

草苈蓉正丁醇萃取物的抗氧化活性及物质基础初步研究

张海丰¹, 臧皓¹, 沈鹏¹, 滕坤¹, 阮洪生^{2*}

1. 通化师范学院医药学院, 吉林 通化 134002

2. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江 宁波 315100

摘要:目的 考察草苈蓉 *Boschniakia rossica* 正丁醇萃取部位的体内外抗氧化活性, 并初步确定其抗氧化作用的物质基础。方法 以清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 自由基能力、亚铁还原能力实验 (FRAP 法) 为指标, 检测草苈蓉不同极性萃取部位的体外抗氧化活性; 以 *D*-半乳糖诱导衰老大鼠为模型, 考察草苈蓉正丁醇萃取部位对大鼠肝脏组织中丙二醛 (MDA) 含量及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响; 采用高效液相色谱-质谱联用技术对草苈蓉正丁醇萃取部位化学成分进行初步分析。结果 草苈蓉正丁醇萃取部位对 DPPH、ABTS 自由基具有良好的清除作用, 且在亚铁还原实验的 FRAP 测定中表现良好; 与模型组比较, 草苈蓉正丁醇萃取部位各剂量组大鼠肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标均有显著改善 ($P < 0.01$), 表现为 MDA 水平降低, SOD、CAT 活性升高, 并回调到正常水平以上, 其体内抗氧化作用呈现剂量依赖性。经液质联用分析从草苈蓉正丁醇萃取部位中共鉴定出 19 种化学成分, 其中 14 个为苯丙素苷类 (PPGs)。结论 草苈蓉正丁醇萃取部位具有很好的抗氧化活性, 其主要有效成分为 PPGs。
关键词: 草苈蓉; 苯丙素苷类; 抗氧化; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼; 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐; *D*-半乳糖
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)02-0382-07
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.018

Preliminary study on anti-oxidant activities and material base of *n*-butanol extract of *Boschniakia rossica*

ZHANG Hai-feng¹, ZANG Hao¹, SHEN Peng¹, TENG Kun¹, RUAN Hong-sheng²

1. College of Medicine, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, china

2. College of Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

Abstract: Objective To investigate anti-oxidant activities of the *n*-butanol extract of *Boschniakia rossica* (BEBR), and preliminarily determine the material basis of its antioxidant activities. **Methods** Antioxidant activities of different polarity extraction of BEBR were performed by using 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH), 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), diammonium salt (ABTS) radical scavenging assays and ferric reducing anti-oxidant power as the index. The aging rats induced by *D*-galactose were used as models to investigate the effects of different *n*-butanol extract parts on the content of MDA and the activity of SOD and CAT in liver tissue; The chemical composition of BEBR was preliminarily analyzed by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Results** BEBR had good scavenging effect on free radicals of DPPH and ABTS, and well performance in ferrous reduction experiments of FRAP determination. Compared with the model group, all indexes of MDA, SOD, and CAT in liver tissues of rats from different dose groups with BEBR were significantly improved ($P < 0.01$), which showed that levels of MDA reduced, the activity of SOD and CAT increased and back to above normal levels. The anti-oxidant activity *in vivo* showed in a dose-dependent manner. Nineteen chemical constituents were tentatively characterized by HPLC-DAD-ESI-MS/MS, of which 14 were phenylpropanoid glycosides (PPGs). **Conclusion** BEBR has good anti-oxidant effects and PPGs are the main active constituents.

Key words: *Boschniakia rossica* (Cham. et Schlecht.) Fedtsch.; phenylpropanoid glycosides; anti-oxidant activities; DPPH; ABTS; *D*-galactose

科学研究表明, 衰老、癌症或其他疾病大都与过量自由基的产生有密切关联, 具有抗氧化活性的药物已经被证实具有抗衰老及抗癌等活性^[1-2]。目前, 有关抗衰老的药物研究已经取得了一定的进展,

收稿日期: 2017-09-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31100254); 吉林省教育厅项目: 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的代谢组学技术研究草苈蓉抗衰老的作用机制 (吉教科合字 [2014] 第 399 号)

作者简介: 张海丰 (1976—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为药物代谢与新药基础研究。E-mail: dragon1976999@163.com

*通信作者 阮洪生 (1973—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药有效成分开发。E-mail: 360535646@qq.com

但存在疗效不佳或有较大毒副作用等问题。因此,近年来从中药中寻找能够延缓衰老的药物研究比较活跃,渐成研发的热点之一。

草苈蓉为列当科列当属植物草苈蓉 *Boschniakia rossica* (Cham. et Schlecht.) Fedtsch. 的干燥全草,民间俗称“不老草”^[3-4],可补肾助阳、强筋骨,用于治疗神经衰弱、腰腿酸软,也可以外用于小儿腹泻、肠炎、痢疾等疾病。现代药理研究发现草苈蓉具有抗衰老^[5-7]、抗疲劳^[8]、提高免疫功能^[9-12]、增强记忆力^[13-15]、保护肝脏^[16-18]等药理作用。但未见对草苈蓉抗氧化活性及其化学成分的深入分析研究,为进一步研究草苈蓉提取物的抗氧化活性的物质基础,本研究以清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基能力及铁离子还原的 FRAP 法测定总抗氧化能力为指标,同时以 *D*-半乳糖制备大鼠衰老模型,研究草苈蓉不同极性萃取部位的体内外抗氧化活性,并应用 HPLC-DAD-ESI-MS/MS 分析其成分,明确草苈蓉提取物的抗氧化活性及其物质基础,为草苈蓉抗衰老作用的深入研究提供参考。

1 材料

1.1 试药及试剂

草苈蓉药材,采自吉林长白山周边,经通化师范学院滕坤副教授鉴定为列当科植物草苈蓉 *Boschniakia rossica* (Cham. et Schlecht.) Fedtsch. 的干燥全草;DPPH、ABTS、维生素 C (VC) 均购于 Sigma 公司;超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、考马色亮蓝 G-250、*D*-半乳糖、戊巴比妥钠(南京建成生物工程研究所);2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器

Agilent 1100 series LC-MSD 液质联用仪,包括:Agilent SL 型多级离子阱质谱仪、低压四元梯度泵、二极管阵列检测器(DAD)、自动进样、柱温箱、Chemstation 化学工作站等;GL-20G-H 型低温超速离心机;BP211D 型十万分之一电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);酶标仪(Bio-Rad 公司);752N 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);旋转式恒温振荡器(苏州培英实验设备有限公司);TGL-16LM 型高速冷冻离心机(上海赵迪生物科技有限公司);MDF-382E 型超低温冰

箱(日本三洋公司);XW-80A 型漩涡震荡仪(上海精密科学仪器有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

Wistar 大鼠 36 只,雌雄各半,16~22 周龄,体质量 200~220 g,购自辽宁长生生物技术公司,许可证号为 SCXK(辽)2015-0001。

2 方法

2.1 草苈蓉供试品的制备

取草苈蓉药材,洗净样品,沥干水分,置 40 °C 恒温干燥箱中,干燥至恒定质量,粗粉,过 20 目筛^[19]。取草苈蓉粉末 300 g,置于圆底烧瓶中,加入 70%乙醇加热回流提取 2 次,每次 3 000 mL,回流 1 h,滤过,合并提取液,减压浓缩,干燥。取适量草苈蓉干浸膏以水均匀分散,依次用石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取操作,分别制备得到草苈蓉石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取部位。

2.2 草苈蓉不同极性萃取部位体外抗氧化活性评价^[20-23]

2.2.1 DPPH 自由基清除实验 以 95%乙醇为溶剂配制 90 μmol/L 的 DPPH 自由基溶液,此溶液需现配现用,精密量取此溶液 1.0 mL,与 3.0 mL 不同质量浓度的受试物溶液混合,25 °C 避光孵育 20 min,在 517 nm 测定反应溶液的吸光度(*A*)值。计算 DPPH 清除率。

$$\text{DPPH 清除率} = 1 - (A_i - A_j) / A_0$$

A_i 为 DPPH 溶液与待测溶液混合反应后的 *A* 值, *A_j* 为溶剂和待测溶液混合后的 *A* 值, *A₀* 为溶剂和 DPPH 溶液混合后的 *A* 值

2.2.2 ABTS 自由基阳离子清除实验 用纯水配制含 7 mmol/L 的 ABTS 与 2.45 mmol/L 过硫酸钾的混合溶液,置于 23 °C 的暗处孵育 12~16 h,制备 ABTS 自由基阳离子基液。用纯水稀释基液,在波长 734 nm 处其 *A* 值为 0.700±0.005,得 ABTS 自由基阳离子工作液。取 0.1 mL 不同质量浓度受试物溶液与 3.9 mL ABTS 自由基阳离子工作液混合,23 °C 孵育 6 min 后测量反应混合物在 734 nm 处的 *A* 值,纯水做空白对照。计算 ABTS 清除率。

$$\text{ABTS 清除率} = 1 - (A_b - A_s) / A_0$$

A_b 为 ABTS 工作液与待测溶液混合反应后的 *A* 值, *A_s* 为纯水和待测溶液混合后的 *A* 值, *A₀* 为纯水和 ABTS 工作液混合后的 *A* 值

2.2.3 FRAP 法总抗氧化能力的测定^[24] FRAP 工作液: 300 mmol/L 醋酸盐缓冲液, 10 mmol/L TPTZ,

20 mmol/L FeCl₃ 现用现配。取各供试品溶液, 适当稀释后移液器取 100 μ L, 加入 FRAP 工作液 3 mL 混匀反应 40 min 后在 593 nm 处读取 *A* 值。

2.3 草苁蓉正丁醇萃取部位体内抗氧化活性评价

2.3.1 动物分组、造模及给药 按照 sc *D*-半乳糖制备大鼠衰老模型的实验方法^[25], 将 36 只 Wistar 大鼠, 随机分为 6 组, 分别为对照组, 模型组, VC 阳性对照组, 草苁蓉正丁醇萃取部位低、中、高剂量 (0.5、1.0、2.0 g/kg) 组, 每组 6 只大鼠, 雌雄各半, 按每笼 2 只进行饲养, 自由进食饮水。除对照组外, 其余各组均颈背部 sc 5% 的 *D*-半乳糖生理盐水, 每日 1 次, 给药剂量为 100 mg/kg, 持续造模 7 周。从造模的第 1 天开始给药, 草苁蓉正丁醇萃取部位低、中、高剂量组分别 ig 给予草苁蓉正丁醇萃取部位 0.5、1.0、2.0 g/kg, VC 组按 15 mg/kg ig 给予 VC 水溶液, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组和模型组 ig 同等体积的生理盐水, 同样连续给药 7 周。

2.3.2 待测样本的制备^[26] 各组末次给药后禁食不禁水 14 h, 以 1% 戊巴比妥钠 (10 mL/kg) ip 麻醉大鼠, 待大鼠翻正反射消失后, 冰浴条件固定, 依次解剖各组大鼠, 迅速取出其肝脏, 用生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干多余的生理盐水, 精密称定肝脏组织 1.0 g, 置于预冷的研钵中快速研磨, 以固液比 1:9 的比例加入 4 $^{\circ}$ C 生理盐水继续研磨直至匀浆状, 转移至 5 mL 离心管中, 3 500 r/min 离心 15 min, 取其上清液作为待测样本, 备用。

2.3.3 肝组织上清液相关指标测定 采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性, 脂质氧化法测定 MDA 含量, 紫外吸收法测定 CAT 活性, 考马斯亮蓝法测定样本的蛋白浓度, 具体按试剂盒说明书进行操作。

2.4 草苁蓉正丁醇萃取部位化学成分分析

2.4.1 色谱条件 Agilent Eclipse Plus-C₁₈ 色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-0.1%甲

酸水溶液二元线性梯度洗脱, 洗脱梯度: 0 min, 30% 甲醇; 15~30 min, 45% 甲醇; 40 min, 70% 甲醇; 50~65 min, 100% 甲醇; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 254 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 检测方式为负离子检测; 扫描范围 *m/z* 50~1 400; 目标相对分子质量 500; 干燥气温度 350 $^{\circ}$ C; 干燥气体积流量 9.0 L/min; 雾化气压力 0.24 MPa (35.0 psi); 毛细管电压 4 kV。

2.4.3 样品测定 取草苁蓉正丁醇萃取部位样品 1.0 mg 溶解于 1.0 mL 甲醇, 过 0.45 μ m 滤膜, 进行 HPLC-ESI-MS/MS 分析。

2.5 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 采用 SPSS 19.0 数理统计软件进行单因素方差分析及组间两两比较分析。

3 结果

3.1 草苁蓉不同极性萃取部位体外抗氧化活性比较

经 SPSS 19.0 软件分析得到草苁蓉不同极性萃取部位对 DPPH 及 ABTS 清除作用的半数抑制浓度 (IC₅₀), 见表 1。其中草苁蓉正丁醇萃取部位对 DPPH 的 IC₅₀ 为 (25.657 $\pm$ 1.205) mg/mL, 对 ABTS 的 IC₅₀ 为 (41.816 $\pm$ 2.010) mg/mL, FRAP 法测得的总抗氧化能力为 (13.643 $\pm$ 0.875) mg/mL, 与阳性对照药物 VC 的作用比较接近, 表明草苁蓉正丁醇萃取部位的体外抗氧化能力相对较强, 故对其体内抗氧化活性进行评价。

3.2 草苁蓉正丁醇萃取部位对衰老大鼠肝脏组织中 SOD、MDA、CAT 的影响

表 2 结果表明, 与对照组比较, 模型组大鼠肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标值差异显著 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 草苁蓉正丁醇萃取部位各剂量组大鼠肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标均有显著改善 ($P < 0.05$ 、0.01), 表现在 MDA 水

表 1 草苁蓉不同极性萃取部位体外抗氧化活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Comparison on anti-oxidant activities of different polarity extracts from *B. rossica* in vitro ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

受试样品	IC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)		FRAP 法总抗氧化能力 (Trolox)/ (mg·mL ⁻¹)
	DPPH	ABTS	
草苁蓉石油醚部位	101.364 $\pm$ 2.828	569.179 $\pm$ 3.435	4.536 $\pm$ 1.323
草苁蓉三氯甲烷部位	30.818 $\pm$ 1.582	471.556 $\pm$ 2.759	11.817 $\pm$ 0.155
草苁蓉醋酸乙酯部位	87.693 $\pm$ 2.121	63.055 $\pm$ 1.607	11.686 $\pm$ 1.428
草苁蓉正丁醇部位	25.657 $\pm$ 1.205	41.816 $\pm$ 2.010	13.643 $\pm$ 0.875
VC	18.825 $\pm$ 1.324	24.242 $\pm$ 1.243	15.677 $\pm$ 0.062

表 2 草苋蓉正丁醇萃取部位对衰老大鼠肝脏组织 MDA 含量及 SOD、CAT 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of *n*-butanol extract from *B. rossica* on content of MDA and SOD, CAT activities in liver tissues of aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)		CAT/(U·mg ⁻¹)
			总 SOD	Cu, Zn-SOD	
对照	—	1.164±0.252	113.016±1.653	72.607±0.354	11.324±0.292
模型	—	2.679±0.283**	81.324±0.552**	49.380±0.562**	9.652±0.275**
草苋蓉正丁醇萃取部位	0.5	2.096±0.261 [▲]	109.098±1.547 ^{▲▲}	61.966±1.217 [▲]	11.248±1.076 [▲]
	1.0	1.756±0.288 ^{▲▲}	118.160±1.085 ^{▲▲}	76.483±0.942 ^{▲▲}	12.936±1.184 ^{▲▲}
	2.0	1.407±0.158 ^{▲▲}	131.784±1.476 ^{▲▲}	85.712±1.035 ^{▲▲}	14.236±1.541 ^{▲▲}
VC	0.015	1.166±0.146 ^{▲▲}	138.568±1.812 ^{▲▲}	90.381±1.226 ^{▲▲}	14.893±1.249 ^{▲▲}

与对照组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01; 与模型组比较: [▲]*P*<0.05 ^{▲▲}*P*<0.01

P*<0.05 *P*<0.01 vs control group; [▲]*P*<0.05 ^{▲▲}*P*<0.01 vs model group

平降低, SOD、CAT 活性升高, 并回调到原水平以上。草苋蓉正丁醇萃取部位各不同剂量组对指标的调控作用与给药剂量呈正相关。且草苋蓉正丁醇萃取部位高剂量组对各指标的改善作用与阳性对照 VC 相当, 而草苋蓉正丁醇萃取部位中、低剂量组作用略弱。以上结果说明草苋蓉正丁醇萃取部位可明显抑制肝脏组织的氧化应激反应, 具有很好的体内抗氧化作用。

3.3 草苋蓉正丁醇萃取部位化学成分分析结果

草苋蓉正丁醇萃取部位经 HPLC-ESI-MS/MS 分析, 得到液相色谱图 (图 1) 与质谱总离子流图 (图 2)。经过 HPLC-ESI-MS/MS 分析, 共检测到 35 个色谱峰, 依据各色谱峰的分子离子峰及主要碎片峰的解析, 并与文献和对照品对比, 初步确定了草苋蓉正丁醇萃取部位中 19 个化学成分, 结果见表 3。

4 讨论

抗氧化作用与人类的健康关系密切, 当人体的抗氧化途径出现障碍或者有过多自由基产生时, 就会造成细胞损伤, 引起衰老、癌症、心脏病等多种疾病。自由基是人类进行生命活动时产生的一种活性分子, 正常代谢时, 机体内的抗氧化物质、过氧化物酶和 SOD 等可通过一系列化学反应来及时清除过多的自由基, 以避免自由基过多对组织细胞造成损害^[31]。

本实验经过对草苋蓉不同极性萃取部位体外抗氧化活性的比较分析, 发现草苋蓉正丁醇萃取部位能够较好地清除 DPPH、ABTS 自由基, 并在亚铁还原能力的 FRAP 测定中表现良好, 说明草苋蓉正丁醇萃取部位具有较好的体外抗氧化活性。在体内的抗氧化实验中, 与模型组比较, 草苋蓉正丁醇

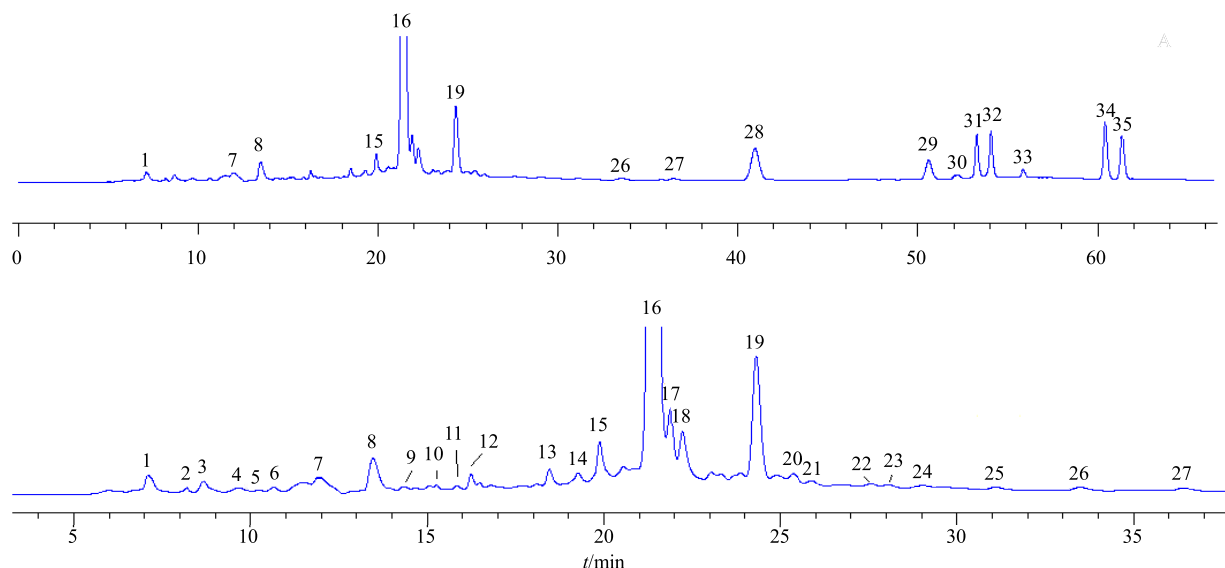


图 1 草苋蓉正丁醇萃取部位化学成分的液相色谱图

Fig. 1 HPLC of constituents of *n*-butanol extract from *B. rossica*

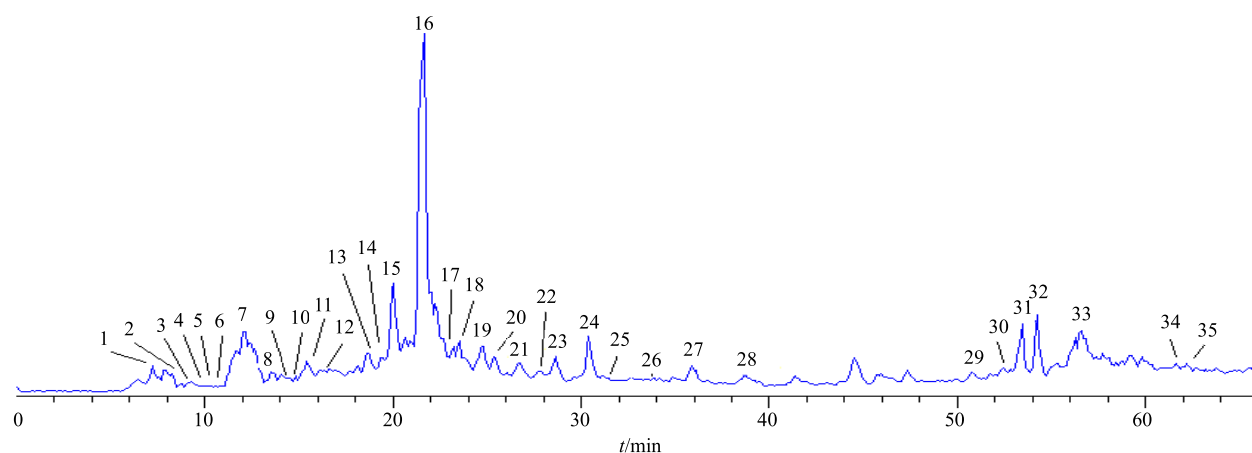


图 2 草苁蓉正丁醇萃取部位化学成分的总离子流图 (负离子模式)

Fig. 2 TIC of constituents of *n*-butanol extract from *B. rossica* (negative ion mode)表 3 草苁蓉正丁醇萃取部位化学成分的 HPLC-DAD-ESI-MS² 分析结果Table 3 HPLC-DAD-ESI-MS² data of constituents of *n*-butanol extract from *B. rossica*

峰号	t_R /min	λ_{max} /nm	准分子离子峰 [M-H] ⁻	二级质谱碎片 (m/z)	化合物鉴定
1	7.1	254	443	313	rossicasin A ^[27]
2	8.2	310	299	255, 137	bochnaside ^[28]
3	8.7	262, 300	311	149	salidroside I ^[29]
4	9.9	265	519	339	(+)-松脂醇- β -D-葡萄糖苷 ^[28]
5	10.2	265	359	197, 153	去氧-8-表马钱子酸 ^[29]
6	10.6	265	473	149	(S)-对-香豆酰基-(2'-O- β -Z)-吡喃葡萄糖基)- β -D-葡萄糖苷 ^[30]
7	11.9	230	649	179	β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 3)-D-(4-O-咖啡酰)-吡喃葡萄糖苷 ^[26,31]
8	13.4	256	299	119	红景天苷 ^[30]
13	18.4	252	785	623, 461	草苁蓉苷 A ^[27,29,31]
15	19.9	252	797	649	草苁蓉苷 E ^[27,29]
16	21.4	252	781	649	草苁蓉苷 I ^[32]
17	21.9	255, 315	781	649, 487	草苁蓉苷 B ^[33]
18	22.2	256, 330	781	649	草苁蓉苷 G ^[32]
19	24.3	256, 330	181	71	boschnarol ^[34]
20	25.4	252, 330	781	649	草苁蓉苷 H ^[32]
21	25.9	252, 330	443	311, 161	rossicasin B ^[30]
22	27.5	262	331	161	β -D-葡萄糖基-(3,7-二甲基)-2S-6-八碳-2,6-二烯酸酯 ^[35]
29	50.6	252	619	471	草苁蓉苷 C ^[33]
32	54.0	250	619	471	草苁蓉苷 D ^[33]

萃取部位低、中、高剂量均可使衰老大鼠肝脏组织中的 MDA 含量显著降低,使 SOD 和 CAT 的活性明显升高。体外与体内的实验结果均说明草苁蓉正丁醇萃取部位可明显抑制氧化应激而具有抗氧化

作用,且存在一定的量效关系。进一步经过液质联用分析并参考相关文献,从草苁蓉正丁醇萃取部位中共鉴定出 19 个成分,其中苯丙素苷类(phenylpropanoid glycosides, PPGs)化合物 14 个,

环烯醚萜 1 个 (14 号化合物), 环烯醚萜苷类成分 2 个 (2 号和 5 号化合物), 酚酸苷类和单萜苷类成分各 1 个 (4 号和 17 号化合物), 其中含量最高的成分为 PPGs 的草苈蓉苷 I, 由此可初步推断草苈蓉正丁醇萃取部位抗氧化的主要有效成分为 PPGs。

目前研究发现, PPGs 是一类含取代苯乙基和取代肉桂酰基的天然糖苷, 能够通过清除自由基, 显示出抗氧化的作用^[36]。许多含有 PPGs 的中药如五味子、玄参、刺五加和海风藤等, 均有较强的抗氧化作用^[37]。有研究发现, PPGs 的抗氧化作用与其羟基的数目和空间位置, 及其共轭效应有一定的关系^[38]。何良波等^[37]根据 4 种 PPGs 的结构分析发现, 6-O-阿魏酰基-β-D-吡喃葡萄糖苯乙醇苷因其中的阿魏酸分子具有更多的酚羟基, 相比其他 3 种 PPGs 化合物具有更好的抗氧化活性。兰州大学生物系^[39]用脉冲辐解技术证明了酚羟基的数目和 PPGs 的净化效应有直接关系, 并用自旋捕集技术对羟基自由基进行研究, 证实了含有 2 个酚羟基的作用比含 2 个甲氧基的作用强。曾华武等^[40]研究表明, 玄参中的 PPGs (XS-8、XS-10) 和环烯醚萜苷类 (XS-6、XS-7) 均具有抗氧化活性, 但前者明显强于后者。

本研究首次对草苈蓉的抗氧化的活性部位进行液质分析, 综合上述文献的研究发现, 本研究鉴定分析出的化合物多数是 PPGs, 其苷元及糖结构中均含有多个酚羟基, 显示草苈蓉中的 PPGs 是抗氧化活性的主要物质基础。但本研究仅是对其成分进行了定性分析, 其确切的物质基础及谱效关系, 以及质量标准物质的分离纯化尚需深入研究。

参考文献

- [1] Mzid M, Ben Khedir S, Ben Salem M, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from *Urtica urens* [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 775-781.
- [2] Ani V, Varadaraj M C, Naidu K A. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin (*Cuminum nigrum* L.) [J]. *Eur Food Res Technol*, 2006, 224(1): 109-115.
- [3] 赵文玺, 金梅花, 李天, 等. 草苈蓉水萃取物对四氯化碳致肝损伤小鼠肝脏氧化应激的干预作用 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(6): 875-878.
- [4] 勾万会, 郑峰, 尹学哲. 草苈蓉对油酸致大鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(3): 526-528.
- [5] 朴龙, 蔡英兰, 金香子, 等. 草苈蓉提取物对亚急性衰老大鼠的抗衰老作用 [J]. *延边大学医学学报*, 2003, 26(1): 18-21.
- [6] 朴龙, 张学武, 蔡英兰, 等. 草苈蓉提取物对亚急性衰老大鼠的抗衰老作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2004, 24(1): 53-54.
- [7] 金美善, 李莲花, 姜逢春, 等. 草苈蓉对体外培养乳鼠肝细胞抗衰老作用的研究 [J]. *延边大学医学学报*, 1997, 20(4): 223-226.
- [8] 李彩峰, 王晓琴, 刘勇, 等. 草苈蓉化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(7): 1016-1023.
- [9] 张庆镐, 李英信, 李红花, 等. 草苈蓉多糖对小鼠体液免疫功能的影响 [J]. *延边大学医学学报*, 1999, 22(1): 26-28.
- [10] 张庆镐, 李红花, 魏成淑, 等. 草苈蓉多糖对小鼠白细胞介素-2 产生的影响 [J]. *延边大学医学学报*, 2000, 23(1): 37-38.
- [11] 侯元, 霍德胜, 魏艳君, 等. 草苈蓉多糖的抗肿瘤作用及免疫调节作用 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2007, 33(6): 1022-1025.
- [12] 朴玉仁, 姜玉顺, 李英信. 草苈蓉对损伤肝枯否细胞免疫活性的影响 [J]. *中草药*, 1994, 25(4): 200-202.
- [13] 张艳, 明亮, 章家胜, 等. 草苈蓉的促智作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 1994, 29(3): 181-183.
- [14] 周丽莎, 朱书秀, 望庐山. 草苈蓉提取物对阿尔茨海默病大鼠乙酰胆碱及学习记忆能力的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(23): 1980-1983.
- [15] 付艾妮, 周丽莎, 朱书秀. 草苈蓉提取物对阿尔茨海默病大鼠行为学及额叶小胶质细胞的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2011, 31(4): 267-270.
- [16] Quan J, Jin M, Xu H, et al. BRP, a polysaccharide fraction isolated from *Boschniakia rossica*, protects against galactosamine and lipopolysaccharide induced hepatic failure in mice [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2014, 54(3): 181-189.
- [17] Quan J, Li T, Zhao W, et al. Hepatoprotective effect of polysaccharides from *Boschniakia rossica* on carbon tetrachloride-induced toxicity in mice [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2013, 52(3): 244-252.
- [18] Wang Z, Lu C, Wu C, et al. Polysaccharide of *Boschniakia rossica* induces apoptosis on laryngeal carcinoma Hep2 cells [J]. *Gene*, 2014, 536(1): 203-206.
- [19] 张海丰, 逢增玲, 滕坤, 等. HPLC 法测定草苈蓉中齐墩果酸的含量 [J]. *通化师范学院学报*, 2014, 35(2): 13-14.
- [20] Liang Y, Ding Y, Zhang L J, et al. Antioxidant activities of nine selected culinary spices from China [J]. *J North Agric Univ*, 2015, 22(1): 50-57.

- [21] Zhang S L, Deng P, Xu Y C, *et al.* Quantification and analysis of anthocyanin and flavonoids compositions, and antioxidant activities in onions with three different colors [J]. *J Integr Agric*, 2016, 15(9): 2175-2181.
- [22] 李 奇, 王伽伯, 肖小河, 等. 何首乌不同提取物清除羟自由基的活性研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(19): 1760-1762.
- [23] 胡绪乔, 原 菲, 严春艳. 银杏多糖的分离鉴定和体外抗氧化活性测试 [J]. 中药材, 2011, 34(12): 1950-1953.
- [24] 赵文恩, 李茜倩. FRAP 法测定大枣枣皮红色素的总抗氧化能力 [J]. 郑州大学学报: 工学版, 2011, 32(3): 28-30.
- [25] 滕 坤, 臧 皓, 沈 鹏, 等. 藤梨根总黄酮对大鼠肝脏组织抗氧化能力及其相关基因表达的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2486-2491.
- [26] 朱慧民, 李 辉, 朱天民, 等. 红豆杉多糖对 Beagle 犬心肌缺血再灌注损伤模型心肌 NADPH 氧化酶 mRNA 及 SOD、MDA 的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 935-939.
- [27] Shyr M H, Tsai T H, Lin L C. Rossicasins A, B and Rossicasins F, three new phenylpropanoid glycosides from *Boschniakia rossica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(2): 252-254.
- [28] Konishi T, Narumi Y, Watanabe K, *et al.* Comparative studies on the constituents of a parasitic plant and its host. III: On the constituents of *Boschniakia rossica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(10): 4155-4161.
- [29] Lin L C, Chen K T. New phenylpropanoid glycoside from *Boschniakia rossica* [J]. *Chem Pharm J*, 2004, 56(2): 77-85.
- [30] Wu C H, Wang T, Yamaguchi Y, *et al.* A new phenylpropanoid glycoside and its five known analogues from *Boschniakia rossica* [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(1): 5-8.
- [31] Yu Y U, Kang S Y, Park H Y, *et al.* Antioxidant lignans from *Machilus thumbergii* protect CCl₄-injured primary cultures of rat hepatocytes [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2000, 52(9): 1163-1169.
- [32] Zhang Y, Wu C H, Guo L L, *et al.* Triglyceride accumulation inhibitory effects of phenylpropanoid glycosides from *Boschniakia rossica* Fedtsch et Flerov [J]. *Fitoterapia*, 2013, 85(3): 69-75.
- [33] Konishi T, Shoji J. Studies on the constituents of *Boschniakia rossica* Fedtsch. et Flerov. I. Isolation and structures of new phenylpropanoid glycosides, rossicasides B, C, and D [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(10): 2807-2815.
- [34] Yin Z Z, Kim H S, Kim Y H, *et al.* Iridoid compounds from *Boschniakia rossica* [J]. *Arch Pharm Res*, 1999, 22(1): 78-80.
- [35] 吴春华, 李春梅, 陈 凤, 等. 草苈蓉 2 个单萜苷类化合物的 NMR 研究 [J]. 波谱学杂志, 2013, 30(2): 247-255.
- [36] 李 越. 天然药物抗氧化成分构效关系研究进展 [J]. 天津药学, 2006, 18(2): 57-60.
- [37] 何良波, 孙凤娟, 姜丽娜, 等. 4 种单糖苯丙素苷类化合物的体外抗氧化作用及抑菌活性的研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 615-616.
- [38] Wang P, Zheng R, Gao J, *et al.* Reaction of hydroxyl radical with phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis species*: A pulse radiolysis study [J]. *Sci China C Life Sci*, 1996, 39(2): 154-158.
- [39] Wang P, Kang J, Zheng R, *et al.* Scavenging effects of phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis* on superoxide anion and hydroxyl radical by the spin trapping method (95)02255-4 [J]. *Biochem Pharmacol*, 1996, 51(5): 687-691.
- [40] 曾华武, 李医明, 贺 祥. 玄参提取物的抗炎和抗氧化性 [J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(9): 614-616.