

不同品系玉竹多糖及黄酮抗氧化活性研究

李 敏¹, 奚广生¹, 罗益远², 邹莉莉¹

(1. 吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101; 2. 南京中医药大学 药学院, 江苏 南京 210023)

摘 要:以不同品系、不同生长年限玉竹为试材,以维生素 C、芦丁作为参照,利用 DPPH 比色法和总还原能力测定法,以 IC₅₀ 作为判定抗氧化活性强弱的综合指标,对不同品系玉竹多糖及总黄酮体外抗氧化能力进行比较研究。结果表明:不同品系玉竹中二年生大玉竹多糖的 IC₅₀ 为 0.07 mg/mL (维生素 C 为 0.05 mg/mL)、黄酮 IC₅₀ 为 0.048 mg/mL (芦丁为 0.0062 mg/mL) 及最大还原能力数值为 1.698,与标准对照品相差最小,效果最好。研究结果表明二年生大玉竹抗氧化性最好。

关键词:玉竹;多糖;黄酮;抗氧化活性;不同品系

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0135-04

玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce.) 属百合科黄精属植物,具有养阴润燥、除烦、止渴功效,主治肺胃阴伤、燥热咳嗽、咽干口渴、内热消渴等症^[1]。作为集药疗和食疗于一身的玉竹具有巨大的潜在开发前景。玉竹含有多糖、黄酮、甾体皂苷、生物碱等多类成分^[2]。现代药理研究表明,玉竹具有降血糖,提高机体免疫力,改善心血管系统,抗肿瘤,抗衰老及抗疲劳的作用^[3-4]。还有药理试验表明,玉竹抗衰老的有效部位应该是以水溶性多糖和黄酮类为主要活性成分。现通过对不同品系及不同生长年限的玉竹栽培品进行抗氧化能力及还原能力测定比较,以期为玉竹引种栽培及品质提高提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料大圆叶玉竹(一年生 A、二年生 B)、小圆叶玉竹(一年生 C、二年生 D)、大玉竹(一年生 E、二年生 F)实地采集于吉林农业科技学院药用植物种源圃,采集时间为 2013 年 9 月 30 日,均经吉林农业科技学院奚广生教授鉴定为百合科黄精属玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce.) 的干燥根茎。

试剂:抗坏血酸(维生素 C,南京化学试剂有限公司);芦丁(批号:0080-9705,购于中国药品生物制品检定

所);DPPH(1,3-二苯基-2-三硝基苯肼);无水乙醇;三氯乙酸;三氯化铁;六氰合铁酸钾;KH₂PO₄;Na₂HPO₄。

仪器:UV-2500 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);FA/JA 电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);SKG-02 型电热恒温干燥箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司);HH-6 型数显恒温水浴锅(北京东方精瑞科技发展有限公司);LXJ-II 型离心机(上海医用分析仪器厂);G-08A 型高速中药粉碎机(浙江瑞安市百信药器械厂);FS-1200 型超声波细胞破碎器(上海生析仪器有限公司);N-1100 型旋转蒸发仪(瑞士布其有限公司)。

1.2 试验方法

分别提取各样品中粗多糖和粗黄酮,进行清除率试验和还原能力测定比较。根据各玉竹样品测定结果对其进行还原能力的综合评价。清除率越大则表明该玉竹样品的抗氧化性越强,而吸光度值越大则表明该玉竹样品的还原能力越强,按下式计算清除率(SA)。

$$SA(\%) = (1 - \frac{A_i - A_0}{A_j}) \times 100\%$$

式中: A_i 为样品加入 DPPH 的吸收光度; A_j 为样品加入 50%乙醇吸收光度; A_0 为纯水加 DPPH 吸收光度。

1.3 项目测定

1.3.1 多糖 DPPH 自由基清除率测定法 DPPH 储备液配制:精密称取 3.98 mg DPPH,用 50%乙醇溶解定容于 50 mL 容量瓶中,配成 0.2 mol/L 储备液,避光 4℃保存,使用时稀释 1 倍(0.1 mol/L)。维生素 C 溶液制备:分别称取维生素 C 2、4、6、8、10、25 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水溶解,定容摇匀,即得质量浓度分别为 0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.50 mg/mL 的溶液。玉竹多糖制备:精密称定各玉竹粗粉 50 g,置具塞锥形瓶中,加入 2 500 mL 的水,浸泡 20 min 后超声提取 2 次,每次 20 min,

第一作者简介:李敏(1984-),女,硕士,讲师,研究方向为天然药物化学。E-mail:limin1042004@163.com.

责任作者:奚广生(1967-),男,硕士,教授,现主要从事药用植物品种选育及成分提取等研究工作。E-mail:zyxyxgs@126.com.

基金项目:吉林农业科技学院校重点学科培育资助项目(吉农院合字 2013 第 S012 号)。

收稿日期:2014-11-12

过滤^[5],滤渣加入 600 mL 蒸馏水,重复上述过程,合并滤液,减压浓缩,80℃烘箱内烘干即得^[6]。准确称取玉竹多糖各 2、4、6、8、10、25、50 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水溶解,定容摇匀,即得溶液质量浓度分别为 0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.50、1.00 mg/mL。以 50%乙醇作为空白,在 517 nm 处测定,计算多糖对 DPPH 自由基的清除能力(SA)^[7]。

1.3.2 黄酮清除率测定法 芦丁溶液制备:准确称取芦丁各 2、4、6、8、10、25 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水溶解,定容摇匀,即得溶液质量浓度分别为 0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.50 mg/mL(也可用于黄酮还原能力测定的试剂)。黄酮粗粉制备:取各玉竹粗粉 500 g,置具塞锥形瓶中,加入 7 500 mL 40%乙醇,浸泡 30 min 后超声提取 2 次,每次 25 min,合并滤液,减压浓缩,取浓缩液,烘干即得^[8]。准确称取玉竹总黄酮各 2、4、6、8、10、25、50 mg,用 50%乙醇定溶至 50 mL,得到溶液质量浓度分别为 0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.50、1.00 mg/mL。以 50%乙醇作为空白,在 517 nm 处测定,计算黄酮对 DPPH 自由基的清除能力(SA)^[7]。

1.3.3 黄酮还原能力测定法 磷酸盐缓冲液配制:取 0.2 mol/L KH_2PO_4 溶液 62.5 mL 和 0.2 mol/L Na_2HPO_4 溶液 37.5 mL 充分混匀,4℃保存。分别称取玉竹总黄酮 5、10、15、20、25 mg,用 50%乙醇溶解并定溶至 25 mL,得溶液质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL。分别吸取各样品液 2.5 mL 于试管中,依次加入 2.5 mL 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液,2.5 mL 1%六氰合铁酸钾溶液,于 50℃水浴保温 20 min 后,快速冷却,加入 2.5 mL 10%三氯乙酸,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,依次加入 2.0 mL 蒸馏水、0.5 mL 0.1%三氯化铁溶液,充分混匀,静置,以蒸馏水做空白,在 700 nm 测吸光值,吸光值越大表明还原能力越强^[9]。

2 结果与分析

2.1 多糖 DPPH 自由基清除率试验结果

由图 1 可知,维生素 C 清除自由基能力随着浓度升高清除率而逐渐增强,在浓度 0.10 mg/mL 到 0.12 mg/mL 时清除率基本变化不大,说明维生素 C 清除能力基本上已经达到最大清除能力。

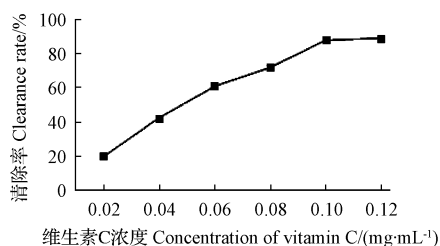


图 1 维生素 C 的自由基清除率

Fig. 1 The free radical clearance rate of vitamin C

由表 1 可知,各品系的玉竹多糖清除率总趋势是随着浓度增加而提高。从理论上讲,在清除率 20%~80% 的范围内,计算出清除率为 50%时的浓度值(IC50 值),结果见表 2。IC50 值越低,其对应的样品抗氧化能力越好。

表 1 玉竹多糖清除率试验结果

Table 1 The results of odoratum polysaccharide clearance test

浓度 (mg · mL ⁻¹)	清除率/%					
	A	B	C	D	E	F
0.02	18.32	15.21	22.07	21.23	26.65	23.48
0.04	25.64	29.02	30.63	28.40	38.21	42.22
0.06	37.72	34.15	35.06	38.44	45.37	48.18
0.08	42.77	45.53	46.18	49.85	52.46	55.54
0.10	40.56	48.23	56.81	59.06	60.32	64.12
0.25	59.45	56.96	62.34	64.65	68.12	70.02
0.50	57.82	58.21	60.43	65.82	76.84	79.62

由表 2 可知,在相同品系的玉竹样品中可以看出,二年生的玉竹比一年生的玉竹清除自由基能力强,在相同生长年限的玉竹样品中可以看出,大玉竹也同样较其它品系一年生的玉竹清除能力强,但相比之下清除自由基效果依旧不如维生素 C 的清除自由基效果好^[10]。但所有的玉竹样品中,二年生大玉竹的清除自由基能力最强,IC50 对应的多糖浓度值最低。

在相同品系条件下,二年生玉竹比一年生玉竹的 IC50 低;在相同生长年限的条件下,一年生大玉竹比一年生大圆叶玉竹和一年生小圆叶玉竹 IC50 值都低,其清除自由基能力相比较好;二年生大玉竹比二年生大圆叶玉竹和二年生小圆叶玉竹 IC50 值低,其清除自由基能力较强。

表 2 各样品玉竹多糖和

维生素 C 体外抗氧化能力的 IC50 值

Table 2 The IC50 values for odoratum polysaccharide and vitamin C of each sample *in vitro* antioxidant capacity

样品	A	B	C	D	E	F
多糖	0.170	0.150	0.086	0.083	0.079	0.070
维生素 C	0.050					

2.2 黄酮抗氧化性试验结果

由图 2 可知,芦丁清除自由基能力随着浓度升高,清除率增大,在浓度 0.08 mg/mL 到 0.10 mg/mL 时清除率基本没变化,趋于平缓,稍后又有所提高。

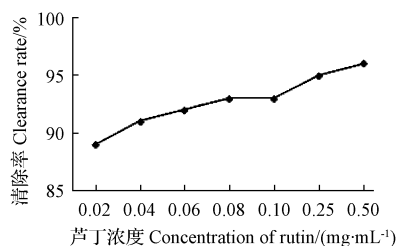


图 2 芦丁的自由基清除率

Fig. 2 The free radical clearance rate of rutin

由表 3 可知,各品系的玉竹多糖清除率总趋势都是随着浓度增加而提高。不同品系玉竹总黄酮提取物对 DPPH 自由基均有较好的清除作用,总体趋势是随着浓度的增高清除作用增强,但各样品清除能力各不相同,大玉竹黄酮 DPPH 清除作用最强,在浓度达到 0.50 mg/mL 时的清除率和芦丁相比几乎一样。试验结果表明,玉竹黄酮在一定浓度下与芦丁有着相同的体外抗氧化能力,可进一步开发为天然抗氧化剂。

表 3 不同品系玉竹黄酮清除 DPPH 试验结果

Table 3 The results of odoratum flavonoids clearance test

浓度 (mg·mL ⁻¹)	清除率/%					
	A	B	C	D	E	F
0.02	20.26	24.51	26.03	30.48	32.15	36.56
0.04	28.54	32.41	33.01	36.21	38.44	42.81
0.06	39.4	40.41	43.34	56.81	60.74	61.19
0.08	51.91	56.17	60.94	65.34	70.84	76.22
0.10	60.05	65.84	73.08	72.11	79.91	80.82
0.25	67.33	70.51	75.84	80.25	84.78	89.15
0.50	78.38	74.51	84.78	85.44	92.64	96.76

由表 4 可知,相比于不同品系的玉竹黄酮,芦丁的抗氧化能力最强,其 IC₅₀ 值为 0.0062 mg/mL,在相同品系的条件下,二年生玉竹比一年生玉竹的 IC₅₀ 值低。一年生大玉竹比一年生大圆叶玉竹和一年生小圆叶玉竹 IC₅₀ 值都低,其清除自由基能力相比较好;其中一年生小圆叶玉竹 IC₅₀ 值较一年生大圆叶玉竹 IC₅₀ 值低;二年生大玉竹比二年生大圆叶玉竹和二年生小圆叶玉竹 IC₅₀ 值也都低,其清除自由基能力比较强。其中二年生小圆叶玉竹 IC₅₀ 值较二年生大圆叶玉竹 IC₅₀ 值低。

表 4 玉竹黄酮和芦丁体外抗氧化能力的 IC₅₀ 值

Table 4 The IC₅₀ values for odoratum flavonoids and rutin of each sample *in vitro* antioxidant capacity mg/mL

样品	A	B	C	D	E	F
黄酮	0.082	0.079	0.068	0.058	0.054	0.048
芦丁	0.0062					

2.3 黄酮还原能力试验结果

从图 3 可以看出,各品系玉竹均有较好的铁氰化钾还原能力,不同品系玉竹黄酮总还原能力随着浓度的增加而线性增加,由强到弱依次为:二年生大玉竹、一年生大玉竹、二年生小圆叶玉竹、一年生小圆叶玉竹、二年生大圆叶玉竹、一年生大圆叶玉竹。所有玉竹黄酮样品铁

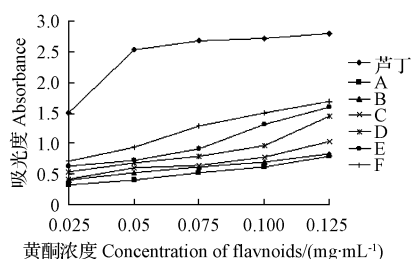


图 3 芦丁和不同品系及不同生长年限玉竹黄酮吸光度

Fig. 3 The absorbance of rutin and odoratum flavonoids and different growth duration of jade tabasheer ketone

氰化钾总还原能力均低于芦丁,差异显著。

从表 5 可以看出,各样品中,吸光度值最大的是二年生大玉竹,数值为 1.698;吸光度值最小的是一年生大圆叶玉竹,数值为 0.784;二者相差 0.914。所以还原能力最强的是二年生大玉竹,还原能力最弱的是一年生大圆叶玉竹。

表 5 各样品玉竹黄酮和芦丁最大吸光度值

Table 5 The maximum absorbance of rutin and odoratum flavonoids of each sample *in vitro* antioxidant capacity

样品	A	B	C	D	E	F
黄酮	0.784	0.832	1.027	1.452	1.588	1.698
芦丁	2.801					

3 讨论与结论

不同品系及不同生长年限的玉竹多糖清除率及黄酮抗氧化能力都不同,二年生大玉竹的 DPPH 清除能力、抗氧化能力最强,还原能力最好。相同品系的不同生长年限的玉竹中,二年生玉竹多糖的 DPPH 清除率、黄酮抗氧化能力、还原能力都高于一年生玉竹。二年生玉竹抗氧化能力优于一年生玉竹。相同生长年限不同品系的玉竹中,大玉竹多糖的 DPPH 清除率、黄酮抗氧化能力、还原能力都高于大圆叶玉竹和小圆叶玉竹,大玉竹抗氧化能力优于大圆叶和小圆叶玉竹。

试验采用水提醇沉的方法提取多糖,提取率较高,多糖清除自由基能力的试验结果可靠、具有代表性;玉竹黄酮用浓度为 40% 的乙醇提取,黄酮成分含量高,所以该试验结果对于黄酮成分的抗氧化能力测定还具有一定的代表性。因此,该试验通过对不同品系及不同生长年限的玉竹栽培品进行抗氧化能力及还原能力测定比较,以期玉竹的引种栽培及品质提高提供基础依据。

参考文献

- [1] 韩鹏然,白明,苗明三. 中华人民共和国药典[J]. 2010 年版. 中医学报,2013(6):863-864.
- [2] 秦海林,李志宏,王鹏,等. 中药玉竹中新的次生代谢产物[J]. 中国中药杂志,2004(1):46-48.
- [3] 吴晓岚,王玉勤,车光昇,等. 黄精和玉竹抗疲劳作用的实验研究[J]. 中国冶金工业医学杂志,2009(3):271-272.
- [4] 梁海霞,李焕德. 玉竹的药理活性研究进展[J]. 中南药学,2008(3):342-344.
- [5] 许丽丽,展晓日,曾昭武,等. 玉竹多糖的研究进展[J]. 中药材,2011(1):154-157.
- [6] 宁慧,李会宁,杨培君. 玉竹多糖的抗氧化作用研究[J]. 陕西理工学院学报(自然科学版),2013(6):59-65.
- [7] 徐大量,林晖. 玉竹水提取液体外抗氧化得实验研究[J]. 中药材,2008(5):729-731.
- [8] 钟方丽,王晓林,杨云涛,等. 超声波辅助法提取玉竹中总黄酮[J]. 吉林化工学院学报,2012(1):22-25.
- [9] 张轩铭,王冬梅,王瑾,等. 不同产地玉竹黄酮提取物体外抗氧化活性研究[J]. 西北植物学报,2011(3):628-631.
- [10] 阎欲晓,石庆师. 玉竹多糖分离纯化及自由基清除能力研究[J]. 食品工业科技,2009(2):149-151.

DOI:10.11937/bfyy.201505040

海南大戟乳汁脂溶性成分 GC-MS 分析

田新民, 李洪立, 何云, 洪青梅, 胡文斌

(中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737)

摘 要:以海南大戟乳汁为试材,采用冷浸法提取海南大戟乳汁脂溶性成分,利用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术检测其化学成分,分离共得到 24 个化合物,鉴定了其中的 19 个化合物,5 个化合物未定。结果表明:海南大戟乳汁主要脂溶性成分为环阿屯醇、24-亚甲基环木菠萝烷醇、紫薇乙缩醛以及未定化合物 1 和未定化合物 2。

关键词:海南大戟;脂溶性成分;GC-MS 分析

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0138-03

大戟属(*Euphorbia*)许多物种是重要的药用植物,如飞扬草、小飞扬、甘遂、泽漆等,其用药经验在世界各地均有报道,常常用作通便、利尿药物,可用于治疗水肿、结核、牛皮癣、疥疮、无名肿毒等疾患^[1]。近年来研究表明,该属植物还具有抗肿瘤、抗病毒、皮肤刺激等活性,尤其在抗肿瘤方面,体现出了巨大的优势^[2-3]。该属植物所具有的多种活性与其化学成分密切相关,大戟属植物化学成分十分复杂,主要含有二萜酯类、三萜类、甾醇类、黄酮类和酚性成分。

第一作者简介:田新民(1983-),男,博士,助理研究员,研究方向为种质资源。E-mail:tianxm06@lzu.edu.cn.

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(312023);农业部品种资源保护资助项目(0313034)。

收稿日期:2014-11-19

海南大戟(*E. hainanensis*)隶属大戟科大戟属,是我国海南岛特有木本植物物种,仅分布在昌江县俄贤岭保护区的石灰岩山顶上,海拔高度 960~1 100 m,分布极为狭窄,种群小,是极为珍稀的资源植物^[4-6]。由于采样困难等原因,目前对其相关研究尚鲜见报道,化学有效成分的研究更是一片空白,海南大戟的主要成分及主要功效都有待解决。化学成分的提取是研究和利用海南大戟这一物种资源的前提和前期基础。现拟通过冷浸法进行脂溶性成分的提取,然后通过气相色谱质谱联用仪(GC-MS)进行分离和鉴定,系统研究其主要化学成分,以期对资源的创新利用和新药物的研发提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试海南大戟(*E. hainanensis*)乳汁采自海南省昌

Study on the Antioxidant Activity of Polysaccharides and Flavonoids in Different Strains of *Polygonatum odoratum*

LI Min¹, XI Guang-sheng¹, LUO Yi-yuan², ZOU Li-li¹

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jilin 132101; 2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023)

Abstract: With different strain and different age of *Polygonatum ocloratum* as test materials, *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides and flavones from different strains of *Polygonatum odoratum* were investigated by employing both DPPH scavenging assay recovery ability with vitamin C as control. Using IC₅₀ as a comprehensive index to compare of polysaccharides and flavonoids antioxidant capacity *in vitro* for different strains of *Polygonatum odoratum*. The results showed that IC₅₀ value of biennia *Polygonatum odoratum* polysaccharide from different strains was 0.07 mg/mL (vitamin C was 0.05 mg/mL), IC₅₀ value of flavonoids was 0.048 mg/mL (rutin was 0.0062 mg/mL) and the maximum reduction capacity was 1.698, and biennial *Polygonatum odoratum* had the minimum difference compared with control materials. The antioxidant activities of biennial *Polygonatum odoratum* was the best.

Keywords: *Polygonatum odoratum*; polysaccharide; flavonoids; antioxidant activities; different strains