

藿香与广藿香抗氧化活性研究

魏金凤¹, 王士苗^{1,2}, 沈丹¹, 李瑞萍¹, 曹鹏然¹, 康文艺^{1*}

(1. 河南大学 中药研究所, 河南 开封 475004;

2. 河南科技学院 园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

[摘要] **目的:**研究藿香和广藿香的茎、叶提取物抗氧化活性,总多酚与总黄酮含量与抗氧化活性的关系,并分析二者药理药效是否具有可替代性。**方法:**采用 DPPH 法、ABTS 法和 FRAP 方法进行研究。**结果:**发现总黄酮含量与抗氧化总能力有一定相关性($r=0.6099$)。通过比较藿香与广藿香的抗氧化能力发现,广藿香乙酸乙酯部位清除 DPPH 自由基能力最强[$IC_{50}(79.6 \pm 3.14) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$],藿香乙酸乙酯部位清除 ABTS 自由基能力最强[$IC_{50}(4.41 \pm 0.23) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$],广藿香石油醚部位 Fe^{3+} 的还原能力最强[TEAC ($1\ 822.99 \pm 1\ 141.13$) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$]。**结论:**广藿香与藿香均具有一定抗氧化能力,且差别不大。

[关键词] 藿香; 广藿香; 抗氧化能力; 总多酚; 总黄酮

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0117-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230117

Antioxidant Activity of *Agastache rugosa* and *Pogostemon cablin*

WEI Jin-feng¹, WANG Shi-miao^{1,2}, SHEN Dan¹, LI Rui-ping¹, CAO Peng-ran¹, KANG Wen-yi^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China;

2. School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the antioxidant activity of extracts from *Pogostemon cablin* and *Agastache rugosa*. **Method:** Their antioxidant activity was evaluated and compared using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2, 2-diphenyl-1-(2, 4, 6-trinitrophenyl) hydrazyl (DPPH) free radical scavenging, 2, 2'-amino-di(2-ethyl-benzothiazoline sulphonic acid-6) ammonium salt (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. **Result:** There was some correlation for antioxidant capacity between the total polyphenol and total flavonoid contents ($r=0.6099$). The ethyl acetate of *P. cablin* showed the strongest capacity of DPPH scavenging [$IC_{50}(79.60 \pm 3.14) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$], the ethyl acetate of *A. rugosa* showed the strongest capacity of ABTS scavenging [$IC_{50}(4.41 \pm 0.23) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$], and the petroleum ether of *P. cablin* had the strongest capacity of FRAP [TEAC ($1\ 822.99 \pm 1\ 141.13$) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$]. **Conclusion:** They all had certain antioxidant effects and small differences were found between *P. cablin* and *A. rugosa*.

[Key words] *Agastache rugosa*; *Pogostemon cablin*; antioxidant capacity; total polyphenols; total flavonoids

藿香全草能入药,性微温,味辛、入脾、胃经,是一种广为人知的芳香健胃、清咳解暑药,主治中暑发

热、暑月内伤生冷、外感风寒、胸闷腹胀、脾胃气滞等^[1-2],在现代中药临床上常用于治疗脘腹胀痛、呕

[收稿日期] 20140721(003)

[基金项目] 河南省青年骨干教师计划项目(教高[2012]704号);河南省科技厅基础前沿计划项目(142300410123;132300410255);河南大学大学生创新创业训练计划项目(13NB062);河南大学研究生教育综合改革项目(Y1411008)

[第一作者] 魏金凤,博士,Tel:0378-3880680,E-mail:weijinfeng123@163.com

[通讯作者] *康文艺,博士,教授,从事天然药物活性成分及安全性评价研究,Tel:0371-23880680,E-mail:kangweny@hotmail.com

吐腹泻、暑湿倦怠、寒湿闭暑、发热无汗、鼻渊头痛等^[3],现代药理研究证明,藿香还有调节消化道功能和胃肠平滑肌解痉^[4-5]、抗菌、镇痛、防腐等作用^[6-8],在临床上用量较大^[9-10]。

作为商品药材,中药材藿香主要有 2 个不同品种,一类为唇形科刺蕊草属广藿香,多年生芳香草本或半灌木,另一类为唇形科藿香属藿香,一年生或多年生草本。藿香的用药历史从《滇南本草》算起至今已有 500 余年,而近年来广藿香已经成为藿香正气水、胶囊、片以及其他中成药的入药药材,藿香在成药中的使用大幅减少。本研究选取了广藿香与藿香作为试验材料,通过研究其抗氧化活性,总多酚和总黄酮的含量,分析藿香与广藿香的差别,探讨两种药材替代使用是否合理。

1 材料

广藿香,2013 年 9 月采集于海南省万宁市藿香种植基地;藿香,2013 年 10 月采集于江苏省苏州地区。由河南大学中药研究所李昌勤教授鉴定,为唇形科刺蕊草属广藿香 *Pogostemon cablin* 和唇形科藿香属藿香 *Agastache rugosa*,标本存于河南大学中药研究所。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,批号 095K1452,日本东京化成工业株式会社),2,2'-联氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氢盐(ABTS,批号 1293996,美国 Fluka 公司),二丁基羟基甲苯(BHT,批号 A020158601,比利时 Acros organics 公司) Fe^{3+} -三吡啶三嗪(TPTZ,批号 130692925106142,比利时 Acros organics 公司),Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Aldrich,批号 A019438801),邻苯二酚(北京化学试剂公司),斐林酚试剂(Merck 公司),芦丁对照品(纯度 98%,河南大学中药研究所);其他试剂均为分析纯。

UV-2000 型紫外-可见分光光度计(尤尼可上海仪器有限公司),Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo Electron 公司),电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),CS-H1 型混合器(北京博励阳科技公司),旋转蒸发仪(日本东京理化公司)。

2 方法

2.1 活性成分提取 藿香与广藿香的茎和叶在阴凉处阴干粉碎,用 70% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,过滤浓缩,得到乙醇总提取物浸膏。总浸膏分散于水中,再分别用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇萃取得到石油醚部位(PE),乙酸乙酯部

位(EA),正丁醇部位(BU)部位。

2.2 总多酚的含量测定 参照文献[12]方法,在 Folin-Ciocalteu 法基础上稍作改变,于 765 nm 处测定吸光度。以吸光度(Y)和邻苯二酚浓度($X, g \cdot L^{-1}$)作图,得邻苯二酚标准曲线,并据此计算样品中所含的总多酚含量。

2.3 总黄酮的含量测定 参照文献[11],反应时间和用量略做改动,于 510 nm 处测定吸光度。吸光度(Y)和芦丁浓度($X, g \cdot L^{-1}$)作图,得芦丁标准曲线,并据此计算样品所含的总黄酮含量。

2.4 抗氧化活性测定方法

2.4.1 清除 DPPH 自由基法 样品用甲醇溶液溶解,配制 $2.0 g \cdot L^{-1}$ 的样品溶液参照文献[11]的方法配制 $200 \mu mol \cdot L^{-1}$ 的 DPPH 溶液。在 96 微孔板中加入 10 μL 样品溶液和 175 μL DPPH 溶液,混合均匀,室温条件下暗反应 20 min 后于 515 nm 下测定其吸光度(A)。每份样品平行测定 3 次,求均值并按照下式计算样品清除率。样品溶液对 DPPH 自由基清除率高于 50% 的样品再往下稀释 4 个浓度,并依次计算清除率。

$$\text{清除率} = [(A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}}] \times 100\%$$

式中, $A_{\text{对照}}$ 为 DPPH 本身在测定波长处的 A ; $A_{\text{样品}}$ 为样品溶液对 DPPH 自由基作用后的 A (除去样品自身吸收)。

计算得到的清除率,运用 Origin8.0 软件处理,得到样品清除 DPPH 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

2.4.2 清除 ABTS 自由基法 参照文献[12]方法配制 ABTS 工作液,96 微孔板中加入 10 μL 样品溶液和 200 μL ABTS 工作液后,混合均匀,室温下暗反应 20 min,在 405 nm 处测定 A ,10 μL 甲醇为对照。每份样品平行重复 3 次,计算均值。初筛活性高于 50% 样品依次往下稀释 4 个浓度,并依次计算清除率。

2.4.3 铁离子(Fe^{3+})还原/抗氧化总能力测定法(FRAP 法) 按参考文献[13]的方法,配制工作液并绘制标准曲线,在 96 孔板中加入 10 μL Trolox 溶液和 200 μL FRAP 工作液,混合均匀,37 $^{\circ}C$ 条件下反应 30 min 后在 593 nm 处测定 A ,分别以对照品 Trolox 浓度($\mu mol \cdot g^{-1}$)和 A 为横纵坐标绘制标准曲线。

在 96 孔板中加入 10 μL 样品溶液和配置好的 200 μL 工作液,每份样品平行操作 3 次,计算均值,计算出清除率,结果以抗氧化当量(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 TEAC) 表示。

3 结果与讨论

3.1 DPPH 自由基清除能力 广藿香的乙酸乙酯部位提取物和藿香乙酸乙酯部位提取物有一定的

清除 DPPH 自由基的能力,但均弱于阳性药 BHT。对 DPPH 自由基清除能力: BHT [$IC_{50} (24.49 \pm 2.17) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$] > 广藿香 EA [$IC_{50} (79.6 \pm 3.14) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$] > 藿香 EA [$IC_{50} (86.10 \pm 2.17) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$] (表 1)。

表 1 广藿香和藿香抗氧化能力 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	DPPH		ABTS		FRAP
	初筛抑制率/%	$IC_{50}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	初筛抑制率/%	$IC_{50}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	TEAC/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
广藿香 PE	37.74	-	98.48	17.75 ± 0.56	$1\ 822.99 \pm 1\ 141.13$
广藿香 EA	69.94	79.60 ± 3.14	94.21	7.61 ± 1.21	1124.91 ± 0.11
广藿香 BU	3.24	-	80.62	44.75 ± 3.02	86.20 ± 87.57
广藿香总浸膏	37.36	-	97.46	22.32 ± 0.45	$1\ 116.49 \pm 659.01$
藿香 PE	2.31	-	98.19	7.37 ± 3.10	448.44 ± 90.26
藿香 EA	61.19	86.1 ± 2.17	97.02	4.41 ± 0.23	964.06 ± 23.35
藿香 BU	12.51	-	92.11	16.45 ± 2.83	216.77 ± 40.27
藿香总浸膏	1.56	-	42.64	-	-
BHT	60.12	45.12 ± 3.45	97.91	8.59 ± 0.56	$1\ 387.51 \pm 137.93$

在质量浓度为 $3.38 \sim 108.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,广藿香 EA 和藿香 EA 对 DPPH 自由基清除能力均随质量浓度升高而增大,在质量浓度 $> 78.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,藿香 EA 对 DPPH 自由基清除能力强于广藿香提取物,在质量浓度 $> 78.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,广藿香 EA 清除 DPPH 自由基能力强于藿香 EA (图 1)。

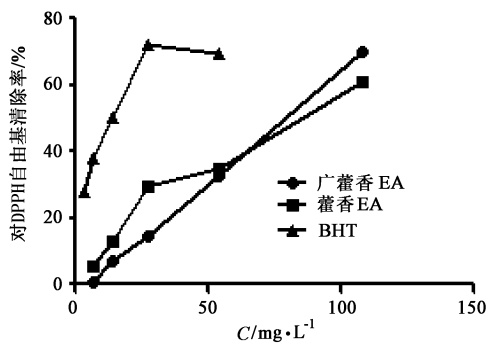


图 1 藿香 EA 与广藿香 EA 提取物清除 DPPH 自由基能力

3.2 对 ABTS 自由基的清除能力 广藿香与藿香提取物清除 ABTS 自由基的能力顺序: BHT > 藿香 EA > 藿香 PE > 广藿香 EA > 藿香 BU > 广藿香 PE > 广藿香 BU (表 1)。

在质量浓度 $< 47.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,广藿香和藿香各部位提取物对 ABTS 自由基清除能力与质量浓度呈正比,随着浓度增加而增大;在质量浓度为 $47.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,藿香 EA、广藿香 EA 对 ABTS 自由基清除率分别达到 99.86%, 96.89%, 清除 ABTS 自由基

的能力均强于 BHT;在质量浓度达到 $47.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,随着质量浓度增大各提取物对 ABTS 自由基清除能力趋于稳定 (图 2)。

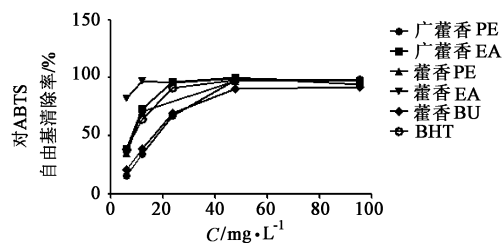


图 2 藿香与广藿香提取物对 ABTS 自由基清除能力

3.3 铁离子还原能力 对 Fe^{3+} 的还原能力顺序为: 广藿香 PE > BHT > 广藿香 EA > 藿香 EA > 藿香 PE > 藿香 BU > 广藿香 BU (表 1)。

广藿香 PE 的铁离子还原能力最高,强于阳性对照 BHT,广藿香提取物对铁离子的还原能力强于藿香提取物。

3.4 样品中总多酚和总黄酮的含量 按照上述实验方法,绘制总多酚和总黄酮含量测定的标准曲线,以吸光度 (Y) 对邻苯二酚浓度 ($X, \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 作图,得到邻苯二酚标准曲线 $Y = 119X - 0.049 (r = 0.9985)$,以吸光度 (Y) 对芦丁浓度 ($X, \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 作图,得到对照品芦丁标准曲线 $Y = 9.309X - 0.004 (r = 0.9995)$,根据公式计算各个提取物部位中总多酚和总黄酮的含量 (表 2)。

表 2 藿香和广藿香提取部位总多酚与总黄酮的含量($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	总黄酮/mg·g ⁻¹	总多酚/mg·g ⁻¹
广藿香 PE	12.48 ± 0.13	2.86 ± 0.02
广藿香 EA	16.00 ± 2.47	3.10 ± 0.07
广藿香 BU	19.09 ± 2.25	4.94 ± 0.06
广藿香总浸膏	17.61 ± 2.02	3.12 ± 0.02
藿香 PE	28.25 ± 0.89	0.34 ± 0.01
藿香 EA	27.36 ± 0.56	3.50 ± 0.02
藿香 BU	5.46 ± 0.46	0.53 ± 0.01
藿香总浸膏	14.01 ± 0.46	1.16 ± 0.02

表 2 显示,总黄酮含量顺序为:藿香 PE > 藿香 EA > 广藿香 BU > 广藿香总浸膏 > 广藿香 EA > 藿香总浸膏 > 广藿香 PE > 藿香 BU;总多酚含量顺序为:广藿香 BU > 藿香 EA > 广藿香总浸膏 > 广藿香 EA > 广藿香 PE > 藿香总浸膏 > 藿香 BU > 藿香 EA。

样品中总多酚含量于样品对 Fe³⁺ 还原能力有一定相关性($r=0.5486$),结合抗氧化结果来看,广藿香对 Fe³⁺ 还原能力强于藿香提取物,可看出总多酚含量和 Fe³⁺ 还原能力有一定相关性(表 3)。

表 3 总多酚和总黄酮含量与不同抗氧化能力的相关系数

组别	ABTS 方法/IC ₅₀	FRAP 方法/TEAC
总多酚	0.5486	0.1760
总黄酮	0.2509	0.0632

4 结论

广藿香和藿香的石油醚部位和乙酸乙酯部位均有较好的抗氧化能力,推测抗氧化活性成分很可能存在于其中等极性和低极性成分中,且提取物中总多酚含量与 Fe³⁺ 还原能力有一定相关性,这对于研究藿香与广藿香体外抗氧化活性成分提供理论依据。

广藿香总黄酮含量低于藿香,而总多酚含量则高于藿香。结合抗氧化结果分析,广藿香与藿香清除 DPPH 自由基能力相差不大,清除 ABTS 自由基和对 Fe³⁺ 还原能力广藿香提取物普遍高于藿香提取物。广藿香与藿香来源于同科不同属植物,化学成分和生物活性明显不同,从用药安全和药效考虑进一步加深对其研究。

[参考文献]

[1] Shin S. Essential oil compounds from *Agastache rugosa* as antifungal agents against trichophyton species [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27(3):295.

[2] Hong J J, Choi J H, Oh S R, et al. Inhibition of cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression: possible mechanism for anti-atherogenic effect of *Agastache rugosa* [J]. FEBS Letters, 2001, 49(5):142.

[3] 张英,张金超,陈瑶,等. 广藿香生药、化学及药理学的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(5):586.

[4] Iehikawa K, Kinoshita T, Sankawa U. The screening of Chinese crude drugs for Ca²⁺ antagonist activity: identification of active principles from the aerial part of *pogostemon cablin* and the fruits of *prunus mume* [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37(2):345.

[5] 何冰,陈小夏,罗集鹏. 广藿香去油部分的 5 种不同极性提取物对胃肠道的影响 [J]. 中药材, 2001, 24(13):422.

[6] 张广文,蓝文键,苏镜娱,等. 广藿香精油化学成分分析与抗菌活性研究 [J]. 中草药, 2001, 32(3):204.

[7] 莫小路,严振,王玉生. 广藿香精油对植物病原真菌的抑菌活性研究 [J]. 中药材, 2004, 27(6):805.

[8] 孔庚星. 广藿香酮的分离及其在药剂中的应用 [J]. 中国医院药学杂志, 1986, 6(1):32.

[9] Li Y J, Tan D J, Yang Y K. Current quality evaluation of authentic medicinal material [J]. J Hubei Uni Nat, 2010, 28:410.

[10] 李康,陈思亮,周文良,等. 中药藿香正气水对结肠上皮细胞 T84 吸收分泌的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18):2491.

[11] Kang W Y, Li C F, Liu Y X. Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* (Roxb.) Kuntze *in vitro* [J]. Med Chem Res, 2010, 19(9):1222.

[12] 于海平,孔祥密. 荆条花不同提取物抗氧化活性的比较研究 [J]. 中国药房, 2013, 39(24):3672.

[13] Kang W Y, Wang J M. *In vitro* antioxidant properties and *in vivo* lowering blood lipid of *Forsythia suspense* leaves [J]. Med Chem Res, 2010, 19(7):617.

[责任编辑 邹晓翠]