

## 油菜籽提取物清除活性氧作用研究

李正, 丁家宜, 辛庆忠

(中国药科大学中药生物技术教研室, 江苏 南京 210038)

**A study on scavenging reactive oxygen species of the extracts from the seeds of *Brassica campestris* Linn.** LI Zheng, DING Jia-yi, XIN Qing-zhong (Research Department of Herb Biotechnology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(2): 60-61

**Abstract:** The abilities of scavenging reactive oxygen species (ROS,  $O_2^-$ ,  $OH\cdot$ ,  $H_2O_2$ ) of the extracts from the seeds of *Brassica campestris* Linn. were studied by chemical luminescence. The results showed that the extracts by hot extraction and cold-maceration extraction both had scavenging effect on ROS, their  $IC_{50}$  to  $O_2^-$ ,  $OH\cdot$  and  $H_2O_2$  were 0.033 3, 0.030 8,  $6.81 \times 10^{-4}$  and 0.051 1, 0.025 3,  $9.40 \times 10^{-4}$  mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> respectively. The antioxidant A separated from the extracts had the significant scavenging effect of  $O_2^-$ ,  $OH\cdot$  and  $H_2O_2$ ,  $IC_{50}$  were 0.003 14, 0.001 62 and  $5.96 \times 10^{-6}$  mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> respectively, obviously stronger than tea-polyphenols.

**关键词:** 油菜; 抗氧化物; 筛选; 自由基

**Key words:** *Brassica campestris* Linn.; antioxidant; screen; reactive oxygen species (ROS)

**中图分类号:** S565.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2005)02-0060-02

自由基是一种带有未成对电子的分子或离子, 具有很高的反应活性, 可对机体产生毒害, 破坏生物大分子, 影响细胞活性。如果自由基被中途清除, 就可能中断此反应<sup>[1]</sup>。科学研究表明, 自由基与免疫、疾病、衰老等许多病理生理现象都有密切的关系。因此, 寻找高效、价廉、低毒的阻断自由基反应的抗氧化剂具有重要意义<sup>[2-4]</sup>。

油菜 (*Brassica campestris* Linn.) 籽具有较高的抗  $\gamma$ -射线能力, 其抗辐射能力可能与内在抗氧化能力或清除自由基活性有较多的关联。本实验从油菜籽中分离抗氧化活性组分, 旨在为油菜籽的深度利用提供新的途径。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 试剂 3-氨基邻苯二甲酰肼(鲁米诺 luminol), 由 Sigma 公司出品, 其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 BPCL-G-2 微弱发光测量仪及 BPCL App 2.6 数据处理工作站(中国科学院北京生物物理研究所), KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), RE-52C 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.1.3 实验材料 油菜 (*Brassica campestris* Linn.) 籽购于江苏省南京市郊区农户, 经丁家宜教授鉴定。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 提取方法

1.2.1.1 热提法 油菜籽 20 g, 粉碎, 石油醚脱脂 8 h, 残渣于 90℃ 用 10 倍量 95% 乙醇热回流提取 2 次, 各 4 h。合并提取液, 减压浓缩, 用水定容至 100 mL(样 1)。

1.2.1.2 冷浸法 油菜籽 20 g, 粉碎, 石油醚脱脂 8 h, 残渣

用 10 倍量 95% 乙醇冷浸提取 24 h, 重复 3 次, 合并提取液, 减压浓缩, 用水定容至 100 mL(样 2)。

1.2.2 抗氧化活性测定 用下列方法测定抗氧化活性。邻苯三酚-鲁米诺-碳酸缓冲液(pH 10.2)体系检测  $O_2^-$ <sup>[5-7]</sup>; 邻菲罗啉-Cu<sup>2+</sup>-抗坏血酸-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系检测  $OH\cdot$ <sup>[8,9]</sup>; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-鲁米诺-碳酸缓冲液(pH 9.5)体系检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>[10,11]</sup>。生物化学发光法测定自由基时, 一定浓度范围内累计发光强度(CL)与自由基的数量呈相依关系, 故可用 CL 表示自由基的产生量。

$$\text{发光抑制率} = \frac{\text{对照 CL} - \text{样品 CL}}{\text{对照 CL}} \times 100\%$$

以抑制率(y)和浓度(x)绘制曲线得方程  $y = a \ln(x) + b$ 。用发光抑制率为 50% 时的浓度  $IC_{50}$  来衡量对自由基的清除能力。 $IC_{50}$  值越小, 样品清除自由基的能力越强。

1.2.3 抗自由基活性部位的筛选 取 4 kg 油菜籽, 粉碎, 石油醚脱脂。以 95% 乙醇热回流提取至近无色, 减压浓缩得浸膏。以适量水溶解浸膏, 调至 pH 2, 加乙酸乙酯萃取数次至乙酸乙酯近无色, 合并萃取液浓缩得浸膏。

浸膏用硅胶柱分离, 用不同比例的氯仿和甲醇为流动相洗脱。每 50 mL 收集 1 瓶流出组分。按上法检测各流出组分抗氧化活性, 以此活性为指标, 跟踪活性物质的分离。合并活性强的组分, 得活性组分 A。以茶多酚抗自由基活性为基准, 比较两者的抗活性氧的能力。

收稿日期: 2004-09-21

作者简介: 李正(1980-), 男, 浙江建德人, 硕士, 主要从事中药生物技术的研究。

## 2 结果和分析

### 2.1 不同提取方法所得提取物清除氧自由基活性的比较

利用不同提取方法从油菜籽得到的提取物清除氧自由基活性的比较见表1。

表1 不同提取方法所得油菜籽提取物清除氧自由基活性的比较  
Table 1 Scavenging ability of the extracts using different extracting methods from the seeds of *Brassica campestris* Linn.

样品 <sup>1)</sup> Sample <sup>1)</sup>	IC <sub>50</sub> /mg · mL <sup>-1</sup>		
	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	OH ·	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
1	0.033 3	0.030 8	6.81 × 10 <sup>-4</sup>
2	0.051 1	0.025 3	9.40 × 10 <sup>-4</sup>

<sup>1)</sup>1: 热提法 Hot extraction; 2: 冷浸法 Cold-maceration extraction

从总体上看,热提法所得油菜籽提取物清除氧自由基的能力强于冷浸法。故采用热提法提取油菜籽。

### 2.2 油菜籽活性组分 A 与茶多酚清除氧自由基能力的比较

油菜籽活性组分 A 与茶多酚清除氧自由基能力的比较见表2。

表2 油菜籽活性组分 A 与茶多酚清除氧自由基能力的比较<sup>1)</sup>  
Table 2 Comparing the scavenging ability of antioxidant A extracted from *Brassica campestris* Linn. seeds with tea-polyphenol<sup>1)</sup>

样品 Sample	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>		OH ·		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
	IC <sub>50</sub> /mg · mL <sup>-1</sup>	活性 Ability	IC <sub>50</sub> /mg · mL <sup>-1</sup>	活性 Ability	IC <sub>50</sub> /mg · mL <sup>-1</sup>	活性 Ability
A	0.003 14	4.55	0.001 62	1.15	5.96 × 10 <sup>-6</sup>	2.35
T	0.014 30	1.00	0.001 87	1.00	1.40 × 10 <sup>-5</sup>	1.00

<sup>1)</sup>A: 油菜籽提取物 Antioxidant A; T: 茶多酚 Tea-polyphenols.

以茶多酚清除氧自由基活性基准为1.00,显然油菜籽活性组分 A 清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、OH · 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 都强于茶多酚。

## 3 讨 论

已有的抗氧化物的筛选实验,都是先分离得到单体或者含某种物质纯度较高的混合物,然后再进行抗氧化活性的测定,如王洪新<sup>[12]</sup>等对忍冬叶中抗氧化活性成分进行了分离;石阶平<sup>[13]</sup>等研究了桂皮中的抗氧化成分。本实验采用化学发光法具有所需实验仪器简单、方法简便、检测周期短等优点,特别是其中检测周期短这一优点便于在化合物分离的同时同步跟踪其抗氧化活性。

油菜籽提取物 A 具有很强的抗氧化能力,其抗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 能力

甚至是茶多酚的4倍,其中所含的物质可能是一类极性较大的酚类化合物。多酚类化合物之所以具有强大的抗氧自由基能力,可能与多酚与氧自由基反应生成较为稳定的酚氧自由基有关,因而能够灭活氧自由基<sup>[14]</sup>,显示出抗氧化活性。

近20年来中国一直是全球最大的油菜籽生产国,油菜种植面积和总产量都位居世界第一。但油菜籽仅用于榨取食用油,而菜籽饼因含有约40%的蛋白质而直接用作动物饲料,产品缺少深度开发。本实验结果表明,油菜籽提取物有着比茶多酚更强的抗氧化能力,提示人们可以从油菜籽中开发低廉、高效的抗氧化剂,进行深度开发。

### 参考文献:

- [1] 施冬云, 李 莉, 刘珊林, 等. 应用量子化学方法研究生育酚结构与抗氧化活性的关系[J]. 生物物理学报, 1999, 15(1): 193-199.
- [2] 周志东, 赵伟康. 机体抗氧化系统研究进展[J]. 国外医学: 老年医学分册, 1999, 20(4): 172-176.
- [3] 郑晶泉. 抗氧化剂抗氧化实验研究进展[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2000, 27(1): 37-40.
- [4] 沈齐英. 抗氧化药物研究进展[J]. 锦州医学院学报, 2000, 21(6): 46-50.
- [5] Jian L. Increased carbon disulfide-stimulated chemi-luminescence in the pyrogallol-luminol system [J]. Luminescence, 2001, 16(4): 281-283.
- [6] 刘 峻, 黄 山, 丁家宜, 等. 16种伞形科药用植物对超氧自由基的清除作用[J]. 植物资源与环境, 1998, 7(4): 29-32.
- [7] 郭嵩光, 王振缙. 邻苯三酚自氧化-化学发光法测定 SOD 活性[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(3): 54-57.
- [8] Xiao C, Palmer D A, Wesolowski D J, et al. Carbon dioxide effects on luminol and 1, 10-phenanthroline chemiluminescence [J]. Anal Chem, 2002, 74(9): 2210-2216.
- [9] 范小兵, 李慈娟, 沙大年, 等. 邻菲罗啉化学发光体系测定羟自由基的建立[J]. 基础医学与临床, 1998, 18(6): 68-71.
- [10] 胡天喜, 陈 妃, 陈克明, 等. 荧光分析与医学[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 1990. 48-55.
- [11] 刘 峻, 张 婷, 丁家宜. 生物化学发光法筛选清除活性氧的天然药物[J]. 福州大学学报(自然科学版), 1999, 27(9): 48-49.
- [12] 王洪新, 汤 降, 裘爱泳. 忍冬叶中抗氧成分的研究[J]. 食品与发酵工业, 1988, 14(4): 21-31.
- [13] 石阶平, 韩雅珊, 蒋修学. 桂皮抗氧化成分的研究[J]. 食品与发酵工业, 1995, 21(2): 36-40.
- [14] 胡秀芳, 沈生荣, 朴宰日, 等. 茶多酚抗氧化机理研究现状[J]. 茶叶科学, 1999, 19(2): 93-103.

(责任编辑: 张垂胜)