

辣椒碱体外抗氧化作用研究

Antioxidant activity of capsaicin in vitro

刘 安 王 振 刘林峰 向 奕 肖文军
LIU An WANG Zhen LIU Lin-feng XIANG Yi XIAO Wen-jun

(湖南农业大学国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128)

(National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients,
Hunan Agriculture University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:以辣椒碱标准品为原料, Vc 为阳性对照, 采取体外抗氧化试验模型研究其抗氧化活性。通过分析辣椒碱的还原力和清除 DPPH 自由基(DPPH·)、超氧阴离子自由基($O_2^-·$)、亚硝基以及羟自由基($·OH$)的能力, 探讨辣椒碱的体外抗氧化性能。结果表明, 辣椒碱的还原能力以及对 DPPH·、亚硝基以及 $·OH$ 的清除率随质量浓度的增加而升高, 且清除效果与 Vc 基本相近, 但对 $O_2^-·$ 的清除率较低; 辣椒碱对 DPPH·、亚硝基以及 $·OH$ 的 IC_{50} 分别为 0.02, 0.15, 0.28 mg/mL, 说明辣椒碱清除 DPPH· 的效果较好。

关键词:辣椒碱; 体外抗氧化; 还原力; 自由基

Abstract: The antioxidant activity of capsaicin was evaluated through building antioxidant experiment model in vitro, taking capsaicin monomer as standard sample, and Vc as the contrast. By analyzing the reducing power of capsaicin and scavenging experiments on the DPPH radical, superoxide anion radical ($O_2^-·$), nitroso and hydroxyl radical ($·OH$), discussed capsaicin the antioxidant properties. The results showed that: reducing power of capsaicin increased with mass concentration increasing, and the DPPH radical, nitroso and clearance rate of $·OH$ with mass concentration increasing, and the scavenging effect and Vc basically similar, but with lower clearance to $O_2^-·$; the clearance of capsaicin to DPPH·, nitroso and IC_{50} of $·OH$ were 0.02 mg/mL, 0.15 mg/mL, 0.28 mg/mL, respectively. The result suggested that capsaicin had good clearance on DPPH.

Keywords: capsaicin monomer; antioxidant effects; reducing power; free radicals

辣椒为茄科辣椒属一年生草本植物, 是中国一种重要的蔬菜作物, 主要分布在湖南、湖北、江西、四川等省^[1], 年种植

面积达 125~130 万 hm^2 。辣椒营养丰富, 除蛋白质、碳水化合物、人体必需微量元素(钙、铁等)以及 Vc 等外, 其胎座及果肉中辣椒碱含量达 0.2%~1.0%^[2-3]。辣椒碱化学名为 8-甲基-N-香草基-(反)-6-壬烯酰胺($C_{18}H_{27}NO_3$), 是一类香草酰胺生物碱, 具有多种生物活性, 目前主要用作健胃消食剂、预防心脏病药、减肥药、杀虫剂、涂料^[4]以及外用止痛剂、戒毒镇痛剂、止痒剂等^[5]。研究表明, 辣椒碱可使伤害性神经元脱敏而有止痛消炎的效果^[6], 还能抑制血小板聚集^[7], 对降血压、防止动脉粥样硬化也起了重要作用^[8]。炎症与动脉粥样硬化等疾病的发生与自由基有着密切的关系, 因此, 辣椒碱很有可能具有良好的抗氧化活性。已有的研究中, 李宇等^[9]仅用邻苯三酚法测定了辣椒碱对超氧阴离子的清除作用, 以及聂乾忠等^[10]探究了辣椒碱对高脂血症大鼠体内抗氧化酶类活性的影响, 但都没有系统地进行辣椒碱体外抗氧化试验, 不能系统地评定辣椒碱的体外抗氧化性。本研究拟以 Vc 为阳性对照, 通过分析辣椒碱的还原力和清除 DPPH 自由基(DPPH·)、超氧阴离子自由基($O_2^-·$)、亚硝基以及羟自由基($·OH$)能力, 系统探讨辣椒碱体外抗氧化作用的性能, 以期对辣椒碱的高效利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

辣椒碱对照品: 纯度 $\geq 98\%$ (HPLC 检测), 上海士锋生物科技有限公司;

Vc: 西陇化工股份有限公司。

1.1.2 试剂

铁氰化钾、水杨酸、焦性没食子酸(邻苯三酚)、无水对氨基苯磺酸、30%过氧化氢、氯化高铁、硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、无水乙醇、浓盐酸; 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH): 分析纯, 东京化工工业株式会社;

基金项目:湖南省科技重大专项(编号: 2015NK1003)

作者简介: 刘安(1994—), 女, 湖南农业大学在读硕士研究生。

E-mail: 416227653@qq.com

通讯作者: 肖文军

收稿日期: 2015-07-10

N-1-萘乙二胺盐酸盐:分析纯,天津市化学试剂研究所;
三氯乙酸:分析纯,上海三爱思试剂有限公司;
(羟甲基)氨基甲烷(Tris):分析纯,长沙市迈科为生物
科技有限公司;
亚硝酸钠:分析纯,广州化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

电热鼓风干燥箱:101-1AB 型,北京中兴伟业仪器有
限公司;
电热恒温水箱:HH·W21·600 型,上海启前电子科技
有限公司;
电子天平:FA2104S 型,上海恒平科学仪器有限公司;
超声波清洗器:KQ3200E 型,昆山市超声仪器有限
公司;
紫外可见分光光度计:WFZ UV-2102PCS 型,尤尼柯
(上海)仪器有限公司;
大容量离心机:DD5 型,西安禾普生物科技有限公司。

1.3 辣椒碱体外抗氧化性能的测定

1.3.1 DPPH·清除能力测定 将 1 mg/mL 辣椒碱标准品
溶液用无水乙醇分别稀释成质量浓度为 0.03,0.06,0.09,
0.12,0.15 mg/mL。其试验操作及计算公式见文献[11]。
1.3.2 亚硝基清除能力测定 将 1 mg/mL 辣椒碱标准品溶
液用无水乙醇分别稀释成质量浓度为 0.05,0.15,0.30,0.45,
0.60 mg/mL 溶液。其试验操作及计算公式见文献[12]。
1.3.3 羟自由基清除率测定 将 1 mg/mL 的辣椒碱标准
品溶液用无水乙醇分别稀释成质量浓度为 0.15,0.30,0.45,
0.60,0.75 mg/mL 的辣椒碱标准溶液。其试验操作及计算
公式见文献[13]。
1.3.4 超氧阴离子清除能力测定 将 1 mg/mL 的辣椒碱
标准品溶液用无水乙醇分别稀释成质量浓度为 0.15,0.30,
0.45,0.60,0.75mg/mL 的辣椒碱溶液。其试验操作及计算
公式见文献[14]。
1.3.5 总还原能力测定 将 1 mg/mL 的辣椒碱标准品溶
液用无水乙醇分别稀释成质量浓度为 0.15,0.30,0.45,
0.60,0.75 mg/mL 的辣椒碱溶液。其试验操作及计算公式
见文献[15]。

2 结果与分析

2.1 辣椒碱对 DPPH·清除作用

由图 1 可知,在 0.02~0.15 mg/mL 的浓度范围内,Vc
对 DPPH·的清除率基本上没有变化,一直大于 95%。而辣
椒碱表现出了良好的线性关系,随着辣椒碱溶液质量浓度
的增加,对 DPPH·的清除能力逐渐增大,最终稳定在 80%左
右。辣椒碱清除 DPPH·的 IC_{50} 为 0.02 mg/mL。辣椒碱对
DPPH·良好的清除效果,是因为其所具有的酚羟基可有效
捕捉氢原子,并且将氢原子供给 DPPH·,而酚羟基自身转
变为酚氧自由基。并且酚与连接苯环的 p- π 共轭作用可稳
定酚氧自由基,降低了自动氧化链反应的传递,抑制了进
一步的氧化^[16]。

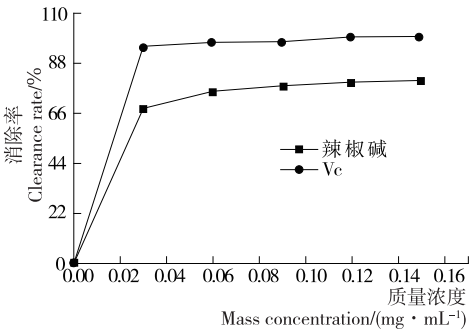


图 1 辣椒碱对 DPPH·的清除效果

Figure 1 DPPH· free radical scavenging effect of capsaicin

2.2 辣椒碱对亚硝基清除作用

由图 2 可知,在质量浓度为 0.05~0.15 mg/mL 时,辣
椒碱清除亚硝基的活性迅速增加,之后变为平稳,趋于 70%,
辣椒碱清除亚硝基的半抑制浓度 IC_{50} 为 0.15 mg/mL。Vc
在质量浓度为 0.2 mg/mL 时,对亚硝基的清除率为
70.09%,与辣椒碱对亚硝基的清除率基本相近。

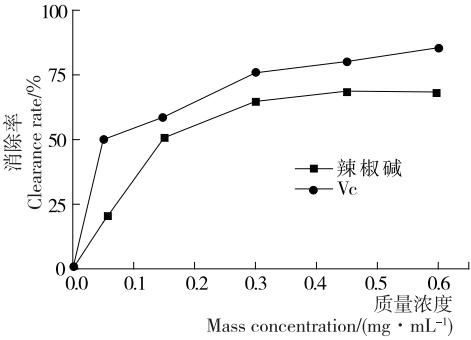


图 2 辣椒碱对亚硝基的清除效果

Figure 2 Nitrate free radical scavenging effect of capsaicin

2.3 辣椒碱对·OH清除作用

由图 3 可知,Vc 与辣椒碱对·OH 的清除率都随着质量
浓度的增大而增加,但辣椒碱对·OH 的清除效果比 Vc 略
差。辣椒碱清除·OH 的 IC_{50} 为 0.28 mg/mL。当辣椒碱的
质量浓度为 0.65 mg/mL 时,对·OH 的清除率可达到 80%
以上,体现出良好的清除效果。辣椒碱结构中的酚羟基可
与金属离子(如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等)络合,抑制了需要金属离子
的自由基产生,通过影响脂质的过氧化,使活性氧的产生减少^[17-18]。

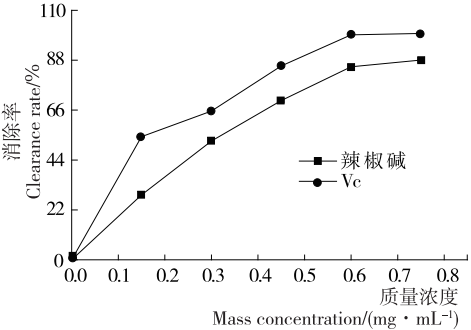


图 3 辣椒碱对·OH 的清除效果

Figure 3 Hydroxyl radical scavenging effect of capsaicin

对于 $\cdot\text{OH}$ 而言,辣椒碱碳氢链上的氢原子,可以与其结合成水,达到清除 $\cdot\text{OH}$ 的目的,而辣椒碱的碳原子成为了碳自由基,并进一步氧化形成过氧自由基,最后分解成对机体无害的产物^[19-21]。

2.4 辣椒碱对 $\text{O}_2^- \cdot$ 清除作用

由图 4 可知,辣椒碱和 Vc 清除 $\text{O}_2^- \cdot$ 的能力,随着质量浓度的增大而增强。在 0.1~0.2 mg/mL 的浓度范围内,Vc 对 $\text{O}_2^- \cdot$ 的清除活性随着其质量浓度的增大而迅速上升,在 0.2 mg/mL 之后,其清除活性增加得较为稳定。在 0.45~0.75 mg/mL 时,Vc 与辣椒碱的对 $\text{O}_2^- \cdot$ 的清除活性与辣椒碱相近。

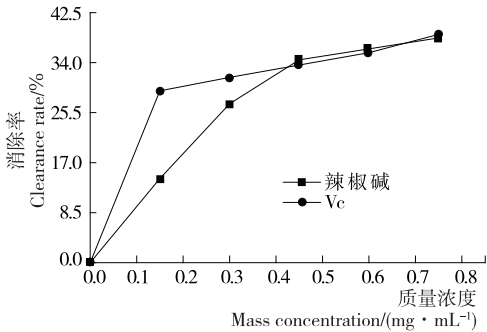


图 4 辣椒碱对 $\text{O}_2^- \cdot$ 的清除效果

Figure 4 Superoxide anion radical scavenging effect of capsaicin

2.5 辣椒碱的总还原能力

由图 5 可知,在 0.10~0.45 mg/mL 时,辣椒碱和 Vc 的还原能力都强,并且随着质量浓度的增加,还原能力逐渐增强,辣椒碱的还原能力与 Vc 基本相近。

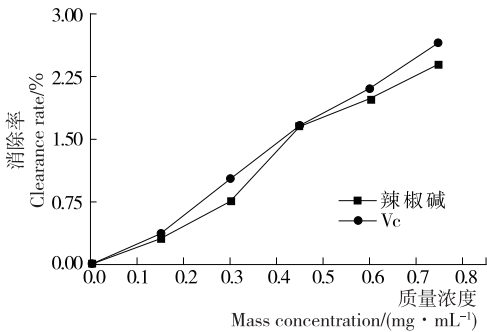


图 5 辣椒碱及 Vc 的总还原能力

Figure 5 Comparison of reducing power between capsaicin and Vc

3 结论

经过以上试验,可知辣椒碱的抗氧化能力较好,长期食用低剂量的辣椒碱可能会有延缓衰老、降低血脂、美容养颜等功效。本试验系统地探究了辣椒碱的体外抗氧化性,填补了之前没有辣椒碱体外抗氧化性系列数据的空白,为以后更深入探讨辣椒碱的抗氧化作用提供了条件。但还未找出辣椒碱抗氧化作用的最佳适用质量浓度,需经过细胞试验等进行研究。

参考文献

- 王永平,张绍刚,张婧,等. 我国辣椒产业发展现状及趋势[J]. 河北农业科学, 2009, 13(6):135~138.
- Jinap S, Daund M. Capsaicinin capsicumalununnoivars pertanike [J]. Industry Review, 1990, 13(2):217~220 .
- 唐胜球,董小英,周晓庭. 辣椒素研究及其应用行业综述[J]. 江西饲料, 2003, 27(1):13~16.
- 景作亮,邓启良,杨南,等. 辣椒碱的研究进展及其应用[J]. 天津化工, 2004, 18(6): 9~11.
- 马昭朝,王孝蓉,赵志刚. 辣椒碱软膏[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(2): 235~236.
- Simone DA, Ochoa J. Early and late effects of prologned topical capsaicin on cutaneous sensibility and neurogenic vasodilatation in humans[J]. Pain, 1991, 47(3): 285~294.
- Wang Jih-pyang, Hsu Mei-feng, Teng Che-ming. Antiplatelet effect of capsaicin[J]. Thromb Res, 1984, 36(6): 497~507.
- Goldstein J L, Brown M S. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis[J]. Ann Rev Biochem. , 1977, 46(1): 897~930.
- 李宇,刘宇光,李霞,等. 辣椒碱对茶油的抗氧化与清除超氧阴离子自由基活性研究[J]. 中国酿造, 2014, 33(9):86~88.
- 聂乾忠,夏延斌,曾晓楠,等. 辣椒碱对高脂血症大鼠抗氧化酶类活性影响研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(2): 61~63.
- 王金铃,吕长山,于广建,等. 辣椒碱的研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2004, 35(1): 36~39.
- Lee Yu-ling, Yen Ming-tsung, Mau Jeng-leun. Antioxidant properties of various extracts from Hypsizigis marmoreus[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 1~9.
- 陈留勇,孟宪军,贾薇,等. 黄桃水溶性多糖的抗肿瘤作用及清除自由基、提高免疫活性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 167~170.
- 范晓,严小军,房国明,等. 高分子量褐藻多酚抗氧化性质研究 [J]. 水生生物学报, 1999, 23(5): 494~499.
- 田益玲,陈冠华,崔同,等. 动力学分光光度法测定中药对超氧阴离子自由基的清除率[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(4): 617~619.
- Tsai Shu-yao, Huang Shih-jeng, Mau Jeng-leun. Antioxidant-properties of hotwater extracts from Agrocybe cylindracea[J]. Food Chemistry, 2006, 98(4): 670~677.
- Hu Wen-wei. Glutaminase 2, a novel p53 target gene regulating energy metabolism and antioxidant function [J]. Proc. Nat. Acad. Sci. , 2010, 107(16): 455~460.
- 陈春英,罗湘,周井炎,等. 箬叶多糖及其化学修饰物、亚硒酸钠和 GSH 对 Cu^{2+} 诱导的 LDL 氧化修饰的保护作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 1998, 14(4): 427~432.
- Volpi N, Tarugi P. Influence of chondroitin sulfate charge density,sulfate group position, and molecularmass on Cu^{2+} -mediated oxidationof human low-density lipoproteins: effect of normal human plasmaderivedchondroitin sulfate [J]. J. Biochem. , 1999, 125(2): 297~304.
- Lee Jong-min, Kwon Hoon-jeong, Jeong Hoon, et al. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by Ganoderma lucidum[J]. Phytother Res, 2001, 15(3): 245~249.
- 张静丽,王宏勋,张雯,等. 灵芝、枸杞多糖复合抗氧化作用 [J]. 食品与机械, 2004, 20(6): 11~12.