of three medicinal parts of *R. roxburghii*. METHODS: Free ellagic acid and total ellagic acid were obtained from different medicinal parts of *R. roxburghii* by ultrasonic extraction and acid hydrolysis, respectively. The contents of them were determined by UPLC. Using half-clearance value (IC₅₀) as anti-oxidant evaluation index, free radical scavenging test of 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) and 2,2'-binitro-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) were conducted for ethanol extract of different medicinal part, using vitamin C (VC) as positive control. RESULTS: There were significant differences in the content of free ellagic acid and total ellagic acid in different medicinal parts of *R. roxburghii*. The content level of free ellagic acid was in descending order: *R. roxburghii* leaves (38.49 mg/g) > *R. roxburghii* fruits (20.59 mg/g) > *R. roxburghii* roots (11.35 mg/g); the content level of total ellagic acid was in descending order: *R. roxburghii* leaves (197.08 mg/g) > *R. roxburghii* fruits (49.36 mg/g) > *R. roxburghii* roots (21.86 mg/g). The contents of total ellagic acid in the fruits and roots of *R. roxburghii* were twice as much as that of free ellagic acid in corresponding parts; the contents of total ellagic acid in the leaves of *R. roxburghii* were five times higher than that of free ellagic acid in corresponding parts. In the DPPH free radical scavenging test and ABTS free radical scavenging test,

[△] 基金项目: 贵州省科技合作计划项目(No.黔科合LH字[2015]7354); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(No.黔教合KY字[2017]158); 贵州医科大学2017年度学术新苗培养及创新探索专项(No.黔科合平台人才[2017]5718)

* 硕士研究生。研究方向: 中药药效物质基础及质量控制。E-mail: 280061522@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药药效物质基础及质量控制。E-mail: 1550434689@qq.com

the order of antioxidant activity was VC > *R. roxburghii* leaves > *R. roxburghii* fruits > *R. roxburghii* roots. There was no statistical significance in the effects of *R. roxburghii* leaves [IC₅₀ to DPPH free radical and ABTS free radical were (4.57 ± 0.70)、(115.99 ± 2.21) μg/mL] and *R. roxburghii* fruits [IC₅₀ to DPPH free radical and ABTS free radical were (5.12 ± 0.24)、(127.61 ± 3.31) μg/mL], compared with the effects of VC [IC₅₀ to DPPH free radical and ABTS free radical were (4.47 ± 0.38)、(121.42 ± 2.65) μg/mL] (*P* > 0.05). CONCLUSIONS: Among fruits, roots and leaves of *R. roxburghii*, the content of free (total) ellagic acid is the highest in the *R. roxburghii* leaves and *in vitro* anti-oxidant activity of its ethanol extract is the strongest.

KEYWORDS *Rosa roxburghii* fruits; *Rosa roxburghii* roots; *Rosa roxburghii* leaves; Ellagic acid; UPLC; Acid hydrolysis; Anti-oxidant activity

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt)是一种药食两用的蔷薇科植物,主要分布于我国西南部地区,其果、根和叶均为药用部位,收载于2003年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》^[1]。其中,刺梨果可用于消食健脾、收敛止泻,刺梨根可用于治疗食积腹痛、牙痛、久咳、泄泻、带下等疾病,而刺梨叶可用于健胃消食^[1]。刺梨果多与其他中药材配伍,用于治疗脾胃失调等疾病,而刺梨叶和刺梨根通常在产区内被遗弃,没有得到合理的应用。

多酚类成分是刺梨的主要活性成分之一,而鞣花酸(又名并没食子酸)作为没食子酸的二聚衍生物,属于多酚类成分,具有良好的抗癌、抗炎、抗氧化等作用^[2-4]。在自然界植物中,以游离形式存在的鞣花酸较少,其主要以鞣花单宁或糖苷的形式存在,经过酸水解后释放,得到总鞣花酸^[5]。此前有文献报道,采用超高效液相色谱串联三重四级杆飞行时间质谱法(UPLC-Triple-TOF/MS)鉴定出了刺梨果中含有鞣花酸和3种鞣花酸糖苷^[6],但目前尚未见文献对刺梨不同用药部位中的鞣花酸含量进行测定。另有文献采用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2'-联氨基双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)自由基清除试验,分别对刺梨叶、刺梨果乙醇提取物的体外抗氧化活性进行了研究^[7-8],但目前尚未见文献报道刺梨根的抗氧化活性。在本研究中,笔者拟比较刺梨不同药用部位(叶、果、根)中游离鞣花酸和总鞣花酸的含量高低,并对刺梨不同药用部位醇提物进行体外抗氧化活性比较,为刺梨资源的有效利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290型UPLC仪(美国Agilent公司);UV-2700型紫外分光光度计(日本Shimadzu公司);KQ-300DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TB-215 D型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 药品与试剂

刺梨果、刺梨根和刺梨叶均采自贵州省龙里县,样品经贵州医科大学生药学教研室龙庆德副教授鉴定分别为蔷薇科植物*R. roxburghii* Tratt的果实、根和叶,样品经自然风干后,粉碎,过40目筛,保存备用;鞣花酸对照品(批号:1013A023,纯度:≥98%,供含量测定用)、维生

素C(VC)对照品(批号:105N032,纯度:≥98%)均由北京索莱宝科技有限公司提供;DPPH标准品(批号:W12A9E55779,纯度:≥98%)、ABTS标准品(批号:K18N8M48402,纯度:≥98%)均由上海源叶生物科技有限公司提供;乙腈(德国默克公司,色谱纯);甲酸(色谱纯)、盐酸(优级纯)、二甲基亚砷(分析纯)均购自天津科密欧化学试剂有限公司;甲醇、无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,分析纯);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 鞣花酸含量测定

2.1.1 溶液的制备 (1)鞣花酸对照品溶液的制备:取鞣花酸对照品适量,精密称定,加流动相制成质量浓度为0.4 mg/mL的溶液,过0.45 μm微孔滤膜,于4℃保存,备用。(2)测总鞣花酸供试品溶液的制备:参考文献方法^[5],分别取刺梨果、刺梨根和刺梨叶样品粉末各5.0 g,精密称定,加入酸化的甲醇(含1.2 mol/L盐酸)50 mL,85℃回流8 h,再用旋转蒸发器浓缩至干,残渣用二甲亚砷溶解并定容于100 mL量瓶中,作为母液。将刺梨果和刺梨根母液用流动相稀释25倍,取刺梨叶母液用流动相稀释50倍,经0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。(3)测游离鞣花酸供试品溶液的制备:参考文献方法^[5],分别取刺梨果、刺梨根和刺梨叶粉末各5.0 g,精密称定,加入90%甲醇溶液50 mL,室温提取8 h,超声处理(功率:300 W,频率:45 kHz)30 min,抽滤,再用旋转蒸发器浓缩至干,残渣用二甲亚砷溶解并定容于100 mL量瓶中,作为母液。将刺梨果、刺梨根和刺梨叶的母液均用流动相稀释25倍,经0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。

2.1.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:ACE Excel 2 C₁₈-Amide(100 mm×2.1 mm,2 μm);流动相:0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~5 min,3%→6% B;5~10 min,6%→16% B;10~25 min,16%→21% B;25~35 min,21%→30% B);柱温:40℃;流速:0.2 mL/min;检测波长:254 nm,进样量:3 μL。精密吸取“2.1.1”项下制备的鞣花酸对照品溶液、测总鞣花酸的刺梨不同药用部位的供试品溶液、测游离鞣花酸的刺梨不同药用部位的供试品溶液以及阴性对照溶液(流动相),

分别按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,基线平稳,鞣花酸的峰形良好,阴性对照无干扰,鞣花酸峰与相邻峰间的分离度 >1.5 ,理论板数以鞣花酸峰计不低于4 000。超高效液相色谱图见图1。

2.1.3 线性关系考察 精密量取“2.1.1(1)”项下鞣花酸对照品溶液1.0、2.5、4.0、5.5、7.0、8.5、10.0 mL,分别置于20 mL量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,即得不同质量浓度的系列对照品溶液,分别按“2.1.2”项下色谱条件进样测定,并以鞣花酸对照品的质量浓度为横坐标(x , $\mu\text{g}/\text{mL}$)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,并建立回归方程。结果,得到鞣花酸的回归方程为 $y=136.97x-2\ 249.2$ ($r=0.999\ 6$),表明鞣花酸在19.96~199.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内与其峰面积线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 取“2.1.3”项下制备的质量浓度为20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的鞣花酸对照品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件进样测定,重复进样6次,记录峰面积。结果,鞣花酸峰面积的RSD=1.35%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取“2.1.1(3)”项处理的测游离鞣花酸的刺梨果供试品溶液,分别于室温条件下放置0、8、12、24、48 h后,按“2.1.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,鞣花酸峰面积的RSD=0.97%($n=5$),表明供试品溶在室温条件下48 h内基本稳定。

2.1.6 重复性试验 取刺梨果样品粉末5.0 g,精密称定,共6份,分别按“2.1.1(3)”项下方法制备测游离鞣花酸的供试品溶液,然后按“2.1.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算鞣花酸含量。结果,鞣花酸含量的RSD=2.17%($n=6$),表明此方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称定1 g已知含量的刺梨果样品,分别按已知含量的80%、100%、120%加入鞣花酸对照品溶液,按“2.1.1(3)”方法制备测游离鞣花酸的供试品溶液,每个浓度制备3份样品,然后按“2.1.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算鞣花酸的加样回收率。结果,鞣花酸的平均回收率为99.88%,RSD=1.43%($n=9$)。结果见表1。

2.1.8 样品含量测定 精密称取刺梨果、刺梨根和刺梨叶样品粉末适量,分别按“2.1.1(3)”项下方法制备含游离鞣花酸的供试品溶液和含总鞣花酸的供试品溶液,每个样品平行制备3份,按“2.1.2”项下色谱条件进样,记录峰面积并计算各样品中鞣花酸的含量。结果显示,刺梨叶中游离鞣花酸含量和总鞣花酸含量均明显高于刺梨果和刺梨根,其中以刺梨根样品中游离鞣花酸和总鞣花酸含量最低;刺梨果和刺梨根中总鞣花酸含量约为相应部位游离鞣花酸含量的2倍,刺梨叶中总鞣花酸含量约为相应部位游离鞣花酸含量的5倍,测定结果见表2。

2.2 刺梨不同药用部位醇提物的体外抗氧化活性测定

2.2.1 溶液的制备 (1)VC对照品溶液:精密称取VC对照品适量,加入60%乙醇制成质量浓度分别为3、6、

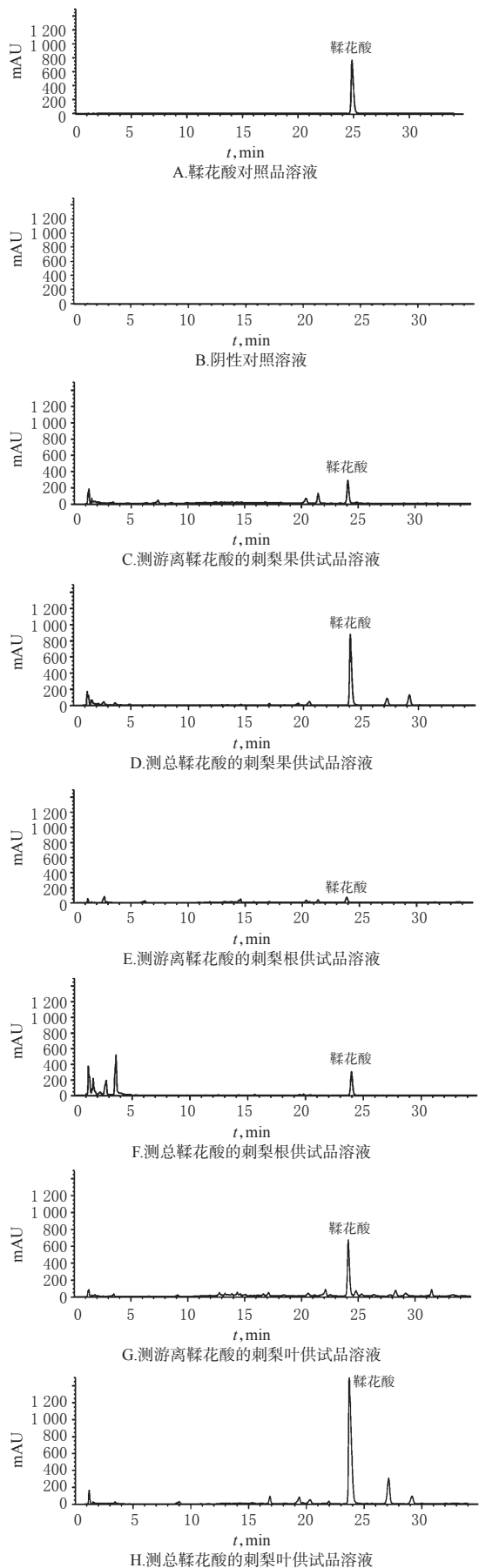


图1 超高效液相色谱图

Fig 1 UPLC chromatograms

表1 回收率测定结果($n=9$)Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

称样量, g	样品原含量, mg	对照品加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1.000 9	20.748 7	15.354 0	36.090 0	99.92	99.88	1.43
1.001 5	20.761 1	15.354 0	36.230 0	100.75		
1.001 1	20.752 8	15.354 0	36.153 7	100.31		
1.000 2	20.734 1	20.536 5	41.268 9	99.99		
1.000 8	20.746 6	20.536 5	41.355 3	100.35		
1.001 4	20.759 0	20.536 5	41.305 5	100.05		
1.002 3	20.777 7	25.674 8	45.823 8	97.55		
1.001 5	20.761 1	25.674 8	46.998 0	102.18		
1.001 0	20.750 7	25.674 8	45.855 7	97.78		

表2 样品中总鞣花酸和游离鞣花酸含量测定结果($n=3$)Tab 2 Results of content determination of total ellagic acid and free ellagic acid in sample($n=3$)

样品	游离鞣花酸		总鞣花酸	
	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%
刺梨果	20.73	0.76	48.86	1.36
刺梨根	11.36	0.46	21.85	1.24
刺梨叶	38.66	0.71	197.94	0.35

12、24、48、96 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液,作为 DPPH 自由基清除试验的阳性对照。精密称取 VC 对照品适量,加入 70% 乙醇制成 10、20、40、80、160、320 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的对照品溶液,作为 ABTS 自由基清除试验的阳性对照。(2) DPPH 标准溶液:精密称定 DPPH 标准品适量,加入无水乙醇,制成浓度为 1 mmol/L 的 DPPH 贮备液;用无水乙醇稀释贮备液得到 0.1 mmol/L 的 DPPH 标准溶液,备用。(3) ABTS 标准溶液:精密称定 ABTS 标准品适量,加入 70% 乙醇制成浓度为 7 mmol/L 的标准溶液,备用。(4) 供试品溶液:分别精密称取刺梨果、刺梨根和刺梨叶粉末各 0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇溶液 15 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率:300 W,频率:45 kHz) 30 min,取出,放冷后再次称定质量,用 60% 乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液减压浓缩至干,得到刺梨果、刺梨根和刺梨叶提取物,得率分别为 40.4%、14.0% 和 26.4%。将各提取物分别用 60% 乙醇溶解并稀释为 3、6、12、24、48、96 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的供试品溶液,用于 DPPH 自由基清除试验;将各提取物分别用 60% 乙醇溶解并稀释为 10、20、40、80、160、320 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的供试品溶液,用于 ABTS 自由基清除试验。

2.2.2 DPPH 自由基清除试验 参考文献方法^[6],分别取 0.1 mmol/L DPPH 标准溶液 4.0 mL 与不同质量浓度的供试品溶液/VC 对照品溶液 2.0 mL,振荡混匀,将溶液于暗处静置 30 min 后,在 517 nm 波长下测定其吸光度。按照公式计算 DPPH 自由基清除率: DPPH 自由基清除率 (%) = $(A_0 - A_x + A_{x_0}) / A_0 \times 100\%$, 式中: A_x 为 2.0 mL 供试品溶液/VC 对照品溶液与 DPPH 标准溶液反应后的吸光

度; A_{x_0} 为 2.0 mL 供试品溶液/VC 对照品溶液+4.0 mL 无水乙醇的吸光度; A_0 为 4.0 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 标准溶液+2.0 mL 60% 乙醇的吸光度。并以纯净水为空白进行调零。每个样品重复测定 3 次,取平均值。采用 GraphPad Prism 6.0 软件计算各样品对 DPPH 自由基的半数清除浓度 (IC_{50}),数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用 t 检验进行组间两两比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。结果表明,刺梨不同药用部位醇提物对 DPPH 自由基清除能力的强弱排序为刺梨叶 > 刺梨果 > 刺梨根。其中,刺梨叶和刺梨果对 DPPH 自由基清除能力与 VC 相当, IC_{50} 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。刺梨 3 个药用部位醇提物对 DPPH 自由基清除活性大小的测定结果见表 3。

表3 刺梨 3 个药用部位醇提物对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除活性($\bar{x} \pm s, n=3$)Tab 3 Scavenging activity of 3 medicinal parts ethanol extract of *R. roxburghii* to DPPH free radical and ABTS free radical($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	IC_{50}	
	DPPH 自由基, $\mu\text{g/mL}$	ABTS 自由基, $\mu\text{g/mL}$
刺梨果醇提物	5.12 \pm 0.24 ^a	127.61 \pm 3.31 ^a
刺梨根醇提物	8.79 \pm 0.34 ^b	236.41 \pm 1.25 ^b
刺梨叶醇提物	4.57 \pm 0.70 ^a	115.99 \pm 2.21 ^a
VC	4.47 \pm 0.38 ^a	121.42 \pm 2.65 ^a

注:同一指标不同组别间,若字母相同,则代表差异无统计学意义 ($P > 0.05$);若字母不同,则代表差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

Note: if there are same letters in the same index among different groups, it indicates the difference is not statistically significant ($P > 0.05$); if the letters are different, then it indicates the difference is statistically significant ($P < 0.05$)

2.2.3 ABTS 自由基清除试验 参考文献方法^[6],取“2.2.1(3)”项下浓度为 7 mmol/L 的 ABTS 标准溶液 5.0 mL,加入浓度为 140 mmol/L 的过硫酸钾 88.0 μL ,在室温下暗处反应 12~16 h,然后在 734 nm 波长处,用 70% 乙醇将 ABTS 标准溶液稀释至吸光度为 (0.70 ± 0.02) ,备用。准确移取“2.2.1(1)”项下系列质量浓度 VC 对照品溶液或供试品溶液 0.1 mL,分别加入上述稀释后的 ABTS 标准溶液 3.9 mL,混匀,在室温下反应 6 min,于 734 nm 波长处测定其吸光度 (A_E);同时准确移取 ABTS 标准溶液 3.9 mL,加入 70% 乙醇溶液 0.1 mL,于 734 nm 波长处测定其吸光度 (A_B),并按公式计算 ABTS 自由基清除率: ABTS 自由基清除率 (%) = $(A_B - A_E) / A_B \times 100\%$ 。并以纯净水为空白进行调零。每个样品重复 3 次,取平均值,按“2.2.2”项下方法计算 IC_{50} 并进行组间统计分析。结果表明,刺梨不同药用部位醇提物对 ABTS 自由基清除能力的强弱排序为刺梨叶 > 刺梨果 > 刺梨根。其中,刺梨叶和刺梨果对 ABTS 自由基清除能力与 VC 相当, IC_{50} 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。刺梨 3 个药用

部位醇提物对 ABTS 自由基清除活性大小的测定结果见表 3。

3 讨论

《药食同源民族药——刺梨》对现有文献报道的刺梨中的化学成分含量测定方法进行了总结,归纳了文献中维生素、黄酮、超氧化物歧化酶、氨基酸、多糖等成分的含量测定方法^[9],但尚未发现刺梨中鞣花酸含量测定的相关报道。石榴皮是鞣花酸的主要原料来源之一,目前已经有多项专利报道了从石榴皮中提取鞣花酸的方法^[10-12]。本研究在建立良好色谱条件的基础上对刺梨果、刺梨根和刺梨叶中鞣花酸含量进行了分析。结果表明,刺梨叶中鞣花酸含量明显高于刺梨根和刺梨果。且文献报道的石榴皮中游离鞣花酸含量约为 32 mg/g^[13],而刺梨叶中游离鞣花酸含量(约为 39 mg/g),略高于石榴皮。另据文献报道,鞣花酸与鞣花酸的多种糖苷共同存在于刺梨中^[6],药材中的鞣花酸糖苷经强酸和高温共同作用后会使糖苷键断裂,该过程可将鞣花酸糖苷转化成鞣花酸。因此,药材经酸水解后,以鞣花酸作为对照即可测定其总量。

DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除试验作为经典的体外抗氧化活性测定方法,广泛应用于中药材的抗氧化活性评价中^[14-15]。本研究通过 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除试验,比较了刺梨不同药用部位醇提物的体外抗氧化作用。发现在 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除试验中,刺梨不同药用部位的抗氧化活性强弱顺序均为刺梨叶>刺梨果>刺梨根,并且刺梨果和刺梨叶的 IC₅₀ 与阳性对照 VC 相当。

UPLC 含量测定结果显示,刺梨不同药用部位中游离鞣花酸含量高低顺序为刺梨叶(38.66 mg/g)>刺梨果(20.73 mg/g)>刺梨根(11.36 mg/g),且经酸水解后的总鞣花酸含量的高低顺序也同样为刺梨叶(197.94 mg/g)>刺梨果(48.86 mg/g)>刺梨根(21.85 mg/g)。可见,刺梨不同药用部位经酸水解后的鞣花酸(总鞣花酸)含量得到了显著增加,这表明刺梨不同药用部位的鞣花酸糖苷类成分或鞣花酸单宁的含量较高。

结合体外抗氧化活性试验结果和鞣花酸(包括游离鞣花酸与总鞣花酸)含量测定结果分析,发现刺梨叶的鞣花酸含量最高,抗氧化活性最强。并且不同部位的鞣花酸含量越高,对应的抗氧化活性也越强。鞣花酸作为多酚类成分具有良好的抗氧化活性,故推测刺梨不同药用部位抗氧化活性的强弱与其多酚类含量的高低可能有着密切的联系,但尚需进一步验证。本研究结果对综合开发利用刺梨资源提供了一定的实践指导意义。

参考文献

- [1] 林亚平,叶阳明.贵州省中药材、民族药材质量标准[M].贵阳:贵州科学技术出版社,2003:230-233.
- [2] QIU ZP, ZHOU BH, JIN L, et al. In vitro antioxidant and antiproliferative effects of ellagic acid and its colonic metabolite, urolithins, on human bladder cancer T24 cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 59(6):428-437.
- [3] CORBEET S, DANIEL J, DRAYTON R, et al. Evaluation of the anti-inflammatory effects of ellagic acid[J]. *J Perianesth Nurs*, 2010, 25(4):214-220.
- [4] 刁玉林,朱冬青,刘斌.秀丽莓中鞣花酸的含量测定和抗氧化活性评测及对接研究[J].西北药学杂志,2018, 33(1):1-5.
- [5] 王金玲,李亮亮,吕长山.反相高效液相色谱法测定东北地区 6 种红树莓果实中鞣花酸含量[J].食品科学,2015, 36(12):93-96.
- [6] ZENG FF, GE ZW, JARYKITT L, et al. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Rosa roxburghii* fruit and identification of main bioactive phytochemicals by UPLC-Triple-TOF/MS[J]. *Int J Food Sci Tech*, 2017, 52(4):897-905.
- [7] 汪洋,汪少华,吕寒.刺梨乙醇提取物体外抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性的研究[J].中国现代应用药学,2016, 33(8):1003-1006.
- [8] 李福明,汪洋,韦敏.刺梨叶醇提物体外抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J].中国现代应用药学,2015, 32(6):685-688.
- [9] 高秀丽,康冀川,李秋官.药食同源民族药-刺梨[M].北京:科学出版社,2017:76-131.
- [10] 袁其朋,陆晶晶,吕苗苗.一种石榴皮制备鞣花酸的方法:中国, CN200510002081.X[P]. 2006-07-19.
- [11] 卢照凯,钟德品,谢冬养,等.一种从石榴皮中提取鞣花酸的方法:中国, CN201410522142.4[P]. 2015-02-11.
- [12] 张守力.一种石榴皮中鞣花酸的提取方法:中国, CN201010529433.8[P]. 2012-05-16.
- [13] 范高福,付恩桃,汤洁,等. RP-HPLC 法同时测定石榴皮和石榴汁中鞣花酸的含量[J].安徽科技学院学报,2016, 30(5):67-70.
- [14] 刘源,唐斌,张孝琴,等.大高良姜不同部位总黄酮的提取工艺优化及体外抗氧化活性研究[J].中国药房,2016, 27(31):4429-4432.
- [15] 钟淑娟,杨欣,李静,等.杜仲不同部位总黄酮含量及抗氧化活性研究[J].中国药房,2017, 28(13):1787-1789.

(收稿日期:2019-01-19 修回日期:2019-02-26)

(编辑:林 静)