

绿菇抗氧化活性研究

陈亚萍, 李玉鹏, 郭蕴苹, 简虹, 付继军, 邱开雄, 柳波
(昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500)

[摘要] 目的 研究绿菇抗氧化活性. 方法 采用 DPPH 自由基清除法对野生食用菌绿菇提取物的体外自由基清除作用进行研究. 结果 绿菇的乙酸乙酯和正丁醇提取物活性较好, IC_{50} 分别为 0.24, 1.90 mg/mL. 结论 各提取部分均比芦丁 ($IC_{50} = 0.063$ mg/mL) 抗氧化活性弱.

[关键词] 绿菇; 野生食用菌; 抗氧化活性

[中图分类号] R285 [文献标识码] A [文章编号] 1003-4706 (2013) 03-0012-03

Study on the Antioxidant Activity of Wild Mushroom *Russula virescens*

CHENG Ya-ping, LI Yu-peng, GUO Yun-ping, JIAN Hong, FU Ji-jun, QIU Kai-xiong, LIU bo
(Dept. of Chemistry, School of Pharmaceutical Science, Kunming Medical University,
Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] Objective Study on the antioxidant activity of Wild mushroom *Russula virescens* in Yunnan. Methods DPPH radical scavenging activity was used in vitro to investigate the effect of wild mushroom *R. virescens* extracts. Results It was found that the EtOAc and n-BuOH extracts of *R. virescens* exhibited moderate scavenging actions with IC_{50} values of 0.24 and 1.90 mg/mL, respectively. Conclusion No extracts have stronger scavenging actions than rutin ($IC_{50} = 0.063$ mg/mL).

[Key words] *Russula virescens*; Wild edible fungi; Antioxidant activity

绿菇 *Russula virescens* (Schaeff) Fr. 属红菇科红菇属真菌, 云南俗称“青头菌”, 我国各地均有分布^[1]; 文献报道其子实体热水提取物对小鼠肉瘤 180 和艾氏腹水癌的抑制率均为 70%^[2]; 关于绿菇的化学成分和作用报道较少^[3]. 为了探索绿菇的食用功能因子, 为绿菇的食用和开发提供科学的依据, 采用 DPPH 自由基清除法对绿菇的体外抗氧化活性进行了研究^[4-6].

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂

仪器: 722 s 型可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); RE-52A 旋转蒸发器 (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

绿菇于 2009 年 9 月购自昆明市环西桥农贸市场, 标本保存于昆明医科大学药学院医药化学系教研室.

[基金项目] 云南省应用基础研究计划基金资助项目 (2012FB156); 云南省教育厅科研基金重点资助项目 (2012Z035); 云南省教育厅科研基金资助项目 (09Y0182)

[作者简介] 陈亚萍 (1981~), 女, 云南宣威市人, 理学硕士, 实验师, 主要从事天然产物活性成分研究工作.

[通讯作者] 柳波. E-mail: 350111085@qq.com; 邱开雄. E-mail: chenneyao16@hotmail.com

1.3 提取与分离

绿菇 (0.45 kg), 用 95%乙醇提取 5 次, 减压回收至无乙醇味, 得乙醇提取物 18.9 g. 乙醇提取物用水溶解, 依次用石油醚, 乙酸乙酯, 正丁醇, 甲醇进行萃取, 减压浓缩后分别得到石油醚 (1.9 g), 乙酸乙酯 (1.5 g), 正丁醇 (3.3 g), 甲醇 (7.2 g), 水相 (5.0 g) 六个部分. 乙醇提取物和萃取的各部分分别取 20 mg 进行抗氧化活性测试.

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.

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

2 结果

绿菇乙醇提取物及其不同溶剂萃取部分对 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, 乙酸乙酯萃取部分相对其它提取物清除率略高, 见表 1.

表 1 绿菇提取物 DPPH 自由基清除率 (%)

Tab. 1 The DPPH radical scavenging rates of *R. virescens* extracts (%)

样 本	自由基清除率 (%)							
	0.04 mg	0.08 mg	0.12 mg	0.16 mg	0.20 mg	0.24 mg	0.28 mg	0.32 mg
石油醚	0.63	2.14	2.51	2.87	2.89	3.64	4.14	6.66
乙酸乙酯	9.01	9.64	9.76	10.14	10.64	11.01	11.76	13.39
正丁醇	0.96	1.08	2.39	4.30	6.21	6.45	8.12	9.60
甲醇	1.20	1.58	1.74	1.86	2.73	3.10	4.35	5.34
水	0.68	1.50	1.85	2.05	2.18	3.14	3.24	4.10
乙醇	0.39	0.65	0.78	1.29	1.94	2.20	2.72	3.10

绿菇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, 但比芦丁弱, 见表 2.

3 讨论

绿菇的乙酸乙酯和正丁醇提取物活性较好, 自由基清除 IC_{50} 分别为 0.24, 1.90 mg/mL, 进一步研究该两部分化学成分, 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

表 2 绿菇提取物清除 DPPH 自由基活性的 IC_{50} 值如下

Tab. 2 IC_{50} values of *R. virescens* extracts scavenging activity against DPPH radical

项 目	DPPH (IC_{50}/mg)
石油醚萃取部分	6.61
乙酸乙酯萃取部分	0.24
正丁醇萃取部分	1.90
甲醇萃取部分	28.91
水相	18.91
乙醇提取物	8.82
芦丁	0.063

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^[7]。

绿菇属于红菇属 (*Russula*) 红菇科 (*Russulaceae*) 真菌。该科真菌是担子菌亚门(*Basidiomycotina*) 伞菌目 (*Agaricales*) 最大的科之一,据统计,全世界约有 577 种,广布于世界各地。该科的许多真菌在中医学上可治疗腰酸腿痛、手足麻木、经络不舒、筋骨不适、四肢抽搐等。该科真菌如环纹乳菇 (*Lactarius insulsus*)、辣味乳菇 (*L. piperatus*)、绒白乳菇 (*L. vellereus*) 和红菇属的大红菇 (*Russula alutacea*)、密褶黑菇 (*R. densifolia*)、臭红菇 (*R. foetens*) 等,都是山西著名中药舒筋丸的配料。国内外研究说明:该科真菌中分离得到的化合物主要是酚类、倍半萜、色烯类、生物碱类、甾醇、氨基酸、脂肪酸及类酯类、游离糖、烃类、及芳香挥发性成分等,它们的活性研究主要在细胞毒、抗菌等方面。其中,倍半萜类化合物是该科真菌的主要次生代谢产物^[6-9]。

绿菇这种野生食用类真菌,广泛受到云南各族人民的欢迎,抗氧化活性研究已成为现代食品研究重要部分。笔者首次用 DPPH 自由基清除活性研究方法对该真菌不同溶剂提取物抗氧化活性进行研究,该研究为其研究开发和应用提供了科学依据。在此研究基础上,我们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。

(致谢:昆明医科大学 2011 届毕业生张忠

诚、彭琪、梅建丽等参与了部分研究工作,特此致谢!)

[参考文献]

- [1] 汤建国,邵红军,刘吉开. 变绿红菇化学成分研究[J]. 中草药,2008,39(12):1 776 - 1 778.
 - [2] 陈亚萍,邱开雄,陈亚娟,等. 干巴菌抗氧化活性研究[J]. 昆明医学院学报,2012,(1):40 - 42.
 - [3] 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.
 - [4] 柳建军,许立松,刘锡葵. 野生食用蔬菜甜菜树的抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2008,29(8): 125 - 127.
 - [5] 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.
 - [6] ATAKAHASHI, GKUSANO, SNOZOE, et al. The chemical constituents of *Lactarius flavidulus* Imazeki [J]. Chem Pharm Bull, 1988, 36(7): 2 366 - 2 370.
 - [7] JDKLAMANN, BFUGMANN, WSTEGELICH. Alkaloidal pigments from *Lactarius mecor* and *L. atroviridis* [J]. Phytochemistry, 1989, 28(12): 3519 - 3522.
 - [8] YYAOLTA, M. ENDO, M. KIKUCHI. Sterol constituents from seven mushrooms [J]. Chem Pharm Bull, 1999, 47(6): 847 - 851.
 - [9] X. L. YANG, D. Q. LUO, Z. J. DONG, et al. Two new pigments from the fruiting bodies of the Basidiomycete *Lactarius deliciosus* [J]. Helv Chim Acta, 2000, 83: 3 191 - 3 197.
- (2012 - 12 - 14 收稿)