

马缨丹挥发油体外抗氧化活性研究

郭占京, 王勤, 黄宏妙*, 程世贤, 周丽霞, 尧昊秋
(广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 对马缨丹挥发油的抗氧化能力进行研究。方法: 用 95% 乙醇将马缨丹挥发油配制成不同质量浓度(0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 g·L⁻¹) 溶液, 采用二苯代苦味酰自由基(DPPH·)法、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS⁺·)法和铁氰化钾还原法检测各不同浓度挥发油的抗氧化能力。结果: 马缨丹挥发油对 ABTS⁺· 的清除能力较强, 清除率可高达 52.50%; 但对 DPPH· 清除能力较弱, 清除率仅为 21.05%; 同时其还原能力也随着浓度的增大而增强。结论: 马缨丹挥发油对 DPPH· 的清除能力较弱, 但具有较强的清除 ABTS⁺· 能力和还原能力, 其能力强弱与其浓度有一定的量效关系, 可作为天然抗氧化剂及功能性食品的开发资源。

[关键词] 马缨丹; 挥发油; 抗氧化活性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0235-03

[doi] 10.11653/syfy2013110235

Antioxidant Activity of Essential Oils of *Lantana camara*

GUO Zhan-jing, WANG Qin, HUANG Hong-miao*, CHENG Shi-xian, ZHOU Li-xia, YAO Hao-qiu
(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant activity of essential oils of *Lantana camara*. **Method:** The essential oils of *L. camara* were prepared into different doses (0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 g·L⁻¹) with 95% ethanol. And the antioxidant activities were studied using DPPH assay, ABTS⁺ assay and reducing power assay. **Result:** The essential oils of *L. camara* possessed good scavenging activities on ABTS⁺ radical (reaching to 52.50%), but weak scavenging activities on DPPH radical (only reaching to 21.05%). Their reducing power activities were in the sequence of 2.0 g·L⁻¹ > 1.6 g·L⁻¹ > 1.2 g·L⁻¹ > 0.8 g·L⁻¹ > 0.4 g·L⁻¹. **Conclusion:** The essential oils of *L. camara* showed good activities on both scavenging ABTS⁺ radical and reducing power, but low activity on scavenging DPPH radical. All antioxidant activity showed a concentration-effect relationship. The essential oils can be employed as natural antioxidants and health care products.

[Key words] *Lantana camara*; essential oils; antioxidant activity

现代医学研究已经证实^[1-2], 活性氧自由基与衰老、恶性肿瘤、动脉粥样硬化、糖尿病、老年痴呆症以及帕金森综合征等疾病都有关。当自由基代谢失调时, 对机体适当补充外源性抗氧化剂可以改善以上状况。化学合成的抗氧化剂如二叔丁对甲酚(BHT)和丁酸羟基茴香醚(BHA)等, 能够抑制人体

的呼吸酶活性, 使用过量甚至可致畸、致癌, 因此近年来, 在植物中寻找天然抗氧化剂已成为一个研究热点。

马缨丹又名五色梅, 原产于热带美洲, 现广泛分布于热带、亚热带和温带地区, 作为外来入侵植物在我国广东、广西、福建、云南等地均有广泛分布。马缨丹性味苦寒, 具有泻火解毒、消肿、祛风止痒、活血止血等功效, 民间用其根治疗风湿痹痛、脚气、淋巴结核、高热不退和毒蛇咬伤等症^[3]。药理学研究表明马缨丹具有消炎镇痛、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等生物活性^[4-9]。但是马缨丹的抗氧化作用未见文献报道。马缨丹植株含有大量精油, 其主要成分为单萜

[收稿日期] 20130210(001)

[第一作者] 郭占京, 讲师, 从事天然药物化学成分与活性研究, E-mail: youjihuahewu@126.com

[通讯作者] * 黄宏妙, 讲师, 从事中草药有效成分分析及活性改造, E-mail: hhmgoodluck@163.com

和倍半萜,其中倍半萜占了近 65%^[10-11],该类物质为抗氧化中药主要成分之一。为了研究马缨丹挥发油的抗氧化活性,本文采用了 3 种国内外常用的体外抗氧化活性检测方法(二苯代苦味酰自由基(DPPH·)法、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS⁺·)以及铁氰化钾还原法),从多方面评价马缨丹叶挥发油的抗氧化能力,寻找一种具有保健功能的新型天然抗氧化剂。

1 材料

1.1 药物与试剂 马缨丹叶采自广西南宁市三塘,经广西中医药大学梁子宁副教授鉴定为 *Lantana camara* L.。DPPH·(二苯代苦味酰自由基)、ABTS [2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)],(美国 Sigma 公司);无水乙醚、无水硫酸钠、三氯乙酸(TCA)、铁氰化钾、三氯化铁(广州西陇化学试剂公司);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Agilent 8453 紫外-可见分光光度计(美国安捷伦科技有限公司);BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯)。

2 方法

2.1 挥发油的提取 取马缨丹叶干燥粗粉 100 g,按《中国药典》2010 年版 I 部附录 XD(国家药典委员会,2010)挥发油测定法的甲法操作,提取至挥发油量不再增加。用无水乙醚萃取,取乙醚层用无水硫酸钠干燥过夜,挥去乙醚,得到淡黄色油状液体,得率为 0.155%。

2.2 清除 ABTS⁺ 自由基能力的测定 参照 Re 等^[12]的方法,略有改进。用蒸馏水将 ABTS 配制成 7 mmol·L⁻¹ 储备液。将上述储备溶液与 2.45 mmol·L⁻¹ K₂S₂O₈ 水溶液(最终浓度)混合均匀,于室温避光放置 12 ~ 16 h 备用,反应产生 ABTS⁺·。将 ABTS⁺· 溶液用磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,使其在 734 nm 下测得吸光度(A)在 0.700 ± 0.020。用 95% 乙醇将马缨丹叶挥发油配制成不同质量浓度(0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 g·L⁻¹)溶液,将 0.4 mL 不同质量浓度马缨丹叶挥发油药液,混合 2.5 mL ABTS⁺· 溶液,在室温下放置 10 min 后(预实验表明反应 10 min 后吸光度才有明显的变化)每隔 5 min 测其吸光度 A_{样品}。按下式计算清除率(SC)。

$$SC = [(A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

A_{空白} 为不加药液的 ABTS⁺· 溶液的吸光度, A_{样品} 为加药液后的 ABTS⁺· 溶液的吸光度。

2.3 清除 DPPH 自由基能力的测定 参照 Kim 等^[13]的方法,略有改进。取 0.5 mL 上述不同质量

浓度的药液加入 4 mL 0.002 4% DPPH 溶液中,室温放置 10 min,在最大吸收波长 517 nm 处测 A_{样品},各测 3 次取平均值。以不加药液的 DPPH 溶液为空白对照(A_{空白})。最后根据 2.2 项下公式计算各浓度药液对 DPPH 自由基的清除率。

2.4 还原能力测定^[14] 取不同质量浓度的马缨丹叶挥发油溶液 1.2 mL,加入 2.5 mL PBS 溶液(pH 7.5),2.5 mL 1% K₃Fe(CN)₆。上述混合物于 50 °C 恒温反应 20 min 后,加入 2.5 mL TCA 溶液(10%),离心 10 min。取上清液 2.5 mL,加入 2.5 mL 蒸馏水,0.5 mL 1% FeCl₃,混匀。在 700 nm 处测定 A,以蒸馏水为参比。在波长 700 nm 条件下测定 A, A 越大,则样品的还原力越强。

2.5 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用中国医学百科统计软件包(PEMSY 2.1)进行统计,组间比较采用 t 检验, P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 ABTS⁺ 自由基清除能力 从马缨丹挥发油对 ABTS⁺ 自由基清除能力(图 1)可以看出,不同浓度的马缨丹挥发油对 ABTS⁺· 具有一定的清除作用,且各浓度对 ABTS⁺· 的清除率均随着反应时间的增加而增大,如反应时间从 10 min 增大到 30 min 时,质量浓度为 2.0 g·L⁻¹ 的药液对 ABTS⁺· 的清除率从 15.15% 增大到 52.50%,表现出较好的 ABTS⁺· 清除能力;而反应时间为 10 min 时各浓度的药液对 ABTS⁺· 的清除率均小于 20%,同时反应时间在 15 min 前,药液浓度与清除率间无量-效关系;但当反应到达 20 min 后,清除率大小的顺序变为 2.0 g·L⁻¹ > 1.6 g·L⁻¹ > 1.2 g·L⁻¹ > 0.8 g·L⁻¹ > 0.4 g·L⁻¹,说明马缨丹挥发油对 ABTS⁺· 的清除能力随着药液浓度的增大而增强,清除能力与浓度之间表现出一定的量效关系。见图 1。

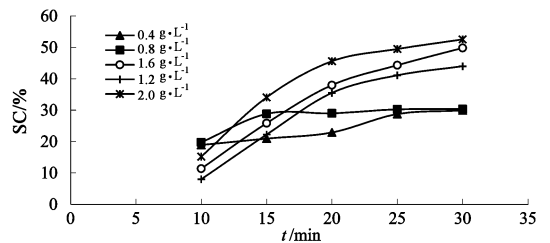


图 1 马缨丹挥发油对 ABTS⁺ 自由基清除作用

3.2 DPPH 自由基清除能力 在 DPPH· 清除能力测定中吸光度变小的程度与自由基被清除的程度呈定量关系,自由基清除率越大,抗氧化活性越强,反之则越弱。本研究结果表明,不同浓度的马缨丹挥

发油对 DPPH 自由基清除能力较弱,最大清除率仅为 21.05%,最小为 16.20%,且清除率随药液浓度增大而升高的幅度很小。

3.3 还原能力 空白对照组(不加药液)吸光度(A)仅近似为 0,而加入药液后,各浓度加药组的吸光度均比空白对照组显著增加($P < 0.01$);当加入药液质量浓度从 $0.4 \sim 2.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,药液的还原能力随着药液浓度增大而增强,还原能力与药液浓度之间呈现一定的量效关系。见表 1。

表 1 马缨丹挥发油还原能力测定($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	A
空白对照	-	0.003 ± 0.000
马缨丹挥发油	0.4	$0.183 \pm 0.008^{2)}$
	0.8	$0.220 \pm 0.005^{2)}$
	1.2	$0.236 \pm 0.006^{2)}$
	1.6	$0.254 \pm 0.004^{2)}$
	2.0	$0.267 \pm 0.0004^{2)}$
	2.4	$0.309 \pm 0.010^{2)}$

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

马缨丹在我国南方民间有着非常广泛的应用,且其野生资源丰富,开发前景良好。但目前对其研究有限,特别是并未进行系统的药理学研究,对其临床应用缺乏科学的理论支持。本研究采用 DPPH·法、ABTS⁺·法和铁氰化钾还原法对其挥发油进行了抗氧化活性研究。结果表明,马缨丹挥发油具有很强的 ABTS⁺·清除能力和铁氰化钾还原能力,其浓度与其能力强弱顺序一致,具有较强开发天然抗氧化剂的潜力。随着自由基生物学与自由基医学的迅速发展,现已证明多种疾病的发生和发展与自由基对组织细胞的损伤关系密切,本文也为进一步对其挥发油进行抗衰老、抗老年痴呆等老年退行性疾病相关药理作用的研究奠定基础,其抗氧化机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Sayre L M, Smith M A, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative

disease [J]. Current Medicinal Chemistry, 2001, 8 (7): 721.

- [2] Ishii T, Yasuda K, Akatsuka A, et al. A mutation in the SDHC gene of complex increases oxidative stress resulting in apoptosis and tumorigenesis [J]. Cancer Research, 2005, 65(1): 203.
- [3] 广西壮族自治区中医药研究. 广西药用植物名录 [M]. 南宁:广西人民出版社,1984:496.
- [4] 吴萍,李振中,李安. 马缨丹根水煮醇提部位镇痛镇静作用的研究[J]. 基层中药杂志,2002,16(2):20
- [5] 莫云雁,李安,黄祖良. 五色梅根三萜类物质镇痛和抗炎的实验研究[J]. 时珍国医国药,2004,15(8):477.
- [6] 林燕文,童义平. 马缨丹抑菌试验研究[J]. 生物技术,2009,19(6):83
- [7] Dharmagadda V S S, Tandonb M, Vasudevan P. Biocidal activity of the essential oils of *Lantana camara*, *Ocimum sanctum* and *Tagetes patula* [J]. J Sci Ind Res, 2005,64(1): 53.
- [8] 孟艳秋,赵临襄,王翥,等. 五环三萜类化合物的构效关系[J]. 中国新药杂志,2004,13(12):1098.
- [9] Taoubi K, Fauvel M T, Gleye J, et al. Phenylpropanoid glycosides from *Lantana camara* and *Lippia multiflora* [J]. Planta Medica, 1997,63: 192.
- [10] Ngassoum M B, Yonkeu S, Jirovetz L, et al. Chemical composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar [J]. Flavour Fragrance J, 1999,14: 245.
- [11] 周晔. 马缨丹挥发油的化学成分分析[J]. 亚太传统医药,2009,5(7): 25.
- [12] Re R, Pellegrini N, Anna P A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26 (9/10):1231.
- [13] Kim D, Lee K W, Lee H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (Vc EAC) of phenolic phytochemicals [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50 (13): 3713.
- [14] Mazor D, Greenberg L, Shamir D, et al. Antioxidant properties of buccillamine: Possible mode of action [J]. Biochem Bioph Res Co, 2006, 349(3): 1171.

[责任编辑 聂淑琴]