

多穗柯叶中根皮苷的含量变化及抗氧化性*

王代波,刘国华,李冰晶,赵景芳,徐青[▲],王济红

(贵州省生物研究所,贵州 贵阳 550009)

摘要: 为探究不同季节多穗柯中根皮苷的含量变化及抗氧化活性,以采自春、夏、秋、冬四个季节的多穗柯叶为原料,采用冷凝回流提取法提取根皮苷。比较四个季节的多穗柯叶中根皮苷的含量变化,同时采用 DPPH 法评价不同时期多穗柯叶中根皮苷粗提物的抗氧化活性。结果显示:多穗柯叶中根皮苷的含量在一年中随着季节的推移呈先上升后下降的趋势,秋季含量达到最高。抗氧化实验证明:随着季节的推移,多穗柯叶中根皮苷粗提物对 $\text{HO}\cdot$ 和 $\text{O}_2^-\cdot$ 的清除率呈现先下降后上升的趋势,在春季对 $\text{HO}\cdot$ 和 $\text{O}_2^-\cdot$ 的清除率最高。季节对 DPPH $\cdot$ 清除率影响较小。

关键词: 多穗柯,根皮苷,含量,抗氧化性

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2021)01-0023-04

Content change and antioxidation capacity of phloridzin in *Lithocarpus polystachyus* Rehd.*

WANG Daibo, LIU Guohua, LI Bingjing, ZHAO Jingfang, XU Qing[▲], WANG Jihong

(Guizhou Institute of Biology, Guiyang 550009, China)

Abstract: In order to study the content change and antioxidation capacity of phloridzin in *Lithocarpus polystachyus* Rehd. in different seasons, phloridzin was extracted by condensation reflux method from the leaves of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. in spring, summer, autumn and winter respectively. The contents of phloridzin in *Lithocarpus polystachyus* Rehd. in different seasons were compared, and the antioxidation capacity of phloridzin in different seasons was evaluated. The results showed that, as the seasons go on, the content of phloridzin increased first and then decreased, and reached the highest in autumn; the scavenging rate of $\text{HO}\cdot$ and $\text{O}_2^-\cdot$ decreased first and then increased, and reached the highest in spring. Season had little effect on the scavenging rate of DPPH.

Keywords: *Lithocarpus polystachyus* Rehd., phloridzin, content, antioxidation capacity

多穗柯(*Lithocarpus polystachyus* Rehd.)^[1], 又称甜茶、甜叶子树、甘茶等^[2], 系壳斗科栎属常绿植物, 主要以野生形式分布在我国南方低山密林中, 印度、泰国也有分布。民间采摘多穗柯嫩叶制成甜茶, 其香气浓郁, 色泽鲜艳, 回味甘甜持久, 风味独特^[3], 多穗柯在我国用作茶饮料使用已经有上千年历史, 长期的应用历史表明多穗柯叶有清热利湿的功能^[4], 可治湿热痢疾、皮肤瘙痒、痈疽恶疮等。多穗柯还是一种具有多种保健功能的别样茶, 有研究表明, 多穗柯的主要活性成分二氢查耳酮类具有降

血糖、抗过敏、抗氧化、抑菌、改善记忆力等药理作用^[5-11]。根皮苷是多穗柯的主要甜味成分, 有可能是多穗柯的主要活性成分, 大量的研究表明根皮苷在治疗糖尿病、肥胖、应激性高血糖及抗氧化、膜通透性、抗衰老等方面具有广泛的活性^[12], 广泛用在食品、饮料、食品添加剂、药物和化妆品中。本文以不同时期的多穗柯叶为原料, 采用超声波辅助提取方法, 比较四个季节根皮苷的含量变化及抗氧化活性, 以为多穗柯深度利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

多穗柯叶(采自贵州罗甸)、根皮苷对照品(纯度>98%,批号:GT67195,酷尔化学科技有限公司)、水杨酸、浓盐酸、双氧水、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、邻苯三酚、无水乙醇、维生素 C、DPPH,以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

JEA502 型中药粉碎机(北京市泰和格润仪器有限公司);FW135/FW200 电子天平(上海谱春计量仪器有限公司);KQ-800DE 超声波仪器(昆山市超声仪器有限公司);SHIMADZU UV-1750 紫外分光光度计;800 电动离心机(上海梅香仪器有限公司);HH-S4 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.3 实验条件

1.3.1 根皮苷测定

紫外分光光度计对根皮苷标准溶液于 284 nm 处进行扫描^[13],得出根皮苷标准曲线回归方程为 $Y = 31.02X + 0.0253$, $R^2 = 0.9995$,其中 Y 为根皮苷浓度(mg/mL), X 为吸光度值。取 1 mL 待测样液,利用无水乙醇将其稀释为 100 mL,于 284 nm 下测定其吸光度,根据吸光度可得出根皮苷浓度。

1.3.2 根皮苷提取工艺

将采自春、夏、秋、冬四个季节的多穗柯叶于 60 °C 烘箱烘干,然后用粉碎机将多穗柯叶粉碎,过筛(2 号筛,24 目)得样品,分别准确称取春、夏、秋、冬四个样品各三组,每组样品 1.0 g 置于 100 mL 锥形瓶中,加入 40 mL 体积分数为 70% 乙醇溶液,置于 50 °C 水浴锅冷凝回流提取 60 min,过滤取定量提取液,稀释、定容,过膜测定根皮苷吸光值,计算根皮苷得率。

1.3.3 根皮苷粗提物抗氧化实验

清除 $\text{HO} \cdot$ 能力测定方法^[13]:在试管中依次加入 10 mmol/L 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 2$ mL、8.8 mmol/L H_2O_2 2 mL、1 mL 样品溶液,最后加入 10 mmol/L 水杨酸 2

mL,在 37 °C 反应 30 min。以蒸馏水作参比,在 510 nm 波长测定吸光度,并同时做不加显色剂的样品空白,以 VC 作为阳性对照,根据公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A - A_1) / A_0] \times 100\%$$

式中: A 为加入样品液的吸光度; A_1 为不加显色剂 H_2O_2 溶液的吸光度; A_0 以蒸馏水代替样品的吸光度。

清除 DPPH · 能力测定方法^[14]:取 2 mL 不同条件下提取样品溶液于 10 mL 棕色瓶中,再分别加入 2 mL DPPH · 溶液(0.1 mmol/L,该溶液避光保存温度为 4 °C,现用现配)摇匀,在 37 °C 下暗处放置 30 min,分别在 517 nm 波长处测吸光度,以 VC 作为阳性对照,根据公式计算清除率:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A - A_1) / A_0] \times 100\%$$

式中: A 为加入样品液与 DPPH 溶液的吸光度; A_1 为加入样品液与乙醇的吸光度; A_0 为加入 DPPH · 溶液与乙醇溶液的吸光度。

清除 O_2^- · 能力测定方法^[15]:取 3 mL 的 pH 值为 8.2 的缓冲液于 10 mL 的具塞试管中,分别加入 1 mL 样品溶液,在 25 °C 下保存 20 min,再加入 1 mL 50 mmol/L 邻苯三酚溶液启动反应,准确反应 5 min 后,加入 2 滴浓盐酸终止反应,在 420 nm 下测定吸光度。同时空白组以相同体积的双蒸水代替待测液,以 VC 作对照试验。以 0.1 mol/L 的 HCl 进行调零,根据公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A - A_1) / A_0] \times 100\%$$

式中: A 为样品液的吸光值; A_1 为样品本底的吸光值; A_0 为空白对照,双蒸馏水代替样品的吸光值。

2 结果与分析

2.1 根皮苷的含量变化

四个季节的多穗柯叶根皮苷的含量如图 1 所示,随着季节的推移,根皮苷含量呈现先上升后下降的趋势,在秋季多穗柯叶中根皮苷含量最高,每 1 g 多穗柯叶中根皮苷含量可达 49.959 mg。

2.2 根皮苷粗提物抗氧化性实验

2.2.1 $\text{HO} \cdot$ 清除效果

根皮苷对 $\text{HO} \cdot$ 清除效果如图 2 所示,根皮苷对 $\text{HO} \cdot$ 的清除效果显著并高于 VC,且随着季节的

推移,根皮苷对 $\text{HO} \cdot$ 清除率呈现先下降后升高的趋势,春季的多穗柯叶根皮苷清除 $\text{HO} \cdot$ 的效果最高可达 40.13%,秋季效果最低, $\text{HO} \cdot$ 清除率为 32.61%。

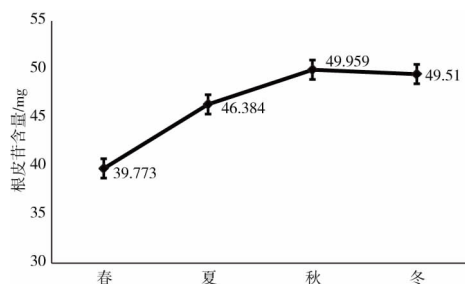
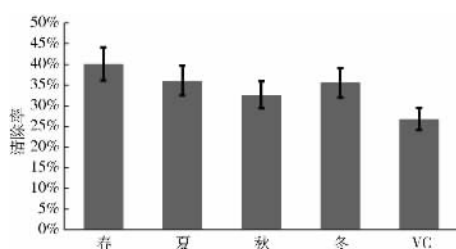


图1 根皮苷含量变化图

Fig.1 Content change of phloridzin

图2 根皮苷粗提物对 $\text{HO} \cdot$ 清除率Fig.2 The scavenging rate of $\text{HO} \cdot$

2.2.2 DPPH·清除效果

根皮苷对 DPPH·清除效果如图3,根皮苷对 DPPH·的清除效果与 VC 几乎持平,且春季、秋季、冬季的多穗柯叶根皮苷对 DPPH·清除率也几乎等同,夏季多穗柯叶根皮苷 DPPH·的清除效果最低,清除率也高达 80.62%。

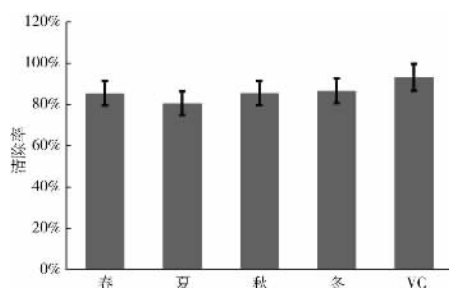


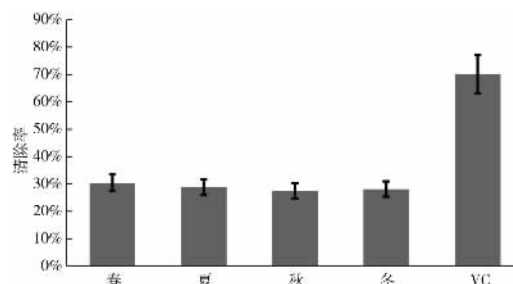
图3 根皮苷粗提物对 DPPH·清除率

Fig.3 The scavenging rate of DPPH·

2.2.3 O_2^- 清除效果

根皮苷对 O_2^- 清除效果如图4,四个季节的多穗柯叶根皮苷对 O_2^- 的清除效果皆低于 VC,且随

着季节的推移根皮苷对 O_2^- 的清除效果是先递减后上升,春季多穗柯叶根皮苷对 O_2^- 的清除率最高,为 30.38%,秋季最低,清除率为 27.41%。

图4 根皮苷粗提物对 O_2^- 清除率Fig.4 The scavenging rate of O_2^-

3 结论

采用冷凝回流法对春、夏、秋、冬四个季节的多穗柯叶进行根皮苷的提取,结果为一年中随着季节推移多穗柯叶中根皮苷含量呈现先升高后降低的趋势,秋季的多穗柯叶根皮苷含量最高,原因可能是秋季叶子完全发育成熟,而春季为叶子发育阶段,夏季为叶子营养积累阶段,冬季叶子开始凋谢,所以一年中根皮苷含量变化为先上升后下降趋势。抗氧化性实验说明,四个季节的多穗柯叶根皮苷都有显著的抗氧化性,根皮苷对 $\text{HO} \cdot$ 和 O_2^- 清除率随着季节推移呈现先下降后升高的趋势,各季节的多穗柯叶根皮苷对 DPPH·的清除率影响较小。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴:第1册[M].北京:科学出版社,1972:434.
- [2] 何春年,彭勇,肖伟,等.多穗柯甜茶的研究进展[J].时珍国医国药,2012(5):209-211.
- [3] 陈家珍.安溪清水岩志[M].扬州:江苏广陵古籍刻印社,1996.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编:下册[M].北京:人民卫生出版社,1987:256.
- [5] 高子洋.基于二相代谢的根皮苷在Ⅱ型糖尿病大鼠体内的药代动力学研究[D].成都:四川师范大学,2017.
- [6] 郭建茹.根皮苷对肥胖小鼠脂代谢的影响及作用机制的初步研究[D].广州:广州中医药大学,2013.

苗药铁筷子挥发油的化学成分分析及抑制 BGC-823 细胞增殖研究*

鲁杰¹, 谢丹¹, 阮靖华^{2▲}, 范东生², 查鑫², 辛加敏²

(¹ 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550002; ² 贵州中医药大学第一附属医院, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 目的: 研究苗药铁筷子挥发油成分及挥发油抗肿瘤作用。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取铁筷子挥发油, 利用 GC-MS 联用仪分析铁筷子挥发油的化学成分。CCK8 法检测苗药铁筷子挥发油对 BGC-823 细胞增殖的抑制作用。结果: 从苗药铁筷子挥发油中鉴定了 33 种化合物, 共占挥发油的 89.71%, 苗药铁筷子挥发油中主要含有棕榈酸占总油量的 19.99%、亚油酸占总油量的 13.27%、油酸占总油量的 10.99%。抗肿瘤活性表明苗药铁筷子挥发油对 BGC-823 细胞的增殖抑制作用, IC₅₀ 值为 11.793 μg/mL。结论: 苗药铁筷子挥发油可抑制 BGC-823 细胞的增殖。

关键词: 苗药铁筷子, 挥发油, GC-MS, BGC-823, 抗肿瘤活性

中图分类号: R932.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2021) 01-0026-05

Study on chemical composition of volatile oil of Miao medicine Chimonanthi Radix and its inhibitory effect on BGC-823 cells*

LU Jie¹, XIE Dan¹, RUAN Jinghua^{2▲}, FAN Dongsheng², ZHA Xin², XIN Jiamin²

(¹ Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; ² The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

[7] 于丽静, 宁正祥, 于丽伟, 等. 多穗柯中二氢查耳酮的提取、纯化与含量测定 [J]. 中国食品添加剂, 2007(1): 176-179.

[8] 邱宏聪, 李茂, 蒋珍藕. P-HPLC 法测定多穗柯药材中根皮苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 900-903.

[9] 董华强, 宁正祥, 于立静, 等. 多穗柯黄酮根皮苷对糖尿病小鼠的降血糖血脂效果 [J]. 食品科学, 2006(12): 714-718.

[10] 李晚谊, 李瑞英. 云南甜茶抗过敏有效成分初步研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2001(6): 461-463.

[11] 韦宝伟, 李茂, 李伟芳. 多穗柯总黄酮的降糖作用 [J]. 内科, 2008(4): 510-512.

[12] GOSCH C, HALBWIRTH H, STICH K. Phloridzin: biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants [J]. Phytochemistry, 2010, 71(8/9): 838-843.

[13] 李晓英, 薛梅, 樊汶樵. 蓝莓花、茎、叶酚类物质含量及

抗氧化活性比较 [J]. 食品科学, 2017, 38(3): 142-147.

[14] 杜凯, 马养民, 郭林新. 杏仁皮单宁提取工艺优化及其 DPPH 自由基清除活性 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 174-178.

[15] 王纯, 甘庆萌, 孟菲, 等. 四种小浆果浆汁活性成分及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 71-76.

收稿日期: 2020-06-03; 修回日期: 2020-06-16

基金项目: 贵州省 2019 年度科技重大专项(黔科合重大专项字(2019)3004); 贵州省 2020 年度科技支撑计划项目(黔科合支撑(2020)1Y027 号); 贵州科学院基金项目(黔科院字(2018)7 号)。

作者简介: 王代波(1993-), 男, 贵州, 本科学历, 研究方向: 天然产物开发利用。

▲通讯作者: 徐青(1980-), 女, 副研究员, 研究方向: 天然产物资源开发与利用。