

## 文冠果壳中总皂苷和总黄酮的抗氧化活性

刘荣徽, 魏媛, 刘超, 赵光鸿, 杨洋, 刘玉冰, 汪甜甜, 王珊, 史高峰, 王国英

(兰州理工大学石油化工学院, 兰州 730050)

**摘要:**旨在为文冠果壳资源的综合利用提供参考,通过 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基及脂质过氧自由基清除能力研究文冠果壳总皂苷和总黄酮的抗氧化活性,并分析了抗氧化活性与构效关系。结果表明:文冠果壳总皂苷和总黄酮均具有一定的 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基及脂质过氧自由基清除能力,且文冠果壳总黄酮对 4 种自由基的清除能力均高于文冠果壳总皂苷;构效关系分析表明,文冠果壳总皂苷和总黄酮抗氧化活性差异与其化学结构有关。综上,从文冠果壳中提取总黄酮,并将其作为天然抗氧化剂进行开发,有助于提高文冠果壳资源的综合利用价值。

**关键词:**文冠果壳;总皂苷;总黄酮;抗氧化;构效关系

中图分类号:TS229;Q58

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2024)12-0120-04

### Antioxidant activity of total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells

LIU Ronghui, WEI Yuan, LIU Chao, ZHAO Guanghong, YANG Yang, LIU Yubing, WANG Tiantian, WANG Shan, SHI Gaofeng, WANG Guoying

(School of Petrochemical Engineering, Lanzhou University of Science and Technology, Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** Aiming to provide a reference for the comprehensive utilization of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells resources, the antioxidant activities of total saponins and total flavonoids extracted from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells were studied through their scavenging capacities against DPPH free radicals, superoxide anion radicals, hydroxyl radicals, and lipid peroxide radicals. The relationship between antioxidant activity and structure-activity of the compounds extracted from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells was analyzed. The results indicated that both total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells had certain scavenging abilities against these four types of free radicals, with the total flavonoids exhibiting higher scavenging capacities than the total saponins for all tested radicals. The structure-activity relationship analysis indicated that the differences in antioxidant activity between the total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells were related to their chemical structures. In conclusion, extracting total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells and developing them as natural antioxidants can help enhance the comprehensive utilization value of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells resources.

**Key words:** *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells; total saponins; total flavonoids; antioxidation; structure-activity relationship

收稿日期:2023-12-21;修回日期:2024-05-28

基金项目:甘肃省重点研发计划(21YF5FA083);中央财政引导地方科技发展资金(2021年);甘肃省教育厅青年博士基金(2021年);中国科学院西光寺基金会(2019年);甘肃省领军人才计划(2020年);飞天学者计划(2022)

作者简介:刘荣徽(1996),男,硕士研究生,研究方向为天然产物提取分离(E-mail)1974078181@qq.com。

通信作者:史高峰,教授(E-mail)gaofengshi\_lzh@163.com;王国英,教授(E-mail)wangguoying@lut.edu.cn。

文冠果为无患子科文冠果属木本落叶小乔木或灌木,广泛种植于我国的西北部,是一种木本油料树种,具有极高的经济价值<sup>[1-3]</sup>,目前在文冠果加工

过程中,果壳一般被随意丢弃,造成资源的浪费。文冠果壳中富含黄酮、皂苷类生物活性成分。黄酮是以黄酮醇、二氢黄酮、色原酮等为主要成分,以2-苯基色原酮为核心的一类天然产物,通常与糖类结合形成糖苷,广泛存在于多种植物中,具有抗氧化、改善血液循环、降胆固醇、调节免疫系统、抗炎、抗病毒等功效<sup>[4-7]</sup>。皂苷是一类广泛存在于植物中的天然化合物,由糖苷和非糖部分组成,其中非糖部分通常是三萜类或甾体类化合物,具有很强的水溶性,并且具有抗氧化、抗病毒、抗人类免疫缺陷病毒(HIV)、抗肿瘤等功效,还可以改善小鼠的学习记忆能力,对阿尔茨海默病也有明显的治疗效果<sup>[8-10]</sup>。

目前,有关文冠果壳中总黄酮和总皂苷抗氧化活性的研究较少,且未有对二者抗氧化活性的差异进行比较的报道。本文以文冠果壳中提取的总黄酮和总皂苷为原料,对二者DPPH自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基及脂质过氧自由基清除能力进行测定并对比,探究文冠果壳总黄酮和总皂苷抗氧化活性的差异,以期为文冠果壳资源的有效开发和利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

文冠果壳总黄酮(纯度16.00%),实验室自制;文冠果壳总皂苷(纯度16.00%),实验室自制;甲醇、乙醇、氯化铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、水杨酸,均为分析纯,天津市大茂化学试剂厂;硫酸亚铁(纯度97%),白银良友化学试剂有限公司;邻苯三酚(纯度99%)、DPPH、大豆卵磷脂(纯度98%),上海瀚思化工有限公司;抗坏血酸,分析纯,成都市科隆化学有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

DZF-6030真空干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;BSA124S电子天平,赛多利斯贸易有限公司;HH-6数显恒温水浴锅,金坛区西城新瑞仪器厂;U-2001紫外可见分光光度计,日本Hitachi有限公司;KQ5200D数控超声清洗机,东莞市科桥超声波设备有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器,长城科工贸有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品液的配制

分别称取文冠果壳总皂苷和文冠果壳总黄酮各1g,加入甲醇稀释至质量浓度分别为0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL(分别以纯文冠果壳总皂苷和总黄酮计)的溶液作为样品液。

#### 1.2.2 DPPH自由基清除能力的测定

吸取1 mL样品液于10 mL容量瓶中,加入4 mL 0.03 mg/mL的DPPH-甲醇溶液,迅速摇匀,在37℃下避光反应30 min,用紫外可见分光光度计测定其在516 nm处的吸光度( $A_1$ )。用蒸馏水代替样品液,按上述方法测定吸光度( $A_0$ )。按照公式(1)计算DPPH自由基清除率( $X$ )。

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.2.3 超氧阴离子自由基清除能力的测定

分别吸取2 mL样品液于10 mL容量瓶中,依次加入4.5 mL pH 7.4磷酸盐缓冲液、1 mL 0.2 mg/mL的邻苯三酚溶液,迅速摇匀,在37℃下避光反应30 min,用紫外可见分光光度计测定其在322 nm处的吸光度( $A_1$ )。用蒸馏水代替样品液,按上述方法测定吸光度( $A_0$ )。按照公式(2)计算超氧阴离子自由基清除率( $X$ )。

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

#### 1.2.4 羟自由基清除能力的测定

吸取2 mL的样品液于10 mL容量瓶中,依次加入0.6 mL 5 mmol/L硫酸亚铁溶液、1 mL 3 mmol/L水杨酸-乙醇溶液、2 mL 0.1%  $H_2O_2$ 溶液,迅速摇匀,在37℃下避光反应30 min,用紫外可见分光光度计测定其在510 nm处的吸光度( $A_1$ )。用蒸馏水代替样品液,按上述方法测定吸光度( $A_0$ )。用蒸馏水代替 $H_2O_2$ ,按上述方法测定吸光度( $A_2$ )。按照公式(3)计算羟自由基清除率( $X$ )。

$$X = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

#### 1.2.5 脂质过氧自由基清除能力的测定

吸取2.5 mL样品液于10 mL容量瓶中,依次加入2 mL 1 mmol/L抗坏血酸溶液、0.1 mL 15 mg/mL大豆卵磷脂溶液、4.5 mL pH 7.4磷酸盐缓冲液、0.2 mL 1 mmol/L  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液,迅速摇匀,在37℃下避光反应30 min,用紫外可见分光光度计测定其在266 nm处的吸光度( $A_1$ )。用蒸馏水代替样品液,按上述方法测定吸光度( $A_0$ )。按照公式(4)计算脂质过氧自由基清除率( $X$ )。

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (4)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 文冠果壳总皂苷和总黄酮抗氧化活性

#### 2.1.1 DPPH自由基清除能力

不同质量浓度的文冠果壳总皂苷和总黄酮的

DPPH 自由基清除率如图 1 所示。

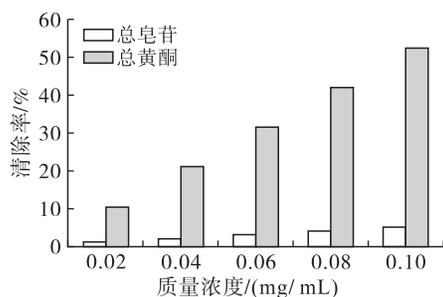


图 1 不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮 DPPH 自由基清除率

Fig. 1 DPPH radical scavenging rates of total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells with different mass concentration

由图 1 可知,随着文冠果壳总皂苷和总黄酮质量浓度的增加,DPPH 自由基清除率逐渐增大,当质量浓度在 0.08 mg/mL 时,文冠果壳总皂苷和总黄酮的 DPPH 自由基清除率分别为 3.77% 和 41.70%,相较于总皂苷,文冠果壳总黄酮有更高的 DPPH 自由基清除能力。

#### 2.1.2 超氧阴离子自由基清除能力

不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮的超氧阴离子自由基清除率如图 2 所示。

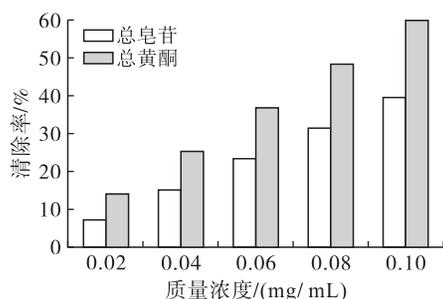


图 2 不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮超氧阴离子自由基清除率

Fig. 2 Superoxide anion radical scavenging rates of total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells with different mass concentration

由图 2 可知,随着文冠果壳总皂苷和总黄酮质量浓度的增加,超氧阴离子自由基清除率逐渐增大,当质量浓度在 0.08 mg/mL 时,文冠果壳总皂苷和总黄酮超氧阴离子自由基清除率分别为 31.76% 和 48.58%,相较于总皂苷,文冠果壳总黄酮有更高的超氧阴离子自由基清除能力。

#### 2.1.3 羟自由基清除能力

不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮的羟自由基清除率如图 3 所示。

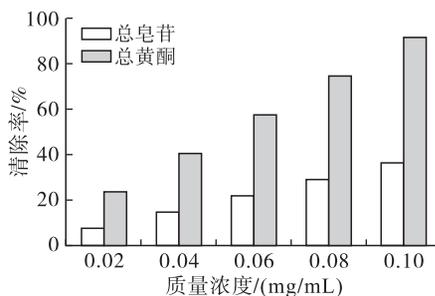


图 3 不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮羟自由基清除率

Fig. 3 Hydroxyl radical scavenging rates of total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells with different mass concentration

由图 3 可知,随着文冠果壳总皂苷和总黄酮质量浓度的增加,羟自由基清除率逐渐增大,当质量浓度在 0.08 mg/mL 时,二者的羟自由基清除率分别为 29.22% 和 74.60%,相较于总皂苷,文冠果壳总黄酮有更高的羟自由基清除能力。

#### 2.1.4 脂质过氧自由基清除能力

不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮的脂质过氧自由基清除率如图 4 所示。

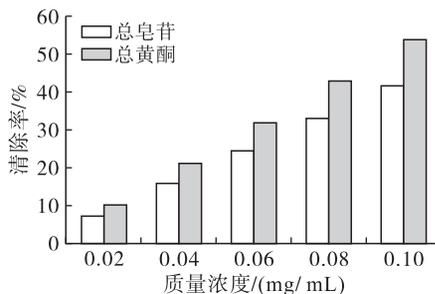


图 4 不同质量浓度文冠果壳总皂苷和总黄酮脂质过氧自由基清除率

Fig. 4 Lipid peroxyl radical scavenging rates of total saponins and total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge shells with different mass concentration

由图 4 可知,随着文冠果壳总皂苷和总黄酮质量浓度的增加,脂质过氧自由基清除率逐渐增大,当质量浓度在 0.08 mg/mL 时,二者的脂质过氧自由基清除率分别为 33.21% 和 43.12%,相较于总皂苷,文冠果壳总黄酮有更高的脂质过氧自由基清除能力。

#### 2.2 抗氧化活性与构效关系分析

黄酮为一种以 2-苯基色原酮为母核的化合物,由两个苯环(A, B)通过一个三碳链(C 环)连接,其结构为 C6-C3-C6。B 环上具有较多的酚羟基,并且 B 环上的酚羟基活性最高<sup>[11]</sup>。B 环上的邻位酚羟基对黄酮的抗氧化活性起着至关重要的作用,其与自由基发生反应后,生成更稳定的共轭半醌

类自由基<sup>[12]</sup>,进而中断自由基的链式反应。同时,半醌类自由基可以与邻位羟基形成氢键,降低体系的能级,提高自由基的稳定性<sup>[13]</sup>。另外,半醌类自由基共轭形成邻苯醌,使邻位氧上分布更多的非配对电子,降低内部能,提高自由基的稳定性<sup>[13]</sup>。A环上的大部分羟基位于间位,其也具有一定的抗氧化活性。C环上的双键和羰基能够延长邻位酚羟基的共轭结构,可以在B环失去电子后,使其自旋生成更加稳定的自由基<sup>[14]</sup>,从而提高其抗氧化能力。

皂苷中一般不含有邻位酚羟基,其所含的羟基极性很强,具有一定的还原性,可以直接清除自由基或抑制启动自由基链式反应,从而终止自由基的链式反应<sup>[15]</sup>,但其抗氧化活性远不及黄酮B环上的邻位酚羟基。且皂苷分子中的双键共轭度较高,其电子在体内移动,难以向官能团输送,电子很难同孤对电子成对,因而不利于与自由基发生反应。此外,皂苷分子中糖基取代基和取代位置的差异,会增加分子之间的空间位阻,使自由基中间体变得不稳定,从而影响其抗氧化能力<sup>[13]</sup>。综上所述,黄酮的抗氧化活性优于皂苷。

### 3 结论

对文冠果壳中提取的总皂苷和总黄酮的DPPH自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基及脂质过氧自由基清除率进行测定并对比体外抗氧化活性,结果发现,文冠果壳总黄酮的抗氧化活性优于文冠果壳总皂苷的。

#### 参考文献:

- [1] RUAN C J, YAN R, WANG B X, et al. The importance of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia*) for restoration of arid habitats and production of bioactive seed oils [J]. *Ecol Eng*, 2017, 99: 504–512.
- [2] SHEN Z, ZHANG K, MA L, et al. Analysis of the genetic relationships and diversity among 11 populations of *Xanthoceras sorbifolia* using phenotypic and microsatellite marker data [J]. *Electron J Biotechnol*, 2017, 26:

33–39.

- [3] SHEN Z, ZHANG K, AO Y, et al. Evaluation of biodiesel from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed kernel oil from 13 areas in China [J]. *For Res*, 2019(3): 869–877.
- [4] LIN M, ZHANG J, CHEN X. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health – promoting properties [J]. *J Funct Foods*, 2018, 47: 469–479.
- [5] PEREZ – VIZCAINO F, FRAGA C G. Research trends in flavonoids and health [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 646: 107–112.
- [6] 张美娜. 提取工艺对山茶油活性成分及抑菌效果的影响 [J]. *食品与机械*, 2019, 35(1): 177–180.
- [7] 李芳, 魏云, 陈艳杰. 铁皮石斛茎、叶、花中黄酮含量及其体外抗氧化活性研究 [J]. *中医学报*, 2019, 34(5): 1020–1023.
- [8] JI X F, XIA M Y, CHI T Y, et al. Investigation of anticancer effect of xanthoceraside *in vitro* and the mechanism of xanthoceraside – induced human breast cancer MCF – 7 cell death [J]. *沈阳药科大学学报*, 2008, 25(S1): 83.
- [9] 纪雪飞, 刘新霞, 吴喆, 等. 文冠果壳提取物对 $\beta$ -淀粉样蛋白致动物学习记忆障碍的改善作用 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2007, 24(4): 232–237, 253.
- [10] 迟天燕, 王力华, 纪雪飞, 等. 文冠果壳苷对侧脑室注射A $\beta$ 1–42致痴呆模型小鼠学习记忆障碍的改善作用 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(4): 314–319.
- [11] 张红雨. 黄酮类抗氧化剂结构活性关系的理论解释 [J]. *中国科学: B辑*, 1999(1): 91–96.
- [12] 赵静, 李玉琴, 王芳乔, 等. 6种黄酮类化合物清除超氧阴离子自由基能力及其构效关系 [J]. *中国医药导报*, 2014(29): 7–10.
- [13] 黄酮类化合物的抗氧化性与其化学结构的关系 [EB/OL]. (2010–07–23)[2024–05–28]. <http://www.doc88.com/p-43141818787.html>.
- [14] 范伟. 黄酮类化合物的抗氧化性及其化学结构之间的相关性 [J]. *化工管理*, 2017(5): 140.
- [15] 邱松山. 油茶桔饼中三萜皂苷结构及抗氧化活性的初步研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2006.