

烟草不同部位提取物抗氧化活性研究^①

杨彩艳^{1,2}, 莫丽娟³, 韦海玲¹, 唐玉莹¹, 潘吉珍¹, 李艳芬¹, 王丽萍¹

(1. 右江民族医学院药学院, 广西 百色 533000 E-mail: yjsyangcaiyan@163.com;

2. 广西高校右江流域地道中药材(民族医药)研究重点实验室, 广西 百色 533000;

3. 广西东兰县人民医院, 广西 东兰 547400)

摘要: **目的** 研究烟草植物不同部位提取物的抗氧化活性。**方法** 分别依次采用90%酒精、50%酒精提取烟叶和烟根中的有效成分, 采用紫外—可见分光光度法测试不同组分对二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)的清除作用, 评价其抗氧化效果。**结果** 烟叶和烟根50%乙醇组分的抗氧化活性比相同部位提取物其他组分好; 其中, 烟根50%乙醇组分的活性最好, 在浓度达到160 mg/L后抗氧化活性接近维生素C(Vc)和常用的抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)。**结论** 烟叶和烟根的化学成分存在较大差异, 烟草中具有抗氧化性的活性成分易被大极性的溶剂溶解和洗脱。

关键词: 抗氧化活性; DPPH·; 提取物; 烟草

中图分类号: S572; Q946

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)05-0463-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.05.002

A study on the antioxidant activities of extracts from different parts of *Nicotiana tabacum*

Yang Caiyan^{1,2}, Mo Lijuan³, Wei Hailing¹, Tang Yuying¹, Pan Jizhen¹, Li Yanfen¹, Wang Liping¹

(1. School of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China E-mail: yjsyangcaiyan@163.com; 2. The key Laboratory of Guangxi Colleges and Universities for Studying Traditional Chinese Medicinal Herbs (folk Medicine) in Youjiang River Drainage Area, Baise 533000, Guangxi, China;
3. People's Hospital of Donglan County, Donglan 547400, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** This article aims to investigate the antioxidant activities of extracts from different parts of *Nicotiana tabacum* (N. tabacum). **Methods** The active constituents from the roots and leaves of N. tabacum were obtained by extracting with 90% alcohol and 50% alcohol as solvents. The antioxidant activities of different fractions to 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH·) were evaluated by using UV spectrophotometer. **Results** Whether the roots or the leaves, the antioxidant activity of their 50% ethanol fractions was better than other fractions, respectively. Among them, the best active fraction was the 50% ethanol fractions from the roots, and its activity was close to the activities of vitamin C (Vc) and butylated hydroxytoluene (BHT) when its concentration reached or exceeded to 160 mg/L. **Conclusion** The constituents of the roots and leaves in N. tabacum were different. In addition, the active constituents of anti-oxidation from N. tabacum were easily dissolved and eluted by strong polar solvents.

Key words: antioxidant activities; DPPH radical; extract; nicotiana tabacum

烟草(*Nicotiana tabacum*)作为一种重要的经济作物仍在世界各地广泛种植,其叶是烟草工业的重要原料^[1]。烟叶的化学成分非常复杂,非挥发性成分的

结构类型主要为萜类化合物、黄酮、生物碱等,其生物活性主要体现在抗神经系统疾病、抗肿瘤、抗病毒等方面,目前未见有除其叶子之外其他部位化学成分、生物

① 基金项目:广西高校科学技术研究项目重点项目(KY2015ZD095);右江民族医学院博士引进科研启动课题(右医科学[2014]2号)

活性研究的报道^[2-8]。为了更系统地阐述烟草植物化学成分及生物活性,我们对烟草不同部位乙醇提取物的化学成分进行分析,结果表明烟根和烟叶提取物的化学成分差异很大。对烟根和烟叶提取物不同组分进行抗氧化活性研究,结果表明两者的抗氧化活性也存在差异。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 烟草于 2015 年 6 月 16 日被采自广西乐业县。食用酒精(广西百色甘化股份有限公司),对二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)($>97\%$)(上海化成工业发展有限公司),2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)(河南千志商贸有限公司),维生素 C(Vc)(石药控股集团有限公司),D101-大孔吸附树脂(天津浩聚树脂科技有限公司)。薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂分厂),显色剂为 10% 的硫酸乙醇溶液。

1.2 仪器 RE5220 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),B-100 旋转蒸发仪(步琦实验室设备公司),HC-5002S 超声波清洗器(昆山慧超自动化设备有限公司),T6-1650F 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),FA1204B 电子分析天平(上海精科天美仪器有限公司),SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),DLSB-5/10 低温冷却液循环泵(郑州长城科工贸有限公司),ZF-1 三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 烟叶烟根的提取 新鲜烟叶(26.5 kg)依次用 90%乙醇和 50%乙醇在室温下分别浸提 3 次,每次浸泡 3 d。把所有浸提液合并减压浓缩到 6 L,浓缩液用乙酸乙酯萃取 3 次,乙酸乙酯萃取液回收后得到乙酯组分(498 g)。水组分浓缩后通过大孔吸附树脂柱层析,依次用水、50%乙醇、90%乙醇洗脱,把 50%乙醇和 90%乙醇洗脱液回收得到 50%乙醇组分 540 g 和 90%乙醇组分 42 g。以上 3 个组分通过硅胶薄层色谱法分析检测发现,烟叶的 90%乙醇组分和乙酯组分非常相似,故将其合并得乙酯组分 540 g。烟根的提取、划段方法同烟叶,得到乙酯组分 31 g、50%乙醇组分 52 g、90%乙醇组分 5 g。

1.3.2 抗氧化活性的测定 抗氧化活性测试参考文献^[9]方法,再根据本提取物的特点改进。DPPH·溶液的配制:准确称取 55 mg DPPH,用 70%乙醇溶解并定容于 250 ml 容量瓶中,DPPH·浓度为 0.56 mmol/L,避光保存(0~4℃)。对照:2.00 ml 70%乙醇与 2.00 ml 0.56 mmol/L 的 DPPH·溶液加入同一试管中,摇匀,在黑暗中放置 30 min,以无水乙醇为空白在 517 nm 测定其吸光度 A_c 。将烟草烟根各组分、BHT、Vc 配置好的不同浓度的 70%乙醇溶液分别取

2.00 ml,并与 2.00 ml 0.56 mmol/L 的 DPPH·溶液加入同一试管中,摇匀,在黑暗中放置 30 min,以 70%乙醇为空白对照在 517 nm 测定其吸光度 A_i ,按以下公式计算其清除率:

$$\text{清除率} = [(A_c - A_i) / A_c] \times 100\%$$

清除率越大抗氧化性活性越好。

2 结果

2.1 烟根各组分对 DPPH·清除率 从图 1 可知,烟根各组分均具有一定的抗氧化活性,其中乙酯组分和 90%酒精组分浓度超过 60 mg/L 之后抗氧化活性虽有增加但增加不明显,两组分抗氧化活性基本相同;50%乙醇组分清除 DPPH·的效果比烟根中其他两个组分的好,其浓度达到 160 mg/L 之后,浓度增加清除效果基本维持不变,其清除效果接近 Vc 和常用抗氧化剂 BHT。

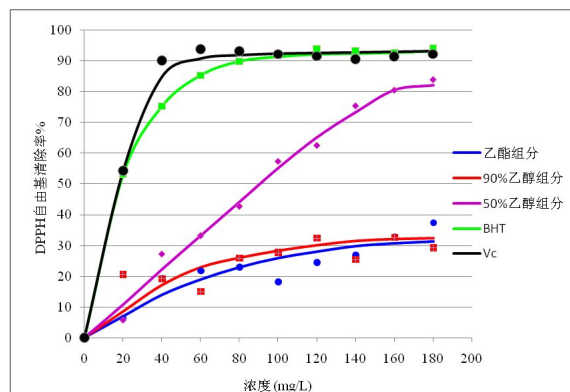


图 1 烟根各组分与 BHT、Vc 对 DPPH·自由基清除率

2.2 烟叶各组分对 DPPH·清除率 从图 2 可知,烟叶各组分都具有一定的抗氧化活性,其中 50%乙醇组分抗氧化活性比乙酯组分好,乙酯组分在浓度超过 80 mg/L 之后清除自由基的效果下降,其清除的最佳浓度为 60 mg/L。

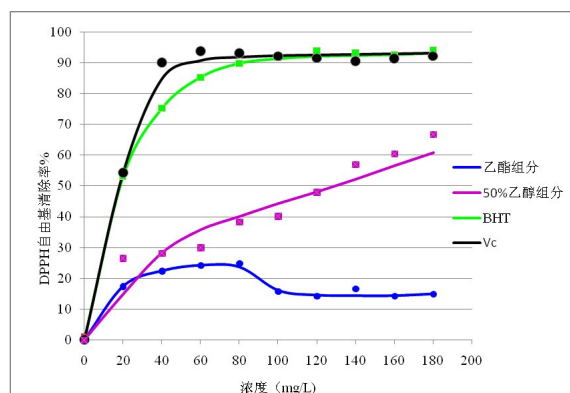


图 2 烟叶各组分与 BHT、Vc 对 DPPH·自由基清除率

3 讨论

自由基会使体内蛋白质和脂质发生链式反应、造成相关细胞结构与功能的破坏,导致机体在促氧化和抗氧化之间失衡,从而造成组织损伤^[10-11],其中间产物和氧化产物也会导致生物膜、酶、组织、基因等损伤而使人体发生病变,从而导致多种疾病的发生^[11]。现代药理学研究的结果表明烟草植物化学成分的生物活性是多方面的,例如烟碱能抑制小胶质细胞被 A β 激活和分泌炎性细胞因子从而减轻神经系统炎症反应发生^[4]; (1S, 2E, 4R, 6R, 7E, 11E)-2, 7, 11-西柏三烯-4, 6-二醇在 $\alpha 3\beta 4$ 和 $\alpha 4\beta 2$ 烟碱乙酰胆碱受体 (nAChR) 上的 IC₅₀ 值分别为 2.2 $\mu\text{mol/L}$ 和 19.1 $\mu\text{mol/L}$, 显示了很强的抗阿尔茨海默症活性^[5-6]; (12R, 13R)-8, 12-epoxy-14-labden-13-ol 在 LOVO 和 QGY-7703 细胞系上显示了中等程度的抗肿瘤活性,其 IC₅₀ 值分别为 23.1 $\mu\text{g/ml}$ 和 15.7 $\mu\text{g/ml}$ ^[7]; 3-O-(9, 12, 15-octadecatrienoyl)-glyceryl- β -D-galactopyranoside、顺式-5'-(2-氧代丙基)-烟碱 [cis-5'-(2-oxopropyl)-nicotine] 在辣椒素受体 1、褪黑素受体 1 和 2 上也具有激动活性^[8]。然而这些活性成分的作用机制尚不十分清楚,因此研究烟草植物的抗氧化活性可以为进一步研究烟草植物活性成分的作用机制提供有益的线索。

此外可能是经济上的原因,近代对烟草植物的研究也主要集中于烟叶的化学成分及其生物活性,对于其他部位如根的化学成分及其生物活性的研究几乎是空白的。实验结果表明烟根和烟叶的大极性组分 (50%乙醇部分) 清除 DPPH $\cdot$ 效果明显比小极性组分 (乙酯部分和 90%乙醇组分) 好,这可能是由于烟草中具有抗肿瘤、抗炎和氧化活性成分的黄酮、香豆素、绿原酸类似物等酚酸类的极性都比较大,大部分都易溶于水这样大极性的溶剂中;烟根各组分抗氧化活性比烟叶相应组分的抗氧化活性好,这说明烟根中抗氧化活性成分的含量比烟叶要丰富。因此继续研究烟根的化学成分可能会发现烟草中一些新的化学成分,为后续研究它的生物活性提供物质基础,进一步研究烟根中化学成分的生物活性可能会发现新的活性物质,

为扩大烟草的利用提供药理学基础。

参考文献:

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 67 卷[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2005: 152.
- [2] Stedman RL. Chemical composition of tobacco and tobacco smoke [J]. Chem Rev, 1968, 68(2): 153-207.
- [3] Wahlberg I, Enzell CR. Tobacco isoprenoids [J]. Nat Prod Rep, 1987, 4(3): 237-276.
- [4] 严家川, 周华东, 蒋晓江, 等. 烟碱对阿尔茨海默病大鼠海马小胶质细胞活性的影响及意义 [J]. 重庆医学, 2007, 36(24): 2524-2526.
- [5] Ferchmin PA, Lukas RJ, Hann RM, et al. Tobacco cembranoids block behavioral sensitization to nicotine and inhibit neuronal acetylcholine receptor function [J]. J Neurosci Res, 2001, 64(1): 18-25.
- [6] Eterović VA, Del Valle-Rodriguez A, Pérez D, et al. Protective activity of (1S, 2E, 4R, 6R, 7E, 11E)-2, 7, 11-embraatriene-4, 6-diol analogues against diisopropylfluorophosphate neurotoxicity: preliminary structure-activity relationship and pharmacophore modeling [J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21(15): 4678-4686.
- [7] Yang XW, Feng L, Li SM, et al. Isolation, structure, and bioactivities of abiesadines A-Y, 25 new diterpenes from *Abies georgei* Orr [J]. Bioorg Med Chem, 2010, 18(2): 744-754.
- [8] 杨彩艳, 黄晓燕, 马云保, 等. 顺式-5'-(2-氧代丙基)-烟碱的化学结构和生物活性 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 689-693.
- [9] 杨阳, 冯昌帅, 史小欢, 等. 不同种类果醋抗氧化活性比较及机制初步探讨 [J]. 潍坊医学院学报, 2014, 36(6): 417-419.
- [10] Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2004, 44: 239-267.
- [11] 郭妮. 抗氧化应激在糖尿病周围神经病变治疗中的作用研究 [J]. 右江民族医学院学报, 2013, 35(5): 678-680.

收稿日期: 2016-07-03; 修回日期: 2016-09-22