

牛蒡根总黄酮抗氧化活性研究

曹旭¹, 曹剑锋², 陈靠山^{1,*}

(1. 皖南医学院药理学系, 安徽芜湖 241000;

2. 山东大学生命科学院, 山东济南 250100)

摘要:以牛蒡根为材料, 采用常规方法测定牛蒡根总黄酮的 DPPH 自由基清除能力、羟基自由基清除能力、总抗氧化能力、还原力、金属螯合能力、抗脂质过氧化能力和对 DNA 氧化损失的保护作用, 同时测定了牛蒡根总黄酮的含量。结果表明, 牛蒡根总黄酮的自由基清除能力、总抗氧化能力、金属螯合能力和还原力随浓度的增加而增强, 且呈剂量依赖性相关, DPPH 自由基清除能力的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 15.7 mg/mL; 对大鼠肝脂质过氧化产生的丙二醛 (MDA) 有较好的清除效果, IC_{50} 为 34 μ g/mL; 对 K562 细胞 DNA 氧化损伤具有保护作用。由此说明, 牛蒡根为一种很好的天然抗氧化剂。

关键词:牛蒡根总黄酮, 抗氧化能力, DNA 氧化损伤

Study on antioxidant activity of total flavonoids of burdock root

CAO Xu¹, CAO Jian-feng², CHEN Kao-shan^{1,*}

(1. Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241000, China;

2. School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: With burdock root as materials, determining total flavonoids of burdock root for their potential antioxidant activity. Therefore, the antioxidant activity assays included DPPH free-radical scavenging capacity, hydroxyl radical scavenging activity, total antioxidant capacity, reducing power, Fe^{2+} chelating ability, the inhibitory activity toward lipid peroxidation and protective effect on DNA oxidative damage. Total flavonoid contents were also determined. Total flavonoids of burdock root exhibited strong DPPH free-radical scavenging ($IC_{50} = 15.7$ mg/mL) activity, hydroxyl radical scavenging activity, metal chelating ability, total antioxidant capacity, reducing power and inhibitory activity toward lipid peroxidation (34 μ g/mL). Meanwhile, total flavonoids of burdock root had also a protective effect on K562 cell DNA oxidative damage. Furthermore, these results demonstrated that potential antioxidant activities of burdock root, providing scientific support for the empirical use of burdock root as an antioxidant for diseases caused by reactive oxygen species.

Key words: total flavonoids of burdock root; antioxidant activity; DNA damage

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)19-0138-06

近代医学研究表明由活性氧引发的自由基的产生、体内自身清除系统的活力或药物清除作用的发挥与人类健康有着密切关系, 这些氧自由基可使体内的脂质和蛋白质发生链式氧化反应, 导致细胞膜、组织、酶等受损, 以致于加速衰老和引发如动脉硬化、糖尿病、癌症等疾病, 而抗氧化剂则能缓解体内自由基对机体的损伤状况^[1]。所以谷物、蔬菜和水果的抗氧化性植物化学物质在预防人类疾病和提高食品质量上受到越来越高的重视, 因此探讨食品清除自由基、增强抗氧化的活性, 开发、研制新型天然抗氧化剂, 包括各种天然成分的制备及活性的评价, 已受到国内外学者的广泛关注^[2]。牛蒡 (*Arctium lappa* L.) 又名东洋参、牛鞭菜, 为菊科牛蒡属二年生草本植物, 是我国传统中药和药食同源的植物。牛蒡根系

牛蒡的肉质直根, 在《名医别录》、《药性论》、《本草拾遗》等典籍中记载具有祛风热、消肿痛等作用, 但没有被收入在《中国药典》中^[3]。牛蒡根具有抗衰老^[4]、抗菌^[5]、肝保护作用^[6]、抗糖尿病作用^[7]及对雄性动物性能力促进作用^[8]等多种药理作用。目前, Wang 等^[9]研究发现牛蒡根甲醇提取物在血管壁发挥抗炎作用抑制动脉硬化的发生。Lou 等^[10]也研究了牛蒡叶中的多酚类物质有较强的抗氧化作用。Predes 等^[11]对牛蒡根不同溶剂提取物在自由基清除能力也进行了研究, 但不够系统。本实验将以牛蒡根总黄酮为研究对象, 测定和分析牛蒡根的抗氧化活性, 旨在为开发利用牛蒡提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜牛蒡根 购自本地市场; K562 细胞 (人红白血病细胞) 由山东大学生命科学院提供; SD 大鼠

收稿日期: 2012-03-19 * 通讯联系人

作者简介: 曹旭 (1983-), 女, 在读硕士, 研究方向: 天然药物药理学。

一只 200~250g/只,雄性,由山东大学医学院动物实验中心提供;2,2-二苯基-1-苦味肼基自由基(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical, DPPH) 北京索来宝生物科技有限公司;RPMI1640 培养基 赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司;胎牛血清 浙江天杭生物科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

RE52CS 旋转蒸发器, B-220 恒温水浴锅 上海亚荣生化仪器厂;FD-1A-50 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司;722 型紫外-可见分光光度计 上海精密仪器有限公司;NIKON TE2000 倒置荧光显微镜 日本尼康公司;DYY-60 型电泳仪、水平电泳槽 北京六一仪器厂;AL-104 型精密电子天平 上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司;Neofuge 18R 型台式高速冷冻离心机 上海力申科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 牛蒡根总黄酮的制备 将市售的新近采收的鲜牛蒡根洗净,置烘箱内干燥(60℃),然后研磨成粉末状,备用。称取牛蒡根粉末 100g,量取 1000mL 70% 乙醇,浸泡 72h 后,将上清液抽滤,滤渣用上述方法连续浸提两次,3 次滤液合并,用旋转蒸发器浓缩至 300mL,用冷冻干燥机冻干,所得总黄酮于 -20℃ 储存以备。

1.2.2 牛蒡根中总黄酮含量的测定 该测定方法参照贾之慎等^[12]的方法制作标准曲线。精确配制 0.1mg/mL 对照品芦丁的标准液,分别精密吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 于 6 只具塞试管中,加 30% 乙醇补至 5mL,然后加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3mL,摇匀,放置 6min 后,加 10% 硝酸铝溶液 0.3mL,摇匀,放置 6min 后,再加入 1mol/L NaOH 溶液 4mL,加蒸馏水 0.4mL,摇匀,放置 10~15min 后,在 515nm 波长处测定上述标准溶液吸光度,制作标准曲线。精密称取 0.020g 粗总黄酮溶于 20mL 的甲醇中,按上述方法进行实验,于 515nm 波长处测定吸光度,得出总黄酮含量。

1.2.3 牛蒡根总黄酮对 DPPH 自由基清除能力测定 参照 Akiri^[13]的方法并稍做修改。用甲醇为溶剂配制不同质量浓度的牛蒡根总黄酮,分别取 0.1mL 样液,加入 3.9mL 质量浓度为 25μg/mL 的 DPPH 标准液(现用现配),混匀,在 517nm 波长处测定其在不同时间的吸光度,从而计算出 DPPH 清除率,所有测定平行进行 3 次。清除率(%)计算公式为式(1)。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: A_0 为未加试样的 DPPH 在 517nm 波长处的吸光度; A_1 为试样与 DPPH 反应后在 517nm 波长处的吸光度。

1.2.4 牛蒡根总黄酮对羟基自由基清除能力测定 参照李飞等人^[14]的方法并稍作修改。试管中依次加入 2mL 不同浓度的牛蒡根总黄酮溶液,2mL 6mmol/L 的硫酸亚铁溶液,混匀,再加入 6mmol/L 的过氧化氢溶液 2mL,混匀,静置 10min,再加入 6mmol/L 的水杨酸溶液 2mL,混匀,静置于 37℃,30min 后于 510nm 处测定其吸光值。空白对照组为去离子水,以 V_c 做

阳性对照,临用前用去离子水配制。清除率(%)计算公式为式(2),所有测定平行进行 3 次。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_2 - A_1) / A_0] \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: A_0 为以去离子水替代水杨酸时样品溶液的吸光值; A_1 为空白吸光值; A_2 为样品的吸光值。

1.2.5 牛蒡根总黄酮对金属螯合力的测定 Fe^{2+} 螯合能力的测定方法参考 Hsu^[15]的方法并稍作改动。试管中加入不同浓度的牛蒡根总黄酮溶液 1mL,再加入 3.7mL 蒸馏水,0.1mL 2mmol/L 的氯化亚铁溶液,混合均匀,最后加入 0.2mL 5mmol/L 的非洛嗪(ferrozine)启动反应,反应体系在室温放置 10min 后,在 562nm 处测定吸光值,所有测定平行进行 3 次,同时以 EDTA 做对比。用式(3)计算对金属螯合能力(%)。

$$\text{金属螯合能力}(\%) = (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{标准}}) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为用蒸馏水代替样品液时溶液的吸光值; $A_{\text{标准}}$ 为用蒸馏水代替 FeCl_2 溶液时溶液的吸光值; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光值。

1.2.6 总抗氧化能力的测定 参照 Prieto 等^[16]的方法。试管中加入 0.4mL 不同质量浓度的牛蒡根总黄酮(以无水乙醇为溶剂)和 4mL 试剂液(0.6mol/L 硫酸,28mmol/L 磷酸钠和 4mmol/L 钼酸铵),混匀后置于 95℃ 水浴中恒温 90min,在 695nm 波长下测其吸光度 A 。空白液用 0.4mL 无水乙醇溶剂代替样品液,以 V_c 为对照。所有测定平行进行 3 次。 A 越大,则样品的还原力越强。

1.2.7 牛蒡根总黄酮总还原能力测定 参照 Oyaizu 等^[17]的方法,取 0.5mL 甲醇配制的不同质量浓度的牛蒡根总黄酮,再加入 2.5mL 磷酸缓冲液(0.2mol/L, pH6.6)和 2.5mL 1% 铁氰化钾。此混合物在 50℃ 放置 20min 后,加入 2.5mL 10% 三氯乙酸,然后 5000r/min 离心 10min。吸取 2.5mL 上清液,加入 2.5mL 蒸馏水和 0.5mL 0.1% 三氯化铁,混匀后在 700nm 波长下测定吸光度 A 。用甲醇作空白对照,所有测定平行进行 3 次,以维生素 C 为对照。吸光度越高说明样品的还原力越强。

1.2.8 牛蒡根总黄酮抗脂质过氧化作用

1.2.8.1 大鼠肝微粒体悬液的制备 参照 Okatani^[18]的方法并做了一些修改。取 SD 大鼠(200~250g)一只,用乙醚处死后迅速取出肝脏,用冰生理盐水清洗后称重,在冰浴中以含蔗糖 0.01mol/L 的 Tris-HCl (0.15mol/L, pH7.4) 缓冲液制成肝匀浆,匀浆液于 10000 × g, 4℃ 离心 10min,吸去上清,再于 10000 × g, 4℃ 离心 20min,沉淀即为大鼠肝脏微粒体。用磷酸钾缓冲液将微粒体重悬起即进行测试,或于 -20℃ 保存。微粒体蛋白浓度用 Lowry 法测定。

1.2.8.2 肝微粒体脂质过氧化抑制作用 参照 Seifollah^[1]的方法并做了一些修改。取 0.5mL 鼠肝微粒体(蛋白终浓度为 0.3~0.5g/L)于 0.9mL pH7.5 的磷酸钾缓冲液中,37℃ 振荡孵育,加入 0.5mL 0.1mmol/L 的 Fe^{2+}/V_c 启动反应。受试组分别加入 0.1mL 不同质量浓度的牛蒡根总黄酮,1h 后,加入

1mL 10% 三氯醋酸终止反应,并加入 1.5mL 0.67% 的硫代巴比妥酸于沸水浴中反应 30min,放置室温,4800 × g 离心 30min,取上清于 532nm 处比色测定。空白组不加启动剂,以不加待测试剂组为阳性对照。测定各浓度待测试剂组的吸收值,所有实验平行进行 3 次。用式(4)计算其抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为不加启动剂的吸光值; $A_{\text{对照}}$ 为以不加待测试剂组为阳性对照的吸光值; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光值。

1.2.9 测定牛蒡根总黄酮对 H_2O_2 诱导的 K562 细胞氧化损伤的保护作用

1.2.9.1 MTT 法测定细胞存活率 将 K562 细胞以 2×10^5 cells/每孔接种于 24 孔板,在 37°C , 5% CO_2 条件下培养 24h 后,用 0、100、200、300、400、500、1000、2000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理 4h 后,用 MTT 法在 570nm 波长处测定吸光值,用式(5)计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率}(\%) = A_{\text{样品}} / A_{\text{对照}} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

式中: $A_{\text{对照}}$ 为未加 H_2O_2 处理的吸光值; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光值。

1.2.9.2 细胞处理方法 参照 Hrudá^[19] 的方法并稍做修改。将 K562 细胞以 2×10^5 cells/每孔接种于 24 孔板在 37°C 、5% CO_2 的培养箱中培养 24h 后,用牛蒡根总黄酮质量浓度为 100、200、400 $\mu\text{g/mL}$ 处理 24h 后再加 100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理 4h,弃上清液,用冰冷的 PBS 洗两次,细胞悬液用于单细胞 DNA 凝胶电泳测定药物对 H_2O_2 诱导的细胞 DNA 氧化损伤的保护作用。所有实验平行进行 3 次。每张载玻片中随机计数 50 个细胞,用式(6)计算彗星细胞率。

$$\text{彗星细胞率}(\%) = \text{细胞损伤个数} / \text{细胞总数} \times 100 \quad \text{式(6)}$$

2 结果与分析

2.1 总黄酮的含量

测得牛蒡根中总黄酮的含量为 19.78mg 芦丁/g。黄酮含量用每克粗提物中相当于芦丁的量的毫克(mg)数表示。

2.2 DPPH 自由基清除能力

常见的自由基有 $\text{DPPH} \cdot$ 、 $\text{O}_2^- \cdot$ 和 $\cdot\text{OH}$,其中 $\text{DPPH} \cdot$ 是一种稳定的以氮为中心的有机自由基,当 DPPH 溶液中加入自由基清除剂时,孤对电子被配对,使 DPPH 自由基数量减少,溶液颜色由紫色到浅紫到黄色的转变,吸收减弱或消失^[20]。通过检测生物试剂对 $\text{DPPH} \cdot$ 的清除能力可以表示其抗氧化性的强弱,该方法简便迅速,稳定性强,所以经常被用来筛选天然抗氧化剂。

测得标准曲线见图 1 所示,其线性回归方程为: $y = 0.0535x - 0.0142$, $R^2 = 0.9997$ 。

本实验研究不以单一时间来衡量样品清除 $\text{DPPH} \cdot$ 的能力,设定反应总时间为 60min。由图 2 可知,在反应开始 5min 时,不同质量浓度的牛蒡根总黄酮的清除率即有了明显的变化,最小质量浓度为 0.5mg/mL 时清除率为 2.98%,最大质量浓度为

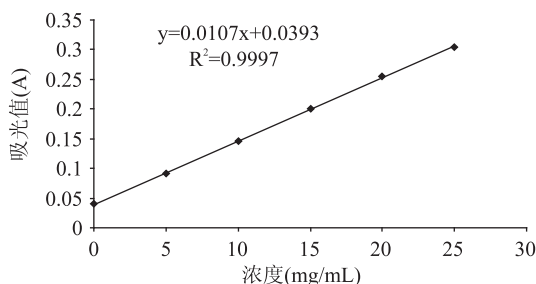


图1 标准曲线

Fig.1 The standard curve

20mg/mL 时清除率为 43.26%,并随着时间的推移,其清除作用逐步增大;当反应时间为 60min 时其清除作用最强,质量浓度最大为 20mg/mL 时清除率可达 81.55%,并在质量浓度为 1~20mg/mL 呈现剂量依赖性变化。其半数清除浓度 (IC_{50}) 为 15.7mg/mL。

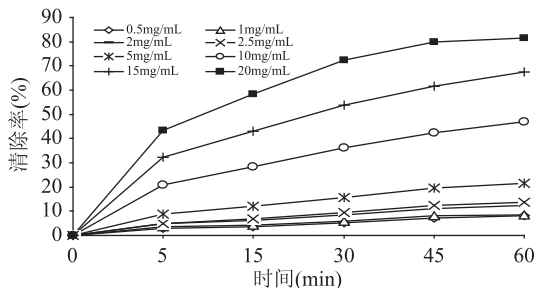


图2 不同质量浓度牛蒡根总黄酮对 $\text{DPPH} \cdot$ 在不同时间的清除率

Fig.2 Scavenging rate of different concentration burdock root total flavonoids to $\text{DPPH} \cdot$ in different time

2.3 羟基自由基清除能力测定结果

羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 清除率是反映药物抗氧化作用的重要指标^[21]。本实验利用 H_2O_2 和 Fe^{2+} 混合发生 Fenton 反应,生成具有高反应活性的 $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{OH}$ 能被水杨酸有效地捕捉,并生成有色物质;但若加入具有清除自由基作用的物质,便会与水杨酸竞争,从而使有色产物生成量减少,以反映对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力。 V_c 表现出很强的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力,在浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$ 时其清除率就可达到 45.37%。但牛蒡根总黄酮在浓度为 0.05~1.6mg/mL 范围内也有一定的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力,如图 3 所示,在浓度为 1.6mg/mL 时,其清除率为 39.89%,且呈剂量相关。

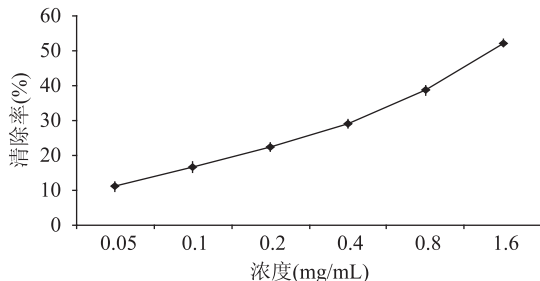


图3 牛蒡根总黄酮对羟基自由基的清除作用

Fig.3 Scavenging rate of different concentration of burdock root total flavonoids to hydroxyl radical

2.4 Fe^{2+} 螯合能力测定结果

对金属螯合能力大小的测定是评价抗氧化剂抗氧化性能常用的方法,螯合能力愈大,被评价的抗氧化剂潜在的抗氧化性就愈强。EDTA 表现出较强螯合活性,在浓度为 0.04mg/mL 时,其螯合能力就可达到 14.17% 。但牛蒡根总黄酮在所测浓度在 $0.5 \sim 20\text{mg/mL}$ 范围内也有一定的螯合作用,如图 4 所示,在浓度为 20mg/mL 时,其螯合率为 11.23% ,且呈量效关系。

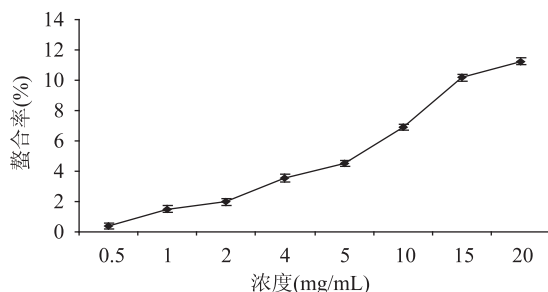


图 4 不同质量浓度牛蒡根总黄酮对 Fe^{2+} 螯合能力的影响

Fig.4 Different concentration of burdock root total flavonoids on chelating metal ability

2.5 总抗氧化能力测定结果

采用钼蓝法来评价样品的抗氧化能力的大小。钼蓝法主要是利用钼在硫酸和磷酸钠的存在下由六价还原成五价复合物,显蓝色,并在 695nm 处有最大吸收峰。当有样品存在时,钼和样品竞争被还原,可以通过钼蓝在 695nm 处的吸收值来测定钼蓝的生成量,以此可以反映样品抗氧化力的大小。测定了牛蒡根总黄酮在浓度为 $50 \sim 400\mu\text{g/mL}$ 范围内的总抗氧化力,以 V_C 为阳性对照。由图 5 可知,在低浓度范围内牛蒡根总黄酮和 V_C 的总抗氧化能力相近,但在较高浓度时 V_C 的总抗氧化能力显著高于牛蒡根总黄酮,随着质量浓度的增加其总抗氧化能力也逐渐增加,呈剂量依赖性关系。

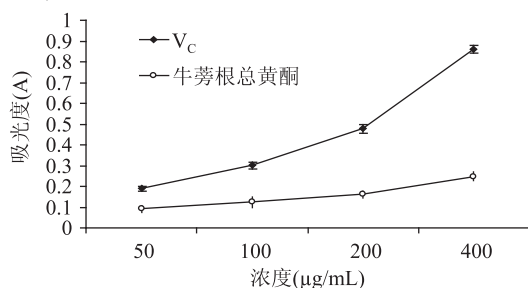


图 5 牛蒡根总黄酮和 V_C 的总抗氧化能力测定

Fig.5 The total antioxidant activity activity of burdock root total flavonoids and V_C

2.6 牛蒡根总黄酮还原能力测定结果

总还原能力的测定原理是将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,亚铁氰化钾再与 Fe^{3+} 作用,生成普鲁士蓝,在 700nm 波长处测定吸光值^[22]。测定牛蒡根醇提物在浓度为 $50 \sim 400\mu\text{g/mL}$ 范围内的还原能力,同时以 V_C 为阳性对照,如图 6 所示,吸光值越高还原能力越强,且呈

剂量依赖性相关。但与 V_C 相比较,其还原能力弱于 V_C 。实验结果表明牛蒡根总黄酮为良好的电子供体,可以与自由基反应,形成较稳定的物质,从而能中断自氧化链式反应。

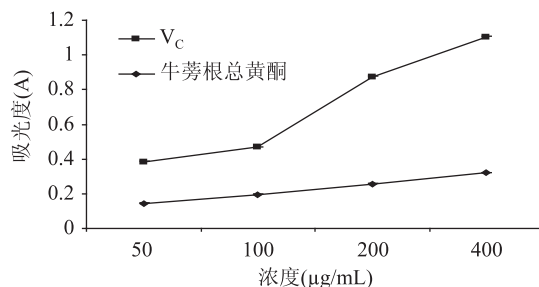


图 6 测定不同质量浓度牛蒡根总黄酮和 V_C 的还原能力

Fig.6 Reducing power of burdock root total flavonoids and V_C

2.7 牛蒡根总黄酮对 $\text{Fe}^{2+}/\text{V}_\text{C}$ 体系诱导大鼠肝微粒体脂质过氧化的影响

脂质过氧化是氧自由基损伤组织的重要方式,降低脂质过氧化物的生成或加速过氧化物的清除,以防止过氧化脂质对组织细胞的损伤作用,有利于延缓衰老进程和某些疾患的防治。MDA 是机体氧化系统和抗氧化系统失去平衡时产生的一种脂质过氧化物,是反映脂质过氧化损伤的常用指标,可与磷脂、蛋白质、核酸等形成稳定的不溶性代谢终产物,含量异常增高会引起细胞损伤,导致细胞功能失调甚至破裂、死亡或凋亡,其含量的高低可反映脂质过氧化的程度^[23-24]。实验结果见图 7 所示,在所测浓度为 $12.5 \sim 100\mu\text{g/mL}$ 范围内,牛蒡根总黄酮表现出较强的抑制脂质过氧化的能力,其抑制率为 $28.29\% \sim 60\%$,且呈剂量依赖性关系, IC_{50} 为 $34.0\mu\text{g/mL}$ 。

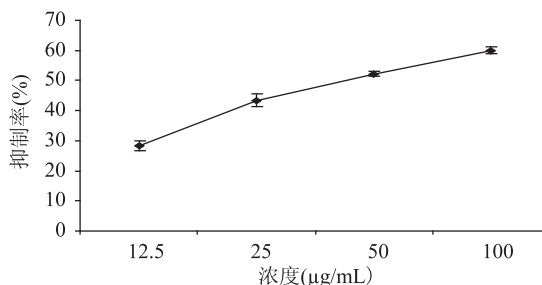


图 7 牛蒡根总黄酮对 $\text{Fe}^{2+}/\text{V}_\text{C}$ 体系

诱导大鼠肝微粒体脂质过氧化的抑制作用

Fig.7 Inhibition effects of burdock root total flavonoids on rat liver microsomal lipid peroxidation induced by $\text{Fe}^{2+}/\text{V}_\text{C}$

2.8 彗星电泳结果测定牛蒡根总黄酮对 H_2O_2 诱导的 K562 细胞氧化损伤的保护作用

MTT 法测定 H_2O_2 对 K562 细胞的存活率影响,由图 8 可知 H_2O_2 对 K562 的氧化损伤具有浓度依赖性,超过 $300\mu\text{mol/L}$ 后随 H_2O_2 浓度增加细胞死亡明显加剧。 H_2O_2 浓度为 $100\mu\text{mol/L}$ 时,细胞存活率大于 95% ,所以选择 H_2O_2 浓度为 $100\mu\text{mol/L}$ 处理细胞。不同浓度牛蒡根醇提物预处理细胞 24h 后加入 H_2O_2 ($100\mu\text{mol/L}$) 4h 后,彗星电泳检测牛蒡根醇提

物对 K562 细胞 DNA 氧化损伤的保护作用,结果如图 9 所示。 H_2O_2 (100 μ mol/L) 损失组对细胞 DNA 的氧化损失率为 97.33%,用牛蒡根醇提物低、中、高浓度预处理后,其氧化损失率均有所下降,在高浓度为 400 μ g/mL 时,其氧化损伤率可降为 43.67%,与 H_2O_2 损失组比较,具有显著差异。说明其对 H_2O_2 诱导的 K562 细胞氧化损伤有保护作用。

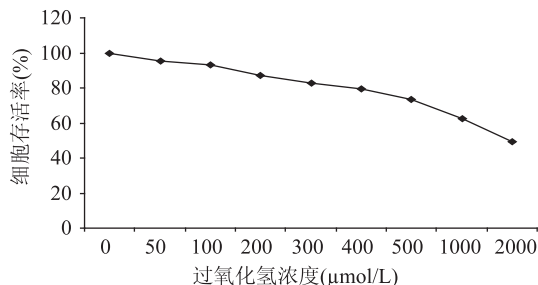


图 8 不同浓度 H_2O_2

对 K562 细胞作用 4h 的细胞存活曲线

Fig.8 The cell survival curve

of different concentrations of H_2O_2 on K562 cells for 4h

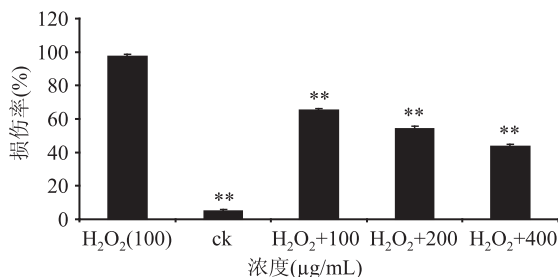


图 9 牛蒡根总黄酮对 H_2O_2 诱导的

K562 细胞氧化损伤的保护作用

Fig.9 Protective effect of total flavonoids

of burdock root on H_2O_2 -induced

oxidative damage in K562 cells

3 结论

天然黄酮类是当前国内外研究最多的成分之一,是一种能够抑制食品氧化、抑制食品有害菌的良好资源。但是有关牛蒡根总黄酮活性的研究较少。本实验测定了牛蒡根总黄酮的体外抗氧化活性。结果表明,牛蒡根总黄酮有较强的体外抗氧化作用,能够有效清除 DPPH 自由基,对脂质过氧化有明显的抑制作用,有较强的还原力且呈现较好的剂量依赖效应,对 K562 细胞氧化损伤也有较好的保护作用。表明牛蒡根是一种很好的天然抗氧化剂,具有很好的抗氧化作用,该结果为进一步开发牛蒡根提供科学依据。

参考文献

- [1] Seifollah Bahramikia, Razieh Yazdanparast. Antioxidant efficacy of Nasturtium officinale extracts using various in vitro assay systems [J]. J Acupunct Meridian Study, 2010, 3 (4): 283-290.
- [2] 庞战军,周玫,陈瑗.自由基医学研究方法[M].北京:人民卫生出版社,2000.

- [3] 黄珊珊,丁玉.牛蒡抗氧化成分提取工艺的优化及性能测定[J].安徽农业科学,2011,39(9):5383-5386.
- [4] 马利华,宋慧,秦杰.牛蒡提取物体外抗氧化性的研究[J].食品与机械,2007,23(1):69-72.
- [5] 陈世雄,陈靠山.牛蒡根化学成分及活性研究进展[J].食品与药品,2010,12(7):281-284.
- [6] Lin S C, Lin C H, HN C C, et al. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* Linne on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride [J]. J Biomed Sci, 2002, 9:401-409.
- [7] Cao Jian-feng, Li Chaopin, Zhang Pengying, et al. Antidiabetic effect of burdock (*Arctium lappa* L.) root ethanolic extract on streptozotocin-induced diabetic rats [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 37(11):9079-9085.
- [8] Cao Jian-feng, Zhang Pengying, Xu ChengWei, et al. Effect of aqueous extract of *Arctium lappa* L. (burdock) roots on the sexual behavior of male rats [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012, 12:1-19.
- [9] Wang BS, Yen GC, Chang LW, et al. Protective effects of burdock (*Arctium lappa* Linne) on oxidation of low-density lipoprotein and oxidative stress in RAW 264.7 macrophages [J]. Food Chemistry, 2006, 101:729-738.
- [10] Lou ZX, Wang HX, Li J, et al. Antioxidant activity and chemical composition of the fractions from burdock leaves [J]. Journal of Food Science, 2010, 75(5):413-419.
- [11] Fabricia S Predes, Ana LTG Ruiz, João E Carvalho, et al. Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts [J]. Complementary and Alternative Medicine, 2011, 11:1-5.
- [12] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals [J]. Food Chem, 1999, 64:555-557.
- [13] Akiri SR, Sareddy GR, Phanithi PB, et al. The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Njavara rice bran [J]. Complementary and Alternative Medicine, 2010, 10(4):1-9.
- [14] 李飞,袁其朋.山楂花粉多糖体外抗氧化活性研究[J].食品科技,2009,34(6):158-162.
- [15] Hsu B, Coupar IM, Ng K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, Hyphaene thebaica [J]. Food Chem, 2004, 98:317-328.
- [16] Prieto P, Pineda M, Aguilar MM. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E [J]. Anal Biochem, 1999, 269:337-341.
- [17] Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine [J]. Japan J Nutr, 1986, 44:307-315.
- [18] Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, et al. Protective effect of melatonin against mitochondrial injury by ischemia and reperfusion of rat liver [J]. European Journal of Pharmacology, 2003, 469(1/2/3):145-152.

(下转第 146 页)

著($p > 0.05$)。研究表明鼠尾草提取物中的鼠尾草酸、鼠尾草酚和迷迭香酸在此反应体系起重要作用^[17]。可能是由于鼠尾草 50% 丙酮提取物中的多酚含量高于 70% 乙醇提取物,而导致前者的总抗氧化能力高于后者。

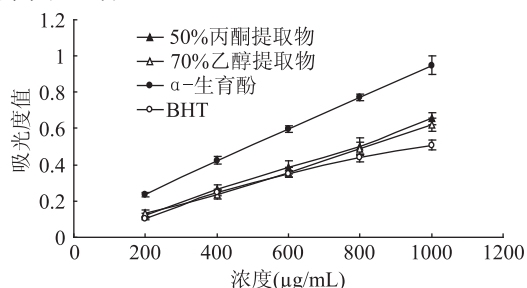


图5 各抗氧化剂总抗氧化能力

Fig.5 Total antioxidant activities of various antioxidants

3 结论

鼠尾草 50% 丙酮提取物和 70% 乙醇提取物中的多酚含量分别为 14.0% 和 12.5%, 表明 50% 丙酮相对于 70% 乙醇具有更高的提取效率。鼠尾草提取物具有良好的自由基清除能力、螯合 Fe^{2+} 能力、还原能力和总抗氧化能力。鼠尾草 50% 丙酮提取物的抗氧化活性总体上比 70% 乙醇提取物高(还原力除外), 这与它们的多酚含量趋势一致。因此, 可进一步加深鼠尾草提取物作为天然抗氧化剂在食品和药品行业中的应用。

参考文献

- [1] Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, et al. The characterization of antioxidants [J]. Food Chemistry Toxic, 1995, 33 (7): 601-617.
- [2] 肖雷, 姚菁华, 朱红菊, 等. 茶多酚防腐机理及其在肉制品加工中的应用[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(6): 160-162.
- [3] Su L, Yin J-J, Charles D, et al. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf[J]. Food Chemistry, 2007, 100(3): 990-997.
- [4] 翁新楚, 任国谱, 段杉, 等. 天然抗氧化剂的筛选[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(4): 46-48.
- [5] 张慧芸, 孔保华, 孙旭. 香辛料提取物抗氧化活性及其作用模式的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 111-115.
- [6] 倪梁红, 赵志礼. 华东地区鼠尾草属药用植物资源[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2653-2655.
- [7] 曲慧. 甘西鼠尾草提取物抗氧化活性的初步研究[J]. 青岛

农业大学学报: 自然科学版, 2007, 24(4): 261-263.

- [8] Durling N E, Catchpole O J, Grey J B, et al. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1417-1424.
- [9] Yesilyurt V, Halfon B, ZtuRk M O. Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella* [J]. Food Chemistry, 2008, 108: 31-39.
- [10] Liu X, Zhao M, Wang J, et al. Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(3): 219-228.
- [11] 刘芸, 仇农学, 杨玺玉. 葡萄皮渣提取物总酚含量及体外抗氧化活性、抑菌活性[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 5-9.
- [12] Mielnik M B, Sem S, Egelanddsal B, et al. By-products from herbs essential oil production as ingredient in marinade for turkey thighs[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(1): 93-100.
- [13] Senevirathne M, Kim S-H, Siriwardhana N, et al. Antioxidant potential of Ecklonia cava on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition [J]. Food Science Technology International, 2006, 12: 27-38.
- [14] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E[J]. Analytical Biochemistry, 1999, 269(2): 337-341.
- [15] 房祥军, 郜海燕, 陈杭君. 山核桃加工、贮藏前后总多酚含量及其抗氧化活性的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 104-107.
- [16] Lu Y, Foo L Y. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*) [J]. Food Chemistry, 2001, 75: 197-202.
- [17] Grzegorzcyk I, Matkowski A, Wysokinska H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L [J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 536-541.
- [18] Dorman H J D, Peltoketo A, Hiltunen R, et al. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs [J]. Food Chemistry, 2003, 83(2): 255-262.
- [19] Yu L, Perret J, Davy B, et al. Antioxidant properties of cereal products[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(7): 2600-2603.
- [20] 陈全斌, 苏小建, 沈钟苏. 罗汉果叶黄酮抗氧化能力研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(10): 189-191.

(上接第 142 页)

- [19] Jan Hrudá, Vladimír Sramek, Xavier Leverve. High glucose increases susceptibility to oxidative-stress-induced apoptosis and DNA damage in K-562 cells [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2010, 154(4): 315-320.
- [20] 叶红, 周春宏, 高蓓蕾, 等. 羊栖菜乙醇提取物的抗氧化活性[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(22): 4695-4697.
- [21] 方光荣, 刘洁, 刘丽虹, 等. 分光光度法测定中药对羟自由基的清除率[J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2004, 26(2): 151-154.

- [22] 王研, 温新宝, 秦翠萍, 等. 丹参提取物体外抗氧化活性研究[J]. 西北农业学报, 2011, 20(11): 160-163.
- [23] Palanisamy A, Sorinutllu PS. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on an antioxidant defense system and ultrastructural changes of pancreatic cells in experimental diabetes in rats [J]. Chenico Biological Interactions, 2007, 165(2): 155-164.
- [24] 郭英, 蔡秀成, 陈秋丽, 等. 葡萄籽提取物的体外抗脂质过氧化作用[J]. 卫生研究, 2002, 31(1): 28-30.