

## 茵陈水提液的体外抗氧化活性

史国安 郭香凤 吴庭才 薛邦群

(洛阳农业高等专科学校, 洛阳 471003)

**摘要** 在 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^-$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的产生和检测系统以及兔脑和肝组织匀浆中,加入一定量的茵陈(*Artemisia capillaris* Thunb.)水提液,观察其与活性氧引发反应的竞争效应。结果表明,茵陈水提液能显著降低 $\cdot\text{OH}$ 作用下的水杨酸羟基化作用及 $\text{O}_2^-$ 介导的氮兰四唑(NBT)光化学还原,而对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 驱动的过氧化物-钛复合物的形成没有影响;显著抑制兔脑和肝组织匀浆的脂质过氧化作用。提示茵陈水提液具有显著的抗氧化活性。

**关键词** 茵陈;水提液;活性氧;抗氧化作用

**Antioxidation of water extract from *Artemisia capillaris* Thunb. in vitro** Shi Guoan, Guo Xiangfeng, Wu Tingcai, Xue Bangqun (Luoyang Agricultural College, Luoyang 471003), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(4): 7~10

The effects of active oxygen ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^-$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) in human body have been well known in damaging the membrane causing disease. Adding water extract of *Artemisia capillaris* Thunb. to the generating and detecting systems of hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ), superoxide radical ( $\text{O}_2^-$ ) and hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) for the observation on its competitive abilities to active reactions. The results indicated that the water extract from *Artemisia capillaris* could reduce  $\cdot\text{OH}$  initiated hydroxylation of salicylate and inhibit  $\text{O}_2^-$  mediated light chemical reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) effectively, but it might not reduce  $\text{H}_2\text{O}_2$  in driving the formation of peroxide-titanium complex. It has significant inhibition to lipid peroxidation of brain and liver homogenates of rabbit. The results indicated that the water extract of *Artemisia capillaris* is an effective scavenger of  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^-$ , and has obviously activity of antioxidation.

**Key words** *Artemisia capillaris* Thunb.; water extract; active oxygen; antioxidation

茵陈为菊科植物茵陈蒿(*Artemisia capillaris* Thunb.)的幼苗,广泛分布于黄河、长江流域诸省。《神农本草经》列为上品,具有清湿热、退黄疸的功效。现代药理学研究证明,茵陈及其成分具有利胆、保肝、降血脂、降血压、抗微生物、杀虫、解热等作用<sup>[1]</sup>。民间有采集茵陈作野菜食用和泡茶饮用的传统。随着人们对食物营养成分与抗癌、抗衰老机理关系研究的深入发展,食物自身的抗活性氧能力已成为食物营养及食疗价值的重要指标之一。自由基是一种引起机体氧化的重要物质,直接或间接引起脂质过氧化而对生物膜造成损伤,与衰老、炎症、放射损伤、癌变有密切关系<sup>[2]</sup>。本文对茵陈水提液的抗氧化效果进行测定,以期为茵陈的综合利用提供科学依据。

史国安,男,1963年生,硕士,副教授,主要从事植物抗氧化代谢方面的研究。

收稿日期:1999-02-01

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)、722型分光光度计(上海第三分析仪器厂)、电子天平(上海天平仪器厂)、三用恒温水箱(北京西城区医疗器械厂)。

1.1.2 试剂 所用试剂均为分析纯。

1.1.3 茵陈材料采集与amp;处理 于1998年3月中旬,在河南省淅池县采集茵陈(样品经本校植物分类学硕士吴立宏讲师鉴定),去除干叶和杂质,自来水洗净后风干,粉碎备用。取2g风干茵陈样品,用50mL双蒸水电炉煮沸加热浸提5min,浸提3次,合并滤液定容于100mL容量瓶中,制成2%的茵陈水提液(每mL相当20mg干样),置于4℃冰箱中备用。

1.1.4 试验动物 以洛阳农业高等专科学校食品科学系饲养的6月龄健康西德兔为实验对象。

### 1.2 方法

1.2.1  $\cdot\text{OH}$ 产生与amp;检测 按Smirnoff和Cumbes的方法<sup>[3]</sup>加以改进。3mL反应液中含0.15mmol/L  $\text{FeSO}_4$ , 6mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 2mmol/L水杨酸钠及不同体积的茵陈水提液。加入 $\text{H}_2\text{O}_2$ 起amp;动反应,37℃保温1h后,加0.12mL 11.0mol/L HCl终止反应,水杨酸羟基化产物萃取入乙醚中,测定510nm处的吸光值。实验重复4次,以茵陈水提液竞争性抑制 $\cdot\text{OH}$ 引发的水杨酸羟基化作用的效应表示其清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力。

1.2.2  $\text{O}_2^-$ 产生和amp;检测 按Stewart和Bewley的方法<sup>[4]</sup>进行。3mL反应液中含13mmol/L Met(甲硫氨酸),75 $\mu\text{mol/L}$  NBT(氮兰四唑),100mmol/L EDTA(乙二胺四乙酸),2 $\mu\text{mol/L}$  RF(核黄素),50mmol/L PBS(磷酸盐缓冲液,pH 7.8)及不同体积的茵陈水提液。于25℃下照光20min后,测定560nm处的吸光值。实验重复4次,以茵陈水提液抑制NBT光还原的效应表示其清除 $\text{O}_2^-$ 的能力。

1.2.3  $\text{H}_2\text{O}_2$ 检测 按Patterson等的方法<sup>[5]</sup>进行。取1mL 4mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,加0.1mL 20%  $\text{TiCl}_4$ , 0.2mL浓 $\text{NH}_4\text{OH}$ 及不同体积的茵陈水提液。反应产物过氧化物-钛复合物在4000r/min下离心5min,然后将沉淀溶于1mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 中,测定415nm处的吸光值。实验重复4次,以茵陈水提液抑制过氧化物-钛复合物的效应表示其清除 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的能力。

1.2.4 抗脂质过氧化活性(AOA)测定 按Stock等<sup>[6]</sup>、郭锡熔等<sup>[7]</sup>的方法进行。将兔断头处死,取新鲜兔脑、肝制备组织匀浆,并取离心后上清液作为脂质过氧化反应的底物。具体步骤是:取兔脑、肝用4℃ 0.9%生理盐水洗净,切块、称重,按1:4(W/V)加入冰冷的0.15mol/L KCl,冰浴手动匀浆,4℃离心10000r/min 10min,上清液置于4℃冰箱备用。正常组织匀浆体外丙二醛(MDA)测定:取2组各3支试管(A、B、C),各加入脑、肝组织上清液1mL, 50mmol/L PBS(pH 7.4) 3mL,其中两支试管(A、B)加茵陈水提液50 $\mu\text{L}$ ,空白管(C)加入双蒸水50 $\mu\text{L}$ 。各管均通过硫代巴比妥酸比色法测得脂质过氧化产物MDA的含量,并分别以MDAa、MDAb、MDAc表示A、B、C各管的MDA含量,其中A与C管于37℃水浴保温1h后,加入3mL 0.5%硫代巴比妥酸-10%三氯乙酸液,于100℃显色10min,立即冷却,将反应液于4000r/min离心5min,取上清液测定532nm处吸光值,B管不需孵育直接显色测定。激发

态组织匀浆 MDA 测定:取 2 组各 3 支试管,分别加入脑、肝组织上清液 1 mL, 50 mmol/L PBS (pH 7.4) 2.86 mL, 6 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 100 μL, 60 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 40 μL, 其中 A、B 两管加入茵陈提取液 50 μL, 空白管(C)加入双蒸馏水 50 μL, 按上述操作测定吸光值。实验重复 3 次, 通过公式计算自氧化抑制百分率表示 AOA 值:

$$AOA(\%) = \frac{MDAc - MDAA}{MDAc - MDAb} \times 100$$

1.2.5 统计方法 按 T 测验法测定。

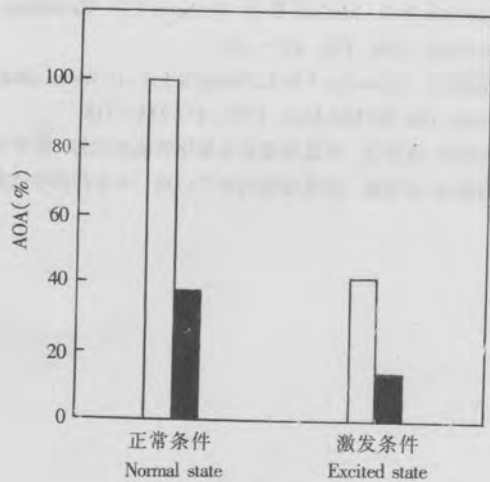
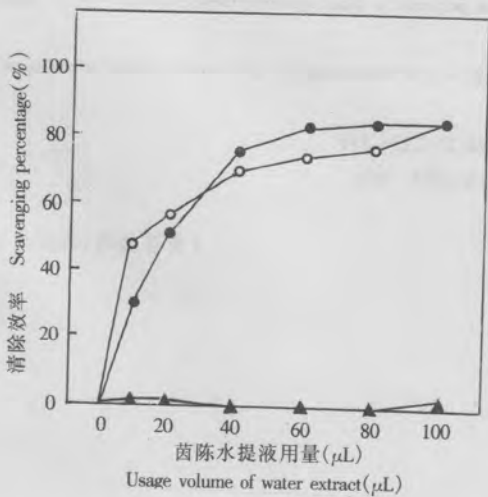
## 2 结 果

### 2.1 体外茵陈水提液清除活性氧的能力

实验采用在体外活性氧产生系统中,加入茵陈水提液,观察其清除活性氧的有效性。利用 Fenton 反应产生·OH(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> → ·OH + OH<sup>-</sup> + Fe<sup>3+</sup>);利用核黄素(RF)的光敏氧化作用产生 O<sub>2</sub><sup>-</sup>。图 1 示茵陈水提液抑制·OH 引发的水杨酸羟基化反应, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 介导的 NBT 光还原和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 驱动的过氧化物-钛复合物形成的能力。随着反应体系中茵陈水提液用量的增大,清除·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的活性也随之提高。2% 的茵陈水提液清除·OH 的 CI<sub>50</sub> (抑制 50% 用量) 为 11.3 μL, 清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的 CI<sub>50</sub> 为 18.8 μL。然而,茵陈水提液对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 没有清除活性。

### 2.2 茵陈水提液的抗脂质过氧化活性

茵陈水提液对兔脑和肝组织匀浆 AOA 水平的影响见图 2。可以看出,2% 的茵陈水提液对正常兔脑和肝组织匀浆脂质过氧化作用具有显著的抑制作用, AOA 值分别为 99.4% 和 37.5%;茵陈水提液对 Fe<sup>2+</sup>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 激发的脑、肝组织匀浆也有明显的抗氧化作用, AOA 值分别



○: ·OH; ●: O<sub>2</sub><sup>-</sup>; ▲: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 图 1 茵陈水提液对·OH、O<sub>2</sub><sup>-</sup>和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的清除效应  
 Fig 1 The scavenging effect of water extract from *Artemisia capillaris* on ·OH, O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

□: 脑 brain; ■: 肝 liver  
 图 2 茵陈水提液对兔脑和肝组织匀浆 AOA 水平的影响  
 Fig 2 Effects of water extract from *Artemisia capillaris* on AOA level in brain and liver homogenates of rabbit

为 42.0% 和 14.1%。且对脑组织匀浆的抗氧化活性明显高于肝组织。

### 3 讨 论

活性氧自由基是生物体内氧化-还原反应的代谢产物。在生理状态下,其产生和清除维持在一个平衡水平上,过多或过少都会给机体造成损害。但在某些病理情况下,氧自由基产生和清除失衡,则会对机体造成损伤,导致多种疾病的发生和机体的衰老<sup>[2,8]</sup>。活性氧与多种疾病和机体损伤有关,清除体内过多的氧自由基,维持其平衡对防止机体衰老无疑是非常重要的。机体内的 SOD 是公认的自由基清除剂,而一些小分子抗氧化物质(如 V<sub>E</sub>、V<sub>C</sub>、酚类和黄酮等)也具有清除氧自由基的功效<sup>[2]</sup>。

研究表明,茵陈水提液在体外能直接清除·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>,降低兔脑和肝组织匀浆的脂质过氧化水平,具有较好的抗氧化活性。徐强<sup>[1]</sup>认为茵陈的抗肿瘤作用主要是直接杀伤肿瘤细胞。本试验结果提示,茵陈水提液较强的清除自由基(·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>)能力与其抗衰保健功效密切相关。将茵陈加工成茶或茵陈汁饮用,对预防疾病和延缓衰老有一定的食疗保健价值。

### 参 考 文 献

- 1 徐 强. 茵陈的抗肿瘤作用机理及其有效成分. 见:周金黄,王建华主编. 中药药理与临床研究进展,第二册. 北京:科学技术出版社,1993. 106~117.
- 2 方允中,李文杰主编. 自由基与酶. 北京:科学出版社,1989. 147~193.
- 3 Smirnoff N, Cumbes Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochem*, 1989, 28: 1057~1060.
- 4 Stewart R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol*, 1980, 65: 245~248.
- 5 Patterson B D, MacCrae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Anal Biochem*, 1984, 139: 487~492.
- 6 Stocks J, Gutteridge J M C, Sharp R J *et al.* Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. *Clin Sci Mol Med*, 1974, 47: 215~218.
- 7 郭锡熔,陈荣华. 牛乳与母乳抗氧化效能的比较. *营养学报*, 1998, 20(2): 215~218.
- 8 陈建斌,饶邦夏. 抗氧化剂的研究进展. *中国药理学通报*, 1995, 11(3): 185~188.

(责任编辑:许定发)

