

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2022.01.008

多花黄精非药用部位活性成分及抗氧化性比较

Comparison of active components and antioxidant activity of
non-medicinal parts of *Polygonatum cyrtonema*

王天梅^{1,2} 王华磊^{1,2} 李丹丹^{1,2} 陈松树¹ 潘克琴^{1,2}

WANG Tian-mei^{1,2} WANG Hua-lei^{1,2} LI Dan-dan^{1,2} CHEN Song-shu¹ PAN Ke-qin^{1,2}

(1. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Guizhou

Key Laboratory of Propagation and Cultivation on Medicinal Plants, Guiyang, Guizhou 550025, China)

摘要:目的:提高多花黄精的综合利用。方法:测定多花黄精根、茎、叶、花和嫩芽 5 个非药用部位的总黄酮、总皂苷和总酚含量,并比较非药用部位提取液的 DPPH·、·OH 及对亚硝酸盐的清除率。结果:多花黄精 5 个部位中总黄酮和总酚含量顺序大小一致,依次为叶>嫩芽>花>茎>根,总皂苷以花中含最高;抗氧化活性方面,叶提取液的 DPPH·、·OH 和对亚硝酸盐的清除率最高,其次是嫩芽、花。相关性分析发现,多花黄精非药用部位提取液对 DPPH·、·OH 和亚硝酸盐的清除率与总黄酮、总皂苷和总酚含量均表现出一定的正相关。结论:多花黄精非药用部位提取液具有较好的生物活性。

关键词:多花黄精;非药用部位;活性成分;抗氧化活性;亚硝酸盐

Abstract: Objective: This study focuses on improving the comprehensive utilization rate of *Polygonatum cyrtonema*. **Methods:** The contents of total flavonoids, total saponins and total phenols from roots, stems, leaves, flowers and buds, of *P. cyrtonema* were determined. The scavenging rates of DPPH·, ·OH and nitrites in extracts of above tissue were measured and compared as well. **Results:** The contents of total flavonoids and total phenols five different kinds of non-medicinal tissue were in the same order, in which from highest to lowest was, leaves, buds, flowers, stems and roots, and the content of total saponins in flower was the highest. In terms of antioxidant activity, the DPPH·, ·OH and nitrite scavenging rate of leaf extract were the highest, followed by buds and flowers. Correlation analysis showed that the clearance of DPPH·, ·OH and nitrite by the

extract from different tissue showed a certain positive correlation with the contents of total flavonoids, total saponins and total phenols. **Conclusion:** The extract of non-medicinal parts of *P. cyrtonema* has good biological activity.

Keywords: *Polygonatum cyrtonema*; non-medicinal parts; active components; antioxidant activity; nitrite

多花黄精 (*Polygonatum cyrtonema*) 为百合科黄精属植物,是 2020 版《中国药典》收录的中药材黄精基原物种之一^[1],具有健脾润肺、滋阴益肾之效^[2],含有丰富的多糖、黄酮、皂苷和酚类等成分^[3],是传统的药食同源植物。目前多花黄精的食药部位主要为根、茎,其研究也集中于根、茎的炮制加工、活性成分提取及药理功效等^[4],而须根、茎、叶则作为副产物被丢弃。

黄申等^[5-6]研究发现,多花黄精嫩芽和花均表现出极好的 DPPH· 清除能力,赵海洋等^[7]发现多花黄精根、茎、叶和花部位的抗氧化活性大小与其黄酮含量一致。此外,李悦等^[8]推测总酚可能是多花黄精花部位潜在的抗氧化物,同时也有研究^[9]指出酚类成分能与亚硝酸根作用从而达到清除亚硝酸盐的作用,但尚未见利用多花黄精的非药用部位提取物来清除亚硝酸盐的报道。试验拟采用同一提取方式对多花黄精非药用部位的醇溶性成分(总酚、总皂苷和总黄酮)进行提取,研究其对 DPPH· 和 ·OH 的清除作用,同时探究其对亚硝酸盐的清除能力,以期多花黄精非药用部位天然抗氧化剂的开发以及在食品和医药领域的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

多花黄精样本:采自贵州大学教学实验场,分为须根、茎、叶、花、芽 5 个部位,经 90 °C 杀青后,于 60 °C 烘箱干燥至恒重,粉碎过 60 目筛于 -20 °C 冰箱贮藏备用;

基金项目:贵州省科技计划项目(编号:黔科合支撑[2020]4Y102号);国家自然科学基金资助项目(编号:31760421)

作者简介:王天梅,女,贵州大学在读硕士研究生。

通信作者:王华磊(1979—),男,贵州大学教授,硕士生导师,博士。E-mail: 273649438@qq.com

收稿日期:2021-06-16

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(批号 MFCD00007231)、盐酸萘乙二胺(批号 c11838573):上海麦克林生化科技有限公司;

人参皂苷 Rb1(MUST-20060101):成都曼思特生物科技有限公司;

芦丁(MUST-17111601,质量分数 $\geq 98\%$)、没食子酸(810H022)、福林酚(1216O033):北京索莱宝科技有限公司;

冰乙酸:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

NaOH、高氯酸:分析纯,成都金山化学试剂有限公司;

$\text{Al}(\text{OH})_3$ 、水杨酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

Na_2CO_3 、亚硝酸钠、 FeSO_4 :分析纯,天津市永大化学试剂有限公司;

对氨基苯磺酸:分析纯,天津市致远化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

电子分析天平:AR224CN型,奥豪斯仪器(常州)有限公司;

电热鼓风干燥箱:101-4型,北京科伟永兴仪器有限公司;

全波长酶标仪:Multiskan型,美国 Thermo 公司;

超声波清洗器:SQ8200型,上海冠特超声仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-2600型,岛津企业管理(中国)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 醇溶性成分测定

(1) 提取液制备:参照文献[6]并稍有改动。准确称取多花黄精须根、茎、叶、花、芽 5 个不同部位的样品粉末各 1.000 g,以 80% 甲醇为提取溶剂,30 °C 超声提取 30 min,抽滤即得待测液,于-4 °C 冰箱贮藏备用,每个样本重复 3 次。

(2) 总黄酮含量测定:采用铝盐显色法^[10]。移取待测液 2.5 mL,加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL,摇匀后静置 6 min,再加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min 后加入 4% NaOH 溶液 4 mL,摇匀后用蒸馏水定容至 10 mL,静置 15 min,测定 500 nm 处吸光度。以质量浓度 0.105 g/mL 的芦丁对照品绘制标准曲线,回归方程为 $Y=0.6433X+0.0178$, $R^2=0.9912$ 。

(3) 总皂苷含量测定:采用比色法^[11]。移取待测液 100 μL 挥干,加入 5% 香草醛-冰乙酸 0.2 mL(新鲜),冰浴加入 0.8 mL 高氯酸,摇匀,60 °C 水浴 15 min,冰浴 2 min,加入冰乙酸 5 mL,摇匀静置 5 min,测定 550 nm 处吸光度。以质量浓度 0.103 mg/mL 的人参皂苷 Rb1

对照品绘制标准曲线,回归方程为 $Y=19.009X+0.0063$, $R^2=0.9987$ 。

(4) 总酚含量测定:采用福林酚比色法^[12]。移取待测液 2.5 mL,加入福林酚显色剂 0.5 mL,充分震荡后静置 8 min,加入 15% Na_2CO_3 溶液 2 mL,摇匀,室温下避光放置 2 h,测定 765 nm 处吸光度。以质量浓度 0.264 mg/mL 的没食子酸对照品绘制标准曲线,回归方程为 $Y=14.31X+0.0839$, $R^2=0.996$ 。

1.3.2 抗氧化能力测定

(1) DPPH·清除活性:参照文献[13]并修改。在反应体系中加入待测液 3 mL 和 5 mmol/L DPPH 乙醇溶液 5 mL,混匀,室温静置 30 min,以 5 mL 无水乙醇和 3 mL 蒸馏水的混合液为参比,测定 517 nm 处吸光度,并按式(1)计算 DPPH·清除率。

$$A = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

A——DPPH·清除率,%;

A_0 ——只加 DPPH 乙醇溶液的吸光度;

A_1 ——样品和 DPPH 乙醇溶液的吸光度;

A_2 ——样品溶液的吸光度。

(2) ·OH 清除能力:参照文献[14]并修改。向试管中分别加入 6 mmol/L 的 FeSO_4 溶液、6 mmol/L 的 H_2O_2 溶液、6 mmol/L 的水杨酸和待测液各 2 mL,37 °C 反应 1 h,测定 517 nm 处吸光度,并按式(2)计算·OH 清除率。

$$A = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

A——·OH 清除率,%;

A_0 ——蒸馏水代替样品的吸光度;

A_1 ——样品吸光度;

A_2 ——蒸馏水替代 H_2O_2 时的吸光度。

(3) 亚硝酸根离子(NO_2^-)清除活性:参照文献[15]并修改。吸取待测液 1 mL,加入 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的亚硝酸钠溶液 2 mL,37 °C 水浴 30 min,加入 0.4 g/100 mL 对氨基苯磺酸 2 mL,摇匀,静置 5 min;加入 0.2 g/100 mL 盐酸萘乙二胺显色剂 1 mL,摇匀,定容,静置 15 min,测定 540 nm 处吸光度,并按式(3)计算亚硝酸根离子清除率。

$$A = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

A——亚硝酸根离子清除率,%;

A_0 ——水代替样品的吸光度;

A_1 ——不同质量浓度样品的吸光度。

1.4 数据分析

使用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 活性成分分析

由表 1 可知,多花黄精非药用部位中总酚含量大小顺序依次为叶>嫩芽>花>茎>根,叶部总酚含量显著高于其他部位;总皂苷以花部位含量最高(0.63 mg/g),显著高于其他各部位,根部含量最低,为 0.33 mg/g,其他部位总皂苷含量排序为叶>嫩芽>茎;总黄酮含量大小排序为叶>嫩芽>花>茎>根,说明相较于其他部位而言,叶在生长发育进程中更容易富集酚类成分,花则更容易富集皂苷类成分。因此,多花黄精非药用部位在同一提取水平下,各活性成分含量差异显著($P<0.05$)。

2.2 抗氧化活性对比

由图 1 可知,多花黄精非药用部位提取液对 DPPH·、·OH 及 NO_2^- 均有一定的清除能力,且具有较好的一致性,其中叶、花、芽提取物的清除能力总体上较根和茎强,且差异显著($P<0.05$)。多花黄精叶提取物对 DPPH·、·OH 及 NO_2^- 的清除作用最强,分别为 96.72%,87.80%,87.51%,其次为嫩芽提取物,而根提取物的清除率最低。综上,黄精非药用部位醇溶性提取物清除 DPPH·、·OH 及 NO_2^- 能力不完全一致,但总体来看,多花黄精非药用部位提取液均具有较好的抗氧化和亚硝酸盐清除作用,且以叶部位清除能力最强。

2.3 抗氧化活性和 NO_2^- 清除能力与活性成分含量的相关性

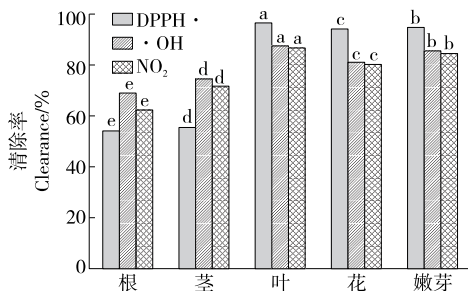
由图 2 可知,DPPH·清除率与总黄酮、总皂苷和总

表 1 多花黄精非药用部位活性成分含量[†]

Table 1 The content of active components in non-medicinal parts of *Polygonatum cyrtonema* mg/g

部位	总酚	总皂苷	总黄酮
根	7.53±0.22 ^e	0.33±0.01 ^e	2.13±0.02 ^e
茎	9.63±0.05 ^d	0.37±0.01 ^d	2.29±0.10 ^e
叶	19.97±0.34 ^a	0.47±0.00 ^b	11.36±0.09 ^a
花	11.78±0.05 ^c	0.63±0.02 ^a	8.88±0.07 ^c
嫩芽	15.90±0.28 ^b	0.41±0.01 ^c	9.94±0.29 ^b

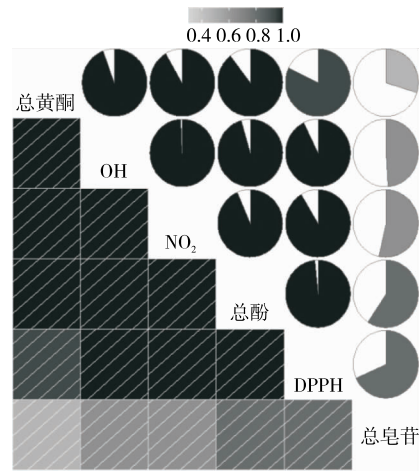
[†] 同列小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。



小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图 1 多花黄精非药用部位提取液的抗氧化活性

Figure 1 Antioxidant activity of non-medicinal extracts of *Polygonatum cyrtonema*



方形表示相关性,颜色从浅至深表示相关系数由 0.4 到 1.0;圆形表示显著性,颜色深表示极显著($P<0.01$)

图 2 多花黄精非药用部位提取液抗氧化活性和 NO_2^- 清除能力与活性成分含量的相关性

Figure 2 The correlation between the antioxidant activity and NO_2^- scavenging capacity and content of active components of non-medicinal parts of *Polygonatum cyrtonema*

酚含量呈极显著正相关($P<0.01$);·OH 清除率与总黄酮、总酚含量呈极显著正相关($P<0.01$),与总皂苷含量呈正相关($P<0.05$); NO_2^- 清除率与总黄酮和总酚含量呈极显著正相关($P<0.01$),与总皂苷含量呈显著相关($P<0.05$)。

多花黄精各部位的抗氧化和亚硝酸盐清除能力与活性成分含量密切相关,且各成分清除自由基机理存在差异,酚类成分共有的多羟基结构起到抗氧化作用主要是通过电子转移将 DPPH·清除^[16],而皂苷类化合物结构中的一OH基团、皂苷元配基的结构和糖残基的数量决定其抗氧化活性^[8],对亚硝酸盐的清除作用与提取物富含多酚有关,因酚性羟基极易发生氧化、聚合、缩合等变化,从而清除自由基。有研究^[17]也证实了植物多酚清除亚硝酸盐与体系中多酚种类及含量密切相关。综上,黄精非药用部位提取物的抗氧化活性和亚硝酸盐清除作用,可能是多种活性成分之间相互作用的结果,发挥主要功能的成分种类还有待进一步探索。

3 结论

文章对多花黄精非药用部位的总酚含量、活性成分与抗氧化能力间的相关性,以及其对亚硝酸盐的清除作用进行了研究。结果表明,多花黄精非药用部位提取液中均含有总黄酮、总皂苷和总酚等成分,且含量差异较大,其对 DPPH·、·OH 及 NO_2^- 均具有较好的清除作用,且清除能力与其总酚、总皂苷和总黄酮含量存在一定的相关性。总体上,叶提取物的抗氧化和亚硝酸盐清除能力最强,且总酚和总黄酮含量也最高,嫩芽和花的抗氧化、亚硝酸盐清除能力和总酚、总黄酮含量次之。因此,

后续可从优化提取活性成分的角度,将多花黄精叶作为主要试材,进行进一步的成分分离和结构鉴定,探索多花黄精对亚硝酸盐清除作用的机制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 319.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia: I [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 319.
- [2] 刘京晶, 斯金平. 黄精本草考证与启迪[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 631-636.
LIU Jing-jing, SI Jin-ping. Herbal textual research on chinese medicine "huangjing" (polygonati rhizoma) and some enlightenments[J]. Chinese Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(3): 631-636.
- [3] 范佐旺, 柯晓燕, 陈靛雯, 等. 多花黄精的化学成分及药理研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(5): 119-126.
FAN Zuo-wang, KE Xiao-yan, CHEN Liang-wen, et al. Advances in chemical constituents and pharmacological activities of polygonatum cyrtone-ma hua [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2020, 37(5): 119-126.
- [4] 任洪民, 邓亚玲, 张金莲, 等. 药用黄精炮制的历史沿革、化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4 163-4 182.
REN Hong-min, DENG Ya-ling, ZHANG Jin-lian, et al. Research progress on processing history evolution, chemical components and pharmacological effects of polygonati rhizoma[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(17): 4 163-4 182.
- [5] 黄中, 刘京晶, 张新风, 等. 多花黄精嫩芽主要营养与功效成分研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(5): 1 053-1 058.
HUANG Shen, LIU Jing-jing, ZHANG Xin-feng, et al. Main nutrients and functional ingredients in shoots of polygonatum cyrtone-ma [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(5): 1 053-1 058.
- [6] 张泽锐, 黄中, 刘京晶, 等. 多花黄精和长梗黄精花主要营养功效成分[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(6): 1 329-1 333.
ZHANG Ze-rui, HUANG Shen, LIU Jing-jing, et al. Main nutrients and functional ingredients in flowers of polygonatum cyrtone-ma and P. filipes [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(6): 1 329-1 333.
- [7] 赵海洋, 罗禹, 邓小宽, 等. 多花黄精的主要化学成分及抗氧化活性[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(5): 793-797.
ZHAO Hai-yang, LUO Yu, DENG Xiao-kuan, et al. The main chemical constituents and antioxidant activities of polygonatum cyrtone-ma Hua [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2020, 47(5): 793-797.
- [8] 李悦, 张培, 于润, 等. 不同储藏条件对多花黄精花品质影响及其抗氧化性研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(12): 3 091-3 101.
LI Yue, ZHANG Pei, YU Run, et al. Effects of different storage conditions on the edible quality and antioxidant activity of polygo-natum cyrtone-ma flowers [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(12): 3 091-3 101.
- [9] 郝教敏, 杨文平, 李红玉, 等. 黑麦多酚提取工艺及体外清除亚硝酸盐研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(11): 118-123.
HAO Jiao-min, YANG Wen-ping, LI Hong-yu, et al. Extraction technology of rye polyphenols and in vitro removal of nitrite [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(11): 118-123.
- [10] 董丹, 杨美莲, 张欢. 微波辅助苦荞中蛋白和黄酮的同步提取工艺[J]. 中国调味品, 2020, 45(2): 6-11, 15.
DONG Dan, YANG Fu-lian, ZHANG Huan. Microwave-assisted simultaneous extraction of protein and flavonoids from tartary buckwheat [J]. China Seasoning, 2020, 45(2): 6-11, 15.
- [11] 冯治国, 赵祺, 朱强, 等. 基于熵权法和灰色关联分析法评价安徽省不同产地黄精药材质量[J]. 中草药, 2021, 52(12): 3 689-3 695.
FENG Zhi-guo, ZHAO Qi, ZHU Qiang, et al. Quality evaluation of Polygonatum from different producing areas in Anhui Province by entropy weight and grey correlation degree analysis method [J]. Chinese Herbal Medicine, 2021, 52(12): 3 689-3 695.
- [12] 付彬, 沈婉莹, 周梦舟, 等. 柑橘皮发酵汁抗氧化活性和挥发性风味物质分析[J]. 中国调味品, 2019, 44(8): 71-75.
FU Bin, SHEN Wan-ying, ZHOU Meng-zhou, et al. Analysis of antioxidant activity and volatile flavor compounds in citrus peel fermented juice [J]. Chinese Seasonings, 2019, 44(8): 71-75.
- [13] 李娟, 牛泽宇, 岳湘齐, 等. 不同产地甜橙果皮提取物抗氧化活性成分及能力研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 156-162.
LI Juan, NIU Ze-yu, YUE Xiang-qi, et al. Study on antioxidant components and antioxidant activities of peels extracts from sweet orange in Hunan province [J]. Food & Machinery, 2019, 35(9): 156-162.
- [14] 罗敬文, 司凤玲, 顾子玄, 等. 3 种木耳多糖的抗氧化活性与抑菌能力比较分析[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 64-69.
LUO Jing-wen, SI Feng-ling, GU Zi-xuan, et al. Antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides from three species of auricularia [J]. Food Science, 2018, 39(19): 64-69.
- [15] 许建本, 苏秀芳, 黄妹胶. 黄花草总黄酮超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 176-181.
XU Jian-ben, SU Xiu-fang, HUANG Mei-jiao. Ultrasonic-assisted extraction technology optimization and antioxidant activity of total flavonoids from Cleome viscosa [J]. Food & Machinery, 2020, 36(2): 176-181.
- [16] 徐颖, 樊明涛, 冉军舰, 等. 不同品种苹果籽总酚含量与抗氧化相关性研究[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 79-83.
XU Ying, FAN Ming-tao, RAN Jun-jian, et al. Correlation between total phenolic content and antioxidant activity in apple seeds from seven cultivars [J]. Food Science, 2015, 36(1): 79-83.
- [17] 谢贞建, 卢玉容, 魏决, 等. 石榴皮多酚清除亚硝酸盐及阻断亚硝胺合成的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 250-255.
XIE Zhen-jian, LU Yu-rong, WEI Jue, et al. Effects of polyphenols in pomegranate peel on the nitrite scavenging and n-nitrosamine synthesis blocking [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 250-255.