

# 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分的抗氧化作用

陈炳华, 康启芬, 谢玉玲, 刘剑秋

(福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350108)

**摘要:** 海边月见草(*Oenothera drummondii* Hook.) 叶提取物经 X-5 大孔树脂吸附及体积分数 10%、30%、50% 和 70% 乙醇溶液梯度洗脱获得 4 个级分, 研究了这 4 个级分对 DPPH、·OH 和  $O_2^-$  的清除作用及其在卵黄脂蛋白过氧化体系中的抗氧化作用。4 个洗脱级分均表现出较强的清除 DPPH 和 ·OH 的能力, 清除率随各级分浓度的升高而提高, 其中, 30% 乙醇洗脱级分的清除作用最强, 对 DPPH 和 ·OH 的 50% 抑制浓度( $IC_{50}$ ) 分别为 0.069 和 0.741  $g \cdot L^{-1}$ 。浓度达 1.0  $g \cdot L^{-1}$ , 4 个洗脱级分对  $O_2^-$  均有一定的清除能力, 且对卵黄脂蛋白过氧化作用的抑制率均在 50% 以上。结果表明, 海边月见草叶提取物的不同浓度乙醇洗脱级分具有较强的清除自由基的能力, 并有一定的抗卵黄脂蛋白过氧化的作用, 但总体效果较槲皮素略差。

**关键词:** 海边月见草; 叶提取物; 乙醇洗脱级分; 抗氧化作用

**中图分类号:** S792.95; Q946.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2007)04-0018-06

**Antioxidant effects of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* leaf extract**  
CHEN Bing-hua, KANG Qi-fen, XIE Yu-ling, LIU Jian-qiu (College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2007, 16(4): 18-23

**Abstract:** Four fractions were obtained from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract adsorbed on macroporous resin X-5 by eluting gradiently with 10%, 30%, 50% and 70% ethanol. Scavenging effects of four fractions on DPPH, ·OH and  $O_2^-$  as well as anti-oxidizing effects on lipid peroxidation of yolk lipoprotein were investigated. The results showed that four fractions exhibited stronger scavenging abilities on DPPH and ·OH, and scavenging rate increased with concentration increasing. The scavenging ability of 30% ethanol fraction was the strongest and its 50% inhibition concentration ( $IC_{50}$ ) on DPPH and ·OH was 0.069 and 0.741  $g \cdot L^{-1}$  respectively. Four fractions with concentration 1.0  $g \cdot L^{-1}$  had a certain effect on scavenging  $O_2^-$ , and they all inhibited yolk lipoprotein peroxide with inhibition rate of above 50%. Therefore, different concentrations of ethanol eluting fractions of leaf extract from *O. drummondii* possess strong radical scavenging ability and a certain anti-peroxide effect to yolk lipoprotein, but their effects are not so strong as that of quercetin.

**Key words:** *Oenothera drummondii* Hook.; leaf extract; ethanol eluting fraction; antioxidant effect

活性氧自由基(ROS)包括超氧阴离子( $O_2^-$ )、羟自由基(·OH)及多种有机氧自由基(RO·、ROO·)等。有研究发现, 机体内自由基的氧化损伤与衰老、肿瘤、突变、心脑血管缺血及动脉粥样硬化等相关<sup>[1,2]</sup>, 一些外源性天然抗氧化剂能拮抗体内过量的自由基, 避免组织的氧化损伤, 从而预防相关疾病的发生, 维护人体健康<sup>[2]</sup>。因此, 寻找高效、无毒副作用的植物源抗氧化剂已成为人们关注的热点之一。

海边月见草(*Oenothera drummondii* Hook.) 为柳叶菜科(Onagraceae)月见草属(*Oenothera* L.)植物, 该属在全球约有 120~200 种, 主要分布于北美洲和南美洲, 许多种类具有一定的药用价值<sup>[3]</sup>。中国引种栽培及野生的月见草属植物近 10 种, 其中海边月

见草产于中国东南沿海沙滩及防护林林缘等地<sup>[4]</sup>, 民间以全草入药, 有强筋骨和祛风湿功效, 其潜在药用价值值得关注。该属植物因少数种类的种子油中富含  $\gamma$ -亚麻酸(GLA)而倍受关注<sup>[5]</sup>, 并由此推动了研究者对全属植物化学成分及其生物活性的深入研究。据不完全统计, 目前已从该属植物中分离鉴定出三萜类<sup>[6]</sup>、黄酮醇苷<sup>[7]</sup>、寡聚可水解鞣质(如 oenotheins A、B、D、F、G 等)<sup>[8,9]</sup> 及多酚<sup>[10]</sup> 等多种化

收稿日期: 2007-03-01

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(C0540001)

作者简介: 陈炳华(1970-), 男, 福建长汀人, 硕士, 副教授, 主要从事天然产物化学研究及植物学教学工作。

学成分,并发现该属植物种子粕中富含的没食子酸衍生物<sup>[10-12]</sup>及三萜类化合物<sup>[6]</sup>具有较高的抗氧化潜能,其中的 oenotherin B 具有抗肿瘤活性<sup>[8]</sup>等等。

笔者对海边月见草化学成分的初步研究结果表明,海边月见草含黄酮类、三萜类、鞣质及香豆素等多种成分,其中黄酮类成分的含量较丰富<sup>[4]</sup>。目前,尚未见国内外有关海边月见草提取物抗氧化作用的研究报道。笔者以海边月见草叶为材料,经超声波提取及 X-5 大孔树脂吸附,用不同浓度乙醇进行梯度洗脱得到不同级分,并对各级分清除 DPPH、·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的能力及其在卵黄脂蛋白过氧化体系中的抗氧化作用进行研究,旨在为海边月见草资源的综合开发利用研究提供一定的参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

海边月见草叶于 2006 年 7 月采自福建惠安崇武沿海沙滩地,经清洗、80 °C 烘干后,粉碎、备用。

所用试剂有 X-5 大孔树脂(天津南开大学化工厂生产,经预处理<sup>[4]</sup>后使用)、二苯代苦味酰自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH, 美国 Sigma 公司生产)、2-硫代巴比妥酸(TBA, 德国 MERCK 公司生产)、芦丁(上海生化试剂二厂生产)、槲皮素(上海医药集团上海化学试剂公司生产)、邻二氮菲、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷(Tris)及三氯乙酸(TCA)等,所用试剂均为分析纯。

所用仪器有 752 型紫外光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司生产)、RE-52AAA 旋转蒸发器(上海鹏嘉科技有限公司生产)、LyoLab3000 冷冻干燥机(Heto-Holten 公司生产)、超声波破碎仪(SONISS 公司生产)和 DL-6M 大容量冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司生产)等。

### 1.2 方法

1.2.1 提取物不同级分的制备 称取海边月见草叶粉末 50 g,用 500 mL 体积分数 75% 的乙醇溶液浸泡 6 h 后,超声处理 45 min,参照文献<sup>[4]</sup>的方法获得提取物母液。取处理过的 X-5 大孔树脂 19 g,装柱(2.5 cm × 50 cm),加入 250 mL 提取物母液,室温条件下过柱,流速 1 mL · min<sup>-1</sup>,流出液重复过柱 1 次。再依次用蒸馏水及体积分数分别为 10%、30%、50% 和 70% 的乙醇溶液进行梯度洗脱,

各洗脱液用量均为 200 mL,流速 1.5 mL · min<sup>-1</sup>。收集乙醇梯度洗脱的 4 个级分,经减压浓缩、冷冻干燥后得到 10%、30%、50% 和 70% 乙醇洗脱级分的冻干粉,分别称重,计算 4 个级分中的固形物得率,并分别测定黄酮含量。黄酮含量测定采用 NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH 比色法<sup>[4]</sup>。

1.2.2 抗氧化作用的测定 对 DPPH 清除能力的测定参照 Larrauri 等<sup>[13]</sup>和彭长连等<sup>[14]</sup>的方法。取 0.1 mL 不同浓度(0.012 5 ~ 1.000 0 g · L<sup>-1</sup>)样液和 1.9 mL 120 μmol · L<sup>-1</sup> DPPH 溶液加入同一试管中,摇匀后室温静置 20 min,于 525 nm 处测定吸光度(A<sub>i</sub>),同时测定 0.1 mL 样液与 1.9 mL 体积分数 50% 乙醇混合液的吸光度(A<sub>j</sub>)及 0.1 mL 体积分数 50% 乙醇与 1.9 mL 120 μmol · L<sup>-1</sup> DPPH 混合溶液的吸光度(A<sub>c</sub>)。以芦丁和槲皮素为阳性对照品,重复上述步骤。不同级分对 DPPH 清除率的计算公式为:清除率 = [1 - (A<sub>i</sub> - A<sub>j</sub>)/A<sub>c</sub>] × 100%。

对羟自由基清除能力的测定参照刘晓丽等<sup>[15]</sup>的方法。取 0.5 mL 7.5 mmol · L<sup>-1</sup> 邻二氮菲溶液,加入 2.5 mL 0.2 mmol · L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液(PBS, pH 7.4)和 1.0 mL 蒸馏水,混匀后加入 0.5 mL 7.5 mmol · L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub> 溶液,混匀并加入 0.5 mL 体积分数 0.10% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液,37 °C 恒温 60 min,于 536 nm 处测定吸光度(A<sub>1</sub>);用蒸馏水代替 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,重复上述步骤,测定吸光度(A<sub>2</sub>);用样液代替蒸馏水,重复上述步骤,测定吸光度(A<sub>3</sub>)。对羟自由基清除率的计算公式为:清除率 = [(A<sub>3</sub> - A<sub>1</sub>)/(A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>)] × 100%。

对超氧阴离子自由基清除能力的测定方法如下:吸取 3.0 mL 0.05 mol · L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲液(pH 8.2)于试管中,加入 0.1 mL 样液和 0.1 mL 0.45 mol · L<sup>-1</sup> 邻苯三酚溶液,混匀后,于 325 nm 处每隔 30 s 测定 1 次吸光度,反应 4 min 后结束测定。绘制不同样品溶液与邻苯三酚混合后 A 值随时间变化的曲线,以回归方程斜率作为样品抑制邻苯三酚自氧化的速率(ΔA<sub>i</sub>/Δt)<sup>[16]</sup>。以体积分数 50% 乙醇代替样液,重复上述步骤,并计算对照管中邻苯三酚的自氧化速率(ΔA<sub>c</sub>/Δt)。不同级分对超氧阴离子自由基清除率的计算公式为:清除率 = [(ΔA<sub>c</sub>/Δt - ΔA<sub>i</sub>/Δt)/(ΔA<sub>c</sub>/Δt)] × 100%。

对卵黄脂蛋白过氧化抑制作用的测定参照张尔贤等<sup>[17]</sup>的方法,并略作改进。吸取 0.2 mL 卵黄悬

液[由等体积卵黄与PBS(pH 7.4, 0.2 mol·L<sup>-1</sup>)配制而成,使用前用PBS稀释为1:25的悬液,并用磁力搅拌器搅拌10 min]于具塞试管中,依次加入0.1 mL样液、0.2 mL 25 mmol·L<sup>-1</sup> FeCl<sub>2</sub>溶液和1.5 mL PBS,混匀,37℃水浴振荡6 h,加入0.5 mL体积分数20%的TCA溶液,静置10 min,3 500 r·min<sup>-1</sup>离心10 min;吸取上清液2.0 mL,加入1.0 mL质量分数0.8%的TBA溶液,沸水浴15 min;冷却后于532 nm处测定吸光度(A<sub>s</sub>)。以体积分数50%的乙醇溶液代替样液,重复上述步骤,测定吸光度(A<sub>c</sub>)。各级分对卵黄脂蛋白过氧化抑制率的计算公式为:抑制率=[(A<sub>c</sub>-A<sub>s</sub>)/A<sub>c</sub>]×100%。

### 1.3 数据处理

数据来自3次独立实验,使用SigmaStat 2.03软件对实验结果进行数据统计和分析,并采用邓肯氏新复极差法进行差异显著性分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分的得率及黄酮含量

海边月见草叶提取物4个乙醇洗脱级分的相对得率及黄酮含量见表1。由表1可见,4个乙醇洗脱级分的相对得率和黄酮含量均存在显著差异,其中,30%乙醇洗脱级分的相对得率最高,可达42.03%;50%乙醇洗脱级分的相对得率次之;70%和10%乙醇洗脱级分的相对得率最低,且二者差异不显著。说明海边月见草叶提取物经X-5树脂吸附后,产

物主要集中在30%和50%乙醇洗脱级分中,占总量的72.4%。黄酮含量从高至低依次为50%乙醇洗脱级分、30%乙醇洗脱级分、10%乙醇洗脱级分和70%乙醇洗脱级分,其中30%和50%乙醇洗脱级分中的黄酮含量最高,约为20%,且二者差异不显著。

### 2.2 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分的抗氧化活性分析

2.2.1 对DPPH清除能力的比较 不同浓度海边月见草叶提取物4个乙醇洗脱级分对DPPH自由基的清除效果见表2。由表2可见,4个乙醇洗脱级分均表现出较强的清除DPPH自由基的能力,浓度为1.000 0 g·L<sup>-1</sup>的10%、30%、50%和70%乙醇洗脱级分的清除率为78.4%~81.2%,且各级分间的差异不显著(P>0.05);在0.012 5~0.200 0 g·L<sup>-1</sup>浓度范围内,不同级分对DPPH自由基的清除率则随浓度升高而急剧提高,表现出明显的量效依赖线

表1 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分的相对得率和黄酮含量<sup>1)</sup>  
Table 1 Relative yield rate and flavonoid content of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract<sup>1)</sup>

级分 Fraction	相对得率/% Relative yield rate	黄酮含量/% Flavonoid content
10%乙醇洗脱级分 10% ethanol eluting fraction	13.04 ± 1.11a	14.60 ± 1.13b
30%乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	42.03 ± 1.58c	19.32 ± 1.12c
50%乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	30.44 ± 0.50b	20.06 ± 1.80c
70%乙醇洗脱级分 70% ethanol eluting fraction	14.49 ± 0.97a	8.70 ± 0.78a

<sup>1)</sup> 同列中的不同字母表示邓肯氏新复极差检验差异显著(P<0.05) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test (P<0.05).

表2 不同浓度海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分对DPPH自由基的清除率

Table 2 Scavenging rate of different concentrations of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract against DPPH free radical

浓度/g·L <sup>-1</sup> Concentration	各乙醇洗脱级分对DPPH的清除率/% <sup>1)</sup> Scavenging rate of different ethanol eluting fractions against DPPH <sup>1)</sup>			
	1	2	3	4
0.012 5	13.43 ± 4.81a	14.69 ± 2.92a	10.09 ± 1.25a	9.68 ± 1.06a
0.025 0	20.12 ± 0.58b	23.95 ± 2.02b	22.52 ± 2.79b	17.47 ± 4.14b
0.050 0	37.04 ± 2.69c	41.13 ± 1.35c	38.54 ± 0.93c	34.47 ± 2.22c
0.100 0	60.53 ± 6.78d	66.37 ± 0.48d	61.86 ± 3.47d	45.39 ± 2.00d
0.200 0	72.80 ± 2.39e	74.53 ± 1.91e	73.46 ± 0.61e	60.46 ± 1.88e
0.400 0	75.90 ± 3.08f	77.68 ± 3.73f	76.25 ± 0.69f	75.07 ± 1.79f
0.600 0	76.18 ± 1.99f	77.81 ± 0.86f	78.46 ± 0.29f	79.79 ± 1.13g
1.000 0	78.44 ± 3.28g	79.31 ± 2.18g	80.42 ± 0.48g	81.23 ± 1.31g

<sup>1)</sup> 1,2,3,4 分别代表10%、30%、50%和70%乙醇洗脱级分 1,2,3,4 indicate 10%, 30%, 50% and 70% ethanol eluting fractions respectively. 同列中的不同字母表示邓肯氏新复极差检验差异显著(P<0.05) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test (P<0.05).

性关系; 浓度超过  $0.4000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 不同级分对 DPPH 自由基清除率的增幅减缓, 量效依赖关系不明显, 清除率趋于稳定。

以清除率达 50% 时各级分的浓度 ( $IC_{50}$ ) 作为判断清除 DPPH 自由基活性强弱的依据, 结果表明 (表 3), 10%、30%、50% 和 70% 乙醇洗脱级分对 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值分别为  $0.078$ 、 $0.069$ 、 $0.080$  和  $0.105 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 其中 30% 乙醇洗脱级分对 DPPH 自由基的清除能力最强, 70% 乙醇洗脱级分的清除能力最弱。比较发现, 4 个级分对 DPPH 自由基的清除能力均比槲皮素 ( $0.036 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 弱, 却与芦丁 ( $0.097 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 相当。

2.2.2 对羟自由基清除能力的比较 海边月见草叶提取物 4 个级分均具有较强的清除  $\cdot\text{OH}$  的能力 (表 4), 在  $0.025 \sim 1.000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  实验浓度范围内, 4

个级分对  $\cdot\text{OH}$  的清除率均随着浓度增高而提高, 但清除能力的差异较大 (表 5)。比较发现, 30% 乙醇洗脱级分的清除率最高, 70% 乙醇洗脱级分的清除率最低, 浓度为  $1.000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 两者的清除率分别为 69.74% 和 15.44%。

表 3 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分对 DPPH 自由基清除能力的  $IC_{50}$  值  
Table 3  $IC_{50}$  values of scavenging DPPH free radical of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract

级分 Fraction	$IC_{50}/\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
10% 乙醇洗脱级分 10% ethanol eluting fraction	0.078
30% 乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	0.069
50% 乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	0.080
70% 乙醇洗脱级分 70% ethanol eluting fraction	0.105
芦丁 Rutin (CK)	0.097
槲皮素 Quercetin (CK)	0.036

表 4 不同浓度海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分对  $\cdot\text{OH}$  的清除率  
Table 4 Scavenging rate of different concentrations of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract against  $\cdot\text{OH}$  free radical

浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ Concentration	各乙醇洗脱级分对羟自由基的清除率/% <sup>1)</sup> Scavenging rate of different ethanol eluting fractions against $\cdot\text{OH}$ <sup>1)</sup>			
	1	2	3	4
0.025	-3.84 ± 0.48a	-7.13 ± 3.85a	-8.53 ± 0.44a	-8.00 ± 0.21a
0.050	-4.19 ± 0.36a	-7.97 ± 0.84a	-7.27 ± 0.53a	-3.37 ± 6.02a
0.100	-3.00 ± 0.74a	-2.52 ± 0.76a	-6.22 ± 0.24a	-8.21 ± 0.21a
0.200	5.31 ± 0.74b	5.52 ± 0.87b	-1.05 ± 0.63a	-5.47 ± 0.73a
0.400	16.91 ± 0.87c	26.76 ± 1.55c	5.59 ± 1.38b	2.67 ± 0.44b
0.600	28.23 ± 1.78d	35.99 ± 1.19d	25.16 ± 0.36c	2.81 ± 0.88b
0.800	44.30 ± 1.21e	56.25 ± 0.12e	39.34 ± 0.79d	8.63 ± 1.67b
1.000	65.34 ± 1.43f	69.74 ± 0.67f	50.03 ± 0.64e	15.44 ± 0.24c

<sup>1)</sup> 1,2,3,4 分别代表 10%、30%、50% 和 70% 乙醇洗脱级分 1,2,3,4 indicate 10%, 30%, 50% and 70% ethanol eluting fractions respectively. 同列中的不同字母表示邓氏新复极差检验差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test ( $P < 0.05$ ).

根据  $IC_{50}$  值判定 (表 5), 4 个级分对  $\cdot\text{OH}$  的清除能力从高至低依次为 30% 乙醇洗脱级分、10% 乙醇洗脱级分、50% 乙醇洗脱级分、70% 乙醇洗脱级分。4 个级分对  $\cdot\text{OH}$  的清除能力均低于槲皮素 ( $0.497 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 但却与芦丁相当 ( $0.826 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

2.2.3 对超氧阴离子自由基清除能力的比较 研究发现, 浓度为  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的海边月见草叶提取物 4 个乙醇洗脱级分均对邻苯三酚自氧化速率有一定的抑制作用 (表 6), 其中 50% 和 30% 乙醇洗脱级分对  $\text{O}_2^-$  的清除率较高, 分别为  $22.81\% \pm 1.28\%$  和  $20.82\% \pm 1.31\%$ ; 二者与芦丁对  $\text{O}_2^-$  的清除效率 ( $21.13\% \pm 1.31\%$ ) 相近, 但低于槲皮素对  $\text{O}_2^-$  的清除率 ( $38.42\% \pm 1.02\%$ )。

表 5 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分对  $\cdot\text{OH}$  清除能力的  $IC_{50}$  值  
Table 5  $IC_{50}$  values of scavenging  $\cdot\text{OH}$  free radical of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract

级分 Fraction	$IC_{50}/\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
10% 乙醇洗脱级分 10% ethanol eluting fraction	0.851
30% 乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	0.741
50% 乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	1.010
70% 乙醇洗脱级分 70% ethanol eluting fraction	2.491
芦丁 Rutin (CK)	0.826
槲皮素 Quercetin (CK)	0.497

2.2.4 对卵黄脂蛋白过氧化的抑制作用比较 用  $\text{Fe}^{2+}$  诱发的卵黄脂蛋白过氧化体系对海边月见草叶提取物 4 个乙醇洗脱级分进行抗氧化作用评价, 发现 4 个级分 (浓度为  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 均有明显的抑制卵

黄脂蛋白过氧化的作用,除10%乙醇洗脱级分外,其他3个级分的抑制率均接近59%(表7),差异不显著( $P > 0.05$ );4个级分对卵黄脂蛋白过氧化作用的抑制率均较芦丁( $67.37\% \pm 1.57\%$ )和槲皮素( $80.60\% \pm 3.53\%$ )低。

不同浓度30%和50%乙醇洗脱级分的抗卵黄

表6 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分对 $O_2^-$ 自由基的清除率<sup>1)</sup>  
Table 6 Scavenging rate of ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract against  $O_2^-$  free radical<sup>1)</sup>

级分 Fraction	清除率/% Scavenging rate
10%乙醇洗脱级分 10% ethanol eluting fraction	17.05 ± 1.37b
30%乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	20.82 ± 1.31c
50%乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	22.81 ± 1.28c
70%乙醇洗脱级分 70% ethanol eluting fraction	11.15 ± 1.47a
芦丁 Rutin (CK)	21.13 ± 1.31c
槲皮素 Quercetin (CK)	38.42 ± 1.02d

<sup>1)</sup> 同列中的不同字母表示邓肯氏新复极差检验差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test ( $P < 0.05$ ).

脂蛋白过氧化作用见表8。在0.25~0.80 g·L<sup>-1</sup>浓度范围内,30%和50%乙醇洗脱级分和芦丁对卵黄脂蛋白过氧化的抑制率均随浓度的升高而增加,呈现出一定的量效依赖关系;而槲皮素在实验浓度范围内均表现出很强的抑制作用,量效关系不明显。

表7 海边月见草叶提取物乙醇洗脱级分(1 g·L<sup>-1</sup>)对卵黄脂蛋白过氧化的抑制作用<sup>1)</sup>  
Table 7 Inhibition effects of ethanol eluting fractions (1 g·L<sup>-1</sup>) from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract on yolk lipid peroxidation<sup>1)</sup>

级分 Fraction	抑制率/% Inhibition rate
10%乙醇洗脱级分 10% ethanol eluting fraction	53.71 ± 2.05e
30%乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	58.52 ± 1.77f
50%乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	59.33 ± 1.12f
70%乙醇洗脱级分 70% ethanol eluting fraction	58.24 ± 0.82f
芦丁 Rutin (CK)	67.37 ± 1.57g
槲皮素 Quercetin (CK)	80.60 ± 3.53h

<sup>1)</sup> 同列中的不同字母表示邓肯氏新复极差检验差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test ( $P < 0.05$ ).

表8 海边月见草叶提取物30%和50%乙醇洗脱级分对卵黄脂蛋白过氧化的抑制作用<sup>1)</sup>

Table 8 Inhibition effect of 30% and 50% ethanol eluting fractions from *Oenothera drummondii* Hook. leaf extract on yolk lipid peroxidation<sup>1)</sup>

浓度/g·L <sup>-1</sup> Concentration	不同成分的抑制率/% Inhibitory rate of different constituents			
	30%乙醇洗脱级分 30% ethanol eluting fraction	50%乙醇洗脱级分 50% ethanol eluting fraction	芦丁 Rutin	槲皮素 Quercetin
0.25	31.00 ± 4.56b	12.95 ± 0.71a	16.73 ± 8.04a	74.91 ± 2.46f
0.50	49.10 ± 4.26c	49.10 ± 4.26c	41.60 ± 13.52c	80.35 ± 2.86g
0.80	57.47 ± 5.27d	56.26 ± 1.30d	61.59 ± 1.42d	80.41 ± 3.24g
1.00	58.52 ± 1.77d	59.33 ± 1.12d	67.37 ± 1.57e	80.60 ± 3.53g
1.50	62.95 ± 2.59d	61.84 ± 1.63d	75.61 ± 1.43f	82.88 ± 2.08g

<sup>1)</sup> 同列中的不同字母表示邓肯氏新复极差检验差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column indicate the significant difference by Duncan's test ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论和结论

海边月见草叶提取物经X-5大孔树脂吸附及洗脱后,获得的30%和50%乙醇洗脱级分中的黄酮(以芦丁计)含量并不高,仅约20%,说明黄酮类成分只是这2个洗脱级分的组成成分之一,另外还含有其他成分。Yoshida等<sup>[9]</sup>从美丽月见草(*Oenothera biennis* L. High)和裂叶月见草(*O. laciniata* Hill.)中分离鉴定出寡聚可水解鞣质(oenotheins A、B等)等7种成分,并发现oenotheins A、B是月见草属植物的主要多酚类成分,除黄酮外,其他多酚类成分也能被

弱极性的X-5大孔树脂富集和纯化。由此可以推断,海边月见草叶提取物中可能含有oenotheins等系列组分。有关洗脱级分中可能的抗氧化成分(如多酚、寡聚可水解鞣质、黄酮等)的分离鉴定仍有待进一步的深入研究。

在不同自由基评价体系中,4个洗脱级分表现出不同的清除能力。在DPPH和·OH体系中,4个级分对DPPH和·OH的清除能力从大到小依次为30%乙醇洗脱级分、10%乙醇洗脱级分、50%乙醇洗脱级分、70%乙醇洗脱级分,以30%乙醇洗脱级分的清除能力最强,对DPPH和·OH的 $IC_{50}$ 分别为0.069和0.741 g·L<sup>-1</sup>,略低于槲皮素。4个级分对邻苯三

酚自氧化速率均有一定的抑制作用,但抑制率并不高。虽然50%和30%乙醇洗脱级分对 $O_2^-$ 的抑制能力较强,但抑制率也仅约20%。此外,4个级分对卵黄脂蛋白的过氧化具有较强的抑制作用,抑制率都在50%以上,且表现出一定的量效依赖关系。由此推断,海边月见草叶提取物在抑制卵黄脂蛋白过氧化作用方面效果较好,但是否能将其用于卵黄脂蛋白过氧化抑制剂的生产,还有待进一步的深入探讨,也有待于用更多的体系或模型(如采用卵磷脂为底物的脂质体模型<sup>[18]</sup>、TEAC法<sup>[19]</sup>、FRAP法<sup>[20]</sup>及 $\beta$ -carotene-linoleic acid<sup>[20]</sup>模型)进行综合评价。

另外,70%乙醇洗脱级分对卵黄脂蛋白过氧化表现出较强的抑制作用,但对自由基的清除能力却最差,与30%和50%乙醇洗脱级分的差异达极显著水平( $P < 0.01$ ),因此推断,在卵黄脂蛋白过氧化体系中起作用的组分与自由基清除能力系统中的组分不完全一致,其作用机理也不完全相同,实际情况有待进一步的实验研究。

此外,在低浓度(低于 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )条件下,各乙醇洗脱级分及槲皮素和芦丁对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率均出现负值,具体原因有待进一步研究。

海边月见草是亚油酸高含量型野生油脂资源植物之一,开发利用潜力较大<sup>[4]</sup>,但在加工过程中却产生大量的废弃物,如叶、茎、果壳和种子粕等,若能对这些废弃物进行综合开发利用,将极大提高海边月见草资源利用的附加值。

#### 参考文献:

- [1] Lee J, Koo N, Min D B. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2004, 3(1): 21-33.
- [2] Aruoma O I. Free radicals, antioxidants and international nutrition [J]. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 1999, 8(1): 53-63.
- [3] Mihulka S, Pyšek P. Invasion history of *Oenothera congeners* in Europe: a comparative study of spreading rates in the last 200 years [J]. *J Biogeogr*, 2001, 28(5): 597-609.
- [4] 陈炳华, 吴彩容, 李婷, 等. X-5树脂吸附分离海边月见草叶总黄酮的影响因素[J]. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 22(4): 97-101.
- [5] Ghasemnezhad A, Honermeier B. Seed yield, oil content and fatty acid composition of *Oenothera biennis* L. affected by harvest date and harvest method [J]. *Ind Crop Prod*, 2007, 25(3): 274-281.
- [6] Zaugg J, Potterat O, Plescher A, et al. Quantitative analysis of anti-inflammatory and radical scavenging triterpenoid esters in evening primrose seeds [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 6623-6628.
- [7] Zinsmeister H D, Plitzko I, Schels H. Flavonol glycosides in South American species of *Oenothera* Sect. *Oenothera* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(4): 497.
- [8] Miyamoto K, Nomura M, Sasakura M, et al. Antitumor activity of oenotherin B, a unique macrocyclic ellagitannin [J]. *Cancer Sci*, 1993, 84(1): 99-103.
- [9] Yoshida T, Chou T, Shingu T, et al. Oenotherins D, F and G, hydrolysable tannin dimers from *Oenothera laciniata* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(2): 555-561.
- [10] Pellegrina C D, Padovani G, Mainente F, et al. Anti-tumor potential of a gallic acid-containing phenolic fraction from *Oenothera biennis* [J]. *Cancer Lett*, 2005, 226(1): 17-25.
- [11] Wettasinghe M, Shahidi F, Amarowicz R. Identification and quantification of low molecular weight phenolic antioxidants in seeds of evening primrose (*Oenothera biennis* L.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 1267-1271.
- [12] Wettasinghe M, Shahidi F. Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals [J]. *Food Chem*, 2000, 70: 17-26.
- [13] Larrauri J A, Sanchez-Moreno C, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 2694-2697.
- [14] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(6): 658-661.
- [15] 刘晓丽, 赵谋明. 余甘子果汁活性成分与抗氧化活性研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(5): 151-154.
- [16] 王关林, 田兵, 方宏筠, 等. 芦荟抗氧化物质活性及对红细胞的保护作用 [J]. *营养学报*, 2002, 24(4): 380-384.
- [17] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 等.  $\text{Fe}^{2+}$  诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价 [J]. *生物化学与生物物理学报*, 1996, 28(2): 218-222.
- [18] Balasinska B, Troszynska A. Total antioxidative activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured *in vitro* by liposome model and murine L1210 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 3558-3563.
- [19] Shan B, Cai Y Z, Sun M, et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 50: 7749-7759.
- [20] Tsao R, Yang R, Xie S, et al. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 4989-4995.