

台湾金线莲与浙江金线莲多糖含量 及抗氧化活性比较研究

唐楠楠¹, 陶佳青¹, 陈常理², 金关荣², 李珊^{1*}, 程舟¹

(1 同济大学 生命科学与技术学院, 上海 200092; 2 浙江省萧山棉麻研究所, 杭州 311217)

摘要:台湾金线莲和浙江金线莲均为兰科开唇兰属植物, 是民间常用珍稀草药金线莲的主要基原植物, 体内富含多糖。该研究采用超声提取法 I、II 及溶剂提取法提取台湾金线莲和浙江金线莲的多糖, 对比多糖含量差异; 利用比色法比较两种金线莲多糖对羟自由基清除能力的差异, 并以秀丽隐杆线虫为模式生物, 探讨两种金线莲多糖对于过氧化氢氧化压力下线虫寿命的影响, 综合评价台湾金线莲和浙江金线莲多糖的抗氧化活性, 为选择和培育优质基原的金线莲提供理论依据。结果显示: (1) 溶剂提取法对金线莲多糖的提取最为有效, 浙江金线莲的多糖含量显著高于台湾金线莲; (2) 随着浓度的增加, 多糖对羟自由基的清除率有升高的趋势, 浙江金线莲多糖的羟自由基清除率显著高于台湾金线莲多糖; (3) 两种金线莲多糖均可延长线虫寿命, 但两者对线虫寿命的影响无显著差异。研究表明, 两种金线莲均富含多糖且具有抗氧化活性, 但多糖含量及抗氧化活性在两种金线莲间均存在差异。

关键词: 金线莲; 多糖; 抗氧化; 线虫寿命

中图分类号: Q946.3; Q946.8

文献标志码: A

Comparison Study of Polysaccharide Content and Antioxidant Activity of *Anoectochilus formosanus* and *Anoectochilus zhejiangensis*

TANG Nannan¹, TAO Jiaqing¹, CHEN Changli², JIN Guanrong², LI Shan^{1*}, CHENG Zhou¹

(1 School of Life Sciences and Technology of Tongji University, Shanghai 200092, China; 2 Zhejiang Xiaoshan Cotton and Fiber Bast Institute, Hangzhou 311217, China)

Abstract: *Anoectochilus formosanus* and *Anoectochilus zhejiangensis* are *Anoectochilus* plants, they are main original plants of *Anoectochilus roxburghii* that is common folk rare herbs and they are rich in polysaccharide. The study extracted polysaccharide of *Anoectochilus formosanus* and *A. zhejiangensis* using ultrasonic extraction I, II, solvent extraction methods to compare polysaccharide content; we use colorimetry method to compare hydroxyl free radical clearance ability of the two *A. roxburghii*. We use *Caenorhabditis elegans* as a model organism to study the effects of two *A. formosanus* polysaccharide on lifetime of *Caenorhabditis elegans* under oxidative stress, then we can evaluate antioxidant activity of *A. formosanus* and *A. zhejiangensis*. The results show that: (1) the solvent extraction method is the most effective method to extract polysaccharide of *A. roxburghii*, polysaccharide content of *Anoectochilus zhejiangensis* is significantly higher than that of *A. formosanus*. (2) With the increase of polysaccharide concentration, hydroxyl free radical clearance rate has a tendency to rise, the hydroxyl free radical clearance rate of *Anoectochilus zhejiangensis* polysaccharide is significantly higher than that of *A. formosanus* polysaccharide. (3) Both kinds of *Anoectochilus* polysaccharide can prolong the lifetime of *C. elegans*, but the impact of two kinds of

收稿日期: 2015-11-30; 修改稿收到日期: 2016-02-26

基金项目: 杭州市科技发展计划(20140932H21); 上海市自然科学基金(12ZR1432900)

作者简介: 唐楠楠(1990—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事金线莲药用植物的研究。E-mail: tiantiande9042@163.com

* 通信作者: 李珊, 博士, 副教授, 主要从事植物资源保护利用研究。E-mail: lishanbio@tongji.edu.cn

polysaccharide to the lifetime of *C. elegans* is not obviously different. The results show that both kinds of *Anoectochilus* are rich in polysaccharide and have antioxidant activity, but the polysaccharide content and antioxidant activity of the two kinds *Anoectochilus* are different. The results lay a good foundation for the further study of choosing and cultivating the best origin *A. roxburghii*.

Key words: *Anoectochilus roxburghii*; polysaccharide; antioxidant; *Caenorhabditis elegans* life span

金线莲是民间常用的多年生珍稀草药,具有清热解毒、消炎止痛、滋阴降火等功效,享有“药王”、“金草”等美称^[1]。现代研究表明,金线莲富含多糖、氨基酸、生物碱、黄酮化合物、有机酸等成分,具有降低血糖、抗衰老、降血压、抗乙肝病毒等方面的药理作用,具有良好的开发前景^[2-3]。

金线莲的基原植物主要为兰科开唇兰属植物金线莲 (*Anoectochilus roxburghii*)、台湾金线莲 (*Anoectochilus formosanus*)和浙江金线莲 (*Anoectochilus zhejiangensis*)等,近年来台湾金线莲和浙江金线莲的功效日益引起重视^[4]。

已有研究表明,当机体产生过多自由基,会引起氧化系统和抗氧化系统失衡,诱导细胞凋亡,造成机体损伤,导致生物体衰老加速。其中羟自由基是活性最高、损伤最大的一种活性氧,对羟自由基的清除率是反映药物抗氧化作用的重要指标,寻找活性氧清除剂已成为当今十分活跃的一个研究领域^[5]。多糖作为一种活性氧清除剂,其在抗氧化、抗肿瘤、刺激免疫及降血糖方面均具有一定的作用^[6]。目前,关于金线莲多糖的含量及其抗肿瘤、抗氧化和免疫调节等方面的功效已有较多报道^[7-8],但对不同基原金线莲多糖活性对比和药理功效等方面尚缺乏深入的研究。

本研究通过比较台湾金线莲和浙江金线莲的多糖含量,分析其清除羟自由基能力的差异,同时基于秀丽隐杆线虫模型,探讨金线莲多糖对处于过氧化氢氧化压力下线虫寿命的影响,综合评价不同基原金线莲多糖的抗氧化活性,为选择和培育最佳基原的金线莲,揭示其抗氧化药理提供理论依据,为利用金线莲多糖开发医药保健品提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

台湾金线莲、浙江金线莲种源分别来自于台湾和浙江,均取培养6个月的组培苗用于多糖的提取。野生型秀丽隐杆线虫(N2)和大肠杆菌 OP50 (*E. coli* OP50)为同济大学费俭教授实验室惠赠。

主要的仪器包括 SP-752 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、HJ-CJ-1FD 型净化工作台

(上海苏净实业有限公司)、ZHWY 100D 型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司)、AE 2000 显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

1.2 金线莲多糖的提取及纯化

1.2.1 溶剂提取法 金线莲全草晾干,40℃干燥1h,粉碎,过70目筛。称取金线莲粉末,根据1:10液料比加纯化水,于80℃水浴1h,离心15min(4200 r/min),取上清液,重复上述步骤2次,合并3次上清液,离心15min(4200 r/min),取上清液,旋转蒸发浓缩至小体积,加10mL氯仿萃取,取上层液,重复3次,合并上清液。

1.2.2 超声提取法 采用超声提取I、II两种方法进行金线莲多糖的提取。超声提取法I的步骤为:将金线莲全草晾干,40℃干燥1h,粉碎,过70目筛。称取金线莲粉末,根据1:10液料比加纯化水,200W超声30min,离心15min(4200 r/min),取上清液,重复上述步骤2次,合并3次上清液,离心15min(4200 r/min),取上清液,旋转蒸发浓缩至小体积,加氯仿萃取,取上层液。超声提取法II与提取法I存在以下差别:200W超声15min,离心后取上清液,重复3次,合并4次上清液。

1.2.3 Sevag 法除蛋白 按4:1的比例在上清液中加入 Sevag 试剂(氯仿:正丁醇=4:1),剧烈振荡20min,离心15min(4200 r/min),取水相,去除中间的蛋白质层,在水相中加入1/4体积 Sevag 试剂,重复上述步骤4次^[9]。在最终的水相中加3倍体积无水乙醇,4℃过夜,去上清液,将沉淀冷冻干燥48h后得金线莲多糖。

1.3 金线莲多糖对羟自由基清除率的测定

参照冯惠萍等^[10]的原理及方法测定金线莲多糖对羟自由基的清除率。 H_2O_2 与 Fe^{2+} 反应产生羟自由基,羟自由基与水杨酸反应生成在510nm处有特殊吸收的2,3-二羟基苯甲酸,通过测定510nm处的吸光度,计算被测物反应液的羟自由基清除率。反应体系4mL,其中含有1mL 9mmol/L $FeSO_4$, 1mL 8.8mmol/L H_2O_2 , 1mL 9mmol/L 水杨酸,以及1mL不同浓度(0.5、1和2g/L)的金线莲多糖。加入 H_2O_2 启动反应,于37℃下温浴1h,测定510nm处的吸光值。

羟自由基清除率(%)=A₀-(A_x-A_{x₀})/A₀·100
式中,A₀为空白对照的吸光值,A_x为加样品的吸光值,A_{x₀}为不加H₂O₂的吸光值。

1.4 金线莲多糖对秀丽隐杆线虫寿命的影响

线虫培养参照唐晓明的方法^[11]。使用标准培养基(NGM),*E. coli* OP50 作为线虫食物,培养温度为 20℃。经机械同步化,于 72 h 后裂虫,裂虫后次日将虫体浓度调整至 80~100 条/mL,加入羧苄青霉素(Carbeni-cillin)至终浓度 50 μg/mL,同日分装幼虫至 96 孔微孔板,每孔中加入 120 μL 菌虫混合液并分别加入浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 μg/μL 的台湾金线莲多糖和浙江金线莲多糖 10 μL,对照组中加入 10 μL 灭菌水取代金线莲多糖,置于 20℃恒温培养箱内,48 h 后每孔加入 15 μL 1.08 mmol/L FUDR stock solution,置于 20℃恒温培养箱培养,24 h 后向每个孔加入 15 mmol/L H₂O₂ 5 μL,每 48 h 观察线虫生存状态,记录总量、存活数量或死亡数量,计算存活率。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取的金线莲多糖含量差异

采用超声提取法 I、超声提取法 II 和溶剂提取法提取了台湾金线莲和浙江金线莲的多糖。如表 1 所示,超声提取法 I 提取的台湾金线莲和浙江金线莲多糖含量分别为 2.57%和 2.12%(*P*<0.05);超声提取法 II 提取的台湾金线莲和浙江金线莲多糖含量分别为 6.64%和 11.65%(*P*<0.01);采用溶剂提取法提取的台湾金线莲和浙江金线莲的多糖含量分别为 12.02%和 16.28%(*P*<0.01)。结果表明,采用溶剂提取法提取金线莲多糖最为有效,浙江金线莲多糖含量显著高于台湾金线莲。

2.2 不同基原金线莲多糖清除羟自由基能力差异

表 2 显示,多糖浓度为 0.5 g/L 时,台湾金线莲多糖与浙江金线莲多糖的羟自由基清除率分别为 11.55%和 14.48%(*P*<0.01);多糖浓度为 1 g/L 时,台湾金线莲多糖与浙江金线莲多糖的羟自由基清除率分别为 19.16%和 21.40%(*P*<0.05);多糖浓度为 2 g/L 时,台湾金线莲多糖与浙江金线莲多糖的羟自由基清除率分别为 22.23%和 26.97%(*P*<0.01)。结果表明,浙江金线莲多糖的羟自由基清除率均显著高于台湾金线莲多糖,并且随着多糖浓度的增加,羟自由基清除率有逐渐升高的趋势,金线莲多糖的羟自由基清除能力与多糖浓度成量效关系。

2.3 不同基原金线莲多糖对秀丽隐杆线虫寿命的影响

如表 3 所示,对照组线虫的平均寿命为 7.79 d,加入浓度 0.2 μg/μL 台湾金线莲多糖,线虫的平均寿命为 7.39 d,处理组线虫的平均寿命与对照组相比无显著差异。加入浓度为 0.4、0.6 和 0.8 μg/μL 台湾金线莲多糖,线虫的平均寿命分别为 11.12、12.91和 12.97 d,与对照组相比,0.4、0.6 和 0.8 μg/μL 处理组线虫的平均寿命均有显著提高。对比 0.4、0.6 和 0.8 μg/μL 3 个处理组间线虫的平均寿命,可以看出 0.6 和 0.8 μg/μL 处理组较 0.4 μg/μL 处理组能显著延长线虫的平均寿命(*P*<0.05),但 0.6 和 0.8 μg/μL 两组间线虫的平均寿命无显著差异(*P*>0.05)。基于培养过程中线虫存活率的变化做生长曲线,如图 1 所示,当台湾金线莲多糖浓度为 0.2 μg/μL 时,处理组的生长曲线与对照

表 1 3 种提取方法对提取不同基原金线莲多糖的影响

Table 1 Content difference of *A. roxburghii* polysaccharide of three extraction methods

方法 Mothed	台湾金线莲 <i>A. formosanus</i> /%	浙江金线莲 <i>A. zhejiangensis</i> /%	<i>P</i>
超声提取法 I Ultrasonic extraction I	2.57±0.12 c	2.12±0.07 c	<0.05
超声提取法 II Ultrasonic extraction II	6.64±0.20 b	11.65±0.32 b	<0.01
溶剂提取法 Solvent extraction	12.02±0.19 a	16.28±0.28 a	<0.01

注:同列不同小写字母表示不同提取方法在 0.05 水平上存在显著差异;
P 值表示相同方法提取的台湾金线莲与浙江金线莲多糖含量的显著性差异。

Note:Different letters in the same column indicated the significant difference between varieties at the 0.05 level;*P* value indicated the significant difference of *A. formosanus* and *A. zhejiangensis* polysaccharided the same extraction method.

表 2 台湾金线莲和浙江金线莲多糖的羟自由基清除率

Table 2 Calculation of free radical clearance rate of *A. formosanus* and *A. zhejiangensis* polysaccharide

多糖浓度 Polysaccharide content/(g/L)	台湾金线莲 <i>A. formosanus</i> /%	浙江金线莲 <i>A. zhejiangensis</i> /%	<i>P</i>
0.5	11.55±0.47c	14.48±0.62 c	<0.01
1	19.16±0.53 b	21.40±0.42 b	<0.05
2	22.23±0.28 a	26.97±0.36 a	<0.01

注:同列不同小写字母表示不同浓度间在 0.05 水平上存在显著性差异;
P 值表示同一浓度台湾金线莲与浙江金线莲多糖的羟自由基清除率的显著性差异。

Note:Different letters in the same column indicated the significant difference between varieties at the 0.05 level;*P* value indicated significant difference of calculation of free radical clearance rate of *A. formosanus* and *A. zhejian-gensis* at the same concentration.

表 3 台湾金线莲多糖和浙江金线莲多糖对
线虫平均寿命的影响

Table 3 Effects of *A. formosanus* polysaccharide and
A. zhejiangensis polysaccharide on
average lifetime of *C. elegans*

浓度 Concentration/($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	台湾金线莲 <i>A. formosanus</i> / %	浙江金线莲 <i>A. zhejiangensis</i> / %	<i>P</i>
Control	7.79 \pm 0.17c	7.79 \pm 0.17c	
0.2	7.39 \pm 0.07c	7.24 \pm 0.63c	>0.05
0.4	11.12 \pm 0.73b	10.56 \pm 0.87b	>0.05
0.6	12.91 \pm 0.20a	11.73 \pm 0.52b	<0.05
0.8	12.97 \pm 0.31a	13.18 \pm 0.37a	>0.05

注:不同小写字母表示各浓度间在 0.05 水平上存在显著性差异;*P* 值表示同一浓度台湾金线莲与浙江金线莲多糖对线虫寿命影响的显著性差异。

Note: Different letters indicate the significant difference between varieties at the 0.05 level; *P* value indicate the significant difference of effects of *A. formosanus* polysaccharide and *A. zhejiangensis* polysaccharide on lifetime of *C. elegans* at the same concentration.

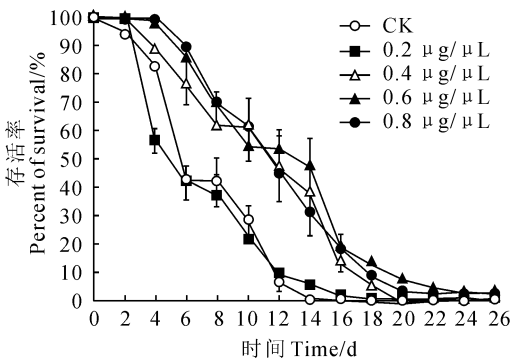


图 1 不同浓度台湾金线莲多糖对
过氧化氢氧化压力下线虫存活率的影响

Fig. 1 Effects of different concentration of *A. formosanus*
polysaccharide on percent survival of *C. elegans*
under oxidative stress

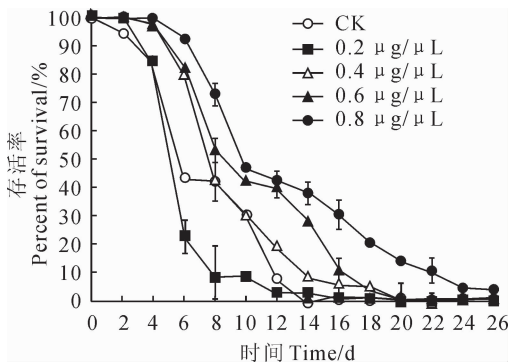


图 2 不同浓度浙江金线莲多糖对过氧化氢
氧化压力下线虫生存率的影响

Fig. 2 Effects of different concentration of *A. zhejiangensis*
polysaccharide on percent survival of *C. elegans*
under oxidative stress

组差异不大,而当台湾金线莲多糖浓度为 0.4、0.6 和 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,处理组的生存曲线发生了不同程度的右移,处理组线虫的存活时间明显长于对照组。

不同浓度浙江金线莲多糖对线虫平均寿命的影响如表 3 所示,当加入浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 浙江金线莲多糖时,线虫的平均寿命为 7.24 d,处理组线虫的平均寿命与对照组间不存在显著差异。当加入浙江金线莲多糖浓度为 0.4、0.6 和 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,线虫的平均寿命分别为 10.56、11.73 和 13.18 d,与对照组相比,3 个处理组线虫的寿命均有显著提高。对比 0.4、0.6 和 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 3 个浙江金线莲多糖处理组线虫的平均寿命,处理组 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 组较 0.6 和 0.4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 组能显著延长线虫寿命($P<0.05$),而 0.4 和 0.6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 两组间线虫的平均寿命不存在显著差异($P>0.05$)。基于培养过程中线虫存活率的变化做生长曲线(图 2),当浙江金线莲多糖的浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,处理组的生长曲线与对照组差异不大,随着浙江金线莲多糖浓度的升高,生长曲线出现了不同程度的右移,其中多糖浓度为 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,处理组线虫的存活时间明显高于对照组。

在相同多糖浓度下,对比台湾金线莲和浙江金线莲多糖对线虫寿命的影响,结果如表 3 所示。仅当浓度为 0.6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,台湾金线莲多糖较浙江金线莲多糖更能显著延长线虫寿命。而多糖浓度为 0.2、0.4 和 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,台湾金线莲和浙江金线莲多糖对线虫寿命的影响无显著差异($P>0.05$),说明这两种多糖对线虫寿命的影响差异不大。

3 讨论

3.1 金线莲多糖的提取

常用的植物多糖提取方法主要包括溶剂提取法、超声提取法和酶提取法等。多糖属于极性较强的物质,可在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下扩散释放到水中。因此采用水浴提取法可以直接提取植物多糖。由于该方法操作简便,对实验设备要求低,提取效果好,是提取植物多糖中较常用的工艺,但耗时较长是该方法的主要缺陷。超声提取法利用超声波作用释放多糖,具有提取所需时间短,对设备要求较高,提取率相对较低的特点,已逐步运用于工业生产。本研究比较了不同方法提取金线莲多糖的优劣,结果显示溶剂提取法提取金线莲多糖的效果优于两种超声提取法,得到了与白红进等对黑果枸杞多糖含量研究、翁梁等对蛹虫草多糖提取研究相一致的结果^[12-13]。进一步优化金线莲多糖的提取方法和工艺,提高金

线莲多糖的提取率和纯度,对大量提取金线莲多糖、开发金线莲多糖的药效价值具有重大的意义。

3.2 不同基原金线莲的多糖含量

多糖普遍存在于自然界高等植物、藻类及动物体内,具有抗肿瘤、抗衰老、降血脂等生物活性,已引起广泛关注。植物中多糖的含量存在一定差异,例如百合中多糖的平均含量为 16.6%^[14],海藻中为 9.4%^[15],甘草中为 9.2%^[16]。本研究发现,金线莲多糖的平均含量约为 14.0%,多糖含量在高等植物中居于前列,提示金线莲可作为提取植物多糖的优质种质资源,为金线莲的大量人工栽培和组织培养提供了理论依据。此外,在本研究中,不同基原的金线莲其多糖含量存在显著差异,采用水浴提取法得到的台湾金线莲多糖含量为 12.0%,浙江金线莲多糖含量高达 16.3%,台湾金线莲的多糖含量较低,与张赛男^[7]、吴佳溶^[17]等的研究结果相一致。鉴于浙江金线莲多糖含量较高,仅从多糖提取方面考虑,浙江金线莲是可以优先利用的种质资源。但是与已报道的金线莲多糖含量相比,本研究测得的金线莲多糖含量与之存在一定差异^[7,17],这可能与选用的多糖提取方法、金线莲的生长时间、代谢状况等有关。

3.3 金线莲多糖的羟自由基清除率

机体的代谢过程会因氧化作用而产生大量的自由基,体内氧化系统和抗氧化系统的失衡会导致很多疾病的发生,这些都与自由基引发的氧化反应有关。目前研究表明^[18],植物提取物如银杏叶、茶叶等的提取物均具有抗氧化酶活性,含有可清除自由基的活性物质。因此近年来揭示天然植物提取物清除自由基的活性机制成为了新的研究方向。自由基包括羟自由基和超氧阴离子等,其中羟自由基是活性最高、损伤最大的一种活性氧,对其清除率的大小是反映药物抗氧化作用的重要指标。本研究结果显示,金线莲多糖具有较强的羟自由基清除作用,且清除率与金线莲多糖浓度成正相关。林丽清等^[19]发现金线莲多糖对氧自由基具有较强的清除作用,其活性也与剂量呈正相关,说明金线莲多糖具有较高的抗氧化活性。但本研究得到的羟自由基的清除率与林丽清等存在一定差异,推测可能与选取的金线莲种质不同、种质的生长时期、栽培方法、生活环境存在差异有关,同时测定方法的不同也可能导致结果的稍许差别。对比台湾金线莲和浙江金线莲多糖的羟自由基清除率,显示浙江金线莲的抗氧化性活性显著高于台湾金线莲,研究结果为选择最佳基原的金线莲,对其进行大规模人工培育、种植提供了

理论依据。

3.4 金线莲多糖对线虫寿命的影响

根据自由基理论,机体的衰老过程与自由基的产生密切相关^[20]。在线虫体内, H_2O_2 可以在线粒体和细胞质之间自由扩散,形成羟自由基和氢氧根离子等自由基,造成线虫氧化应激损伤。秀丽隐杆线虫因其生命周期短、体态透明、在显微镜下易于观察、繁殖速度快等优点成为研究机体氧化应激反应的重要模式生物,其寿命的长短可以反映机体的衰老情况^[21]。

本研究中用 0.2 $\mu g/\mu L$ 台湾金线莲多糖和浙江金线莲多糖处理秀丽隐杆线虫,在过氧化氢氧化应激条件下,两者均未显示出具有延长线虫寿命的作用,该现象可能与多糖浓度较低有关。但加入 0.4、0.6 和 0.8 $\mu g/\mu L$ 金线莲多糖,线虫寿命均有明显提高,表明金线莲多糖能显著提高秀丽隐杆线虫在双氧水压力条件下的寿命,保护线虫免受双氧水作用。据观察,多糖处理后的线虫表皮颜色较深,未用多糖处理仅加入过氧化氢的对照组线虫表皮颜色呈透明,据推测,金线莲多糖可能作用于线虫表皮,在线虫表皮外起一层保护作用,防止过氧化氢从线虫表皮渗入到线虫体内,从而延长在过氧化氢氧化压力下的线虫寿命。在 0.2、0.4 和 0.8 $\mu g/\mu L$ 浓度下,台湾金线莲多糖和浙江金线莲多糖在过氧化氢氧化压力条件下对线虫的保护作用不存在显著差异,而在 0.6 $\mu g/\mu L$ 浓度下,台湾金线莲多糖较浙江金线莲多糖更能起到保护作用,显著延长线虫寿命,推测可能有原因为多糖中含有多种组分,台湾金线莲的多糖组分在 0.6 $\mu g/\mu L$ 浓度时的配比比浙江金线莲能显著延长线虫寿命。金线莲多糖对线虫寿命影响的结果与通过测定羟自由基清除率反映的台湾金线莲多糖和浙江金线莲多糖的抗氧化性存在一定差异,推测可能原因为在线虫模型中,多糖仅作用于线虫表皮,作用结果与多糖的具体空间结构和化学性质无明显联系,而在体外抗氧化性的实验中,多糖的抗氧化性可能与多糖的空间结构和化学组成相关,造成了这两种方法在检测台湾金线莲和浙江金线莲多糖的抗氧化活性方面表现出差异。

本研究显示采用溶剂提取法提取金线莲多糖最为有效,浙江金线莲的多糖含量及清除羟自由基能力均优于台湾金线莲,两种金线莲多糖均可延长处于过氧化氢氧化压力条件下秀丽隐杆线虫的寿命。研究结果为金线莲基原植物的利用、培育提供了参考,为研究植物多糖的抗衰老功效提供了新方法。

为进一步研究金线莲多糖对延长寿命的作用机制奠定了基础。

参考文献:

- [1] SHYUR, CHIHUAI C, CHIUPING L, *et al.* Induction of apoptosis in MCF7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoetochilus formosanus* [J]. *Journal of Biomed Science*, 2004, 11: 928-939.
- [2] 施满容, 龚林光, 钟幼雄. 不同来源金线莲活性成分含量的研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(28): 9 731-9 734.
SHI M R, GONG L G, ZHONG Y X. Research of activity components in different *Anoetochilus roxburghii* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(28): 9 731-9 734.
- [3] 崔仕超. 金线莲活性物质的提取及生理活性的研究[D]. 广东汕头: 汕头大学, 2010.
- [4] WANG X X, HE J M, *et al.* Simultaneous structure identification of nature products in fractions of crude extract of the rare endangered plant *Anoetochilus roxburghii* using ¹H NMR/RRLC-MS parallel dynamic spectroscopy [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12: 2 556-2 571.
- [5] 许平. 黄瓜多糖抗氧化活性研究[J]. *重庆工商大学学报(自然科学版)*, 2009, 26(1): 54.
XU P. Study on the antioxidative activities of polysaccharides from *Cucumis sativus* L. [J]. *Journal of Chongqing Technology and Business University* (Natural Science Edition), 2009, 26(1): 54.
- [6] 谢明勇, 聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J]. *中国食品学报*, 2010, 10(2): 5-7.
XIE M Y, NIE S P. A review about the research of structure and function of polysaccharides from nature products [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2010, 10(2): 5-7.
- [7] 张赛男. 不同地区金线莲多糖含量对比研究[J]. *北京农业*, 2014, 33: 1.
ZHANG S N. Comparison study on the polysaccharide content of *Anoetochilus* in different regions [J]. *Beijing Agriculture*, 2014, 33: 1.
- [8] 范琳. 金线莲多糖的提取及其药理作用研究概述[J]. *生物技术世界*, 2014, 11: 71.
FAN L. Research about *Anoetochilus* polysaccharide extraction and pharmacological [J]. *Biotech World*, 2014, 11: 71.
- [9] 石磊. 几种多糖的分离纯化, 结构解析和生物活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [10] 冯惠萍, 杜瑞凝, 张珍英. 动力学分光光度法测定中药多糖对羟自由基的清除率[J]. *中国现代应用药学*, 2010, 2(27): 138-140.
FENG H P, DU R N, ZHANG Z Y. Determination of hydroxyl free radical clearance rate of Chinese medicine polysaccharide by kinetic spectrophotometric method [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2010, 2(27): 138-140.
- [11] 唐晓明. 香豆素对秀丽隐杆线虫抗氧化作用的研究[D]. 长春: 长春理工大学, 2012.
- [12] 白红进, 汪河滨, 褚志强, 等. 不同方法提取黑果枸杞多糖的研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 3: 145-146.
- BAI H J, WANG H B, *et al.* Study on the extraction of polysaccharide from black fruits with different methods [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 3: 145-146.
- [13] 翁梁, 温鲁, 杨芳, 等. 不同提取方法对蛹虫草多糖抗氧化性的影响[J]. *食品科技*, 2008, 33(11): 180-182.
WENG L, WEN L, YANG F, *et al.* Empirical study of different extraction methods influence on the antioxidation of polysaccharide in cordyceps militaris [J]. *Food Science and Technology*, 2008, 33(11): 180-182.
- [14] 王娜娜, 薛培凤, 魏慧, 等. 百合科药用植物多糖研究进展[J]. *北方药学*, 2013, 10(9): 46-47.
WANG N N, XUE P F, WEI H, *et al.* Research on Polysaccharide of medicinal plants in the lily family [J]. *Northern Medicine*, 2013, 10(9): 46-47.
- [15] 曲有乐, 李明, 李宪刚, 等. 海藻多糖片中多糖含量测定[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2009, 28(1): 91-98.
QU Y L, LI M, LI X G, *et al.* Determination of polysaccharide in seaweed polysaccharide tablets [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University* (Natural Science Edition), 2009, 28(1): 91-98.
- [16] 杨全, 王文全, 魏胜利, 等. 甘草不同类型间总黄酮、多糖含量比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(5): 445-446.
YANG Q, WANG W Q, *et al.* Comparison study of total flavonoids and polysaccharides of different types of licorice [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(5): 445-446.
- [17] 吴佳溶. 不同地理种源金线莲有效成分含量测定及 SRAP 标记[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [18] 高大文, 李伟光, 高艳, 等. 秀丽隐杆线虫在植物提取物抗氧化活性研究中的应用[J]. *军事医学*, 2013, 4(37): 315-317.
GAO D W, LI W G, GAO Y, *et al.* *Caenorhabditis elegans*: a model organism for studies of antioxidant activity of plant extracts [J]. *Military Medical Sciences*, 2013, 4(37): 315-317.
- [19] 林丽清, 黄丽英, 郑艳洁, 等. 金线莲多糖的提取及清除氧自由基作用的研究[J]. *福建中医学院学报*, 2006, 16(5): 37.
LIN L Q, HUANG L Y, ZHENG Y J, *et al.* Study on extraction of polysaccharide from *Anoetochilus formosanus* and its effect of removal of oxygen free radicals [J]. *Journal of Fujian College of Traditional Chinese Medicine*, 2006, 16(5): 37.
- [20] 陈媛, 周玫, 刘尚喜, 等. 营养、衰老与自由基理论[J]. *营养学报*, 2005, 27(3): 177.
CHEN Y, ZHOU M, LIU S X, *et al.* Nutrition, aging and free radical theory [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2005, 27(3): 177.
- [21] 赵晴, 将滢滢. 秀丽隐杆线虫研究综述[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(19): 10 092-10 093.
ZHAO Q, JIANG T T. Overview of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(19): 10 092-10 093.

(编辑: 潘新社)