

# 细叶石仙桃石油醚部位抗氧化活性研究

李培源<sup>1</sup>, 贾智若<sup>1</sup>, 彭炳华<sup>2</sup>, 莫媛媛<sup>3</sup>, 秦一兰<sup>2</sup> (1. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530001; 2. 广西师范学院化学与材料科学学院, 广西南宁 530001; 3. 广西南宁市第五十六中学, 广西南宁 530001)

**摘要** [目的]研究细叶石仙桃石油醚部位的抗氧化能力,探讨其抗氧化活性和总酚含量之间的关系。[方法]采用冷浸法得到细叶石仙桃石油醚部位,以没食子酸为标准品测定其总酚含量,并采用 ABTS 体系和还原能力体系研究其抗氧化效果。[结果]细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基清除能力与作用时间有关,还原能力与提取物浓度呈正相关。[结论]细叶石仙桃石油醚部位具有较好的抗氧化性能。

**关键词** 细叶石仙桃; ABTS; 还原能力; 抗氧化; 总酚含量

**中图分类号** R 284 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)36-0166-02

## Antioxidant Activity of Petroleum Ether Extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe

LI Pei-yuan<sup>1</sup>, JIA Zhi-ruo<sup>1</sup>, PENG Bing-hua<sup>2</sup> et al (1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530001; 2. College of Chemistry and Materials Science, Guangxi Teachers Education University, Nanning, Guangxi 530001)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the antioxidant activity of petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis*, and the relationship between total phenols content and the antioxidant activity of petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis*. [Method] The petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* were obtained by cold-extraction. Total phenols content was studied using gallic acid as standard substance. The ABTS assay and reducing power assay were employed to study the antioxidant activity of *Pholidota cantonensis*. [Result] The clearance ability of petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* was accordance with the acting time, and the reducing power was accordance with the concentration of extract. [Conclusion] The petroleum ether fraction of *Pholidota cantonensis* has good antioxidant performance.

**Key words** *Pholidota cantonensis* Rolfe; ABTS; Reducing power; Antioxidant; Total phenols

抗氧化剂可以防止和延缓食品以及生物系统中自由基和活性氧(ROS)引起的氧化过程。ROS 与许多疾病的病因有关,包括炎症疾病、癌症、糖尿病和衰老<sup>[1-3]</sup>。为了减少活性氧的氧化损伤,目前广泛使用的合成抗氧化剂有丁基羟基茴香醚、丁基羟基甲苯、叔丁基对苯二酚和没食子酸丙酯等。然而,由于副作用多且有致癌风险,它们的应用受到限制。因此,通过天然和安全的抗氧化剂增强机体的抗氧化防御能力,成为降低氧化应激水平并延缓许多慢性疾病发展的方法<sup>[4-8]</sup>。该试验通过冷浸法得到细叶石仙桃石油醚部位,以没食子酸为标准品测定其总酚含量,采用 ABTS 体系和还原能力体系,来评估其抗氧化能力,寻找新的天然抗氧化剂。

## 1 材料与方

**1.1 试材与仪器** UV1901 型紫外可见分光光度计(北京普析电子科技有限公司)。药材购于广西百色,经鉴定为兰科石仙桃属植物细叶石仙桃(*Pholidota cantonensis* Rolfe)。芦丁标准品购于百灵威试剂公司(北京)。所有试剂均为分析纯。

## 1.2 方法

**1.2.1 细叶石仙桃石油醚部位制备。**称取 20 g 细叶石仙桃粉末,加入 200 mL 乙醇(95%),冷浸 72 h。重复上述操作 3

次,合并提取液。旋转蒸发回收溶剂,得到细叶石仙桃石油醚部位。

**1.2.2 ABTS·<sup>+</sup>自由基清除能力测定。**将 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS)用蒸馏水配制 2 mmol/L 溶液,取 50 mL 上述溶液与 200 mL K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 水溶液(70 mmol/L)混合均匀,避光放置 12~16 h,得到 ABTS·<sup>+</sup>溶液。用磷酸盐缓冲液将 ABTS·<sup>+</sup>溶液稀释至吸光度为 0.70±0.02(Abs=734 nm 处)。将细叶石仙桃提取物用 95%乙醇稀释为 7 个不同浓度药液,取一定量提取物药液,加入 1.9 mL ABTS·<sup>+</sup>溶液混匀,在 1、3、5、10 min 时测其吸光度。ABTS·<sup>+</sup>自由基清除率(S)计算公式为  $S = (A_0 - A) / A_0$ ,其中, A<sub>0</sub> 为 ABTS·<sup>+</sup>溶液的吸光度, A 为加药液后的吸光度。

**1.2.3 还原能力测定<sup>[5]</sup>。**取细叶石仙桃石油醚部位溶液 0.2 mL,加入 2.5 mL PBS 溶液(pH=7.4)、2.5 mL KFe(CN)<sub>4</sub>(1%)。上述混合物于 50 °C 恒温 20 min 后,加入 2.5 mL 三氯乙酸溶液(10%),离心 10 min。取上清液 2.5 mL,加入 2.5 mL 蒸馏水、0.5 mL FeCl<sub>3</sub>(1%),混匀。在 700 nm 处测定吸光度,以蒸馏水为参比。

## 1.2.4 总酚含量测定。

**1.2.4.1 Folin-cioaltea 试剂的配制。**称取 80 g 钨酸钠和 20 g 钼酸钠于圆底烧瓶中,用 560 mL 蒸馏水溶解,加入 40 mL 磷酸溶液(85%)和 80 mL 浓盐酸,文火回流 10 h,然后加入 12 g 硫酸锂及 60 mL 双氧水,加热沸腾 15 min 至溶液呈亮黄色。冷却,移入 1 000 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容,贮于棕色瓶中。

**1.2.4.2 总酚标准曲线绘制。**精确称取没食子酸标准品 25 mg,用蒸馏水溶解并定容至 250 mL,得到 0.1 mg/mL 的对照品标准溶液。精密吸取对照样品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、

**基金项目** 广西自然科学基金项目(2017GXNSFAA198335);广西中医药大学校级课题(2017JQ001);广西中医药大学杨世林教授团队人才培养建设项目(YSL17004);广西中医药大学中药学优势学科建设专项(ZYX2017003);广西教育厅壮瑶药协同创新中心(桂教科研[2013]20号);广西科技厅广西壮瑶药重点实验室项目(桂科基字[2014]32号);广西重点学科壮药学专项(桂教科研[2013]16号);广西科技厅广西八桂学者中药创新理论与药效研究专项(J13162)。

**作者简介** 李培源(1983—),女,广西玉林人,副教授,博士,从事天然产物研究。

**收稿日期** 2018-07-23

1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 1 mL Folin-ciocalteu 试剂,摇匀后加入 3 mL 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,用蒸馏水定容至 10 mL,室温下反应 2 h 后在 760 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线,得出回归方程。

**1.2.4.3 提取液中总酚含量的测定。**将各提取物溶液测定吸光度,多次测量求平均值。根据回归方程计算总酚的没食子酸当量,总酚含量以 1 g 干物质的没食子酸当量 (mg) 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除能力

**2.1.1 不同浓度提取物对 ABTS 自由基的清除能力。**考察细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除能力与药液浓度之间的关系(图 1)发现,细叶石仙桃石油醚部位在较低浓度即表现出较好的 ABTS 自由基的清除能力,在药液浓度为 0.2 mg/mL 时,清除率为 21.7%。此外,细叶石仙桃石油醚部位的 ABTS 自由基的清除能力与药液浓度关系不大,在药液浓度为 0.8 mg/mL 时,清除率为 25.1%;在药液浓度为 2.0 mg/mL 时,清除率为 23.7%。

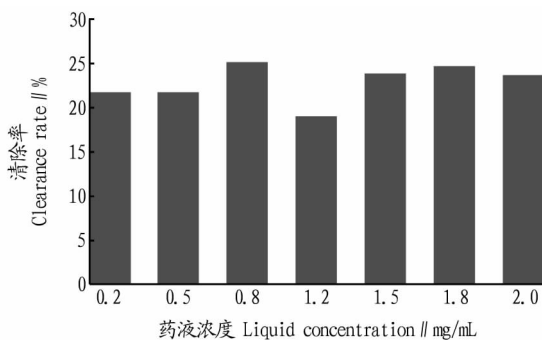


图 1 不同浓度细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.1 Scavenging ability of ABTS free radicals in petroleum ether fractions of different concentrations of *Pholidota cantonensis*

**2.1.2 不同时间下提取物对 ABTS 自由基的清除能力。**考察细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除率与作用时间的关系(图 2)发现,反应时间为 1 min 时,细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除率为 17.3%。随着作用时间增加,细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除率增加。反应时间为 3 和 5 min 时,细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除率分别增加了 14.5% 和 22.0%。细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除率从大到小的顺序依次为反应时间 10、5、3、1 min。

**2.2 细叶石仙桃石油醚部位的还原能力** 考察细叶石仙桃石油醚部位的还原能力与药液浓度之间的关系(图 3)发现,随着药液浓度增大,细叶石仙桃石油醚部位测得的吸光度迅速增大。药液浓度为 0.2 mg/mL 时,吸光度为 0.07;药液浓度为 0.5 和 0.8 mg/mL 时,吸光度增加为药液浓度为 0.2 mg/mL 时吸光度的 1.45 和 1.82 倍;药液浓度为 2.0 mg/mL 时,吸光度为药液浓度为 0.2 mg/mL 时吸光度的 2.29 倍。

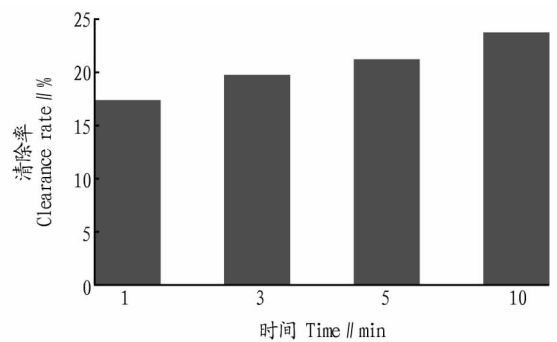


图 2 不同时间细叶石仙桃石油醚部位对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.2 Scavenging ability of ABTS free radicals in petroleum ether fraction of *Pholidota cantonensis* at different times

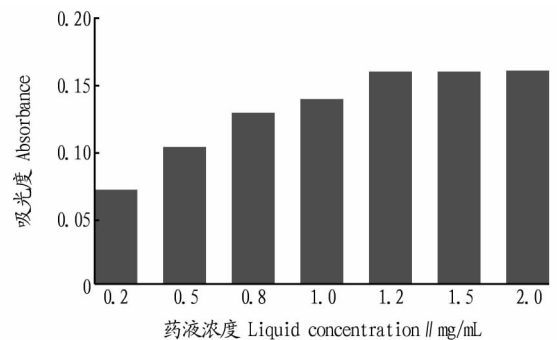


图 3 细叶石仙桃石油醚部位的还原能力

Fig.3 Reduction ability of petroleum ether parts of *Pholidota cantonensis*

**2.3 细叶石仙桃石油醚部位的总酚含量测定结果** 采用没食子酸标准品来测定细叶石仙桃石油醚部位的总酚含量,细叶石仙桃石油醚部位的总酚含量为 8.7 mg/g。结果表明,细叶石仙桃石油醚部位所具有的 ABTS $\cdot^+$  自由基的清除能力和还原能力可能与其所含酚类物质有关。酚类化合物作为次生植物代谢物,已被证明能防御内源性 ROS 和自由基的氧化应激。酚类化合物具有抗氧化、抗增殖、抗菌、抗炎、抗过敏等多种生物学特性。

## 3 结论

该试验通过冷浸法得到细叶石仙桃石油醚部位,以没食子酸为标准品测定其总酚含量,并采用 ABTS 和还原能力体系来评估其抗氧化能力,探索细叶石仙桃石油醚部位总酚含量和其抗氧化能力之间的关系。结果表明,细叶石仙桃石油醚部位在较低浓度即表现出较好的 ABTS 自由基的清除能力,清除能力与药液浓度关系不大,与作用时间有关。细叶石仙桃石油醚部位的还原能力与药液浓度相关,随着药液浓度增大,细叶石仙桃石油醚部位的还原能力迅速增大。细叶石仙桃石油醚部位表现出较好的抗氧化作用。

## 参考文献

- [1] BRANEN A L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyl anisole and butylated hydroxytoluene[J]. J Am Oil Chem Soc, 1975, 52: 59-63.
- [2] 蔡亚玲,阮金兰. 枫叶化学成分的研究[J]. 中药材, 2005, 28(4): 294-295.

表 4 半枝莲不同采收期质量检测结果 (n = 2)

Table 4 Quality test results of different harvesting periods of *Scutellaria barbata*

%

月份 Month	生长期 Growing period	总黄酮 Total flavone	野黄芩苷 Scutellarin	野黄芩素 Scutellarein	木犀草素 Luteolin	芹菜素 Apigenin	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	水溶性浸出物 Water soluble extract
5 月 May	开花前 1	1.58	0.840	0.049	0.012	0.024	24.8	27.6
	开花前 2	1.62	0.842	0.051	0.010	0.024	24.7	27.8
	开花期 1	1.71	0.759	0.112	0.032	0.045	27.0	28.6
	开花期 2	2.34	1.065	0.091	0.023	0.028	27.6	24.8
	开花期 3	1.72	0.781	0.046	0.014	0.022	21.4	22.6
	开花期 4	2.16	0.788	0.033	0.014	0.018	23.8	22.0
	开花期 5	1.87	0.796	0.041	0.011	0.016	21.9	25.2
	结果期 1	1.70	0.786	0.085	0.015	0.031	25.5	25.0
	结果期 2	1.79	0.642	0.083	0.016	0.035	21.6	23.0
	7 月 July	开花前 1	2.03	1.985	0.123	0.012	0.019	27.4
开花前 2		2.25	2.032	0.053	0.010	0.013	30.6	31.6
开花期 1		2.40	2.317	0.069	0.015	0.015	33.9	32.2
开花期 2		3.09	2.399	0.087	0.014	0.017	33.2	31.3
开花期 3		3.04	2.254	0.081	0.019	0.018	33.5	33.3
开花期 4		3.11	2.386	0.086	0.014	0.017	33.5	33.3
开花期 5		3.18	2.203	0.058	0.011	0.014	32.9	30.2
结果期 1		1.57	1.835	0.061	0.014	0.017	30.4	29.7
结果期 2		2.46	1.524	0.054	0.015	0.015	27.7	29.0
9 月 September		开花前 1	1.85	1.877	0.104	0.014	0.016	22.3
	开花前 2	1.78	1.747	0.098	0.014	0.016	22.7	24.8
	开花期 1	2.07	2.072	0.112	0.021	0.022	24.7	25.6
	开花期 2	2.03	2.188	0.113	0.020	0.021	25.1	26.8
	开花期 3	2.27	2.298	0.120	0.021	0.022	23.9	27.5
	开花期 4	2.11	2.133	0.112	0.021	0.023	25.1	27.3
	开花期 5	1.88	1.621	0.088	0.018	0.020	24.2	25.2
	结果期 1	1.63	1.815	0.097	0.019	0.022	21.7	22.6
	结果期 2	1.64	1.598	0.087	0.017	0.021	20.8	20.2

### 3 讨论

半枝莲为多年生草本,生长过程中几乎无病害发生,易种易管,一次种植可连续采收,一年可收割 3~4 次,而由于 2018 年安徽寿县半枝莲基地入冬早,雨水不充足,第四茬半枝莲生长速度放缓,长势矮小,茎枝细小,产量降低,因此并未采收比较。据统计,半枝莲不同采收期中第一茬生长期长,枝叶最为粗壮,产量最高,占全年产量的 50%。二茬产量占 30%,三茬四茬产量在 20%。

通过分析比较发现,药典规定指标中,不同采收期总黄酮的含量从大到小总体依次为 7 月、9 月、5 月,不同生长期含量从大到小总体依次为开花期、开花前、果实期。其他多成分指标中,野黄芩苷及浸出物含量均以 7 月开花期采收的半枝莲最高,而木犀草素、芹菜素含量则表现不同的规律,其中木犀草素随着月份的增加,含量明显增高,芹菜素含量则相反,头茬半枝莲含量最高,但与 7 月采收期均差别不大。可见 3 个采收时间的半枝莲以 7 月开花期的综合质量最高,该结果与文献报道基本一致<sup>[8-10]</sup>,这可能与植物的光照、温度、湿度等因素有关,该时期阳光、雨水均充足,茎叶最为茂

盛,而不同生长期比较中,开花期期间茎叶最为茂盛,有效成分较为丰富。因此建议于各茬开花期间采收半枝莲。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:118.
- [2] 郭姗姗,时宇静,高英杰,等.半枝莲总黄酮抗副流感病毒的作用机制[J].药学报,2009,44(12):1348-1352.
- [3] 曾莉萍,林明宝,舒虹.复方半枝莲胶囊体外抗肿瘤作用的实验研究[J].江西医学院学报,2006,46(3):46-48.
- [4] 杨培芬,李钧敏,邵红.半枝莲的次生代谢产物含量测定与体外抑菌活性的研究[J].四川中医,2005,23(11):35-36.
- [5] 冯德富,李小沙.复方半枝莲汤联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J].实用中医内科杂志,2010,24(2):72-75.
- [6] 南京中医药大学.中药大辞典·上册[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:1079.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草 7[M].上海:上海科学技术出版社,1999:210-212.
- [8] 邹箴蕾,吴启南.HPLC 测定不同采收时间半枝莲中的野黄芩苷含量[J].现代中药研究与实践,2005,19(2):45-46.
- [9] 李洁.不同采收期半枝莲中总黄酮含量的比较研究[J].中医药导报,2008,14(5):99,112.
- [10] 范菊娣,覃钧贵,李相陵,等.不同采收期半枝莲中黄酮含量比较[J].医药导报,2016,35(9):987-990.

(上接第 167 页)

- [3] DEWANTO V, WU X Z, ADOM K K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(10):3010-3014.
- [4] LI P Y, HUO L N, SU W, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica* [J]. J Serb Chem Soc, 2011, 76(5):709-711.
- [5] MAZOR D, GREENBERG L, SHAMIR D, et al. Antioxidant properties of

bucillamine: Possible mode of action [J]. Biochem Bioph Res Co, 2006, 349(3):1171-1175.

- [6] 李培源,苏炜,霍丽妮,等.黄葵籽挥发油化学成分及其抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2012,23(3):603-604.
- [7] 李培源,卢汝梅,苏炜,等.地肤子总黄酮含量测定及其抗氧化活性[J].湖北农业科学,2016,55(7):1802-1804.
- [8] 李培源,卢汝梅,苏炜,等.葶藶总黄酮含量测定及其抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2015,26(6):1303-1304.