

基于不同极性溶剂的亚麻叶萃取物含量、抗氧化活性及其关联性研究



赵爱萍, 辛 敏, 胡润红, 石福祥, 鲁瑜萍, 郭艺菲, 陶梁春, 陈 延, 张育凤, 马 虹

天水市药品检验检测中心 (甘肃天水 741000)

【摘要】目的 系统评价亚麻叶不同极性溶剂萃取物中 5 种主要活性成分的含量、总黄酮含量及其体外抗氧化活性, 并深入分析其相关性。**方法** 采用 HPLC 法测定绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素 5 种成分的含量; 以芦丁为对照品, 采用氯化铝比色法测定总黄酮含量; 综合运用 DPPH 法、ABTS⁺ 法和 Cu²⁺ 还原能力法全面评估其抗氧化活性。**结果** 乙酸乙酯与正丁醇萃取物中 5 种成分及总黄酮含量较高, 抗氧化活性相对较强。乙酸乙酯萃取物中绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素和总黄酮含量分别为 4.35% ± 0.03%、19.19% ± 0.21%、8.13% ± 0.09%、1.65% ± 0.03%、1.07% ± 0.01%、58.26% ± 0.35%。其 DPPH、ABTS⁺ 和 Cu²⁺ 还原能力的半抑制浓度分别为 7.4、6.6、25.7 μg/mL。正丁醇萃取物中各成分含量及抗氧化活性次之。各指标由高到低 (或活性由强到弱) 的次序一致, 均为: 乙酸乙酯萃取物 > 正丁醇萃取物 > 萃余相浓缩物 > 石油醚萃取物。相关性分析进一步证实, 5 种成分及总黄酮含量与 3 种抗氧化活性指标间均存在显著或极显著正相关。**结论** 乙酸乙酯和正丁醇萃取物是亚麻叶抗氧化活性的主要物质基础, 其中特定成分含量与活性强度显著相关。该研究为亚麻叶作为天然抗氧化剂在相关领域的开发与应用提供了科学依据。

【关键词】 亚麻叶; 不同极性溶剂萃取物; 绿原酸; 异荭草素; 荭草素; 牡荆素; 异牡荆素; 总黄酮; 含量; 抗氧化活性; 相关性

【中图分类号】 R969

【文献标识码】 A

Study on the content, antioxidant activity, and correlation of different polarity solvent extracts from Flax leaves

ZHAO Aiping, XIN Min, HU Runhong, SHI Fuxiang, LU Yuping, GUO Yifei, TAO Liangchun, CHEN Yan, ZHANG Yufeng, MA Hong

Tianshui Drug Inspection and Testing Center, Tianshui 741000, Gansu Province, China

Corresponding author: ZHAO Aiping, Email: zhao_aip_tsypjys@163.com

【Abstract】Objective To systematically evaluate the content of five main active components and total flavonoid content, and in vitro antioxidant activity in different polarity solvent extracts from Flax leaves, and to in-depth analyze their correlation. **Methods** The contents of five components including chlorogenic acid, isoorientin, orientin, vitexin, and isovitexin were determined by HPLC. Using rutin as a reference substance, the total flavonoid content was determined by the aluminum chloride colorimetric method. The antioxidant activities were comprehensively evaluated by DPPH,

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202507008

基金项目: 天水市科技支撑计划项目 (2020-NCK-7969); 甘肃省药品科研项目 (2022GSMPA0042)

通信作者: 赵爱萍, 副主任药师, Email: zhao_aip_tsypjys@163.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

ABTS⁺ and Cu²⁺ reduction capacity methods. **Results** The five components and total flavonoid content in the extracts of ethyl acetate and n-butanol were relatively high, and the antioxidant activity was relatively strong. The contents of chlorogenic acid, isoorientin, orientin, vitexin, isovitexin, and total flavonoid in the ethyl acetate extract were 4.35%±0.03%, 19.19%±0.21%, 8.13%±0.09%, 1.65%±0.03%, 1.07%±0.01% and 58.26%±0.35%, respectively. The half-inhibitory concentration of its DPPH, ABTS⁺, and Cu²⁺ reduction abilities were 7.4, 6.6, and 25.7 µg/mL, respectively. The content and antioxidant activity of each component in the n-butanol extract were secondary. The order of each indicator from high to low (or activity from strong to weak) was consistent, which was as follows: ethyl acetate extract>n-butanol extract>residual phase concentrate>petroleum ether extract. The correlation analysis further confirmed that there was a significant or extremely significant positive correlation between the five components, total flavonoid content, and three antioxidant activity indicators. **Conclusion** The ethyl acetate and n-butanol extracts are the main material basis for the antioxidant activity of Flax leaves, with specific component contents significantly correlated with activity intensity. This study provides a scientific basis for the development and application of Flax leaves as natural antioxidants in related fields..

【Keywords】 Flax leaves; Extracts from different polarized solvents; Chlorogenic acid; Isoorientin; Orientin; Vitexin; Isovitexin; Total flavonoids; Content; Antioxidant activity; Relevance

亚麻 (*Linum usitatissimum* L.) 为亚麻科亚麻属植物, 可分为纤用亚麻、油用亚麻和纤油两用亚麻^[1], 在全国大部分地区均有栽培, 主要用于提取亚麻籽油 (胡麻油) 和生产亚麻纤维。亚麻也是民间常用药材, 其根、茎、叶、花和种子 (亚麻子) 均可入药, 茎叶可用于治疗肝风头痛、刀伤出血、风邪入窍所致口不能言等症。《滇南本草》记载亚麻“味甘辛, 性平, 无毒”。早期研究表明, 亚麻茎叶中含有异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素等碳苷黄酮类成分以及绿原酸^[2-3], 这些成分作为多种中草药的生物活性物质, 在亚麻叶中含量较高^[4]。其中, 异荭草素等黄酮类化合物具有抗氧化、抗突变、抗肿瘤、酶抑制、抗溃疡、解痉、抗菌、抗炎、降血脂、治疗糖尿病、抗哮喘、保护急性肝损伤、镇痛和雌激素样作用等多种生物活性与生理功能, 是食品、医药和化妆品领域不可或缺的重要化合物^[5-13]; 绿原酸则具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降血脂、降血糖及免疫调节等多方面的药理作用^[14]。目前, 国内外对亚麻的研究主要集中在亚麻籽及亚麻纤维方面: 亚麻籽油富含亚油酸和 α-亚麻酸, 是 α-亚麻酸最主要的植物来源, 具有降血压、降血脂、抗炎等多种功效, 被誉为“液体黄金”; 此外, 亚麻籽油中还含有丰富的生育酚和类胡萝卜素, 是一种具有保健作用的健康食用油, 并表现出抗真菌活性, 能够防止慢性草甘膦 (roundup) 诱导的毒性和氧化应激^[15-17]。相对而言, 作为药用部

位的根、茎、叶等组织的研究仍较为有限。

活性氧可引发脂质过氧化及核酸、蛋白质的结构改变, 进而导致动脉粥样硬化、缺血性心脏病等疾病的发生; 而抗氧化剂能够抑制活性氧的产生并清除细胞内自由基, 从而发挥保护作用^[18]。黄酮类化合物与酚酸类化合物作为天然抗氧化剂的主要功能成分, 对 2,2-二苯基-1-苦基肼 (DPPH) 等自由基表现出优异的清除能力^[19]。本研究通过不同极性溶剂对亚麻叶提取物进行萃取, 以异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素和绿原酸五种成分含量及总黄酮含量为主要活性指标, 结合 DPPH 与 2,2'-联氮双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS⁺) 自由基清除能力及 Cu²⁺ 还原法评估其体外抗氧化活性, 系统分析不同极性溶剂萃取物中上述 5 种成分含量、总黄酮含量与抗氧化活性之间的相关性, 以期对亚麻叶中抗氧化活性成分的深入开发及其在食品、药品和化妆品等领域的综合利用提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

LC-20ADXR 系列高效液相色谱仪 (日本岛津公司); HITACHI U-3900H 紫外-可见分光光度计 (日本日立公司); KH-250DB 数控超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); RV10 自动控制型旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司); Precisa XR 205SM-DR 电子天平、EL204-IC 电子

天平和 Mettler XS105 电子天平均购自瑞士梅特勒-托利多公司；DZF-6021 型真空干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

对照品：绿原酸（批号：110753-200413，纯度 96.2%）、芦丁（批号：100080-201811，纯度 92.4%）和维生素 C（批号：100425-201504，纯度 100.0%）均购自中国食品药品检定研究院；荭草素（批号：C12779139，纯度 97.9%）和异荭草素（批号：C15164920，纯度 $\geq 98\%$ ）购自上海麦克林生化科技有限公司；牡荆素（批号：ST021743，纯度 $\geq 98\%$ ）和异牡荆素（批号：YS021072，纯度 $\geq 98\%$ ）购自合肥博美生物。

试验所用亚麻叶于 2022 年 4 月 5 日播种于甘肃陇南礼县红河，于 2022 年 5 月 20 日进入开花期时进行采集。采收后经净制处理，及时晒干，并进行茎叶分离。所用亚麻材料由甘肃省药品检定研究院主任药师宋平顺老师鉴定，确认为本地种植、用于榨取食用油的亚麻科亚麻属植物（*Linum usitatissimum* L.）

ABTS⁺（海蓝季生物，批号：180305，纯度 98%）；DPPH（派尼化学试剂厂，批号：20180721）；新亚铜（成都化学试剂厂，批号：20141206，纯度 98%）；甲醇和乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 不同极性溶剂萃取物制备

取晒干亚麻叶粉碎后过筛，称取粉末 240 g，加入 15 倍量 75% 乙醇，于 80℃ 水浴回流提取 1.5 h，共提取 2 次，合并提取液，旋转蒸发至无醇味^[20]。依次使用石油醚（60~90℃）、乙酸乙酯和正丁醇分别萃取 3 次，合并各萃取液及萃余相，分别旋转蒸发去除溶剂，并于 60℃ 减压干燥至恒重，得到不同极性溶剂萃取物及萃余相浓缩物，并按以下公式计算萃取率：不同极性溶剂萃取物质量/亚麻叶晒干粉末质量 $\times 100\%$ ，结果见表 1。

2.2 绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素的含量测定

采用 HPLC 法，色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C₈ 柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m）；流动相：乙腈（A）-0.1% 甲酸溶液（B），梯度洗脱

（0~40 min，13% A；40~60 min，13% $\rightarrow$ 30% A；60~80 min，13% A）；检测波长：350 nm；柱温：40℃；流速：1.0 mL/min；进样量：5 μ L^[4]。

分别精密称取不同极性溶剂萃取物及萃余相浓缩物适量，以甲醇溶解并稀释至以下浓度：石油醚萃取物 0.50 mg/mL、乙酸乙酯萃取物 0.16 mg/mL、正丁醇萃取物 0.30 mg/mL、萃余相浓缩物 0.20 mg/mL，作为各极性部位中 5 种成分含量测定的供试品溶液。制备绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素和异牡荆素的混合对照品溶液。精密量取各溶液适量，按上述色谱条件进样测定，记录色谱图（图 1）。供试品溶液各成分（绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素）色谱峰的保留时间与对照品一致，理论板数、分离度及拖尾因子等系统适用性指标均符合《中国药典（2020 年版）》四部^[21]相关规定。各成分的线性范围分别为：绿原酸 4.44~40.00 μ g/mL、异荭草素 1.97~17.73 μ g/mL、荭草素 4.46~40.17 μ g/mL、牡荆素 0.85~7.65 μ g/mL、异牡荆素 0.96~8.64 μ g/mL。检测限分别为：绿原酸 0.20 μ g/mL、异荭草素 0.09 μ g/mL、荭草素 0.11 μ g/mL、牡荆素 0.14 μ g/mL、异牡荆素 0.12 μ g/mL。

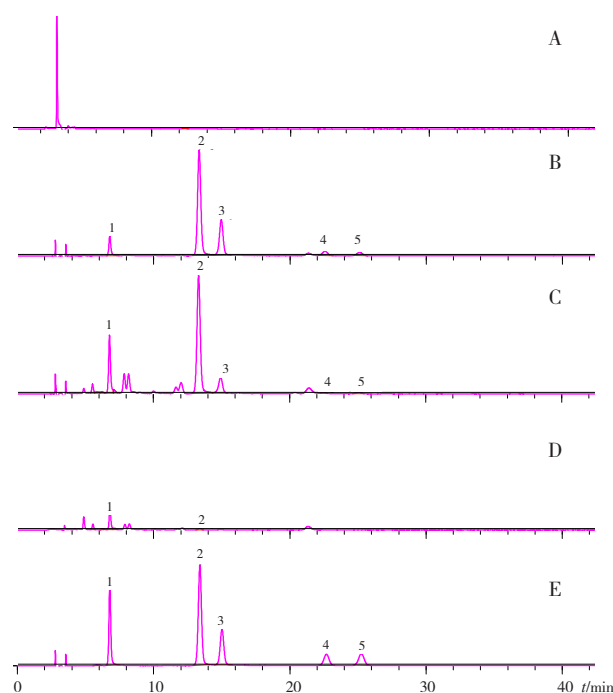


图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatogram

注：A. 石油醚萃取物供试品溶液；B. 乙酸乙酯萃取物供试品溶液；C. 正丁醇萃取物供试品溶液；D. 萃余相浓缩物供试品溶液；E. 混合对照品溶液；1. 绿原酸；2. 异荭草素；3. 荭草素；4. 牡荆素；5. 异牡荆素。

按上述色谱条件测定绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素与异牡荆素的含量,结果见表1。在不同极性溶剂萃取物中,绿原酸含量分布依次为:正丁醇萃取物>乙酸乙酯萃取物>萃余相浓缩物>石油醚萃取物,表明绿原酸主要分布于乙酸乙酯相和正丁醇相,且在正丁醇相中含量略高;4种碳苷黄酮类成分(异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素)的含量则依次为:乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>萃余相浓缩物>石油醚萃取物,这些成分均为亚麻叶中已鉴定的碳苷黄酮类化合物^[22]。

2.3 总黄酮的含量测定

取芦丁对照品 20 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加适量乙醇超声使溶解,放冷后加乙醇至刻度,摇匀,制成芦丁对照品溶液。分别精密量取该对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置 25 mL 量瓶中,各加乙醇补足至 6.0 mL,依次加入 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,静置 6 min;加入 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,静置

6 min;再加入 4% 氢氧化钠溶液 10 mL,最后加乙醇至刻度,摇匀,静置 15 min。另取乙醇 6.0 mL 同法操作制备空白溶液,照紫外可见分光光度法^[23]于 511 nm 波长处测定吸光度(A)。结果表明,芦丁对照品溶液在 8.12~48.72 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

分别精密称取不同极性溶剂萃取物及萃余相浓缩物适量,用乙醇溶解并稀释制成以下浓度的供试品溶液:石油醚萃取物 2.02 mg/mL、乙酸乙酯萃取物 0.32 mg/mL、正丁醇萃取物 0.30 mg/mL、萃余相浓缩物 0.40 mg/mL,用于总黄酮含量测定。按“2.3”项下方法测定 A 值并计算总黄酮含量,结果见表1。总黄酮含量依次为:乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>萃余相浓缩物>石油醚萃取物,表明总黄酮主要富集于乙酸乙酯相与正丁醇相。这两部分可作为亚麻叶黄酮类成分的主要来源,在食品、药品及化妆品等领域进行开发应用,也可用于黄酮化合物的进一步提取与分离。

表1 5种成分和总黄酮含量测定结果($\bar{x} \pm s$, %, $n=3$)

Table 1. Determination results of five components and total flavonoid content ($\bar{x} \pm s$, %, $n=3$)

样品	提取率	绿原酸	异荭草素	荭草素	牡荆素	异牡荆素	总黄酮	4种成分占总黄酮比例
石油醚萃取物	5.42 $\pm$ 0.17	ND	ND	ND	ND	ND	1.01 $\pm$ 0.02	0.00
乙酸乙酯萃取物	4.41 $\pm$ 0.10	4.35 $\pm$ 0.03	19.19 $\pm$ 0.21	8.13 $\pm$ 0.09	1.65 $\pm$ 0.03	1.07 $\pm$ 0.01	58.26 $\pm$ 0.35	51.56
正丁醇萃取物	15.46 $\pm$ 0.45	5.34 $\pm$ 0.02	7.42 $\pm$ 0.07	1.54 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.03	0.56 $\pm$ 0.01	37.36 $\pm$ 0.23	26.53
萃余相浓缩物	15.14 $\pm$ 0.56	0.94 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.00	ND	ND	ND	6.75 $\pm$ 0.06	0.89

注:“ND”代表未检出。

2.4 DPPH自由基清除能力的测定

分别精密量取乙酸乙酯萃取物乙醇溶液(28.18~338.10 $\mu\text{g/mL}$)、正丁醇萃取物乙醇溶液(68.50~411.00 $\mu\text{g/mL}$)、萃余相浓缩物乙醇溶液(61.58~369.50 $\mu\text{g/mL}$)和石油醚萃取物乙醇溶液(71.83~431.00 $\mu\text{g/mL}$)各 0.6 mL,加入 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液 5 mL,混匀后于常温下密封避光静置 30 min,在 517 nm 波长处测定 A 值(A_1)。分别以乙醇代替 DPPH 溶液和供试品溶液同法操作,测得 A 值作为空白 A_{01} 和 A_0 。以维生素 C 对照品溶液(10~400 $\mu\text{g/mL}$)为阳性对照,每个浓度平行测定 3 次,取平均值。按反应液中待测物质量浓度计算 DPPH 自由基清除率,并计算清除率达 50% 时的质量浓度(IC_{50})^[19],公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_{01}) / A_0] \times 100\%$$

亚麻叶不同溶剂萃取物 DPPH 自由基清除能力测定结果见图2和表2。结果显示,各萃取物对 DPPH 自由基的清除能力随浓度增加而增强,表明其抗氧化能力具有浓度依赖性,但均低于维生素 C 对照品。其中,乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物表现出较强的抗氧化能力;萃余相浓缩物抗氧化能力较弱;石油醚萃取物几乎无抗氧化活性。原因在于石油醚极性最小,主要萃取出脂溶性成分,而目标活性成分(如黄酮类和绿原酸)属于极性化合物,在这部位中含量极低,因此活性可忽略不计。

2.5 ABTS⁺自由基清除能力的测定

分别精密量取乙酸乙酯萃取物乙醇溶液(28.18~338.10 $\mu\text{g/mL}$)、正丁醇萃取物乙醇溶液(68.50~411.00 $\mu\text{g/mL}$)、萃余相浓缩物乙醇溶液(61.58~369.50 $\mu\text{g/mL}$)和石油醚萃取物乙醇溶液(71.83~431.00 $\mu\text{g/mL}$)各 0.6 mL,加入

5.0 mL ABTS工作液（由 4.2 mmol/L ABTS⁺ 溶液与等体积 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液混合，避光静置 12 h 以上，临用前以乙醇稀释约 70 倍，调节其在 734 nm 波长处 *A* 值至约 0.85），室温反应 6 min，于 734 nm 波长处测定 *A* 值（*A*₁）。分别以乙醇代替 ABTS 工作液和供试品溶液同法操作，测得 *A* 值作为空白 *A*₀₁ 和 *A*₀。以维生素 C 对照品溶液（10~400 μg/mL）为阳性对照，每个浓度平行测定 3 次，取平均值。按反应液中待测物质量浓度计算 ABTS⁺ 自由基清除率，并计算 IC₅₀ 值^[24]，公式如下：

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率 } (\%) = [1 - (A_1 - A_{01}) / A_0] \times 100\%$$

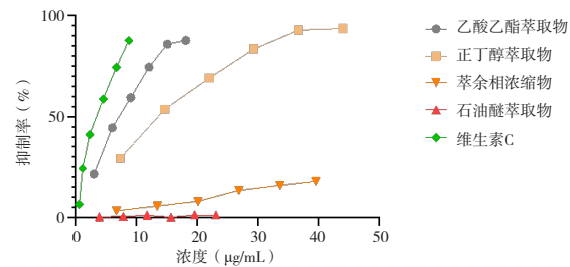


图2 亚麻叶不同极性溶剂萃取物清除DPPH作用
Figure 2. DPPH scavenging effect of different polar solvent extracts from Flax leaves

表2 亚麻叶不同萃取物的抗氧化
活性IC₅₀值 ($\bar{x} \pm s$, %, *n*=3)

Table 2. The antioxidant activity IC₅₀ values of different polarity solvent extracts of Flax leaves ($\bar{x} \pm s$, %, *n*=3)

不同萃取物	消除ABTS 自由基	消除DPPH 自由基	Cu ²⁺ 还原 能力
乙酸乙酯萃取物	7.40 ± 0.02	6.60 ± 0.02	25.70 ± 0.05
正丁醇萃取物	14.30 ± 0.03	12.90 ± 0.03	39.20 ± 0.07
萃余相浓缩物	92.50 ± 0.05	176.40 ± 0.04	289.30 ± 0.32
维生素C	1.90 ± 0.02	2.90 ± 0.02	11.00 ± 0.06

亚麻叶不同溶剂萃取物 ABTS⁺ 自由基清除能力测定结果见图 3 和表 2。结果显示，各萃取物的清除能力随浓度增加而增强，表明其抗氧化作用呈浓度依赖性，但均弱于维生素 C 对照品。清除能力由强到弱依次为：乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>萃余相浓缩物>石油醚萃取物。由此可见，乙酸乙酯与正丁醇萃取物具有较强的抗氧化能力，萃余相浓缩物抗氧化能力较弱，而石油醚萃取物几乎无抗氧化活性。

2.6 Cu²⁺还原能力的测定

分别精密量取乙酸乙酯萃取物乙醇溶液

（27.45~164.70 μg/mL）、正丁醇萃取物乙醇溶液（68.50~411.00 μg/mL）、萃余相浓缩物乙醇溶液（61.58~369.50 μg/mL）和石油醚萃取物乙醇溶液（35.92~215.50 μg/mL）各 1.2 mL，依次加入 1 mL 氯化铜溶液（0.01 mol/L）、1 mL 新亚铜乙醇溶液（7.5 mmol/L）和 1 mL 乙酸铵溶液（1 mol/L），混匀后于室温反应 30 min，在 450 nm 波长处测定 *A* 值（*A*₁）。以等量乙醇代替氯化铜溶液和新亚铜溶液，同法操作，测得 *A* 值作为空白 *A*₀₁。以维生素 C 对照品溶液（10~60 μg/mL）为阳性对照，同法操作，每个浓度平行测定 3 次，取平均值。根据反应液中待测物的质量浓度计算 Cu²⁺ 还原百分率，并计算 IC₅₀^[25-27]，公式如下（*A*_{max} 为本试验中 *A* 值最高值）：

$$\text{Cu}^{2+} \text{ 还原百分率 } (\%) = (A_1 / A_{\text{max}}) \times 100\%$$

亚麻叶不同溶剂萃取物对 Cu²⁺ 还原能力的测定结果见图 4 和表 2。结果显示，除石油醚萃取物外，其余各萃取部位均表现出一定的还原能力，且该还原能力随浓度增加而增强，表明其抗氧化活性具有浓度依赖性。各萃取物对 Cu²⁺ 的还原能力强弱依次为：乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>萃余相浓缩物>石油醚萃取物，但均弱于维生素 C 对照品。

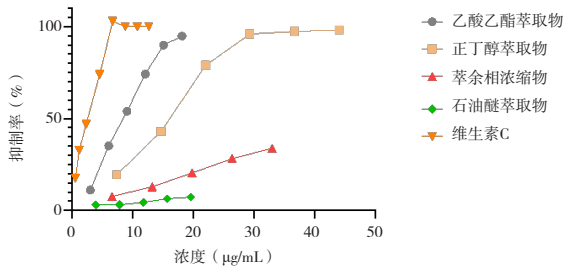


图3 亚麻叶不同极性溶剂萃取物清除ABTS作用
Figure 3. ABTS scavenging effect of different polar solvent extracts from Flax leaves

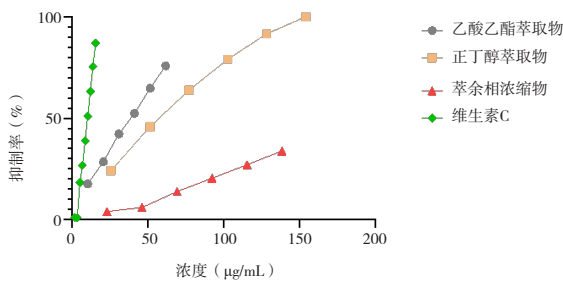


图4 亚麻叶不同极性溶剂萃取物对Cu²⁺的还原能力
Figure 4. Reduction ability of different polar solvent extracts from Flax leaves on Cu²⁺

2.7 亚麻叶不同极性溶剂萃取物5种成分、总黄酮含量与抗氧化活性的相关性

以绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素 5 种成分和总黄酮的平均含量，以及不同极性溶剂萃取物对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除能力及对 Cu²⁺ 还原能力的 IC₅₀ 为评价指标，采用 Pearson 相关性分析方法，系统分析各成分含量与抗氧化活性之间的相关性。由表 3 可知，绿原酸、异荭草素、异牡荆素、总黄酮含量与 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除能力及对 Cu²⁺ 还原能力之间均呈极显著相关 ($P < 0.01$)，其中绿原酸的相关性强于异荭草素、异牡荆素和总黄酮，这可能与其酚羟基提供电子的能力较强有关；4 种碳苷黄酮成分与总黄酮之间亦呈极显

著相关 ($P < 0.01$)，说明这 4 种成分是构成总黄酮的主要组成，其含量高低直接影响总黄酮水平；4 种碳苷黄酮成分之间也存在极显著相关性 ($P < 0.01$)，表明其在亚麻叶次生代谢过程中积累具有协同或共变趋势；3 种抗氧化活性评价方法间亦呈极显著相关 ($P < 0.01$)，提示该方法组合可用于全面评价亚麻叶不同极性部位的抗氧化能力；荭草素和牡荆素与 3 种抗氧化活性间仅呈显著相关 ($P < 0.05$)，相关性强弱低于异荭草素、异牡荆素和总黄酮，可能与其在样品中含量较低有关。综上，5 种成分及总黄酮含量与抗氧化活性之间普遍存在显著或极显著相关性，是亚麻叶不同极性溶剂萃取物抗氧化活性的主要物质基础。

表3 5种成分、总黄酮含量与抗氧化活性的相关性

Table 3. The correlation between the 5 components, total flavonoid content, and antioxidant activity

名称	ABTS ⁺ 自由基清除	DPPH自由基清除	Cu ²⁺ 还原能力	绿原酸	异荭草素	荭草素	牡荆素	异牡荆素	总黄酮
ABTS ⁺ 自由基清除	1.000								
DPPH自由基清除	0.999 ^b	1.000							
Cu ²⁺ 还原能力	1.000 ^b	1.000 ^b	1.000						
绿原酸	-0.958 ^b	-0.969 ^b	-0.966 ^b	1.000					
异荭草素	-0.835 ^b	-0.812 ^b	-0.819 ^b	0.643	1.000				
荭草素	-0.700 ^a	-0.670 ^a	-0.680 ^a	0.467	0.977 ^b	1.000			
牡荆素	-0.731 ^a	-0.703 ^a	-0.712 ^a	0.506	0.986 ^b	0.999 ^b	1.000		
异牡荆素	-0.909 ^b	-0.892 ^b	-0.898 ^b	0.753 ^a	0.988 ^b	0.933 ^b	0.949 ^b	1.000	
总黄酮	-0.933 ^b	-0.918 ^b	-0.923 ^b	0.792	0.977 ^b	0.910 ^b	0.928 ^b	0.998 ^b	1.000

注：^a $P < 0.05$ 为显著相关；^b $P < 0.01$ 为极显著相关。

3 讨论

3.1 亚麻叶不同极性溶剂萃取物中5种成分及总黄酮的含量测定

本研究在测定亚麻叶不同极性溶剂萃取物中 5 种成分含量时，对原文献方法^[4]进行了改进，将 C₁₈ 色谱柱更换为 Agilent ZORBAX SB-C₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱。系统适用性试验结果表明，该色谱柱能有效改善异荭草素与荭草素的分离效果，且不影响其他系统适用性要求。

亚麻叶不同极性溶剂萃取物中绿原酸、异荭草素、荭草素、牡荆素、异牡荆素及总黄酮的含量分布存在明显差异。这些成分主要富集于乙酸乙酯和正丁醇萃取部位，其中乙酸乙酯萃取物中除绿原酸外的 4 种碳苷黄酮类成分及总黄酮含量最高。绿原酸作为由咖啡酸与奎尼酸缩合而成的酚酸类成分，广泛分布于金银花、杜仲、咖啡和苹果等植物中，具有抗氧化、抗菌、抗炎及降糖

调脂等多种药理活性，在食品、医药和化妆品中应用广泛^[28-30]。其在正丁醇萃取物中含量略高，提示其极性相对较大，在正丁醇中溶解性更优。

黄酮类化合物是以 C6-C3-C6 结构为基本骨架的植物次生代谢产物。亚麻叶中已报道的黄酮成分包括异荭草素、荭草素、牡荆素和异牡荆素等碳苷黄酮^[22]，其结构稳定性优于氧苷黄酮，并具有心血管保护、抗氧化、抗炎及神经保护等多种生理功能^[31]。此外，研究还表明亚麻叶提取物中含有夏佛塔苷、獐牙菜素及 Vicenin-2 等多种黄酮类成分^[32]，这些成分常作为中药材的质量控制与活性评价指标^[33-35]，因此本研究亦对总黄酮含量进行了系统考察。萃余相浓缩物中总黄酮含量仅为 6.75%，并含有少量绿原酸与异荭草素；石油醚萃取物中则几乎未检出总黄酮及上述 5 种成分。因此，成分含量较高的乙酸乙酯与正丁醇萃取物在食品、药品及化妆品等领域具有较好的开发价值。

3.2 抗氧化活性测定

DPPH 是一种合成的稳定自由基, 具有三苯环结构, 其在 515 nm 附近存在最大吸收峰, 本实验测定其实际最大吸收波长为 517 nm。当体系中存在自由基清除剂时, DPPH 溶液会发生褪色, 其 *A* 值的降低程度与清除剂的含量及清除能力呈定量关系。由于 DPPH 法稳定性高、操作简便, 现已被广泛应用于体外抗氧化能力的评价^[36]。

CUPRAC 法 (Cu^{2+} 还原能力测定法) 基于电子转移机制, 反应条件接近生理环境, 适用于亲水性与亲脂性抗氧化剂的评价。该方法试剂稳定、成本低、易于操作^[26], 在本试验所涉浓度范围内线性关系良好, 适用于亚麻叶不同溶剂萃取物的 Cu^{2+} 还原能力测定。

抗氧化作用在维持人体健康方面具有重要意义, 可有效延缓衰老, 降低癌症、炎症、肥胖、糖尿病、心血管疾病、白内障及神经退行性疾病等多种慢性病的发生风险, 并具有抗菌、抗过敏、抗高血压、抗病毒及促进皮肤伤口愈合等作用^[37]。

本研究通过 ABTS⁺、DPPH 及 Cu^{2+} 还原能力测定, 发现亚麻叶的乙酸乙酯与正丁醇萃取物均表现出较强的抗氧化活性, 具备作为天然抗氧化剂开发的潜力。研究结果为亚麻叶的提取分离及其在食品、药品与化妆品领域的进一步开发利用提供了科学依据。

参考文献

- 徐朗然, 黄成就, 编. 中国植物志. 第 43 (1) 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 102.
- 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 852–853.
- Ibrahim RK. Chromatographic and spectrophotometric evidence for the occurrence of mixed O- and C-glycoflavones in flax (*Linum usitatissimum*) cotyledons [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1969, 192(3): 549–552. DOI: 0.1016/0304-4165(69)90411-5.
- 赵爱萍, 王振宇, 魏晓慧, 等. HPLC 法测定亚麻叶中 5 种成分含量 [J]. *中药材*, 2016, 39(4): 826–828. [Zhao AP, Wang ZY, Wei XH. Determination of five components in flax leaves by HPLC method [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2016, 39(4): 826–828.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2016.04.032.
- 李洪玉, 孙静芸, 章建民, 等. HPLC 测定不同来源竹叶中荭草苷、异荭草苷和异牡荆苷的含量 [J]. *中成药*, 2004, 26(3): 208–210. [Li HY, Sun JY, Zhang JM, et al. Determination of orientin, isoorientin isovitexin in Bamboo leaf from different sources by HPLC [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2004, 26(3): 208–210.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2004.03.014.
- 薛婧, 胡金丽, 宋洋波, 等. 黄果梨总黄酮提取工艺及抗

氧化活性研究 [J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(1): 92–96. [Xue J, Hu JL, Song YB, et al. Study on extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Pyrus bretschneideri* Rehd. [J]. *Cereals & Oils*, 2023, 36(1): 92–96.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotat-LSYY202301022.htm>.

- Liang S, Zhao YY, Chen GZ, et al. Isoorientin ameliorates OVA-induced asthma in a murine model of asthma [J]. *Exp Biol Med*, 2022, 247: 1479–1488. DOI: 10.1177/15353702221094505.
- Zhang L, Zhu XZ, Badamjav R, et al. Isoorientin protects lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via modulating Keap1/Nrf2-HO-1 and NLRP3 inflammasome pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 917: 174748. DOI: 10.1016/j.ejphar.2022.174748.
- Huang YS, Chen S, Pang LJ, et al. Isovitexin protects against acute liver injury by targeting PTEN, PI3K and Bcl-2 via modulation of m6A [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 917: 174749. DOI: 10.1016/j.ejphar.2022.174749.
- Li SG, Liu HL, Lin Z, et al. Isoorientin attenuates doxorubicin-induced cardiac injury via the activation of MAPK, Akt, and Caspase-dependent signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2022, 101: 154105. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154105.
- Kalinova JP, Vrchotova N, Triska J. Vitexin and isovitexin levels in sprouts of selected plants [J]. *J Food Compos Anal*, 2021, 100: 103895. DOI: 10.1016/j.jfca.2021.103895.
- 盛亚男, 王长远. 牡荆素预防和治疗疾病作用机制研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(17): 2156–2161. [Sheng YN, Wang CY. Research progress on the mechanism of vitexin in preventing and treating diseases [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2021, 38(17): 2156–2161.] DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.17.018.
- 罗通旺, 金研, 盛焱凡, 等. 异荭草素的生物学功能研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2025, 52(4): 1579–1589. [Luo TW, Jin Y, Sheng YF, et al. Research progress on the biological functions of isoorientin [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2025, 52(4): 1579–1589.] DOI: 10.16431/j.cnki.1671-7236.2025.04.012.
- 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. *药学报*, 2022, 55(10): 2273–2280. [Wang QH, Du TT, Zhang ZH, et al. Advances in research on the pharmacological effects and mechanism of action of chlorogenic acid [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2022, 55(10): 2273–2280.] DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0423.
- 袁彬宏, 陈亚淑, 周琦. 亚麻籽油挥发性风味物质研究进展 [J]. *食品科学*, 2023, 44(19): 290–298. [Yuan BH, Chen YS, Zhou Q, et al. Advances in the study of volatile flavor substances in flaxseed oil [J]. *Food Science*, 2023, 44(19): 290–298.] DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20221021-216.
- Amrouche A, Benmehdi H, Dalile H, et al. Evaluation of antifungal activity of free fatty acids methyl esters extract isolated from Algerian *Linum usitatissimum* L. seeds against toxigenic *Aspergillus* [J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2013, 3(6): 443448. DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60094-5.
- Djaber N, Ounaceur LS, Moubine BN, et al. Roundup-induced biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of rats: the ameliorative effects of *Linum usitatissimum* oil [J]. *Acta*

- Biochim Pol, 2020, 67(1): 53–64. DOI: [10.18388/abp.2020_2898](https://doi.org/10.18388/abp.2020_2898).
- 18 张生杰, 董欣昱, 庞文娟. 宣肺止咳剂中总黄酮、总酚含量测定及其抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2024, 46(4): 1289–1292. [Zhang SJ, Dong XY, Pang WJ. Determination of total flavonoids and phenols content and study on antioxidant activity in Xuanfei Zhishou compound[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(4): 1289–1292.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.034](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.034).
 - 19 张小龙, 吴斌霞, 朱钊宇, 等. 山梔子不同部位活性成分含量及抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2024, 45(12): 10–17. [Zhang XL, Wu BX, Zhu ZY, et al. Content and antioxidant activity of active components in different parts of *Gardenia jasminoides* Ellis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(12): 10–17.] DOI: [10.13386/j.issn1002-0306.2023090003](https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023090003).
 - 20 郭亮, 赵爱萍. 亚麻叶中活性物质提取工艺优化研究[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(6): 553–557. [Guo L, Zhao AP. Study on the process optimization of active substances extraction from Flax leaves[J]. Journal of Cold-Arid Agricultural Sciences, 2023, 2(6): 553–557.] DOI: [10.3969/j.issn.2097-2172.2023.06.014](https://doi.org/10.3969/j.issn.2097-2172.2023.06.014).
 - 21 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 61–64.
 - 22 邵莹, 吴启南, 乐巍, 等. 碳苷黄酮保护心肌缺血损伤作用的研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(1): 128–139. [Shao Y, Wu QN, Yue W, et al. Research progress on C-glycosylflavones for protection of myocardial ischemia[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(1): 128–139.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2015.01.025](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2015.01.025).
 - 23 刘文强, 董壮壮, 孙庆, 等. 桑叶茶中多酚、黄酮含量与抗氧化作用的相关性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(2): 239–245. [Liu WQ, Dong ZZ, Sun Q, et al. Correlation between the contents of active substances in Mulberry leaf tea and their antioxidant activities[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(2): 239–245.] <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7109365193>.
 - 24 徐永斌, 熊新民, 贺友铎, 等. 张家口艾叶脂溶性成分、抑菌和抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(3): 288–294. [Xu YB, Xiong XM, He YD, et al. Analysis of liposoluble composition, antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia argyi* in Zhangjiakou[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(3): 288–294.] DOI: [10.13386/j.issn1002-0306.2023060058](https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060058).
 - 25 钟淑娟, 杨欣, 李静, 等. 杜仲不同部位总黄酮含量及抗氧化活性研究[J]. 中国药房, 2017, 28(13): 1787–1790. [Zhong SJ, Yang X, Li J, et al. Study on the total flavonoids content and antioxidant activity in different parts of *Eucommia ulmoides* [J]. China Pharmacy, 2017, 28(13): 1787–1790.] DOI: [10.6039/j.issn.1001-0408.2017.13.17](https://doi.org/10.6039/j.issn.1001-0408.2017.13.17).
 - 26 Kılınçer M, Çiçek G, Özyürek M, et al. Uncertainty estimation for total antioxidant capacity measurement of apple juice using main CUPRAC method[J]. Chem Metrol, 2022, 16: 28–37. DOI: [10.25135/jcm.67.2201.2311](https://doi.org/10.25135/jcm.67.2201.2311).
 - 27 Yalçın S, Uzun M, Karakaş Ö, et al. Determination of total antioxidant capacities of algal pigments in seaweed by the combination of high-performance liquid chromatography (HPLC) with a cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay[J]. Anal Lett, 2020, 54(14): 2239–2258. DOI: [10.1080/00032719.2020.1855439](https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1855439).
 - 28 李阳昊, 李庆荣, 陈孝红, 等. 绿原酸抗菌作用及机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(2): 141–150. [Li YH, Li QR, Chen XH, et al. Advances in research on the antibacterial effects and mechanism of chlorogenic acid[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2024, 49(2): 141–150.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-8689.2024.02.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-8689.2024.02.003).
 - 29 宋帅涛, 张逸, 张羽飞, 等. 绿原酸衍生物的制备及其活性研究进展[J]. 中国食品学报, 2024, 24(4): 469–478. [Song ST, Zhang Y, Zhang YF, et al. Research progress on the preparation and activity of chlorogenic acid derivatives[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(4): 469–478.] DOI: [10.16429/j.1009-7848.2024.04.044](https://doi.org/10.16429/j.1009-7848.2024.04.044).
 - 30 刘杰, 马翔, 赵韬, 等. 绿原酸的生理功能及其在畜禽生产中的应用[J]. 饲料工业, 2024, 45(19): 13–19. [Liu J, Ma X, Zhao T, et al. Physiological functions of chlorogenic acid and its application in livestock and poultry production[J]. Feed Industry, 2024, 45(19): 13–19.] DOI: [10.13302/j.cnki.fi.2024.19.003](https://doi.org/10.13302/j.cnki.fi.2024.19.003).
 - 31 李帅, 戴轶群, 赵玉成, 等. 黄酮碳苷的分别、生物合成及生物学功能研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2023, 37(3): 88–94. [Li S, Dai YQ, Zhao YC, et al. Research progress on distribution, biosynthesis and biological function of flavonoic C-glycosides[J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2023, 37(3): 88–94.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTOTAL-JZZY202303011.htm>.
 - 32 Ghozzi I, Fontaine JX, Molinié R, et al. Relationship between the structure of the flavone C-glycosides of Linseed (*Linum usitatissimum* L.) and their antioxidant activity[J]. Molecules, 2024, 29: 5829. DOI: [10.3390/molecules29245829](https://doi.org/10.3390/molecules29245829).
 - 33 Tizazu A, Bekele T. A review on the medicinal applications of flavonoids from Aloe species[J]. Eur J Med Chem Rep, 2024, 10: 100135. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772417424000074>.
 - 34 Cabral B, Galdino OA, de Souza Gomes I, et al. Bioactive extracts from the industrial byproduct of passion fruit promote better glycemic control in an adjuvant treatment with insulin and prevent kidney and heart damage in rats with type 1 diabetes mellitus[J]. J Funct Food, 2025, 124: 106638. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464624006418>.
 - 35 do Socorro S Chagas M, Behrens MD, Moragas-Tellis CJ, et al. Behrens, flavonols and flavones as potential anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial compounds[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9966750. DOI: [10.1155/2022/9966750](https://doi.org/10.1155/2022/9966750).
 - 36 肖作为, 谢梦洲, 甘龙, 等. 山银花、金银花中绿原酸和总黄酮含量及抗氧化活性测定[J]. 中草药, 2019, 50(1): 210–216. [Xiao ZW, Xie MZ, Gan L, et al. Determination of chlorogenic acid, total flavones, and anti-oxidant activity of *Flos lonicerae japonicae* and *Flos lonicerae* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(1): 210–216.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.031](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.031).
 - 37 Zulham, Wilar G, Susilawati Y, et al. Microparticles of herbal extracts with antioxidant activity[J]. Pharmacog J, 2021, 13(1): 285–295. https://www.researchgate.net/publication/348384827_Microparticles_of_Herbal_Extracts_with_Antioxidant_Activity.

收稿日期: 2025 年 07 月 02 日 修回日期: 2025 年 09 月 18 日

本文编辑: 钟巧妮 李 阳