

# 沉香叶不同提取部位的体外抗氧化作用研究<sup>△</sup>

邓幸运<sup>1\*</sup>,周绿颖<sup>1</sup>,李远彬<sup>1</sup>,易智彪<sup>2</sup>,赖小平<sup>1</sup>,王羚邴<sup>1#</sup>(1.广州中医药大学新药研发中心,广州 510006;2.东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院,广东东莞 523808)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2181-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.06

**摘要** 目的:考察沉香叶不同提取部位的体外抗氧化作用。方法:采用回流提取法依次用石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇、水对沉香叶进行提取,得到相应部位提取物(分别记为AGP、AGE、AGA、AGW部位),考察各部位对2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS<sup>+</sup>)自由基、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)自由基的清除能力以及对铜离子(Cu<sup>2+</sup>)的还原能力,并计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。以上试验均以维生素C(VC)为阳性对照。结果:各部位对上述自由基的清除作用及对Cu<sup>2+</sup>的还原作用均呈浓度依赖性,其中AGA、AGW部位对ABTS<sup>+</sup>自由基的最大清除率分别为100%、81.07%(IC<sub>50</sub>分别为14.89、23.12 mg/L),且高于VC(88%),其余部位清除率均未超过50%;AGA部位对DPPH自由基的最大清除率为67.74%(IC<sub>50</sub>为47.96 mg/L),但不及VC(91.44%),其余部位清除率较弱,均低于40%;AGA、AGW部位对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基的最大清除率分别为67.79%、61.79%(IC<sub>50</sub>分别为393.01、421.04 mg/L),但不及VC(88%),其余部位清除率未超过33%;AGP、AGE、AGA、AGW部位对Cu<sup>2+</sup>最大还原百分率均超过50%(IC<sub>50</sub>分别为55.99、40.27、25.44、31.06 mg/L),但均不及VC(100%)。结论:沉香叶各部位提取物均有体外抗氧化活性,其中以无水乙醇部位抗氧化能力最强。

**关键词** 沉香叶;提取物;抗氧化能力;清除作用;体外

## Study on Antioxidant Effects of Different Extract Parts from *Aquilaria sinensis* Leaves *in vitro*

DENG Xingyun<sup>1</sup>, ZHOU Lüeying<sup>1</sup>, LI Yuanbin<sup>1</sup>, YI Zhibiao<sup>2</sup>, LAI Xiaoping<sup>1</sup>, WANG Lingli<sup>1</sup> (1. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematical Engineering Academy of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong Dongguan 523808, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate antioxidant effects of different extract parts from *Aquilaria sinensis* leaves. METHODS: *A. sinensis* leaves were extracted by reflux extraction with petroleum ether, ethyl acetate, absolutely ethanol, water to obtain corresponding parts (AGP, AGE, AGA and AGW parts). The ability of different extracts eliminating ABTS<sup>+</sup> free radical, DPPH free radical and O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical and reducing Cu<sup>2+</sup> were investigated. IC<sub>50</sub> was also calculated. Vitamin C (VC) was used as positive control in above tests. RESULTS: Those parts eliminated above free radicals and reduced Cu<sup>2+</sup> in concentration-dependant manner, among which maximal elimination rate of AGA and AGW parts to ABTS<sup>+</sup> free radical were 100% and 81.07% (IC<sub>50</sub>=14.89, 23.12 mg/L) and higher than that of VC (88%); those of other parts were less than 50%. The maximal elimination rate of AGA parts to DPPH free radical was 67.74% (IC<sub>50</sub>=47.96 mg/L), but still lower than that of VC (91.44%); the elimination rates of other parts were all weak and lower than 40%. The maximal elimination rates of AGA and AGW parts to O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical were 67.79% and 61.79% (IC<sub>50</sub>=393.01, 421.04 mg/L), but still lower than that of VC (88%); the elimination rates of other parts were all lower than 33%. The maximal reduction percentage of AGP, AGE, AGA and AGW parts to Cu<sup>2+</sup> were all higher than 50% (IC<sub>50</sub>=55.99, 40.27, 25.44, 31.06 mg/L, respectively), but still lower than that of VC (100%). CONCLUSIONS: Different extract parts from *A. sinensis* leaves have antioxidant activity *in vitro*, and that of AGA is the strongest.

**KEYWORDS** *Aquilaria sinensis* leaves; Extracts; Antioxidant ability; Scavenging effect; *in vitro*

沉香为瑞香科植物白木香[*Aquilaria sinensis*(Lour.)Gilg.]含树脂的木材,为广东省著名的道地药材,具有行气止痛、温中止呕之功效,临床常用于治疗胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急等<sup>[1]</sup>。但由于森林资源、生态环境遭受自然灾害和人为破坏,导致白木香野生资源不断减少、沉香资源匮乏。白木香已被列为国家二级保护野生植物,被载入《中国植

物红皮书》和《广东省珍稀濒危植物图谱》中<sup>[2]</sup>。沉香结香时间较长、价格昂贵,然而沉香叶产量却很大,但因作为非药用部位而常被丢弃。

人体自由基累积会造成生物膜的脂质过氧化损伤,引起酶、氨基酸、蛋白质以及DNA的氧化破坏,对内脏器官、免疫系统的形态、功能产生影响,可能导致动脉粥样硬化、心力衰竭、高血压等心血管疾病的发生<sup>[3]</sup>。随着对中药提取物抗氧化作用的研究,发现许多中药成分具有清除自由基的作用,为体内发生过氧化反应而致机体损伤等相关疾病的治疗提供了新的途径和方法。本研究就沉香叶不同溶剂提取部位对体外超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)自由基、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS<sup>+</sup>)自由

<sup>△</sup> 基金项目:广东省科技计划项目(No.2012B011000050);港澳台科技合作专项项目(No.2014DFH30010)

\* 实验员,硕士。研究方向:新药研究与开发。E-mail: luckyli-ond@163.com

# 通信作者:副研究员,博士。研究方向:新药研究与开发。电话:020-39358316。E-mail: wlingli\_1999@126.com

基的清除能力以及对Cu<sup>2+</sup>的还原能力进行考察,筛选沉香叶体外抗氧化活性的有效部位,为沉香叶抗氧化剂研发奠定基础,以合理利用资源和开发药用植物其他部位的药用作用。

## 1 材料

### 1.1 仪器

TU1810-DPC型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);CP225D型分析天平、BSA225D型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];PHB-3型笔试pH计(上海三信仪表厂);RE-2000E型旋转蒸发器(上海美强仪器设备有限公司)。

### 1.2 药材与试剂

沉香叶于2014年10月采自广州潮州市,由广州中医药大学中药学教研室赖小平教授鉴定为瑞香科沉香属白木香[*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg.]的叶;维生素C(VC,天津市百世化工有限公司,批号:20150311,纯度:>99.7%);DPPH、ABTS二铵盐、新亚铜试剂(美国阿拉丁公司,批号:20150521、20150315、20141206,纯度:96%、98%、98%);联苯三酚、三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自天津市大茂化学试剂厂(批号:20140909、20140728,纯度:均大于99.5%),其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 沉香叶不同提取部位的制备

称取经粉碎过筛的沉香叶粗粉90 g于圆底烧瓶中,依次加入20倍量石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇、水回流提取3 h,提取2次,过滤,滤液减压蒸发除去溶剂,于50℃鼓风干燥箱中干燥,称定石油醚提取部位(AGP部位)、乙酸乙酯提取部位(AGE部位)、无水乙醇提取部位(AGA部位)、水提取部位(AGW部位)质量,计算得膏率分别为2.2%、2.6%、4.5%、15.0%。

### 2.2 各部位对ABTS<sup>+</sup>自由基的清除作用<sup>[4-6]</sup>

精密称取“2.1”项下各部位浸膏,以95%乙醇为溶剂,分别制备成质量浓度为10、20、30、40、50、60、70 mg/L的样品溶液。分别取0.3 ml各部位样品溶液加入含有ABTS<sup>+</sup>自由基的溶液[取ABTS二铵盐(7.4 mmol/L)、过硫酸钾(2.6 mmol/L)各0.2 ml,混合后暗处放置12~16 h,使ABTS<sup>+</sup>自由基产生完全,用95%乙醇稀释30~40倍,使溶液吸光度在0.7左右]1.2 ml,振荡混匀,室温下静置6 min。以95%乙醇作为空白对照,在734 nm波长处测定溶液吸光度(A)。以VC(6 mg/L)为阳性对照,同法测定。每组试验平行3次,取平均值。

计算ABTS<sup>+</sup>自由基清除率(%)=(A<sub>0</sub>-A)/A<sub>0</sub>×100%。式中,A<sub>0</sub>为95%乙醇加入ABTS<sup>+</sup>自由基溶液的吸光度,A为样品溶液加入ABTS<sup>+</sup>自由基溶液的吸光度。

### 2.3 各部位对DPPH自由基的清除作用<sup>[4-5,7]</sup>

精密称取“2.1”项下各部位浸膏,以95%乙醇为溶剂,分别制备成质量浓度为10、20、30、40、50、60、70 mg/L的样品溶液。分别取0.5 ml各部位样品溶液加入DPPH·溶液(精密称取DPPH 2 mg加入95%乙醇定容至100 ml,超声5 min使其完全溶解,得0.1 mmol/L DPPH自由基溶液,紫外分光光度计测定溶液吸光度在1.2~1.3之间,3 h之内可用)1 ml,振荡混匀,室温暗处放置30 min。以95%乙醇为空白对照,于510 nm波长处测定吸光度(A)。以VC(10 mg/L)为阳性对照,同法测定。每组试验平行3次,取平均值。

计算DPPH自由基清除率(%)=(A<sub>0</sub>-A)/A<sub>0</sub>×100%。式中,A<sub>0</sub>为95%乙醇加入DPPH自由基溶液的吸光度,A为样品

溶液加入DPPH自由基溶液的吸光度。

### 2.4 各部位对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基的清除作用<sup>[7]</sup>

精密称取“2.1”项下各部位浸膏,以95%乙醇为溶剂,分别制备成质量浓度为160、240、320、400、480 mg/L的样品溶液。分别取50 μl各部位样品溶液置于3.5 ml石英比色皿中,加入Tris-HCl缓冲液(0.05 mol/L, pH=7.4,含1 mmol/L 乙二胺四乙酸)2 900 μl,再加入联苯三酚溶液(1 mmol/L 联苯三酚溶于1 mmol/L HCl中)50 μl(联苯三酚在弱碱性介质中会自身氧化分解产生有色中间物 and O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基),迅速振荡。以含样品溶液的Tris-HCl缓冲液为空白对照(防止样品中色素的干扰),立刻在325 nm波长处测定溶液吸光度(A),每隔30 s测定1次,共测定5 min,计算氧化反应速率V(V=A/t)。以VC(40 mg/L)为阳性对照,同法测定。各组试验平行3次,取平均值。

计算O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除率(%)=(V<sub>空</sub>-V<sub>样</sub>)/V<sub>空</sub>×100%。式中,V<sub>空</sub>为未加入样品溶液时邻苯三酚的自氧化反应速率,V<sub>样</sub>为加入样品溶液时邻苯三酚的氧化反应速率。

### 2.5 各部位对Cu<sup>2+</sup>的还原能力<sup>[8-10]</sup>

精密称取“2.1”项下各部位浸膏,以95%乙醇为溶剂,分别制备成质量浓度为10、20、30、40、50、60 mg/L的样品溶液。取0.2 ml各部位样品溶液,依次加入硫酸铜溶液(0.01 mol/L)0.125 ml、新亚铜溶液(7.5 mmol/L)0.125 ml、醋酸铵-醋酸(NH<sub>4</sub>Ac-HAc)缓冲液(0.1 mol/L, pH=7.5)0.55 ml,振荡混匀,室温下静置30 min。以NH<sub>4</sub>Ac-HAc缓冲液为空白对照,在450 nm波长处测定溶液吸光度(A)。以VC(20 mg/L)为阳性对照,同法测定。各组试验平行3次,取平均值。

计算Cu<sup>2+</sup>还原百分率(%)=(A-A<sub>0</sub>)/(A<sub>max</sub>-A<sub>0</sub>)×100%。式中,A为加入样品溶液后的吸光度,A<sub>max</sub>为本次试验中吸光度的最大测定值,A<sub>0</sub>为样品溶液与NH<sub>4</sub>Ac-HAc缓冲液混合后的吸光度。

### 2.6 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行数据处理并计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,选取各部位最大清除率进行统计分析。P<0.05表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 ABTS<sup>+</sup>自由基清除率测定结果

AGA、AGW部位对ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力较强,50 mg/L时清除率分别达到100%、81.07%(IC<sub>50</sub>分别为14.89、23.12 mg/L),但均不及VC;AGP、AGE部位清除能力较弱,清除率均不到50%。AGP部位、AGE部位与AGA部位或AGW部位比较,AGA部位与AGW部位比较,以及各部位与VC比较,清除率差异均有统计学意义(P<0.01)。沉香叶不同部位及VC的ABTS<sup>+</sup>自由基清除率测定结果见表1。

### 3.2 DPPH自由基清除率测定结果

样品溶液质量浓度为70 mg/L时,AGA部位对DPPH自由基清除能力较强,清除率达到67.74%(IC<sub>50</sub>为47.96 mg/L);其余部位清除率相对较低,均未超过50%;各部位清除率均不及VC。AGP部位、AGE部位与AGA部位或AGW部位比较,AGA部位与AGW部位比较,以及各部位与VC比较,清除率差异均有统计学意义(P<0.01)。沉香叶不同部位及VC的DPPH自由基清除率测定结果见表2。

### 3.3 O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除率测定结果

样品溶液质量浓度为480 mg/L时,AGA、AGW部位对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除能力较强,清除率分别为67.79%、61.79%(IC<sub>50</sub>

表1 沉香叶不同部位及VC的ABTS<sup>+</sup>自由基清除率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 1 The elimination rate of different extract parts of *A. sinensis* leaves and VC to ABTS<sup>+</sup> free radical( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

质量浓度,mg/L	VC	AGP部位	AGE部位	AGA部位	AGW部位
6	88.00±0.74				
10		5.95±1.77	11.55±0.45	39.90±0.77	31.20±0.82
20		8.82±1.01	19.10±1.22	60.00±0.51	47.45±0.76
30		10.94±2.12	24.68±0.81	74.00±0.81	60.76±0.72
40		14.52±1.43	30.66±0.75	87.50±1.47	73.08±1.50
50		15.90±0.61 <sup>***</sup>	37.86±3.17 <sup>***</sup>	100.00±0.44 <sup>*</sup>	81.07±0.53 <sup>**</sup>

注:与VC比较,\**P*<0.01;与AGA部位比较,<sup>#</sup>*P*<0.01;与AGW部位比较,<sup>Δ</sup>*P*<0.01

Note: vs. VC, \**P*<0.01; vs. AGA part, <sup>#</sup>*P*<0.01; vs. AGW part, <sup>Δ</sup>*P*<0.01

表2 沉香叶不同部位及VC的DPPH自由基清除率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 2 The elimination rate of different extract parts of *A. sinensis* leaves and VC to DPPH free radical( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

质量浓度,mg/L	VC	AGP部位	AGE部位	AGA部位	AGW部位
10	91.44±1.19	1.33±1.55	3.23±0.39	11.14±1.22	8.95±1.19
20		3.23±0.47	4.23±0.55	22.22±2.29	12.37±0.46
30		4.34±1.79	5.67±0.55	34.74±0.56	18.41±1.24
40		5.34±0.64	7.12±1.56	44.71±0.64	23.51±0.42
50		6.67±1.91	7.90±0.73	53.30±1.16	28.12±4.15
60		8.68±0.58	9.12±0.66	62.20±0.80	33.09±0.63
70		9.68±1.32 <sup>***</sup>	10.79±0.80 <sup>***</sup>	67.74±1.37 <sup>*</sup>	37.86±1.11 <sup>**</sup>

注:与VC比较,\**P*<0.01;与AGA部位比较,<sup>#</sup>*P*<0.01;与AGW部位比较,<sup>Δ</sup>*P*<0.01

Note: vs. VC, \**P*<0.01; vs. AGA part, <sup>#</sup>*P*<0.01; vs. AGW part, <sup>Δ</sup>*P*<0.01

分别为393.01、421.04 mg/L);其余部位对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除能力较弱,均未超过50%;但各部位对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除率均不及VC。AGP部位、AGE部位与AGA部位或AGW部位比较,AGA部位与AGW部位比较,以及各部位与VC比较,清除率差异均有统计学意义(*P*<0.01)。沉香叶不同部位及VC的O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除率测定结果见表3。

表3 沉香叶不同部位及VC的O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基清除率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 3 The elimination rate of different extract parts of *A. sinensis* leaves and VC to O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

质量浓度,mg/L	VC	AGP部位	AGE部位	AGA部位	AGW部位
40	100.00±1.08				
160		7.84±1.55	10.14±0.76	4.65±0.88	8.08±1.01
240		13.12±0.58	14.20±1.14	18.73±1.54	21.59±0.36
320		18.09±1.82	17.74±3.13	35.87±1.24	30.04±2.38
400		21.21±0.96	20.84±0.67	50.92±0.57	43.93±0.71
480		32.34±1.23 <sup>***</sup>	25.50±1.74 <sup>***</sup>	67.79±1.59 <sup>*</sup>	61.79±1.20 <sup>**</sup>

注:与VC比较,\**P*<0.01;与AGA部位比较,<sup>#</sup>*P*<0.01;与AGW部位比较,<sup>Δ</sup>*P*<0.01

Note: vs. VC, \**P*<0.01; vs. AGA part, <sup>#</sup>*P*<0.01; vs. AGW part, <sup>Δ</sup>*P*<0.01

### 3.4 Cu<sup>2+</sup>还原能力测定结果

样品溶液质量浓度为60 mg/L时,AGA部位对Cu<sup>2+</sup>的还原

能力最强,还原百分率为99.21% (IC<sub>50</sub>为25.44 mg/L);其余部位对Cu<sup>2+</sup>还原能力相对较弱,但均超过50%(AGP、AGE、AGW部位IC<sub>50</sub>分别为55.99、40.27、31.06 mg/L);各部位对Cu<sup>2+</sup>的还原能力均不及VC。AGP部位、AGE部位与AGA或AGW比较,AGA部位与AGW部位比较,以及各部位与VC比较,还原百分率差异均有统计学意义(*P*<0.01)。沉香叶不同部位及VC对Cu<sup>2+</sup>还原百分率测定结果见表4。

表4 沉香叶不同部位及VC的Cu<sup>2+</sup>还原百分率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 4 The reduction percentage of different extract parts of *A. sinensis* leaves and VC to Cu<sup>2+</sup>( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

质量浓度,mg/L	VC	AGP部位	AGE部位	AGA部位	AGW部位
10		5.13±1.09	12.53±0.91	23.33±1.57	20.14±0.76
20	100.00±0.26	13.15±0.66	23.92±0.42	42.28±0.95	33.27±1.2
30		21.20±0.56	36.15±2.19	56.47±0.56	50.81±2.96
40		32.66±0.93	49.75±2.54	77.65±0.78	64.01±2.08
50		43.74±0.87	58.53±0.47	89.51±1.57	77.24±0.85
60		55.75±0.82 <sup>***</sup>	78.51±1.21 <sup>***</sup>	99.21±0.95 <sup>*</sup>	85.58±0.54 <sup>**</sup>

注:与VC比较,\**P*<0.01;与AGA部位比较,<sup>#</sup>*P*<0.01;与AGW部位比较,<sup>Δ</sup>*P*<0.01

Note: vs. VC, \**P*<0.01; vs. AGA part, <sup>#</sup>*P*<0.01; vs. AGW part, <sup>Δ</sup>*P*<0.01

## 4 讨论

在测定样品的抗氧化活性时,往往需要采用多种方法综合评价分析样品的抗氧化活性<sup>[11-12]</sup>。为提高试验的可比性,在试验中应保证所用试剂都是新鲜配制,一次完成试验并排除样品自身色素的影响。本研究结果显示,沉香叶各部位提取物均有抗氧化活性,且与样品溶液质量浓度呈正相关;各部位抗氧化能力大小顺序为AGA>AGW>AGE>AGP;AGA部位抗氧化能力最强,对3种自由基的最大清除率以及对Cu<sup>2+</sup>的最大还原百分率均超过60%。AGA部位质量浓度为60 mg/L时,与VC(20 mg/L)对Cu<sup>2+</sup>的还原能力相当;质量浓度为50 mg/L时,比VC(6 mg/L)对ABTS<sup>+</sup>自由基的清除能力强。这表明沉香叶抗氧化活性物质主要集中在乙醇提取部分。

综上,笔者证实了沉香叶不同提取部位均具有一定的体外抗氧化活性,且以乙醇提取部分最强。但是,不同极性溶剂的中药提取物体外抗氧化研究只是对药物效果的初步筛选,并不能代表其体内抗氧化能力。若要将AGA部位作为天然抗氧化剂进行开发,还需进一步开展其体内抗氧化试验研究。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:243.
- [2] 路晶晶,戚进,朱丹妮,等.白木香叶中黄酮类成分结构与抗氧化功能的相关性研究[J].中国天然药物,2008,6(6):456.
- [3] 李勇,孔令青,高洪,等.自由基与疾病研究进展[J].动物医学进展,2008,29(4):85.
- [4] 李莹,邹先伟,张小娜,等.冠突散囊菌不同溶剂提取物体外抗氧化活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(7):143.
- [5] Zhang L, Tu ZC, Wang H, et al. Metabolic profiling of antioxidants constituents in *Artemisia selengensis* leaves [J]. *Food Chem*, 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.068.
- [6] Li XC, Lin J, Han WJ, et al. Antioxidant ability and me-

# 螺旋藻激酶的体外抗氧化作用研究<sup>△</sup>

黄媛恒<sup>1\*</sup>, 庞辉<sup>1</sup>, 王慧杰<sup>1</sup>, 黎钦蓉<sup>2</sup>, 纪舒妤<sup>2</sup>, 黄为然<sup>2</sup>, 凌家杰<sup>1</sup>, 李映新<sup>3#</sup>(1.广西医科大学基础医学院, 南宁 530021; 2.广西医科大学全科医学院, 南宁 530021; 3.广西医科大学药学院, 南宁 530021)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2184-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.07

**摘要** 目的:研究螺旋藻激酶(SPK)的体外抗氧化作用。方法:采用邻二氮菲-Fe<sup>2+</sup>氧化法、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)法和邻苯三酚自氧化法,分别测定不同浓度SPK对羟基(OH<sup>-</sup>)自由基、DPPH自由基和对超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)自由基的清除能力,并计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>);采用普鲁士蓝反应法测定不同浓度SPK对Fe<sup>3+</sup>的还原能力(以吸光度值反映)。以上试验均以维生素C(VC)为阳性对照。结果:SPK对OH<sup>-</sup>自由基、DPPH自由基及O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基的清除能力均呈一定的浓度依赖性,SPK对OH<sup>-</sup>自由基、DPPH自由基最大清除率分别86.82%、78.89%(IC<sub>50</sub>分别为54.31、0.636 g/L),比VC(64.77%、73.49%)高;SPK对O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基最大清除率为78.31%(IC<sub>50</sub>为3.918 g/L),比VC(94.14%)低;在还原能力试验中,SPK使体系吸光度值增加,其最大吸光度值与VC相近,并呈明显浓度依赖性。结论:螺旋藻激酶具有明显的体外抗氧化活性。

**关键词** 螺旋藻激酶;体外;抗氧化;自由基

## Study on Anti-oxidative Effects of Spirulina Kinase *in vitro*

HUANG Yuanheng<sup>1</sup>, PANG Hui<sup>1</sup>, WANG Huijie<sup>1</sup>, LI Qinrong<sup>2</sup>, JI Shuyu<sup>2</sup>, HUANG Weiran<sup>2</sup>, LIN Jiajie<sup>1</sup>, LI Yingxin<sup>3</sup>(1.Preclinical Medicine School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2.General Practice School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 3.Pharmaceutical School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the anti-oxidative effects of spirulina kinase (SPK) *in vitro*. METHODS: The methods of phenanthroline-Fe<sup>2+</sup> oxidation method, DPPH and auto-oxidation of pyrogallol were used to measure the effects of different concentrations of SPK on scavenging hydroxyl (OH<sup>-</sup>) free radical, DPPH free radical and superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) free radical; IC<sub>50</sub> of SPK was calculated. Prussian blue reaction was used to determine total reducing ability (by absorbance) of different concentrations of SPK to Fe<sup>3+</sup>. Vitamin C (VC) was used as positive control in above trials. RESULTS: SPK could eliminate the OH<sup>-</sup> free radical, DPPH free radical and O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical in concentration-dependant manner, and the maximum elimination rate of SPK to OH<sup>-</sup> free radical and DPPH free radical were 86.82% and 78.98% (IC<sub>50</sub> were 54.31, 0.636 g/L), which were higher than VC (64.77%, 73.49%). The maximum elimination rate of SPK to O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical was 78.31% (IC<sub>50</sub> was 3.918 g/L), which was lower than VC (94.14%). In reducing ability test, SPK improved absorbance in reducing ability test system, and maximum absorbance was similar to VC in concentration-dependant manner. CONCLUSIONS: SPK has obvious anti-oxidant activities *in vitro*.

**KEYWORDS** Spirulina kinase; *in vitro*; Anti-oxidant; Free radicals

螺旋藻(Spirulina)是一种水生植物,是蓝藻门颤藻目颤藻科的一个属,其外形呈丝状螺旋体,广泛分布于广西、浙江、海南等地区,富含蛋白质、维生素、微量元素、纤维素、多糖等成

分,具有抗衰老、抗损伤、抗疲劳、降血脂、提高免疫力等药理作用<sup>[1]</sup>。笔者首次从螺旋藻的发酵物中分离出了一种蛋白激酶类活性成分,并将其命名为螺旋藻激酶(Spirulina kinase,

chanism of rhizoma atractylodes macrocephala[J]. *Molecules*, 2012, 17(11):13 457.

[7] Li XC, Lin J, Gao, YX, *et al.* Antioxidant activity and mechanism of rhizoma cimicifugae[J]. *Chem Cent J*, 2012, 6(1):140.

[8] 赵艳红,李建科,赵维,等.常见药食植物提取物体外抗氧化

<sup>△</sup> 基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2014GXNSF-BA118156, 2013GXNSFAA019176); 2013年广西自治区区级大学生创新创业训练计划项目

\* 讲师,硕士。研究方向:生化药理学。电话:0771-5358074。E-mail:huangyuanheng@163.com

# 通信作者:高级实验师,博士。研究方向:生化药理学。电话:0771-5358074。E-mail:261772759@qq.com

化活性的评价[J].食品科学,2009,30(3):104.

[9] 崔建敏,裴保方.广金钱草多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J].新乡医学院学报,2014,31(12):986.

[10] Li XC, Wu XT, Huang L. Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix angelicae sinensis(danggui)[J]. *Molecules*, 2009, 14(12):5 349.

[11] 林焕泽,李红念,梅全喜,等.沉香叶的研究进展[J].今日药学,2011,21(9):547.

[12] 吴光华,孙明辉,魏涵.针毛蕨乙醇提取物体外抗氧化活性研究[J].医药导报,2013,32(5):558.

(收稿日期:2015-10-04 修回日期:2016-03-15)

(编辑:林静)