

甜罗勒提取物的抗氧化作用以及心血管疾病治疗研究

晨曦¹, 李伟杰², 金鑫², 任桐², 舒强^{3*}(1. 厦门大学附属中山医院儿科, 福建 厦门 361000; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361000;
3. 中国医科大学附属第一医院, 辽宁 沈阳 110000)

【摘要】目的 探讨甜罗勒提取物的抗氧化作用活性和临床心血管疾病治疗方向。方法 通过甜罗勒乙醇提取物对DPPH和ABTS自由基清除能力的测定研究其抗氧化活性根据其抗氧化活性检测其治疗心血管疾病的有效性和临床应用方案。结果 平行测定三次, 结果表明甜罗勒70%乙醇提取物具有很好的清除DPPH自由基的作用, IC_{50} 为0.047 mg/mL, 有很好的清除ABTS自由基的作用, IC_{50} 为0.043 mg/mL。结论 甜罗勒提取物具有良好的抗氧化作用和心血管疾病治疗的研究价值。

【关键词】甜罗勒; DPPH和ABTS; 抗氧化; 心血管

【中图分类号】R54

【文献标识码】A

甜罗勒学名(Sweet Basil), 原产自埃及, 系一年生草本, 甜罗勒是一种从国外引进的另类洋野菜, 含有蛋白质、纤维素、碳水化合物、维生素A、C和钙, 因其高营养、无公害而倍受消费者瞩目。甜罗勒不仅口味独特, 而且还具有药用养生价值。可治胃痉挛、肾脏病及跌打损伤诸症, 又具有消食、去恶气、消水气、明目的功效, 久食健身、益智、滋颜、延缓机体衰老。但是, 目前尚未见甜罗勒提取物在抗氧化活性和心血管疾病治疗方面的实验报道。本文通过甜罗勒乙醇提取物对DPPH和ABTS自由基清除能力的测定, 研究其抗氧化活性; 为甜罗勒临床应用的研究提供科学根据。

1 资料与方法

1.1 一般材料

甜罗勒购自厦门燕来福制药有限公司(国药准字20090165)。DPPH(1, 1-d-phenyl-1 2- picrylhydrazyl)及ABTS(2, 2'-azinobis-3-ethyl-1-benzothiazolin-6-sulfonic acid)购自美国Sigma公司, 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司); SHB-A循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); 水浴锅(上海爱朗仪器有限公司); 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 多功能酶标仪 SpectraMax M2 (Molecular Devices); 多功能粉碎机(永康市小宝电器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法

甜罗勒晾干后, 取30 g加入480 mL 70%乙醇浸泡40 min, 85℃水浴回流提取2 h, 过滤, 将滤液置于旋

转蒸发仪中减压回收乙醇后得到粗浸膏, 将粗浸膏置于-80℃结冰后用冷冻干燥机进行干燥, 备用。

1.2.2 甜罗勒提取物清除DPPH自由基能力的测定

将甜罗勒提取物用70%乙醇配成不同浓度的溶液备用, DPPH用70%乙醇配成0.04 mg/mL的溶液, 吸取提取物溶液75 μL于96孔板中, 加入DPPH溶液225 μL作为样品组; 以70%乙醇代替DPPH溶液作为样品背景组, 以70%乙醇代替提取物溶液作为阴性对照组, 置于30℃培养箱中反应30 min, 混匀后于室温避光静置30 min, 在517 nm处测定吸光度值, 其中样品孔为B, 样品背景孔为C, 阴性对照孔为A^[1]。

1.2.3 甜罗勒提取物清除ABTS自由基能力的测定

将甜罗勒提取物用70%乙醇配成不同浓度的溶液备用。

1.2.3.1 配置ABTS工作液

5 mL 7mmol/L ABTS和88μL 140 mmol/L过硫酸钾混合, 室温, 静置过夜, 使用前用无水乙醇稀释至734 nm波长下吸光度为(0.70±0.02)。

1.2.3.2 加样

称取一定质量样品, 溶于70%乙醇, 然后稀释到所需浓度

A1: 0.1 mL样品+4 mL ABTS

A2: 0.1 mL样品+4 mL无水乙醇

A3: 0.1 mL 70%乙醇+4 mL ABTS

A0: 0.1 mL 70%乙醇+无水乙醇

混匀, 混匀后开始计时, 于734 nm测定每分钟吸光度^[2]。

通讯作者: 舒强, 汉族, 副教授, 博士, 生于1961年7月15日, 工作于中国医科大学附属第一医院局部解剖与手术学教研室。

2 实验结果

2.1 采用DPPH法测定甜罗勒乙醇提取物抗氧化活性

按DPPH清除率 (%) = $[1 - (B - C) / A] \times 100\%$ 公式计算甜罗勒乙醇提取物对DPPH自由基的抑制率的IC₅₀值, 平行测定三次。结果表明甜罗勒70%乙醇提取物具有很好的清除DPPH自由基的作用, IC₅₀为0.047 mg/mL, 实验结果见表1, 图1。

表1 甜罗勒70%乙醇提取物DPPH法测定抗氧化活性

	DPPH自由基清除率						IC ₅₀
	0.01 mg/mL	0.02 mg/mL	0.03 mg/mL	0.04 mg/mL	0.06 mg/mL	0.08 mg/mL	
甜罗勒70% 乙醇提取物	25.29%	34.18%	62.92%	78.16%	81.47%	79.60%	0.0238

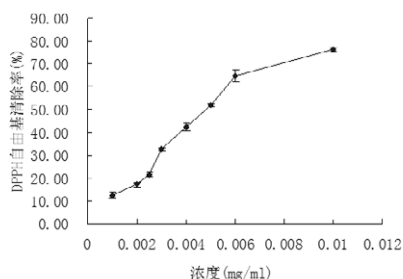


图1 70%甜罗勒乙醇提取物DPPH法测定抗氧化活性

2.2 采用ABTS法测定甜罗勒乙醇提取物抗氧化活性

按ABTS清除率 (%) = $[1 - (B - C) / A] \times 100\%$ 公式计算提取物对ABTS自由基的抑制率, 平行测定三次。计算甜罗勒乙醇提取物对不同提取物对ABTS自由基清除的IC₅₀值。结果表明甜罗勒70%乙醇提取物具有很好的清除ABTS自由基的作用, IC₅₀为0.043 mg/mL, 实验结果见表2, 图2。

表2 甜罗勒70%乙醇提取物ABTS法测定抗氧化活

	ABTS自由基清除率						IC ₅₀
	0.01 mg/ml	0.012 mg/ml	0.015 mg/ml	0.018 mg/ml	0.02 mg/ml	0.024 mg/ml	
甜罗勒70% 乙醇提取物	33.92%	40.80%	48.99%	60.76%	68.68%	79.18%	0.0149

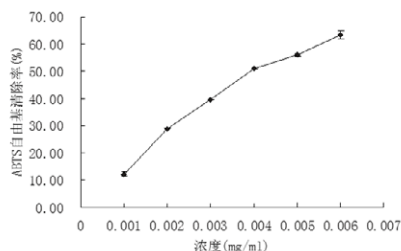


图2 70%甜罗勒乙醇提取物ABTS法测定抗氧化活性

3 讨论

氧化和抗氧化的失衡是很多心血管疾病发病

机制中的重要环节, 是导致心血管系统结构功能异常的重要原因之一。一系列对抗自由基、防止损伤的洗脱在机体进化过程中形成, 其中包括酶性清除剂 (如VitE, VitA, VitC, 谷胱甘肽等)。如果氧自由基生成异常增多或肾抗氧化能力下降, 超过体内自由基清除系统地清除能力, 造成体内氧自由基 (ROS) 大量堆积^[4]。氧自由基作用于人体细胞, 引起核酸 (DNA)、蛋白质和脂质等的氧化或再氧化损伤, 破坏细胞结构的完整性和功能, 造成细胞氧化应激损伤。大量研究证实机体抗氧化能力的下降, 氧化与抗氧化的失衡, 导致活性氧产生过多, 在高血压、糖尿病和冠心病的发生发展过程中有重要意义。机体内氧自由基可产生大量导致病理损害因素, 此时就必须有外来提供的物质才能消除其链式反应, 这就是自由基清除剂^[5]。已知维生素C、维生素E、辅酶Q等是存在于机体的正性分子物质, 亦是抗氧化剂。DPPH在有机溶剂中是一种稳定的自由基, 其醇溶液呈紫色, 且需低温避光储藏, 具有单一电子, 故能接受一个电子或氢离子, 在波长为517nm下具有最大吸收^[6], 从而以评价试验样品的抗氧化的能力。ABTS在适当的氧化剂作用下被氧化呈绿色, 而当有抗氧化物存在的情况下ABTS的产生就会受到抑制^[7]。因此, 增加内源性抗氧化酶的活性, 减轻人体细胞的氧化应激损伤, 已成为目前延缓脏器疾病的有效方法。

抗氧化剂可以帮助捕获并中和自由基, 防止自由基对人体的损害。临床治疗动脉粥样硬化、糖尿病、肾病等各个领域都应用到抗氧化剂。常见维生素, 维生素C和维生素E的抗氧化强度嫌贵较弱, 并不是人体内有效的抗氧化剂, 但是目前合成的抗氧化剂普罗布考的有效性虽然已得到证实, 但因为合成抗氧化剂通常具有一定的毒副作用, 不适合长期使用。因此, 寻找天然、高效、低毒的抗氧化剂成为一种必然的趋势。植物类中药是天然抗氧化剂的重要来源, 其所含的天然抗氧化剂不但有抑制体内脂质过氧化和清除自由基的作用, 同时可促进体内抗氧化酶与内源性抗氧化剂的合成, 具有比合成抗氧化剂更多的优越性, 在心血管药物治疗领域的抗氧化作用和调节氧化平衡等方面有重大的研究价值, 而甜罗勒提取物有良好的抗氧化作用, 能有效减轻机体的氧化应激损伤, 进一步细化后可作为复方单体应用于临床心血管治疗也可作为临床心血管药物开发的一个研究方向。

(下转第135页)

检查基本恢复正常，侧支循环基本建立；显效：治疗后，自觉症状好转，肢体血液循环较前改善，动脉搏动及血管多普勒检查均明显好转；有效：自觉症状好转，肢体血液循、动脉搏动及血管多普勒超声检查略有改善；无效：自觉症状无改善或比治疗前更严重。总有效率=显效率+有效率。

1.4 统计学方法

本文所有数据均应用SPSS 16.0统计学软件进行处理。计数资料以百分率(%)表示，组间比较采用 χ^2 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

治疗后，研究组总有效率为88.4%高于对照组的73.6%，差异有统计学意义($P < 0.05$)，见表1。

表1 2组临床疗效比较 [n(%)]

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
研究组	164	57(34.8)	48(29.3)	40(24.4)	19(11.6)	88.4*
对照组	163	38(23.3)	48(29.4)	34(20.9)	43(26.4)	73.6

注：与对照组比较，* $P < 0.05$

3 讨论

动脉闭塞性疾病是由于动脉粥样硬化导致动脉狭窄、闭塞而引起的缺血性疾病，其发病率随着人们生活水平的提高而不断升高。治疗该病的主要目的为改善缺血症状、恢复动脉功能、延缓疾病的发展。动脉硬化在中医传统理论中属于“脉痹、脱疽”范畴，治宜活血通络，温阳止痛^[2]。本文所采用的中药方剂桃红四物汤出自《医垒元戎》，方中以强劲的破血之品桃仁、红花为主，力主活血化瘀；以甘温之熟地、当

归滋阴补肝、养血调经；芍药养血和营，以增补血之力；川芎活血行气、调畅气血，以助活血之功。全方配伍得当，使瘀血祛、新血生、气机畅。缬沙坦氨氯地平是一种常见的高血压治疗药物，其中缬沙坦为特异性血管紧张素受体拮抗剂，其可选择性作用于血管紧张素 AT_1 受体，阻断其与受体结合，发挥抑制血管收缩和抑制醛固酮释放的作用，从而产生降压作用；氨氯地平是一种钙离子拮抗剂，通过作用于钙离子通道降低外周血管阻力发挥降压作用^[3-5]。另该药口服有效，患者用药方便，治疗依从性较好。

综上所述，桃红四物汤联合缬沙坦氨氯地平片治疗颈动脉硬化闭塞症疗效显著，可明显改善患者临床症状，恢复动脉功能，具有临床推广价值。

参考文献

- [1] 王庆凯,姚 玮,王庆利.补阳还五汤治疗下肢动脉硬化闭塞症的临床观察[J].中国老年保健医学,2014,12(1):29-30.
- [2] 马 巍,滕雅轩,薛连喜.自拟中药汤剂联合凯时治疗下肢动脉硬化闭塞症的临床分析[J].中医临床研究,2014,6(4):37-39.
- [3] 余维巍,李彩萍,张存泰.缬沙坦对老年高血压合并2型糖尿病患者C肽水平和颈动脉内膜中层厚度的影响[J].华中科技大学学报(医学版),2013,42(5):597-600.
- [4] 温志国,杜丽苹,李文明,等.TASC C D型下肢动脉硬化闭塞症的腔内治疗[J].中华普通外科杂志,2014,29(1):29-31.
- [5] 安静思.疏血通注射液治疗糖尿病下肢动脉硬化闭塞症临床观察[J].医学信息,2014,27(1):444.

(上接第133页)

参考文献

- [1] 巩红岩,秦元旭,王更富,等.葛根素对大鼠体外循环后心肌缺血再灌注损伤的保护作用及抗氧化应激机制的探讨[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):165-168.
- [2] 陈玉霞,刘建华,林 峰,等.DPPH和FRAP法测定41种中草药抗氧化活性[J].实验室研究与探索,2011,30(6):11-14.
- [3] 王 勇,陈 英,曾 军,等.不同补光条件对冬季栽培甜罗勒生物学性状及精油成分的影响[J].安徽农业科

- 学,2011,(11):5647-5648.
- [4] 曹 燕,庞市宾,徐 磊,等.金鸡纳提取物体外抗氧化活性[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(12):144-147.
- [5] Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts[J]. Journal of food composition and analysis, 2013, 19(6):669-675.
- [6] 戴喜未,熊子文,罗丽萍.响应面法优化野艾蒿多糖的超声波提取及其抗氧化性研究[J].食品科学,2011,32(8):93-97.