

## 酸模叶蓼抗氧化活性

张伟<sup>1,2</sup>, 李昌勤<sup>2</sup>, 刘瑜新<sup>2</sup>, 康文艺<sup>2\*</sup>

(1. 黄河科技学院, 郑州 450063; 2. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004)

**[摘要]** 目的:评价酸模叶蓼体外总抗氧化活性。方法:采用清除二苯代苦味酰基(DPPH)自由基、清除[2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基和铁离子还原/抗氧化能力(FRAP)测定法。结果:将测定结果与6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸(trolox)及阳性对照没食子酸丙酯(PG)、丁基羟基茴香醚(BHA)和2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)进行比较,发现乙酸乙酯和甲醇提取物清除DPPH自由基、清除ABTS自由基及还原Fe<sup>3+</sup>的能力均比BHT强,比PG和BHA弱。结论:酸模叶蓼具有良好的体外抗氧化活性。在3种提取物中,乙酸乙酯提取物抗氧化能力最强,甲醇提取物次之,石油醚提取物几乎没有抗氧化活性。

**[关键词]** 酸模叶蓼;体外抗氧化活性;二苯代苦味酰基自由基;[2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐];铁离子还原/抗氧化能力

[中图分类号] R285.5, R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)16-0228-03

## Antioxidant Activity of Extracts from *Polygonum lapathifolium*

ZHANG Wei<sup>1,2</sup>, LI Chang-qin<sup>2</sup>, LIU Yu-xin<sup>2</sup>, KANG Wen-yi<sup>2\*</sup>

(1. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the total antioxidant activity of extracts from *Polygonum lapathifolium* *in vitro*. **Method:** 1, 1-diphenyl-2-picryl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, [2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid] diammonium salt (ABTS) radical scavenging, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay were used to analyze the antioxidant activity. **Result:** Compared with 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) and positive control propyl gallate (PG), butylated hydroxyanisole (BHA) and 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), the ethyl acetate extract and the methanol extract showed higher scavenging activity against DPPH radical, ABTS radical, and reducing antioxidant power of TPTZ than that of BHT, lower than that of PG and BHA. **Conclusion:** *P. lapathifolium* exhibited the good total antioxidant activity. In three extracts of *P. lapathifolium*, the ethyl acetate extract showed higher total antioxidant activity than that of the methanol extract, and the petroleum ether extract hardly had antioxidant activity.

**[Key words]** *Polygonum lapathifolium*; antioxidant activity; DPPH; FRAP; ABTS

酸模叶蓼(大马蓼)*Polygonum lapathifolium* L.

是蓼科 Polygonaceae 蓼属植物,性温,味辛、苦,果实、茎叶入药,或外敷<sup>[1]</sup>,具有除湿化滞,杀虫解毒、活血之功效,用于治疗疮毒湿疹,痢疾肠炎,瘰疬结核等症<sup>[2]</sup>。国内外对酸模叶蓼化学成分和药理活性的报道较少。李成义发现其主要含有蒽醌类、鞣质及黄酮类化合物<sup>[3]</sup>;李昌勤等报道了其脂肪酸成分<sup>[4]</sup>;Ahmed 等分离到11种以查耳酮为主的成分和2-methyl naphthalene<sup>[5]</sup>;Takasaki M 等从中分离得

[收稿日期] 20110224(007)

[基金项目] 河南省教育厅基础研究计划(2009B360001);河南省科技厅重点攻关项目(102102310019)

[第一作者] 张伟,讲师,从事中药活性成分研究, Tel:0371-66607902, E-mail: zzzwwwqq@126.com

[通讯作者] \*康文艺,教授,从事中药活性成分及新药研究, Tel:0378-3880680, E-mail: kangweny@ hotmail.com

到的 vanicoside B 和 lapathoside A 具有抗癌活性<sup>[6]</sup>;姚丽芳等发现酸模叶蓼具广谱抗菌作用<sup>[7]</sup>;酸模叶蓼的酰化黄酮醇苷具有抗补体活性<sup>[8]</sup>。但国内外均未见对酸模叶蓼抗氧化作用的报道。

本文采用目前应用较为普遍的清除二苯代苦味酰基(DPPH)自由基、清除[2,2-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基和自由基和铁离子还原/抗氧化能力(FRAP)方法,对酸模叶蓼总的体外抗氧化活性进行了考察。

## 1 材料

UV-2000 型紫外-可见分光光度计(上海尤尼可仪器有限公司);旋转蒸发器(东京理化理化);1/万电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);CS-H1 型混合器(北京博励阳科技公司)等。

酸模叶蓼地上部分于2006年7月采集于河南省伏牛山区,经过河南大学中药研究所李昌勤副教授鉴定,为蓼科蓼属植物 *P. lapathifolium* L. 标本存放于河南大学中药研究所。二苯代苦味酰基自由基(DPPH,日本东京化成工业株式会社), $Fe^{3+}$ -三吡啶三啉(TPTZ, acros organics),[2,2-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS, Fluka),6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸(trolox, aldrich),没食子酸丙酯(PG, acros organics),丁基羟基茴香醚(BHA, acros organics),2,6-二叔丁基对甲酚(BHT, acros organics)。

## 2 方法

**2.1 提取** 酸模叶蓼地上部分阴干,粉碎,石油醚浸泡12 h后,于索氏提取器中连续回流提取,提取3次,每次1 h,浓缩,得石油醚提取物(PLPE)。挥干溶剂后,依次用乙酸乙酯、甲醇浸泡12 h,回流提取3次,每次1 h,得乙酸乙酯提取物(PLEE)、甲醇提取物(PLME)。

### 2.2 抗氧化活性筛选方法

**2.2.1 DPPH 方法** 按照文献[9],将样品用甲醇配制成一系列浓度,取0.1 mL样品加入3.5 mL DPPH 甲醇溶液( $0.06 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),混合30 min后测定515 nm处吸光度(A)。每份样品平行操作3次,取平均值,计算出清除率,并计算出半数抑制率( $IC_{50}$ )值。

**2.2.2 ABTS 方法** 按照文献[10],配制ABTS自由基工作液。将样品用甲醇配制成一系列浓度,取0.15 mL样品加入2.85 mL ABTS 自由基工作液,混

合,放置10 min后,在734 nm处测定A。每份样品平行操作3次,取平均值,计算出清除率,并计算出 $IC_{50}$ 。

**2.2.3 FRAP 方法** 按照文献[10],将样品用甲醇配制成一系列浓度,取0.2 mL样品加入3.8 mL新鲜配制的TPTZ工作液,混匀后37℃反应30 min后测定593 nm处A,每份样品平行操作3次。取平均值,计算出清除率,结果以Trolox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)表示。

**2.2.4  $IC_{50}$  的计算**  $IC_{50}$ 指清除率为50%时所需抗氧化剂的浓度,根据不同浓度抗氧化剂的清除率作曲线求出。

## 3 结果与讨论

**3.1 对 DPPH 自由基的清除作用** 表1显示,酸模叶蓼乙酸乙酯提取物 PLEE 清除 DPPH 自由基的能力( $IC_{50} = 3.78 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )约为 PG ( $IC_{50} = 0.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的1/4.25,与 BHA ( $IC_{50} = 3.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的能力相近;甲醇提取物 PLME 清除 DPPH 自由基的能力( $IC_{50} = 5.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )约为 PG 的1/4.72,比 BHA 的能力略弱;PLEE 和 PLME 有很强的清除能力 DPPH 自由基的能力,远远超过 BHT ( $IC_{50} = 18.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的作用,分别约为其4.95倍和3.47倍。石油醚提取物 PLPE 的浓度为  $55.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,它清除 DPPH 自由基的抑制率为6.86%,其 $IC_{50}$ 值未测定。

表1 酸模叶蓼不同溶剂提取物的抗氧化活性 ( $\bar{x} \pm s$ )

样品	DPPH 法	ABTS 法	FRAP 法
	$IC_{50}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$IC_{50}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\mu\text{mol TE/g}$
PLPE	-	-	$95.88 \pm 2.58$
PLEE	3.78	3.40	$2780.75 \pm 24.43$
PLME	5.31	5.39	$1761.39 \pm 0.00$
PG <sup>a</sup>	0.89	0.81	$11554.78 \pm 501.34$
BHA <sup>a</sup>	3.20	1.88	$6633.04 \pm 114.04$
BHT <sup>a</sup>	18.71	7.72	$1581.68 \pm 97.41$

注:a:PG,BHA,BHT为阳性对照品。

酸模叶蓼3种提取物和阳性对照对 DPPH 自由基的清除能力为 PG > BHA > PLEE > PLME > BHT。**3.2 对 ABTS 自由基的清除作用** 图1显示,在实验的浓度范围内,质量浓度在  $1.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,BHT, PLEE, PLME 对 ABTS 自由基的清除率都较低,分别是21.73%,31.63%,21.41%。随其质量浓度的增

加,清除率也增大。当质量浓度增加到  $12.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, BHT, PLEE, PLME 对 ABTS 自由基的清除率分别增大到 67.88%, 99.71%, 92.36%。说明酸模叶蓼提取物清除 ABTS 自由基的能力与其质量浓度呈正量效关系,即随着提取物用量的增加,对 ABTS 自由基的清除率也增大。当质量浓度在  $25.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以上时,清除率变化不大。当 PLEE 质量浓度在  $6.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以下时,清除率几乎是随质量浓度增大而线性增加,当质量浓度在  $12.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以上时,清除率几乎不变,说明抗氧化作用已接近饱和,再增加提取物的用量,清除率变化不大。

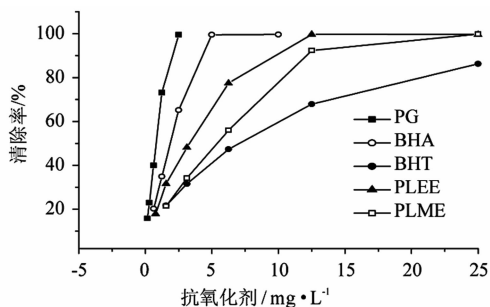


图 1 5 种抗氧化剂对 ABTS 自由基的清除作用

表 1 显示,酸模叶蓼乙酸乙酯提取物 PLEE 和甲醇提取物 PLME 对 ABTS 自由基的清除能力最强 ( $\text{IC}_{50} = 3.40, 5.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),大大超过阳性对照 BHT ( $\text{IC}_{50} = 7.72 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的清除能力,分别约为的 2.27 倍和 1.43 倍;比 PG ( $\text{IC}_{50} = 0.81 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 BHA ( $\text{IC}_{50} = 1.88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的作用略弱,分别为 PG 作用的 1/4.20, 1/6.65, BHA 作用的 1/1.81, 1/2.87。酸模叶蓼的 3 个提取物和阳性对照对 ABTS 自由基的清除能力顺序为  $\text{PG} > \text{BHA} > \text{PLEE} > \text{PLME} > \text{BHT}$ 。

**3.3 FRAP 法** 表 1 显示,3 个提取物中, PLEE 和 PLME 还原  $\text{Fe}^{3+}$  的能力较强 [FRAP = ( $2780.75 \pm 24.43$ )  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$  和 ( $1761.39 \pm 0.00$ )  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ ],比阳性对照 BHT [FRAP = ( $1581.68 \pm 97.41$ )  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ ] 高,比 PG [FRAP = ( $11554.78 \pm$

$501.34$ )  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ ] 和 BHA [FRAP = ( $6633.04 \pm 114.04$ )  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ ] 低。 PLEE 的还原能力比 PLME 大约 28 倍。表明酸模叶蓼 3 个提取物和阳性对照对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力顺序为  $\text{PG} > \text{BHA} > \text{PLEE} > \text{PLME} > \text{BHT} > \text{PLPE}$ 。

**3.4 3 种方法的比较** 3 种方法对酸模叶蓼地上部分总抗氧化能力的研究结果显示,酸模叶蓼 3 个提取物总抗氧化能力的顺序为  $\text{PLEE} > \text{PLME} > \text{PLPE}$ 。其中其乙酸乙酯提取物 PLEE 和甲醇提取物 PLME 的总的抗氧化能力远大于阳性对照 BHT 的能力。

### [参考文献]

- [1] 丁宝章,王遂义,高增义. 河南植物志. 第 1 册[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1997:345.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 第 6 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:669.
- [3] 李成义. 酸模和酸模叶蓼的显微鉴定研究[J]. 中医药学刊,2001,19(6):643.
- [4] 李昌勤,刘瑜新,康文艺. 酸模叶蓼和绵毛酸模叶蓼中脂肪酸的研究[J]. 精细化工,2009,26(3):266.
- [5] Ahmed M, Khaleduzzaman M, Islam M S. Isoflavan-4-ol, dihydrochalcone and chalcone derivatives from *Polygonum lapathifolium* [J]. Phytochemistry, 1990, 29(6):2009.
- [6] Takasaki M, Konoshima T, Kuroki S, et al. Cancer chemopreventive activity of phenylpropanoid esters of sucrose, vanicoside B and lapathoside A, from *Polygonum lapathifolium* [J]. Cancer Letters, 2001, 173:133.
- [7] 姚丽芳,彭承秀,陈国联. 秦岭蓼属药用植物抗菌作用的实验研究[J]. 湖北预防医学杂志, 1998, 9(3):54.
- [8] 夏广萍. 酸模叶蓼中具有抗补体活性的酰化黄酮醇苷[J]. 国外医学:中医中药分册,2000,22(6):364.
- [9] 康文艺,李彩芳,宋艳丽. 蝉翼藤抗氧化酮成分研究. 中国中药杂志,2008,33(16):1982.
- [10] 李彩芳,宋艳丽,刘瑜新,等. 珍珠菜的抗氧化活性[J]. 精细化工,2008,25(12):1191.

[责任编辑 邹晓翠]