

红芪多糖的体外抗氧化活性研究

惠和平¹, 封士兰^{1,2*}, 胡芳弟¹, 崔方¹, 吴玉琼¹

(1. 兰州大学药学院, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃省新药临床前研究重点实验室, 甘肃兰州 730000)

摘要 [目的]研究红芪多糖 3(HPS-3)的抗氧化活性。[方法]在体外化学模拟条件下,研究 HPS-3 对超氧阴离子($O_2^{\cdot -}$)、羟基自由基($\cdot OH$)、DPPH 和过氧化氢(H_2O_2)的清除作用。[结果]HPS-3 具有一定的清除自由基的能力,在 0.05~5.00 mg/ml 浓度范围内,对 $O_2^{\cdot -}$ 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 及 DPPH 的最大清除率分别为 55.92%、59.32%、53.69% 和 87.66%,且呈一定的量效依赖关系。[结论]红芪多糖在体外有直接的抗氧化能力。

关键词 红芪;多糖;抗氧化

中图分类号 R284 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2010)08-04056-02

Study on Antioxidative Activity of Polysaccharide from Radix Hedysari *in vitro*

HUI He-ping et al (School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract [Objective] The research aimed to study the antioxidant activity of polysaccharide HPS-3 from Radix Hedysari [Method] Under *in vitro* chemical simulated conditions, the scavenging effects of HPS-3's on superoxide anion($O_2^{\cdot -}$), hydroxyl radical ($\cdot OH$), DPPH and H_2O_2 were measured for evaluating their antioxidant activity. [Result] The results showed that HPS-3 had some functions of scavenging free radicals, in the concentration range of 0.05~5.00 mg/ml. The maximum scavenging rate on $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 , $\cdot OH$ and DPPH were 55.92%, 59.32%, 53.69%, 87.66% respectively and there was a dose-dependent relationship. [Conclusion] Polysaccharide from Radix Hedysari has distinctive antioxidant activity *in vitro*.

Key words Radix Hedysari; Polysaccharide; Antioxidant

红芪(Radix Hedysari)为豆科岩黄芪属植物多序岩黄芪(*Hedysarumpolybotrys* Hand.-Mazz.)的干燥根,为甘肃特产药材。红芪多糖(HPS)作为红芪的主要活性成分之一,具有增强机体免疫力、抗肿瘤、抗衰老、治疗糖尿病等作用^[1-2]。研究表明,许多疾病与自由基导致的生物大分子氧化损伤有关,尤其是活性氧(如 $O_2^{\cdot -}$ 、 $\cdot OH$ 等)与心脑血管疾病、糖尿病、癌症等密切相关。而抗氧化剂能通过各种途径有效地清除内源性和外源性自由基,对自由基所致病变有预防作用。许多天然来源的多糖作为抗氧化剂已被开发,如茯苓多糖、银耳多糖等都具有较强的抗氧化作用^[3]。目前关于 HPS 的体外抗氧化活性的研究在国内外尚未见报道。为了对 HPS 进一步开发利用,笔者在以往工作的基础上对其体外抗氧化活性进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 材料。红芪,购自甘肃武都,经兰州大学药学院生药研究所马志刚教授鉴定。

1.1.2 试剂。红芪的干燥根经超声脱脂、热水提取、乙醇沉淀、冷冻干燥即得粗多糖 HPS-1;Sephadex G-25 来自上海长征制药厂;DEAE 纤维素来自 Whatman 公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)来自 Sigma 公司;其他试剂均为国产 AR 级。

1.1.3 仪器。CR22GII 型离心机:日本日立;UV-1700 型紫外仪:日本岛津;BS-100A 自动部分收集器、HL-2 恒流泵:上海沪西分析仪器厂有限公司;美国 Waters600 型高效液相色谱仪,配 Waters2414 型示差折光检测器;LABCONCO 型真空冷冻干燥机:日本岛津。

1.2 试验方法

1.2.1 HPS-1 的分离纯化。称取 HPS-1,溶解于水中,Sevag 法除蛋白,过氧化氢除色素,流水透析 48 h,蒸馏水透析 48 h 后加入乙醇使终浓度为 70%,静置过夜,离心,沉淀,冷冻干燥得粗多糖 HPS-2;取 HPS-2 粗品适量溶于蒸馏水,过 DEAE-52 纤维素柱(2.0 cm×50.0 cm),依次用蒸馏水、0.1 mol/L NaCl 溶液、0.3 mol/L NaCl 溶液洗脱,分别收集洗脱液(每管 4 ml),苯酚-硫酸法跟踪检测,根据洗脱曲线收集。取蒸馏水洗脱部分,透析,冷冻干燥,再经 Sephadex G-25(2.7 cm×70 cm)柱层析,蒸馏水洗脱(每管 3.0 ml),苯酚-硫酸法跟踪检测,绘制吸收曲线,经 Sephadex G-25 后呈一单峰,收集主峰部分,透析后冷冻干燥得纯品 HPS-3,置于干燥器中备用。

1.2.2 HPS-3 的纯度鉴定。用 HPLC 法^[4]。

1.2.3 HPS-3 的抗氧化活性测定。

1.2.3.1 对 $O_2^{\cdot -}$ 的抑制作用。采用邻苯三酚法,参照文献[5]。

1.2.3.2 对 $\cdot OH$ 的抑制作用。参照文献[6],略作修改。用 $FeSO_4$ 和 H_2O_2 反应产生 $\cdot OH$,以 $\cdot OH$ 氧化水杨酸钠所得产物的光吸收值表示 $\cdot OH$ 的多少,光吸收值越大, $\cdot OH$ 越多。3 ml 150 mmol/L 磷酸钠缓冲液(pH 值 7.4)中含 1.0 ml 10 mmol/L $FeSO_4$,0.7 ml 6 mmol/L H_2O_2 ,0.3 ml 2 mmol/L 水杨酸钠及不同浓度的 HPS-3 多糖为被测液,以磷酸钠缓冲液代替糖液为对照,最后加 H_2O_2 启动反应,37℃ 反应 1 h。在 510 nm 处测定吸光度 A 。以磷酸钠缓冲液作对照测试 HPS-3 对 $\cdot OH$ 的抑制率。 $E = (A_{对照} - A_{样品}) / A_{对照} \times 100\%$,式中, $A_{对照}$ 、 $A_{样品}$ 分别表示对照液和被测液反应后的吸光度。

1.2.3.3 对 DPPH 自由基的清除作用。试验方法参照文献[5]。

1.2.3.4 对 H_2O_2 的抑制作用。试验方法参照文献[5]。

基金项目 甘肃省科技计划项目(0804WCGA134,0911WCCA005);兰州市科技计划资助项目(07-1-33)。

作者简介 惠和平(1982-),男,甘肃天水人,硕士研究生,研究方向:中药中有效成分的提取分离与鉴定。*通讯作者。

收稿日期 2009-12-21

2 结果与分析

2.1 HPS-3 纯度的鉴定 紫外扫描在 260 ~ 280 nm 处吸收峰消失,茚三酮反应呈阴性,说明样品中的蛋白质基本除尽;碘-碘化钾反应呈阴性,表明样品为非淀粉多糖。HPS-3 经 HPLC 后为单一对称峰,表明其为均一组分,经苯酚-硫酸法测定,HPS-3 的多糖含量为 98.06%。

2.2 HPS-3 对 O_2^- 的清除作用 从图 1 可见,红芪多糖具有一定的清除 O_2^- 的作用,在试验浓度(0.05 ~ 5.00 mg/ml)范围内,最高达 55.92%;且在低浓度时对 O_2^- 的抑制作用比 V_c 强,但随着浓度的增加,其清除率有所降低。

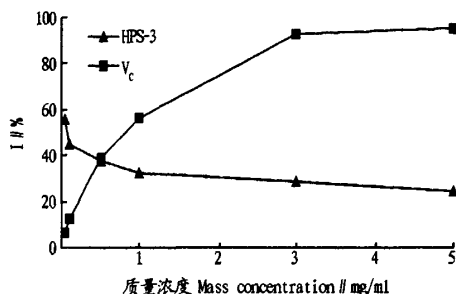


图 1 HPS-3 对 O_2^- 的清除作用($n=4$)

Fig.1 The scavenging effect of HPS-3 on O_2^- free radical

2.3 HPS-3 对 $\cdot OH$ 的清除作用 由图 2 可见,在试验浓度范围(0.05 ~ 5.00 mg/ml)内,HPS-3 对 $\cdot OH$ 有较强的清除作用,且呈一定的量效依赖关系,经拟合得方程: $Y = 8.45 \ln X + 37.95$, $R^2 = 0.982$, IC_{50} 为 4.16 mg/ml,比 V_c (IC_{50} 为 0.76 mg/ml)对 $\cdot OH$ 的抑制作用弱,但在低浓度(< 0.10 mg/ml)时清除作用较 V_c 强。

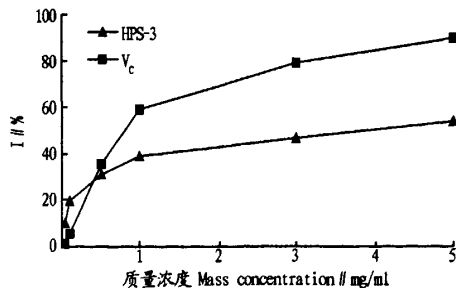


图 2 HPS-3 对 $\cdot OH$ 的清除作用($n=4$)

Fig.2 The scavenging effect of HPS-3 on $\cdot OH$ free radical

2.4 HPS-3 对 DPPH 自由基的清除作用 DPPH 是一种稳定的自由基,作为清除自由基模型之一,已被广泛用来评价各种物质清除自由基的能力,抗氧化物作为氢供体与 DPPH 结合形成稳定的非自由基,从而引起吸光度的下降。图 3 显示,以 V_c 为对照,HPS-3 在浓度为 0.05 ~ 5.00 mg/ml 范围内,对 DPPH 自由基有较强的抑制作用,且呈一定的量效关系,拟合方程为: $Y = 14.697 \ln X + 55.993$, $R^2 = 0.949$,HPS-3 与 V_c 的 IC_{50} 分别为 0.66 及 0.11 mg/ml。

2.5 HPS-3 对 H_2O_2 的清除作用 H_2O_2 能在体内通过氧化酶诱导形成,例如超氧化物歧化酶(SOD)等,它能通过细胞膜而缓慢地氧化各种物质。图 4 显示,在浓度为 0.05 ~ 5.00 mg/ml 范围内,HPS-3 对 H_2O_2 有一定的清除作用,在 5.00

mg/ml 其抑制率达到 59.32%,但比 V_c 弱;经曲线拟合得: $Y = 8.37 \ln X + 44.70$, $R^2 = 0.982$,HPS-3 与 V_c 的 IC_{50} 分别为 1.88 和 0.08 mg/ml。

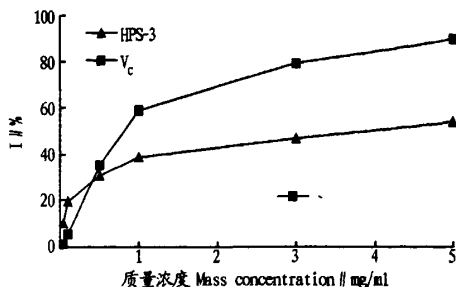


图 3 HPS-3 对 DPPH 自由基的清除作用($n=4$)

Fig.3 The scavenging effect of HPS-3 on DPPH free radical

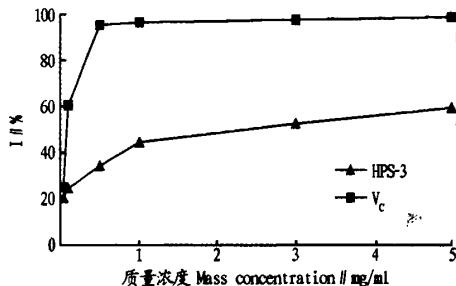


图 4 HPS-3 对 H_2O_2 的清除作用($n=4$)

Fig.4 The scavenging effect of HPS-3 on H_2O_2 free radical

3 讨论

体外试验结果表明,HPS-3 具有一定的清除自由基和抗过氧化作用,与 V_c 相比,对不同的体系,效果不尽相同,其中对 DPPH、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 有较强的抑制作用,且呈一定的量效关系;在浓度为 0.05 ~ 5.00 mg/ml 范围内,对 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 及 DPPH 的最大清除率分别为 59.32%、53.69% 和 87.66%,但比 V_c 弱;而对 O_2^- 的清除在低浓度时(< 1.00 mg/ml)较为明显,在 0.05 mg/ml 时,HPS-3 对 O_2^- 的清除率(55.92%)高于 V_c (8.31%),但随着浓度的增加其清除率逐渐降低,这是否与多糖的结构及其抗氧化作用的机理有关,还有待进一步研究。HPS-3 对自由基的清除能力趋势为: DPPH > H_2O_2 > $\cdot OH$ > O_2^- 。

红芪是甘肃特色药材,其中多糖含量较高,而红芪多糖对多种自由基有较强的清除作用,作为抗氧化剂,具有很好的开发应用前景。

参考文献

- [1] 权菊香. 红芪的药理研究进展[J]. 时珍国药研究, 1997, 8(2): 178 - 180.
- [2] 金智生, 汝亚琴. 中药红芪的实验研究进展[J]. 甘肃中医学院学报, 2003, 20(4): 52 - 56.
- [3] 宋洪涛, 郭涛, 宓鹤鸣. 天然药物中的抗氧化剂[J]. 中草药, 1991, 22(7): 331 - 334.
- [4] 张劲松, 方积年. 白术多糖的研究[J]. 药学报, 1997, 32(6): 438 - 441.
- [5] 程荷凤, 李小微, 东野广智. 化橘红水溶性多糖的化学及体外抗氧化活性的研究[J]. 化学世界, 2002(2): 84 - 93.
- [6] 范荣荣, 任涛, 刘成柏, 等. 不同溶剂提取五味子多糖体外生物活性研究[J]. 中成药, 2008, 30(3): 432 - 434.

红芪多糖的体外抗氧化活性研究

作者: [惠和平](#), [封士兰](#), [胡芳弟](#), [崔方](#), [吴玉琼](#)
作者单位: [惠和平, 胡芳弟, 崔方, 吴玉琼 \(兰州大学药学院, 甘肃兰州, 730000\)](#), [封士兰 \(兰州大学药学院, 甘肃兰州, 730000; 甘肃省新药临床前研究重点实验室, 甘肃兰州, 730000\)](#)
刊名: [安徽农业科学](#) 
英文刊名: [JOURNAL OF ANHUI AGRICULTURAL SCIENCES](#)
年, 卷(期): 2010, 38 (8)
被引用次数: 1次

参考文献(6条)

1. 范荣车;任涛;刘成柏 [不同溶剂提取五味子多糖体外生物活性研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2008 (03)
2. 程荷凤;李小凤;东野广智 [化橘红水溶性多糖的化学及体外抗氧化活性的研究](#)[期刊论文]-[化学世界](#) 2002 (02)
3. 张劲松;方积年 [白术通多糖的研究](#) 1997 (06)
4. 宋洪涛;郭涛;宓鹤鸣 [天然药物中的抗氧化剂](#) 1991 (07)
5. 金智生;汝亚琴 [中药红芪的实验研究进展](#)[期刊论文]-[甘肃中医学院学报](#) 2003 (04)
6. 权菊香 [红芪的药理研究进展](#)[期刊论文]-[时珍国药研究](#) 1997 (02)

本文读者也读过(6条)

1. [程荷凤](#), [李小凤](#), [东野广智](#) [化橘红水溶性多糖的化学及体外抗氧化活性的研究](#)[期刊论文]-[化学世界](#)2002, 43 (2)
2. [金智生](#), [李应东](#), [汝亚琴](#), [楚惠媛](#), [吴立文](#), [马骏](#), [晁梁](#), [师霞](#) [红芪多糖对糖尿病大鼠肾组织匀浆NO、NOS及过氧化脂质的影响](#)[期刊论文]-[中国中西医结合急救杂志](#)2004, 11 (3)
3. [李晓](#), [冯雷](#), [胡尊丽](#), [徐承水](#), [赵云峰](#), [LI Xiao](#), [FENG lei](#), [HU Zun-li](#), [XU Cheng-shui](#), [ZHAO Yun-feng](#) [马齿苋多糖的抗氧化活性研究](#)[期刊论文]-[中国生化药物杂志](#)2010, 31 (4)
4. [刘婷](#), [陈韩飞](#), [赵文彬](#), [李德芳](#), [王振华](#), [郑秋生](#), [陈韩英](#) [紫草多糖的体外抗氧化活性研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2010, 21 (1)
5. [惠和平](#), [封士兰](#), [赵良功](#), [石义凯](#), [刘小花](#) [红芪多糖的纯化及初步结构鉴定](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2010, 21 (9)
6. [李志刚](#), [张永琦](#), [赵健雄](#), [王学习](#), [刘忠](#) [红芪多糖HPS-3体外诱导人胃癌MGC-803细胞凋亡研究](#)[期刊论文]-[中药药理与临床](#)2007, 23 (5)

引证文献(3条)

1. [张文博](#) [植物样品成分的体外抗氧化活性方法研究进展](#)[期刊论文]-[广州化工](#) 2011 (24)
2. [何淑玲](#), [马令法](#), [常毓巍](#), [巩红冬](#), [杨敬军](#), [包富贵](#) [留茎高度对红芪生长和产量的影响](#)[期刊论文]-[湖南农业科学](#) 2011 (15)
3. [袁毅君](#), [王廷璞](#), [李蕊](#), [焦成瑾](#), [赵菲佚](#) [甘肃道地药材红芪的质量控制研究进展](#)[期刊论文]-[天水师范学院学报](#) 2010 (5)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ahnykx201008083.aspx