

# 白芍不同极性部位的抗氧化活性及其与总萜含量的相关性研究

杨颖, 彭效明\*, 居瑞军, 杨思敏, 尤聪聪, 管洁  
(北京石油化工学院, 北京 102617)

**摘要:**为比较白芍不同极性部位的抗氧化活性,考察了其总萜质量分数之间的相关性。将白芍提取物分为石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、95%乙醇、65%乙醇和水6个不同极性部位,采用总还原力和DPPH、ABTS自由基清除能力3个指标评估其抗氧化性,并用显色法测定各部位的总萜质量分数。最后用SPSS 19.0软件分析白芍提取物抗氧化活性与总萜质量分数之间的相关性。实验结果表明,白芍95%乙醇提取部位的抗氧化性最强,其次是65%乙醇提取部位、正丁醇提取部位、乙酸乙酯提取部位、水提取部位、石油醚提取部位;此外,各部位总萜质量分数与抗氧化性强弱之间呈正相关,且与清除ABTS、DPPH自由基相关性达到显著。

**关键词:**白芍;提取物;抗氧化;极性部位;总萜质量分数

中图分类号:O658.9

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2024)02-0109-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2024.02.021

## Antioxidant activity of different polar parts of *Paeonia Lactiflora* and correlation with total terpene content

YANG Ying, PENG Xiao-ming\*, JU Rui-jun, YANG Si-min, YOU Cong-cong, GUAN Jie  
(Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China)

**Abstract:**The antioxidant activity of different polar parts of *Paeonia Lactiflora* are compared, and the correlation between antioxidant activity and total terpene content is explored. *Paeonia Lactiflora* extracts are divided into six polar parts such as petroleum ether, ethyl acetate, n-butanol, 95% ethanol, 65% ethanol and water, and their antioxidant activity is evaluated through total reduction power, and scavenging capacity for DPPH and ABTS free radicals. Total terpene content of various parts is determined by means of color reaction. SPSS 19.0 software is employed to analyze the correlation between antioxidant activity and total terpene content. Experiment results show that the antioxidant activity of 95% ethanol extract part of *Paeonia Lactiflora* is the strongest, comes next with 65% ethanol extract, n-butanol extract, ethyl acetate extract, water extract and petroleum ether extract. In addition, the content of total terpene is positively correlated with antioxidant activity, and is significantly correlated with the ability to scavenge ABTS and DPPH free radicals.

**Key words:** *Paeonia Lactiflora*; extracts; antioxidant; polar parts; total terpene content

白芍 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 是一种常用的中药材,主要含有萜类等天然大分子成分,其味苦、微酸、性寒,是历代医家用以滋养肝阴的经典药物<sup>[1]</sup>。目前研究发现白芍具有多种生物活性,能够抗氧化、保护血脑屏障、促进大脑皮层神经元生长等作用,也具有良好的抗炎、免疫调节等活性<sup>[2-4]</sup>。其中抗氧化作用与人体健康息息相关,人体的氧化与抗氧化作用应处于一个相对平衡状态。由于种种原因产生过量的自由基和活性氧与人体的衰老、细胞的损伤等有密切关系,自由基过多会使细胞发生超氧化,引起细胞结构或功能的改变<sup>[5]</sup>,最终导致人体皮肤、内

脏、大脑等组织器官衰老并引发多种严重疾病<sup>[6-7]</sup>。

白芍提取物具有显著的抗氧化清除自由基的活性<sup>[8]</sup>。刘芬等<sup>[9]</sup>在探究白芍总萜对体外抗氧化活性的研究中发现,白芍总萜具有清除自由基的作用。占心怡等<sup>[10]</sup>研究发现香附-当归-白芍复方提取物对动物具有抗氧化作用。刘程程等<sup>[11]</sup>通过对白芍抗氧化成分的测定发现,其抗氧化活性与其含有一定量的黄酮、多酚、多糖、维生素C有关。但并未有文献探究白芍中的总萜成分对其抗氧化性的影响,以及其有效成分与抗氧化强弱之间是否存在一定的关联性。

收稿日期:2023-04-18;修回日期:2023-12-25

基金项目:国家自然科学基金项目(21406015);北京市教委科技计划一般项目(KM202210017011, KM202310017009);北京石油化工学院校内学科平台建设项目(2019XK006);北京石油化工学院交叉科研探索项目(BIPTCSF-019&021);北京市科协青年人才托举工程项目(BYESS2023259);北京石油化工学院致远科研基金(2023013);大学生创新创业训练计划项目(2024J00293)

作者简介:杨颖(1998-),女,硕士生,研究方向为天然大分子,13681354619@163.com;彭效明(1983-),男,博士,副教授,研究方向为天然大分子,通讯联系人, pengxiaoming@bipt.edu.cn。

笔者利用不同溶剂从白芍中提取分离得到不同极性部位,并通过其清除 ABTS、DPPH 自由基能力和总还原力来评价其抗氧化性的强弱,并测定不同极性部位的总萜质量分数与抗氧化性强弱进行比较,从而探究两者间的关联性。

## 1 实验仪器与材料

### 1.1 仪器

SQP 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司生产;冷冻干燥机、R-1005 旋转蒸发仪,郑州长城科工贸有限公司生产;KQ-500E 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司生产;SHZ-95B 循环水式多用真空泵,天津科诺仪器设备有限公司生产;SLXFATS 酶标仪,美国伯腾仪器有限公司生产;SCIENTZ-50F 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司生产。

### 1.2 药品与试剂

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),美国 Sigma 公司生产;甲醇,北京百灵威科技有限公司生产;VC,2,2-二氯-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)铵盐(ABTS),国药集团化学试剂有限公司生产;过硫酸钾,北京偶合科技有限公司生产;磷酸缓冲液(PBS),熊果酸,美仑生物生产;铁氰化钾,索莱宝有限公司生产;三氯乙酸,阿拉丁生产;三氯化铁、硫酸,北京化工厂生产;白芍(颂药堂精品药材),安徽亳州生产;哇哈哈纯净水。

## 2 实验方法

### 2.1 各部位浸膏的制备

取白芍干燥根 100 g 粉碎后过 80 目筛,分别以 7 倍量石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、95%乙醇、65%乙醇、水超声 1 h 后浸泡 12 h,得到 6 种滤液后减压浓缩,冷冻干燥后得白芍石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、95%乙醇、65%乙醇、水 6 段极性物质提取物。石油醚得率为 0.27% [得率(%) = (提取物干浸膏质量/药材质量) × 100%,下同]、乙酸乙酯得率为 0.19%、正丁醇得率为 0.62%、95%乙醇得率为 0.34%、65%乙醇得率为 2.08%、水得率为 3.45%。

### 2.2 萜类标准曲线的绘制

配置 0.1 mg/mL 熊果酸标准品溶液,备用。吸取标准溶液 0.0、0.01、0.02、0.04、0.1、0.2、0.3 mL 加热至挥干,随后加入香草醛 0.1 mL、硫酸溶液 1 mL 混匀,在 60℃ 水浴中保温 30 min。取出后立即冷却,冰水放置 15 min,于波长 540 nm 处测定吸光

度<sup>[12]</sup>。以吸光度为横坐标,熊果酸质量为纵坐标,绘制标准曲线,所得回归方程为  $y = 0.0784x + 0.0003$ ,  $R^2 = 0.9996$ 。

### 2.3 总萜质量分数的测定

精密称量样品 20 mg,加甲醇定容至 10 mL,超声 10 min 后进行 3 000 r/min 离心 10 min,备用。精密移取制备液 200 μL 于 EP 管中,挥干溶剂后加入香草醛 0.1 mL、硫酸溶液 1.0 mL 并混匀,在 60℃ 水浴中保温 30 min。于 540 nm 下测定吸光值,代入回归方程计算各提取物中的总萜质量分数。

### 2.4 清除 DPPH 活性的测定

精密称取 9.86 mg 的 DPPH,用甲醇溶解,定容于 25 mL 容量瓶中,得 1 mmol/L 对照品溶液,避光保存。用甲醇将各提取物配置成 2 mg/mL 溶液并对半稀释到 0.125 mg/mL,备用。随后在离心管中各加入 200 μL 样品溶液。设置空白对照,加入 200 μL 甲醇溶液。每管再加入 600 μL 配置好的 DPPH 溶液,充分振荡混匀,室温避光反应 30 min。设置阴性对照,即不同浓度的提取物 200 μL,加入 600 μL 甲醇。于 540 nm 处测定吸光度  $A_{\text{样品}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ ,计算对 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{样品清除率} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

用同样浓度 Vc 溶液作为阳性对照<sup>[13]</sup>。

### 2.5 清除 ABTS 活性的测定

将 6 mg 的 ABTS 溶于 1.6 mL 的纯化水中,避光备用;将 2 mg 过硫酸钾溶于 3 mL 的纯化水中,避光备用;各取 250 μL 混合,避光 6 h 后用 PBS 稀释 35 倍,即为 ABTS 工作液。提取物与 Vc 溶液配制方法同 2.4;依次准确吸取 200 μL 的 ABTS 工作液、10 μL 提取物溶液于 96 孔板为样品组;依次准确吸取 200 μL 的 PBS 工作液、10 μL 提取物溶液于 96 孔板为样品对照组;依次准确吸取 200 μL 的 ABTS 工作液、10 μL 的 Vc 溶液于 96 孔板为阳性对照组;依次准确吸取 200 μL 的 ABTS 工作液、10 μL 的 PBS 于 96 孔板为样空白组;于 540 nm 处测定吸光度  $A_{\text{样品}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{Vc}}$ ,计算对 ABTS 自由基的清除率<sup>[14]</sup>:

$$\text{样品清除率} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

$$\text{Vc 清除率} = (1 - A_{\text{Vc}} / A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

### 2.6 总还原力的测定

用无水甲醇配制成 0.0625、0.125、0.25、0.5、1 mg/mL 及 2 mg/mL 的提取物溶液和 Vc 标准液。在离心管中依次加入样品溶液、磷酸缓冲溶液、铁氰化钾溶液后混合,于 50℃ 水浴中保温 20 min。取出

后冷却至室温。再加入 10% 三氯乙酸溶液,离心。取上清液并加入无水乙醇和三氯化铁溶液,混匀,于 700 nm 处测吸光度<sup>[15]</sup>。

### 3 实验结果

#### 3.1 不同溶剂提取物中的总萜质量分数

白芍各部位的提取物总萜质量分数如表 1 所示。

表 1 白芍不同溶剂提取物的总萜质量分数

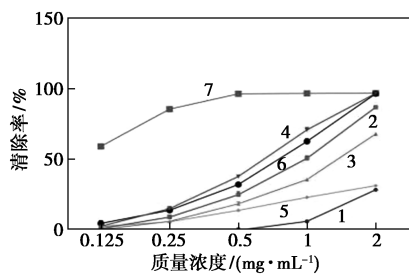
不同提取溶剂	总萜质量分数/%	SD 值
正丁醇	19.23	0.0078
乙酸乙酯	18.27	0.0023
石油醚	13.13	0.0058
95%乙醇	19.05	0.0022
65%乙醇	17.84	0.0015
水	14.28	0.0048

从表 1 中可以看出,不同溶剂的各种提取物中总萜质量分数的差异较小,其中,正丁醇、95%乙醇、乙酸乙酯、65%乙醇部位的总萜质量分数高于水相和石油醚相提取物;其总萜质量分数大小顺序为:正丁醇提取物>95%乙醇提取物>乙酸乙酯提取物>65%乙醇提取物>水提取物>石油醚提取物;因石油醚是非极性溶剂,所以其仅能提取出少量中等极性的萜类成分。水相中的总萜质量分数也较低,则是由于只有极小一部分水溶性的总萜类物质残留在水中。

#### 3.2 不同极性溶剂提取物清除自由基的结果

##### 3.2.1 不同极性部位对 DPPH 的清除作用

白芍各提取物在 0.125~2 mg/mL 质量浓度范围内清除 DPPH 自由基活性的结果如图 1 所示。从图 1 中可以看出,白芍不同极性提取物均对 DPPH



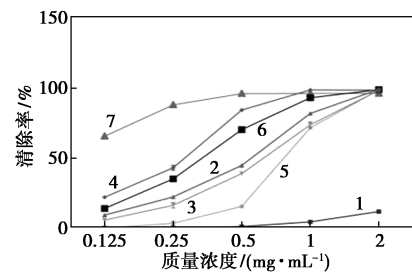
1—石油醚;2—正丁醇;3—乙酸乙酯;4—95%乙醇;  
5—水;6—65%乙醇;7—VC

图 1 白芍不同溶剂提取物对 DPPH 自由基清除率

自由基具有一定的清除能力,在 0.125~2 mg/mL 范围内,随着样品溶液质量浓度增加,清除率也随之增强。其中,95%乙醇相表现出最高的活性,在 95%乙醇相质量浓度为 2.0 mg/mL 时清除率可达到 97.1%,其清除能力整体略低于阳性对照 VC;65%乙醇、正丁醇、乙酸乙酯相提取物的活性比较接近,而水相和石油醚相的清除能力均较弱。白芍对 DPPH 清除能力大小顺序为:95%乙醇>65%乙醇>正丁醇>乙酸乙酯>水>石油醚。

##### 3.2.2 不同极性部位对 ABTS 的清除作用

白芍各提取物对清除 ABTS 的能力如图 2 所示。从图 2 中可以看出,其清除 ABTS 能力与 DPPH 大致相同,在 0.125~2 mg/mL 质量浓度范围内,清除率随提取物质量浓度的增加而增强,在 2 mg/mL 时除石油醚外其他相清除率均可与 VC 持平。其中,95%乙醇相表现出最高的活性,但其清除能力整体略低于阳性对照 VC;65%乙醇、正丁醇、乙酸乙酯、水相提取物的活性比较接近,而石油醚相的能力较弱。白芍对 ABTS·清除能力大小顺序为:95%乙醇>65%乙醇>正丁醇>乙酸乙酯>水>石油醚。



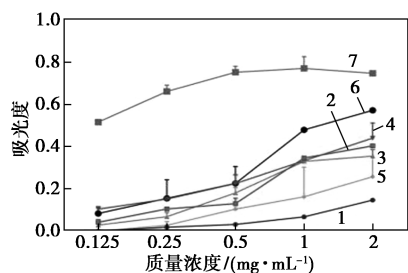
1—石油醚;2—正丁醇;3—乙酸乙酯;4—95%乙醇;  
5—水;6—65%乙醇;7—VC

图 2 白芍不同溶剂提取物对 ABTS 自由基清除率

##### 3.2.3 不同极性部位对总还原的清除作用

白芍各提取物在 0.125~2 mg/mL 质量浓度范围内总还原力的清除率如图 3 所示。从图 3 中可以看出,白芍不同极性提取物均对总还原力具有一定的清除能力,在 0.125~2 mg/mL 范围内,随着样品溶液质量浓度的增加,清除率也随之增强,其中,65%乙醇相表现出最高的活性,在 65%乙醇相质量浓度为 2.0 mg/mL 时清除率可达到 44.0%,其清除能力整体低于阳性对照 VC;95%乙醇、正丁醇、乙酸乙酯相提取物的活性比较接近,而水和石油醚相的清除能力较弱。白芍对总还原力清除能力大小顺序为:65%乙醇提取物>95%乙醇提取物>正丁醇提取物>乙酸乙酯提取物>水提取物>石油醚

提取物。



1—石油醚;2—正丁醇;3—乙酸乙酯;4—95%乙醇;  
5—水;6—65%乙醇;7—VC

图 3 白芍不同溶剂提取物对总还原力清除率

### 3.2.4 阳性对照 VC 对 3 种自由基的清除作用

根据 2.4、2.5、2.6 中的方法,分别测定 VC 与 DPPH、ABTS 和总还原力的清除作用。结果表明,VC 随着质量浓度的增加对 3 种自由基的清除作用也随之增强,呈现浓度依赖性。当 VC 质量浓度达到 2 mg/mL 时,对 DPPH 的清除率达到 97.15%,对 ABTS 的清除率达到 96.04%,对总还原力可达到 0.75(吸光度)。

### 3.3 白芍总萜质量分数与清除自由基的相关性分析

白芍提取物总萜质量分数与清除自由基能力的相关性如表 2 所示。从表 2 中可以看出,总萜质量分数与清除 DPPH、ABTS 自由基能力之间有显著的相关性,其中总萜质量分数与清除 DPPH、ABTS 自由基能力之间的相关系数分别为 0.032 和 0.031,达到相关性显著水平( $p < 0.05$ )。表明白芍提取物中的总萜质量分数一定程度上直接反应出其清除 DPPH、ABTS 自由基及其总还原力的能力。另外,白芍提取物中总萜质量分数与总还原力的相关系数为 0.187,没有达到统计学的显著水平,但也能够在一定程度上反映出白芍提取物中总萜质量分数与总还原力间存在一定的正相关性。

表 2 白芍各提取物清除自由基活性与总萜质量分数的相关性

成分	DPPH 清除能力	ABTS 清除能力	总还原能力
白芍总萜质量分数	0.032 <sup>①</sup>	0.031 <sup>①</sup>	0.187

注:①表示在 0.05 级别(双尾),相关性显著。

## 4 结论

白芍不同极性部位的抗氧化活性存在显著差异,其中 95%乙醇部位提取物的抗氧化活性最强。同时,白芍不同极性部位的总萜质量分数与抗氧化活性存在一定的量效关系,表明总萜质量分数可为预测白芍抗氧化活性的一个参考指标。结果表明,对于白芍中的抗氧化成分的研究和应用,应充分考虑不同极性的成分及其可能的相互关系。

## 参考文献

- [1] 严忠婷,张锡纯在《医学衷中参西录》中应用白芍的研究[D].合肥:安徽中医药大学,2021.
- [2] 李瑞麟,马勇,魏伟,等.白芍总苷治疗四氯化碳致大鼠肝纤维化的作用与其影响肝星状细胞功能的关系[J].中国新药杂志,2007,(9):685-689.
- [3] 金超,孙璇君,刘婷婷.白芍总苷与芍药苷抗衰老作用及其机制研究进展[J].医药导报,2022,41(3):355-360.
- [4] 李莲.白芍总苷对大鼠酒精性肝损伤保护作用的实验研究[J].湖北职业技术学院学报,2010,13(1):105-109,53.
- [5] 陈琦,张可鑫,崔明勋,等.月见草茎提取物的抗氧化活性研究[J].延边大学农学学报,2018,40(3):39-43.
- [6] 游庭活,温露,刘凡.衰老机制及延缓衰老活性物质研究进展[J].天然产物研究与开发,2015,27(11):1985-1990.
- [7] Logan A C, Wong C. Chronic fatigue syndrome: Oxidative stress and dietary modifications[J]. Altern Med Rev, 2001, 6(5): 450-459.
- [8] 徐晓燕,吴兆喜,张星,等.不同极性白芍提取物的抗氧化活性研究[J].食品与药品,2011,13(9):322-325.
- [9] 刘芬,詹文红.白芍总苷体外抗氧化活性研究[J].现代药物与临床,2015,30(2):132-135.
- [10] 占心怡,李钰婷.香附、当归及白芍提取物方剂氧化损伤小鼠抗氧化功效研究[J].按摩与康复医学,2019,10(7):47-49.
- [11] 刘程程,廖莉玲.白芍抗氧化成分的测定[J].广州化工,2016,44(23):81-83.
- [12] 宋晓凡,李岩,阮珍珍,等.响应面法优化地皮菜总三萜提取工艺及其抗氧化活性[J].食品研究与开发,2023,44(4):86-91,106.
- [13] 曾桥,韦承伯,韩国锋,等.桑叶茯砖茶总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J].食品科技,2018,43(6):221-230.
- [14] 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):1787-1790.
- [15] 熊春华,周苏果,沈忱,等.响应面法优化提取菊花黄酮及抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2014,14(7):118-123. ■

《现代化工》欢迎广大作者踊跃投稿,投稿系统: <http://www.xdhg.com.cn>