

红景天黄酮提取及其抗氧化活性研究

龚晓武¹, 李炳奇¹, 刘丹丹¹, 李 红², 毛雁升^{2*}

(1. 石河子大学 化学化工学院, 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学 师范学院, 新疆 石河子 832003)

摘 要: 为了对红景天黄酮提取物抗氧化作用进行研究, 采用超声法提取红景天黄酮, 通过 $\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 和 DPPH 反应体系, 研究红景天黄酮的抗氧化能力。结果表明: 当红景天黄酮质量浓度为 $0.2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 3 种自由基的清除作用均高于 50%, 且随浓度的增加其清除作用增强。红景天黄酮在体外具有良好的抗氧化活性。

关键词: 红景天; 黄酮; 提取; 抗氧化活性

中图分类号: S789.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-7461(2011)03-0136-03

Antioxidant Activity of the Flavonoid Extract from *Rhodiola rosea*

GONG Xiao-wu¹, LI Bing-qi¹, LIU Dan-dan¹, LI Hong², MAO Yan-sheng²

(1. Chemistry and Chemical Engineering College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China;
2. Normal College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: The antioxidant activity of flavonoids from *Rhodiola rosea* were studied from the aspects of DPPH free radical, hydroxyl free radical and superoxide anion. The results showed that the rate of scavenging three kinds of free radicals were all over 50% under the concentration of $0.2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, and exhibited dosage dependency, indicating that flavonoids from *R. rosea* flavonoids possessed potential antioxidant activity *in vitro*.

Key words: *Rhodiola rosea*; flavonoid; extraction; antioxidant activity

红景天属景天科植物红景天(*Rhodiola rosea*)或大花红景天(*R. crenulata*)的根及根状茎的干燥根或根茎。我国约有 80 种, 多分布于西南、西北、华北和东北地区。

现代医学研究发现, 红景天为环境适应性药物, 具有抗缺氧、抗疲劳、抗毒、抗辐射、延缓衰老、防癌、对内分泌系统具有双向调节等作用^[1-3]。目前, 植物抗氧化剂的开发受到人们的重视^[4], 红景天的抗缺氧、抗疲劳功能与其成分的抗氧化性能有关。本研究对红景天黄酮提取物进行了体外抗氧化活性研究, 为更好的开发利用红景天资源提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

主要试剂有无水乙醇、氢氧化钠、亚硝酸钠、硝

酸铝、Tris-HCl 缓冲液(pH8.2)、0.02% 双氧水、 $7\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯三酚(以 $10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCL 配制)、pH 7.4 磷酸盐缓冲溶液(PBS)、硫酸亚铁、 $1.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻二氮菲、 $2 \times 10^{-4}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH(二苯基苦基苯肼, 美国 Sigma 公司生产)。其他试剂均为国产分析纯。

主要仪器有 TDL-5 型低速台式离心机(上海隆拓仪器设备有限公司)、赛多利斯电子天平(东方嘉仪仪器有限公司)、UV-2401PC 型紫外分光光度计(日本岛津公司)、R-200 型旋转薄膜蒸发器(上海华岩仪器设备有限公司)、DL-360A 型超声波清洗器(上海之信仪器有限公司)、eppendorf 手动可调程单道移液器(德国艾本德股份公司)、SHZ-C 型循环水真空泵(河南豫华仪器有限公司)、HH-S 型恒温水浴锅(陕西太康生物科技有限公司)。

收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-05-26
基金项目: 教育部“春晖计划”项目(Z2006-1-83003)
作者简介: 龚晓武, 男, 实验师, 研究方向为天然产物化学。
* 通讯作者: 毛雁升, 男, 副教授, 研究方向为天然产物化学。E-mail: jndxzzl@163.com。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制 取 0.20 mg·mL⁻¹ 芦丁对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL，分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL，摇匀，放置 6 min；再加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL，摇匀，放置 6 min；最后加入 10% 氢氧化钠溶液 4.0 mL，用蒸馏水定容至 10 mL，摇匀，放置 15 min；以不加对照品溶液为空白。在 510 nm 处测定其吸光值，以吸光度为纵坐标，绘制标准曲线(图 1)。线性回归方程为： $Y=9.735X-0.011$ ， $R^2=0.9999$ 。

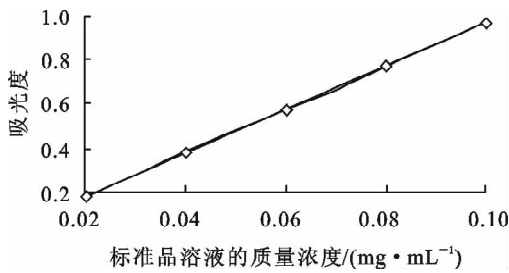


图 1 芦丁对照品标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin reference

1.2.2 红景天黄酮的提取及含量测定 将红景天置于烘箱内烘干、粉碎，分别称取粉末 30.0 g，按液料比 1：10 分别加入 75% 乙醇浸泡 30 min，超声提取 1 h，过滤后得滤液和滤渣。滤渣再按上述方法提取 2 次，合并滤液。旋转蒸发浓缩，再加入 75% 乙醇定溶至 50 mL 容量瓶，作为黄酮试液。取黄酮试液 2 mL 于 10 mL 容量瓶中，加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL，摇匀，放置 6 min；再加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL，摇匀，放置 6 min；最后加入 10% 氢氧化钠溶液 4.0 mL，用蒸馏水定容至 10 mL，摇匀，放置 15 min；在 510 nm 处测定其吸光度值，根据标准曲线计算黄酮的浓度。

1.2.3 红景天黄酮清除自由基实验 (1) 羟自由基的清除^[5]。取 2.0 mL PBS(pH7.4，下同)和 4.0 mL 蒸馏水于试管中，混匀，作为空白(空白是蒸馏水)。取 2.0 mL PBS、1.0 mL 邻二氮菲(1.5 mmol·L⁻¹，下同)、1.0 mL FeSO₄(1.5 mmol·L⁻¹，下同)和 2.0 mL 蒸馏水于试管中，混匀作未损伤管。取 2.0 mL PBS、1.0 mL 邻二氮菲、1.0 mL FeSO₄、1.0 mL 蒸馏水和 1.0 mL H₂O₂(0.02%) 于试管中，混匀，作为损伤管。取 2.0 mL PBS、1.0 mL 红景天黄酮提取液和 3.0 mL 蒸馏水于试管中，混匀，作为样品参比管。取 2.0 mL PBS、1.0 mL 邻二氮菲、1.0 mL FeSO₄、1.0 mL 红景天黄酮提取液和 1.0 mL H₂O₂ 于试管中，混匀，作为样品管。将上述试管置于恒温水槽中，37℃ 保温 60 min，于波长 536 nm 处测吸光度(A)值，每处理重复 5 次，用其

平均值按下式计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率} = \frac{[(A_{\text{样品}} - A_{\text{样参}}) - (A_{\text{损伤}} - A_{\text{空参}})]}{(A_{\text{未损}} - A_{\text{损伤}})} \times 100\%$$

(2) 超氧阴离子自由基的清除^[6]。取 Tris-HCl 缓冲溶液(50 mmol·L⁻¹，pH8.2)4.5 mL 和 0.1 mL 红景天黄酮提取液，混匀后在室温下放置 4 min，于 325 nm 处测定 3 组样品吸光度(A_j)。取 Tris-HCL 缓冲溶液 4.5 mL 和 3.0 mL 邻苯三酚(7 mmol·L⁻¹)，于 325 nm 处每隔 30 s 测邻苯三酚的吸光度(A₀)，共记录 3 min。依上法，取 Tris-HCl 缓冲溶液 4.5 mL 和 0.1 mL 红景天黄酮提取液，混匀后在室温下放置 4 min，立即加入 3 mL 邻苯三酚并开始计时，以 10 mmol·L⁻¹ HCl 为参比，于 325 nm 处每隔 30 s 测定体系的吸光度(A)，共记录 5 min。此实验重复 3 次，求其平均值。

$$\text{超氧阴离子自由基清除率} = \{1 - [(A - A_j)/A_0]\} \times 100\%$$

(3) DPPH 自由基的清除^[7]。取红景天黄酮提取液 2 mL 及浓度为 2×10⁻⁴ mol·L⁻¹ 的 DPPH 溶液 2 mL，先后加入同一具塞试管中，30 min 后以样品提取溶剂为空白调零，测定其吸光度(A_i)；测定 2 mL 浓度为 2×10⁻⁴ mol·L⁻¹ 的 DPPH 溶液与 2 mL 蒸馏水混合液的吸光度(A_c)；再测定 2 mL 红景天黄酮提取液与 2 mL 无水乙醇混合液的吸光度(A_j)。重复 5 次，求其平均值。根据下列公式计算红景天黄酮提取液对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH 自由基抑制率} = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 红景天黄酮对羟自由基的清除作用

羟自由基是活性氧中最活泼的自由基，也是毒性最大的自由基。它几乎能与活细胞中任何分子发生反应，且反应速度极快。由图 2 可知，红景天黄酮对羟自由基具有清除作用。随着反应体系中红景天黄酮浓度的增加，对羟自由基的清除作用明显增强，表明红景天黄酮清除自由基的能力与浓度呈明显的量效关系，红景天黄酮能有效地清除羟自由基。

2.2 红景天黄酮对超氧阴离子自由基的清除作用

研究结果(图 3)表明，红景天黄酮对超氧阴离子自由基具有一定的清除作用。随着红景天黄酮浓度的增加，对超氧阴离子自由基清除作用逐渐增强，但达到一定量后，其抗氧化能力没有明显增加。当质量浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 时，对超氧阴离子的清除率达 66.3%。

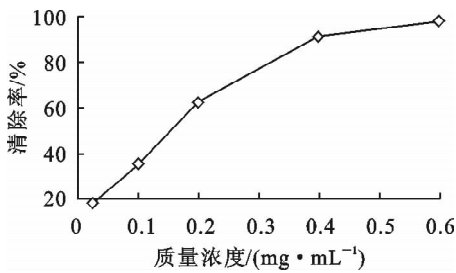


图 2 红景天黄酮对羟自由基的清除作用

Fig. 2 Effect of scavenging hydroxyl free radical with *Rhodiola* flavonoids

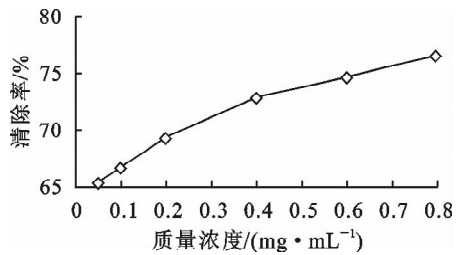


图 3 红景天黄酮对超氧阴离子自由基的清除作用

Fig. 3 Scavenging superoxide free radical with *Rhodiola* flavonoids

2.3 红景天黄酮对 DPPH 自由基的清除作用

由图 4 可知,红景天黄酮对 DPPH 自由基具有明显的清除作用,清除效果随着红景天黄酮浓度的增加而增大,当质量浓度为 0.1 mg · mL⁻¹时,红景天黄酮对 DPPH 自由基的清除率高达 91.64%。

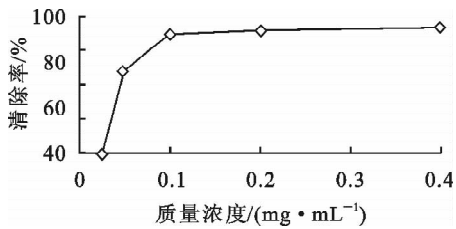


图 4 红景天黄酮对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 4 Scavenging DPPH free radical with *Rhodiola* flavonoids

3 结论

通过对羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基清除作用的研究发现,红景天黄酮对 3 种自由基的清除作用随着浓度的增加而增大,呈明显的量效关系。这种抗氧化能力来自于其酚羟基的供氢或供电子能力,从而与活性氧发生氧化还原反应。红景天黄酮对 3 种自由基均具有良好的清除作用。

参考文献:

[1] KURKIN V A. The chemical composition and pharmacological properties of rhodiola plants [J]. Pharm Chem J, 2003, 20 (10):1237.

[2] 赵文,蒋雪. 红景天植物的生物活性研究概况[J]. 卫生毒理学杂志,2001,15(1):55-57.

[3] 龚云. 红景天与运动性疲劳[J]. 西北师范大学学报:自然科学版,2001,37(3):110-114.

GONG Y. Rhodiola and exercise-induced fatigue[J]. Journal of Northwest Normal University: Natural Science Edition, 2001, 37(3):110-114.

[4] 王林丽. 红景天及复方制剂药理和临床研究进展[J]. 中医学报,2003,31(1):51-53.

[5] 蔡仲军,陈仕江,伊定华,等. 不同产地冬虫夏草清除羟自由基作用的研究[J]. 中草药,2004, 35(1):57-59.

CAI Z J, CHEN S J, YI D H, et al. Scavenging effect of cordyceps growing in different environment on hydroxyl radical [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2004, 35(1):57-59.

[6] 李明静,庆伟霞,杨玉霞,等. 七种天然黄酮类化合物对超氧阴离子自由基的清除活性[J]. 化学研究,2006,17(4):70-72.

LI M J, QING W X, YANG Y X, et al. Scavenging activities of seven natural flavonoids for superoxide anion radicals[J]. Chemical Research, 2006,17(4):70-72.

[7] CHOI C W, KIM S C, HWANG S S, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay guided comparison[J]. Plant Science, 2002, 163: 1161-1168.