

## 益母草与茺蔚子体外抗氧化活性比较

王灿, 李寒冰, 齐向云, 苗明三\*

(河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:** 建立益母草、茺蔚子的体外抗氧化活性测定方法, 对比益母草、茺蔚子抗氧化活性, 为指导益母草和茺蔚子的临床合理用药提供支持。**方法:** 益母草、茺蔚子充分粉碎, 室温下用 75% 乙醇超声 30 min 制备益母草、茺蔚子提取液, 用二苯代苦味酰基自由基 (DPPH·) 法测定二者的抗氧化活性, 并跟维生素 E 比较, 评价益母草、茺蔚子的体外抗氧化能力。**结果:** 益母草、茺蔚子以及维生素 E 溶液对自由基清除率的半数有效浓度 (EC<sub>50</sub>) 分别为 2.70, 1.28, 5.89 g·L<sup>-1</sup>, 表明其抗氧化活性: 茺蔚子提取液 > 益母草提取液 > 维生素 E 溶液; 重复性考察结果表明实验结果重复性较好 (益母草 RSD 3.34%, 茺蔚子 RSD 2.25%)。**结论:** 益母草和茺蔚子在体外都具有较强抗氧化活性, 且茺蔚子抗氧化活性强于益母草。

**[关键词]** 益母草; 茺蔚子; 抗氧化活性; 二苯代苦味酰基自由基

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0179-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013120179

## Antioxidant Activity in Leonuri Herba and Leonuri Fructus *in vitro*

WANG Can, LI Han-bing, QI Xiang-yun, MIAO Ming-san\*

(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method to assay antioxidant activity *in vitro* of Leonuri Herba and Leonuri Fructus, as a guide for clinical rational use of Leonuri Herba and Leonuri Fructus. **Method:** 75% ethanol extracting solutions of Leonuri Herba and Leonuri Fructus were prepared with ultraphonic for 30 min at 25 °C, and their antioxidant capacity were evaluated with 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-2, 2-Diphenyl-1-(2, 4, 6-trinitrophenyl) hydrazyl (DPPH·) spectrometry, compared with vitamin E. **Result:** The extracts of Leonuri Herba and Leonuri Fructus both had good scavenging effects on DPPH·. IC<sub>50</sub> of Leonuri Herba extract, Leonuri Fructus extract and vitamin E solution were 2.70, 1.28, 5.89 g·L<sup>-1</sup>, respectively. In other words the antioxidant capability was: Leonuri Fructus extract > Leonuri Herba extract > vitamin E. The repeatability inspection were: Leonuri Herba, RSD 3.34%; Leonuri Fructus, RSD 2.25%. **Conclusion:** Leonuri Fructus has a stonger antioxidant than *Leonuri Herba in vitro*.

**[Key words]** Leonuri Herba; Leonuri Fructus; antioxidant; DPPH·

益母草苦、辛, 微寒, 具有活血调经, 利尿消肿, 清热解毒的作用<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明益母草成分对实验性大鼠急性心肌缺血的保护作用与其体内

抗氧化活性有关<sup>[2]</sup>。茺蔚子为益母草的干燥成熟果实, 具有活血调经、清肝明目的功能<sup>[1]</sup>, 目前还少有文献对其抗氧化活性进行报道。本文研究通过二苯代苦味酰基自由基 (DPPH·) 法平行测定了益母草和茺蔚子的抗氧化活性, 发现茺蔚子具有较强的抗氧化活性, 其抗氧化活性强于益母草, 为指导益母草和茺蔚子的临床合理用药提供参考。

### 1 材料

**1.1 药物与试剂** 益母草和茺蔚子购自郑州市本草国药馆, 经河南中医学院药学院陈随清教授鉴定分别为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt.

**[收稿日期]** 20130121(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目 (81173474); 郑州市科技攻关计划 (112PPTSF319-4); 河南中医学院博士科研基金 (BSJJ2009-09)

**[第一作者]** 王灿, 硕士, 讲师, 从事中药药理学毒理学研究, E-mail: wangjiucan@163.com

**[通讯作者]** \* 苗明三, E-mail: lhb8899@163.com

的新鲜或干燥地上部分或干燥成熟果实;阳性对照品(维生素 E 胶丸,天然型,青岛双鲸药业有限公司,批号 001008);DPPH·试剂(美国, Sigma 公司);无水乙醇(分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司)。

**1.2 仪器** 乙醇计(20 ℃,容量百分率,河北省河间市玻璃厂);BS210S 型分析天平(北京赛多丽斯天平有限公司);KQ-100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);80-2 型离心沉淀机(巩义市英峪予华仪器厂);SHZ-D 型循环真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);UV1000 紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司);SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

**2 方法**

**2.1 DPPH·溶液的制备** 精密称取 0.04 g DPPH·自由基,用 300 mL 无水乙醇溶解,移至 500 mL 量瓶进行定容,所得 DPPH·溶液的浓度为 20 mol·L<sup>-1</sup>,4 ℃ 避光保存备用。

**2.2 阳性对照品溶液的制备**<sup>[4-5]</sup> 取维生素 E 胶丸 1 粒(100 mg),剪破胶丸壳,加入 5 mL 无水乙醇溶解,所得维生素 E 溶液 20 g·L<sup>-1</sup>,作为阳性对照。

**2.3 益母草的提取与溶液的配制** 益母草 20 g 剪碎成细末,将叶、茎碎粉混合均匀,取 8 g 样品粉末置入 250 mL 锥形瓶中,加入 80 mL 75% 乙醇超声提取 30 min,真空抽滤,弃残渣,续滤液转移至表面皿,90 ℃ 水浴挥去乙醇,计算收率(A),再用 20 mL 75% 乙醇溶解后,4 ℃ 避光保存备用。

**2.4 茺蔚子的提取与溶液的配制** 茺蔚子 20 g 研钵充分研磨成细末,茺蔚子溶液的配制操作同 2.3。

**2.5 供试品溶液抗氧化活性线性范围的确定** 将步骤 2.3 和 2.4 中配制成的益母草、茺蔚子原溶液分别稀释成 1 × 10<sup>-1</sup>, 1 × 10<sup>-2</sup>, 1 × 10<sup>-3</sup>, 1 × 10<sup>-4</sup> 进行抗氧化活性测定,选择清除率在 90% 稍偏上的最低浓度作为最大浓度,按 0.7 倍梯度稀释法稀释 9 个浓度进行测定。

**2.6 加样与检测**<sup>[6-7]</sup> 样品溶液按表 1 加样于离心试管中混匀,避光反应 30 min,3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液在 517 nm 波长处测定吸光度(A)。清除率计算(P)公式:

表 1 加样方法与加样量

吸光值	加样方法与加样量
A <sub>0</sub>	2 mL DPPH·溶液 + 2 mL 溶剂
A <sub>i</sub>	2 mL DPPH·溶液 + 2 mL 供试品溶液
A <sub>j</sub>	2 mL 溶剂 + 2 mL 供试品溶液

注:引入 A<sub>j</sub> 是为了消除供试品溶液的颜色干扰。

$$P = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100\%$$

**3 结果**

**3.1 益母草、茺蔚子 75% 乙醇溶液的收率** 取相同质量的益母草和茺蔚子,分别用 75% 乙醇进行超声提取,收率见表 2。

表 2 益母草、茺蔚子 75% 乙醇溶液的收率

药材	取样量/g	提取物干重/g	收率/%
益母草	8.0	0.838 1	10.48
茺蔚子	8.0	0.761 4	9.69

**3.2 线性考察与线性范围** 益母草溶液、茺蔚子溶液、维生素 E 溶液的线性考察结果显示三者的线性都较好(益母草  $Y = 37.098 \ln(X) + 14.828$ ,  $r = 0.997 8$ ; 茺蔚子  $Y = 37.64 \ln(X) + 43.293$ ,  $r = 0.993 6$ ; 维生素 E  $Y = 49.535 \ln(X) - 36.39$ ,  $r = 0.996 5$ ),三者的线性范围依次分别是 31.11 ~ 87.67, 27.35 ~ 84.66, 25.41 ~ 78.10 g·L<sup>-1</sup>,表明三者的抗氧化活性在一定浓度内具有可比性。

**3.3 抗氧化活性比较** 益母草、茺蔚子和维生素 E 对自由基清除率量-效曲线形状基本相同,药物对自由基清除率与对数剂量之间呈良好的相关性,表明益母草、茺蔚子与维生素 E 的抗氧化作用趋势在一定范围内是相同的。益母草 75% 提取液、茺蔚子 75% 提取液、维生素 E 溶液中半数有效浓度(EC<sub>50</sub>)分别为 2.70, 1.28, 5.92 g·L<sup>-1</sup>,表明抗氧化活性次序是:茺蔚子 75% 提取液 > 益母草 75% 提取液 > 维生素 E 溶液(图 1)。

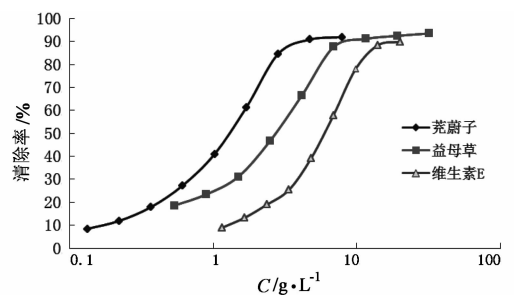


图 1 益母草、茺蔚子和维生素 E 抗氧化活性量-效曲线

**3.4 重复性考察** 新鲜配制的 2.5 g·L<sup>-1</sup> 的益母草溶液在 4 ℃ 放置 0, 2, 4, 6, 8 h 后对 DPPH·自由基清除率分别为 63.52%, 61.43%, 62.30%, 66.81% 和 66.86%, RSD 3.34%; 新鲜配制的 1.9 g·L<sup>-1</sup> 的茺蔚子溶液在 4 ℃ 放置 0, 2, 4, 6, 8 h 后对 DPPH·自由基清除率分别为 61.12%, 62.43%, 66.30%, 58.81%, 59.86%, RSD 2.25%, 重复性考察结果证明本实验重复性较高。

# 虎杖不同配伍对糖尿病肾病大鼠糖、脂代谢及血液流变学指标的影响

王辉<sup>1\*</sup>, 叶同生<sup>1</sup>, 陈素华<sup>1</sup>, 刘永生<sup>2</sup>, 苗明三<sup>1</sup>, 熊维政<sup>3</sup>, 张冰<sup>4</sup>

(1. 河南中医学院药学院, 郑州 450008; 2. 河南中医学院第二附属医院, 郑州 450002;  
3. 河南羚锐制药股份有限公司, 河南 新乡 465550; 4. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 观察虎杖分别与黄芪、益母草配伍对糖尿病肾病模型大鼠糖、脂代谢及血液流变学指标的影响, 初步探讨其对糖尿病肾病早期干预作用机制。方法: 运用链脲佐菌素诱发 SD 大鼠糖尿病肾病(DN)模型。成模大鼠随机分为模型组、开博通组、虎杖-益母草配伍组、虎杖-黄芪配伍组。空白组 10 只, 模型组 15 只, 其余 3 组每组 13 只。虎杖与益母草配伍、虎杖与黄芪配伍合煎液灌服剂量为  $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 开博通组灌服开博通剂量为  $6.25 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 模型组和空白组灌服同体积  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  的生理盐水, 每天给药 1 次, 连续给药 8 周。以血糖、甘油三酯(TG)、胆固醇(Chol)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-L)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血流变学等为观察指标。结果: 虎杖-黄芪组、虎杖-益母草组在用药第 4、8 周能明显降低 DN 模型大鼠血糖水平( $P < 0.05$ ), 明显降低 TG 水平( $P < 0.05$ ), 对模型大鼠全血黏度、血浆黏度有明显减轻作用, 具有显著性差异。其中, 虎杖-益母草组对血浆黏度减轻明显( $P < 0.01$ )。结论: 虎杖分别配伍黄芪、益母草①对糖尿病肾病糖、脂代谢及血流变具有调节作用; ②可能通过降低血糖、甘油三酯等水平, 降低全血与血浆黏度, 改善微循环, 发挥其对糖尿病肾病干预作用。

**[关键词]** 虎杖不同配伍; 糖尿病肾病; 糖、脂代谢; 血液流变学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0181-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013120181

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130412.0940.006.html>

**[网络出版时间]** 2013-04-12 9:40

**[收稿日期]** 20121102(006)

**[基金项目]** 河南省博士后科研启动资金; 河南省科技攻关重点项目(102102310341); 河南中医学院博士基金

**[通讯作者]** \* 王辉, 副教授, 医学博士, 硕士生导师, 从事糖尿病及其并发症研究, Tel: 0371-65962746, E-mail: whui3697@126.com

## 4 讨论

益母草原名茺蔚, 为唇形科植物, 是我国传统中药材, 始载于《神农本草经》“茺蔚子”条, 药用部位为益母草的全草或干燥地上部分, 民间广泛用于妇女调经和产后调理的传统药物, 其干燥成熟果实(茺蔚子)亦是常用中药材, 具有活血调经清肝明目的功效。近代药理研究表明益母草能够改善心血管功能、收缩子宫、抗炎镇痛等作用, 茺蔚子具有收缩子宫、降血压、调节血脂等作用, 因二者出自同一植物, 它们的药理作用亦具有一定相似之处。本文用二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)结合分光光度法对益母草和茺蔚子进行了体外抗氧化活性测定, 结果发现茺蔚子具有较强的体外抗氧化作用, 其抗氧化活性强于益母草, 已有研究表明茺蔚子含有丰富的脂肪油、生物碱、二萜类、甾醇、黄酮类、烯炔类化合物等, 其中脂肪油成分包含大量的亚麻酸、亚油酸、棕榈酸以及其他不饱和脂肪酸<sup>[8]</sup>, 这与其较强的抗氧化活性有很大相关性。该研究结果对于指导

益母草与茺蔚子的临床合理用药有一定的参考价值。

## [参考文献]

- [1] 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, 2010: 272, 225.
- [2] 熊莺, 杨解人. 益母草碱对大鼠急性心肌缺血损伤血管舒缩功能及抗氧化作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7): 34.
- [3] 赵东宝. 怀山药醇提取物抗 DPPH·自由基活性研究(英文)[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(3): 272.
- [4] 吴娜, 沈谦, 蔡光明, 等. 巴马火麻仁木脂素酰胺类提取物的鉴定及清除自由基活性的研究[J]. 化学学报, 2009, 67(7): 700.
- [5] 周海钧. 药品生物检定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 11.
- [6] 代春美, 肖小河, 胡艳军, 等. 微量热法对不同产地黄连品质的评价[J]. 中成药, 2008, 30(8): 1179.
- [7] 李莲珠, 王会弟. 茺蔚子研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(5): 920.

[责任编辑 聂淑琴]