

云南药用植物束花石斛提取物的体外抗氧化活性研究

文小玲^{1,3)}, 徐俊驹²⁾, 陈丽君¹⁾, 李双¹⁾, 李玉鹏³⁾

(1) 昆明医科大学人事处, 云南昆明 650500; 2) 云南农业大学烟草学院, 云南昆明 650201; 3) 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500)

[摘要] **目的** 研究药用植物束花石斛提取物的体外抗氧化活性. **方法** 采用 DPPH 自由基清除法对束花石斛提取物的体外自由基清除作用进行研究. **结果** 束花石斛的乙醇粗提物、乙酸乙酯和正丁醇提取物活性较好, IC_{50} 分别为 0.39, 0.27, 0.40 mg/mL. **结论** 各提取部分均比芦丁 ($IC_{50} = 0.063$ mg/mL) 抗氧化活性弱.

[关键词] 束花石斛; 药用植物; 抗氧化活性

[中图分类号] R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 04 - 0004 - 03

Antioxidant Activity in vitro of *Dendrobium chrysanthum* Wall in Yunnan

WEN Xiao - ling^{1,3)}, XU Jun - ju²⁾, CHEN Li - jun¹⁾, LI Shuang¹⁾, LI Yu - peng³⁾

(1) Dept. of Personnel, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 2) College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming Yunnan 650201; 3) School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the antioxidant activity in vitro of *Dendrobium chrysanthum* Wall in Yunnan. **Method** DPPH radical scavenging activity in vitro method was used to evaluate the antioxidant activity in vitro of *Dendrobium chrysanthum* Wall in Yunnan. **Result** The EtOH (95%) crude extract, EtOAc extract and the n-BuOH extract exhibited higher scavenging activities ($IC_{50} = 0.39, 0.27, 0.40$ mg/mL, respectively) than the others. **Conclusion** No extracts have stronger radical scavenging activities than rutin ($IC_{50} = 0.063$ mg/mL).

[Key words] *Dendrobium chrysanthum* Wall; Medicinal plant; Antioxidant activities

石斛为传统名贵中药, 具有生津养胃、滋阴清热、润肺益肾、明目强身的功效^[1]. 束花石斛^[2] (*Dendrobium chrysanthum* Wall.) 又名黄草石斛, 系兰科石斛属药用植物, 附生于岩石或树干上, 云南、贵州、广西和西藏等省区有分布. 黄草石斛可用作单味药, 并在多种复方中广泛使用, 该植物为 2000 年版药典记载 5 种药用石斛之一^[3]. 药理研究发现该植物浸膏可明显降低豚鼠肠管自发活动, 使节律消失, 肠管处于完全麻痹状态, 并

可拮抗乙酰胆碱对肠管的作用^[4], 同时还发现束花石斛具有抗凝血作用. 文献报道从该药用植物中分离得到一个新的菲类抗炎活性化合物^[5,6], 其它化合物主要包括联苜、菲类、萘酮和生物碱等类型的化学成分^[7-13].

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (21202066); 云南省应用基础研究基金资助项目 (2012FB156); 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (09Y0182, 2013C247); 云南省天然药物药理重点实验室开放研究基金资助项目 (2013G009)

[作者简介] 文小玲 (1976~), 女, 湖南永州市人, 理学硕士, 讲师, 主要从事医学统计和天然药物研究工作.

[通讯作者] 徐俊驹. E-mail: junjuxu007@126.com; 李玉鹏. E-mail: liyupeng26@126.com

仪器: 722 s 型可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂), FA 2004 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司)。试剂: DPPH (1, 1-二苯基-2-苦基肼自由基, Sigma-Fluka 公司产品); 芦丁对照品 (中国医药集团贵州生物试剂公司); 95% 乙醇 (分析纯, 天津化学试剂有限公司), 其它试剂均为国产分析纯。

1.2 植物来源

束花石斛于2012年11月20日采自云南思茅, 标本保存于昆明医科大学药学院医药化学系科实验室。

1.3 提取与分离

束花石斛 (0.20 kg), 用 95% 乙醇提取 5 次, 减压回收至无乙醇味, 得乙醇提取物 22.0 g。乙醇提取物用水溶解, 依次用石油醚, 乙酸乙酯, 正丁醇, 甲醇进行萃取, 减压浓缩后分别得到石油醚 (3.0 g), 乙酸乙酯 (5.2 g), 正丁醇 (4.3 g), 水相 (7.2 g) 5 个部分。乙醇提取物和萃取的各部分分别取 20 mg 进行抗氧化活性测试。

1.4 抗氧化活性测定

1.4.1 DPPH 液的配制 准确称取 DPPH 试剂 25 mg, 用 95% 分析纯的乙醇溶解, 并定量转入 250 mL 容量瓶中, 用 95% 乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 100 mg/L 的 DPPH 储备液, 置于冰箱中冷藏备用。

1.4.2 样品溶液的配制 准确称取待测试样品 20 mg, 溶解在分析纯的乙醇中, 并转入 100 mL 的容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 200

mg/L 的样品溶液, 置于冰箱中冷藏备用。

1.4.3 芦丁标准溶液的配制 准确称取芦丁 2.5 mg, 溶解在分析纯的乙醇中, 并转入 100 mL 的容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 25 mg/L 的样品溶液, 置于冰箱中冷藏。

1.4.4 清除 DPPH 自由基能力的测定 准确量取 1.2 mL DPPH 液, 加入 2.8 mL 95% 乙醇溶液, 混匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为 A_c 值, 自由基清除率为零。分别准确量取各样品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL, 加入 1.2 mL DPPH 液及 2.6、2.4、2.2、2.0、1.8、1.6、1.4、1.2 mL 的 95% 乙醇溶液混合均匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为 A_i 值。另外分别准确量取各样品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL, 加入 3.8、3.6、3.4、3.2、3.0、2.8、2.6、2.4 mL 的 95% 乙醇溶液后混合均匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为空白校正 A_j 值。以芦丁作为阳性对照。按下式计算自由基清除率 K 值。

$$K = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_c} \times 100\%$$

2 结果

束花石斛乙醇提取物及其不同溶剂萃取部分对 DPPH 自由基的清除率随着量的加大有逐步增强的趋势; 但不同提取物自由基清除作用差别较大, 乙酸乙酯萃取部分相对其它提取物清除率略高, 见表 1。

表 1 束花石斛提取物 DPPH 自由基清除率 (%)
Tab. 1 The DPPH free radicals clearance rate of *Dendrobium chrysanthum* Wall extract (%)

名称	K							
	0.04 mg	0.08 mg	0.12 mg	0.16 mg	0.20 mg	0.24 mg	0.28 mg	0.32 mg
石油醚	0.7	1.6	3.8	4.4	6.1	7.3	8.7	9.3
乙酸乙酯	10.2	20.4	23.4	35.7	42.0	44.0	50.8	58.5
正丁醇	2.8	15.0	18.7	22.8	26.1	31.4	34.7	41.1
水	0.8	4.4	7.0	9.5	10.2	10.6	11.9	13.6
95%乙醇	11.1	11.4	18.4	20.5	23.2	27.8	55.2	57.4

表 2 束花石斛提取物清除 DPPH 自由基活性的 IC_{50} 值
Tab. 2 IC_{50} values of *Dendrobium chrysanthum* Wall extracts in DPPH free radicals clearance

名称	DPPH (IC_{50} mg/mL)
石油醚萃取部分	1.64
乙酸乙酯萃取部分	0.27
正丁醇萃取部分	0.40
水相	1.10
95%乙醇提取物	0.39
芦丁	0.063

束花石斛的乙醇粗提物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物对 DPPH 自由基清除活性 IC_{50} 值相对于其它提取物的 IC_{50} 值较小, 表现了较强的自由基清除活性, 但比芦丁弱, 见表 2。

3 讨论

研究表明束花石斛的乙醇粗提物、乙酸乙酯和
(下转第 20 页)

- CM/ESICM/ACCP/ATS/SIS Internations conference [J]. Intensive Care Med, 2013, 29(13):530 – 538.
- [2] ANNANE D, AEGERTER P, GUIDER B, et al. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network [J]. Am Respir Crit Care Med, 2012, 168(12):165 – 172.
- [3] BERNARD G R, VINCENT J L, LATERRE P F, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis [J]. N Engl J Med, 2011, 344(21):699 – 709.
- [4] 俞娅芬, 陈德昌, 宋秀琴. 早期诊断严重脓毒症 脓毒性休克研究进展 [J]. 中国急救医学, 2007, 13(02):12 – 13.
- [5] PATEL D, DUKE K, LIGHT R B, et al. Impaired sarcoplasmic calcium release inhibits myocardial contraction in experimental sepsis [J]. Crit Care, 2000, 15(11):64 – 72.
- [6] DONG L W, WU L L, JI Y, et al. Impairment of the ryanodine-sensitive calcium release channels in the cardiac sarcoplasmic reticulum and its underlying mechanism during the hypodynamic phase of sepsis [J]. Shock 2001, 16(9):33 – 39.
- [7] COURT O, KUMAR A, PARRILLO E, et al. Myocardial depression in sepsis and septic shock [J]. Crit Caer, 2002, 6(21):500 – 508.
- [8] TENHUMEN J J, MARTIKAINEN T, UUSARO A, et al. Dopexamine reverses colonic but not gastric mucosal perfusion defects in lethal endotoxin shock [J]. Br J Anaesth, 2003, 91(23):878 – 885.
- [9] 李健球, 赖剑波, 刘晨凤, 等. 乌司他丁对脓毒性休克患者肺损伤防治作用的临床研究 [J]. 现代医学, 2011, 7(23):50 – 51.

(2014-02-14 收稿)

(上接第 5 页)

正丁醇提取物活性较好, 自由基清除 IC₅₀ 分别为 0.39, 0.27, 0.40 mg/mL, 进一步研究该乙酸乙酯部分化学成分, 可能得到抗氧化活性较强的化合物。

笔者首次用 DPPH 自由基清除活性研究方法对该植物不同溶剂提取物抗氧化活性进行研究, 该研究为其研究开发和应用提供了科学依据。在此研究基础上, 笔者将进一步采用新的药理活性筛选方法跟踪, 分离得到新的活性成分, 从该植物中寻找新的天然抗氧化剂和新的活性化合物。

[参考文献]

- [1] JIANGSU NEW MEDICAL COLLEGE. Dictionary of chinese herb medicines [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technologic Press, 1986: 586 – 590.
- [2] 包雪声, 顺庆生, 陈立钻. 中国药用石斛彩色图谱 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 2001: 62 – 63.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 70.
- [4] 徐国均, 杭秉茜, 李满飞. 11 种石斛对豚鼠离体肠管和小鼠胃肠道蠕动的影 响 [J]. 中草药, 1988, 19(1): 21 – 23.
- [5] 林萍, 汤依群, 杨莉, 等. 束花石斛抗凝血作用的初步研究 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(1): 44 – 46.
- [6] LI YANG, LIN-HUA Q I N, SWANNIE BLIGH, et al. A new phenanthrene with a spiro lactone from dendrobium chrysanthum and its anti-inflammatory activities [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, 14(10): 3 496 – 3 501.
- [7] 杨莉, 王云, 毕志明, 等. 束花石斛化学成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 280 – 282.
- [8] 叶庆华, 赵维民, 秦国伟. 黄草石斛化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 35(10): 1 101 – 1 103.
- [9] QING-HUA Y E, WEI-MIN ZHAO, GUO-WEI QIN. New fluorenone and phenanthrene derivatives from Dendrobium chrysanthum [J]. Natural Product Research, 2003, 17(3): 201 – 205.
- [10] LUNING B, LEANDER K. Studies on orkidaceae alkaloids III: the alkaloids in dendrobium primulinum lind and dendrobium chrysanthum wall [J]. Acta Chem Scand, 1965, 19(7): 1 607 – 1 611.
- [11] EKEVAGE U, ELANDER M, GAWELL L, et al. Studies on orchidaceae alkaloids XXXIII. two new alkaloids, n-cis and n-trans-cinnamoylnorcusk hygine from dendrobium chrysanthum wall [J]. Acta Chem Scand, 1973, 27(6): 1 982 – 1 986.
- [12] VEERRAJU P, RAO N S P, RAO L J, et al. Bibenzyls and phenantheroids of some species of orchidaceae [J]. Phytochemistry, 1989, 28(11): 3 031 – 3 034.
- [13] MIN Z D, TANAKA T, IINUMA M, et al. A new dihydros-tilbene in Dendrobium chrysanthum Wall [J]. J Nat Prod, 1987, 50(6): 1 189.

(2014-02-10 收稿)