

# Comparative Study the Scavenging Hydroxyl Free Radical and Anti-Lipidperoxidation Activity of Water Extract between *Lycium ruthenicum* and *Lycium barbarum* Fruits

Zicong Wu<sup>1,2</sup>, Bing Zheng<sup>1</sup>, Haijie Li<sup>1</sup>, Lide Yin<sup>1</sup>, Yifei Wang<sup>2</sup>, Zhiping Wang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Provincial Engineering Center of Topical Precise Drug Delivery System, Department of Pharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou Guangdong

<sup>2</sup>Guangzhou Jinan Biomedical Research and Development Center, Jinan University, Guangzhou Guangdong  
Email: \*wzping-jshb@gdpu.edu.cn

Received: Jan. 4<sup>th</sup>, 2019; accepted: Jan. 21<sup>st</sup>, 2019; published: Jan. 28<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To compare antioxidant activity of water extract between *Lycium ruthenicum* Murr. and *Lycium barbarum* L. **Methods:** The scavenging hydroxyl radical and anti-lipidperoxidation capacity of water extract of *Lycium ruthenicum* Murr. and *Lycium barbarum* L. were evaluated by the Fenton-salicylic acid method and Linoleic acid-ferric thiocyanate assay. **Results:** The IC<sub>50</sub> value of *Lycium ruthenicum* Murr. with hydroxyl free radical scavenging capacity and anti-lipidperoxidation ability was 1.7176 mg·ml<sup>-1</sup> and 0.112 mg·ml<sup>-1</sup>, respectively (*Lycium barbarum* L. 1.2977 mg·ml<sup>-1</sup>, 0.058 mg·ml<sup>-1</sup>, respectively). **Conclusion:** The results suggest that *Lycium ruthenicum* fruit and *Lycium barbarum* fruit show remarkably high antioxidant activity *in vitro* and are natural antioxidant development potential.

## Keywords

*Lycium ruthenicum* Murr., *Lycium barbarum* L., Hydroxyl Free Radical, Anti-Lipidperoxidation, Comparative Study

# 黑果枸杞与枸杞子水提取液清除羟自由基及抗脂质过氧化活性比较研究

吴子聪<sup>1,2</sup>, 郑冰<sup>1</sup>, 李海杰<sup>1</sup>, 印理德<sup>1</sup>, 王一飞<sup>2</sup>, 王治平<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>广东药科大学药学院, 广东省局部精准药物递药制剂工程技术研究中心, 广东 广州

\*通讯作者。

**文章引用:** 吴子聪, 郑冰, 李海杰, 印理德, 王一飞, 王治平. 黑果枸杞与枸杞子水提取液清除羟自由基及抗脂质过氧化活性比较研究[J]. 化学工程与技术, 2019, 9(1): 51-55. DOI: 10.12677/hjct.2019.91009

<sup>2</sup>暨南大学, 广州暨南生物医药研究开发基地有限公司, 广东 广州  
Email: \*wzping-jshb@gdpu.edu.cn

收稿日期: 2019年1月4日; 录用日期: 2019年1月21日; 发布日期: 2019年1月28日

## 摘要

目的: 对黑果枸杞和枸杞子水提取液的清除羟自由基及抗亚油酸脂质过氧化活性进行比较研究。方法: 采用Fenton-水杨酸法及亚油酸-硫氰酸铁法, 分别测定黑果枸杞和枸杞子水提取液的清除羟自由基和抗脂质抗氧化能力。结果: 黑果枸杞水提取液清除羟自由基及抗亚油酸脂质过氧化能力 $IC_{50}$ 值分别为 $1.718 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、 $0.112 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  (枸杞子水提取液分别为及 $1.298 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、 $0.058 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )。结论: 枸杞子水提取液清除羟自由基及抗脂质过氧化活性均强于黑果枸杞水提取液, 二者均具有明显的体外清除自由基抗氧化活性及开发天然抗氧化剂的潜力。

## 关键词

黑果枸杞, 枸杞子, 羟自由基, 脂质过氧化, 对比研究

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

黑果枸杞为药食兼用的植物果实, 为茄科 *Lycium ruthenicum* Murr. 的干燥成熟果实, 含黄酮、多糖类成分[1], 有如下药理活性: 抗氧化损伤[1]-[6]、抑制炎症[7]、抑制动脉硬化[8]、减轻肝脏损伤[9]、降低疲劳感[10]等。枸杞子为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实, 为历版中国药典收载药材[11], 化学成分与功效同黑果枸杞类似, 具有如下活性: 降低氧化损伤[12] [13] [14] [15]、抗大鼠溃疡性结肠炎[16]、抗辐射[17]、降血脂[18]、降低雷公藤毒性[19]、降低血压[20]等。李氏[2]等通过比较其黄酮含量、清除 DPPH 活性, 发现黑果枸杞和枸杞子的黄酮含量和清除自由基活性略有差别。曾秀兰等[21]采用 DPPH 自由基清除法、铁离子还原法及螯合法, 进行水提液抗氧化能力比较研究, 发现其抗氧化作用存在差别。迄今为止, 未见对二者水提取液清除羟自由基和抗亚油酸脂质过氧化活性进行比较研究的文献报道。本文采用 Fenton-水杨酸法及亚油酸-硫氰酸铁法, 分别测定黑果枸杞和枸杞子水提取液的清除羟自由基和抗脂质抗氧化能力, 以期为黑果枸杞和枸杞子的开发提供深入实验依据。

## 2. 材料

### 2.1. 仪器

电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); 紫外分光光度计(岛津公司); 电热炉(广州粤城电器厂); 超声波清洗器(布兰森超声公司); 水浴箱(上海精宏实验设备有限公司), 移液枪(艾本德公司)。

### 2.2. 试药

硫酸亚铁(七水合物, AR,  $\geq 99.0\%$ , Aladdin), 水杨酸(AR, 98%, 西安普莱特生物工程有限公司),

过氧化氢溶液(AR, 30%, Aladdin), 亚油酸(AR, 30%, Aladdin), 硫氰酸铵(AR, 98%, Aladdin; 黑果枸杞及枸杞子样品信息同文献[21]。

### 3. 方法

#### 3.1. 供试溶液的制备

1) 黑果枸杞水提液供试液:精密称取黑果枸杞粗末约 100 mg, 置具塞瓶中, 加水 20 mL, 超声处理(水浴温度 60℃) 45 min, 过滤, 即得。

2) 枸杞子水提液供试液:精密称取枸杞子粗末约 100 mg, 置具塞瓶中, 加水 20 mL, 超声处理(水浴温度 60℃) 45 min, 过滤, 即得。

#### 3.2. 清除羟自由基活性测定[22]

##### 1) 试剂制备

硫酸亚铁溶液(9 mmol/L): 精确称取硫酸亚铁 0.125 g 于 50 ml 棕色量瓶中, 用去离子水定容, 摇匀, 低温避光保存。

0.3%双氧水: 取 3%的双氧水 2.5 ml 于 25 ml 量瓶中, 用去离子水定容, 摇匀, 低温避光保存。

水杨酸乙醇溶液(9 mmol/L): 精确称取水杨酸 0.031 g 于 25 ml 棕色量瓶中, 去离子水定容后, 摇匀, 低温保存。

2) 羟自由基清除活性测定 精密吸取“2.1”制备的水提液 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml, 0.4 ml, 0.5 ml, 分别置具塞试管中, 分别加入 9 mmol/L 水杨酸乙醇溶液 0.5 ml, 9 mmol/L 硫酸亚铁溶液及 0.3%双氧水溶液各 0.2 ml, 分别补加水至 4 ml, 摇匀, 置避光处 15 分钟, 于 510 nm 波长处测定, 重复 6 次。按下式计算清除率。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

式中: $A_1$  = 样品溶液加入相应试液的吸光度值,  $A_2$  = 样品溶液未加试液的吸光度值,  $A_0$  = 以水代替样品溶液加入相应试液的吸光度值。

#### 3.3. 亚油酸-硫氰酸铁法测定抗脂质过氧化活性[23] [24] [25]

##### 1) 试剂制备

硫酸亚铁溶液(20 mmol/L): 精密称取硫酸亚铁 0.2780 g, 置 50 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

亚油酸溶液(5 mg/mL): 精密称取 0.25 g 亚油酸(Lot#D1515020), 置 50 mL 量瓶中, 用乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

硫氰酸铵溶液(30%): 称取 15 g 硫氰酸铵, 置 50 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度摇匀, 即得。

2) 抑制脂质过氧化活性测定 精密吸取“2.1”制备的水提液 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml, 0.4 ml, 0.5 ml, 分别置具塞试管中, 分别加入亚油酸乙醇溶液 0.1 ml, 20 mmol/L 硫酸亚铁溶液及 30%硫氰酸铵溶液各 0.04 ml, 分别补加水至 5 ml, 摇匀, 密闭避光放置 10 分钟, 于 475 nm 波长处测定吸光度, 每份样品平行操作 6 次。按下式计算过氧化脂质清除率。

$$\text{脂质过氧化抑制率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

式中: $A_1$  = 样品溶液加入相应试液的吸光度,  $A_2$  = 样品溶液未加试液的吸光度,  $A_0$  = 以水代替样品溶液加入相应试液的吸光度。

### 3.4. 数据分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较以 SPSS 13.0 软件的单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 4. 结果

### 4.1. 清除羟自由基活性比较

采用 Fenton-水杨酸法测试黑果枸杞和枸杞子水提取液的羟自由基清除活性, 测试结果以 Excel 2010 计算  $IC_{50}$  值, 结果显示, 黑果枸杞和枸杞子水提取液的  $IC_{50}$  值分别为  $1.7176 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  及  $1.2977 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 表明黑果枸杞水提液对羟自由基清除能力略低于枸杞子水提取液(详见表 1)。

### 4.2. 抗脂质过氧化能力的比较

采用亚油酸-硫氰酸铁法测试黑果枸杞和枸杞子水提取液抑制脂质过氧化活性, 测试结果以 Excel 2010 计算  $IC_{50}$  值, 结果显示, 黑果枸杞水提液及枸杞子水提取液的  $IC_{50}$  值分别为  $0.112 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  及  $0.058 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 表明黑果枸杞水提液对羟自由基清除能力略低于枸杞子水提取液(详见表 1)。

**Table 1.** Hydroxyl radical scavenging and anti-lipidperoxidant effect of *Lycium ruthenicum* and *Lycium barbarum* ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
**表 1.** 黑果枸杞和枸杞子羟自由基及抗脂质过氧化活性测试结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

样品	羟自由基清除率/ $IC_{50}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	抗脂质过氧化能力/ $IC_{50}$ ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
黑果枸杞	$1.718 \pm 0.104$	$0.112 \pm 0.084^*$
枸杞子	$1.298 \pm 0.008$	$0.058 \pm 0.031$

\*表示组间  $P < 0.05$ 。

## 5. 讨论

黑果枸杞即黑枸杞, 《四部医典》等经典著作记载其能治心热病、月经不调等。民间作滋补强壮药[1]。枸杞子为我国传统名贵中药材, 同时又是国家卫生部公布的药食同源品种之一, 在我国已有 2000 多年的使用历史。目前药品或保健食品羟基自由基清除能力或抗脂质过氧化能力暂无国家标准, 本文仅对黑果枸杞与枸杞子的羟自由基清除能力和抗脂质过氧化能力作一比较, 以为日后更深入的研究提供参考。

羟自由基对主要的几种生物分子如蛋白质、DNA 和脂质都具有很强的破坏能力[15] [22]。白细胞毒素(leukotoxin)、白细胞毒素二醇(leukotoxin diol)及羟基十八碳二烯酸(hydroxyoctadecaenoic acids)是亚油酸的氧化产物, 研究表明, 三者均具有细胞毒性, 与哺乳动物多种疾病相关, 而外源性的摄入也可以引起哺乳动物内分泌紊乱[26]。本研究表明, 黑果枸杞水提液清除羟自由基能力略弱于枸杞子水提取液, 没有统计学意义, 而枸杞子水提取液的抗亚油酸脂质过氧化能力明显比黑果枸杞水提液强, 二者有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 基金项目

广州市科技计划项目(2016A040402033); 广州市产学研协同创新重大专项(201704030087)。

## 参考文献

- [1] 刘增根. 黑果枸杞遗传多样性及可持续利用研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
- [2] 李兆君, 丁润梅. 宁夏枸杞与黑果枸杞总黄酮含量及抗自由基活性的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2014(24): 39-41.

- [3] 夏娜, 赵丽凤. 黑果枸杞功能性成分抗氧化活性及对线粒体的保护作用研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 162-166.
- [4] Zheng, J., Ding, C.X., Wang, L.S., *et al.* (2011) Anthocyanins Composition and Antioxidant Activity of Wild *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai-Tibet Plateau. *Food Chemistry*, **126**, 859-865. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.052>
- [5] Wu, T., Lv, H.Y., Wang, F.Z., *et al.* (2016) Characterization of Polyphenols from *Lycium ruthenicum* Fruit by UPLC-Q-TOF/MS(E) and Their Antioxidant Activity in Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **64**, 2280-2288. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00035>
- [6] Wang, Y.W., Luan, G.X., Zhou, W., *et al.* (2018) Subcritical Water Extraction, UPLC-Triple-TOF/MS Analysis and Antioxidant Activity of Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *Food Chemistry*, **249**, 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.078>
- [7] Yin, J.J. and Wu, T. (2017) Anthocyanins from Black Wolfberry (*Lycium ruthenicum* Murr.) Prevent Inflammation and Increase Fecal Fatty Acid in Diet-Induced Obese Rats. *RSC Advances*, **7**, 47848-47853. <https://doi.org/10.1039/C7RA09846D>
- [8] 陈伟, 陈嘉勤, 毛海峰, 等. 有氧运动和黑果枸杞多糖对慢性脑缺血小鼠的干预及 Notch 通路相关因子的组织差异表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(8): 783-790.
- [9] 王超, 蒋宝平, 龙军, 等. 黑果枸杞对急性酒精性肝损伤的保护及其抗氧化作用的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(2): 192-196.
- [10] 汪建红, 陈晓琴, 陈蔚姣, 等. 黑果枸杞果实多糖抗疲劳生物功效及其机制研究[J]. 食品科技, 2009, 34(2): 203-207.
- [11] 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.
- [12] 楚笑辉, 王伽伯, 周灿平, 等. 不同商品等级枸杞子的抗氧化活性比较及其生物效价检测[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(7): 599-603.
- [13] 李洋, 马文平, 倪志婧. 宁夏枸杞体外抗氧化机理研究[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 79-84.
- [14] Wang, C.C., Chang, S.C., Inbaraj, B.S., *et al.* (2010) Isolation of Carotenoids, Flavonoids and Polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and Evaluation of Antioxidant Activity. *Food Chemistry*, **120**, 184-192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.005>
- [15] 胡仲秋, 王利, 王保玲, 等. 枸杞多糖提取及消除羟自由基活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(24): 93-98.
- [16] 张东涛, 白耘, 马宁, 等. 宁夏枸杞粗提物抗大鼠溃疡性结肠炎的作用[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2087-2089.
- [17] 张琛, 杨亚, 加杨娥, 等. 枸杞多糖对中波紫外线辐射后角质形成细胞炎症因子表达的影响[J]. 中国医药导报, 2017, 14(19): 20-23.
- [18] 赵春苗, 李亮亮. 枸杞水煎液对急慢性高血脂模型的影响[J]. 中国医药科学, 2016, 6(15): 27-30.
- [19] 何风雷, 陈贵英, 彭富全, 等. 雷公藤配伍减毒作用的研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(21): 10-13.
- [20] 穆欣, 周苗苗, 任蓁, 等. 药食同源物品中 5 种抗高血压病中药的研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(14): 29-32.
- [21] 曾秀兰, 施帆, 郑琪, 等. 黑果枸杞与枸杞子水提取液抗氧化活性比较研究[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(22): 21-23.
- [22] 邬卫东, 杨来秀, 武俊婷, 等. 蒙药材手掌参中总黄酮的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(28): 34-37.
- [23] 杨沮勤, 夏媛媛, 陈英杰, 等. 栀子黄色素抗脂质过氧化能力与主成分含量的相关性研究[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(3): 253-256.
- [24] Temelkan, B., Inci, S. and Resat, A. (2017) Quantification of Antioxidant Ability against Lipid Peroxidation with an Area under Curve Approach. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **94**, 77-88. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2918-2>
- [25] Li, L., Zhou, Y.F., Li, Y.L., *et al.* (2017) *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidative and Hepatoprotective Activity of Aqueous Extract of Cortex Dictamnii. *World Journal of Gastroenterology*, **23**, 2912-2927. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i16.2912>
- [26] 姜春姣, 江芸, 耿志明, 等. 亚油酸氧化产物-羟基十八碳二烯酸的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 278-284.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8844，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[hjcet@hanspub.org](mailto:hjcet@hanspub.org)