

虎杖根茎中蒽醌类成分的体外抗氧化活性

王桂芹^①, 郑玉华, 钱进芳

(安徽科技学院生命科学学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要: 采用超声波提取法用体积分数 80% 乙醇对虎杖 (*Reynoutria japonica* Houtt.) 根茎中的蒽醌类成分进行粗提, 并利用 D101 大孔吸附树脂对粗提液进行纯化。以 V_c 为阳性对照, 采用体外动物实验研究了虎杖根茎中蒽醌类成分对小白鼠肝组织匀浆中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-px) 活力及对 H_2O_2 诱导的 MDA 含量和红细胞氧化溶血的影响, 并采用化学模拟体系分析了其对 DPPH· 自由基的清除能力、对 Fe^{3+} 的还原能力以及与 Fe^{2+} 的螯合能力。结果表明: 虎杖根茎中蒽醌类成分含量丰富, 粗提物含量达到 $55.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 纯化后含量达到 $44.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。质量浓度 10、20、30 和 $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蒽醌类成分可显著增强 GSH-px 活力、降低由 H_2O_2 诱导产生的 MDA 含量, 并对 H_2O_2 诱导产生的红细胞氧化溶血有较强的抑制作用; 质量浓度 2、4、6 和 $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蒽醌类成分对 DPPH· 自由基具有良好的清除能力, 质量浓度 6、8、12 和 $16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蒽醌类成分对 Fe^{3+} 具有较强的还原能力, 而质量浓度 5、10、15 和 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蒽醌类成分对 Fe^{2+} 则具有很强的螯合能力。随质量浓度的提高, 虎杖蒽醌类成分及阳性对照 V_c 的各项抗氧化活性指标均逐渐增强, 呈现出明显的量效关系, 且虎杖根茎中蒽醌类成分的各项抗氧化指标均优于相同质量浓度的 V_c 。研究结果显示: 虎杖根茎中的蒽醌类成分具有较强的抗氧化活性, 不仅能够直接清除过量的自由基, 也可以通过增强体内的抗氧化系统以抑制自由基的产生。结合他人研究结果, 对虎杖资源的开发利用提出了一些建议。

关键词: 虎杖; 根茎; 蒽醌类成分; 抗氧化活性; V_c

中图分类号: Q949.9; S567.23+9.099 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2011)02-0043-06

In vitro antioxidant activity of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* WANG Gui-qin^①, ZHENG Yu-hua, QIAN Jin-fang (Life Science College, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2011, 20(2): 43-48

Abstract: Anthraquinones were extracted crudely from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. by ultrasonic extraction method with 80% ethanol, and crude extract solution was purified with D101 macroporous resin. Using V_c as positive control, the effects of the anthraquinones on GSH-px activity in liver tissue homogenate of mouse and MDA content and oxidative hemolysis of red blood cells induced by H_2O_2 were studied by *in vitro* animal experiment, and its scavenging ability to DPPH· free radical, reduction ability to Fe^{3+} and chelating ability to Fe^{2+} were analyzed by chemical simulated system. The results show that anthraquinones are rich in rhizome of *R. japonica*, the content of crude extracts is $55.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, and the content is $44.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ after purified. Anthraquinones with concentrations of 10, 20, 30 and $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ can obviously enhance GSH-px activity, decrease MDA content induced by H_2O_2 and have strongly inhibition on oxidative hemolysis of red blood cells induced by H_2O_2 . Anthraquinones with concentrations of 2, 4, 6 and $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ have better scavenging ability to DPPH· free radical, those with 6, 8, 12 and $16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ have stronger reduction ability to Fe^{3+} and those with 5, 10, 15 and $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ have stronger chelating ability to Fe^{2+} . With enhancing of concentration, the antioxidant activity indexes of anthraquinones and the positive control V_c all are enhanced gradually and appear obvious dose-effect relationship, and those of anthraquinones all are better than those of V_c in the same concentration level. It is concluded that anthraquinones from rhizome of *R. japonica* have stronger

收稿日期: 2010-12-06

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金重点项目(200KJ165B;KJ2008B07ZC); 安徽科技学院引进人才资助项目(ZRC200436)

作者简介: 王桂芹(1954—), 女, 内蒙古赤峰人, 本科, 教授, 主要从事药用植物结构及植物活性物质的开发与利用研究。

^①通信作者 E-mail: wgg6112@sina.com

antioxidant activity, not only can directly remove excess free radicals, but also inhibit free radical production by enhancing antioxidant systems *in vivo*. Combining with other research results, some suggestions are put forward for exploitation and utilization of *R. japonica* resources.

Key words: *Reynoutria japonica* Hoult.; rhizome; anthraquinones; antioxidant activity; V_C

衰老的自由基学说是1956年提出的,此后,人们逐步认识到人体的衰老以及许多疾病都与体内氧化过程中产生的自由基有关^[1]。过剩的自由基可作用于血液、细胞、组织等,产生脂质过氧化物,这些过氧化物可以使细胞膜丧失功能,造成细胞活力下降、组织器官功能衰退。细胞内自由基产生的损伤可以导致癌症、心血管疾病和免疫系统衰退等多种退变性疾病^[2]。因此,补充外源性抗氧化物对人体健康非常重要,其中以天然抗氧化物为佳^[3]。

虎杖(*Reynoutria japonica* Hoult.)隶属于蓼科(Polygonaceae)虎杖属(*Reynoutria* Hoult.),为多年生草本植物,其根茎可药用,具有活血、散瘀、通经及镇咳等功效^[4]。虎杖体内含有多种生物活性物质,蒽醌类化合物是其主要成分之一^[5]。目前,关于虎杖的研究多集中于总蒽醌和白藜芦醇的提取及分布规律方面^[6],有关虎杖体内蒽醌类成分抗氧化活性方面的研究鲜见报道。

鉴于此,作者通过体外实验体系对虎杖根茎中蒽醌类成分的抗氧化活性进行了研究,以期对虎杖资源的深度开发和利用提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试新鲜虎杖根茎取自安徽科技学院药用植物园;所用小白鼠(*Mus musculus* Albus)由安徽科技学院动物科学学院提供。

所用仪器有:GL-20G-11型高速冷冻离心机(上海安亭仪器厂生产)、FA2004型电子天平(上海天平仪器厂生产)和7230G可见分光光度计(上海分析仪器厂生产)。

主要试剂有:1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH·)(Sigma公司产品)、菲咯嗪(Ferrozine)(Fluka公司产品)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-px)试剂盒及丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所生产)、1,8-二羟基蒽醌(批号:0829-9702,由中国药品生物制品鉴定所提供),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 蒽醌类成分的提取、纯化和含量测定方法

1.2.1.1 标准曲线的制作 准确称量1,8-二羟基蒽醌5.00 mg,用乙醚溶解并定容至50 mL,配成质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。精密吸取对照品溶液0.00(CK)、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00和1.20 mL,于60℃水浴中蒸除乙醚,用质量分数0.5%乙酸镁-甲醇溶液溶解并定容至10 mL。摇匀,于波长510 nm处测定溶液的吸光值。以对照品质量浓度为横坐标 x 、吸光值为纵坐标 y 绘制标准曲线。

1.2.1.2 蒽醌类成分的提取与纯化 将虎杖的新鲜根茎用自来水洗净、切片,于55℃电热恒温鼓风干燥箱中干燥至恒质量,粉碎并过40目筛。共取10 g干粉,按照1 g干粉加45 mL的比例加入体积分数80%乙醇,混合后置于40℃条件下超声提取30 min,4 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,上清液即为蒽醌类成分的粗提液。

采用D101大孔吸附树脂对粗提液进行纯化。参照文献[7]的方法对大孔吸附树脂进行预处理,然后加入15倍树脂床体积的粗提液,参照文献[8]的方法洗脱,洗脱液流速 $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。此过程中使用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH溶液进行跟踪检测,收集所有活性洗脱液,混合均匀后作为待测液。按照标准曲线的测定方法测定待测液的吸光值并根据标准品的回归方程计算出待测液中蒽醌类成分的质量浓度。

1.2.2 体外抗氧化活性测定方法

1.2.2.1 肝组织匀浆中GSH-px活力的测定 按照文献[9]的方法制备小白鼠肝组织匀浆,取上清液,−20℃保存、备用。分别取肝组织匀浆上清液280 μL ,各加入质量浓度10、20、30和40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测液40 μL (用蒸馏水配制),阳性对照则各加入质量浓度10、20、30和40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ V_C 溶液40 μL 。参照文献[9]的实验流程及试剂盒说明书上的操作方法及计算公式测定和计算GSH-px活力。实验重复3次。

1.2.2.2 H_2O_2 诱导的MDA含量的测定 分别取小白鼠肝组织匀浆上清液1.2 mL,各加入质量浓度为10、20、30和40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的待测液0.2 mL(用双蒸

水配制),阳性对照则各加入质量浓度 10、20、30 和 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_c 溶液 0.2 mL,参照文献[9]的实验流程及试剂盒说明书上的操作方法和计算公式测定并计算 MDA 含量。实验重复 3 次。

1.2.2.3 对 H_2O_2 诱导的红细胞(RBC)氧化溶血抑制率的测定 按照文献[10]的方法制备体积分数为 0.5% 的红细胞悬液。取 0.5% 红细胞悬液 1 mL 和 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 溶液 0.1 mL,分别加入 0.05 mL 质量浓度 10、20、30 和 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的待测液(用生理盐水配制),阳性对照则分别加入 0.05 mL 质量浓度 10、20、30 和 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_c 溶液,阴性对照仅加入 0.05 mL 生理盐水,参照文献[10]的实验流程进行操作并测定溶液在波长 415 nm 处的吸光值,计算溶血抑制率。抑制率 = $[(A_0 - A)/A_0] \times 100\%$,式中: A_0 为阴性对照的吸光值; A 为待测液或阳性对照的吸光值。实验重复 3 次。

1.2.2.4 对 DPPH· 自由基清除能力的测定 取 1 mL 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPPH·,分别加入 0.1 mL 质量浓度 2、4、6 和 8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测液(用体积分数 70% 乙醇配制),阳性对照则分别加入 2、4、6 和 8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_c 溶液 0.1 mL,以 0.1 mL 体积分数 70% 乙醇为阴性对照,参照文献[11]的实验流程操作并于波长 517 nm 处测定吸光值,根据吸光值计算 DPPH· 自由基的清除率。清除率 = $[(A_0 - A)/A_0] \times 100\%$,式中: A_0 为阴性对照的吸光值; A 为待测液或阳性对照的吸光值。实验重复 3 次。

1.2.2.5 对 Fe^{3+} 还原能力的测定 采用普鲁士蓝法^[12]进行测定。分别取 1 mL 质量浓度为 6、8、12 和 16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的待测液(用体积分数 70% 乙醇配制),阳性对照则分别取 1 mL 6、8、12 和 16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_c 溶液,参照文献[12]的实验流程操作并于波长 700 nm 处测定溶液的吸光值。实验重复 3 次。

1.2.2.6 与 Fe^{2+} 的螯合能力测定 采用 Decker 等的方法^[13]进行测定。在各试管中加入 2 mL 质量浓度为 5、10、15 和 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的待测液(用体积分数 70% 乙醇配制),阳性对照分别加入 2 mL 5、10、15 和 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 V_c 溶液,阴性对照则加入 2 mL 体积分数 70% 乙醇,参照文献[13]的实验流程进行操作并于波长 562 nm 处测定吸光值,根据吸光值计算螯合率。螯合率 = $[(A_0 - A)/A_0] \times 100\%$,式中: A_0 为阴性对照的吸光值; A 为待测液或阳性对照的吸光值。实验重复 3 次。

1.3 统计分析

采用 SPSS 软件进行差异显著性检验。

2 结果和分析

2.1 虎杖根茎中蒽醌类成分的含量

测定结果显示:1,8-二羟基蒽醌标准曲线的回归方程为 $y = 0.9307x + 0.102$ ($R^2 = 0.9987$),根据该回归方程计算得到的虎杖根茎中蒽醌类成分粗提物的含量为 55.86 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,经大孔吸附树脂分离纯化后其含量为 44.77 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。与含蒽醌类成分的唐古特大黄(*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.)、决明(*Cassia tora* L.)、芦荟[*Aloe vera* (L.) N. L. Burman var. *chinensis* (Haw.) Berg.]等植物相比^[14-16],虎杖根茎中蒽醌类成分含量较高。方法学考察结果显示:本研究采用的标准曲线测定方法精密度良好、重复性高,在 2 h 内基本保持稳定,适用于虎杖根茎中蒽醌类成分的测定。

2.2 虎杖根茎中蒽醌类成分的体外抗氧化活性分析

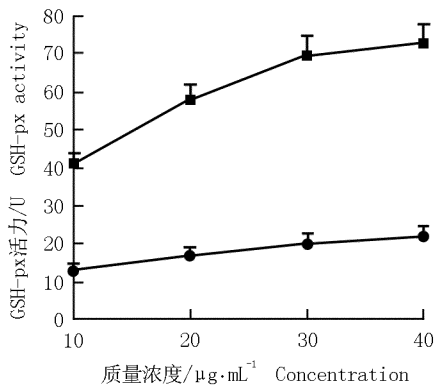
2.2.1 对 GSH-px 活力的增加作用 GSH-px 是动物体内存在的一种含硒的清除自由基和抑制自由基反应的酶系,如果机体内 GSH-px 等酶的含量不足,体内就会产生过多的羟自由基^[17],因此,GSH-px 含量是衡量机体抗氧化能力大小的重要指标之一。来源于虎杖根茎的蒽醌类成分对小白鼠肝组织匀浆中 GSH-px 活力的影响结果见图 1。

由图 1 可知:与阳性对照(V_c)相比,不同质量浓度的蒽醌类成分均可显著增强小白鼠肝组织匀浆中 GSH-px 的活力;在质量浓度相同的条件下,蒽醌类成分对 GSH-px 活力的增强效果均明显高于 V_c ,且低质量浓度(10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的蒽醌类成分对 GSH-px 活力的增强效果已经十分明显;随质量浓度的提高,蒽醌类成分和 V_c 各处理组的 GSH-px 活力均逐渐升高,但蒽醌类成分处理组的 GSH-px 活力增加幅度大于 V_c 。当质量浓度为 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,蒽醌类成分处理组 GSH-px 活力最高,是 V_c 的 3.3 倍。

2.2.2 对 H_2O_2 诱导的 MDA 含量的降低作用 作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的产物,MDA 含量的变化可间接反映机体组织中氧化自由基含量的变化^[18],因此,MDA 含量的高低能够反映机体细胞受到氧化自由基攻击的严重程度。虎杖根茎中的蒽醌类成分对 H_2O_2 诱导的 MDA 含量

的影响结果见图2。

由图2可知:随着蒽醌类成分质量浓度的提高,MDA含量逐渐减少,表明蒽醌类成分的抗氧化活性逐渐增强,机体细胞受到的损伤程度逐渐减小,阳性对照(V_C)组的MDA含量也表现出相同的变化趋势。在质量浓度相同的条件下, V_C 组的MDA含量均明显



—■— 蒽醌类成分 Anthraquinones; —●— V_C .

图1 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对肝组织匀浆中 GSH-px 活性的影响

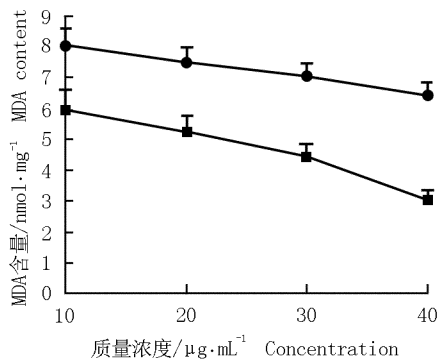
Fig. 1 Effect of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C on GSH-px activity in liver tissue homogenate

2.2.3 对 H_2O_2 诱导的红细胞(RBC)氧化溶血的抑制作用 过多的氧自由基会导致红细胞膜破裂,使其内的血红蛋白释放出来,从而损伤红细胞,引起某些疾病或衰老^[19]。虎杖根茎中的蒽醌类成分对 H_2O_2 诱导的红细胞(RBC)氧化溶血的影响见图3。

由图3可知:与阳性对照(V_C)组相比,虎杖根茎中的蒽醌类成分能明显抑制 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血,且这种作用呈明显的量效关系,即随质量浓度的提高,蒽醌类成分对 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的抑制率均逐渐增加。随质量浓度的提高, V_C 组的抑制率也逐渐增加,但增加幅度明显小于蒽醌类成分;且在质量浓度相同的条件下,蒽醌类成分对 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的抑制效果明显优于 V_C ,当质量浓度为 $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,蒽醌类成分处理组的抑制率最高,是 V_C 的 1.8 倍。说明虎杖根茎中的蒽醌类成分对 H_2O_2 导致的红细胞氧化应激损伤有较明显的保护作用,且这种保护效应大于 V_C 。

2.2.4 对 DPPH· 自由基的清除能力 虎杖根茎中的蒽醌类成分对 DPPH· 自由基的清除率见图4。在一定浓度范围内,虎杖根茎中的蒽醌类成分对 DPPH· 自由

高于相应质量浓度的蒽醌类成分处理组,其中当质量浓度为 $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, V_C 组的 MDA 含量与蒽醌类成分处理组差异最大,是后者的 2.1 倍。说明虎杖根茎中的蒽醌类成分对 MDA 含量的抑制作用大于 V_C ,也说明其抗氧化活性高于 V_C 。



—■— 蒽醌类成分 Anthraquinones; —●— V_C .

图2 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 H_2O_2 诱导的 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effect of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C on MDA content induced by H_2O_2

基具有明显的清除作用且呈现较好的量效关系,即蒽醌类成分的质量浓度与 DPPH· 自由基的清除率成正比,而阳性对照(V_C)也具有类似的趋势,即随质量浓度的提高,蒽醌类成分和 V_C 对 DPPH· 自由基的清除率均逐渐增加,但蒽醌类成分处理组清除率的增加幅度大于 V_C 组;且在质量浓度相同的条件下,蒽醌类成分对 DPPH· 自由基的清除率均高于 V_C 。当质量浓度为 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,蒽醌类成分对 DPPH· 的清除率最高,是 V_C 的 1.3 倍。表明虎杖根茎中的蒽醌类成分对 DPPH· 自由基的清除效果强于 V_C 。

2.2.5 对 Fe^{3+} 的还原能力 还原力是反映抗氧化物质提供电子能力的重要指标之一,物质的还原力越强,说明其抗氧化能力越强^[12]。通常情况下,抗氧化剂的吸光值越大表示还原力越强。根据实验结果(图5)可知:随质量浓度的提高,虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 Fe^{3+} 的还原能力均逐渐增加,且在相同质量浓度条件下,蒽醌类成分反应液的吸光值均明显高于阳性对照 V_C ,当质量浓度为 $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,蒽醌类成分对 Fe^{3+} 的还原能力最强,反应液吸光值是 V_C 的 1.6 倍。说明虎杖根茎中的蒽醌类成分对 Fe^{3+} 的还原

能力高于 V_C 。

2.2.6 与 Fe^{2+} 的螯合能力 Fe^{2+} 可以催化脂质过氧化并能和活性氧反应产生羟基自由基,从而破坏生物体内的生物大分子,造成细胞或组织氧化损伤,因此,与 Fe^{2+} 的螯合能力也是评价抗氧化剂活性的重要指标之一。Ferrozine 试剂能够与 Fe^{2+} 反应生成紫红色

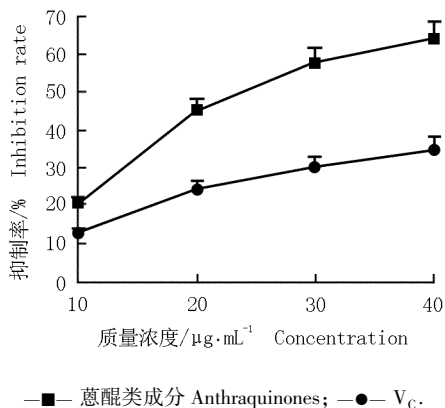


图3 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 H_2O_2 诱导的红细胞 (RBC) 氧化溶血的抑制率

Fig. 3 Inhibition rate of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C to oxidative hemolysis of red blood cells (RBC) induced by H_2O_2

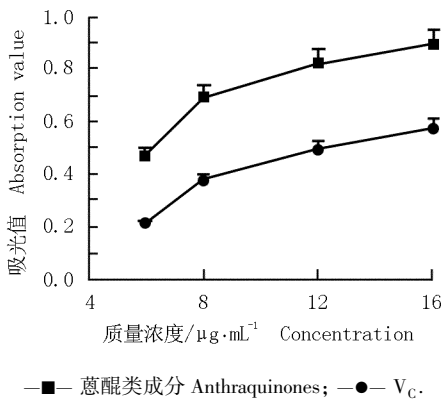


图5 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 Fe^{3+} 的还原能力
Fig. 5 Reduction ability of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C to Fe^{3+}

由图6可见:随质量浓度的提高,虎杖根茎中的蒽醌类成分及 V_C 与 Fe^{2+} 的螯合率均逐渐增加;且在质量浓度相同的条件下,蒽醌类成分与 Fe^{2+} 的螯合率均大于 V_C 与 Fe^{2+} 的螯合率;当质量浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,蒽醌类成分对 Fe^{2+} 的螯合能力最强,螯合率是 V_C 的1.1倍。表明虎杖根茎中的蒽醌类成分对 Fe^{2+} 具有较强的螯合能力,且这种螯合能力强于 V_C 。

络合物,当反应体系中存在抗氧化剂时,部分 Fe^{2+} 被抗氧化剂螯合,使得络合物的颜色变浅,故通过络合物颜色的变化,可以评价抗氧化剂与 Fe^{2+} 的螯合能力。采用此方法测定的虎杖根茎中的蒽醌类成分及阳性对照 V_C 与 Fe^{2+} 的螯合能力见图6。

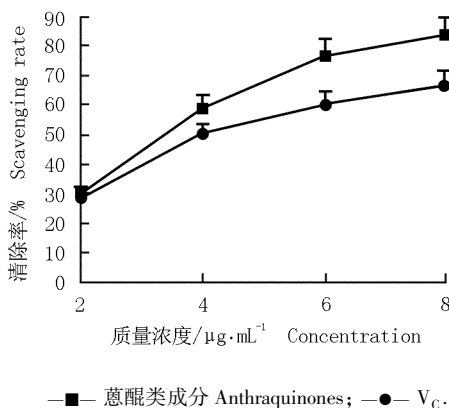


图4 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 $DPPH\cdot$ 自由基的清除率
Fig. 4 Scavenging rate of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C to $DPPH\cdot$ free radical

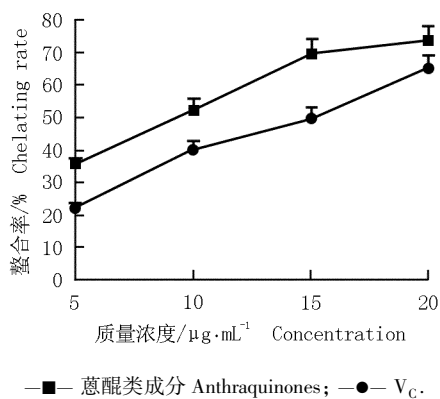


图6 虎杖根茎中的蒽醌类成分和 V_C 对 Fe^{2+} 的螯合能力
Fig. 6 Chelating ability of anthraquinones from rhizome of *Reynoutria japonica* Houtt. and V_C to Fe^{2+}

3 讨论和结论

研究结果表明:虎杖根茎中的蒽醌类成分具有增强小白鼠肝组织匀浆中 $GSH\text{-px}$ 活力、抑制 H_2O_2 诱导的 MDA 含量和红细胞氧化溶血、清除 $DPPH\cdot$ 自由基的作用,同时还具有较强的对 Fe^{3+} 的还原能力以及与

Fe²⁺的螯合能力。虎杖根茎中蒽醌类成分对细胞膜的保护作用可能与蒽醌类成分和膜上的蛋白质结合有关,这在一定程度上延缓由细胞膜损伤导致的溶血现象。但由于实验中使用的血红细胞是经过分级离心获得的,其环境与动物体内已有较大差异,因此,低质量浓度时能够与细胞膜蛋白质结合的蒽醌类成分较少,故氧化溶血现象较易发生。由于 DPPH· 有 1 个游离电子并在波长 517 nm 处有较强的吸收,其乙醇溶液呈深紫色,但是若有其他物质提供 1 个电子与 DPPH· 上的游离电子配对,其色泽将会消退,褪色程度与其接受的电子呈定量关系^[20],也就表现出对 DPPH· 的清除率,由于在较低质量浓度条件下蒽醌类成分能够给出的电子数目有限,因此,只表现出较弱的清除 DPPH· 自由基的能力。研究结果还表明:虎杖根茎中蒽醌类成分的抗氧化活性与其含量表现出高度的相关性,均随其质量浓度的提高而增加,且其作用效果均优于阳性对照 V_c,表明来源于虎杖根茎中的蒽醌类成分具有很强的体外抗氧化活性。

生物体内的抗氧化作用与提高机体内源性抗氧化酶活性及清除自由基有关^[21]。虎杖根茎中的蒽醌类成分通过 2 条途径实现抗氧化作用。一是具有较强的自由基清除能力,能够直接清除过量的自由基,在化学上具有降低过氧化自由基的有效浓度以及打断脂质过氧化链反应的作用;二是通过增强细胞内的抗氧化系统活性以抑制自由基的产生。

虎杖根茎中的蒽醌类成分含量十分丰富,粗提物含量为 55.86 mg · g⁻¹。蒽醌类成分主要含有大黄素、大黄素甲醚、大黄酚、蒽苷 A 和蒽苷 B 等多种成分^[5],其中的哪些成分在抗氧化活性方面发挥主要作用还有待进一步探讨。有文献报道:蒽醌类成分不仅存在于虎杖的根茎中,在其幼叶内含量也很丰富,含量仅次于根茎^[5]。因此,作为天然抗氧化剂,虎杖根茎所含的蒽醌类成分具有很好的开发潜力,而且从合理利用及保护野生资源的角度考虑,也应对虎杖地上部分的抗氧化活性加以深入研究,扩大和提高虎杖资源的利用率。

参考文献:

[1] Saltman P. Oxidative stress: a radical view[J]. *Seminars in Hematology*, 1989, 26(4): 249-256.

- [2] Jiang S H, Wang C L, Chen Z Q, et al. Antioxidant properties of the extract and subfractions from old leaves of *Toona sinensis* Roem (Meliaceae) [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2009, 33(3): 425-441.
- [3] 申海进,郭巧生,房海灵. 野菊花 60% 乙醇提取物的酚类成分组成及其清除自由基和防霉变能力分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2010, 19(1): 20-25.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第二十五卷第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 105-106.
- [5] 夏海武,吕柳新. 虎杖不同部位白藜芦醇含量的分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2005, 14(3): 55-56.
- [6] 么春艳,刘文哲. 虎杖营养器官蒽醌类化合物含量的季节变化[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(1): 179-182.
- [7] 刘丹,汤海峰,张三奇,等. 大孔吸附树脂吸附纯化虎杖有效部位的研究[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(11): 1019-1024.
- [8] 黄园,徐雄良,张志荣,等. 大黄总蒽醌纯化工艺的研究[J]. *中成药*, 2003, 25(10): 783-785.
- [9] 夏道宗,励建荣,刘杰尔,等. 高良姜总黄酮的超声萃取及其体外抗氧化作用研究[J]. *中国食品学报*, 2009, 9(3): 63-69.
- [10] 刘培勋,高小荣,徐文清,等. 银耳碱提多糖抗氧化活性的研究[J]. *中药药理与临床*, 2005, 21(4): 35-37.
- [11] 张强,周正义,储俊,等. 大蒜、生姜、洋葱醇提物抗氧化活性的比较[J]. *食品与发酵科技*, 2010, 46(1): 93-96.
- [12] 王海敏,虞海霞,董蕊,等. 苕子蜜总酚酸和总黄酮含量测定及抗氧化活性的研究[J]. *食品科学*, 2010, 31(1): 54-57.
- [13] Decker E A, Welch B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38(3): 674-677.
- [14] 车国冬,李玉林,王凌云,等. 栽培唐古特大黄蒽醌含量的季节动态变化[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(11): 2378-2382.
- [15] 黎海彬,方昆阳,李续娥. 中药决明子蒽醌类成分含量测定的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(7): 427-429.
- [16] 王红星,古红梅,支君. 3 种芦荟蒽醌类物质含量的比较[J]. *周口师范学院学报*, 2010, 27(2): 81-83.
- [17] 沈启良. 参术片抗氧化作用的实验研究[J]. *中医学报*, 2010, 25(3): 481-482.
- [18] Amemiya S, Kamiya T, Nito C, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2005, 516(2): 125-130.
- [19] 施建敏,俞志雄,庞会忠,等. 华木莲叶黄酮类化合物抗氧化作用[J]. *江西农业大学学报*, 2006, 28(5): 693-697.
- [20] Cotellet N, Bernier J L, Cateau J P, et al. Antioxidant properties of hydroxy-flavones[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1996, 20(1): 35-43.
- [21] 方允中,郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 752-758.