

王馨悦,陈华国,周 欣. 6 种常见食材抗氧化及抑制乙酰胆碱酯酶活性[J]. 江苏农业科学,2019,47(15):208-212.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.15.049

6 种常见食材抗氧化及抑制乙酰胆碱酯酶活性

王馨悦,陈华国,周 欣

(贵州师范大学/贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室/贵州省药物质量控制及评价技术工程实验室/
贵州师范大学天然药物质量控制研究中心,贵州贵阳 550001)

摘要:以黑莓、桑椹、红布李、紫薯、黑米、黑豆为试验材料,乙醇为溶剂,对 6 种食材进行花青素提取;采用 DPPH 和 ABTS 2 种方法测定 6 种提取物的抗氧化活性,利用 Pearson 原理分析 6 种提取物中花青素含量与抗氧化活性的相关性,初步探索二者规律;并采用分光光度法测定花青素提取物对乙酰胆碱酯酶抑制活性,以期在花青素的深度研究及开发利用提供参考。结果表明,6 种食材提取物均具有良好的抗氧化活性,清除自由基能力大小顺序为红布李>桑椹>黑莓>紫薯≈黑米>黑豆,其中红布李提取物清除 DPPH 自由基能力与维生素 C 相近,其 IC_{50} 值为 $39.38 \mu\text{g/mL}$,且花青素含量与抗氧化能力显著正相关;研究发现 5 种食材花青素提取物均对乙酰胆碱酯酶有抑制作用。

关键词:花青素;抗氧化;抑制乙酰胆碱酯酶;DPPH;ABTS

中图分类号: Q946.83*6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)15-0208-04

随着人们生活水平的提高,健康养生已成为人们关注的焦点。花青素是广泛存在于植物花瓣、果实组织及茎叶的表面细胞与下表皮层中的一类可溶于水的天然色素,具有抗氧化、降血糖、降血脂、减肥、抗炎、改善视力等多种药理作用,因此花青素成为当今国内外科技工作者研究的热点之一。富含花青素的植物尤以果蔬居多,据初步统计:在 27 个科,73 个属植物组织中均含有一定含量的花青素,如桑椹、紫薯、葡萄、紫甘蓝等^[1],另外多数黑色杂粮也富含花青素,黑米,黑豆是工业中提取矢车菊素的常见原料。

目前对花青素的研究集中在花青素的提取分离纯化方法、抗氧化活性方面以及少部分的含量测定和组分鉴定的研究,研究内容和形式略显单一,大多数研究仅限于对某一种样品(蓝莓、紫甘蓝等)的提取工艺或某一类物质(特别是矢车菊素)的含量测定及抗氧化活性的单方面研究,对常见食材如水果红布李等的研究及其他生物活性特别是抑制乙酰胆碱酯酶活性的研究略为缺乏。因此,多方面、多维度深度综合评价花青素的性质已是一种趋势。众所周知,乙酰胆碱酯酶是目前治疗阿尔茨海默症的有效靶点之一,通过对乙酰胆碱酯酶的可逆性抑制,可有效缓解或治疗老年痴呆症。本研究选择 6 种不同植物来源的食材为研究对象,其中包括蔬菜(紫薯)、水果(黑莓、红布李、桑椹)、粮食(黑米、黑豆),对其花青素提取物的含量与抗氧化活性进行对比,并进行相关性分析,初步探索花青素含量与抗氧化活性的规律,并对 6 种样品提取物抑制乙酰胆碱酯酶活性进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑莓、桑椹、红布李、紫薯、黑米、黑豆均采购于贵州省贵阳市云岩区富水北路北京华联超市。

所用药品试剂有 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)(分析纯,美国 Sigma 公司生产);5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)(分析纯,贵州迪大科技有限责任公司生产);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)(分析纯,贵州迪大科技有限责任公司生产);矢车菊-3-O-葡萄糖苷,维生素 C(分析纯,贵州迪大科技有限责任公司生产);乙酰胆碱酯酶(AChE)(分析纯,大连美仑生物技术有限公司生产);碘代硫代乙酰胆碱(ATCI)(分析纯,大连美仑生物技术有限公司生产);乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司生产)。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司生产);Spectra Max Plus 384 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司生产);XS 105 十万分之一分析天平、AL 204 万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产];R-200 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司生产);电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司生产);Eppendorf research plus 微量移液器(德国 Eppendorf 公司生产);TD5M 低速离心机(长沙迈佳森仪器设备有限公司生产);三洋微波炉 EM-202MS1(合肥荣事达三洋电器有限公司生产);美的搅拌机 MJ-220BP01A(广东美的生活电器制造有限公司生产)。

1.3 试验方法

整个试验于 2017 年在贵州师范大学山地环境重点实验室完成。

1.3.1 样品的制备 花青素的提取:参照文献[2]并略作修改,新鲜果蔬粉碎匀浆后,以 1:10 的料液比加入 52% 的乙醇溶液,微波提取 4 min(微波功率 469 W),提取液于低速离

收稿日期:2018-04-10

基金项目:贵州省高层次创新人才培养计划(编号:[2015]4033);贵州省优秀青年科技人才项目(编号:[2017]5625)。

作者简介:王馨悦(1992—),女,重庆人,硕士研究生,主要从事天然产物开发与利用研究。E-mail:shawna92@163.com。

通信作者:陈华国,博士,教授,主要从事天然产物开发与利用研究。

E-mail:huaguochen81@gmail.com。

心机 3 500 r/min 离心 5 min 后取上清液减压浓缩,存放于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$,备用。花青素的纯化:参照笔者所在实验室前期工作^[3],将粗提物加水稀释至花青素浓度为 0.75 mg/mL ,HCl 调节 pH 值为 1。聚酰胺树脂(60~100 目)用 95% 乙醇煮沸 4 h 后以纯水洗净,作为填料,装柱,将稀释后的样品提取物以 5 BV/h 的速度上柱 5 BV,随后用 3 BV 纯水洗脱,再用 pH 值为 3 的 80% 乙醇以 5 BV/h 的速度洗脱 3.5 BV,洗脱液经减压浓缩后真空冷冻干燥得样品粉末,装于棕色瓶,保存在干燥器中。花青素的水解:取 1 mL 样品溶液(约 1 mg/mL)加入到比色管中,再加入 4 mL 高浓度盐酸水解液(盐酸:水:甲醇体积比 = $1:1:2$)摇匀,沸水中水浴 1 h ,冷却至室温,备用。

1.3.2 样品中花青素含量的测定 取 1 mL 花青素样品溶液(以 52% 乙醇溶液为空白)加入到 10 mL 比色管中,加入 5 mL 的 1% 盐酸甲醇溶液让其显色,充分振荡摇匀, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min ,取出,冷却至室温,于 530 nm 处测定其吸光度^[2]。

1.3.3 6 种样品花青素成分分析 采用高效液相色谱法对样品中花青素种类进行初步分析,液相色谱条件参照胡莉等方法^[4]并稍作修改。色谱柱为 Hypersil GOLD C_{18} 柱($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$)。流动相 A 为水(含 0.33% 甲酸),B 为乙腈;进样量为 $20.0\text{ }\mu\text{L}$,柱温为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,检测波长为 530 nm ,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	A(%)	B(%)
0.0	92	8
2.0	88	12
5.0	82	18
10.0	80	20
12.0	75	25
15.0	70	30
18.0	55	45
20.0	20	80
22.0	92	8
30.0	92	8

1.3.4 ABTS 自由基清除能力测试 ABTS 自由基溶液^[5]由 14 mmol/L ABTS 溶液和 5 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 水溶液以 $1:1$ 的比例混合后避光反应 $12\sim 16\text{ h}$ 后使用,使用时稀释 50 倍。样品溶液(D_i)的制备,分别取 0.2 mL 不同浓度的花青素样品溶液于 1.5 mL 的离心管中,再加入 0.8 mL ABTS 自由基溶液混合均匀,室温避光反应 6 min ,于 734 nm 处测定吸光度。以 0.8 mL 52% 乙醇代替 ABTS 溶液为对照(D_j),测定吸光度,空白(D_0)以相同体积水代替样品溶液,根据计算公式:清除率 = $(D_0 - D_i - D_j)/D_0 \times 100\%$;计算样品 ABTS 自由基清除率。以维生素 C 为对照品,以维生素 C 浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,以 ABTS 自由基清除率(%)为纵坐标,得出线性回归方程: $y = 5.3308x - 29.2600$ ($r^2 = 0.9519$)。花青素样品的 ABTS 自由基清除能力以 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)表示。

1.3.5 DPPH 自由基清除能力测试 参考 Kim 等的方法^[6]略有改动,进行 DPPH 自由基清除试验。称取 9.86 mg DPPH 溶于无水乙醇溶液中,定容 100 mL ,现配现用。分别取 0.2 mL 不同浓度的花青素样品溶液于 1.5 mL 离心管中,加入 0.8 mL DPPH 乙醇溶液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光反应 30 min 后,以乙醇

作对照,在波长 517 nm 处测定吸光度,空白溶液以相同体积 52% 乙醇代替样品反应,计算样品 DPPH 自由基清除率。以维生素 C 为对照品,以维生素 C 浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,以 DPPH 自由基清除率(%)为纵坐标,得出线性回归方程: $y = 1.1092x - 7.2372$ ($r^2 = 0.9970$)。花青素样品的 DPPH 自由基清除能力以 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)表示。

1.3.6 抑制乙酰胆碱酯酶活性测试 采用改良的 Ellman 等的分光光度法^[7]对 6 种不同果蔬的花青素提取物进行乙酰胆碱酯酶活性抑制研究。方法如下:将样品以 52% 乙醇溶解稀释至不同质量浓度的样液。整个反应在酶标板中进行,反应体系中各加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ 样液、 $120\text{ }\mu\text{L}$ 0.1 mol/L PBS(pH 值 7.2)、 $20\text{ }\mu\text{L}$ 乙酰胆碱酯酶($0.64\text{ }\mu\text{g/mL}$)和 $20\text{ }\mu\text{L}$ 75 mmol/L ATCI 溶液,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保温 20 min 后加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ DTNB 溶液,室温下避光放置 20 min 后立即在波长 405 nm 处测量吸光度($D_{\text{样品}}$)。52% 乙醇代替样品溶液测得空白值为 $D_{\text{空白}}$;PBS 代替酶溶液的空白溶液吸光度为 $D_{\text{空白本底}}$,PBS 代替酶溶液测定样品溶液的吸光度为 $D_{\text{样品本底}}$ 。以氢溴酸加兰他敏为阳性对照,乙酰胆碱酯酶活性抑制率 = $[(D_{\text{空白}} - D_{\text{空白本底}}) - (D_{\text{样品}} - D_{\text{样品本底}})] / (D_{\text{空白}} - D_{\text{空白本底}}) \times 100\%$,试验重复 3 次,求平均值。

1.4 数据处理

试验重复 3 次,数据以平均值表示,使用 Excel 2016 和 SPSS 21.0 软件对数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 6 种提取物中花青素含量的测定

由图 1 可知,经初步纯化后 6 种样品的花青素含量高低顺序为桑椹 > 黑莓 > 红布李 > 黑米 > 紫薯 > 黑豆。桑椹样品中花青素含量最高,为 53.78% ;其余 5 种样品的含量依次为 46.14% 、 36.44% 、 26.05% 、 12.63% 、 6.80% 。据相关文献报道,黑莓中还含有丰富的非花色苷类多酚类物质,主要是黄酮醇和黄酮醇等,红布李中也含有丰富的酚类物质。

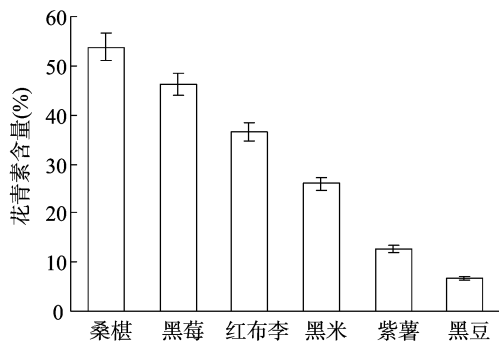


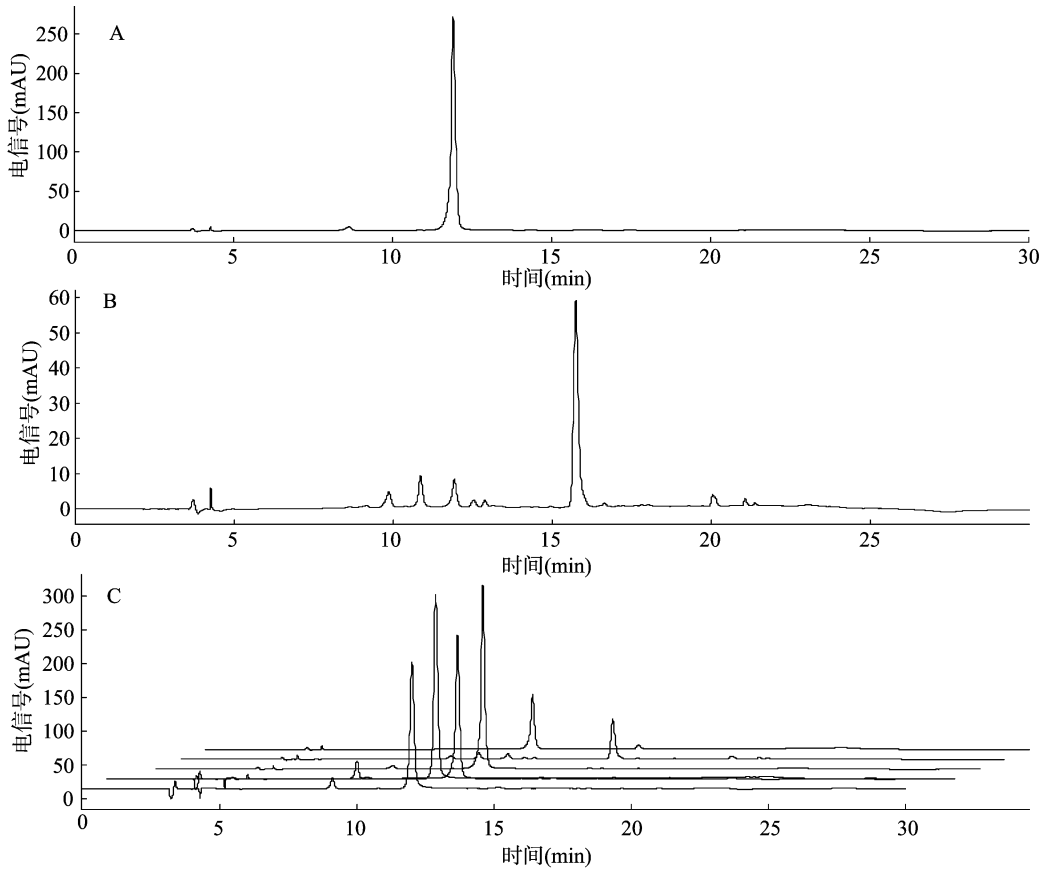
图 1 6 种提取物中花青素的含量对比

2.2 6 种提取物中花青素成分分析

由于自然界中游离态花青素苷元极少,多数花青素通过糖基化或酰基化而稳定存在果蔬中,这使得花青素种类繁多且极性相近,给研究带来诸多不便^[8],因此,以水解后的样品提取物及矢车菊-3-O-葡萄糖苷为对象简要分析各样品中所含花青素的苷元种类。水解后的矢车菊-3-O-葡萄糖苷在 11.895 min 处有强吸收,如图 2-A 所示。从图 2-B 可知,紫薯中所含花青素种类较多,在 11.917 min 处的吸收较弱说明矢车菊素及其衍生物含量较低,但在 15.823 min 有

强吸收峰,该色谱峰为芍药色素,与相关文献报道的紫薯花青素主要为芍药色素及其衍生物,也含有少量的矢车菊素的结论一致。另外,根据图 2-C 中与矢车菊 3-O-葡萄糖苷标准品的水解色谱图出峰时间对比可知,桑椹、黑莓、黑米、红布李提取物水解后的主要产物为矢车菊素,说明这 4 种样品提

取物中所含花青素主要为矢车菊素及其衍生物,因此工业中常用黑米或黑豆作为提取矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的原料。文献报道黑莓中所含花青素也是主要为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷,经过色谱图比对可知黑米中也含有少量的芍药色素,这与 Fabroni 等的研究结论^[9]一致。



A—矢车菊素-3-O-葡萄糖苷水解色谱; B—紫薯水解色谱; C—红布李、黑莓、桑椹、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、紫薯、黑米(从左至右)水解色谱

图2 6种提取物中花青素成分水解色谱

2.3 抗氧化活性

维生素 C 是一种公认的具有强抗氧化活性的物质,常作为抗氧化活性研究的阳性对照,通过与维生素 C 对比可评价被测物质的抗氧化能力强弱。DPPH 和 ABTS 自由基清除能力的结果通过 SPSS 21.0 软件对数据进行统计学分析,以 IC₅₀ 值表示,IC₅₀ 值越小,说明 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力越强。根据表 2 可知,6 种样品中红布李的抗氧化活性最强,DPPH 的 IC₅₀ 值最小,为 39.38 μg/mL,其 DPPH 自由基清除能力接近于维生素 C(38.55 μg/mL),高于矢车菊素 3-O-葡萄糖苷(42.65 μg/mL),其余 5 种样品相对较弱,以黑豆提取物最弱。各提取物对 ABTS 自由基的清除能力都较强,矢车菊素、红布李、桑椹三者的清除能力接近。总的来说,各个样品对 ABTS 和 DPPH 自由基清除能力的趋势基本一致。其中 DPPH 自由基清除率大小顺序为维生素 C>红布李>矢车菊素-3-O-葡萄糖苷>桑椹>黑莓>紫薯>黑米>黑豆,ABTS 自由基清除率大小顺序为维生素 C>矢车菊素-3-O-葡萄糖苷>红布李>桑椹>黑莓>黑米>紫薯>黑豆。

2.4 花青素含量与抗氧化活性相关性研究

皮尔森(Pearson)相关系数法常用来表达2组变量之间

表 2 6 种样品提取物的 DPPH 和 ABTS 抗氧化能力

样品	IC ₅₀ (μg/mL)	
	DPPH	ABTS
维生素 C	38.55	3.47
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	42.65	16.55
红布李	39.38	16.70
桑椹	69.43	16.82
黑莓	87.28	24.54
紫薯	113.22	44.23
黑米	123.31	30.54
黑豆	650.60	92.80

线性的相关程度,如果相关系数的绝对值越大,则变量之间的相关性越强,对各样品花青素含量与各抗氧化活性数据进行相关性分析。所得结果如表 3 所示,6 种样品提取物的花青素含量与 DPPH 自由基清除能力的 Pearson 相关性系数为 0.794,显著性(双侧)数值为 0.019;与 ABTS 自由基清除能力的 Pearson 相关性系数为 0.708,显著性(双侧)数值为 0.049,说明花青素含量与 DPPH、ABTS 自由基清除能力显著正相关(P<0.05)。根据标准品矢车菊素-3-O-葡萄糖苷

抗氧化活性的试验证明,花青素清除自由基能力与含量具有显著量效关系,花青素含量越高,其抗氧化能力越强。

表 3 花青素含量与 DPPH 和 ABTS 抗氧化能力的相关性

项目	相关系数		
	花青素含量	DPPH	ABTS
花青素含量	1.000	0.794 *	0.708 *
DPPH	0.794 *	1.000	0.643
ABTS	0.708 *	0.643	1.000

注: * 表示显著相关 ($P < 0.05$)。

2.5 抑制乙酰胆碱酯酶活性

阿尔茨海默症即老年痴呆症,是以记忆损伤、认知功能障碍、行为障碍和自理能力下降为特征的慢性神经退性疾病,有研究证明通过抑制乙酰胆碱酯酶活性可有效治疗或缓解阿尔茨海默症。经测定结果(图 3)可知,花青素对乙酰胆碱酯酶具有抑制作用。由于黑豆提取物中花青素含量较低,因此未对其乙酰胆碱酯酶抑制活性进行研究。剩余 5 种样品的花青素提取物对乙酰胆碱酯酶抑制活性大小顺序为红布李 > 紫薯 > 桑椹 > 黑莓 > 黑米,红布李花青素对乙酰胆碱酯酶的抑制作用最强,紫薯次之,两者对乙酰胆碱酯酶半抑制浓度 IC_{50} 分别为 2.00、2.37 mg/mL,与矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对乙酰胆碱酯酶的半抑制活性相近,分别是它们的 0.90、0.8 倍,其余 3 种样品花青素半抑制浓度 IC_{50} 分别为 3.41、3.69、4.08 mg/mL。研究报道不同的植物提取物和活性化合物(天竺葵色素、飞燕草色素和矢车菊素等)具有抑制胆碱酯酶活性作用且对记忆和认知有良好的作用^[10-13]。紫薯的花青素含量较低但对乙酰胆碱酯酶的抑制活性相对较高,推测因为单一的花青素对其的抑制作用有限,而紫薯含有的花青素种类较多,复合的花青素对乙酰胆碱酯酶的抑制作用更佳,或者由于紫薯提取物含有较多的芍药色素,芍药色素起主导作用;红布李对乙酰胆碱酯酶的抑制作用较好的可能因为红布李中富含多酚类化合物。石榴和葡萄的叶子表现有较好的乙酰胆碱酯酶抑制活性^[14-15]。体外活性试验说明花青素具备乙酰胆碱酯酶抑制活性,对于是否能入药仍需进一步的体内试验证明。目前,从天然产物中寻找活性物质为母体进行结构修饰以增强其活性已成为一种趋势,花青素对乙酰胆碱酯酶的抑制活性或许可为乙酰胆碱酯酶抑制剂提供思路。

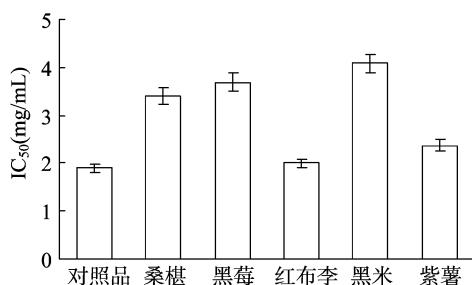


图 3 花青素提取物的乙酰胆碱酯酶抑制活性

3 结论与讨论

花青素抗自由基原理主要有 2 种被广泛接受的机制——酚类化合物自由基清除活性,即氢原子转移机制(抗氧化剂将氢原子供给活性自由基,并产生稳定的苯氧自由基)和单

电子转移机制(电子和质子在 2 个连续步骤中转移,分别得到第 1 个自由基阳离子,然后是苯氧基自由基)。花青素属于黄酮类化合物,其抗自由基活性与结构特征(包括黄酮离子上取代基的种类,数量和位置)密切相关。羟基和甲氧基取代基作为电子给体基团的数目和位置对花青素的抗氧化活性具有显著的影响,若样品溶液的花青素浓度越高,则花青素分子数越多,羟基数目越多则抗自由基活性越强。由于试验的 6 种样品除紫薯外,花青素种类主要是矢车菊素及其衍生物,紫薯中所含花青素种类较复杂,以芍药色素及衍生物为主,芍药色素与矢车菊素的主要区别在于母体 C 环 3'位置的取代基不同,芍药色素为甲氧基,矢车菊素为羟基,二者抗氧化活性相近,因此,花青素含量与抗氧化能力显著正相关。根据刘翠等研究发现,花青素的生理活性还与单体组成、单体之间连接键的形成及聚合度有关,其抗氧化能力的大小顺序为二聚体 > 多聚体 > 单体^[16]。

通过 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力试验表明,6 种不同植物来源的花青素原料提取物均具有良好的抗氧化活性,且花青素含量与清除自由基能力呈显著正相关关系,花青素含量越高,其清除自由基能力越强。花青素种类繁多且以花色苷稳定存在,羟基数目、糖基化的位置和种类都会对花青素的抗氧化活性造成影响,有研究表明飞燕草素清除 DPPH 自由基的能力最强,但是 3-葡萄糖化又会降低飞燕草素的抗氧化能力,因此影响花青素抗氧化能力的主要因素仍需进一步研究。本研究仅结合 6 种样品水解后的游离态花青素成分进行初步分析,也可通过进一步的指纹图谱、谱效关系及药效物质辨识研究深入了解花青素种类及结构与抗氧化活性的关系,找到其规律,揭示花青素抗氧化作用机制。

通过不同食材的花青素提取物对乙酰胆碱酯酶的抑制活性研究,6 种样品提取物均具有乙酰胆碱酯酶抑制活性,根据研究结果推测花青素复合物或者芍药色素相较于矢车菊素对乙酰胆碱酯酶有更强的抑制作用,相关研究也表明花青素具有明确的神经保护作用,可为今后进一步探讨花青素预防心脑血管疾病作用以及常见食材相关产品的研究开发提供理论依据。

参考文献:

- [1] 魏 蕾,吕佳飞,李志洲. 花青素的提取纯化、抗氧化能力及功用方面的研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,2009,31(4):83-86.
- [2] Wen Y, Chen H G, Zhou X, et al. Optimization of the microwave-assisted extraction and antioxidant activities of anthocyanins from blackberry using a response surface methodology[J]. RSC Advances, 2015,5(25):19686-19695.
- [3] Wen Y, Chen H G, Zhou X, et al. A polyamide resin based method for adsorption of anthocyanins from blackberries[J]. New Journal of Chemistry, 2016,40(4):3773-3780.
- [4] 胡 莉,仲伶俐,毛建霏,等. 高效液相色谱测定粮食、蔬菜和水果中的花青素[J]. 分析实验室,2012(12):43-47.
- [5] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999,26(9/10):1231-1237.
- [6] Kim D O, Jeong S W, Lee C Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums[J]. Food Chemistry, 2003,81(3):321-326.

杨新周, 杨兰芬, 田孟华, 等. 不同产地白花蛇舌草傅里叶红外光谱识别[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(15): 212–219.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.15.050

不同产地白花蛇舌草傅里叶红外光谱识别

杨新周^{1,2}, 杨兰芬^{1,2}, 田孟华⁴, 田先娇^{1,3}, 马艳粉^{1,3}, 林惠昆^{1,2}

(1. 德宏师范高等专科学校民族医药研究所, 云南德宏 678400; 2. 德宏师范高等专科学校理工商, 云南德宏 678400;
3. 德宏师范高等专科学校生命科学系, 云南德宏 678400; 4. 昭通市天麻研究院, 云南昭通 657000)

摘要:对云南省不同产地的白花蛇舌草进行红外指纹图谱分析鉴别研究, 采用一维红外光谱及二阶导数光谱对云南省 23 个产地的白花蛇舌草和熊果酸、齐墩果酸的红外光谱进行分析, 鉴别出云南白花蛇舌草的主要特征和差异。结果表明, 在 $1\ 800 \sim 800\text{ cm}^{-1}$ 范围内, 不同产地的白花蛇舌草在 $1\ 619$ 、 $1\ 421$ 、 $1\ 318$ 、 $1\ 256$ 、 $1\ 154$ 、 $1\ 247$ 、 $1\ 073$ 、 896 cm^{-1} 等处均有较强的振动吸收峰, 说明不同产地的白花蛇舌草化学成分组成结构相似, 对不同产地白花蛇舌草相关系数进行分组比较, 发现不同产地的白花蛇舌草存在差异。结合一维红外光谱和二阶导数光谱分析, 可以为不同产地白花蛇舌草的识别分析提供依据。红外光谱法快速、简便, 能够反映不同产地白花蛇舌草的整体化学成分信息, 有助于白花蛇舌草的整体质量控制以及有效成分定性分析研究。

关键词:白花蛇舌草; 熊果酸; 齐墩果酸; 不同产区; 傅里叶红外光谱; 识别

中图分类号: O657.33; S567.21+9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)15-0212-08

白花蛇舌草 (*Hedyotis diffusa* Willd.) 属茜草科 (Rubiaceae) 耳草属植物, 是一种傣族药物, 傣语称为“芽零哦”。白花蛇舌草全草入药, 见于《广西中药志》, 品味苦、甘, 性寒, 具有清热解毒、活血化瘀、利湿通淋之功效。民间常用来治疗肝炎、扁桃腺炎、咽喉痛、阑尾炎、尿道感染和肝癌、肺癌、胃癌等多种癌症^[1]。临床上常用于治疗肿瘤、疮疖、疔疮、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、湿热黄疸、小便不利等^[2]。白花蛇舌草是 2015 版《中华人民共和国药典》中收录的花红颗粒、男康片、抗骨髓炎片、肾炎康片、炎宁糖浆等成方制剂和单味

制剂中的配方成分之一^[3], 随着对白花蛇舌草的研究不断深入, 白花蛇舌草逐渐成为具有开发前景的中药材。目前, 对白花蛇舌草的研究主要集中在化学成分、药理药效方面^[2,4-5], 而对云南省不同产区白花蛇舌草的鉴别研究还未见报道。红外光谱是鉴别中药材的常用手段, 此种方法能保留药材的完整性, 且具有高效、便捷的特点。本研究利用红外光谱法对云南省不同产区的白花蛇舌草进行鉴别, 结合一维红外光谱图、二阶导数光谱图分析不同产区白花蛇舌草的异同点。笔者将不同产区白花蛇舌草和熊果酸、齐墩果酸红外光谱图进行对比, 以期达到对不同产区白花蛇舌草的鉴别, 为白花蛇舌草的资源和质量控制提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 仪器

傅里叶变换红外光谱仪 (perkin-elmer, spectrum one)、DTGS 检测器。光谱范围为 $4\ 000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$, 光谱分辨率为

收稿日期: 2018-05-29

基金项目: 云南省教育厅基金 (编号: 2017ZZX277); 云南省应用基础研究青年项目 (编号: 2018FD099); 德宏师范高等专科学校优秀中青年学术带头人培养项目; 德宏州科技创新计划 (编号: 2017-5)。

作者简介: 杨新周 (1986—), 男, 云南腾冲人, 硕士, 副教授, 主要从事民族药物及分离分析化学研究。E-mail: yxz1149@126.com。

[7] Ellman G L, Courtney K D, Andres V, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. Biochemical Pharmacology, 1961, 7(2): 88–95.

[8] 毛建霁, 周虹, 雷绍荣, 等. 高效液相色谱法测定紫甘薯花青素含量[J]. 西南农业学报, 2012, 25(1): 123–127.

[9] Fabroni S, Ballistreri G, Amenta M, et al. Screening of the anthocyanin profile and *in vitro* pancreatic lipase inhibition by anthocyanin-containing extracts of fruits, vegetables, legumes and cereals[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(14): 4713–4723.

[10] 刘翠, 陈素华, 陈少云, 等. 中国野生笃斯越橘花青素的初步分离和分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(1): 57–64.

[11] Krikorian R, Shidler M D, Nash T A, et al. Blueberry supplementation improves memory in older adults[J]. Journal of

Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7): 3996–4000.

[12] Ryu H W, Curtisslong M J, Jung S, et al. Anticholinesterase potential of flavonols from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and their kinetic studies[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1244–1250.

[13] Gutierrez J M, Carvalho F B, Schetinger M R, et al. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type[J]. Life Sciences, 2014, 96(1/2): 7–17.

[14] Costa P, Grosso C, Goncalves S, et al. Supercritical fluid extraction and hydrodistillation for the recovery of bioactive compounds from *Lavandula viridis* L'Hér[J]. Food Chemistry, 2012, 135(1): 112–121.

[15] Gupta A, Gupta R. A survey of plants for presence of cholinesterase activity[J]. Phytochemistry, 1997, 46(5): 827–831.

[16] 刘翠. 中国野生笃斯越橘花青素的提取分离、组分分析及抗氧化活性的研究[J]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.