

## 谷精草提取物的抗氧化活性考察

黄挺章, 郭圣奇, 齐梁煜, 黄莹, 黄春阳, 钟兆银, 黄锁义\*

(右江民族医学院, 广西百色 533000)

**[摘要]** 目的:考察谷精草水提物和醇提物的抗氧化活性。方法:采用UV检测谷精草水提物和醇提物对超氧阴离子自由基、羟基自由基和DPPH自由基的清除能力,通过普鲁士法测定提取物还原 $Fe^{3+}$ 的能力,并以丁基羟基茴香醚(BHA)为参比测定提取物对金属离子( $Fe^{2+}$ )的螯合能力。结果:谷精草水提物和醇提物对3种自由基均具有较强的清除作用,水提物的半数抑制浓度( $IC_{50}$ )分别为1.389,3.507,0.341  $g \cdot L^{-1}$ ,醇提物的 $IC_{50}$ 分别为0.792,5.525,0.192  $g \cdot L^{-1}$ 。提取物对 $Fe^{3+}$ 有还原能力,对金属离子( $Fe^{2+}$ )有较强的螯合能力,且随着提取液质量浓度的增加而增强,呈剂量效应关系。结论:谷精草水提物和醇提物均具有较强的抗氧化活性,在相对低质量浓度下醇提物的抗氧化作用比水提物强。

**[关键词]** 谷精草;提取物;抗氧化活性;自由基;螯合率

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)10-0013-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015100013

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150401.0927.008.html>

**[网络出版时间]** 2015-04-01 9:27

**Investigation of Antioxidant Activity of Eriocauli Flos Extract** HUANG Ting-zhang, GUO Sheng-qi, QI Liang-yu, HUANG Ying, HUANG Chun-yang, ZHONG Zhao-yin, HUANG Suo-yi\* (Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate antioxidant activity of water extract and alcohol extract of Eriocauli Flos. **Method:** Scavenging effect of water extract and alcohol extract of Eriocauli Flos on superoxide anion free radical, DPPH radical and hydroxyl radical were determined by UV method, reduction ability of extract for  $Fe^{3+}$  was determined by Prussian law, and with butylated hydroxyanisole (BHA) as reference, chelating ability of extract on metal ferrous ion ( $Fe^{2+}$ ) was determined. **Result:** Water extract and alcohol extract of Eriocauli Flos had strong scavenging effects on three kinds of free radicals, half inhibitory concentrations ( $IC_{50}$ ) of water extract were 1.389, 3.507, 0.341  $g \cdot L^{-1}$ , while  $IC_{50}$  of alcohol extract were 0.792, 5.525, 0.192  $g \cdot L^{-1}$ . Extract had reduction ability on  $Fe^{3+}$ , and had a strong chelating ability to  $Fe^{2+}$ , effects increased with increasing of extract concentration, which showed corresponding dose-response relationship. **Conclusion:** Water extract and alcohol extract of Eriocauli Flos have strong antioxidant activity, and at a relatively low concentration, alcohol extract is stronger than water extract about antioxidant effect.

**[Key words]** Eriocauli Flos; extract; antioxidant activity; free radical; chelating rate

谷精草别名戴星草、珍珠草,功效疏散风热、明目退翳,具有抗菌、祛痰、抑制癌细胞DNA及蛋白质合成等药理作用,常用于治疗风热目赤肿痛羞明、眼生翳膜、风热头痛等证<sup>[1-2]</sup>,化学成分有谷精草素、槲皮万寿菊素、挥发油等<sup>[3-7]</sup>。在临床应用中,谷精草常与其他中药配伍,被广泛用于治疗病毒性角膜炎、色素膜炎、白内障、黑翳性视神经炎、流行性结膜炎等疾病,治疗效率可达 $>90\%$ <sup>[8]</sup>。谷精草还可消除人体内活性氧自由基<sup>[5]</sup>,但相关研究未见详细报道。本实验拟考察谷精草水提取物和醇提取物的体外抗氧化活性,为其抗氧化活性成分的分离和开发提供参考。

谷精草还可消除人体内活性氧自由基<sup>[5]</sup>,但相关研究未见详细报道。本实验拟考察谷精草水提取物和醇提取物的体外抗氧化活性,为其抗氧化活性成分的分离和开发提供参考。

**[收稿日期]** 20140816(013)

**[基金项目]** 国家中医药管理局“十二五”中医药重点学科建设项目(国中医药人教发[2012]32号);广西省重点学科建设项目(桂教科研[2013]16号);右江民族医学院“大学生创新训练计划”项目(右医教字[2014]5号);右江民族医学院民族医药协会科研创新项目(20131108)

**[第一作者]** 黄挺章,从事天然产物化学、药物化学、食品卫生及中草药研究,Tel:18777615314,E-mail:huangtingzhangx@163.com

**[通讯作者]** \*黄锁义,教授,硕士生导师,从事天然产物化学、食品卫生等研究,Tel:13507768926,E-mail:huangsuoyi@163.com

## 1 材料

GN2085 型电子天平(上海民桥精密科学有限公司),755B 型紫外-可见分光光度计(上海精密设备有限公司)。谷精草(采自广西百色市右江区,经右江民族医学院民族医学教研室覃道光副教授鉴定为谷精草科植物谷精草 *Eriocaulon buergerianum* 的干燥带花茎的头状花序),焦性没食子酸(天津市盛茂精细化工有限公司,批号 20100320),三羟甲基氨基甲烷(Tris,上海山浦化工有限公司),1,1-二苯基-2-三硝基苦肼(DPPH,南京建成生物工程研究所),丁基羟基茴香醚(BHA,上海谱振生物科技有限公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 谷精草提取物的制备**<sup>[9]</sup> 称取经粉碎过 50 目筛的谷精草干燥粉末 40 g,分别加 15 倍量水或 75% 乙醇室温浸泡 1 h,加热提取 2 h(75% 乙醇需回流提取),抽滤,取滤液,旋转蒸发除去溶剂,烘干成浸膏,称定质量,分别用相应溶剂稀释成不同浓度的谷精草水提液和醇提液。

表 1 谷精草提取物清除自由基的能力

Table 1 Scavenging effect of Eriocauli Flos extract on free radical

样品	清除超氧自由基			清除 DPPH 自由基			清除羟基自由基		
	回归方程	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> /g·L <sup>-1</sup>	回归方程	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> /g·L <sup>-1</sup>	回归方程	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> /g·L <sup>-1</sup>
水提物	A = 33.485C + 3.482	0.994	1.389	A = 122.920C + 8.064	0.996	0.341	A = 12.718C + 5.392	0.960	3.507
醇提物	A = 33.47C + 23.481	0.900	0.792	A = 122.09C + 26.511	0.907	0.192	A = 6.188C + 15.813	0.948	5.525

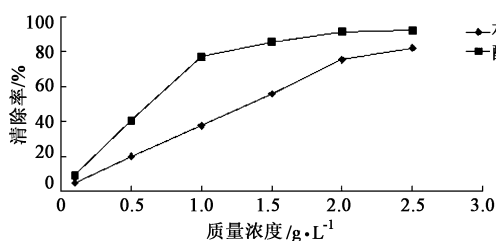


图 1 谷精草提取液对超氧阴离子自由基的清除能力

Fig. 1 Scavenging activity of Eriocauli Flos extract on superoxide anion radical

**2.3 清除 DPPH 自由基能力**<sup>[10]</sup> 取 5 支 10 mL 具塞比色管,各加入新配置的  $6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPPH 溶液 0.5 mL,分别加入质量浓度 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 g·L<sup>-1</sup> 的样品液 1.0 mL,加无水乙醇定容至 10 mL,暗光反应 30 min,以无水乙醇调零,在 517 nm 处测定 A(n = 3),按清除率 =  $[(A_1 - A_2)/A_1] \times 100\%$  计算,式中 A<sub>1</sub> 为空白吸光度(t = 0 min),A<sub>2</sub> 为反应 30 min 后的吸光度,见表 1 和图 2。结果表明谷精草提取物对 DPPH 具有一定的清除能力,且醇提物的清除率优于水提物。

**2.2 清除超氧阴离子自由基能力**<sup>[10]</sup> 取 10 mL 具塞比色管,加入  $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl 缓冲液(pH 8.2)4.0 mL,置于 25 °C 水浴保温 20 min,取出,分别加入 0.1,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 g·L<sup>-1</sup> 样品液(25 °C 水浴保温 20 min)0.2 mL,加入  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  邻苯三酚溶液(25 °C 水浴保温 20 min)0.8 mL,混匀,静置 4 min,加入  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 溶液 2 滴终止反应,混合,以 Tris-HCl 缓冲液调零,以相应试剂为参比,于 321 nm 处测定吸光度(A, n = 3),按清除率 =  $[1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$  计算。式中 A<sub>0</sub> 为加入邻苯三酚但不加样品液的吸光度,A<sub>1</sub> 为加入邻苯三酚和样品液的吸光度,A<sub>2</sub> 为样品液但不加入邻苯三酚的吸光度。计算各提取物的回归方程[以 A 为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标]及半数抑制浓度,样品清除自由基的能力以半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)表示<sup>[11]</sup>,见表 1 和图 1。结果发现谷精草提取物具有较强清除超氧自由基的能力,且醇提物的清除率优于水提物。

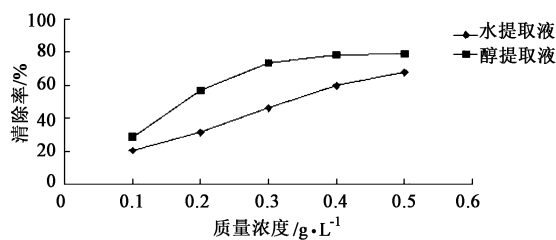


图 2 谷精草提取液对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 2 Scavenging activity of Eriocauli Flos extract on DPPH radical

**2.4 清除羟基自由基的能力**<sup>[12]</sup> 采用 Fenton 反应体系产生羟基自由基。在 10 mL 具塞比色管中依次加入  $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  FeSO<sub>4</sub> 1.0 mL 和  $9 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸-乙醇溶液 2.0 mL,充分混匀后分别加入质量浓度为 0.1,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 g·L<sup>-1</sup> 的样品液 2.0 mL,加入  $8.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2 mL 启动反应,室温反应 1 h,与空白液比较,于 510 nm 处测定 A(n = 3),计算清除率,结果见表 1 和图 3。表明谷精草提取液对羟基自由基具有清除能力,在相对低质量浓度下醇提液清除羟基自由基的能力优于水提液。

**2.5 还原 Fe<sup>3+</sup> 的能力**<sup>[12]</sup> 在 10 mL 具塞比色管中

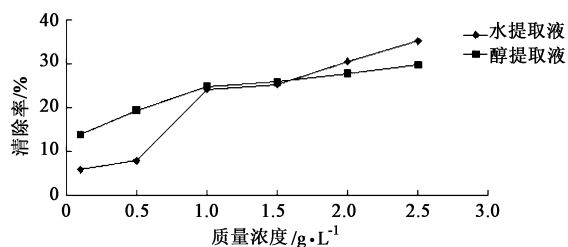


图 3 谷精草提取液对羟基自由基的清除能力  
Fig. 3 Scavenging activity of Eriocauli Flos extract on hydroxyl radical

依次加入质量浓度为 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 g·L<sup>-1</sup> 的样品溶液 2.5 mL, 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液 (pH 6.6) 和 1% 铁氰化钾各 2.5 mL, 混匀后置于 50 °C 水浴中反应 20 min, 加入 10% 三氯乙酸 2.5 mL, 混匀, 如溶液浑浊则离心 (3 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min), 取上清液 2.5 mL, 加水 2.5 mL 和 0.1% 三氯化铁溶液 0.5 mL, 混匀, 以相应试剂为参比, 于 700 nm 处测定  $A(n=3)$ 。得谷精草水提物、醇提物清除羟基自由基的回归方程分别为  $A=0.681C+0.102(R^2=0.991)$ ,  $A=0.774C+0.292(R^2=0.970)$ , 提示谷精草不同提取液对还原 Fe<sup>3+</sup> 均具有较强的能力, 且醇提物还原 Fe<sup>3+</sup> 能力优于水提物。

**2.6 金属离子(Fe<sup>2+</sup>)螯合能力**<sup>[12]</sup> 分别取 0.2 g·L<sup>-1</sup> 的谷精草样品液和 BHA 溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL, 分别置于 10 mL 具塞比色管中, 加入 0.2 mol·L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub> 溶液 0.1 mL, 混匀, 加入 5 mmol·L<sup>-1</sup> 菲洛嗪 0.2 mL, 加无水乙醇定容至 5 mL, 剧烈振荡混合, 室温放置 10 min。以无水乙醇调零, 于 562 nm 处测定  $A(n=3)$ 。按螯合率 =  $(A_0 - A_1)/A_0 \times 100\%$  计算, 式中  $A_0$  为不加样品时的吸光度,  $A_1$  为加入样品时的吸光度。得谷精草水提物、醇提物、BHA 对金属离子(Fe<sup>2+</sup>)螯合能力的回归方程依次为  $A=44.350C-0.059(R^2=0.982)$ ,  $A=17.000C+10.646(R^2=0.999)$ ,  $A=31.230C-0.087(R^2=0.990)$ 。由图 4 可知, 谷精草提取液和 BHA 都能够对金属离子(Fe<sup>2+</sup>)有螯合作用, 并呈现良好的量效关系; 谷精草提取物对金属(Fe<sup>2+</sup>)的螯合能力比 BHA 强。

### 3 讨论

通过对自由基的清除作用考察, 证实谷精草提取物是一种有效的自由基清除剂, 在消除自由基过程中使溶液中自由基数目减少。谷精草水提物和醇提物均具有较强的抗氧化活性, 且在相对低浓度下醇提物的抗氧化作用总体比水提物强。自由基具有强氧化性, 在正常情况下, 人体内的自由基处于不断

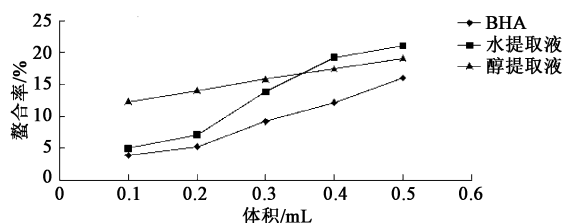


图 4 谷精草提取液和 BHA 对金属离子(Fe<sup>2+</sup>)的螯合能力  
Fig. 4 Chelating ability of Eriocauli Flos extract and butylated hydroxy anisole on metal ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>)

产生与清除的动态平衡, 以确保机体正常的生命活动。当体内自由基的动态平衡被破坏, 自由基可损害机体的组织和细胞, 进而导致心脏病、癌症等疾病的产生与恶化, 更能引起生物机体的衰老加快<sup>[5,13]</sup>。说明清除体内自由基、抗氧化是预防机体衰老及多种疾病的重要措施。

#### [参考文献]

- [1] 中国药学会《药学大辞典》编辑委员会. 药学大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 2718.
- [2] 宋立人, 洪恂, 丁诸亮, 等. 现代中药学大辞典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1079.
- [3] 周文丽, 颜晓波, 严洲萍. 谷精草研究[J]. 医学信息, 2011, 24(4): 2490-2491.
- [4] 李向勇, 粟玉刚, 陈小军, 等. 谷精草有效成分分析及体外抗菌活性测定[J]. 草业与畜牧, 2009(5): 10-12.
- [5] 袁建梅, 尚学芳, 汪应灵, 等. 谷精草总黄酮提取及对羟自由基清除作用研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 894-895.
- [6] 邱燕, 范明, 单萍. 谷精草中挥发油的气质联用分析[J]. 福建中医药, 2006, 37(1): 46.
- [7] 袁建梅, 耿明江, 汪应灵, 等. 谷精草提取物中多酚含量的测定[J]. 光谱实验室, 2012, 29(1): 327-330.
- [8] 张凯, 孟祥艳, 孙永, 等. 银耳、透骨草、谷精草提取物的制备及其复配物的功效评价[J]. 日用化学品科学, 2013, 36(3): 28-32.
- [9] 王立珍, 袁志翔, 徐超群, 等. 马齿苋醇提物和当归醇提物的抗氧化活性研究[J]. 究华西药学杂志, 2013, 28(2): 144-146.
- [10] 李涂蓝, 林明霞, 黄锁义, 等. 薏苡茎总碱抗氧化性研究[J]. 中国野生植物资源, 2013, 32(6): 16-18.
- [11] 张伟, 李昌勤, 刘瑜新, 等. 酸模叶蓼抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 228-230.
- [12] 林明霞, 李涂蓝, 潘冬贵, 等. 鸡骨草醇提物体外抗氧化自由基作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(10): 1047-1050.
- [13] 乔风云, 陈欣, 余柳青. 抗氧化因子与天然抗氧化剂研究综述[J]. 科技通报, 2006, 22(3): 332-336.

[责任编辑 刘德文]