

# 康復力與夜交藤之抗氧化活性研究 = Study on the antioxidative properties of symphytum officinale and polygoni multiflori

劉易修、吳淑姿；顏裕鴻

E-mail: 9708284@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

近幾年，尋找具高抗氧化性且無毒之天然物質，以降低生物體內之氧化性傷害，所以中草藥植物的開發與運用，已成為未來趨勢。本研究選定康復力和夜交藤兩種植物為研究對象，這兩種植物自古即常應用於藥用或食用，為具有多用途之中藥材。康復力(Symphytum officinale)為紫草科康復力屬植物，別名為康富力、康固力、康復利等，常被種植為園藝觀賞及藥用植物，主治高血壓、出血、止痢等，並有防癌、抗癌作用。夜交藤(Polygoni multiflori)為蓼科(Polygonaceae)植物，別名為首烏藤、何首烏藤等，自古即為入藥植物，主治補肝，益腎，養血。 本研究乃探討康復力與夜交藤經四種不同溶劑(正己烷、二氯甲烷、甲醇-氯仿、甲醇-水)萃取，並作萃取物之活性測試，能了解何種溶劑能萃取出較高的抗氧化活性物質，抗氧化活性的測試包括DPPH自由基清除能力、還原力、螯合亞鐵能力、清除超氧陰離子能力、抑制微脂粒氧化作用、清除ABTS陽離子及總酚和類黃酮含量測定，並與BHA、EDTA、 $\alpha$ -生育醇及沒食子酸之抗氧化性做比較。 實驗結果指出，四種溶劑所萃取之萃取物，康復力以甲醇-氯仿片段萃取物抗氧化能力最佳，可能由於甲醇-氯仿片段萃取物含有較多的總酚含量，其含量為 $39.15 \pm 0.30$  mg/g，在清除DPPH自由基試驗中，於濃度1.0 mg/mL，其清除率為98.09%；亞鐵離子螯合力試驗中，其最佳螯合力為95.65%；還原力試驗中，最佳還原力為59.79%；超氧陰離子清除能力試驗中，於濃度小於0.01 mg/mL時，比沒食子酸的超氧陰離子清除能力為佳；抑制微脂粒氧化試驗中，於10 mg/mL時，有最高抑制微脂粒氧化作用能力，其抑制率為57.25%；總抗氧化能力試驗中，濃度於0.1 mg/mL時，與抗氧化劑BHA之總抗氧化能力相近。夜交藤以甲醇-水片段萃取物抗氧化能力最佳，可能由於甲醇-水片段萃取物含有較多的總酚含量，其含量為 $96.42 \pm 2.10$  mg/g，在清除DPPH自由基試驗中，於濃度0.04 mg/mL，清除DPPH自由基能力比BHA為較佳；亞鐵離子螯合力試驗中，其最佳螯合力為92.91%；還原力試驗中，最佳還原力為53.93%；超氧陰離子清除能力試驗中，於濃度0.05 mg/mL時，比沒食子酸的超氧陰離子清除能力為佳；抑制微脂粒氧化試驗中，於10 mg/mL時，有最高抑制微脂粒氧化作用能力，其抑制率為75.34%；總抗氧化能力試驗中，濃度於0.04 mg/mL時，與抗氧化劑BHA之總抗氧化能力相近。 綜合以上結果顯示，康復力、夜交藤之萃取物皆具有抗氧化性，因此，由研究得知康復力、夜交藤，經不同溶劑萃取後之萃取物，其抗氧化活性之變化，了解何種溶劑能萃取出較高的抗氧化活性物質，作為機能性食品開發之參考。

關鍵詞：康復力；夜交藤；抗氧化活性

## 目錄

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書iii 中文摘要iv 英文摘要vi 誌謝viii 目錄ix 圖目錄xii 表目錄xiii 1.緒論1 2.文獻回顧2 2.1植物簡介2 2.1.1康復力2 2.1.2夜交藤4 2.2中草藥的研究發展現況4 2.3自由基之介紹6 2.3.1何謂自由基?6 2.3.2清除自由基的酵素系統10 2.4抗氧化劑介紹12 2.4.1抗氧化劑12 2.4.2抗氧化劑之作用機制13 2.4.3抗氧化劑的研究現況15 2.4.4天然抗氧化物15 2.5抗氧化活性測試原理21 2.5.1清除 $\text{O}_2^-$ ， $\text{Fe}^{2+}$ -diphenyl- $\text{picrylhydrazyl}$ (DPPH)自由基之測定21 2.5.2還原力測定21 2.5.3超氧歧化?(SOD)試驗22 2.5.4螯合亞鐵離子之測定22 2.5.5抑制微脂粒(Liposome)氧化作用之測定23 2.5.6清除ABTS陽離子自由基能力測定23 2.6抗氧化成分含量測定24 2.6.1總酚化合物含量測定24 2.6.2類黃酮含量之測定24 3.材料與方法26 3.1實驗材料26 3.1.1康復力26 3.1.2夜交藤26 3.2實驗藥品26 3.3實驗設備27 3.4實驗方法27 3.4.1植物樣品製備27 3.4.2不同溶劑萃取28 3.4.3抗氧化成分含量28 3.4.4抗氧化活性測定30 4.結果與討論35 4.1康復力抗氧化成分含量測定35 4.1.1康復力之萃取率35 4.1.2總酚化合物35 4.1.3類黃酮含量37 4.2康復力抗氧化活性測試37 4.2.1清除 $\text{O}_2^-$ ， $\text{Fe}^{2+}$ -diphenyl- $\text{picrylhydrazyl}$ (DPPH)自由基之能力37 4.2.2還原力試驗39 4.2.3超氧歧化?(SOD)試驗42 4.2.4螯合亞鐵離子42 4.2.5抑制微脂粒(Liposome)氧化作用45 4.2.6清除ABTS陽離子自由基能力45 4.3夜交藤抗氧化成分含量測定48 4.3.1夜交藤之萃取率48 4.3.2總酚化合物50 4.3.3類黃酮含量50 4.4夜交藤抗氧化活性測試50 4.4.1清除 $\text{O}_2^-$ ， $\text{Fe}^{2+}$ -diphenyl- $\text{picrylhydrazyl}$ (DPPH)自由基之能力50 4.4.2還原力試驗51 4.4.3超氧歧化?(SOD)試驗55 4.4.4螯合亞鐵離子55 4.4.5抑制微脂粒(Liposome)氧化作用58 4.4.6清除ABTS陽離子自由基能力60 5.結論62 5.1結論62 5.2未來展望63 圖目錄 圖2.1康復力3 圖2.2夜交藤5 圖2.3BHA、BHT、PG、TBHQ之化學結構14 圖2.4 $\alpha$ -tocopherol結構圖19 圖2.5類黃酮之基本結構26 圖3.1萃取物製備29 圖4.1康復力之萃取物DPPH自由基清除能力38 圖4.2康復力之萃取物的還原力41 圖4.3康復力萃取物的清除超氧陰離子能力43 圖4.4康復力之萃取物的螯合亞鐵離子能力44 圖4.5康復力之萃取物的抑制微脂粒氧化作用能力46 圖4.6康復力之萃取物的清除ABTS陽離子自由基能力47 圖4.7夜交藤之萃取物DPPH自由基清除能力52 圖4.8夜交藤之萃取物的還原力54 圖4.9夜交藤萃取物的清除超氧陰離子能力56 圖4.10夜交藤之萃取物的螯合亞鐵離子能力57 圖4.11夜交藤之萃取物的抑制微脂粒氧化作用能力59 圖4.12夜交藤之萃取物的總抗氧化

能力61 表目錄 表2.1紫草科植物清除自由基之IC50比較7 表2.2天然抗氧化劑之來源17 表2.3類黃酮的抗氧化特性21 表4.1康復力總酚與類黃酮含量36 表4.2不同溶劑萃取對康復力之反應速率常數及半數清除濃度(IC50)40 表4.3夜交藤總酚與類黃酮含量49 表4.4不同溶劑萃取對夜交藤之反應速率常數及半數清除濃度(IC50)53

## 參考文獻

- 1.丁克祥。1996。SOD生物醫學淺論。藝軒出版社。台北，台灣。2.林玉如。2005。中草藥之生物活性探討及在化粧品之應用。嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所碩士論文。台南，台灣。3.林明君。2002。新鮮及乾燥番茄甲醇萃取液之抗氧化性比較。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化，台灣。4.林國華。1998。養生中藥。第268-269頁。好兄弟出版社。台北，台灣。5.林文?。2004。松葉之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化，台灣。6.許鴻源。1980。中藥材之研究。新醫藥出版社。台北，台灣。7.拱玉郎。1997。天然抗氧化劑發展近況。食品工業。29(3): 29-37。台北，台灣。8.黃正坤、王國祥、張為憲。1981。台灣產香辛植物之抗氧化性調查研究(二)。中國農業化學會誌。19: 200-207。9.黃喻敏。2004。中藥複方五白散之美白及抗氧化性質評估及美白效能提升研究。南台科技大學化學工程系碩士論文。台南，台灣。10.吳惠萍。2004。三種台灣產迷迭香精油成分及抗氧化力研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化，台灣。11.高幸子。2004。納豆抗氧化性之研究。屏東科技大學食品科學系碩士論文。屏東，台灣。12.高馥君、李敏雄。1998。食品保存與抗氧化劑。食品工業。30(12): 17-24。13.陳淑茹。2003。石蓮萃取物之抗氧化活性及抗致突變性研究。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中，台灣。14.陳三餘、錢佑、闕錦慧。1999。中藥對口腔病原菌及牙周病治療效果之評估。Chin. Med. Coll. J. 8(1): 47-55。15.楊文清。1983。數種台灣市售藥材誘導干擾素之研究。中國醫藥學院藥學研究所碩士論文。台中，台灣。16.姜淑繡。2001。省產蘿蔔之抗氧化性研究。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化，台灣。17.劉伯康。1997。數種傳統食用植物抗氧化性之研究。國立中興大學食品科技研究所碩士論文。台中，台灣。18.簡錦慈。2004。刺蔥之抗氧化性及安全性探討。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中，台灣。19.莊培挺。2005。明日葉抗氧化性質及降血脂之作用。國立嘉義大學食品科學系碩士論文。嘉義，台灣。20.蘇建。2007。何首烏、夜交藤藥材質量控制研究。河北醫科大學藥物分析專業所碩士論文。河北，中國。21.蘇苑菱。2007。八種藥用植物之精油與萃取物之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化，台灣。22.Ames, B. N. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens: Oxygen radicals and degenerative disease. Sci. 221: 1256-1263. 23.Ames, B. N., Shigenga, M. K. and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. Sci. 90: 7915-7922. 24.Arnao, M. B., Cano, A. and Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chem. 73: 239-244. 25.Arouma, O. I. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chem. Toxic. 32(7): 671-683. 26.Cook, N. C. and Samman, S. 1996. Flavonoids-chemical, metabolism, cardioprotective effects, and dietary source. Nut Biochem. 7: 66-76. 27.Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques, V., Thierry, D., Claude, B., Michel, L., Micheline, C., Cluade, J. C., Francois, B. and Francis, T. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities Ifbuckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and four. J. Ethnopharmacol 72: 35-42. 28.Conforti, F., Silvio, S., Mariangela, M., Fedrica, M., Giancarlo, A. S., Dimitar, U., Aurelia, T., Francesco, M. and Roberto, L. 2007. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. Journal of Ethnopharmacology 116: 144-151. 29.Diplock, A. T., Charleux, J. L., Crozier, W. G., Jok, F. J., Rice, E. C., Roberfroid, M., Stahl, W. and Vina, R. J. 1998. Functional food science and 30.Gutteridge, J. M. C. and Halliwell, B. 1990. The measurement and mechanism of defense against reactive oxidative species. British J. Nutr. 80: S77-S112. 31.Hatheill, J., Till, G. and Ward, P. A. 1991. Mechanisms of oxidant-induced changes in erythrocytes. Agents and Actions 32: 351-358. 32.Kim, S., Han, D., Moon, K. D. and Rhee, J. S. 1995. Measurement of superoxide dimutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotech. Biochem. 59(5): 822-826. 33.Keli, C. 2000. Antioxidant activities of extracts from five anti-viral medicinal plants, Journal of Ethnopharmacology 96: 201-205. 34.Knek, P., Jarvinen, R., Seppanen, R., Heliovaara, M., Teppo, L., Pukkala, E. and Aromaa, A. 1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. Am. J. Epidemiol. 146: 223-230. 35.Koll, R., Buhr, M., Dieter, R., Pabst, H., Prede, H. G., Petrowicz, O., Giannetti, B., Klingenberg, S. and Staiger, C. 2004. Efficacy and tolerance of a comfrey root extract (Extr. Rad. Symphyti) in the treatment of ankle distorsions: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind study. Phytomedicine 11: 470-477. 36.Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochem. 27: 269-278. 37.Leake, D. S. 2001. Flavonoids and the oxidation of low-density lipoprotein. Nutr. 17: 63-66. 38.Liao, K. L. and Yin, M. C. 2000. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems:importance of the partition coefficient. J. Agric. Food. Chem. 48: 2266-2270. 39.Lai, L. S., Chou, S. T. And Chao W. W. 2001. Studies on the Antioxidative Activities of Hsian(*Mesona procumbens* Hemsl)Leaf Gum. J. Agric. Food Chem. 49: 963-968. 40.Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Philosoph, H. S. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. J. Food Chem. 43: 1813-1819. 41.Meyer, A. S. and Isaksen, A. 1995. Application of enzymes as food antioxidants. Trends in Food Science & Technology September 6: 300-304 42.Miller, N. J. and Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. Food Chem. 60: 331-337. 43.Moskovitz, J., Yim, M. B. and Chock, P. B. 2002. Free radicals and disease. Arch. Biochem. Biophys. 397(2): 354-359. 44.Nagy, M. and Grancay, D. 1996. Colorimetric determination of flavanones in propolis. Pharmazie. 51: 100-101. 45.Niki, E. 1991. Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. Amer. J. Clin. Nutr. 54: 1119-1124. 46.Okusa, P. N., Penge, O., Devleeschouwer, M. and Duez, P. 2007. Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gilletii* De Wild (Boraginaceae). Journal of Ethnopharmacology 112: 476-481. 47.Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared

from glucosamine. *Jpn. J. Nutri.* 44: 307-314. 48.Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H. and Kawakishi, S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Sci. Technol.* 6(3): 75-82. 49.Robak, J. and Gryglewski, I. R. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharma.* 37: 837-841. 50.Salah, N., Miller, N. J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G. P. and Rice-Evans, C. A. 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 322: 339-346. 51.Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M. and Ochi, H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem.* 44: 37-41. 52.Stadler, R. H. and Fay, L. B. 1995. Antioxidative reactions of caffeine: Formation of 8-oxocaffeine (1,3,7-Trimethyluric acid) in coffee subjected to oxidative stress. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1332-1338. 53.Shahidi, F. and Wanasundara, P. K. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 32: 67-103. 54.Simic, M. G. 1988. Mechanisms of inhibition of free-radical processes in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.* 202: 377-386. 55.Singketon, V. L. and Rossi, J. A. J. R. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *J. Enol. Vitic.* 16: 144-153. 56.Toit, R. Du., Volsteedt, Y. and Apostolides, Z. 2001. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. *Toxicol.* 166: 63-69. 57.Torel, J., Cillard, J. and Chillard, P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radicals. *Phytochem.* 25: 383-385. 58.Tseng, H. S., Chien, T. Y., Tzeng, C. F., Lin, Y. H., Wu, C. H. and Wang, C. C. 2006. Prevention of hepatic oxidative injury by Xiao-Chen-Chi-Tang in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 111 : 232-239.