

# 黔产接骨草中总多酚的含量测定及抗氧化活性研究

黄 雅<sup>1,2,3</sup>, 陈华国<sup>2,3</sup>, 周 欣<sup>1,2,3\*</sup>, 巫兴东<sup>1,2,3</sup>, 胡恩明<sup>2,3</sup>, 蒋政萌<sup>2,3</sup>, 李洪德<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>贵阳中医学院, 贵阳 550002; <sup>2</sup>贵州省药物质量控制及评价技术工程实验室;

<sup>3</sup>贵州师范大学天然药物质量控制中心, 贵阳 550001

**摘要:**以黔产接骨草药材为研究对象,建立了福林酚比色法检测接骨草中总多酚含量方法;并采用单因素结合响应面优化设计法优化接骨草中总多酚提取条件;在此基础上,同时测定接骨草不同产地、不同药用部位总多酚的含量,并以清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基和 ABTS 自由基的能力为评价指标,对接骨草不同药用部位抗氧化活性进行比较研究。结果表明,不同产地、不同药用部位接骨草中总多酚含量差异较大;同批次接骨草中总多酚含量依次为叶 > 全草 > 茎 > 根;接骨草中叶、全草、茎和根清除 DPPH 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 1.14、1.70、2.25、2.65 mg/mL,清除 ABTS 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 1.16、1.56、2.17、3.15 mg/mL,且活性大小与总多酚质量浓度呈现明显量效关系。该方法简便、快捷、重复性好,为接骨草基于总多酚含量的质量评价和质量控制提供参考,以 IC<sub>50</sub> 作为判定抗氧化活性强弱的指标,4 个不同药用部位中以接骨草叶提取物抗氧化能力相对较强。

**关键词:**接骨草;总多酚;含量测定;抗氧化活性

中图分类号:R932

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.2.013

## Determination of Total Polyphenols and Evaluation of Antioxidant Activities of *Sambucus chinensis* Lindl. in Guizhou

HUANG Ya<sup>1,2,3</sup>, CHEN Hua-guo<sup>2,3</sup>, ZHOU Xin<sup>1,2,3\*</sup>, WU Xing-dong<sup>1,2,3</sup>,  
HU En-ming<sup>2,3</sup>, JIANG Zheng-meng<sup>2,3</sup>, LI Hong-de<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; <sup>2</sup>Guizhou Engineering

Laboratory for Quality Control & Evaluation Technology of Medicine; <sup>3</sup>The

Research Center for Quality Control of Natural Medicine, Guiyang 550001, China

**Abstract:** In this study, a method was developed for the determination of total polyphenol by Folin-Ciocalteu colorimetry in *Sambucus chinensis* Lindl which was collected in Guizhou province. The single factor trials and response surface methodology (RSM) were used to optimize the extraction process of polyphenols from *S. chinensis*. The developed method was applied for the determination of total polyphenol from different origins and parts of *S. chinensis*. Besides, the antioxidant activities of *S. chinensis* extract from different parts were investigated using *in vitro* antioxidant assays. The results showed that the content of total polyphenol of *S. chinensis* from different parts and different origins was different. The content in leaf > whole herb > stem > root. The IC<sub>50</sub> of scavenging DPPH of leaves, whole herb, stems and roots were 1.14, 1.70, 2.25, 2.65 mg/mL and ABTS radical 1.16, 1.56, 2.17, 3.15 mg/mL, respectively. The method was simple, rapid and reproducible, which can be used for evaluating the quality and quantitative analysis of total polyphenols in *S. chinensis*.

**Key words:** *Sambucus chinensis* Lindl; total polyphenols; content determination; antioxidant activity

收稿日期: 2016-05-13

接受日期: 2016-07-15

基金项目: 贵州省高层次创新人才培养项目[黔科合人才(2015)4033号]; 贵州省科技厅贵州师范大学联合基金(黔科合LH字[2015]7768号); 贵州省中药材、民族药材质量标准研究项目; 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药字[2013]5001号); 贵阳市科技计划(贵阳市科技重大专项)筑科合同[2012401]社-4号

\* 通讯作者 Tel: 0851-86690448; E-mail: alic9800@sina.com

接骨草 *Sambucus chinensis* Lindl., 为忍冬科接骨木属植物接骨草的干燥全草。始载于《神农本草经》, 又名陆英, 走马箭等, 味甘, 淡, 微苦, 性平, 为民间常用草药, 具有消炎止痛, 祛风除湿, 通经活络等功效, 常用来治疗黄疸性肝炎, 肾炎水肿, 骨折, 风湿痹痛等病症<sup>[1]</sup>, 同时也是《中药大辞典》入编记载

治疗跌打损伤、骨折损伤的特效中草药。接骨草药材在我国资源丰富,主要生于阴湿肥沃或灌木杂草丛中,分布于除东北、西北以外的中国各省区。接骨草全草含绿原酸、木犀草素和齐墩果酸等化学成分<sup>[2,3]</sup>。现代药理研究表明,接骨草提取物具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗急性肝损伤等生物活性<sup>[4]</sup>。

多酚是植物中一类重要的次生代谢产物,广泛分布于各种植物中,具有良好的抗炎、抗氧化、抗肿瘤、预防心血管疾病等作用,同时由于多酚在保护人体氧化应激上起着重要作用而逐渐被人们关注<sup>[5-8]</sup>。课题组前期预实验发现,接骨草中多酚含量较高,但目前关于接骨草中总多酚含量测定及抗氧化方面相关研究尚未见报道。因此,本实验拟对接骨草总多酚含量测定方法进行研究,并测定黔产不同产地、不同药用部位接骨草中总多酚含量,同时对不同部位提取物对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除能力进行研究,为接骨草资源的合理利用及药用部位的确定提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

16 批接骨草均采集于贵州省内,由贵阳中医学院孙庆文教授鉴定为忍冬科接骨木属植物接骨草 (*Sambucus chinensis* Lindl.) 的干燥全草。

没食子酸对照(贵州迪大生物有限公司,批号为 110831-200803);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,日本东京化成工业株式会社,批号为 217-591-8);ABTS(北京百灵威科技有限公司,批号为 30931-67-0)福林酚试剂(1 mol/L,上海蓝季科技发展有限公司);水为自制超纯水,试剂均为分析纯。

Spectra Max Plus 384 光吸收酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),KQ5200 E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BSC-150 恒温恒湿箱(上海博讯实业有限公司);XS105DU 型十万分之一电子分析天平、AL 204 万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);101-2AB 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 标准品溶液的制备

精密称取没食子酸对照品适量,加蒸馏水制成 87.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对照品溶液。

#### 1.2.2 供试品溶液的制备

精密称取接骨草(60 目)粉末 0.20 g,加入 15

mL 75% 乙醇,称重,超声提取 50 min,冷却,补重,滤过,即得。

#### 1.2.3 检测波长

精密吸取供试品溶液 0.7 mL 与对照品溶液 0.8 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,加入 2 mL 水,摇匀,加入福林酚试剂 0.5 mL,摇匀,放置 1 min;加入 10% 碳酸钠溶液 2 mL,加水稀释至刻度,充分摇匀后置于 45  $^{\circ}\text{C}$  的恒温恒湿箱中避光反应 50 min,冷却至室温,以相应的提取溶剂为空白,于 550 ~ 850 nm 下扫描,记录紫外光谱图。

#### 1.2.4 显色条件的优化<sup>[9,10]</sup>

分别精密吸取供试品溶液 0.7 mL 和对照品溶液 0.8 mL,按 1.2.3 项下方法显色采用单因素优化法分别对体系中福林酚试剂用量(0.5、0.8、1、1.2、1.5、2 mL),10% 碳酸钠溶液用量(1、2、2.5、3、3.5 mL),显色温度(30、35、40、45、50、60  $^{\circ}\text{C}$ ),显色时间(20、30、40、50、60、70、90 min)对总多酚含量测定的影响进行考察研究(以上实验均平行测定三次)。

#### 1.2.5 单因素试验

精密称取接骨草(60 目)粉末 0.20 g,在 1.2.4 项基础上,采用单因素优化法,分别选择不同提取方法(回流提取,超声提取),粉末粒度(10、20、40、60、80、100 目),乙醇体积分数(40、50、60、70、80、90%),料液比(25:1、50:1、75:1、100:1、125:1、150:1),提取温度(40、50、60、70、80、90  $^{\circ}\text{C}$ ),超声功率(150、180、210、240、270、300 W),提取时间(20、30、40、50、60 min),提取次数(1、2、3 次)对接骨草中总多酚提取进行比较(以上实验均平行测定三次)。

#### 1.2.6 响应面法优化实验

在 1.2.5 项基础上,以乙醇浓度、料液比、提取时间 3 个因素为自变量,总多酚得率为响应面值,每个因素取 3 水平,采用 Design Expert 8.0.5b 统计分析软件的响应面分析法安排试验。试验结果水平安排,见表 1。

#### 1.2.7 方法学验证

通过响应面优化得到接骨草含量测定的最优条件后,我们确定了没食子酸的标准曲线及接骨草总多酚的工作曲线,并进行重复性、重现性、稳定性、加样回收率等方法学验证实验。

#### 1.2.8 接骨草不同部位抗氧化活性比较

##### 1.2.8.1 二苯基苦味肼基自由基(DPPH)体系<sup>[11]</sup>

配制  $1 \times 10^{-4}$  mol/L DPPH 95% 乙醇溶液。分别吸取省植物园产地的接骨草样品中各不同部位按最

表 1 Box-Behnken 设计因素水平及编码

Table 1 Levels and factors of response surface design

水平 Levels	A 乙醇浓度 Concentration of ethanol (%)	B 料液比 Liquid/solid ration (mL/g)	C 提取时间 Extraction time (min)
-1	60	50	40
0	70	75	50
1	80	100	60

佳条件提取的总多酚提取液和 DPPH 溶液各 1.0 mL, 摇匀, 放置 30 min, 以 95% 乙醇为参比, 于 517nm 处测定吸光度, 记为  $A_1$ ; 取 95% 乙醇 1.0 mL, 加入 DPPH 溶液 1.0 mL, 摇匀, 测定吸光度, 记为  $A_2$ ; 取各提取液 1.0 mL, 加入 95% 乙醇 1.0 mL, 摇匀, 测定吸光度, 记为  $A_3$ 。每个质量浓度平行测定 3 次, 取均值, 清除率的计算公式如下:  $S\% = [1 - (A_1 - A_3)/A_2] \times 100\%$  (1), 并计算出  $IC_{50}$ 。

### 1.2.8.2 ABTS ·<sup>+</sup> 自由基清除能力体系

ABTS ·<sup>+</sup> 自由基清除能力的测定参照文献<sup>[12-13]</sup>方法并略作修改, 分别精密称取 97.15 mg ABTS 和 16.13 mg 过硫酸钾分别置于 25 mL 棕色容量瓶中, 用去离子水溶解并定容, 室温避光静置 12 小时以上, 即得 ABTS 储备液。用无水乙醇将其稀释至在 734 nm 处吸光度为  $0.70 \pm 0.02$  之间。吸

取省植物园产地的接骨草样品中各不同部位按最佳条件提取的总多酚提取液 100  $\mu$ L 加入 900  $\mu$ L ABTS ·<sup>+</sup>, 对照组为 100  $\mu$ L 乙醇溶液和 900  $\mu$ L ABTS ·<sup>+</sup> 溶液, 空白组分别加入 100  $\mu$ L 供试品溶液和 900  $\mu$ L 乙醇溶液。室温放置 10 min, 于 734 nm 下测定吸光度, 重复测定 3 次, 取平均值, 按公式 (1) 计算其清除率, 并计算出  $IC_{50}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 最大波长的确定

参照 1.2.3 设计, 结果表明, 接骨草多酚提取液和没食子酸标准品溶液均在 760 nm 处有最大吸收, 故确定检测波长为 760 nm。

### 2.2 显色条件的确定

参照 1.2.4 设计, 结果见图 1(A~D)。

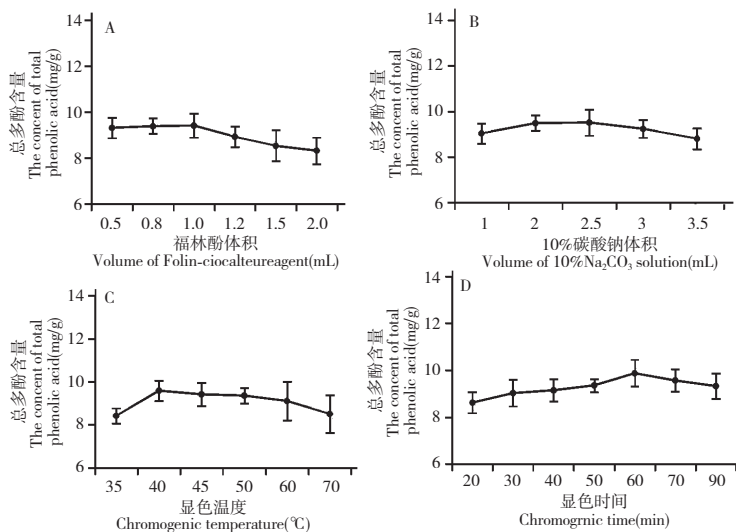


图 1 福林酚试剂用量 (A)、10%  $Na_2CO_3$  溶液的用量 (B)、显色时间 (C) 及温度 (D) 对接骨草总多酚含量测定影响

Fig. 1 Effects of amount of Folin-Ciocalteu reagent (A), amount of 10%  $Na_2CO_3$  (B), chromogenic temperature (C) and time (D) on content of total phenolic acid of *S. chinensis*

由图 1(A) 可知, 随着福林酚试剂加入量的增加, 接骨草中总多酚含量缓慢增加, 当加入量为 1 mL 时总多酚含量达最高, 此后逐渐降低, 因此福林

酚的加入量为 1 mL。由图 1(B) 可知, 总多酚含量随着碳酸钠溶液加入量的增加而增多, 但当加入量  $> 2.5$  mL 时, 含量逐渐降低, 故确定 10% 碳酸钠溶

液的加入量为 2.5 mL。由图 1(C)可知,随着温度的增加,总多酚含量先增后减,在 40 ℃时达到最大值,当温度继续增加时,体系稳定性下降。因此显色温度选为 40 ℃。由图 1(D)可知,随着反应时间的

增加,总多酚含量先缓慢增加达 60 min 时达最大,随后逐渐降低,选择反应时间为 60 min。

### 2.3 单因素试验

参照 1.2.5 设计,结果见图 2(A~G)

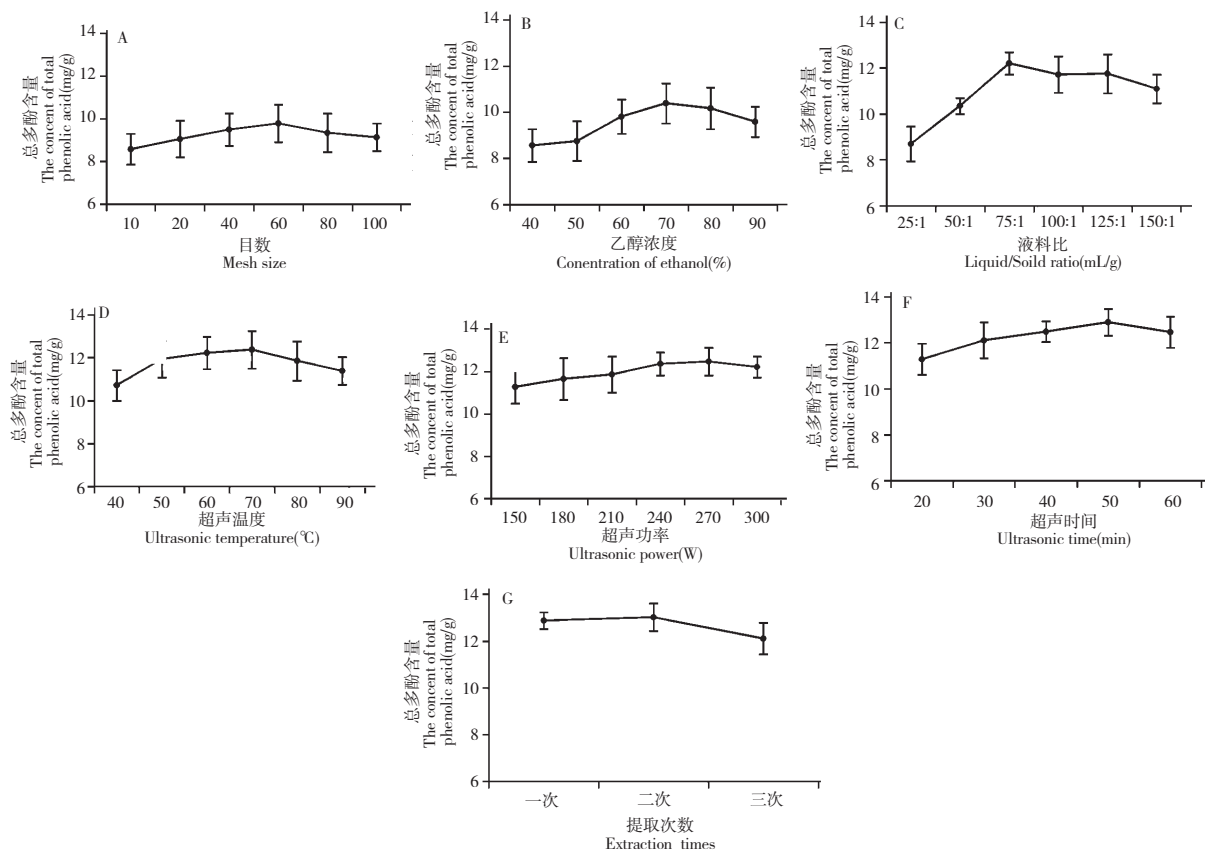


图 2 目数(A)、乙醇浓度(B)、料液比(C)、超声温度(D)、超声功率(E)、超声时间(F)及提取次数(G)对接骨草总多酚含量的影响

Fig. 2 Effect of mesh size (A), ethanol concentration (B), solid-to-liquid ratio (C), ultrasonic temperature (D), ultrasonic power (E), ultrasonic time and extraction times (F) on the content of total phenolic acid of *S. chinensis*

#### 2.3.1 提取方法对总多酚含量的影响

由 1.2.5 设计可知,回流与超声所得总多酚含量分别为 9.88 和 9.79 mg/g,两种提取方法含量相差不大,考虑到酚类物质高温煮沸易氧化的特点及超声提取快速效率高等优势,故选择超声提取。

#### 2.3.2 粒度对总多酚含量的影响

由图 2(A)可知,总多酚含量随着目数的增加而增加,于 60 目时达最大值,此后随粒度增加开始降低,原因可能是随着目数的增加,吸附作用加强,使扩散速度受到影响,浸出杂质增加,同时给浸提操作带来不便,因此选择药材粒度为 60 目。

#### 2.3.3 乙醇体积分数对总多酚含量的影响

由图 2(B)可知,随着乙醇体积分数的增加总多酚含量先增加后逐渐降低,70% 乙醇使其达最大值,

原因可能是根据相似相溶原理,多酚类在 70% 乙醇中具有较大溶解度。

#### 2.3.4 液料比对总多酚含量的影响

由图 2(C)可知,当液料比达 75:1 时,总多酚含量最高随后又降低,随着液料比增大,传质推动力提高,同时也提高了生产成本和后续处理难度,故溶剂比不宜过大。

#### 2.3.5 超声温度对总多酚含量的影响

由图 2(D)可知,在一定范围内,总多酚的含量随温度的升高而增加,当温度达 70 ℃时含量最高,此后逐渐降低。可能是在提取过程中,随着温度升高,多酚浸出速度加快,但是多酚稳定性差,温度高会促使多酚氧化变色,从而影响多酚的提取产量。

### 2.3.6 超声功率对总多酚含量的影响

由图2(E)可知,功率增加可加速溶剂对中药的浸润与渗透过程,使开始发生溶质扩散过程所需时间缩短,同时有利于浸出成分的扩散,当功率达270 W时,多酚含量最高,此时中药组织内充满溶剂,后再增加功率对扩散速度没有影响且增加了杂质的溶出率。

### 2.3.7 超声时间对总多酚含量的影响

由图2(F)可知,随着时间的增加,多酚含量先增加后降低,于50 min 达最高。可能是因为提取时

间短浸出不完全,但过长则不仅浪费时间,且会造成杂质大量溶出,多酚氧化,致使提取产量降低。

### 2.3.8 提取次数对总多酚含量的影响

由图2(G)可知,提取两次时总多酚含量最高,但是方差分析结果显示提取一次和提取两次之间没有显著性差异,考虑到时间,溶剂用量等经济成本,故选择提取一次。

## 2.4 响应面分析试验设计及结果

参照1.2.6设计,具体结果见表2。

表2 响应面分析试验设计及结果

Table 2 Response surface design arrangement and experimental results

No.	A	B	C	总多酚得率 Polyphenols content (mg/g)
1	0	1	1	12.86
2	0	1	-1	11.37
3	0	0	0	13.21
4	0	0	0	13.41
5	0	0	0	13.27
6	-1	0	-1	10.22
7	-1	1	0	11.07
8	0	0	0	13.39
9	1	0	-1	12.64
10	0	-1	1	11.10
11	1	1	0	13.25
12	-1	0	1	10.51
13	0	0	0	13.05
14	-1	-1	0	10.01
15	0	-1	-1	11.25
16	1	-1	0	12.38
17	1	0	1	12.51

### 2.4.1 回归模型的方差分析

利用Design Expert 8.0.5b 统计分析软件对表2实验数据进行多项式回归分析,得接骨草总多酚得率Y对因素A、B及C的多元回归方程模型:

$$Y = 13.27 + 1.12A + 0.48B + 0.19C - 0.046AB - 0.10AC + 0.41BC - 0.88A^2 - 0.71B^2 - 0.92C^2$$

对于上述回归模型进行方差分析,并对模型系数进行显著性检验。结果见表3。由表3结果可知,回归模型的相关系数 $R^2 = 0.9889$ , $P < 0.01$ 表明回归模型高度显著;失拟项 $P = 0.1781$ ,在0.05水平上不显著,模型的调整确定系数 $R_{Adj} = 0.9747$ ,

说明该模型拟程度良好,试验误差小,即可用此模型对接骨草提取总多酚得率进行分析及预测。

模型回归方程的系数显著检验得出,模型中一次项A、B、C均显著,其中A、B极显著,二次项系数 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 也极显著,BC交互作用极显著,AB、AC不具交互作用。即在所选取的各因素水平范围内对总多酚提取率的影响大小依次为乙醇体积分数>料液比>时间。

### 2.4.2 因素间的交互作用

模型响应面图见图3。结合表3可知,乙醇体积分数与料液比和乙醇体积分数与提取时间的交互作用对总多酚含量影响较小,在响应面中体现为曲

表3 方差分析表

Table 3 ANOVA of regression analysis

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean squares	F 值 F values	P 值 P values	显著性 significant
模型 model	22.85	9	2.54	69.54	<0.0001	* *
A	10.07	1	10.07	275.86	<0.0001	* *
B	1.82	1	1.82	49.79	0.0002	* *
C	0.28	1	0.28	7.68	0.0277	*
AB	8.630E-003	1	8.630E-003	0.24	0.6417	
AC	0.043	1	0.043	1.17	0.3144	
BC	0.68	1	0.68	18.50	0.0036	* *
A <sup>2</sup>	3.29	1	3.29	90.09	<0.0001	* *
B <sup>2</sup>	2.10	1	2.10	57.56	0.0001	* *
C <sup>2</sup>	3.53	1	3.53	96.73	<0.0001	* *
残差 Residual	0.26	7	0.037			
失拟项 Lack of Fit	0.17	3	0.057	2.73	0.1781	
纯误差 Pure Error	0.084	4	0.021			
总离差 Cor Total	23.10	16				

注: \* 表示显著性差异, \*\* 表示极显著性差异。

Note: \* indicated significant difference, \*\* indicated extremely significant difference.

面坡度平缓;料液比与提取时间的交互作用对总多酚得率有显著影响,随着料液比和提取时间的增加,总多酚得率呈现出先急剧增加后缓慢下降的趋势。

#### 2.4.3 接骨草总多酚最佳提取条件的确定

根据 Box-Behnken 中心组合试验结果及通过软件 Design Expert 8.0.5b 统计得出的回归方程,优化出接骨草总多酚最佳提取条件参数为:乙醇体积分数 76.17%、料液比(V/W) 83.98:1(即 16.80:0.2)、提取时间 51.48 min,在该条件下总多酚得率预测值为 13.72 mg/g。考虑到操作的可行性,对最佳提取条件进行修正,乙醇浓度 75%、料液比(V/W) 15:0.2、提取时间 50 min。采用修正后的条件对所建模型进行验证试验,结果显示在接骨草总多酚得率为 13.60 mg/g( $n=3$ ),相对误差为 0.87%,证明利用响应面分析法的得到的接骨草总多酚提取条件参数真实可靠,具有实用价值。

#### 2.5 线性关系的考察

精密吸取 2.1 项下对照品溶液 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5 mL,分别置于 10 mL 比色管中,各加入 2 mL 纯水摇匀,加入福林酚试剂 1 mL,摇匀,加入 10% 碳酸钠溶液 2.5 mL 加纯水定容至刻度线,于

40 °C 下避光反应 60 min,冷却至室温,同时配制空白溶液,在 760 nm 处测定 A,以 A 为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,得回归方程  $A = 0.0380C + 0.0541$  ( $\gamma = 0.9997$ ),表明没食子酸对照品质量浓度在 4.37 ~ 30.59 mg/mL 与 A 呈现良好线性关系。

#### 2.6 方法学考察

##### 2.6.1 精密性、稳定性、重复性考察

精密度结果显示 RSD 为 0.56%,表明仪器精密性良好。稳定性结果显示供试品溶液在 60 min 内吸光度基本没有什么变化,RSD 为 0.98%,表明样品在 60 min 内检测稳定。重复性结果显示 RSD 为 1.21%,表明本实验方法的重复性较好。

##### 2.6.2 回收率考察

精密称取已知含量(13.60 mg/g)的接骨草样品 0.10 g,9 份,置 50 mL 具塞锥形瓶中,分别加入质量浓度为 1.10 mg/mL 的没食子酸对照品溶液 0.5、0.5、0.5、1.0、1.0、1.0、1.5、1.5、1.5 mL,精密加入 75% 乙醇使总体积为 15 mL,余下制备方法操作同 1.2.2 项,按 2.5 项下方法显色测定,计算回收率。结果表明,回收率在 99.50 ~ 101.43% 之间,RSD 均 < 1.5%,结果见表 4,本方法准确度可靠。

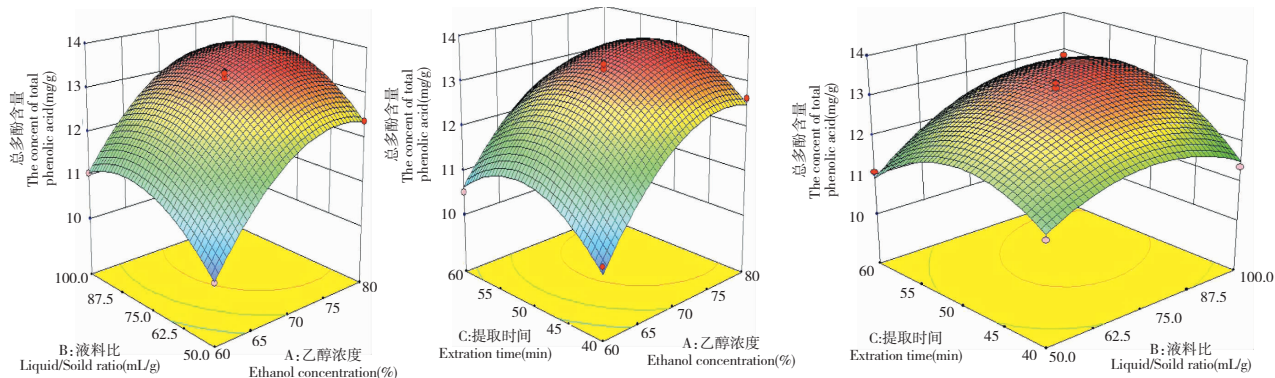


图 3 各因素交互作用对总多酚提取量的响应面图

Fig. 3 Response surface plots showing the effects of operating parameters on extraction efficiency of total polyphenols

表 4 接骨草总多酚加样回收实验 (n = 9)

Table 4 Recoveries of quercitrin (n = 9)

No.	取样量 Sample volume (g)	含多酚量 Polyphenols concent (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured value (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	0.1036	1.4090	0.5515	1.9577	99.49		
2	0.1025	1.3941	0.5515	1.9527	101.30	100.42	0.90
3	0.1021	1.3886	0.5515	1.9428	100.49		
4	0.1028	1.3981	1.1030	2.5262	102.27		
5	0.1029	1.3995	1.1030	2.5163	101.25	101.43	0.75
6	0.1011	1.3750	1.1030	2.4866	100.78		
7	0.1020	1.3873	1.6545	3.0304	99.32		
8	0.1015	1.3805	1.6545	3.0255	99.43	99.50	0.23
9	0.1022	1.3900	1.6545	3.0403	99.75		

2.7 接骨草不同产地及不同部位总多酚含量测定

利用“2.4”项下确定的总多酚提取条件参数制备供试液溶液,按 2.5 项下方法测定 A,计算贵州地

区 16 个不同产地及不同部位的接骨草样品中总多酚含量。结果见表 5。

表 5 不同产地不同部位接骨草总多酚含量

Table 5 Determination results of total phenolic acids in *S. chinensis* from different parts and different regions based on optimal extraction conditions

序号 No.	采样地点 Sample location	全草 Whole plant (mg/g)	叶 Leaf (mg/g)	茎 Stem (mg/g)	根 Root (mg/g)
1	贵州省植物园 Guizhou Botanical garden	13.60	13.98	12.50	10.98
2	都匀大坪镇 Da ping town, Duyun	18.28	20.25	19.05	16.27
3	黎平县 Li ping county, Kaili	19.51	20.30	18.58	14.49
4	都匀岩下镇 Yan xia town, Duyun	35.66	49.54	17.81	14.29
5	花溪湿地公园 Wet land garden, Huaxi	13.56	14.28	13.07	11.57

序号 No.	采样地点 Sample location	全草 Whole plant (mg/g)	叶 Leaf (mg/g)	茎 Stem (mg/g)	根 Root (mg/g)
6	乌当水田镇 Shui tian town, Wudang	20.64	25.32	20.25	18.91
7	毕节大方县 Da fang county, Bijie	20.29	29.50	15.96	14.80
8	铜仁本庄县 Ben zhuang county, Tongren	15.09	18.79	12.34	11.42
9	独山县 Du shan county, Duyun	16.99	20.18	15.32	11.34
10	赤水县 Chi shui county, Zunyi	18.08	18.18	14.64	9.31
11	马洞村 Ma dong village, Xifeng	16.10	18.58	17.60	9.64
12	黔灵山公园 Qian ling mountain garden, Guiyang	14.20	14.57	13.59	8.88
13	天柱县 Tian zhu county, Kaili	14.74	21.33	13.77	9.53
14	高坡镇 Gao po town, Huaxi	16.43	17.07	13.74	10.66
15	凯里雷山县 Lei shan county, Kaili	13.75	23.64	11.48	9.63
16	黔陶县 Qian tao county, Huaxi	13.08	22.84	18.17	11.38

## 2.8 接骨草不同部位抗氧化活性比较

### 2.8.1 不同部位接骨草提取物对 DPPH 自由基的清除能力

图4为接骨草不同部位提取物对DPPH自由基清除能力测定结果。可见,不同部位提取物对DPPH自由基的清除率与提取物浓度呈正相关。其中叶部位提取物对DPPH的清除能力最强,当浓度为6.67 mg/mL时,清除率达95.2%;叶,全草,茎和根各不同提取部位对DPPH自由基IC<sub>50</sub>值分别为1.139、1.701、2.254、2.653 mg/mL。IC<sub>50</sub>的数值越小,则表明抗氧化剂对自由基清除能力越强。故不同部位提取物抗氧化能力为:叶>全草>茎>根,与多酚含量大小结果一致。

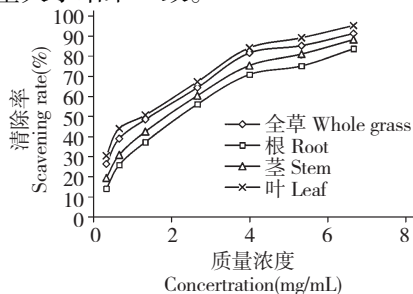


图4 接骨草不同部位提取物对DPPH自由基的清除能力

Fig. 4 DPPH radical scavenging capacity of different parts of *S. chinensis*

### 2.8.2 不同部位接骨草提取物对 ABTS ·<sup>+</sup> 自由基的清除能力

图5为接骨草不同部位提取物对ABTS·<sup>+</sup>自由基清除能力测定结果。在所测定的质量浓度范围内,接骨草各不同部位对ABTS自由基的清除能力随质量浓度的增大而增强,说明接骨草不同部位提取物对ABTS·<sup>+</sup>自由基的清除能力呈现剂量关系,与DPPH自由基的清除能力活性结果趋势一致。叶、全草、茎和根对ABTS·<sup>+</sup>自由基IC<sub>50</sub>值分别为1.159、1.556、2.172、3.153 mg/mL。4个不同部位对ABTS·<sup>+</sup>自由基的清除能力为:叶>全草>茎>根,与多酚含量大小结果一致。

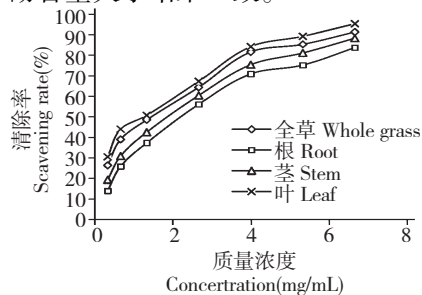


图5 接骨草不同部位提取物对ABTS自由基的清除能力

Fig. 5 ABTS radical scavenging capacity of different parts of *S. chinensis*



### 3 结论

研究通过建立 Folin-Ciocalteu 比色法测定接骨草总多酚含量,并进行了方法学考察。结果表明,接骨草中总多酚含量测定适宜方法为接骨草提取液 0.7 mL, Folin-Ciocalteu 试剂 1 mL、10% 碳酸钠溶液 2.5 mL、40 °C 避光反应 60 min 后 760 nm 波长处测定。在单因素基础上,结合响应面多因素中心组合试验优化接骨草中总多酚提取条件,最终确定提取参数为:超声提取 50 min、乙醇浓度 75%、料液比 (V/W)15:0.2,提取一次。在此条件下,接骨草中总多酚提取率为 13.60 mg/g。所优化的提取条件稳定可行、简单快速,可用于接骨草总多酚含量的测定。

本文比较了贵州 16 个不同产地接骨草及其不同部位中总多酚含量。结果表明,全草以都匀岩下镇样品含量最高,为 35.66 mg/g,最低为黔陶样品,含量为 13.08 mg/g;接骨草叶中,含量最高为都匀岩下镇样品,含量为 49.54 mg/g,最低为贵州省植物园样品,含量为 13.98 mg/g;接骨草茎中最高为乌当水田镇样品,含量为 20.25 mg/g,最低为凯里雷山县样品,含量为 11.48 mg/g;接骨草根中最高为乌当水田镇样品,含量为 18.91 mg/g,最低为铜仁本庄县样品,含量为 8.88 mg/g。确定了以总多酚作为评价指标的最适产地及药用部位;为接骨草基于总多酚的质量控制模式及药用部位的选择提供科学依据。

本实验采用 DPPH 自由基体系和 ABTS 自由基清除能力研究其抗氧化性能。结果表明,接骨草各部位提取物均表现出不同程度的抗氧化活性,且抗氧化能力与浓度呈现剂量关系,其抗氧化顺序为叶 > 全草 > 茎 > 根,且与提取物总多酚含量顺序一致,表明其抗氧化能力与总多酚含量有关。

#### 参考文献

- 1 Flora Republicae Popularis Sinicae Editorial Committee of CAS (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora Republicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press, 1998. 72, 6.
- 2 Liao QF (廖琼峰), Xie SP (谢社平), Chen XH (陈晓辉), et al. Study on the chemical constituents of *Sambucus chinensis* Lindl. *Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29: 916-918.

- 3 Li SH (李胜华), Li AM (李爱民), Wu XJ (伍贤进). Chemical constituents in *Sambucus chinensis*. *Chin Tradit Herb Drug* (中草药), 2011, 42: 1502-1504.
- 4 Yao YZ (姚元枝), Wu JX (伍进贤), Wei L (魏麟), et al. Research progress of chemical constituents and pharmacological activities of *Sambucus chinensis* Lindl. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2015, 37: 2726-2732.
- 5 Yu J (喻谨), Yue YD (岳永德), Tang F (汤锋), et al. Determination of total polyphenol in bamboo leaves with Folin-Ciocalteu colorimetry. *Chin J Spectro Labor* (光谱实验室), 2013, 30: 2752-2758.
- 6 Malejko J, Nalewajko-Sieliwoniuk E, Nazaruk J, et al. Determination of the total polyphenolic content in *Cirsium palustre* (L.) leaves extracts with manganese (IV) chemiluminescence detection. *Food Chem*, 2014, 152: 155-161.
- 7 Abdelhady MIS, Kamal AM, Othman SM, et al. Total polyphenolic content, antioxidant, cytotoxic, antidiabetic activities, and polyphenolic compounds of *Sophora japonica* grown in Egypt. *Med Chem Res*, 2015, 24: 482-495.
- 8 Sen S, De B, Devanna N, et al. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of the leaves of *Meyan spinosa* Roxb., an Indian medicinal plant. *Chin J Nat Med*, 2013, 11: 149-157.
- 9 Zhao XY (赵小燕), Li B (李波), Yang ZM (杨正明), et al. Extraction and determination of total phenolic acids in *Leontopodium franchetii* at different harvest time. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2015, 21: 19-21.
- 10 Zhang H (张焕), Dong GY (董光耀), Shu C (舒畅), et al. Optimization of content determination method of total polyphenols from *Pyracantha fortuneana* by response surface methodology. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1056-1063.
- 11 Li GJ (李国金), Geng HM (耿红梅), Zang W (藏威). Investigation on extraction and antioxidant activity of total polyphenols from seeds of *Cleome gynandra*. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2014, 20: 28-30.
- 12 Wei RB (韦睿斌), Yang Q (杨全), Pang YX (庞玉新), et al. A comparative study on antioxidant activity of total phenolic acid and flavonoids from different parts of *Blumea balsamifera*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1242-1247.
- 13 Xia TJ (夏田娟), Bi LW (毕良武), Zhao ZD (赵振东), et al. Study on antioxidant and antibacterial activities of carnosic acid. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 35-40.