

干巴菌抗氧化活性研究

陈亚萍, 邱开雄, 陈亚娟, 张雁丽, 付继军, 李玉鹏
(昆明医学院药学院, 云南 昆明 650500)

[摘要] 目的 研究干巴菌的抗氧化活性. 方法 采用 DPPH 自由基清除法对野生食用菌干巴菌提取物的体外自由基清除作用进行研究. 结果 干巴菌的乙酸乙酯和甲醇提取物活性较好, IC_{50} 分别为 0.025, 1.69 mg/mL. 结论 干巴菌乙酸乙酯提取部分比芦丁 ($IC_{50} = 0.063$ mg/mL) 抗氧化活性强.

[关键词] 干巴菌; 野生食用菌; 抗氧化活性.

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 01 - 0040 - 03

Study on Antioxidant Activity of Wild Mushroom *Thelephora Ganbajun* Zang

CHEN Ya - ping, QIU Kai - xiong, CHEN Ya - juan, ZHANG Yan - li, FU Ji - Jun, LI Yu - Peng
(Dept. of Chemistry, School of Pharmaceutical Science, Kunming Medical University,
Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To study the antioxidant activity of wild mushroom ganbajun in Yunnan. **Method** DPPH radical scavenging activity in vitro method was used to study the antioxidant activity of thelephora ganbajun zang. **Result** It was found that the EtOAc extract and the MeOH extract exhibit good scavenging actions ($IC_{50} = 0.025, 1.69$ mg/mL) than the others. **Conclusion** EtOAc extract from ganbajunis stronger than rutin ($IC_{50} = 0.063$ mg /mL).

[Key words] *Thelephora ganbajun* Zang; Wild edible fungi; Antioxidant activity

干巴菌是云南省特有的珍稀野生食用菌. 学名:绣球菌, 也叫对花菌、马牙菌等. 它生长在滇中及滇西的山林松树间. 产于7、8月雨季, 至今仍未实现人工栽培. 干巴菌出土时, 呈黄褐色, 老熟时, 变成黑褐色. 此菌香味浓郁、肉质坚韧. 含有钙、铁、蛋白质、硫胺素等营养成分^[1], 而且有酷似腌牛肉干的浓郁香味. 腌牛肉干群众称为干巴, 因而此菌得名干巴菌, 是野生食用菌中的上品.

到目前为止, 有关革菌属真菌的化学研究不是太多. 仅中国和日本学者对革菌属部分真菌的化学和药理活性进行了研究, 集中在干巴菌 (*Thelephora ganbajun* Mu. Zang)^[2-4], 橙黄革菌 (*T. aurantiotincta*

Conrer)^[5-7], 莲座革菌 (*T. vialis*)^[8,9], 陆生革菌 (*T. terrestris* Fr.)^[10,11]这4种真菌上, 分离得到对联三苯、甾体和脂肪族化合物等类型的化学成分, 以对联三苯为主要成分, 关于干巴菌食用部位的生物活性研究报道较少. 为探索干巴菌的食用价值和活性成分, 为干巴菌的食用和开发提供科学的依据, 采用 DPPH 自由基清除法对干巴菌的体外抗氧化活性进行了研究^[12-14].

1 材料与方法

1.1 仪器

仪器: 722 S 型可见分光光度计 (上海精密科

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (09y0182); 云南省教育厅重点项目 (2012Z035)

[作者简介] 陈亚萍 (1981~), 女, 云南宣威市人, 硕士, 实验师, 主要从事天然产物活性成分研究工作. 邱开雄和陈亚萍对本研究有同等贡献.

[通讯作者] 李玉鹏. E-mail:liyupeng26@126.com

学仪器有限公司); RE-52A 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂), FA 2004 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司). 试剂: DPPH (1, 1- 二苯基-2- 苦基肼自由基, Sigma-Fluka 公司产品); 芦丁对照品 (中国医药集团贵州生物试剂公司); 95% 乙醇(分析纯, 天津化学试剂有限公司), 其它试剂均为国产分析纯.

1.2 真菌来源

干巴菌于 2009 年 8 月购自昆明市环西桥农贸市场, 标本保存于昆明医学院药学院医药化学教研室.

1.3 提取与分离

干巴菌阴干后 (20g), 用 95% 乙醇提取 5 次, 减压回收至无乙醇味, 得乙醇提取物 3.6 g. 乙醇提取物溶解, (80-100 目) 硅胶拌样, 上柱, 依次用石油醚, 石油醚: 乙酸乙酯 (10:1, 5:1, 1:1), 乙酸乙酯, 甲醇进行柱层析, 除石油醚提取部分, 均进行抗氧化活性筛选.

1.4 抗氧化活性测定

1.4.1 DPPH 液的配制 准确称取 DPPH 试剂 25 mg, 用 95% 分析纯的乙醇溶解, 并定量转入 250 mL 容量瓶中, 用 95% 乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 100 mg/L 的 DPPH 储备液, 置于冰箱中冷藏备用.

1.4.2 样品溶液的配制 准确称取待测试样品 20 mg, 溶解在分析纯的乙醇中, 并转入 100 mL 的容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 200 mg/L 的样品溶液, 置于冰箱中冷藏备用.

1.4.3 芦丁标准溶液的配制 准确称取芦丁 2.5 mg, 溶解在分析纯的乙醇中, 并转入 100 mL 的容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为

25 mg/L 的样品溶液, 置于冰箱中冷藏.

1.4.4 清除 DPPH 自由基能力的测定 准确量取 1.2 mL DPPH 液, 加入 2.8 mL 95% 乙醇溶液, 混匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为 A_c 值, 自由基清除率为零. 分别准确量取各样品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL, 加入 1.2 mL DPPH 液及 2.6、2.4、2.2、2.0、1.8、1.6、1.4、1.2 mL 的 95% 乙醇溶液混合均匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为 A_i 值. 另外分别准确量取各样品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL, 加入 3.8、3.6、3.4、3.2、3.0、2.8、2.6、2.4 mL 的 95% 乙醇溶液后混合均匀, 在 $\lambda = 520 \text{ nm}$ 测吸光度作为空白校正 A_j 值. 以芦丁作为阳性对照. 按下式计算自由基清除率 K 值.

$$K = \left[\frac{1 - (A_i - A_j)}{A_c} \right] \times 100 \%$$

2 结果

干巴菌提取物对 DPPH 自由基的清除率随着量的加大有逐步增强的趋势; 但不同提取物自由基清除作用差别较大, 乙酸乙酯和甲醇提取物相对其它提取物清除率较高. 石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除率非常低. 进一步分析表明干巴菌自由基清除物质主要集中在乙酸乙酯和甲醇提取物中, 见表 1.

干巴菌的乙酸乙酯提取物对 DPPH 自由基清除活性 IC_{50} 值相对于其它提取物的 IC_{50} 值小, 表现了较强的自由基清除活性, 比芦丁强. 石油醚: 乙酸乙酯 (10:1) 提取物自由基清除活性相对较弱 ($IC_{50} = 34.32 \text{ mg/mL}$), 见表 2.

表 1 干巴菌提取物 DPPH 自由基清除率

Fig. 1 The DPPH free radicals clearance rate of ganbajun extract

项 目	K (%)							
	0.04 mg	0.08 mg	0.12 mg	0.016 mg	0.2 mg	0.24 mg	0.28 mg	0.32 mg
石油醚 (乙酸乙酯 10:1)	3.45	4.55	5.24	6.48	6.50	6.62	7.31	7.86
石油醚 (乙酸乙酯 5:1)	6.50	8.95	11.27	11.70	12.86	13.58	15.46	15.89
石油醚 (乙酸乙酯 1:1)	32.87	58.65	59.69	59.70	62.42	63.03	63.18	65.90
乙酸乙酯	29.78	48.46	51.82	54.45	55.47	57.85	60.03	61.46
甲醇								
MeOH	40.71	56.62	59.80	61.38	63.52	64.88	65.69	67.15

表2 干巴菌提取物清除 DPPH 自由基活性的 IC₅₀ 值Fig. 2 IC₅₀ values of ganbajun extracts in DPPH free radicals clearance

sample	DPPH [IC ₅₀ /(mg/mL)]
石油醚:乙酸乙酯 (10:1)	34.32
石油醚:乙酸乙酯 (5:1)	2.89
石油醚:乙酸乙酯 (1:1)	1.98
乙酸乙酯	0.025
甲醇提取物	1.69
芦丁	0.063

3 讨论

本研究表明,干巴菌的乙酸乙酯和甲醇提取物活性较好,自由基清除 IC₅₀ 分别为 0.025, 1.69 mg/mL, 乙酸乙酯提取部分比芦丁抗氧化活性强,进一步研究该部分化学成分,可能得到抗氧化活性较强的化合物。作为对照品的芦丁是黄酮类化合物中抗氧化活性较强的化合物,同时具有降低毛细血管脆性,改善微循环的作用,在临床上主要用于糖尿病和高血压的辅助治疗^[15]。国内外学者从干巴菌中分离得到对联三苯类酚性化合物,并对其进行了清除 DPPH 自由基活性测试,结果表明 Ganbajunin B (EC₅₀ = 0.13)、具有与著名自由基清除剂 BHA (Butylated hydroxyanisole, EC₅₀ = 0.09) 相当的活性^[14]。从莲座革菌中分离得到的 Vialinin B 有较强的抑制 TNF- α 释放作用 (IC₅₀ = 0.02 nM), 而 ganbajunin B 和 cycloleucomelone 活性较弱 (IC₅₀ = 5000, 3500 nM)^[9]。

干巴菌作为民间独特的食用类真菌,广泛受到消费者的欢迎,抗氧化活性研究已成为现代食品研究重要部分。本研究应用 DPPH 自由基清除活性研究方法对干巴菌不同溶剂提取物抗氧化活性进行研究,该研究为干巴菌研究开发和应用提供了科学依据。在此研究基础上,笔者将进一步采用新的药理活性筛选方法跟踪,分离得到新的活性成分,从该真菌中寻找新的天然抗氧化剂和新的活性化合物。

[参考文献]

[1] 吴少雄,王保兴,郭祀远,等. 云南野生食用干巴菌的营养成分分析[J]. 现代预防医学,2005,32(11): 1548-1549.

[2] HU L,GAO J M,LIU J K. Unusual poly (phenylacetyloxy)-substituted 1, 1': 4', 1''- terphenyl derivatives from fruiting bodies of the basidiomycete Thelephora ganbajun [J]. Helvetica Chimica Acta,2001,(84):3342-3349.

[3] HU L,LIU J K. Two novel phenylacetoxylated p-Terphenyls from Thelephora ganbajun Zang [J]. Z Naturforsch,2001,56:983-987.

[4] 吕瑜平,文净,朱伟明. 云南干巴菌挥发油化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2000,13(1):39-41.

[5] HU L,LIU J K. p-Terphenyls from the Basidiomycete Thelephora aurantiotincta [J]. Z Naturforsch,2003,58: 452-454.

[6] QUANG D N,HASHIMOTO T,NUKADA M,et al. Thelephantins A, B and C: three benzoyl p-terphenyl derivatives from the inedible mushroom Thelephora aurantiotincta [J]. Phytochemistry,2003,62:109-113.

[7] QUANG D N,HASHIMOTO T,NUKADA M,et al. Thelephantins D-H: five benzoyl p-terphenyl derivatives from the inedible mushroom Thelephora aurantiotincta [J]. Phytochemistry,2003,63:919-924.

[8] TSUKAMOTO S,ABDULGAFOR D,MACBALANG,et al. Thelephorin A: a new radical scavenger from the mushroom Thelephora vialis [J]. Tetrahedron,2002,58: 1103-1105.

[9] XIE C,KOSHINO H,ESUMI Y,et al. Vialinin B, a novel inhibitor TNF- α of production, isolated from edible mushroom, Thelephora vialis [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,2006,16,5424-5426.

[10] RADULOVIC N,QUANG D N,HASHIMOTO T,et al. Terrestriins A-G; p-Terphenyl derivatives from the inedible mushroom Thelephora terrestris [J]. Phytochemistry, 2005,66:1052-1059.

[11] RADULOVIC N,QUANG D N,HASHIMOTO T,et al. Pregnane-type steroids from the inedible mushroom thelephora terrestris [J]. Chem Pharm Bull,2005,53(3): 309-312.

[12] 柳建军,许立松,王菁菁,等. 黄连木嫩叶抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2008,29(9):45-47.

[13] 汪海波,肖建青,刘锡葵. 野生蔬菜苦凉菜抗氧化活性[J]. 食品研究与开发,2009,30(6):1-3.

[14] LIU J K,HU L,DONG Z J,et al. DPPH Radical scavenging activity of ten natural p-terphenyl derivatives obtained from three edible mushrooms indigenous to China [J]. Chemistry & Biodiversity,2004,1:601-605.

[15] WEN P,CHENG J H. Research progress on rutin in buckwheat [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association,2006,21(3):107-111.

(2011-11-25 收稿)