

神香草与大苞荆芥体外抗氧化活性研究

阿提坎木·瓦合甫,热娜·卡斯木,米仁沙·牙库甫,丛媛媛,帕丽达·阿不力孜*
(新疆医科大学药学院,乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:研究神香草与大苞荆芥乙醇提取物不同极性部位的体外抗氧化活性。方法:两种药材乙醇提取物依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取。采用 DPPH·自由基法、邻苯三酚自氧化法、铁离子还原法、羟基自由基法等方法,以维生素 C(Vc)为参照,分别研究两种药材不同萃取物的抗氧化活性。并计算各组分的 IC₅₀。结果:神香草和大苞荆芥乙醇提取物的不同萃取部分具有不同程度的清除自由基能力和还原能力,其中用 DPPH 法测得神香草各萃取部分半数抑制率(IC₅₀)分别为:HCA(0.201 7),HCP(0.930 6),HCC(0.918 5),HCE(0.028 2),HCB(0.097 4),HCW(0.255 0)g·L⁻¹;大苞荆芥各萃取部分 IC₅₀ 分别为:HbA(0.147 6),NbP(0.124 9),Nb(0.331 1),NbE(0.047 2),NbB(0.089 4),NbW(0.190 8)g·L⁻¹。结论:神香草与大苞荆芥均具有一定抗氧化活性,为进一步分离抗氧化的成分提供了实验依据。

[关键词] 神香草;大苞荆芥;提取物;抗氧化活性

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)05-0106-04

[doi] 10.11653/syfy2014050106

Antioxidative Activity of *Hyssopus cuspidatus* and *Nepeta bracteata*

ATIKANMU·Wahefu, RENA·Kasimu, MIRENSHA·Yakufu, CONG Yuan-yuan, PALIDA·Abulizi*
(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** Antioxidative activities of different polarity parts in extracts with ethanol from *Hyssopus cuspidatus* and *Nepeta bracteata* were studied *in vitro*. **Method:** *In vitro* chemical simulation conditions, the antioxidant properties of different parts in ethanol extracts of *H. cuspidatus* and *N. bracteata* were evaluated by different antioxidant tests, including 1, 1 diphenyl-2-bitter hydrazo (DPPH·) and (O₂⁻·) free radical scavenging ability, pyrogallol autoxidation and iron ion reduction. **Result:** The different polarity parts in extracts with ethanol from the two medicinal materials all have free radical scavenging and reduction abilities to some extent. **Conclusion:** *H. cuspidatus* and *N. bracteata* have antioxidant activities, which will supply the separating base of antioxidative components from them in further research.

[Key words] *Hyssopus cuspidatus*; *Nepeta bracteata*; polar components; antioxidant activity

神香草为唇形科植物,药用全草,是维吾尔族民间习用草药,维吾尔名为“祖帕”,新疆北部有分布^[1],被广泛用于治疗咳嗽、气喘、支气管炎、外伤和风湿等症。收载于《维吾尔药志》中,具有清除异常黏液质、促进机体自然随和、止咳化痰、平喘利肺

的功效^[2]。现代化学研究表明神香草全草中含有挥发油、黄酮等有效成分^[3-4];现代药理研究表明其所含的挥发油具有抗菌和解痉活性^[5],非挥发性提取物有较强的抗氧化和抗衰老的活性^[6],并可通过抑制白细胞介素-17(IL-17)的分泌,纠正 Th1/Th2 型细胞因子失衡,发挥抗炎作用^[7-8]。

大苞荆芥为唇形科植物,药用全草,主要分布于巴基斯坦、尼泊尔等国家,为新疆维吾尔医院的一种进口药材,具有镇咳平喘、清热利湿的作用,用于支气管炎的咳嗽气喘,感冒发烧,小便不利^[9]。但未见这两种维药抗氧化活性研究的报道。本文采用二苯代苦味酰基苯肼(DPPH)自由基法,羟基自由基

[收稿日期] 20130419(009)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技计划项目(201130105-2)

[第一作者] 阿提坎木·瓦合甫,在读硕士, Tel: 0991-4363345, E-mail: atikanmu701@163.com

[通讯作者] *帕丽达·阿不力孜,博士,教授,从事维吾尔药活性成分研究工作, Tel: 0991-4363345, E-mail: palida3345@163.com

法,超氧自由基法, Fe^{2+} 离子还原力等方法进行抗氧化活性研究,为两种维药抗氧化活性的物质基础提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器 FW-177 型高速万能粉碎机(上海淀外中华机械制造有限公司),AL104 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),T6 新世界紫外可见分光光度计,KQ 5200DE 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司),TDL-5A 型离心机(菲恰尔)。

1.2 试剂 1,1-二苯基苦味酰基胍基(美国 Sigma 公司,批号 S43654-357),三羟甲基氨基甲烷(Tris,美国 Sigma 公司),维生素 C(Vc,天津市永晟精细化工有限公司,批号 20120910),邻苯三酚(天津市永晟精细化工有限公司,批号 20120517),其他试剂均为国产分析纯。

1.3 药材 神香草采集于新疆阿勒泰地区小东沟,大苞荆芥购于新疆维吾尔自治区,经新疆农业大学林学院王兵教授鉴定为唇形科植物神香草 *Hyssopus cuspidatus* Boriss 的全草,唇形科植物大苞荆芥 *Nepeta bracteata* Benth 的全草。

2 方法与结果

2.1 两种药材醇提物不同极性部位提取物制备 称取粉碎过筛后的神香草与大苞荆芥各 500 g,用 95% 乙醇回流提取 3,2,2 h,各 3 次,合并提取液,浓缩至无醇味,浓缩液置于 4 ℃ 冰箱保存,备用。浓缩液在蒸馏水中重悬,分别用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取,分别单独合并各溶剂的萃取液至浓浸膏,在 50 ℃ 下真空干燥,得到神香草醇提物(HCA,92 g)、石油醚部位(HCP,6.8 g)、乙酸乙酯部位(HCC,7.5 g)、二氯甲烷部位(HCE,11.6 g)、正丁醇部位(HCB,5.9 g)、水部位(HCW,13.5 g);大苞荆芥醇提物(NbA,54.4 g)、石油醚部位(NbP,6.4 g)、二氯甲烷部位(NbC,3.6 g)、乙酸乙酯部位(NbE,5.8 g)、正丁醇部位(NbB,6.9 g)、水溶性部位(NbW,9.2 g)。

2.2 神香草与大苞荆芥不同提取部位抗氧化试验

2.2.1 清除 DPPH· 试验^[10] 精密称取一定量的 DPPH,甲醇定容,配成 $0.080\ 0\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。UV 法在 200~800 nm 扫描,得到 DPPH· 溶液的最大吸收波长为 517 nm。将 Vc 配成 $0.5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,各提取物用甲醇配制成系列浓度样品液。①吸取 DPPH· 溶液 2 mL,加入甲醇 2 mL,在 517 nm 处测定吸光度(A_0);②吸取 DPPH· 溶液 2 mL,加入一系列浓度样品溶液 1 mL,再加入甲醇 1 mL,30 ℃ 水浴 30 min,

在 517 nm 处测定 A_i ;③空白对照为甲醇 3 mL 分别加相对应待测样品系列溶液 1 mL,在 517 nm 处测定 A_j ,将 Vc 作为阳性对照,根据下列公式计算各萃取部位对 DPPH· 的清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100\%$$

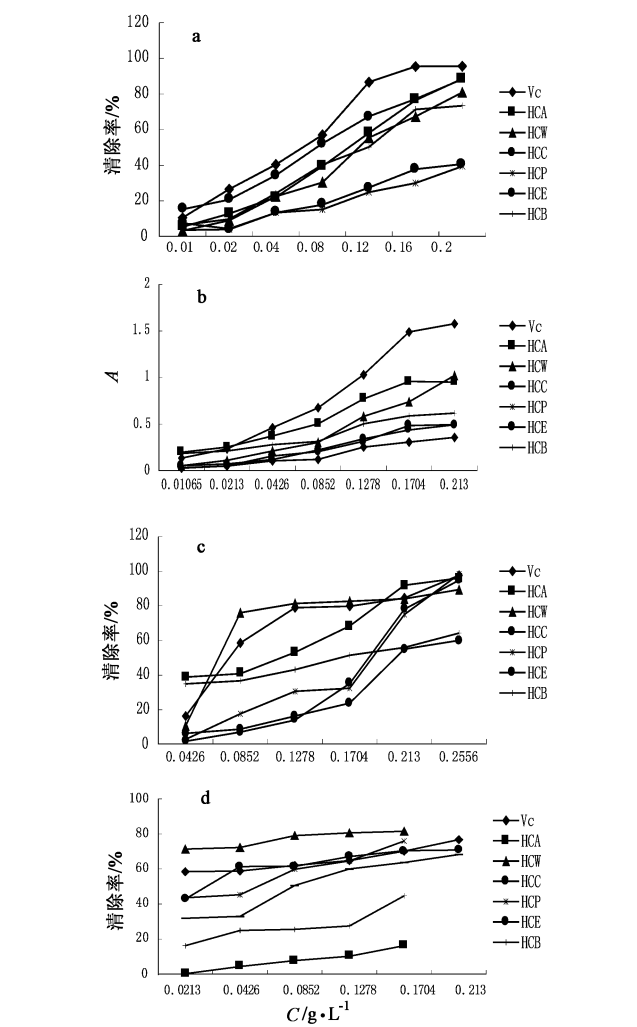
式中, A_0 为 DPPH· 与样品溶剂混合测定的 A ; A_i 为 DPPH· 与样品液混合测定的 A ; A_j 为样品与相应溶剂混合测定 A 。神香草提取物对 DPPH· 清除作用见图 1-a、大苞荆芥提取物对 DPPH· 清除作用见图 2-a。

由图 1-a 可知,神香草各提取部分 IC_{50} 分别为: HCA ($0.201\ 7\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCP ($0.930\ 6\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCC ($0.918\ 5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCE ($0.028\ 2\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCB ($0.097\ 4\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCW ($0.255\ 0\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); 由图 2-a 可知大苞荆芥各萃取部分 IC_{50} 分别为: NbA ($0.147\ 6\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbP ($0.124\ 9\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbC ($0.331\ 1\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbE ($0.047\ 2\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbB ($0.089\ 4\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbW ($0.190\ 8\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2.2 还原铁离子能力测定^[11] 将 Vc 配成 $0.5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,各提取物用甲醇配制成系列浓度样品液。在 20 mL 具塞管中依次加入不同浓度的样品溶液 2.5 mL、磷酸盐缓冲液 ($0.2\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.6) 2.5 mL 和铁氰化钾溶液 (1%) 2.5 mL,混匀后置于 50 ℃ 水浴中 20 min,加入 2.5 mL 三氯乙酸溶液 (10%),混匀,以 $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,加入蒸馏水 2.5 mL 和三氯化铁溶液 0.5 mL,混匀,以试剂空白做参比,在 700 nm 处测定 A 。通过对 A 与浓度的曲线作线性回归,计算 A 为 0.5 时的样品浓度 IC_{50} 。神香草不同提取物还原能力结果见图 1-b,大苞荆芥不同提取物还原能力 2-b。

由图 1-b 可知,神香草各提取部分 IC_{50} 分别为: HCA ($0.180\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCP ($0.516\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCC ($0.687\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCE ($0.011\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCB ($0.115\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCW ($0.255\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); 由图 2-b 可知大苞荆芥提取部分 IC_{50} 分别为: NbA ($0.205\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbP ($0.249\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbC ($0.228\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbE ($0.069\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbB ($0.143\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbW ($0.278\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2.3 对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用^[12] 将 Vc 配成质量浓度为 $0.5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、各提取物用甲醇配制成系列浓度样品液。取 ($0.75\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的邻二氮菲无水乙醇(邻菲啰啉)溶液 1 mL 于具塞试管中,依次加入 2 mL Tris-HCl 缓冲液 ($0.05\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,

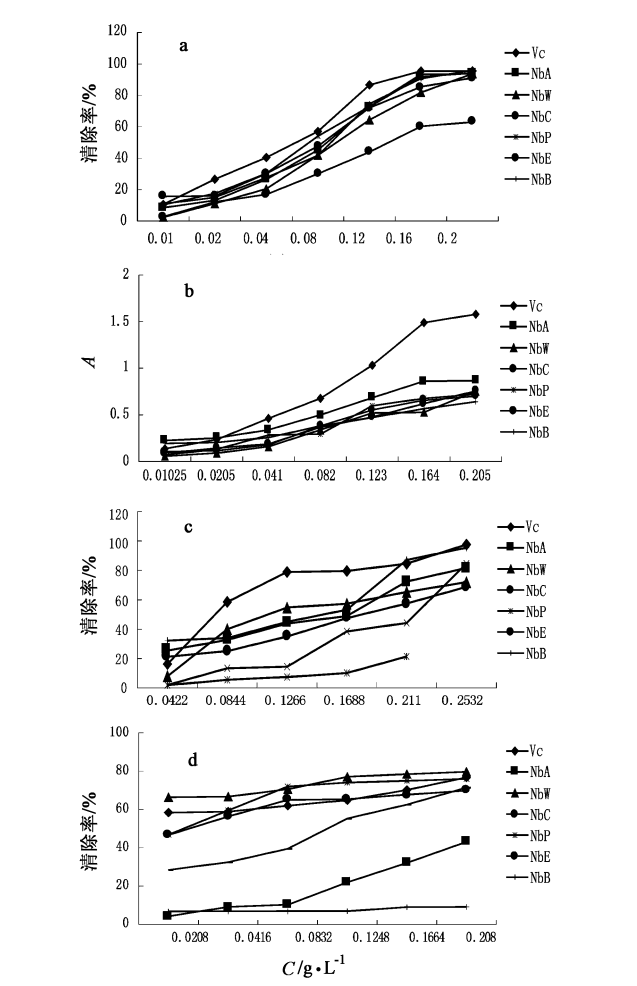


a. 神香草清除 DPPH· 的能力; b. 神香草还原能力;
c. 神香草清除 OH· 自由基能力; d. 神香草超氧阴离子清除能力

图 1 神香草提取物抗氧化试验 ($\bar{x} \pm s$)

pH 7.42) 与蒸馏水 1 mL, 充分混匀后, 加入硫酸亚铁溶液 ($0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 mL, 混匀, 最后加入 1 mL 0.01% 的双氧水 (H_2O_2), 37°C 水浴恒温 60 min, 510 nm 处测 A, 所得的数据为损伤管的 $A_{\text{损}}$; 以 1 mL 样品液代替蒸馏水测得 $A_{\text{样}}$; 以 1 mL 蒸馏水代替 H_2O_2 测得为 $A_{\text{未}}$, 每组重复 3 次。清除率如下式进行计算: $\cdot\text{OH}$ 清除率 = $(A_{\text{样}} - A_{\text{损}} / A_0 - A_{\text{损}}) \times 100\%$, 以清除率与浓度作线性回归, 计算半数抑制率 IC_{50} 。神香草提取物清除 $\cdot\text{OH}$ 能力见图 1-c, 大苞荆芥提取物清除 $\cdot\text{OH}$ 能力见图 2-c。

由图 1-c 可知, 神香草提取物 IC_{50} 分别为: HCA ($0.289 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCP ($0.433 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCC ($0.477 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCE ($0.095 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCB ($0.147 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCW ($0.189 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$); 由图 2-c 可知, 大苞荆芥萃取部分 IC_{50} 分别为: NbA ($0.483 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbP ($1.254 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbC ($0.649 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),



a. 大苞荆芥清除 DPPH· 能力; b. 大苞荆芥还原力;
c. 大苞荆芥 OH· 清除能力; d. 大苞荆芥超氧阴离子清除能力

图 2 大苞荆芥提取物抗氧化试验 ($\bar{x} \pm s$)

L^{-1}), NbE ($0.081 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbB ($0.129 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbW ($0.322 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2.4 对超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 的清除作用 采用邻苯三酚自氧法^[13]。将 Vc 配成质量浓度为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、各提取物用甲醇配制成系列浓度样品液。取 9 mL Tris-HCl 缓冲液 ($0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 8.28) 与 1 mL 样品液混合, 25°C 水浴恒温 15 min。取 3 mL 混合液于具塞试管中, 加入 0.1 mL $45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯三酚, 摇匀, 在第 4 min 加入 1d $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸终止反应, 于 325 nm 处测定样品 A_1 , 同时分别测定不加邻苯三酚的样品液和 Tris-HCl 缓冲液和邻苯三酚混合液的 A_0 , 每组重复 3 次。清除率 = $[1 - (A_1 - A_2 / A_0)] \times 100\%$ 。神香草提取物清除超氧离子能力见图 1-d, 大苞荆芥萃取物清除超氧离子能力见图 2-d。

由图 1-d 可知, 神香草各提取部分 IC_{50} 分别为:

HCA ($0.7101 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCP($0.1025 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCC ($0.1864 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCE ($0.0130 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCB ($0.3720 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), HCW ($0.0328 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$);由图 2-d 可知大苞荆芥提取物 IC_{50} 分别为:NbA($0.8292 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbP($0.0530 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbC($0.2184 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbE($0.0191 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbB($68.621 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NbW ($0.0457 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3 讨论

3.1 本研究通过对课题组正在研究的两种维药神香草与大苞荆芥进行体外清除自由基实验,证明其在体外具有一定的清除自由基能力。神香草与大苞荆芥的醇提物及不同溶剂提取物对 DPPH 自由基均有一定的清除能力,神香草与大苞荆芥乙酸乙酯与正丁醇提取物显示了较强的自由基清除活性,但低于 Vc 的活性,两种维药对 DPPH 自由基清除能力无显著性差异。

3.2 神香草与大苞荆芥的醇提物及不同溶剂提取物均显示出了对邻苯三酚自氧化的抑制作用,石油醚、二氯甲烷提取物活性较低,乙酸乙酯、正丁醇提取物显示了较强的邻苯三酚自氧化的抑制能力,但低于 Vc 的活性。神香草各部分提取物与大苞荆芥各部分提取物对邻苯三酚自氧化的抑制率无明显差异。

3.3 神香草与大苞荆芥粗提物 and 不同提取部分在不同抗氧化体系中均表现出不同程度的抗氧化能力,各提取物清除自由基的能力随着样品浓度的增加,其清除能力不断增强,且浓度与清除能力呈正相关。同一提取物在不同体系中的抗氧化活性有差别,其中神香草与大苞荆芥乙酸乙酯层清除 O_2^- 能力比抗坏血酸强。

[参考文献]

[1] 王仁. 新疆阿尔泰山脉野生植物图谱[M]. 乌鲁木齐:

齐:新疆科学技术出版社,2011:44.

- [2] 刘勇民,沙吾提·依克木. 维吾尔药志(上册)[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1986:290.
- [3] 帕丽达·阿不力孜,丛媛媛,朱焱,等. 神香草化学成分研究[J]. 中国现代应用药学,2011,8(28):736.
- [4] PalidaAbulizi, Yuanyuan Cong, Mirigul Musa, et al. Chemical composition of the essential oil of *Hyssopus cuspidatus* from Xinjiang China[J]. Chem Nat Com, 2009, 45(3):445.
- [5] 尹龙萍,邓毅,姚雷,等. 维药祖发奇尼的抗菌和解痉作用实验研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(2):409.
- [6] 裘惠霞,姚雷. 神香草及提取物的抗衰老作用[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2005,23(1):1.
- [7] 侯敏,朱明,马秀敏,等. 维药神香草对哮喘大鼠血清白介素-17 水平及 Th1/Th2 平衡的影响[J]. 中国现代医学杂志,2010,20(3):365.
- [8] 努尔江·肉孜. 维药神香草防治支气管哮喘的研究进展[J]. 新疆医科大学学报,2012,35(7):888.
- [9] 张萌,马雪萍,马东华,等. 维吾尔药大苞荆芥总多糖对哮喘大鼠细胞因子的影响[J]. 免疫学杂志,2012,28(3):222.
- [10] 海平,苏雅乐其其格. 蒙药小白蒿中总黄酮的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):59.
- [11] 张伟,余燕影,李强. 金边瑞香提取物抗氧化及清除自由基活性研究[J]. 食品工业科技,2009,30(6):86.
- [12] 徐建国,胡青平. 决明子水提物体外清除自由基活性的研究[J]. 食品科学,2006,27(6):73.
- [13] 周清,江浩,高云涛,等. 冬瓜籽水提取物抗氧化作用研究[J]. 微量元素与健康研究,2010,27(5):22.

[责任编辑 邹晓翠]