

藿香蓟挥发油抗氧化活性研究

黄宏妙¹, 郭占京^{1,2*}, 潘为高¹, 周丽霞¹, 付丽¹

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西大学化学化工学院, 南宁 530004)

[摘要] 目的: 观察藿香蓟挥发油的体外抗氧化活性。方法: 用 95% 乙醇将藿香蓟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测定不同浓度挥发油的抗氧化能力。结果: 不同浓度的藿香蓟挥发油对 ABTS⁺·、DPPH· 的清除能力及对铁离子还原能力强弱顺序为: 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, 其中对 ABTS⁺· 的清除能力较强, 最高可达 64.63%, 但对 DPPH· 清除能力较弱, 仅为 19.61%。结论: 藿香蓟挥发油具有较强的 ABTS⁺· 清除能力和还原能力, 但清除 DPPH· 能力较弱, 同时其抗氧化能力均与其浓度有关, 可作为天然抗氧化剂及功能性食品的开发资源。

[关键词] 藿香蓟; 挥发油; 抗氧化性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0239-03

[doi] 10.11653/syfy2013100239

Antioxidant Activity of Essential Oils of *Ageratum conyzoides*

HUANG Hong-miao¹, GUO Zhan-jing^{1,2*}, PAN Wei-gao¹, ZHOU Li-xia¹, FU Li¹

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Chemistry and Chemical Engineering College of Guangxi University, Nanning 530004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant activity of essential oils of *Ageratum conyzoides*. **Method:** The essential oils of *A. conyzoides* 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 reducing power of iron ion and the scavenging activities of ABTS⁺· radical and DPPH radical were enhanced while the concentration of oil was increased (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). The ABTS⁺· radical scavenging rate reached to 64.63%, but the maximal DPPH radical scavenging rate just reached to 19.61%. **Conclusion:** The essential oils of *A. conyzoides* 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] *Ageratum conyzoides*; essential oils; antioxidant activity

藿香蓟, 别名胜红蓟, 菊科藿香蓟属一年生草本植物。原产中南美洲, 人工引种至我国, 现广泛分布于长江以南各省区^[1]。藿香蓟具有抗炎杀菌、清热

解毒、止血、镇痛的功效, 为世界各国传统民间药用植物^[2-3], 在我国南方民间用其治疗感冒发烧、咽喉肿痛、痈疽疮疖、外伤出血等症^[4]。现代药理学研究表明, 藿香蓟挥发油在抗炎、抑菌、解热、止痛等方面具有很高的生物活性^[5-6]。但是对于其抗氧化作用未见文献报道。笔者及其课题组成员在前期研究中发现藿香蓟挥发油中主要含单萜和倍半萜类化合物^[7-8], 该类物质为抗氧化中药主要成分之一。为了研究藿香蓟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

[收稿日期] 20130129(012)

[基金项目] 广西中医药民族医药科研课题 (gzcc1206); 广西研究生教育创新计划项目 (105931001020)

[第一作者] 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

[通讯作者] * 郭占京, 讲师, 在读博士, 从事天然药物化学成分与活性研究, E-mail: youjihuahewu@126.com

味酰自由基 (DPPH·) 法、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (ABTS⁺·) 法以及铁氰化钾还原法, 从多方面评价藿香蓟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 藿香蓟全草采自广西南宁市乡村大世界, 经广西中医药大学梁子宁副教授鉴定为 *Ageratum conyzoides* L.。二苯代苦味酰自由基 (DPPH·), 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (ABTS⁺·), (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 挥发油采用水蒸气蒸馏法参照文献[9]的最佳提取工艺进行提取, 具体操作如下: 将藿香蓟叶阴干粉碎后通过 10 目筛, 精确称取 100 g 粉末, 水料质量比为 9:1, 浸泡时间为 1 h, 提取时间为 5 h。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, 得到有特殊香味的黄色油状液体, 得率为 1.21%。

2.2 清除 ABTS⁺· 自由基能力的测定 ABTS 在适当的氧化剂作用下会氧化生成绿色的 ABTS⁺·, 在抗氧化物存在时 ABTS⁺· 的产生会被抑制, 因此在 414 nm 或 734 nm 测定 ABTS⁺· 的吸光度即可测定并计算出样品的 ABTS⁺ 自由基清除能力。对 ABTS⁺ 自由基清除能力的测定参照 Re 等^[10] 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% 乙醇将藿香蓟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 不同质量浓度藿香蓟挥发油药液混合 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^[11] 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 0.0024% DPPH 溶液中, 室温放置 10 min, 在最大吸收波长 517 nm 处测其 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})。最后根据下列公式计算各浓度药液对 DPPH 自由基的清除率。

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

2.4 还原能力测定^[12] 还原能力法的原理为: K₃Fe(CN)₆ + 样品 → K₄Fe(CN)₆ + 样品氧化物, K₄Fe(CN)₆ + Fe³⁺ → Fe₄[Fe(CN)₆]₃。在 700 nm 波长处测定 A, 可以检测出生成的 Fe₄[Fe(CN)₆]₃ (普鲁士蓝) 的量, 从而可计算样品还原能力。方法如下: 取不同质量浓度的藿香蓟挥发油溶液 1.2 mL, 加入 2.5 mL PBS 溶液 (pH 7.5), 2.5 mL K₃Fe(CN)₆ (1%)。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 FeCl₃ (1%), 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。

3 结果

3.1 ABTS⁺ 自由基清除能力 不同浓度的藿香蓟挥发油对 ABTS⁺· 清除率均随着反应时间的增加而增大, 如质量浓度为 0.4 g·L⁻¹ 的药液, 反应时间从 10 min 增到 30 min 时清除率从 12.86% 增大到 51.21%; 质量浓度为 2.0 g·L⁻¹ 的药液在相同的时间内, 清除率从 24.04% 增大到 64.63%, 表现出较好的 ABTS⁺· 清除能力, 而其他浓度药液的反应时间与清除率间也表现出相同的规律; 同时, 在相同的反应时间内, 不同浓度的药液对 ABTS⁺· 的清除率大小的顺序均为: 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, 表明在相同的反应时间内, 随着药液浓度的增大, 对 ABTS⁺· 清除能力也有所增大, 清除率和药液浓度之间表现出一定的量效关系。见图 1。

3.2 DPPH 自由基清除能力 不同浓度的藿香蓟挥发油对 DPPH 自由基均具有一定的清除能力, 清除率随药液浓度的增大而增大。但总体而言, 藿香蓟挥发油对 DPPH· 清除能力较弱, 当质量浓度 < 0.8 g·L⁻¹ 时 SC < 8.26%, 而当质量浓度到达 1.2 g·L⁻¹ 时, SC 迅速升到 17.03%, 之后随着药液浓度的增大, SC 略有增大, 但增大的幅度很小, 当质量浓度为 2.5 g·L⁻¹ 时, SC 仅为 19.61%。见图 2。

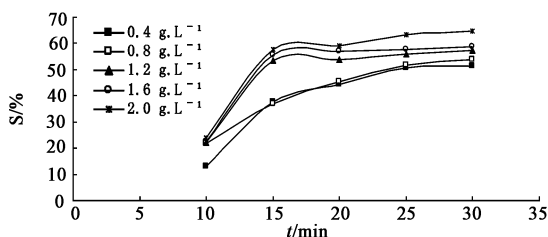
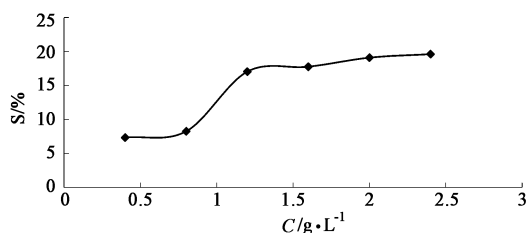
图1 藿香蓍挥发油对 ABTS⁺ 自由基清除能力

图2 藿香蓍挥发油对 DPPH 自由基清除能力

3.3 还原能力 吸光度随藿香蓍挥发油浓度增加而增大,说明还原能力与药液浓度成正比,在最高质量浓度为 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,还原能力最强。见图3。

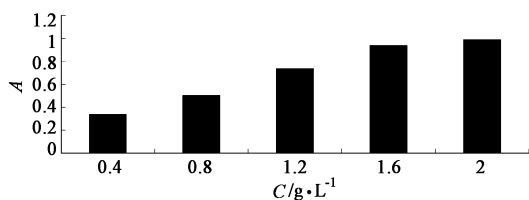


图3 藿香蓍挥发油还原能力

4 讨论

现代医学研究已经证实^[13-14],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系。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 BHT 和 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。

本研究表明藿香蓍挥发油具有很强的 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。藿香蓍在我国广西有大量的野生资源,本身具有较高药用价值,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。本研究为进一步开发利用藿香蓍资源、深入

挖掘藿香蓍在食品、医学领域的应用提供了一定的参考价值。

[参考文献]

- [1] 郝建华,强胜. 外来入侵性杂草——胜红蓍[J]. 杂草科学,2005,4:54.
- [2] Adewole L, Okunade. *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) [J]. Fitoterapia, 2002, 73(1):1.
- [3] Chah K F, Eze C A, Emuelosi C E, et al. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants [J]. J Ethnopharmacol, 2006,104:164.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:6678.
- [5] Abena A A, Ouamba J M, Keita A. Analgesic effects of a raw extract of *Ageratum conyzoides* in the rat [J]. Encephale, 1993, 19(4):329.
- [6] Rao J T. Riechst, Aromen. Biological activities of the ethanol extract of *Ageratum conyzoides* [J]. Koerperpflagem, 1976,26:50.
- [7] 郭占京,黄宏妙,刘雄民,等. 超临界 CO₂ 萃取藿香蓍精油的化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(12):120.
- [8] 郭占京,黄宏妙,卢汝梅,等. 桂产藿香蓍的挥发油化学成分分析 [J]. 广西中医药,2009,32(3):55.
- [9] 郭占京,黄宏妙,刘雄民,等. 藿香蓍挥发油提取工艺的优化 [J]. 湖北农业科学,2012,51(12):2566.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.

[责任编辑 聂淑琴]