

## 细叶石仙桃石油醚部位自由基清除活性研究

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

**摘要** [目的] 研究细叶石仙桃提取物石油醚部位对自由基的清除活性。[方法] 采用石油醚溶剂得到细叶石仙桃石油醚提取物, 并研究其对 DPPH 自由基和羟自由基的清除能力。以芦丁为对照品, 测定其总黄酮含量。[结果] 细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 清除率在高药液浓度时达到最大值, 对羟自由基清除率最高可达到 100%。[结论] 细叶石仙桃石油醚提取物具有优异的自由基清除活性。

**关键词** 细叶石仙桃; DPPH; 羟自由基; 清除能力; 总黄酮含量

中图分类号 TS202.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)01-0174-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.01.052

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



### Radical Clearance Ability of Petroleum Ether Extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe

LI Pei-yuan<sup>1</sup>, MO Yuan-yuan<sup>2</sup>, PENG Bing-hua<sup>3</sup> et al (1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530001; 2. The 56th Middle School, Nanning, Guangxi 530001; 3. College of Chemistry and Materials Science, Guangxi Teachers Education University, Nanning, Guangxi 530001)

**Abstract** [Objective] The aim was to study the radical clearance ability of petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe. [Method] The petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe were obtained using petroleum ether. The radical clearance abilities of petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe were studied by DPPH assay and hydroxyl radical assay. The total flavone content was determined using rutin as reference substance. [Result] The extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe showed the highest clearance rate against DPPH radicals at higher concentration of extract, and showed a 100% clearance rate against hydroxyl radicals. [Conclusion] The petroleum ether extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe possesses excellent radical clearance ability.

**Key words** *Pholidota cantonensis* Rolfe; DPPH; Hydroxyl radical; Clearance ability; Total flavone

活性氧(ROS)由自由基(如超氧阴离子和羟基自由基)和非自由基物种(如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和单氧)组成, 是不同形式的活性氧。ROS 是由所有需氧生物产生的, 并且可以容易地与包括蛋白质、脂类、lipoproteins 和 DNA 在内的大多数生物分子发生反应。因此, 充足的 ROS 导致各种病理生理紊乱, 如关节炎、糖尿病、炎症、癌症和遗传毒性。因此, 需要使用抗氧化剂来抵抗氧化应激和 ROS 的毒性作用<sup>[1-3]</sup>。由于合成的抗氧化剂副作用多, 近年来科研工作者致力于寻找来源于植物的天然抗氧化剂<sup>[4-9]</sup>。细叶石仙桃作为一种常用的草药, 其抗氧化方面的研究未见报道。通过冷浸法得到细叶石仙桃石油醚提取物, 测定其总黄酮含量, 并采用 DPPH 和羟自由基体系, 评估其对自由基的清除能力。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与材料** UV1901 型紫外可见分光光度计(北京普析电子科技有限公司)。细叶石仙桃药材购于广西百色。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 细叶石仙桃石油醚提取物制备。**称取 20 g 细叶石仙

桃粉末, 加入 200 mL 石油醚(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提取物。

### 1.2.2 总黄酮含量测定。

**1.2.2.1 标准曲线测定。**精密吸取芦丁对照品溶液(1 mg/mL)于 10 mL 量瓶中, 分别加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL, 静置 6 min, 加入 5% 硝酸铝 0.4 mL, 静置 6 min。加 5% 氢氧化钠试液 4.0 mL, 用 95% 石油醚稀释至刻度, 摇匀。静置 15 min, 在 510 nm 处测定吸收度。以吸收度对溶液浓度进行回归分析, 绘制标准曲线, 推出回归方程。

**1.2.2.2 细叶石仙桃石油醚提取物总黄酮含量测定。**将芦丁标准溶液换为固定浓度提取物溶液, 同上操作测定吸光度, 多次测量求平均值。根据标准曲线计算总黄酮的芦丁当量, 总黄酮含量以每克干物质的芦丁当量(mg)表示, 并计算提取得率。

**1.2.3 二苯基苦味肼基自由基(DPPH)体系<sup>[4]</sup>。**取不同浓度细叶石仙桃石油醚提取物溶液(0.2、0.5、0.8、1.2、1.5、1.8 和 2.0 mg/mL)加入 8 mL DPPH(0.004%)溶液中。在最大波长处(517 nm)测吸光度, 直到平衡为止。清除率计算公式如下:  $S(\%) = (1 - A_{\text{样品}}) / A_{\text{空白}} \times 100\%$ 。其中,  $A_{\text{空白}}$  为未加药液的 DPPH 溶液的吸光度,  $A_{\text{样品}}$  为加入药液的 DPPH 溶液的吸光度。

**1.2.4 羟自由基体系。**以蒸馏水将 75 mmol/L 邻二氮菲无水乙醇溶液稀释至 7.5 mmol/L, 依次往 50 mL 比色管中加入 1.0 mL 浓度 7.5 mmol/L 邻二氮菲溶液, 5 mL pH 7.4 PBS、1.0 mL FeSO<sub>4</sub> 溶液、一定量的抗氧剂溶液、1.0 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 应用液, 以蒸馏水补充体积至 25 mL。37 °C 保温反应 60 min, 测

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

**作者简介** 李培源(1983—), 女, 广西玉林人, 副教授, 博士, 从事天然产物研究工作。\* 通信作者, 硕士, 从事化学研究工作。

**收稿日期** 2018-07-16

$A_{510}$ 。既加抗氧剂,又加  $H_2O_2$  的为加药管;不加抗氧剂,只加  $H_2O_2$  的为损伤管;未损伤管两者均不加。羟自由基清除率  $s = (A_{加药} - A_{损伤}) / (A_{未损伤} - A_{损伤}) \times 100\%$ 。若为负值,则此时表现促氧化性;若为正值,则此时表现抗氧化性。

## 2 结果与分析

**2.1 细叶石仙桃石油醚提取物总黄酮含量测定结果** 细叶石仙桃石油醚提取物总黄酮含量以芦丁为对照品测定,以吸收度对溶液浓度进行回归分析,得到回归方程  $y = 9.6778x + 0.0167 (R = 0.9992)$ 。根据线性方程得出细叶石仙桃石油醚提取物的总黄酮含量测定结果,其总黄酮含量为  $10.6 \text{ mg/g}$ 。

### 2.2 细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力

**2.2.1 不同浓度提取物对 DPPH 自由基的清除能力。**不同浓度细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力如图 1 所示。当药液浓度低于  $1.5 \text{ mg/mL}$  时,提取物对 DPPH 自由基的清除率基本维持在一个水平,不同浓度提取物对 DPPH 自由基的清除率从高到低的顺序为:  $1.2 \text{ mg/mL} > 0.8 \text{ mg/mL} > 0.5 \text{ mg/mL} > 1.5 \text{ mg/mL} > 0.2 \text{ mg/mL}$ 。当药液浓度高于  $1.5 \text{ mg/mL}$  时,提取物对 DPPH 自由基的清除率增加到较高值,药液浓度为  $2.0 \text{ mg/mL}$  时,提取物对 DPPH 自由基的清除率达到最大值。

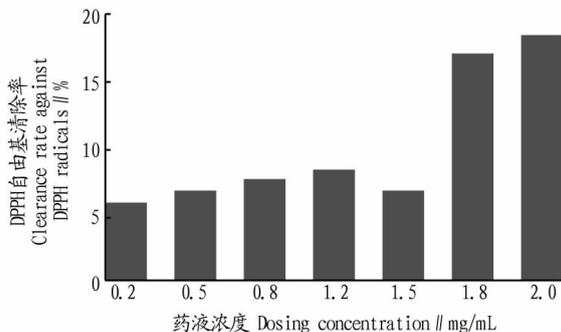


图 1 不同浓度细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 1 Clearance rate of different concentration of extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe against DPPH radicals

**2.2.2 不同时间提取物对 DPPH 自由基的清除能力。**细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力与反应时间之间的关系如图 2 所示。将药液浓度为  $2.0 \text{ mg/mL}$  提取物溶液加入 DPPH 自由基体系中,立即吸取溶液进行清除率测定,测得 DPPH 自由基清除率为  $13.7\%$ 。在反应时间为  $10 \text{ min}$  时进行测定,细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力增大为反应时间  $0 \text{ min}$  时的  $1.26$  倍。对比提取物在反应时间  $10 \sim 40 \text{ min}$  的 DPPH 自由基清除率,发现其数值基本维持在一个水平。

**2.3 细叶石仙桃石油醚提取物对羟基自由基的清除能力** 细叶石仙桃石油醚提取物对羟基自由基的清除能力与药液浓度之间的关系如图 3 所示。药液浓度对于细叶石仙桃石油醚提取物羟基自由基清除能力的影响很大,在较低浓度(小于  $0.5 \text{ mg/mL}$ )时,提取物羟基自由基清除率为负值,

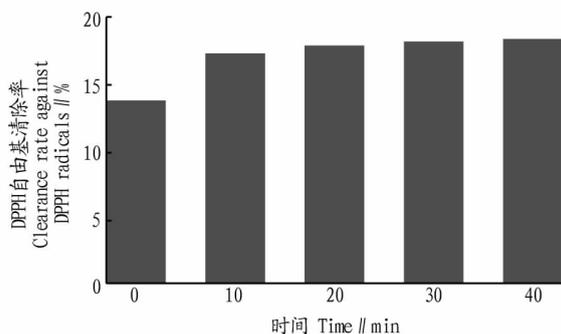


图 2 不同时间细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 2 Clearance rate of extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe against DPPH radicals under different time

表示细叶石仙桃石油醚提取物具有促氧化作用。当药液浓度增加到  $0.8 \text{ mg/mL}$ ,提取物羟基自由基清除率为  $10.3\%$ ,表现出抗氧化性。随着药液浓度增加,提取物对羟基自由基清除率增加,在药液浓度为  $1.2$  和  $1.5 \text{ mg/mL}$ ,提取物羟基自由基清除率分别增加为  $0.8 \text{ mg/mL}$  药液浓度下羟基自由基清除率的  $6.97$  倍和  $8.75$  倍。

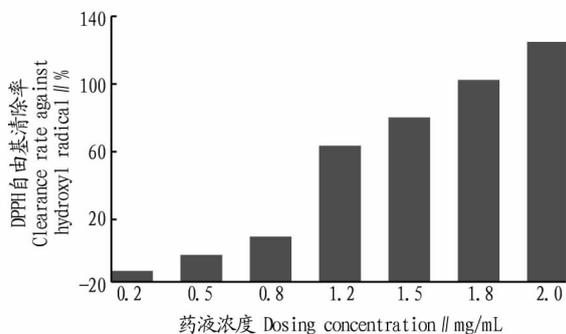


图 3 细叶石仙桃石油醚提取物对羟基自由基的清除能力

Fig. 3 Clearance rate of extract of *Pholidota cantonensis* Rolfe against hydroxyl radical

**2.4 细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 和羟基自由基  $EC_{50}$  值的影响**  $EC_{50}$  值表示抗氧化剂对自由基清除一半时所需的药液浓度,细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基的  $EC_{50}$  值为  $21.36 \text{ mg/mL}$ ,对羟自由基的  $EC_{50}$  值为  $1.05 \text{ mg/mL}$ 。结果表明细叶石仙桃石油醚提取物对于羟自由基具有很强的清除能力,在很低的药液浓度就对羟自由基达到半数抑制。

## 3 结论

测定细叶石仙桃石油醚提取物的总黄酮含量,并采用 DPPH 自由基体系和羟自由基体系来评估其自由基清除活性。以芦丁为对照品,测得细叶石仙桃石油醚提取物的总黄酮含量为  $10.6 \text{ mg/g}$ 。细叶石仙桃石油醚提取物对 DPPH 自由基显示出良好的清除效果,药液浓度为  $2.0 \text{ mg/mL}$  时,提取物对 DPPH 自由基的清除率达到最大值,在反应时间为  $10 \sim 40 \text{ min}$ ,其数值基本维持在一个水平。该提取物对羟自由基具有很强的清除能力,在较高浓度时提取物对羟自由基

(下转第 181 页)

表 10 不同叶面肥对辣木冠幅生长的影响

Table 10 Effect of different foliar fertilizers on crown diameter of *Moringa oleifera*

cm

处理 Treatment	7 d	15 d	23 d	32 d
A	11.73±2.96 a	15.33±2.66 a	18.47±2.10 a	22.47±5.01 a
B	12.93±1.76 a	14.33±1.68 ab	18.13±1.65 b	22.07±3.97 a
C	12.63±1.52 a	14.13±2.29 ab	16.00±1.99 b	19.20±3.04 b
D	12.81±2.00 a	13.67±2.50 ab	17.33±2.53 ab	20.13±4.36 ab
E(CK)	12.57±1.64 a	12.67±2.26 b	15.40±3.14 b	18.00±4.33 b

注: 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences( $P<0.05$ )

表 11 不同叶面肥对辣木叶面积的影响

Table 11 Effect of different foliar fertilizers on leaf area of *Moringa oleifera*

处理 Treatment	第 1 次施肥 First fertilization	第 2 次施肥 Second fertilization	调查时间 Survey time	叶面积 Leaf area//cm <sup>2</sup>			
				I	II	III	平均 Average
A	05-27	06-11	06-29	42.68	40.01	40.76	41.16 a
B	05-27	06-11	06-29	39.86	37.18	37.22	38.09 ab
C	05-27	06-11	06-29	28.50	29.99	29.13	29.21 c
D	05-27	06-11	06-29	33.60	32.73	31.22	32.51 bc
E(CK)	05-27	06-11	06-29	27.53	28.71	29.24	28.49 c

注: 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences( $P<0.05$ )

### 3 结论与讨论

辣木种子育苗的 3 种方法从效果上判断以育苗袋点播最为理想, 相比沙床催芽移栽减少一道工序, 避免移栽损伤, 提高保苗率; 相比大田受影响因素更能可控, 可避免干旱、多雨、杂草等苗木管理上的问题。在育苗方式的选择上应因地制宜, 对于灌溉条件好、管理到位的地方可以考虑大田直播; 在灌溉条件差或影响因素难以控制的地区可以选择容器育苗, 集中培育、集中管理, 成苗后再出圃栽培, 这样可以避开不利条件, 取得较好的效益。

育苗基质的选择以蔬菜育苗基质最佳、咖啡果皮次之。蔬菜育苗基质由厂家制备, 购买后可以直接使用, 方便快捷, 辣木涨势最好, 适合规模化种植。该研究还发现在锯末基质中辣木生长虽然不理想, 但是主根呈现出多条分化, 大部分有 2 条主根, 甚至 3 条, 可以进一步探索锯末影响辣木主根分化生长的原因。在农业生产中, 可以结合当地的实际情况, 选择成本较低、理化性能良好的工农业废弃物作为栽培基质, 例如秸秆<sup>[8-9]</sup>、菌糠<sup>[10]</sup>、碳化稻壳<sup>[11]</sup>等, 进行深入研发, 开发更加高效、成本更低的辣木栽培基质。

喷施叶面肥可以促进辣木生长, 其中以生物叶面肥和益施帮的效果较理想, 除了株高、冠幅、复叶数量和面积方面的

数据明显大于对照组, 还观察到辣木叶片更厚、颜色更深。研究表明, 使用适合的叶面肥是可以弥补基质养分不足的缺陷, 缩短育苗出圃时间, 是一种方便快捷的促长促产措施。但是关于叶面肥的成分、功能、影响机制等方面仍需进一步研究, 才能更直接地服务于农业生产。

### 参考文献

- [1] 张燕平, 段琼芬, 苏建荣. 辣木的开发与利用[J]. 热带农业科学, 2004(4): 42-48.
- [2] 饶之坤, 封良燕, 李聪, 等. 辣木营养成分分析研究[J]. 现代仪器, 2007, 13(2): 18-20.
- [3] 张洁. 辣木(*Moringa oleifera* Lam.) 组培育苗及四倍体新种质诱导技术的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007: 1-63.
- [4] 洪林, 魏召新, 李隆华, 等. 辣木资源研究利用现状[J]. 西南园艺, 2006, 34(1): 56-57.
- [5] 刘昌芬, 李国华. 辣木的研究现状及其开发前景[J]. 云南热作科技, 2002, 25(3): 20-24.
- [6] 刘昌芬, 李国华. 辣木的营养价值[J]. 热带农业科技, 2004, 27(1): 4-7.
- [7] 周明强, 刘清国, 班绣文, 等. 不同育苗方式及种植密度对辣木生长的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(3): 56-57, 60.
- [8] AWANY Y, ISMAIL M R. The growth and flowering of some annual ornamentals on coconut duff[J]. Acta Hort, 1997, 450: 31-38.
- [9] 石慧芳, 朴凤植. 腐熟玉米秸秆复合基质在辣椒育苗上的使用效果[J]. 长江蔬菜, 2012(4): 46-49.
- [10] 杨虹, 姜虹, 韩世玉, 等. 不同育苗方法对辣椒幼苗生长性能的影响[J]. 长江蔬菜, 2012(2): 33-35.
- [11] 李培强, 郭世英, 卜崇兴, 等. 菇渣复合基质在甜椒育苗上的使用效果研究[J]. 上海农业学报, 2007, 23(1): 48-51.

(上接第 175 页)

清除率完全。试验结果表明, 细叶石仙桃石油醚提取物具有优异的自由基清除能力。

### 参考文献

- [1] HALLIWELL B, MURCIA M A, CHIRICO S, et al. Free radicals and antioxidants in food an *in vivo*: What they do and how they work[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1995, 35(1/2): 7-20.
- [2] SU W, LI P Y, HUO L N, et al. Phenolic content and antioxidant activity of *Phymatopteris hastate*[J]. J Serb Chem Soc, 2011, 76(11): 1485-1496.
- [3] TABART J, KEVERS C, PINCEMAIL J, et al. Antioxidant capacity of black currant varies with organ, season, and cultivar[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(17): 6271-6276.

- [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): 709-717.
- [5] MAZOR D, GREENBERG L, SHAMIR D, et al. Antioxidant properties of buccillamine: 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.
- [9] 李培源, 霍丽妮, 贾智若, 等. 龙胆草抗氧化活性和总黄酮含量测定研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(31): 182-183.