

刺萼龙葵不同萃取物抗氧化活性研究

郝丽娟^{1,2}, 王珊², 安月伟², 朱晶晶^{2*}, 王智民², 魏守辉³, 陈静波⁴

(1. 安徽中医药大学, 合肥 230000; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100095; 4. 江苏省中国科学院植物研究所, 南京 210014)

[摘要] 目的:研究刺萼龙葵 *Solanum rostratum* Dunal 不同萃取物的体外抗氧化活性。方法:采用清除二苯代苦味酰基 (DPPH) 自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 自由基和铁离子还原/抗氧化能力 (FRAP) 测定法,对刺萼龙葵不同萃取物的体外抗氧化活性进行评价,并与阳性对照药维生素 C (VC) 进行比较。结果:3 种方法测得的抗氧化活性结果趋势一致,刺萼龙葵总浸膏及各萃取物都有较强的抗氧化活性,其中乙酸乙酯萃取物抗氧化活性最强,对 DPPH, ABTS 自由基清除率的 IC₅₀ 值分别为 38.428, 29.175 mg·L⁻¹, 对 Fe³⁺ 还原性相当于 3.774 mmol·g⁻¹ 的 FeSO₄ 当量, 弱于 VC (IC₅₀ 值分别为 10.551, 8.570 mg·L⁻¹, FeSO₄ 当量为 22.795 mmol·g⁻¹); 其次是正丁醇萃取物, 对 DPPH, ABTS 自由基清除率的 IC₅₀ 值分别为 53.142, 57.895 mg·L⁻¹, 对 Fe³⁺ 还原性相当于 1.936 mmol·g⁻¹ 的 FeSO₄ 当量。刺萼龙葵不同萃取物和 VC 体外抗氧化活性的强弱顺序为: VC > 乙酸乙酯萃取物 > 正丁醇萃取物 > 总浸膏 > 石油醚萃取物 > 剩余水部位, 随着各萃取物浓度的增加, 抗氧化能力增强。结论:刺萼龙葵乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物及总浸膏均有较强的抗氧化活性, 本研究为恶性杂草刺萼龙葵的开发利用提供理论依据。

[关键词] 刺萼龙葵; 抗氧化活性; 二苯代苦味酰基自由基; 2, 2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基; 铁离子还原/抗氧化能力

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0112-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100112

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000084.html>

[网络出版时间] 2014-03-07 10:53

Antioxidative Properties of Different Extraction Fractions from *Solanum rostratum*

HAO Li-juan^{1,2}, WANG Shan², AN Yue-wei², ZHU Jing-jing^{2*},
WANG Zhi-min², WEI Shou-hui³, CHEN Jing-bo⁴

(1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230000, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100095, China;

4. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant activity of different fractions from *Solanum rostratum* *in vitro*. **Method:** Antioxidant activities of different extraction fractions of *S. rostratum*, with vitamin C (VC) as positive control, were evaluated by methods of the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, [2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid ammonium salt), ABTS] radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP). **Result:** The results of these methods were similar, and different extraction fractions of *S. rostratum* had highly antioxidant activities. The antioxidant activity of ethyl acetate extraction was the

[收稿日期] 20131224(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31171867); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103027)

[第一作者] 郝丽娟, 硕士研究生, 从事中药药效物质基础与质量标准研究, E-mail:1002380482@qq.com

[通讯作者] *朱晶晶, 博士, 副研究员, 从事中药化学与质量控制研究, Tel:010-64014411, E-mail: zhujj15@163.com

strongest. Its 50% scavenging rates (IC_{50}) on DPPH and ABTS were 38.428, 29.175 $mg \cdot L^{-1}$, respectively, and the ferric reducing antioxidant power value was 3.774 $mmol \cdot g^{-1} FeSO_4$ equivalent weight, which were weaker than positive control VC (10.551, 8.570 $mg \cdot L^{-1}$, 22.795 $mmol \cdot g^{-1}$). Antioxidant activity of *n*-butanol extraction was secondly strong, and the IC_{50} values on DPPH and ABTS were 53.142, 57.895 $mg \cdot L^{-1}$, respectively, and the ferric reducing antioxidant power value was 1.936 $mmol \cdot g^{-1} FeSO_4$ equivalent weight. The antioxidant activities of different extraction fractions from strong to weak were as follows: VC > ethyl acetate extraction > *n*-butanol extraction > the total extraction > petroleum ether extraction > water extraction. The antioxidant properties of different fractions were dose-dependent. With the increasing of the concentrations of various fractions, the antioxidant capacities were enhanced. **Conclusion:** Ethyl acetate extraction, *n*-butanol extraction and the total extract of *S. rostratum* had strong antioxidant activity. The results will be benefit for the exploitation and utilization of *S. rostratum*.

[**Key words**] *Solanum rostratum*; antioxidant activity; DPPH; ABTS; FRAP

刺萼龙葵为茄科茄属一年生草本植物,别名堪萨斯蓟、黄花刺茄,起源于北美洲,目前已蔓延扩散至全球 10 多个国家和地区,我国最早于 1980 年在辽宁省朝阳县发现,由于其适应性广、繁殖力强、蔓延迅速,现已快速扩散至辽宁、吉林、山西、新疆、河北及北京等地,资源量丰富^[1]。梁前进^[2]等通过对刺萼龙葵抑制肿瘤 ATPase 效应的研究显示其具有很好的抗肿瘤作用,其细胞毒作用与 3.63 $mg \cdot g^{-1}$ 茄碱的活性相当。另外,刺萼龙葵具有抑菌作用,在墨西哥中、南部的印第安群落,被当地土著人用作治疗肠胃病、心血管疾病的草药^[3],以上作用预示刺萼龙葵具有潜在的药用价值。目前国内外关于刺萼龙葵的研究主要集中在生态学、生物学及综合治理等方面^[3-4],而极少对其药理活性进行研究。

据报道同属药用植物龙葵有较好的抗氧化活性^[5-6],而未见对刺萼龙葵抗氧化活性的报道。本研究采用清除二苯代苦味酰基(DPPH)方法、清除[2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基方法和铁离子还原/抗氧化力测定法(FRAP)3种体外抗氧化模型,对刺萼龙葵体外抗氧化活性进行了综合考察。

1 材料

1.1 试药 供试刺萼龙葵 *Solanum rostratum* Dunal 地上部分于 2012 年 8 月采集于北京市通州区,由中国农业科学院植物保护研究所魏守辉副研究员鉴定为茄科茄属植物刺萼龙葵地上部分,标本存于中国中医科学院中药研究所中药质量标准研究中心。

1.2 试剂 二苯代苦味酰基(DPPH, Alfa Aesar 公司,批号 AL030101);2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS,生产批号 MK6BD-MP,日本东京化成工业株式会社);TPTZ [2,4,6-tri

(2-pyridyl)-1,3,5-triazine,批号 FW3WN-GD,日本东京化成工业株式会社];维生素 C(VC,批号 20110922,国药集团化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 BP211D 型号电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),N-1100 型号旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司),T6 型号新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

2 方法

2.1 刺萼龙葵浸膏及不同萃取物的制备 刺萼龙葵地上部分阴干 8.5 kg,切段,用 15 倍量的 95% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取滤液后浓缩(乙醇回收),得到 95% 乙醇总浸膏 1.05 kg。取总浸膏 0.98 kg 分散于水中,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,减压浓缩得到刺萼龙葵不同萃取物,真空干燥后分别称重,计算各萃取物的得率。

2.2 溶液制备

2.2.1 样品溶液的制备 将刺萼龙葵总浸膏、石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、剩余水萃取物分别用乙醇、乙醇、乙醇、甲醇、50% 甲醇配成一系列质量浓度(25~1 000 $mg \cdot L^{-1}$)。

2.2.2 阳性对照溶液的制备 将阳性对照药维生素 C 用水配成一系列质量浓度(5~30 $mg \cdot L^{-1}$)。

2.2.3 DPPH 溶液的制备 将 DPPH 用乙醇配成浓度为 200 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 DPPH 溶液。

2.2.4 ABTS⁺·溶液的制备^[7] 将 5 mL,7 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 ABTS 溶液和 88 μL ,140 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 $K_2S_2O_8$ 溶液混合产生 ABTS⁺·,黑暗中常温静置 12~16 h 备用,使用之前用水稀释至 500 mL[734 nm 波长下的吸光度(A)为 0.700 ± 0.002]。

2.2.5 FRAP 工作液的制备^[8] 将 0.3 $mol \cdot L^{-1}$ 的

醋酸盐缓冲液, 10 mmol·L⁻¹的 TPTZ 溶液及 20 mmol·L⁻¹的三氯化铁溶液按 10:1:1 混合, 于 37 ℃ 避光温育, 临用前现配。

2.2.6 FeSO₄ 溶液的制备 将 FeSO₄·7H₂O 用水配成一系列浓度的 FeSO₄ 溶液。

2.3 抗氧化活性筛选方法

2.3.1 DPPH 方法 参照申海进等方法^[9] 并进行修改, 于 517 nm 处测定 A。每份样品重复测定 3 次。计算公式为:

$$\text{清除率} = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \times 100\%$$

式中 A₀ 为 2 mL 样品溶剂与 2 mL DPPH 混合反应 30 min 后的吸光度; A₁ 为 2 mL 样品与 2 mL DPPH 混合反应 30 min 后的吸光度; A₂ 为 2 mL 样品与 2 mL 乙醇混合反应 30 min 后的吸光度。

2.3.2 ABTS 方法 参照陈美红等的方法^[10] 并进行修改, 于 415 nm 处测定 A。每份样品重复测定 3 次。计算公式为:

$$\text{清除率} = [A_3 - (A_4 - A_5)] / A_3 \times 100\%$$

式中 A₃ 为 0.5 mL 样品溶剂与 3 mL ABTS⁺ 混合反应 60 min 后的吸光度; A₄ 为 0.5 mL 样品与 3 mL ABTS⁺ 混合反应 60 min 后的吸光度; A₅ 为 0.5 mL 样品与 3 mL 水混合反应 60 min 后的吸光度。

2.3.3 FRAP 方法 参照朱尚彬等的方法^[11] 并进行修改, 将 0.5 mL 样品溶剂与 3 mL FRAP 工作液混合, 0.5 mL 样品与 3 mL FRAP 工作液混合, 0.5 mL 样品与 3 mL 醋酸盐缓冲液混合, 37 ℃ 温育反应 75 min 后测吸光度 A₆, A₇, A₈。每份样品重复测定 3 次。A = A₇ - A₆ - A₈。将不同浓度的 FeSO₄ 溶液代替样品溶液, 操作方法同上, 绘制标准曲线。

2.4 结果处理 将测得的数据用 SPSS 17.0 软件进行处理, 得到样品清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的半数抑制浓度 (IC₅₀)。FRAP 方法中样品的抗氧化活性以达到同样吸光度值所需的 FeSO₄ 当量表示。

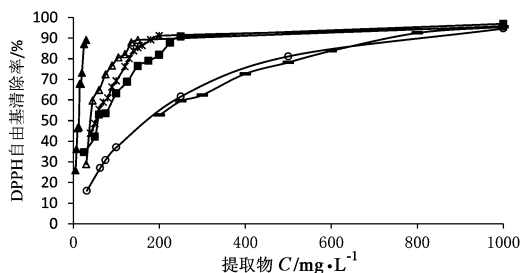
3 结果

3.1 刺芎龙葵提取物各萃取段的得率 刺芎龙葵正丁醇萃取物的相对得率最高, 可达 32.77%; 剩余水部位的相对得率次之 (30.80%)。石油醚萃取段和乙酸乙酯萃取段的相对得率较低, 分别为 18.24%, 18.19%。见表 1。

3.2 刺芎龙葵不同萃取物抗氧化活性分析

3.2.1 对 DPPH 自由基清除能力的比较 刺芎龙葵总浸膏及各萃取物当质量浓度达到 1.00 g·L⁻¹ 时, 刺芎龙葵各萃取物的清除率在 94.6% ~

96.9%, 各萃取物间的差异不大; 当质量浓度低于 0.20 g·L⁻¹ 时, 各萃取物对 DPPH 自由基的清除率随浓度升高而增大, 表现出明显的量-效依赖性关系, 其中刺芎龙葵总浸膏、乙酸乙酯萃取物及正丁醇萃取物的增幅较大; 当质量浓度在 0.20 ~ 1.00 g·L⁻¹ 时, 刺芎龙葵总浸膏、乙酸乙酯萃取物及正丁醇萃取物对 DPPH 自由基清除率的增幅减缓, 清除率趋于稳定, 石油醚、剩余水部位的清除率随浓度升高而增大。见图 1。



—■— SRDT. 刺芎龙葵总浸膏; —△— SRDPE. 刺芎龙葵石油醚萃取物; —×— SRDEA. 刺芎龙葵乙酸乙酯萃取物; —■— SRDBU. 刺芎龙葵正丁醇萃取物; —○— SRDW. 刺芎龙葵剩余水部位; —▲— 维生索 C (图 2 同)

图 1 刺芎龙葵提取物对 DPPH 自由基的清除作用

刺芎龙葵总浸膏、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水各萃取物对 DPPH 自由基的清除率达 50% 时的浓度 (IC₅₀)。见表 1。

表 1 刺芎龙葵不同萃取物的体外抗氧化活性

刺芎龙葵提取物	DPPH	ABTS	FRAP 方法	相对得率 /%
	方法 IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	方法 IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	FeSO ₄ 当量 /mmol·g ⁻¹	
VC	10.551	8.570	22.795	-
总浸膏	55.767	67.086	1.628	-
石油醚萃取物	169.512	263.641	0.864	18.24
乙酸乙酯萃取物	38.428	29.175	3.774	18.19
正丁醇萃取物	53.142	57.895	1.936	32.77
剩余水部位	201.491	294.548	0.517	30.80

3.2.2 对 ABTS 自由基的清除作用 刺芎龙葵不同萃取物对 ABTS 自由基清除效果见图 2。刺芎龙葵总浸膏及各萃取物均有较强的清除 ABTS 自由基的能力, 当质量浓度达到 1.00 g·L⁻¹ 时, 刺芎龙葵各萃取物的清除率在 92.6% ~ 98.2%, 各萃取物间的差异不大; 刺芎龙葵各萃取物对 ABTS 自由基的清除率总体趋势与清除 DPPH 自由基时相同。各萃取物对 ABTS 自由基的 IC₅₀ 见表 1。对 ABTS 自由基的清除能力仍是乙酸乙酯萃取物最强, 剩余水部位最弱, 但均较 VC (8.570 mg·L⁻¹) 活性弱。

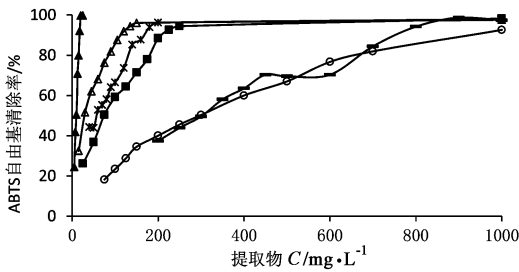


图 2 刺萼龙葵提取物对 ABTS 自由基的清除作用

3.2.3 对 Fe^{3+} 的还原能力 刺萼龙葵总浸膏、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水各萃取物的 $FeSO_4$ 当量值分别为 1.628, 0.864, 3.774, 1.936, 0.517 $mmol \cdot g^{-1}$, 刺萼龙葵乙酸乙酯萃取物对 Fe^{3+} 还原能力最强, 达到 3.774 $mmol \cdot g^{-1}$ 的 $FeSO_4$ 当量, 但仍较 VC (22.795 $mmol \cdot g^{-1}$) 低, 其次是正丁醇萃取物和总浸膏, 剩余水部位和石油醚萃取物对 Fe^{3+} 还原能力则相对较弱。

4 讨论

不同的抗氧化体系具有不同的抗氧化作用机制, 本实验采用了 DPPH 法、ABTS 法和 FRAP 法 3 种不同的方法对刺萼龙葵的抗氧化活性进行了综合评价, 这三种抗氧化体系均显示刺萼龙葵各部位抗氧化活性从大到小依次为刺萼龙葵乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、总浸膏、石油醚萃取物、水萃取物, 其中以乙酸乙酯部位的抗氧化活性最强, 对 DPPH 和 ABTS 自由基 IC_{50} 分别为 38.428 $mg \cdot L^{-1}$ 和 29.175 $mg \cdot L^{-1}$, 对 Fe^{3+} 还原性相当于 3.774 $mmol \cdot g^{-1}$ 的 $FeSO_4$ 当量, 虽低于阳性对照维生素 C, 但一般当 $IC_{50} < 10 g \cdot L^{-1}$ 时, 都具有良好的抗氧化能力^[12]。正丁醇萃取物的抗氧化活性次之。由此推断, 刺萼龙葵乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物的体外抗氧化活性较好, 是刺萼龙葵抗氧化的两个活性部位。茄属大多具有清热、解毒、活血、消肿、化痰等功效。化学成分研究表明, Dewick^[13] 从刺萼龙葵中提取出了 3 种生物碱: α -茄碱、 β -茄碱和 γ -茄碱, Bah 等^[14] 曾报道从刺萼龙葵正丁醇部位中分离到甲基薯蓣皂苷, 以上化合物均显示出了广谱和显著的抗肿瘤的活性, 由此推测, 刺萼龙葵中具有较好抗氧化活性的乙酸乙酯和正丁醇萃取部位, 可能分别主要含有甾体皂苷和甾体生物碱。目前有关刺萼龙葵抗氧化活性成分的分离鉴定工作有待深入开展。本实验, 通过采用 3 种简单的体外抗氧化模型完成了刺

萼龙葵活性部位的初筛, 研究结果可为进一步深入开展刺萼龙葵抗肿瘤、心血管防治等活性评价提供参考。

[参考文献]

[1] 魏守辉, 张朝贤, 刘延, 等. 外来杂草刺萼龙葵及其风险评估[J]. 中国农学通报, 2007, 23(3): 347.
[2] 梁前进, 李翠妮, 向俊, 等. 北京外来入侵植物刺萼龙葵抗肿瘤 ATPase 效应评估[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(12): 36.
[3] 郭章碧, 张国良, 付卫东, 等. 外来入侵植物刺萼龙葵的研究概况及展望[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2011, 42(3): 460.
[4] 梁维敏, 田春雨, 王缙. 刺萼龙葵的识别与防控[J]. 园艺与种苗, 2011, (2): 58.
[5] Son Y O, Kim J, Lim J C, et al. Ripe fruits of *Solanum nigrum* L. inhibits cell growth and induces apoptosis in MCF-7 cells [J]. Food Chem Toxicol, 2003, 41(10): 1421.
[6] Jimoh F O, Adedapo A A, Afolayan A J. Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus* [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48: 964.
[7] 闫永芳, 孙钧, 孟天真, 等. 枇杷花提取物抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012(1): 122.
[8] 张前军, 刘瑜新, 康文艺, 等. 俄蚂蝗抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2010, 32(11): 1980.
[9] 申海进, 郭巧生, 房海灵. 野菊花 60% 乙醇提取物的酚类成分组成及其清除自由基和防霉变能力分析[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(1): 20.
[10] 陈美红, 李春美, 杨依娜. 柿子不同部位单宁提取物清除自由基作用的比较研究[J]. 食品科技, 2009, 34(8): 120.
[11] 朱尚彬, 聂少平, 朱盼, 等. 黑灵芝不同溶剂提取物抗氧化活性比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 98.
[12] Lee Yu-Ling, Yen Ming-Tsung, Mau Jeng-Leun. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizygus marmoreus* [J]. Food Chem, 2007, 104(1): 1.
[13] Dewick P M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach [C]. England: West Sussex, 1997.
[14] Bah M, Gutierrez D M, Escobedo C, et al. Methylprotodioscin from the Mexican medical plant *Solanum rostratum* (Solanaceae) [J]. Biochem Syst Ecol, 2004, 32(2): 197.

[责任编辑 聂淑琴]