

文章编号:1001-6880(2016)11-1816-06

# 土茯苓叶和种子的抗氧化活性研究

朱晓娣<sup>1</sup>, 张祥<sup>1,3</sup>, 王红亚<sup>1</sup>, 杨永秀<sup>1</sup>, 田慧娟<sup>1</sup>, 孙慧玲<sup>1</sup>, 康文艺<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>河南大学中药研究所; <sup>2</sup>开封市保健食品功效成分研究重点实验室; <sup>3</sup>河南应用技术职业学院, 开封 475004

**摘要:**本文研究了土茯苓叶和种子的乙醇提取物不同组分的抗氧化活性。通过采用 DPPH 法、ABTS 法、FRAP 法、抗红细胞氧化溶血以及抑制肝肾组织中 MDA 的生成这 5 种体外抗氧化方法, 并以 BHA 为阳性对照, 发现土茯苓叶乙酸乙酯组分的清除 DPPH 自由基能力 ( $IC_{50} = 21.15 \pm 2.90 \mu\text{g/mL}$ )、抗红细胞溶血 ( $IC_{50} = 21.93 \pm 0.96 \mu\text{g/mL}$ ), 抑制肝肾组织中 MDA 生成 (肝  $IC_{50} = 1.34 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$ , 肾  $IC_{50} = 7.69 \pm 1.88 \mu\text{g/mL}$ ) 在土茯苓叶和种子不同组分中效果最好; 土茯苓叶正丁醇组分的 ABTS 自由基的清除能力 ( $IC_{50} = 2.29 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$ ) 和还原  $\text{Fe}^{3+}$  的能力 (Trolox 当量 =  $3768.44 \pm 16.93 \mu\text{mol/g}$ ) 效果最好, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因此, 土茯苓叶和种子均具有抗氧化活性, 且叶的效果要优于种子, 有望开发为一种抗氧化剂。

**关键词:**土茯苓; 抗氧化; DPPH 自由基; 抗溶血

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.11.024

## Antioxidant Activity of *Smilax glabra Roxb.* Leave and Seed *in vitro*

ZHU Xiao-di<sup>1</sup>, ZHANG Xiang<sup>1,3</sup>, WANG Hong-ya<sup>1</sup>, YANG Yong-xiu<sup>1</sup>,  
TIAN Hui-juan<sup>1</sup>, SUN Hui-ling<sup>1</sup>, KANG Wen-yi<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Institute of Chinese Materia Medica, Henan University; <sup>2</sup>Kaifeng Key Laboratory of Functional Components  
in Health Food; <sup>3</sup>Henan Vocational College of Applied Technology, Kaifeng 475004, China

**Abstract:** The antioxidant activity of different extracts of *Smilax glabra* leave and seed were investigated by DPPH, ABTS, FRAP,  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced red blood hemolysis assays and TBA method for determining the content of MDA in liver and kidney tissue *in vitro*. BHA was used as the positive control. The results showed that, in DPPH assays, the radical scavenging activity of *S. glabra* leave ethyl acetate extract ( $IC_{50} = 21.15 \pm 2.90 \mu\text{g/mL}$ ) were good. The activity of anti-hemolysis and MDA inhibition in liver and kidney tissue of *S. glabra* leave ethyl acetate extract ( $IC_{50} = 21.93 \pm 0.96$ ,  $1.34 \pm 0.14$ ,  $7.69 \pm 1.88 \mu\text{g/mL}$ , respectively) were the higher than that of other extracts of *S. glabra* leave and seed. However, the best effect of ABTS radical scavenging activity and Trolox equivalent were the *n*-butanol extracts of *S. glabra* leave (ABTS  $IC_{50} = 2.29 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$ , and the value of Trolox equivalent was  $3768.44 \pm 16.93 \mu\text{mol/g}$ ). These results showed that both leave and seed of *S. glabra* had antioxidant activity. The antioxidant activity of *S. glabra* leave was higher than that of seed. It can be used as a potential antioxidant agent in food industry.

**Key words:** *Smilax glabra Roxb.*; DPPH free radical; antioxidant; anti-hemolysis

光叶菝葜 (*Smilax glabra Roxb.*) 为百合科菝葜属植物, 又称土茯苓, 分布于我国甘肃、云南、海南等地。其粗厚根状茎可入药, 性甘平, 解毒, 除湿, 通利关节。用于梅毒及汞中毒所致的肢体拘挛, 筋骨疼痛; 湿热淋浊, 带下, 痰肿, 瘰疬, 疥癣等的治疗<sup>[1]</sup>。土茯苓根状茎中主要含有苯丙素、黄酮、甾醇、皂苷、

有机酸和挥发油等化学成分<sup>[2-3]</sup>, 具有抗肿瘤<sup>[4]</sup>、抗血栓<sup>[5]</sup>、抗炎<sup>[6]</sup>、抗过敏<sup>[7]</sup>、改善肾功能<sup>[8]</sup>、镇痛<sup>[9]</sup>及抗菌<sup>[10]</sup>等药理作用。目前, 土茯苓的研究主要集中于根茎的化学成分和药理活性。有文献<sup>[11]</sup>报道, 土茯苓叶提取物对实验小鼠模型有良好的镇痛消炎作用, 且呈量效关系。现代研究表明, 机体氧化应激状态与多种疾病的发生有密切关系, 如糖尿病、肝损伤、心血管疾病、癌症、肺炎、肾病、胃病等<sup>[12]</sup>。因此由土茯苓根状茎的上述药理作用以及文献报道, 可推测出土茯苓具有抗氧化活性, 但是具体研究未见报道, 为了验证这一结论, 本文将利用本课题组现有

收稿日期:2016-05-16 接受日期:2016-09-09

基金项目:开封市创新人才项目(1509010); 河南省高校科技创新团队(16IRTSTHN019); 河南大学生创新计划(16N B0); 2015 年河南省教育技术装备和实践教育研究立项课题(GZS008)

\* 通讯作者 Tel:86-371-23880680; E-mail:kangweny@hotmail.com

的材料与方法对土茯苓的叶和种子进行抗氧化活性的研究。

## 1 仪器与材料

### 1.1 植物来源

土茯苓的叶与种子于2013年1月采集于海南省万宁市兴隆热带药用植物园,经河南大学李昌勤教授鉴定为百合科植物光叶菝葜(*Smilax glabra* Roxb.)的干燥叶与种子,现标本存放于河南大学中药研究所。因光叶菝葜又名土茯苓,因此本文中均以土茯苓叶、土茯苓种子进行叙述。

### 1.2 试剂

DPPH(1,1-二苯-2-苦基肼,东京化成工业株式会社),TPTZ(Fe<sup>3+</sup>-三吡啶三唑嗪)(tripyridyl-triazine,Acros organics公司),ABTS[2,2'-连氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](Fluka公司),BHA(butylated hydroxyanisole,丁基羟基茴香醚),Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸,Aldrich公司),TBA(2-硫代巴比妥酸, Lot:X SXSC-DD,东京化成工业株式会社),三氯乙酸(Lot:YBMXDAN,东京化成工业株式会社),其他试剂均为分析纯。

### 1.3 仪器

Multiskan GO全波长酶标仪(美国Thermo Electron公司);DELTA320型pH计(美国Mettler-Toledo公司);电子天平(美国Mettler-Toledo公司);CS-H1型混合器(北京博励阳科技公司);LRH-150恒温培养箱(上海一恒科技有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 提取物制备

分别称取干燥的土茯苓叶69.7 g、土茯苓种子85.5 g,用70%的乙醇水溶液微沸状态下加热回流提取2次,每次2 h,将提取液过滤合并,并浓缩成乙醇总浸膏;将此浸膏分散于少量水中,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取3次,收集萃取液并浓缩干燥,即得土茯苓叶的石油醚部位(SGLPE)、乙酸乙酯(SGLEA)部位及正丁醇(SGLBU)部位,和土茯苓种子的乙酸乙酯部位(SCSEA)及正丁醇部位(SGS-BU)浸膏。

### 2.2 DPPH法

分别取SGLPE、SGLEA、SGLBU、SCSEA及SGS-BU,加入一定体积的甲醇,配成初浓度为2 mg/mL的样品溶液;阳性对照药物BHA配制成初浓度为

0.6 mg/mL的甲醇溶液。

按照文献<sup>[13]</sup>,设样品组、样品对照组、对照组、空白对照组。样品组:10 μL样品加175 μL DPPH(200 μmol/L)的甲醇溶液;样品对照组:10 μL样品加175 μL甲醇溶液;对照组:10 μL甲醇加175 μL DPPH甲醇溶液;空白对照组:10 μL甲醇加175 μL甲醇溶液;各组均重复三次,并避光反应20 min后,酶标仪515 nm处测其A值。按公式1计算清除率%(I%):

$$I\% = [1 - (A_1 - A_2) / (A_3 - A_4)] \times 100 \quad (1)$$

式中A<sub>1</sub>,样品的吸光度值;A<sub>2</sub>,样品对照组的吸光度值;A<sub>3</sub>,对照组的吸光度值;A<sub>4</sub>,空白对照组的吸光度值。

阳性对照药物的测定方法同样品。若自由基清除率大于50%,则需要进一步稀释样品,根据体系浓度-清除率作图,求出IC<sub>50</sub>值。

### 2.3 ABTS法

样品溶液的配制同2.1。按照文献<sup>[14]</sup>方法配制ABTS工作液。设样品组、样品对照组、对照组、空白对照组。样品组:10 μL样品加200 μL ABTS工作液;样品对照组:10 μL样品加200 μL甲醇溶液;对照组:10 μL甲醇加200 μL ABTS工作液;空白对照组:10 μL甲醇加200 μL甲醇。各组重复3次,振动混合,暗处反应20 min,波长405 nm处测定A值。清除率计算公式同公式(1)。

### 2.4 FRAP法

样品溶液的配制同2.1。按照文献<sup>[15-17]</sup>方法配制TPTZ工作液,并以Trolox浓度为横坐标,以其吸光度值为纵坐标绘制Trolox标准曲线。设样品组、样品对照组。样品组:10 μL样品加200 μL TPTZ工作液;样品对照组:10 μL样品加200 μL甲醇。阳性对照药物按照行品溶液处理。各组重复3次,振动混匀,37 °C反应40 min后,波长595 nm处测定其A值。结果以Trolox当量(即每克样品的自由基清除能力相当于Trolox的自由基清除能力的微摩尔数)表示。若所测定样品吸光度值超过线性范围,则需要进一步稀释样品。

### 2.5 小鼠红细胞体外抗氧化溶血测定法

分别取SGLPE、SGLEA及SGS-BU,加入一定体积的溶剂(丙二醇:无水乙醇:生理盐水=1:1:3),配成初浓度为11 mg/mL的样品溶液。

按照文献<sup>[18-20]</sup>并略作修改,制备小鼠红细胞悬液。设样品组、空白对照组、阴性对照组、阳性对照

组。样品组:200  $\mu\text{L}$  红细胞悬液加入 10  $\mu\text{L}$  不同浓度样品、10  $\mu\text{L}$  100 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 800  $\mu\text{L}$  生理盐水;空白对照组:200  $\mu\text{L}$  红细胞悬液加入 10  $\mu\text{L}$  溶剂、810  $\mu\text{L}$  生理盐水;阴性对照组:200  $\mu\text{L}$  红细胞悬液加入 820  $\mu\text{L}$  生理盐水;阳性对照组:200  $\mu\text{L}$  红细胞悬液加入 10  $\mu\text{L}$  100 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、810  $\mu\text{L}$  生理盐水。37  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅内反应 1 h, 1000 r/min 离心 10 min, 取上清液 200  $\mu\text{L}$  于 96 孔板, 酶标仪 415 nm 处测 A 值。以阳性对照组吸光度值定为红细胞溶血率 100%, 按照公式(2)计算不同样品组的溶血率。

样品溶血率% =  $(A_1 - A_2) / (A_0 - A_3) \times 100$  (2),  
阴性对照溶血率% =  $A_3 / A_0 \times 100$ , 阳性对照溶血率% 为 100%。

其中  $A_1$ , 样品反应组的吸光度值;  $A_2$ , 空白对照组的吸光度值;  $A_3$ , 阴性对照组的吸光度值;  $A_0$ , 阳性对照组的吸光度值。

## 2.6 TBA 法测定小鼠不同组织 MDA 法

样品溶液的配制同 2.4。按照文献<sup>[18-20]</sup>并略作修改, 制备小鼠肝脏、肾脏组织匀浆液, 设样品组、空白对照组、阴性对照组、阳性对照组。样品组:400  $\mu\text{L}$  组织匀浆液加入 40  $\mu\text{L}$  6 mmol/L 的硫酸亚铁溶液、16  $\mu\text{L}$  60 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  及不同浓度的样品; 空白对照组:400  $\mu\text{L}$  组织匀浆液加入 16  $\mu\text{L}$  溶剂、56  $\mu\text{L}$  生理盐水; 阴性对照组:400  $\mu\text{L}$  组织匀浆加入 72  $\mu\text{L}$  生理盐水; 阳性对照组:400  $\mu\text{L}$  组织匀浆加入 40  $\mu\text{L}$  6 mmol/L 的硫酸亚铁溶液、16  $\mu\text{L}$  60 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、16  $\mu\text{L}$  生理盐水; 每组设 3 个重复, 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 1 h 后, 加入 400  $\mu\text{L}$  15% 的三氯乙酸终止反应, 最后加 400  $\mu\text{L}$  0.6% 硫代巴比妥酸(TBA)在沸水中煮沸显色 15 min, 冷却后离心取上清液 200  $\mu\text{L}$  于 96 孔板, 酶标仪 532 nm 处测 A 值。按公式(3)计算不

同样品组 MDA 的生成抑制率。

$$\text{抑制率\%} = [1 - (A_1 - A_2) / (A_0 - A_3)] \times 100 \quad (3)$$

其中  $A_1$ , 样品反应组的吸光度值;  $A_2$ , 空白对照组的吸光度值;  $A_3$ , 阴性对照组的吸光度值;  $A_0$ , 阳性对照组的吸光度值。

## 2.7 数据处理

所有结果数值均用  $\bar{x} \pm SD$  表示, 数据使用 Origin 8.0 进行处理, 图采用 GraphPad Prism 绘制。数据比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示有统计学意义。

# 3 实验结果

## 3.1 对 DPPH 自由基的清除作用

SGLPE 和 SGSBU 对 DPPH 自由基的初筛抑制率分别为  $38.40 \pm 1.22\%$  和  $48.26 \pm 2.11\%$ , 未超过 50%, 因此其未测定其  $IC_{50}$  值。图 1A 是以不同组分体系浓度为横坐标, 以 DPPH 自由基清除率为纵坐标绘制的, 其中 SGLEA、SGLBU、SGSEA 及 BHA 对 DPPH 自由基的清除率均呈现剂量依赖性。SGLEA、SGLBU、SGSEA 在体系初浓度为 108.11  $\mu\text{g/mL}$  时的抑制率分别为  $87.71 \pm 0.25\%$ 、 $88.48 \pm 0.25\%$ 、 $79.17 \pm 4.93\%$ , 与阳性对照 BHA ( $88.52 \pm 0.34\%$ ) 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。图 1B 中, SGLEA、SGLBU 及 SGSEA 的  $IC_{50}$  值分别为  $21.15 \pm 2.90 \mu\text{g/mL}$ 、 $28.16 \pm 0.75 \mu\text{g/mL}$ 、 $50.72 \pm 4.57 \mu\text{g/mL}$ , 两两比较后, SGLEA 与 SGLBU 的  $IC_{50}$  值无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但 SGLEA、SGLBU 分别与 SGSEA 比较后差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 因此在土茯苓叶和种子乙醇提取物的不同组分中, SGLEA 清除 DPPH 自由基能力最强, 其次是 SGLBU。

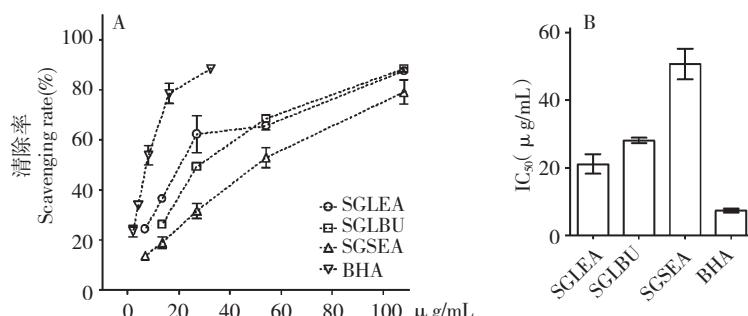


图 1 土茯苓叶和种子不同萃取物对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 1 DPPH radical scavenging capacity of different extracts of *S. glabra* leave and seed

注: A: DPPH scavenging rate; B:  $IC_{50}$  values of DPPH radical scavenging ability

Note: A: DPPH scavenging rate; B:  $IC_{50}$  values of DPPH radical scavenging ability

### 3.2 对 ABTS 自由基的清除作用

图 2A 是以不同组分体系浓度为横坐标,以 ABTS 自由基清除率为纵坐标绘制的,其中 SGLPE、SGLEA、SGLBU、SGSEA、SGSBU 及 BHA 对 ABTS 自由基的清除率均呈现剂量依赖性,且在体系终浓度为 95.24  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  时的清除率比较差异无统计学意

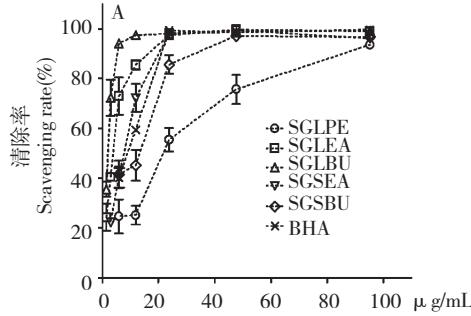


图 2 土茯苓叶和种子不同萃取物对 ABTS 自由基的清除能力

Fig. 2 ABTS radical scavenging capacity of different extracts of *S. glabra* leave and seed

注:A 图为对 ABTS 自由基的清除率;B 图为对 ABTS 自由基清除力的  $\text{IC}_{50}$  值。

Note: A: ABTS scavenging rate; B:  $\text{IC}_{50}$  values of ABTS radical scavenging ability

### 3.3 对 $\text{Fe}^{3+}$ 的还原能力

SGLPE、SGLEA、SGLBU、SGSEA、SGSBU 及 BHA 的 Trolox 当量分别为  $671.70 \pm 20.21$ 、 $2867.26 \pm 40.14$ 、 $3768.44 \pm 16.93$ 、 $2073.18 \pm 15.10$ 、 $895.44 \pm 18.00$ 、 $11106.65 \pm 84.94 \mu\text{mol/g}$ , 且两两比较后差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。在线性范围内, BHA 的 Trolox 当量高于提取物的,而 SGLBU 的 Trolox 当量又高于土茯苓叶和种子的其它组分,因此在土茯苓叶和种子乙醇提取物的不同组分中 SGLBU 的  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力最强,其次是 SGLEA。

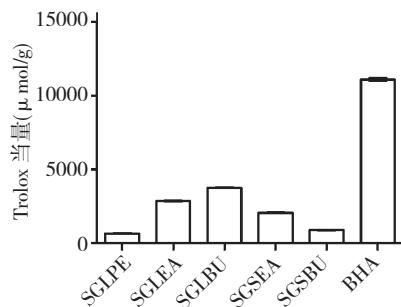


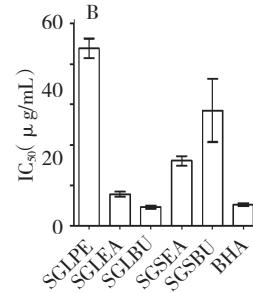
图 3 土茯苓叶和种子不同萃取物的总抗氧化能力 (FRAP)

Fig. 3 Ferric reducing/total antioxidant power (FRAP) of different extracts of *S. glabra* leave and seed

### 3.4 体外对小鼠红细胞的影响

SGLPE、SGSEA、SGSBU 抑制由  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的小鼠红细胞溶血活性较低,因此在图 4 中未显示。

义 ( $P > 0.05$ )。图 2B 中, SGLPE、SGLEA、SGLBU、SGSEA、SGSBU 及 BHA 的  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $21.92 \pm 1.22$ 、 $3.91 \pm 0.32$ 、 $2.29 \pm 0.19$ 、 $8.02 \pm 0.63$ 、 $14.27 \pm 3.90$ 、 $2.61 \pm 0.19 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 两两比较后,仅 SGLBU 的  $\text{IC}_{50}$  值与  $\text{IC}_{50}$  值无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。因此 SGLBU 清除 ABTS 自由基能力最强。



SGLEA 及 SGLBU 在体系初浓度为  $107.84 \mu\text{g}/\text{mL}$  时的小鼠红细胞溶血率分别为  $16.26 \pm 0.23\%$ 、 $46.58 \pm 3.21\%$ , 均显著高于阴性对照 ( $11.65 \pm 0.45\%$ ), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。图 4A 是以不同组分体系浓度为横坐标,以红细胞溶血率为纵坐标绘制的,其中 SGLEA 及 SGLBU 对小鼠红细胞的抗氧化溶血呈现剂量依赖性。从图 4B 可看出, SGLEA 及 SGLBU 的抑制由  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的红细胞溶血的  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $21.93 \pm 0.96$ 、 $85.00 \pm 3.21 \mu\text{g}/\text{mL}$ , 且两者差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。说明 SGLEA 抑制由  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的小鼠红细胞溶血的抗氧化效果最好。

### 3.5 体外对小鼠肝肾组织中 MDA 的影响

SGLPE、SGSEA、SGSBU 抑制由  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的小鼠红细胞溶血活性较低,因此在图 5 中未显示。SGLEA 及 SGLBU 对肝组织中 MDA 生成抑制率分别为  $146.07 \pm 1.51\%$ 、 $123.49 \pm 7.38\%$ , 均高于阴性对照 ( $84.15 \pm 4.83\%$ ), 且两两比较后差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); SGLEA 及 SGLBU 对肾组织中 MDA 生成的抑制率分别为  $102.12 \pm 2.17\%$ 、 $65.58 \pm 5.42\%$ , 且 SGLEA 的抑制率显著高于阴性对照 ( $71.67 \pm 3.27\%$ ), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而 SGLBU 的抑制率与阴性对照比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。由图 5A 和图 5B 均是以不同组

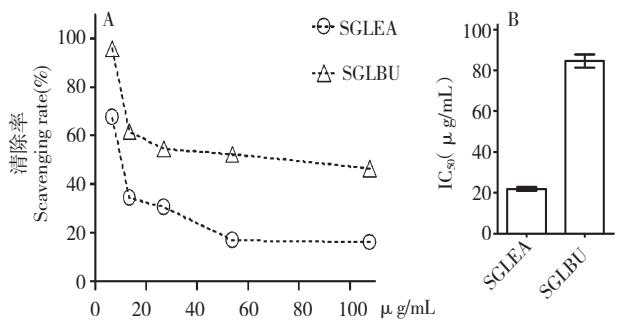


图 4 土茯苓叶和种子不同萃取物对小鼠红细胞的影响

Fig. 4 Effect of different extracts of *S. glabra* leave and seed on red blood cells of mice *in vitro*

Note: A 图是对小鼠红细胞的溶血率, B 图是抑制红细胞溶血的 IC<sub>50</sub> 值  
 Note: A: Hemolytic rate of extracts; B: IC<sub>50</sub> values of inhibiting hemolytic  
 分体系浓度为横坐标,以 MDA 生成抑制率为纵坐标绘制的,其中 SGLEA 及 SGLBU 对肝组织匀浆液  
 和肾组织匀浆液中的 MDA 生成抑制率均呈剂量依赖性。

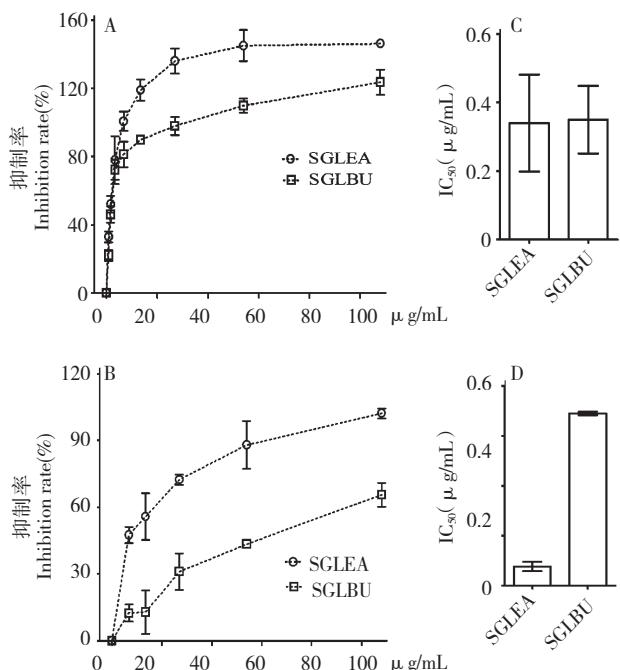


图 5 土茯苓叶和种子不同萃取物对小鼠肝肾组织 MDA 生成的影响

Fig. 5 Effect of different extracts of *S. glabra* leave and seed on the content of MDA in liver and kidney tissue of mouse *in vitro*

Note: A、B 图分别是对肝、肾中 MDA 生成的抑制率, C、D 图分别是对肝、肾中 MDA 生成抑制浓度的 IC<sub>50</sub> 值

Note: A and B: inhibition rates of content of MDA in liver and kidney, respectively; C and D: IC<sub>50</sub> values of inhibition of MDA in liver and kidney, respectively

图 5C 中, SGLEA 及 SGLBU 对肝组织中的 MDA 抑制率的 IC<sub>50</sub> 分别值为  $1.34 \pm 0.14$ 、 $2.11 \pm 0.10$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 且两者比较后差异不具有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。图 5D 中, SGLEA 及 SGLBU 对肾组织中的 MDA 抑制率的 IC<sub>50</sub> 分别值为  $7.69 \pm 1.88$ 、 $68.93 \pm 0.75$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 两者具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。因此在肝组织和肾组织中, SGLEA 对肾组织中 MDA 生成抑制的效果最好。

## 4 结论与讨论

由于体内自由基的多样性,不同类型的自由基参与的反应机制不一样,因此需要多种抗氧化方法的测定,才能得到可靠的结果,同时由于提取方法、提取溶剂的不同也会有不同的实验结果。因此本文采用了 5 种体外抗氧化方法,即清除 DPPH 自由基、清除 ABTS 自由基、总抗氧化能力/Fe<sup>3+</sup> 还原能力测定、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的红细胞溶血及 FeSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的肝肾组织 MDA 生成的测定。

有文献报道<sup>[21]</sup>,药材土茯苓的干燥根茎 (Rhizoma Smilacis Glabrae) 中的总黄酮提取物在清除 DPPH 自由基能力、还原能力和总的抗氧化能力方面具有较好的抗氧化活性。杜洪志等<sup>[22]</sup>研究发现,土茯苓的根茎中多糖具有抗氧化作用。

通过 5 种体外抗氧化方法测定土茯苓叶和种子乙醇提取物的不同组分的抗氧化活性,发现土茯苓叶乙酸乙酯组分 (SGLEA) 清除 DPPH 自由基的能力在各组分中最强,其次是其正丁醇组分 (SGLBU);在 Fe<sup>3+</sup> 还原能力测定中,土茯苓叶正丁醇组分 (SGLBU) 还原 Fe<sup>3+</sup> 的能力在土茯苓叶和种子的 5 个组分中最强;而在清除 ABTS 自由基的能力、保护红细胞抗过氧化氢的损伤作用、以及抑制 FeSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的肝肾组织中 MDA 的生成的测定中,土茯苓叶乙酸乙酯组分 (SGLEA) 和其正丁醇组分 (SGLBU) 效果优于其它组分,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因此土茯苓叶乙酸乙酯组分 (SGLEA) 和其正丁醇组分 (SGLBU) 对 DPPH 自由基、ABTS 自由基、Fe<sup>3+</sup>、抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的红细胞溶血以及抗 FeSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的肝肾 MDA 生成均表现出较强的抑制作用。综上,土茯苓叶和种子乙醇提取物的乙酸乙酯组分和正丁醇组分均具有抗氧化能力,且叶的抗氧化效果要优于种子。

## 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会).

- Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2015, Vol I, 18.
- 2 Wu B (吴博), Ma YP (马跃平), Yuan JZ (袁久志), et al. The separation and identification of chemical composition from *Smilax glabra* Roxb. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2010, 27: 116-119.
- 3 Huo X (霍昕), Gao YQ (高玉琼), Liu JH (刘建华), et al. Determination of chemical constituents of the essential oil from *Smilax glabra* Roxb. *Biol Tech* (生物技术), 2006, 16 (3): 60-62.
- 4 She T, Qu L, Wang L, et al. Sarsaparilla (*Smilax glabra* Rhizome) extract inhibits cancer cell growth by S Phase arrest, apoptosis, and autophagy via redox-dependent ERK1/2 pathway. *Cancer Prev Res*, 2015, 8: 464-474.
- 5 Sun XL (孙晓龙), Wang KY (王宽宇), Zhang DQ (张丹琦), et al. The thrombosis effect of *Smilax glabra* Roxb. injection on rats. *Chin J Tradit Med Sci Tech* (中国中医药科技), 2004, 11: 229-331.
- 6 Lu CL, Zhu YF, Hu MM, et al. Optimization of astilbin extraction from the rhizome of *Smilax glabra*, and evaluation of its anti-inflammatory effect and probable underlying mechanism in lipopolysaccharide-induced Raw264.7 macrophages. *Molecules*, 2015, 20: 625-644.
- 7 Itharat A, Srikwan K, Ruangnoo S, et al. Anti-allergic of *Smilax glabra* rhizome extracts and its isolated compounds. *J Med Assoc Thai*, 2015, 3: 66-74.
- 8 Wang DJ (王德军), Shou QY (寿旗扬), Zhou WM (周卫民), et al. Effect of Rhizoma Smilacis Glabrae on glucose metabolism and renal function in diabetic nephropathy rats. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2009, 27: 2662-2664.
- 9 Wu LM (吴丽明), Zhang M (张敏). The diuresis and analgesic effect of astilbin in *Smilax glabra* Roxb. *J Chin Med Mater* (中药材), 1995, 18: 627-630.
- 10 Yin WH (殷网虎), Yuan WJ (袁武军), Cao ML (曹美琳). Experimental study of *Smilax glabra* particles on common clinical pathogen. *J Emerg Tradit Chin Med* (中国中医急症), 2011, 20: 1957-1958.
- 11 Wei X (韦贤), Wang JN (王金妮), Pan Y (潘勇). Analgesic and anti-inflammatory activities of the *Smilax glabra* Roxb. leaves extract. *J Youjiang Med Univ Nat* (右江民族医学院学报), 2015, 37: 177-179.
- 12 Feng JF (俸家富), Zhao PW (赵平武), Wang D (王东). Relationship between total antioxidant status in blood and disease. *Int J Lab Med* (国际检验医学杂志), 2009, 30: 571-573.
- 13 Kang WY, Li CF, Liu YX. Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* (Roxb.) Kuntze in vitro. *Med Chem Res*, 2010, 19: 1222-1232.
- 14 Kang WY, Wang JM. In vitro antioxidant properties and in vivo lowering blood lipid of *Forsythia suspense* leaves. *Med Chem Res*, 2010, 19: 617-628.
- 15 Zhang L (张丽), Wang L (王丽), Li CF (李彩芳), et al. Microplate-based screening method for quercetin antioxidant assay. *J Henan Univ, Med Sci* (河南大学学报, 医学版), 2009, 28(1): 26-27.
- 16 Lu Y (卢引), Yin ZH (尹震花), Kang WY (康文艺). Foundation of micro-model for FRAP Assay. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2013, 34: 312-314.
- 17 Cui XJ (崔雪靖). Study on the hepatoprotective effects of compound *Ainsliaea fragrans* and compound *Ainsliaea fragrans*. Kaifeng: Henan University (河南大学), MSc, 2014.
- 18 Zhang PG (张培刚), Zheng HY (郑鸿雁), Chang YQ (昌友权), et al. Antioxidant effect of Persimmon leaf flavonoid in vitro. *Food Sci* (食品科学), 2005, 26: 506-508.
- 19 Li JL (李俊丽), Wang YQ (王运强), Xiang CP (向长萍), et al. The antioxidant effect of water-soluble polysaccharide in Pumpkin in vitro. *J Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 2007, 26: 256-259.
- 20 Gu SG (谷崇高), Bai RY (白若雨), Guan JY (官佳懿), et al. Preparation of *Eupolyphaga sinensis* Walker extracts and their antioxidant activity in vitro. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2015, 31(2): 67-74.
- 21 Huang H (黄河), Jiang JP (蒋剑平), Chen ZY (陈芝芸), et al. Antioxidant activity of different macroporous resin elution fractions from *Smilax glabra* Roxb. in vitro. *J Zhejiang Chin Med Univ* (浙江中医药大学学报), 2014, 38: 617-621.
- 22 Du HZ (杜洪志), Nong X (农亨), Dong LS (董立莎), et al. Determination of total polysaccharides and water-soluble polysaccharides in *Smilacis Glabrae* Rhizoma with red and white transverse section and their antioxidant activity. *Chin J Exper Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2015, 21 (14): 39-43.