

本文引文格式:黄比翼,陈石梅,黄锁义,等.不同极性溶剂的草果提取物抗氧化活性研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):37-40.

【论著与临床报道】

不同极性溶剂的草果提取物抗氧化活性研究

黄比翼¹,陈石梅²,黄锁义^{1,3},陆海峰¹

1. 右江民族医学院药学院,广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院基础医学院,广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院科学实验中心,广西高校右江流域特色民族药研究重点实验室,广西 百色 533000)

摘要:目的 研究不同极性溶剂草果提取物的抗氧化活性。方法 用95%乙醇提取草果,过滤并将滤液浓缩成浸膏,用少量蒸馏水溶解浸膏后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位以及水部位。采用紫外分光光度法来测定草果提取物对ABTS⁺自由基、羟自由基和Fe²⁺螯合的清除能力,比较其抗氧化活性,并用BHT作为阳性对照品。**结果** 不同极性溶剂的草果提取物对ABTS⁺自由基、羟自由基和Fe²⁺螯合都具有清除能力,清除ABTS⁺自由基的能力以阳性对照品最强,高达90.56%,清除羟自由基能力大小为:正丁醇部位>BHT>石油醚部位>乙酸乙酯部位>水部位,清除螯合Fe²⁺能力中,当提取物浓度为4.0 μg/ml时,正丁醇部位螯合清除能力最强,石油醚部位螯合清除能力最弱。其中又以BHT的Fe²⁺螯合能力、ABTS⁺自由基清除能力、羟自由基清除能力最好。**结论** 不同极性溶剂的草果提取物都具有良好的抗氧化活性,其中以BHT作为阳性对照品对草果的抗氧化活性最好,其次是正丁醇部位、石油醚部位、乙酸乙酯部位,最后是水部位。

关键词:极性溶剂;草果提取物;抗氧化活性

中图分类号:R282 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2021)01-0037-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.008

Studies on antioxidant activity of Amomum tsaoko extracts with different polar solvents

Huang Biyi¹, Chen Shimei², Huang Suoyi^{1,3}, Lu Haifeng¹

1. School of Pharmacy, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Scientific Experiment Center of Youjiang Medical University for Nationalities, Guangxi Key Laboratory for Ethnic Medicine of Youjiang Valley, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the antioxidant activity of Amomum tsaoko extracts with different polar solvents. **Methods** The Amomum tsaoko was extracted with 95% ethanol, and then filtrated and concentrated into the extractum. The extractum was dissolved in a small amount of distilled water, and then extracted with the petroleum ether, ethyl acetate, n-butanol and ethyl acetate to get respective extract liquor and water part, respectively. Uv spectrophotometry was used to determine the scavenging ability of Amomum tsaoko extracts against ABTS⁺ free radical, hydroxyl free radical and Fe²⁺ chelation, and antioxidant activity was compared. BHT was used as the positive control. **Results** The extracts of Amomum tsaoko with different

基金项目:广西科技计划项目;广西重点研发计划(桂科 AB18221095);右江民族医学院高层次人才科研项目(01002018079)

第一作者简介:黄比翼(1995-),女,本科,药学专业,E-mail:1604289065@qq.com

通讯作者简介:黄锁义(1964-),男,二级教授,硕士研究生导师,研究方向:天然药物化学、中药化学、天然药物免疫机制、中药药理学及食品卫生等,E-mail:huangsuoyi@163.com

polar solvents had scavenging ability on ABTS⁺ free radical, hydroxyl free radical and Fe²⁺ chelation. The positive control had the strongest scavenging ability on ABTS⁺ free radical, being as high as 90%. The scavenging ability on hydroxyl radical was as follows: the n-butanol part > BHT > petroleum ether part > ethyl acetate part > water part. When the concentration of extract was 4.0 μg/mL, the n-butanol part had the strongest scavenging capacity on Fe²⁺ chelation, while the petroleum ether part was the weakest. Among them, BHT had the best scavenging ability on Fe²⁺ chelation, ABTS⁺ free radical and hydroxyl free radical. **Conclusion** Amomum tsao-ko extracts with different polar solvents have good antioxidant activity. Among them, BHT as the positive control had the best antioxidant activity, followed by n-butanol part, petroleum ether part, ethyl acetate part, and finally water part.

Key words: polar solvents; Amomum tsao-ko extracts; antioxidant activity

草果^[1]【别名】: 草果仁、草果子 (*Amomum tsaoko* *Crevoet et Lemarie*) 为姜科植物的干燥成熟果实, 也是豆蔻属多年生草本植物, 茎丛生, 高可达 3 米, 全株有辛香气, 秋季果实成熟时采收, 除去杂质, 晒干或低温干燥, 分布于中国云南、广西、贵州等省区, 栽培或野生于疏林下, 海拔 1100~1800 米。草果是药食两用中药材大宗品种之一, 草果作调味香料; 全株可提取芳香油。果实入药, 具有燥湿健脾, 除痰截疟的功能。许多中成药的配方都含有草果, 如透骨搜风丸、益肾丸、开郁舒肝丸、宽胸利膈丸、洁白丸等。草果味辛, 性温; 归脾、胃经; 芳烈燥散; 临床上主治脘腹胀满、反胃呕吐、食积疟疾、胸膈痞满、脘腹冷痛、恶心呕吐、泄泻下痢、食积不消、霍乱、瘟疫、瘴疟等症。抗氧化活性研究已成为评价保健食品、药品开发的重要内容。研究表明^[2], 草果具有调节胃肠功能、减肥降脂、降血糖、抗氧化、抗肿瘤、防霉和抗炎镇痛等药理作用。本文为草果的进一步深入研究开发及应用提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料 粉碎后的草果、95%乙醇、蒸馏水、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、无水乙醇、甲醇、BHT(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚)、ABTS[2,2-联氮-二(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐]、K₂S₂O₈、FeSO₄·7H₂O、水杨酸、H₂O₂、菲罗嗪、FeCl₂; 均为国产分析纯。

1.2 仪器 紫外可见分光光度计(N4S型, 棱光牌, 上海仪电分析仪器有限公司生产); 分析天平(FA1204B型, 上海天美天平仪器有限公司生产); 循环水式多用真空泵(SHB-B88型, 郑州长城科工贸有限公司生产); 真空干燥箱(DZF-6020型, 广州市星烁仪器有限公司生产); 旋转蒸发器(RE-3000A型, 上海亚荣生化仪器厂生产); 数显恒温水浴锅(HH-Z4型, 金坛市城东光芒仪器厂生产)。

1.3 方法 称取粉碎后的草果 5 kg, 放入圆底烧瓶中, 加入适量 95%乙醇进行加热回流 2 h, 反复提取 3 次, 合并每次得到滤液, 并用纱布进行过滤, 过滤好的液体经旋转蒸发器蒸发浓缩, 再经水浴锅蒸发至无乙

醇味膏状。取适量的提取物浸膏, 用少量蒸馏水溶解后, 按照 1:1 比例先后顺序放入有机溶剂石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取 3 次; 最后, 得到 4 个极性部位, 对其进行蒸发浓缩干燥, 低温下保存。分别精密称量 4 个极性部位的浸膏 0.05 g, 并用甲醇定容至 50 ml, 浓度都为 1 g/L, 然后分别配制成 0.5 μg/ml、1.0 μg/ml、2.0 μg/ml、3.0 μg/ml、4.0 μg/ml, 封口放置在低温下冷藏(4℃)备用。

1.4 草果提取物抗氧化活性的测定

1.4.1 ABTS⁺ 自由基清除能力的测定 配置 ABTS⁺ 溶液: 称取 0.384 g ABTS 用蒸馏水溶解后, 定容至 100 ml, 使 ABTS 溶液浓度为 7 mmol/L。称取 0.1514 g 的过硫酸钾用蒸馏水溶解, 定容至 10 ml, K₂S₂O₈ 溶液浓度为 2.45 mmol/L。取 100 ml ABTS⁺ 溶液和 4.6 ml K₂S₂O₈ 溶液混合, 室温下避光保存 16 h, 使用前用无水乙醇稀释, 作为工作液备用。往具塞试管加入 6 ml ABTS⁺ 溶液和 0.6 ml 不同浓度提取液, 进行均匀混合后, 避光反应 1 h, 测定在波长 λ=734 nm 处的吸光度 A₁; 同样操作下, 测定 6 ml 无水乙醇和 0.6 ml 不同浓度提取液的吸光度 A₂; 同时测定 6 ml ABTS⁺ 溶液和 0.6 ml 无水乙醇吸光度 A₀, 把 BHT 作为阳性对照品, 计算 ABTS⁺ 自由基清除率(%)=[1-(A₁-A₂)]/A₀×100%。

1.4.2 羟自由基清除能力的测定 事先配制好需要的提取物溶液浓度, 分次加 1 ml 9 mmol/L FeSO₄ 溶液和 1 ml 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液于试管中, 再向具塞量筒加入不同浓度提取物溶液 3 ml 和 8.8 mmol/L H₂O₂ 溶液 1 ml, 并在温度 37℃ 下反应 40 min, 用蒸馏水作为空白调零, 用 BHT 做阳性对照品, 测其吸光度在 510 nm 处, 按以下公式计算清除率。羟自由基清除率(%)=[1-(A₀-A₁)/A₀]×100%, 式中 A₀: 0.5 ml FeSO₄ 溶液+0.5 ml 水杨酸-乙醇溶液+蒸馏水定容到 10 ml+0.5 ml H₂O₂ 溶液; A₁: 0.5 ml FeSO₄ 溶液+0.5 ml 水杨酸-乙醇溶液+3 ml 样品溶液+蒸馏水定容到 10 ml+0.5 ml

H₂O₂ 溶液。

1.4.3 金属离子(Fe²⁺)螯合能力的测定 用分析天平称取 0.04 g FeCl₂,用蒸馏水溶解,并定容至 100 ml,得到 2 mmol/L FeCl₂ 溶液,同时称取 0.1255 g 菲洛嗪,用蒸馏水溶解,并定容至 50 ml,得到 5 mmol/L 菲洛嗪溶液。然后分别用移液枪量取不同浓度样品 2 ml 加入到有浓度为 2 mmol/L FeCl₂ 溶液 0.1 ml 的具塞试管中,经室温孵育后,加入 0.2 ml 的 5 mmol/L 菲洛嗪试剂,最后加入 3 ml 蒸馏水,反应 10 min 后,在 562 nm 处读取吸光值。金属离子(Fe²⁺)螯合清除率(%)=[(A₀-A₁)/A₀]×100%。A₀:2 ml 蒸馏水+0.1 ml FeCl₂+0.2 ml 5 mmol/L 菲洛嗪+3 ml 蒸馏水的吸光度值;A₁:2 ml 样品+0.1 ml FeCl₂+0.2 ml 5 mmol/L 菲洛嗪+3 ml 蒸馏水的吸光度值。

2 结果

2.1 ABTS⁺ 自由基清除能力的结果分析 提取物溶液加入 ABTS⁺ 溶液后,ABTS⁺ 会与提取物的抗氧化成分发生反应,生成稳定化合物,使溶液褪色,由此,说明清除率越高抗氧化能力越高。从图 1 可知,不同极性溶剂的苹果提取物对 ABTS⁺ 自由基清除率中 BHT 阳性对照品的清除率最强,高达 90.56%,说明其抗氧化能力最好。提取物对 ABTS⁺ 自由基的清除能力大小为 BHT>乙酸乙酯部位>正丁醇部位>水部位>石油醚。

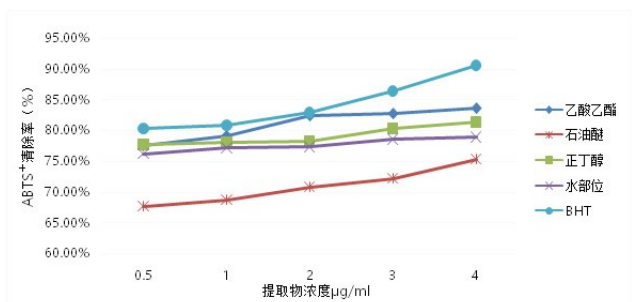


图 1 不同提取物浓度对 ABTS⁺ 自由基清除率的影响

2.2 羟自由基清除能力的结果分析 羟自由基能力是测定抗氧化活性的常用指标之一,羟自由基的清除率越高说明其抗氧化能力越高。从图 2 可知,苹果提取物对羟自由基表现出了不同的清除能力,正丁醇部位清除率最高,但整体清除率比 ABTS⁺ 自由基清除率低很多,在相同提取物浓度中,正丁醇部位对羟自由基清除能力最强,其次是 BHT,而且不同极性部位之间的清除率较为接近,均在 0%~25% 范围内,特别是乙酸乙酯和石油醚部位清除率很相近。羟自由基清除能力大小为:正丁醇部位>BHT>石油醚部位>乙酸乙酯部位>水部位。

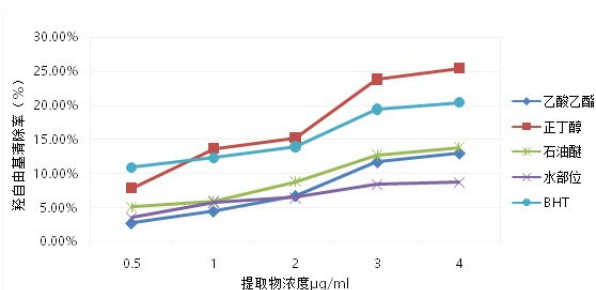


图 2 不同提取物浓度对羟自由基清除率的影响

2.3 金属离子(Fe²⁺)螯合清除能力的结果分析 从图 3 可知,苹果提取物都具有对 Fe²⁺ 螯合的清除能力,其浓度越高清除率越强,极性不同清除率也不一样。其中以阳性对照品 BHT 对其清除能力影响较大,对金属离子(Fe²⁺)螯合清除率从 8% 大幅度的增加到 30%。在提取物浓度为 4 μg/ml 时,BHT 清除率接近最高点 30%。而其他极性部位清除率均稳定上升,但不同极性部位的苹果提取物清除能力相差不大,上升幅度在 10% 之间。金属离子(Fe²⁺)螯合清除能力大小为:正丁醇部位>BHT>水部位>乙酸乙酯部位>石油醚部位。

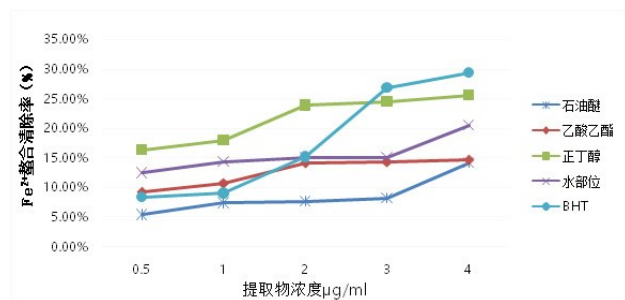


图 3 不同提取物浓度对 Fe²⁺ 螯合清除率的影响

3 讨论

苹果含有抗氧化成分,具有抗氧化活性,但抗氧化活性能力并不一样。实验图表的曲线均呈现上升趋势,并且清除能力随浓度增加而不断增强。三个数据图表结果表明,在 BHT 部位清除能力最好,有很好的抗氧化活性,其次是正丁醇部位体现了强的稳定的抗氧化活性能力。因此,为研究苹果在抗氧化活性方面奠定了坚实的基础。

本论文使用有机溶剂醇提取法,并对苹果进行体外抗氧化活性的测定,测定苹果提取物对 ABTS⁺ 自由基、羟自由基的清除能力以及金属离子(Fe²⁺)螯合清除能力,发现苹果对 ABTS⁺ 自由基清除能力最强,抗氧化活性最好,以 BHT 清除能力最好,高达 90%;

正丁醇部位对清除羟自由基的清除能力效果较好;整合 Fe^{2+} 的能力在提取物浓度为 $4\mu\text{g}/\text{ml}$ 时 BHT 最强,草果在一定浓度范围内随提取物浓度的增加而增强。综上所述,表明了不同极性溶剂的草果提取物具有良好的抗氧化活性和抗自由基清除能力。

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: 509-510.
- [2] 代敏, 彭成. 草果的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2011, 2(4): 55-59.
- [3] 彭美芳. 草果抑菌活性物质作用机制及分离纯化的研究[D]. 海口: 海南大学, 2014.
- [4] 杨再波, 谌连桃, 吴应红, 等. 密蒙花花蕾不同提取部位的抗氧化活性研究[J]. 中国药房, 2016, 27(1): 32-34.
- [5] 陈乃东, 周守标, 王春景, 等. 春花胡枝子黄酮类化合物的提取及清除羟自由基作用的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 86-91.
- [6] 罗爱月, 农建聃, 吕金萍, 等. 广西茉莉花叶不同极性部位提取物的抗氧化活性[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(6): 703-706.
- [7] 李冉, 谢国勇, 韩宇, 等. 密蒙花与其替代品结香总提物体

外抗氧化活性作用的比较研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(2): 225-230.

- [8] 郭森, 宋江峰, 豆海港. 超声波辅助提取草果精油及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(16): 58-61.
- [9] 邱珊莲, 林宝妹, 张少平, 等. 嘉宝果嫩叶提取物不同极性部位抗氧化及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(7): 1373-1378.
- [10] 梁荣, 吴继红, 周祥山, 等. 枣果的抗氧化活性成分研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(24): 211-218.
- [11] Sun H, Wang HX, Zhang PZ, et al. Changes in phenolic content, antioxidant activity, and volatile compounds during processing of fermented sorghum grain tea[J]. Cereal Chemistry, 2020, 97(3): 612-625.
- [12] R. Manivannan, D. Shiamala Devi. Structure Elucidation of New Flavone and Antioxidant, Anti-Inflammatory Activities from Leaves of *Vitex negundo* Linn[J]. Asian Journal of Chemistry, 2020, 32(5): 1043-1047.
- [13] Fernandes L, Casal S, Pereira JA, et al. Freezing of edible flowers: Effect on microbial and antioxidant quality during storage[J]. J Food Sci, 2020, 85(4): 1151-1159.

收稿日期: 2020-08-17; 修回日期: 2020-12-20

(上接第 32 页)

- [12] Lee HY, Kim SW, Lee GH, et al. Curcumin and Curcuma longa L. extract ameliorate lipid accumulation through the regulation of the endoplasmic reticulum redox and ER stress [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6513.
- [13] 袁倩, 吴发印, 周鹤峰, 等. 姜黄素联合 5-氟尿嘧啶对黏液表皮样癌细胞的增殖抑制和促凋亡作用及其机制[J]. 广西医学, 2018, 40(8): 939-943.
- [14] Park BH, Lim JE, Jeon HG, et al. Curcumin potentiates antitumor activity of cisplatin in bladder cancer cell lines via ROS-mediated activation of ERK1/2 [J]. Oncotarget, 2016, 7(39): 63870-63876.
- [15] Zhu X, Shen H, Yin X, et al. miR-186 regulation of Twist1 and ovarian cancer sensitivity to cisplatin[J]. Oncogene, 2016, 35(3): 323-332.
- [16] Dicks N, Gutierrez K, Michalak M, et al. Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer [J]. Front Oncol, 2015, 5: 11.
- [17] 宋盈, 桂萍. 姜黄素通过内质网应激途径诱导肺癌 A549

细胞凋亡[J]. 武汉大学学报(医学版), 2018, 39(5): 705-707, 764.

- [18] Hetz C, Chevet E, Harding HP. Targeting the unfolded protein response in disease [J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(9): 703-719.
- [19] 徐晨阳, 覃月秋, 宋嗣恩, 等. PERK 通路与疾病关系的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(3): 365-368.
- [20] Li YM, Guo YS, Tang J, et al. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress [J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2014, 46(8): 629-640.
- [21] 白亮, 李耀辉, 王如. 姜黄素与 β -榄香烯联用对涎腺腺样囊性癌细胞株 SACC-LM 生长抑制和凋亡的协同作用[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(1): 26-30.
- [22] Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress [J]. FEBS J, 2016, 283(14): 2640-2652.

收稿日期: 2020-10-28; 修回日期: 2020-11-24