

文章编号:1001-6880(2014)10-1677-03

羧甲基壳聚糖金属配合物的抗氧化活性研究

冯小强^{1*}, 李小芳¹, 杨 声², 陈学喜¹¹天水师范学院化学工程与技术学院, 天水 741001; ²定西师范高等专科学校, 定西 743000

摘要:研究了壳聚糖、羧甲基壳聚糖及3种羧甲基壳聚糖金属配合物(CMC-Cu、CMC-Co、CMC-Ag)的抗氧化活性,同时考察了金属离子含量对CMC-Cu配合物抗氧化活性的影响。结果表明:对羟自由基的清除能力依次为CMC-Cu>CMC-Co>CMC-Ag>羧甲基壳聚糖>壳聚糖,清除能力随着浓度的增大而增强;对超氧负离子自由基清除能力依次为CMC-Ag>CMC-Cu>CMC-Co>羧甲基壳聚糖>壳聚糖,清除能力随浓度的增加而增强;还原能力依次为CMC-Co>CMC-Ag>CMC-Cu>羧甲基壳聚糖>壳聚糖。 Cu^{2+} 含量与CMC-Cu配合物的抗氧化活性有关。

关键词:羧甲基壳聚糖;金属配合物;抗氧化

中图分类号:Q946.91; R285

文献标识码:A

Antioxidant Activity of Carboxymethyl Chitosan Metal Complexes

FENG Xiao-qiang^{1*}, LI Xiao-fang¹, YANG Sheng², CHEN Xue-xi¹¹School of Life Sciences and Chemistry, Tianshui Normal University, Gansu Tianshui 741001, China;²Ding Xi Teachers' College, Gansu Dingxi 743000, China

Abstract: In this study, the antioxidant activities of carboxymethyl chitosan metal complexes were evaluated using hydroxyl free radical scavenging assay, superoxide anion free radical scavenging assay and reducing power assay. The results showed that all of the metal complexes exhibited the antioxidant activity in different levels. The order of carboxymethyl chitosan metal complex's scavenging effect on hydroxyl free radical was CMC-Cu > CMC-Co > CMC-Ag > carboxymethyl chitosan > chitosan; the order carboxymethyl chitosan metal complex's scavenging effect on superoxide anion free radical was CMC-Ag > CMC-Cu > CMC-Co > carboxymethyl chitosan > chitosan, and the order of carboxymethyl chitosan metal complex's reducing power was CMC-Co > CMC-Ag > CMC-Cu > carboxymethyl chitosan > chitosan. The content of Cu^{2+} was related to antioxidant activity of CMC-Cu.

Key words: carboxymethyl chitosan; metal complex; antioxidant activity

氧化和机体的衰老、病变密切相关^[1]。天然抗氧化剂因抗氧化效率高,作用时间长,热稳定性好,对人体毒副作用小等特点而成为研究的热点^[2]。壳聚糖(简写CS)是一种天然碱性高分子多糖,对人体无毒、可生物降解和多种生物活性,其中抗氧化活性显得尤为重要,但壳聚糖溶解性差这一缺陷在很大程度上限制了它的应用。羧甲基壳聚糖(简写CMC)与CS相比溶解性好,具有许多独特的性质,且由于羧基基团的引入,使得更容易与多种过渡金属离子配位。研究表明,CMC具有抗脂质氧化的作用,使兔血清中氧化型低密度脂蛋白及丙二醛含量降低,抑制了脂质的过氧化^[3]。当浓度为1.2 mg/

mL时,CMC对超氧阴离子自由基的清除率达到了13.4%^[4]。但就CMC金属配合物的抗氧化活性的研究却鲜有报道。本实验从清除羟基自由基($\cdot OH$)、超氧负离子自由基(O_2^-)和总还原能力这三个方面,分别考察了CS、CMC及CMC金属配合物的抗氧化活性,并考察了金属离子的含量对配合物抗氧化活性的影响。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

CS、CMC及配合物用1.0% HAc溶解,配成浓度为0.1、0.2、0.3、0.4和0.5 mg/mL溶液。UV-9200型分光光度计,北京瑞利仪器有限公司。

1.2 抗氧化活性

CS、CMC及金属配合物对 $\cdot OH$ 、 O_2^- 的清除作

用以及还原能力的具体实验过程,根据已报道文献^[5]的经典实验过程操作。

2 结果与讨论

2.1 CMC 金属配合物的制备

将 6.0 g 壳聚糖、60 mL 异丙醇加入三口烧瓶搅拌均匀,在 60 ℃下溶胀 2 h。逐滴加入 40 mL 9.5 mol/L NaOH,让壳聚糖在碱性条件下形成碱中心,搅拌 30 min。将 12 g 一氯乙酸用蒸馏水溶解,缓慢滴加到上述体系中。反应 4 h 后,调 pH 值至中性,抽滤,沉淀依次用 70% 乙醇、无水乙醇洗涤,干燥得 CMC。

称取 0.5 g CMC 用蒸馏水溶解,50 ℃搅拌下向其中加入一定量的 CuCl₂,使得 CMC 与 Cu²⁺ 的物质的量比分别为 1:1、1:2、2:1、3:2、2:3,或分别加入等摩尔的 CoCl₂·6H₂O、AgNO₃,反应 3 h 后,将沉淀

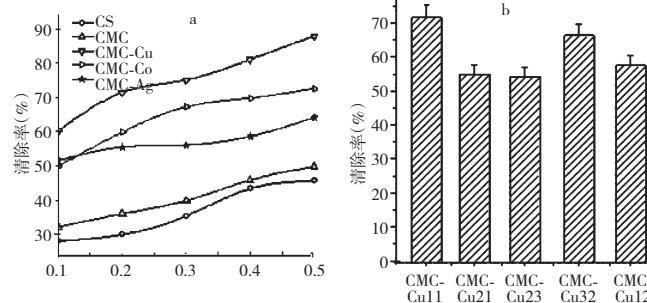


图 1 CS、CMC、CMC 配合物清除 · OH 的能力(a) 及 Cu²⁺ 含量对 CMC-Cu 清除 · OH 能力的影响(b)

Fig. 1 · OH scavenging capacity of CS, CMC and CMC complexes (a) and the effect of Cu²⁺ on · OH scavenging capacity of CMC-Cu (b)

CS 可通过三种途径清除羟基自由基^[6]; (1) 羟基的氢原子与 · OH 作用而达到目的; (2) 氨基与 · OH 反应生成稳定的大分子自由基; (3) 氨基先与溶液中的氢作用形成氨正离子, 在与 · OH 作用形成稳定物质。CMC 中的氨基和羟基被乙羧基取代, 是的与 · OH 反应的数量减少,但是,乙羧基作为吸电子基团,能降低壳聚糖分子链上的电子云密度,使得分子内、分子间生成氢键的几率降低,故增强了氨基和羟基与 · OH 反应的活性。因此,CMC 清除羟自由基的能力强于 CS 本身。

2.3 O₂^{·-} 的清除实验

O₂^{·-} 是一种毒性很大的活性氧,可通过很多生物体内反应或光化学反应产生。如图 2a 所示,羧甲基壳聚糖金属配合物对 O₂^{·-} 均具有不同程度的清除效果,并且随着样品质量浓度的增大,清除率也逐渐

陈化、抽滤、洗涤、干燥,分别得 CMC-Cu 配合物(依次记作 CMC-Cu11、CMC-Cu12、CMC-Cu21、CMC-Cu32 和 CMC-Cu23)、CMC-Co 配合物和 CMC-Ag 配合物。

2.2 · OH 的清除实验

· OH 是毒性最大的活性氧,对细胞内 DNA 的破坏作用最大,它可以加成至碱基双键中造成碱基破坏,从而产生突变。CMC 金属配合物对羟自由基均具有不同程度的清除效果,并且随着样品质量浓度的增大,对羟自由基清除率逐渐提高,如图 1a 所示。相比之下,对 · OH 的清除作用从强到弱依次是 CMC-Cu11 > CMC-Co > CMC-Ag > CMC > CS。当浓度均为 0.2 mg/mL 时,不同摩尔配比得到的 CMC-Cu 清除 · OH 能力存在差异,如图 1b 所示,CMC-Cu11 对羟自由基的清除作用最强,CMC-Cu32 次之。

提高。相比之下,在较高浓度下对 O₂^{·-} 的清除作用从强到弱依次是 CMC-Ag > CMC-Cu11 > CMC-Co > CMC > CS。当浓度均为 0.2 mg/mL 时,不同摩尔配比的 CMC-Cu 清除 O₂^{·-} 能力也存在差异,如图 2b 所示,CMC-Cu21 对羟自由基的清除作用最强,其它 4 种配合物清除能力相当。

2.4 还原能力测定

还原能力是表示抗氧化物质提供电子能力的重要指标,研究表明抗氧化活性和还原能力之间存在着密切的关系。通常采用铁氰化钾法测定 700 nm 的吸光度,来反映还原能力的强弱。一般吸光度值越大,则还原能力越强。随 CMC-Ag、CMC-Cu11、CMC-Co、CMC 和 CS 浓度的升高,吸光度值均有所增强,其变化趋势如图 3a 所示,说明它们通过提供电子,阻断 Fe²⁺ 向 Fe³⁺ 的转变,表现出一定的还原

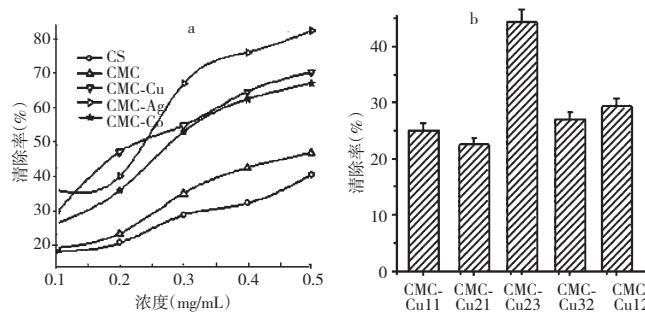


图 2 CS、CMC、CM 配合物清除 O₂⁻ 的能力(a)及 Cu²⁺ 含量对 CMC-Cu 清除 O₂⁻ 的影响(b)

Fig. 2 O₂⁻ scavenging capacity of CS, CMC and CMC complexes (a) and effect of Cu²⁺ on O₂⁻ scavenging capacity of CMC-Cu (b) 能力。在较高浓度下还原能力从强到弱依次是 CMC-Co > CMC-Ag > CMC-Cu > CMC > CS。当浓度均为 0.2 mg/mL 时, 不同摩尔配比的 CMC-Cu 还原能力也存在差异, 如图 3b 所示, CMC-Cu21 的还原能力远远强于其它 4 种配合物的还原力。

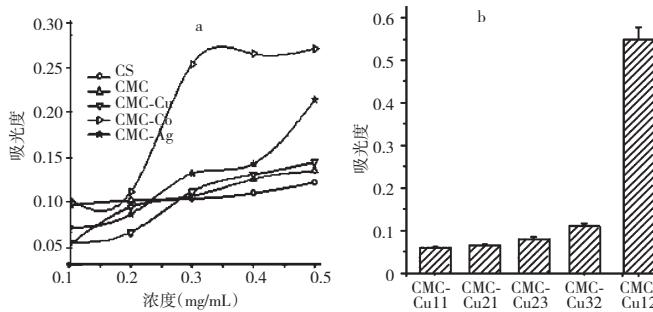


图 3 CS、CMC、CM 配合物的还原能力(a)及 Cu²⁺ 含量对 CMC-Cu 还原能力的影响(b)

Fig. 3 Reducing power of CS, CMC and CMC complexes (a) and effect of Cu²⁺ on reducing power of CMC-Cu (b)

2.5 讨论

CMC 分子中存在大量 N-H、O-H 和-COOH 基团, 它们能与自由基发生反应, 故对自由基有一定的清除能力。另外过渡金属的 d 轨道电子较活泼, 且有缺电子的空轨道, 因此过渡金属易得失电子, 金属离子可与自由基发生反应, 在自由基氧化过程中起催化剂作用, 表现出一定的抗氧化活性。实验结果发现, CMC 金属配合物的抗氧化性强于 CMC 和 CS 本身, 可能是由于羧基参与配位使配合物的构型发生改变, 金属离子和 CMC 的协同作用所致。

3 结论

CMC-Ag、CMC-Cu 和 CMC-Co 均具有很好的抗氧化能力, 抗氧化性随浓度的增加而增强, 且与配合物中金属离子的含量有关。该研究为壳聚糖衍生物的开发、为寻找天然抗氧化剂提供了新的思路。

参考文献

- Brawn K, Fridovich I. DNA strand scission by enzymically generated oxygen radicals. *Arch Biochem Biophys*, 1981, 206: 414-419.
- Ye WC, Fan CL, Zhang LH, et al. A new phenolic glycoside from the roots of *Lygodium japonicum*. *Phytochem Commun*, 2007, 78:600-601.
- Lin YW(林友文), Lin Q(林青), Zheng JF(郑景峰), et al. Studies on reducing the plasma lipid and antioxidation of carboxymethyl chitosan in rabbits. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2003, 22(3):16-19.
- Sun T, Xie WM, Xu PX. Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives. *Carbohydr Polym*, 2004, 58:379-382.
- Feng XQ(冯小强), Li XF(李小芳), Yang S(杨声), et al. Optimization of extraction process of antioxidant components from orange peel and determination of its antioxidant activity. *Hunan Agric Sci* (湖南农业科学), 2012, 21:86-88.
- Xie WM, Xu PX, Liu Q. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11:1699-1701.