

不同产地平贝母生物碱、多糖含量与生态因子相关性 及体外抗氧化活性研究

王馨翊¹, 乔永飞¹, 温锦丽¹, 李亚丽^{1,2*}

¹中国农业科学院特产研究所; ²吉林省中药材种植(养殖)重点实验室, 长春 130112

摘要: 本研究旨在探讨平贝母中生物碱和多糖含量与生态因子的关系, 并评估其体外抗氧化活性。研究选取了来自 6 个不同产地的平贝母作为样本, 分析其生物碱和多糖含量, 同时测量了土壤肥力及相关生态因子。此外, 研究采用了 DPPH 自由基清除法、超氧阴离子自由基清除法和总还原力法测试其抗氧化效果。结果显示, 不同产地的平贝母中生物碱(0.10%~0.81%)和多糖(5.24%~19.21%)含量差异显著, 且年均温、年降水量、日照时数、土壤中的全钾和全磷与这些成分的含量密切相关。生物碱在 DPPH 自由基清除及总还原力方面表现出显著作用, DPPH 清除率最高可达 82.53%, 总还原力最高可达 1.032, 而多糖则对超氧阴离子清除效果较好, 但对 DPPH 自由基清除作用不明显。研究认为, 选择适宜的生态环境和增加磷、钾肥的施用可促进平贝母有效成分的积累, 且其生物碱和多糖具有显著的抗氧化潜力, 本研究旨在为平贝母的科学种植和抗氧化开发提供了理论依据。

关键词: 平贝母; 生物碱; 多糖; 生态因子; 抗氧化; 相关性研究

中图分类号: R932

文献标识码: A

Correlation between alkaloid and polysaccharide content of Fritillariae Ussuriensis Bulbus from different origins and ecological factors and *in vitro* antioxidant activity

WANG Xin-yi¹, QIAO Yong-fei¹, WEN Jin-li¹, LI Ya-li^{1,2*}

¹Institute of Special Animal and Plant Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences; ²Jilin Provincial

Key Laboratory of Traditional Chinese Medicinal Materials Cultivation and Propagation, Changchun 130112,

China

Abstract: The aim of this study was to investigate the relationship between the alkaloid and polysaccharide content of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* and various ecological factors, while also evaluating its *in vitro* antioxidant activity. Samples of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* were collected from six different regions to analyze the alkaloid and polysaccharide content, along with measurements of soil fertility and relevant ecological factors. Additionally, the antioxidant effects were assessed using the DPPH radical scavenging method, superoxide anion radical scavenging method, and total reducing power assay. The results revealed significant regional differences in alkaloid (0.10%-0.81%) and polysaccharide (5.24%-19.21%) content. Key factors, such as annual average temperature, annual precipitation, sunlight hours, and soil levels of potassium and phosphorus, were found to be closely correlated with the content of these components. Alkaloids exhibited notable activity in DPPH radical scavenging and total reducing power, with the highest DPPH scavenging rate reaching 82.53% and the maximum total reducing power at 1.032. Polysaccharides were more effective in scavenging superoxide anions, although

they did not significantly impact DPPH radicals. The study suggests that optimizing ecological conditions and increasing phosphorus and potassium fertilization can enhance the accumulation of active compounds in *Fritillariae Ussuriensis Bulbus*. Moreover, the demonstrated antioxidant potential of alkaloids and polysaccharides provides a theoretical foundation for the scientific cultivation of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* and its development as an antioxidant resource.

Key words: *Fritillariae Ussuriensis Bulbus*; alkaloids; polysaccharides; ecological factors; antioxidant; correlation study

平贝母 (*Fritillariae Ussuriensis Bulbus*) 为百合科平贝母 *Fritillaria ussuriensis* Maxim. 的干燥鳞茎^[1], 又名平贝、贝母、北贝, 是东北地区重要的药食同源植物^[2], 《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 1977 年版正式收录平贝母^[3]。平贝母具有镇咳化痰、润肺平喘、清热散结、抗炎、抗氧化和抗溃疡等活性作用^[4,5], 对人体健康有利且具有较高的安全性, 已被列入卫计委公布的药食同源名录中, 以平贝母为基础的药品及保健食品具有较为广泛的应用前景^[6,7]。生物碱和多糖是平贝母最主要的有效次生代谢产物, 其中异甾体生物碱为平贝母发挥作用的主要有效成分^[8,9], 且多糖类化合物具有独特的活性作用^[10]。王艳红等^[11]测定了不同产地和不同采收期的平贝母多糖, 研究发现平贝母中多糖含量较高, 且不同产地平贝母多糖含量差异较大。植物中活性成分的形成与积累受生态环境因素的影响较大, 除了受气候季节变化的影响外, 还受土壤肥力等因素的影响^[12]。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是一类具有强氧化性的物质的总称, 包括氧自由基及非氧自由基^[13], 过量的 ROS 会对蛋白质、DNA 和 RNA 造成损害; 并引发炎症、动脉硬化、关节炎和癌症等各种疾病^[14,15]; 抗氧化是指清除由自然生理作用或衰老、过度运动、感染及体内有毒物质所产生的过多的活性氧^[16], 适当地补充抗氧化食品可以清除自由基, 阻断脂质过氧化反应。平贝母被证明具有显著的抗氧化活性^[6], 平贝母多糖 FUP-1 能显著降低 *D*-半乳糖诱导衰老小鼠肝脏组织中丙二醛含量, 提高肝组织中总抗氧化能力、谷胱甘肽过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 认为平贝母具有一定的抗氧化和延缓衰老作用^[17]。Guo 等^[18]从伊贝母中提取生物碱, 发现其具有一定的抗氧化活性和抑菌活性, 且活性大小与生物碱的浓度呈明显的线性关系。

中国东北地区为平贝母道地产区, 本研究分别采集了黑龙江省、吉林省和辽宁省的样品, 其具有典型的生态背景和生长条件, 此外, 我们还采集了一个新引种地区 (湖北省) 的样品, 可以提供平贝母在非道地的生长环境下的生物碱和多糖含量数据。近年来对平贝母的研究多集中于化学成分及活性作用, 关于其化学成分含量与环境因子相关性、生物碱体外抗氧化研究较少。本研究以不同产地平贝母及其根际土壤为实验材料, 旨在通过分析其主要化学成分

与生态因子、土壤肥力的相关性，评价其体外抗氧化能力，为平贝母科学种植和抗氧化功效开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究于 2022 年进行取样，选择不同产地健康无病，长势较为一致的平贝母鳞茎进行采集，每个采样地采集不少于 500 g 样品，采集样品经过中国农业科学院特产研究所李亚丽研究员鉴定均为百合科平贝母 *Fritillaria ussuriensis* Maxim. 的干燥鳞茎，样品采集地及编号见表 1。样品洗净后自然风干后使用高速粉碎机粉碎，过 20 目筛，得平贝母粉末，备用；采用抖根法收集平贝母根际土壤，将土壤样品等量混合，自然风干后研磨过筛，密封保存。

表 1 平贝母采样地及样品编号
Table 1 Collection place and number of *Fritillariae Ussuriensis* Bulbus

编号 Sample	产地 Origin	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Elevation (m)
S1	黑龙江省尚志市苇河镇	128°38'	44°95'	248
S2	黑龙江省哈尔滨市延寿县六团镇	128°29'	45°34'	136
S3	吉林省白山市靖宇县	126°80'	42°40'	540
S4	吉林省延边朝鲜族自治州敦化市	129°17'	44°30'	508
S5	辽宁省抚顺市清原满族自治县走马镇	123°55'	41°52'	287
S6	湖北省恩施土家族苗族自治州鹤峰县	110°42'	29°82'	972

1.2 仪器与试剂

AllegraX-30R Centrifuge 低温离心机（美国 Beckman Coulter 公司）；Epoch 酶标仪（美国 Bio Tek 公司）；SENCO 旋转蒸发仪（中国上海申生科技有限公司）；Lambda 365 紫外分光光度计（美国 PerkinElmer 公司）；SK220 pH 计（梅特勒）；Vario ELIII 元素分析仪（意大利欧维特）；AA-3 流动分析仪（德国 Brawn Luyy 公司）。

无水乙醇（批号：20220910，分析纯，北京化工厂）、磷酸二氢钠（批号：20210105，分析纯，北京化工厂）、氯化钠（批号：20211029，分析纯，北京化工厂）、磷酸氢二钠（批号：20230910，分析纯，北京化工厂）；2,2-联苯基-1-苦基肼基（DPPH，分析纯，美国 Aldrich 公司）；三氯甲烷（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）、邻苯二甲酸氢钾（批号：20210225，分析纯，国药集团化学试剂有限公司）、蒽酮（批号：20211025，分析纯，国药集团化学试剂有限公司）；贝母素乙对照品（上海 ACMEC 公司）；溴百里香酚蓝（批号：20201130，上海馨晟试化工科技有限公司）；硫酸（优级纯，凯言化学公司）；铁氰化钾（批号：20210925，

分析纯，天津市光复科技发展有限公司）；氯化铁（批号：31129-84，分析纯，天津市华东试剂厂）；石油醚（色谱级，阿拉丁）；葡萄糖（批号：V900392，美国 Sigma 公司）；正丁醇（分析纯，上海 General-Reagent 公司）；盐酸（分析纯，天津市耀华化学试剂有限责任公司）；三氯乙酸（分析纯，上海 Macklin 公司）。

1.3 实验方法

1.3.1 平贝母产地生态因子和土壤因子信息

选定的 6 个平贝母种植基地（编号为 S1~S6）记录各产地的经纬度，气候因子通过查询当地气象台及中国气象台网数据。参考《土壤农化分析方法》^[19]测定土壤中 pH、有机质（soil organic matter, SOM）、全碳（total carbon, TC）、全氮（total nitrogen, TN）、全磷（total phosphorus, TP）和全钾（total potassium, TK），每个样品重复三次；其中测定土壤 pH 时土与水比例为 1:2.5 比例；土壤有机质的含量为全碳含量的 1.724 倍；平贝母不同产地生态因子信息采集见表 2。

表 2 平贝母样品产地生态因子信息
Table 2 Ecological factors information of *Fritillariae Ussuriensis* Bulbus from different origins

样品编号 Sample	年均温 Annual temperature (°C)	年降水量 Annual precipitation (mm)	日照时数 Sunshine duration (h)	相对湿度 Relative humidity (%)
S1	2.3	953.97	1358.17	71.1
S2	0.6	680.79	1397.95	64.46
S3	3.7	1 034.99	1404.64	71.17
S4	2.6	669.89	1390.13	64.52
S5	5.1	960.97	1418.15	65.18
S6	17.1	2 114.23	1163.81	81.21

1.3.2 平贝母总生物碱检测方法

1.3.2.1 待测溶液的制备

参考 Sun 等^[20]报道的方法，取样品粉末 5.0 g，置于 100 mL 三角瓶中，加浓氨水 10 mL，浸润 2 h 后，加入三氯甲烷-甲醇（4:1）混合溶液 100 mL，混匀，于 80 °C 水浴中加热回流 2 h，冷却，过滤，将滤液蒸干，残渣加三氯甲烷溶解，转移至 25 mL 容量瓶中，加三氯甲烷定容至刻度，摇匀。

1.3.2.2 标准曲线的绘制

参考《中国药典》2020年版^[21]方法，测定贝母素乙标准曲线在 0.002 0~0.023 7 mg/mL 范围内有良好的线性关系，回归方程为 $Y=45.26X+0.1809$ ， $R^2=0.9946$ 。

1.3.2.3 样品总生物碱含量测定

参考《中国药典》2020年版^[21]方法，取待测样品溶液，以相应试剂为空白，在 412 nm 波长处测定吸光度，代入回归方程中求平贝母总生物碱含量（质量浓度），按公式（1）计算平贝母总生物碱含量。

$$W = \frac{C \times F \times V}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中： W 为总生物碱含量（%）； C 为溶液浓度（mg/mL）； F 为溶液稀释倍数； V ：溶液体积（mL）； m 为样品质量（mg）。

1.3.3 平贝母多糖检测方法

1.3.3.1 标准曲线的绘制

配制 0~0.08 mg/mL 不同浓度葡萄糖标准溶液，各取 1 mL 置于 10 mL 试管中，将试管置入冰水中，加入蒽酮显色剂 3 mL 后同时摇匀，再将试管放入沸水煮沸 15 min 取出，立即放入冰水中冷却 5 min 后在室温中平衡 10 min，以相应的试剂为空白，在 620 nm 波长处测定其吸光度，以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。葡萄糖标准曲线在 0~0.08 mg/mL 浓度范围内具有良好的线性关系，回归方程为 $Y=2.0635X+0.0136$ ， $R^2=0.9958$ 。

1.3.3.2 平贝母多糖的提取及测定

参考 Chen 等^[22]和 He 等^[23]报道的方法。准确称取平贝母粉末 5.0 g 于索氏提取器中，50 mL 石油醚 60°C 回流至无色，再用 50 mL 80%乙醇提取 3 h，取药渣挥干溶剂后加入 5~6 倍体积蒸馏水煮 2 h，过滤，滤液经旋转蒸发浓缩至 20 mL。采取 Sevage 法脱蛋白，取上层液，加入 3~4 倍体积 95%乙醇使多糖析出，沉淀 24 h 后减压抽滤得沉淀，经干燥后用去离子水溶解并定容至 25 mL，备用。

取样品溶液 0.1 mL 加入 10 mL 试管中，加入蒽酮显色剂 3 mL 后摇匀，再将试管放入沸水浴中煮沸 15 min 取出，立即放入冰水中，冷却 5 min 后室温平衡 10 min，620 nm 波长下测定吸光度，重复三次，取平均值，根据葡萄糖标准曲线计算多糖含量。

1.3.4 平贝母总生物碱抗氧化活性测定

配制不同浓度提取液，分别为 0.05、0.075、0.1、0.15、0.2 g/mL。配制不同浓度的 V_C 溶液做为阳性对照，浓度分别为 0.5、1、2、2.5、4 mg/mL。

1.3.4.1 清除 DPPH 自由基活性的测定

采用比色法测定对 DPPH 的清除作用^[24], 在同一具塞试管中加入 1mL DPPH 溶液 (0.04 mg/mL) 和 1 mL 不同浓度样品溶液, 摇匀, 室温避光静置 30 min, 用无水乙醇作参比溶液, 测定 517 nm 处吸光度值, 计算清除率, 得到清除率在一定浓度范围的回归方程, 并计算 IC₅₀ (DPPH 清除率为 50%时所对应的样液浓度)。样品对 DPPH 的清除率 (R_1) 按公式 (2) 计算。

$$R_1 = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为无水乙醇+DPPH 溶液吸光度; A_1 为 DPPH 溶液+样品吸光度; A_2 为无水乙醇+样品吸光度。

1.3.4.2 总还原力的测定

参考 Wang 等报道的方法^[25]并同比例缩小试剂用量。将 0.25 mL 不同浓度的提取液, 0.2 mol/L pH 6.6 磷酸盐缓冲液 0.25 mL, 1%铁氰化钾 0.25 mL 混匀, 50 °C水浴 20 min, 加入 10%三氯乙酸 0.25 mL, 震荡混匀, 5 000 r/min 离心 10 min。取上清液 0.5 mL, 加入 0.1%三氯甲烷 0.125 mL 混匀, 静置 10 min, 以蒸馏水代替提取液调零后, 测定 700 nm 处吸光度, 吸光度值越高说明样品的还原力越强。

1.3.5 平贝母多糖抗氧化活性测定

配制 0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.2 g/mL 的提取液并配制相同质量浓度的 V_C 溶液做为阳性对照。

1.3.5.1 DPPH 自由基清除率

精密称取 DPPH 4.0 mg, 用无水乙醇溶解并定容至 100 mL 棕色容量瓶中, 得浓度为 0.08 mol/L 的 DPPH 溶液, 避光保存, 备用。分别取“1.3.5”项不同浓度的提取液 1.0 mL, 置 10 mL 离心管中, 加入 1.5 mL 的 DPPH 溶液, 室温避光反应 30 min, 同时以蒸馏水为空白, 于 517 nm 波长处测定吸光值。按公式 (3) 计算 DPPH 自由基清除率 (R_2)^[26]。

$$R_2 = [A_0 - (A_s - A_c)/A_0] \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_0 为蒸馏水+DPPH 吸光度, A_s 为样品+DPPH 吸光度; A_c 为样品+蒸馏水吸光度。

1.3.5.2 超氧阴离子自由基的清除活力测定

采用邻苯三酚自氧化法^[27]进行测定, 分别取同“1.3.5”项下不同浓度的各样品溶液各 0.2 mL 于试管中, 加入 3.0 mL 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.2) 涡旋混匀 15 s, 25 °C水浴保温 10 min, 在此温度下, 加入 0.2 mL 30mmol/L 邻苯三酚溶液, 充分混匀后反应 4 min,

在 320 nm 波长处测定吸光度 A_1 ，用超纯水代替样品测定吸光度 A_2 ，按公式（4）计算清除率（ R_3 ）。

$$R_3 = (1 - A_1/A_2) \times 100\% \quad (4)$$

式中： A_1 为样品吸光度； A_2 为空白对照组吸光度。

1.3.6 数据处理

每个实验进行 3 次平行实验，数据以平均值±标准差表示。采用 Microsoft Excel 2008 对试验数据进行统计整理；采用 spss 26.0 进行数据处理及 Pearson 相关性分析，单因素方差分析采用 LSD（最小显著性差异）检验， $P < 0.05$ 时被认为差异具有统计学意义；采用 Prism 9 进行折线图绘制。

2 结果与分析

2.1 平贝母产地土壤理化性质

按“1.3.1”方法测定平贝母产地土壤理化指标，实验结果表明，不同平贝母产地土壤 pH 值有所不同，从 5.29（S1）到 6.82（S6）（见表 3）。这表明土壤环境从微酸性到中性不等，S3 产地的土壤样品在 SOM 和 TN 含量上均表现最优，这意味着该土壤具有很高的自然肥力，非常适合植物生长。S5 及 S6 样品的 TK 含量较高，表明这个样品的土壤在自然状态下钾的储量较丰富，有利于植物的生长和发展；S2 及 S5 样品的 TP 含量较高。

表 3 平贝母样品产地土壤理化指标

Table 3 Physical and chemical indicators of soil from the origin of *Fritillariae Ussuriensis* Bulbus

样品 Sample	pH	SOM (g/kg)	TN (g/kg)	TP (g/kg)	TK (g/kg)
S1	5.29	36.31±0.68 ^e	2.61±0.21 ^e	1.40±0.16 ^d	4.57±0.25 ^c
S2	6.37	62.09±1.30 ^c	3.71±0.01 ^c	2.79±0.03 ^a	6.66 ^b
S3	6.24	129.64±0.59 ^a	6.1±0.01 ^a	1.73±0.11 ^c	4.84±0.05 ^c
S4	6.01	109.63±0.76 ^b	4.95±0.02 ^b	2.16±0.08 ^b	4.73±0.30 ^c
S5	6.51	39.18±1.65 ^d	2.56±0.01 ^e	2.31±0.17 ^b	8.35±0.06 ^a
S6	6.82	61.23±0.72 ^c	3.33 ^d	0.91±0.11 ^e	7.17±0.37 ^b

注：同列不同小写字母代表显著性差异（ $P < 0.05$ ），下同。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant differences ($P < 0.05$), the same below.

2.2 平贝母生物碱及多糖含量

按“1.3.2”方法测定平贝母生物碱含量。实验结果表明，不同产区平贝母均含有生物碱类成分，根据《中国药典》2020 年版规定，总生物碱含量以贝母素乙计，不得少于 0.050%。检测的所有样品均符合药典标准，不同产区平贝母生物碱含量为 0.10%~0.81%，不同产地平

贝母生物碱含量差异较大，最高值约为最低值的 8 倍，其中 S6 样品生物碱含量明显高于其他产区（0.81%），S4 样品生物碱含量最低（0.10%）。

按“1.3.3”方法测定平贝母多糖含量，不同产区平贝母多糖含量见表 4。平贝母多糖含量差异较大，含量范围为 5.24%~19.21%，最高值约为最低值的 3 倍，在 6 个不同产地的平贝母样品中，S1 样品多糖含量最高（19.21%），S6 样品多糖含量最低（5.24%）。

表 4 平贝母生物碱及多糖含量测定结果

Table 4 Determination results of alkaloids and polysaccharides content in *Fritillariae Ussuriensis Bulbus*

样品	总生物碱含量	多糖含量
Sample	Content of total alkaloid (%)	Content of polysaccharides (%)
S1	0.29±0.05 ^b	19.21±0.11 ^a
S2	0.33±0.03 ^b	19.03±0.05 ^a
S3	0.17±0.02 ^c	7.04±0.10 ^c
S4	0.10±0.01 ^c	18.93±0.06 ^a
S5	0.18±0.02 ^c	11.41±0.04 ^b
S6	0.81±0.09 ^a	5.24±0.01 ^d

2.3 生物碱、多糖含量与生态因子土壤因子的相关性分析

采用 SPSS 26.0 进行双变量相关分析，使用 ChiPlot 进行数据可视化（图 1）。根据结果发现，平贝母中生物碱的含量与年均温（ $r=0.87$ ）和相对湿度（ $r=0.85$ ）呈较强的正相关，说明温暖、降水量较高且湿润的环境有利于生物碱的积累。生物碱与日照时数呈非常强的负相关（ $r=-0.95$ ），与经度（ $r=-0.89$ ）和纬度（ $r=-0.88$ ）呈较强的负相关，表明日照时数较少的环境更适合生物碱的积累，且随着经度和纬度的增加，生物碱含量可能减少；生物碱与土壤因素的相关性相对较低，但 pH 和 TK 与生物碱含量呈现出一定程度的正相关。平贝母多糖与经度（ $r=0.77$ ）、纬度（ $r=0.77$ ）和日照时数（ $r=0.51$ ）呈正相关，意味着多糖含量可能随着经纬度的增加而增加，日照时数较长的环境可能有利于多糖的积累。多糖与土壤因素的相关性普遍较低，但与 TP 呈现出一定程度的正相关（ $r=0.55$ ）。

生物碱和多糖作为植物中的次生代谢产物，其合成和积累受到多种内外因素的影响，它们在植物体内承担着不同的生物学功能，因此对生长环境的适应性也各不相同。生物碱通常具有强烈的生物活性，如抗菌、抗病虫害等，而多糖则在植物体中主要起到储能和结构支持的作用。这些功能差异反映了它们在植物生存策略中的不同角色，因此在不同的环境条件下表现出不同的合成和积累模式。植物通过调整次生代谢产物的合成来响应环境应激。例如，在日照较少的环境下，生物碱的合成可能会增加，作为一种保护机制来减少光损伤或提高抵

抗力；而在光照充足的条件下，植物可能更倾向于合成多糖，以利用光合作用产生的能量进行生长和发展。

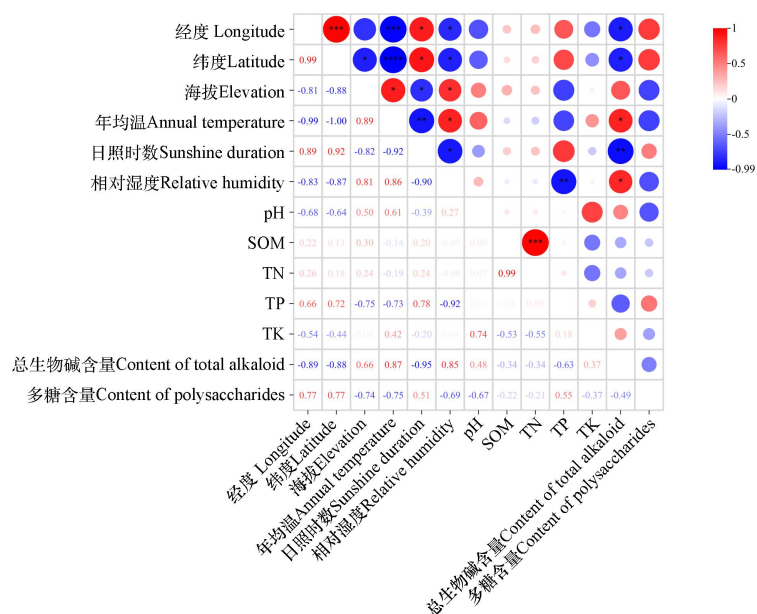


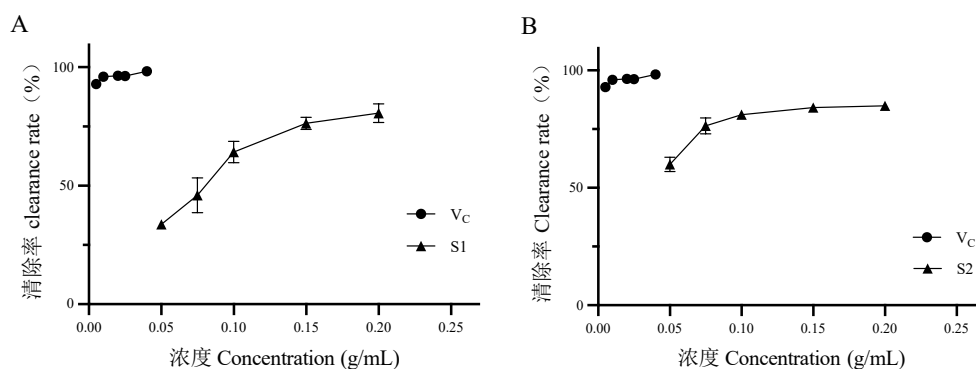
图 1 平贝母有效成分与生态因子的相关性分析

Fig.1 Correlation analysis between active ingredients of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* and ecological factors

2.4 平贝母生物碱抗氧化能力

2.4.1 DPPH 自由基清除率

DPPH 清除率检测是一种灵敏、快速的方法，被广泛应用于食药领域体外抗氧化能力测定。由图 2、表 5 所示，平贝母生物碱具有较强 DPPH 自由基的清除作用，在 0.05~0.20 g/mL 有效浓度内，6 个产地平贝母生物碱提取液 DPPH 自由基清除率均随浓度增加上升，且线性关系良好，通过其拟合线性方程计算 IC_{50} ，不同产地平贝母生物碱 DPPH 自由基清除能力为 $S3>S2>S6>S5>S4>S1$ ；在样品中，S3 具有最低的 IC_{50} 值 (0.02 g/mL)，说明 S3 在抗氧化方面可能表现更好。此结果与神农架贝母生物碱及伊贝母生物碱对 DPPH 自由基清除效果具有浓度依赖性结论一致^[28]。



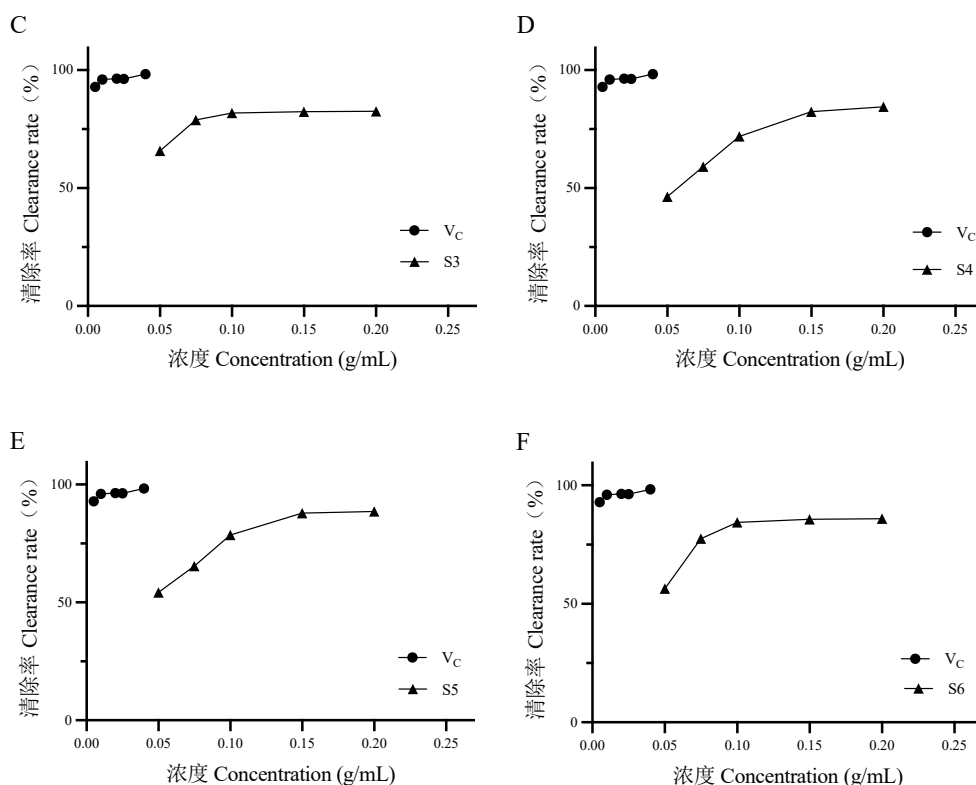


图 2 不同浓度平贝母生物碱提取液的 DPPH 自由基清除率

Fig.2 DPPH radical scavenging activity of different concentrations of Fritillariae Ussuriensis Bulbus alkaloid extract

表 5 不同浓度平贝母生物碱提取液的线性回归方程、 R^2 及 IC_{50} 值

Table 5 The regression equation, R-squared (R^2) value, and IC_{50} values for different concentrations of Fritillariae Ussuriensis Bulbus alkaloid extract

样品 Sample	回归方程 Regression equation	R^2	IC_{50} (g/mL)
Vc	$Y = 7.426X + 103.3$	0.824 0	0.00
S1	$Y = 82.59X + 141.9$	0.964 1	0.08
S2	$Y = 38.74X + 115.7$	0.887 0	0.03
S3	$Y = 25.00X + 103.0$	0.704 5	0.02
S4	$Y = 66.26X + 134.4$	0.957 8	0.06
S5	$Y = 60.79X + 135.1$	0.949 6	0.05
S6	$Y = 45.23X + 122.7$	0.736 9	0.04

2.4.2 总还原力

由图 3 及表 6 可见, 6 个不同产地的平贝母生物碱都具有较强的将亚铁离子 (Fe^{2+}) 还原成铁离子 (Fe^{3+}) 的供电子能力, 即其总还原能力较强。在 0.05~0.20 g/mL 有效浓度内, 随着样品浓度的增加, 吸光度值随之增大, 总还原力越强, 说明平贝母生物碱具有还原能力, 且总还原力与浓度之间为正相关关系。浓度为 0.20 g/mL 时, 平贝母生物碱总还原力为

S1>S3>S2>S6>S5>S4，最高值 S1 与最低值 S4 相差约 2.5 倍。S5 样品的回归模型拟合程度最高，可以更可靠地预测浓度对其总还原力的影响。

上述结果表明，平贝母中的生物碱类成分可以有效地清除自由基，且其还原能力与浓度呈正相关。

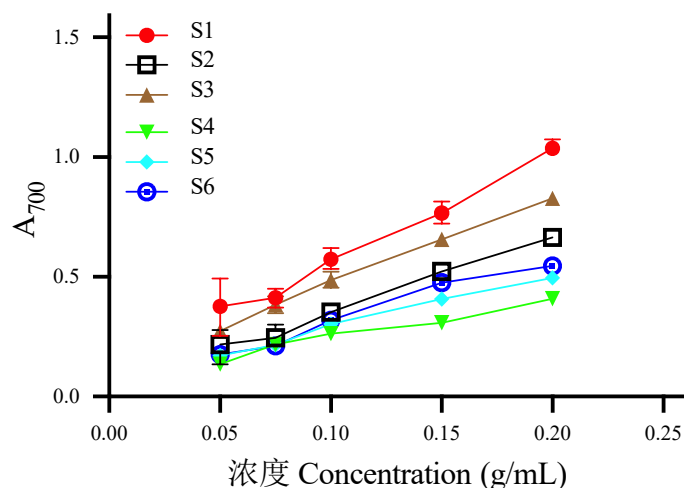


图 3 不同浓度平贝母生物碱提取液总还原力

Fig.3 The total reducing power of Fritillariae Ussuriensis Bulbus alkaloids extraction at different concentrations

表 6 平贝母生物碱总还原力回归方程

Table 6 The regression equation for the total reducing power of Fritillariae Ussuriensis Bulbus alkaloids

样品 Sample	回归方程 Regression equation	R^2
S1	$Y = 1.097X + 1.719$	0.884 2
S2	$Y = 0.771 2X + 1.164$	0.904 4
S3	$Y = 0.913 7X + 1.430$	0.958 9
S4	$Y = 0.421 5X + 0.6838$	0.962 1
S5	$Y = 0.5558 X + 0.8693$	0.967 8
S6	$Y = 0.664 7X + 1.004$	0.964 3

2.5 平贝母多糖抗氧化能力

2.5.1 DPPH 自由基清除力

六个不同产地平贝母多糖 DPPH 清除率见图 4。平贝母多糖在 0.02~0.20 g/mL 范围对 DPPH 清除率不呈线性相关。其中 S1、S3 及 S4 样品在浓度为 0.20 g/mL 时 DPPH 自由基清除效果最好，清除率分别为 19.72%、7.96%及 24.78%；S5 及 S6 样品在浓度为 0.02 g/mL 时清除效果最好，清除率分别为 13.81%、16.99%；S2 在浓度为 0.1 g/mL 时清除效果最好，清

除率为 12.35%。虽然多糖也表现出一定的抗氧化活性，但其清除 DPPH 自由基的能力低于生物碱。

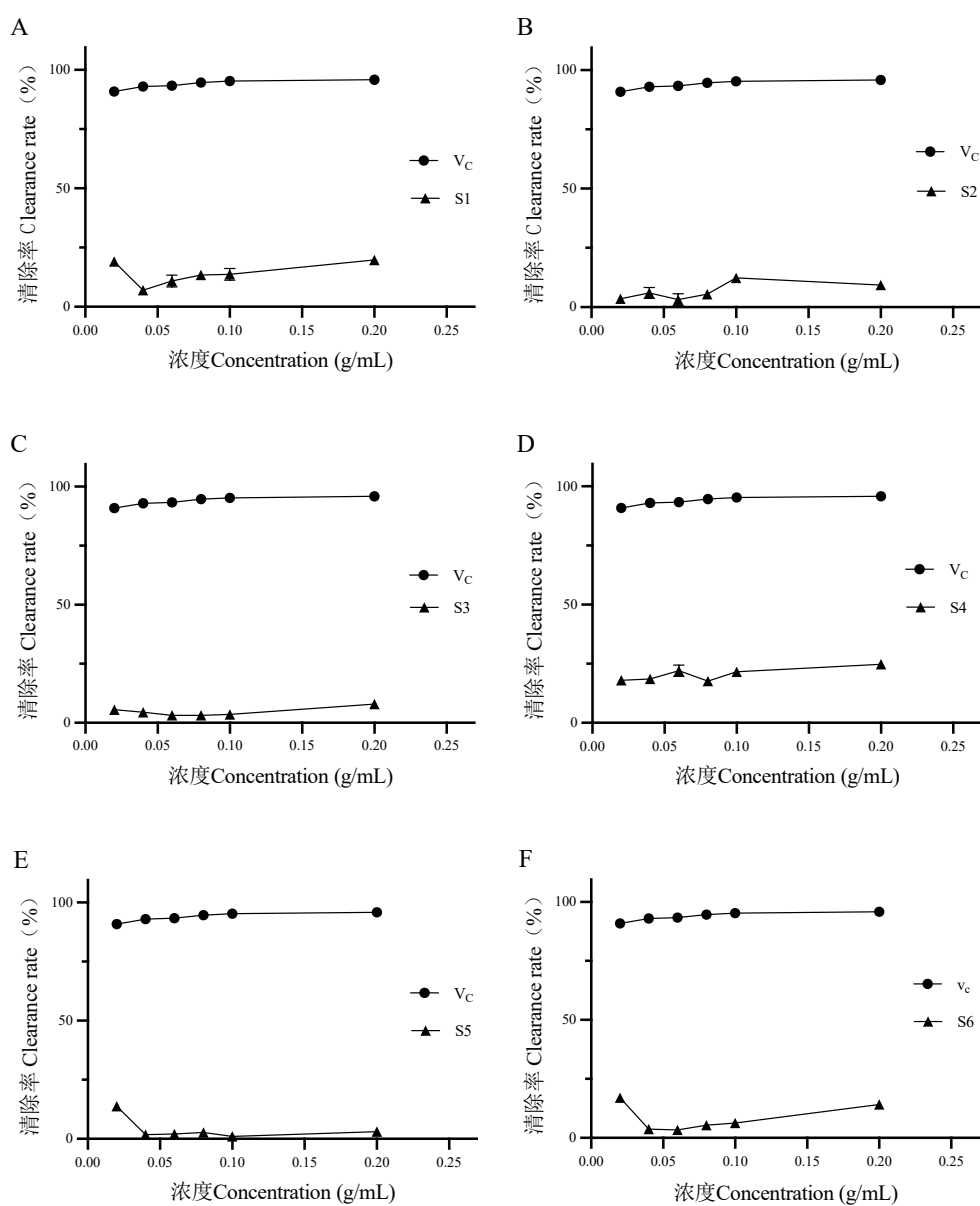


图 4 不同浓度平贝母多糖 DPPH 自由基清除率

Fig.4 DPPH radical scavenging activity of different concentrations of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* polysaccharide

2.5.2 超氧阴离子自由基清除力

本研究采用经典的邻苯三酚自氧化法评价平贝母多糖对超氧阴离子自氧化的抑制作用，由图 5 所示，不同质量浓度的平贝母多糖对超氧阴离子自由基有清除作用，但并未表现出明显的随浓度变化趋势。不同产地平贝母多糖超氧阴离子自由基清除能力在浓度为 0.20 g/mL 时，清除率为 S5>S4>S6>S3>S2>S1。

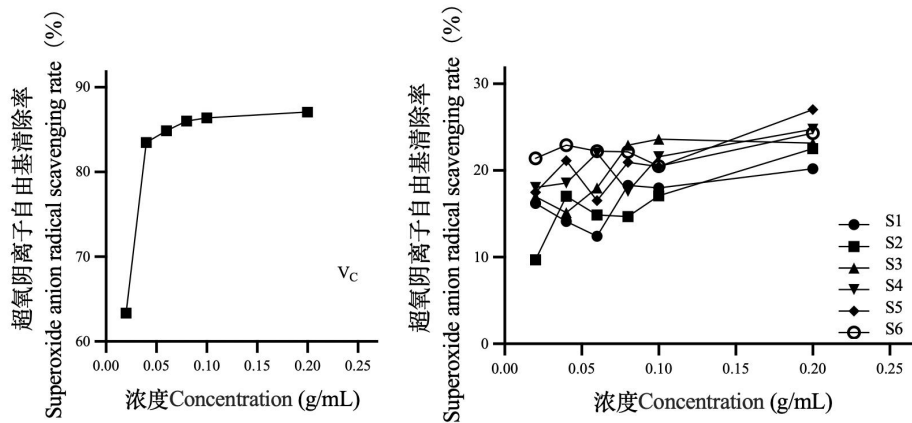


图 5 不同浓度平贝母多糖超氧阴离子自由基清除率

Fig.5 Superoxide anion radical scavenging activity of different concentrations of *Fritillariae Ussuriensis Bulbus* polysaccharide

3 讨论与结论

本研究采用紫外分光光度法,回流提取法及土壤农化分析方法测定了 6 个产地平贝母总生物碱及多糖含量,土壤 pH、SOM、TN、TP 及 TK 含量,并抓取了采样地生态信息;研究结果发现不同产地平贝母生物碱及多糖含量差异较大,生物碱含量为湖北省恩施市>黑龙江省哈尔滨市>黑龙江省尚志市>辽宁省抚顺市>吉林市白山市>吉林市敦化市;多糖含量为黑龙江省尚志市>吉林省敦化市>黑龙江省哈尔滨市>辽宁省抚顺市>吉林市白山市>湖北省恩施市。通过相关性分析发现,生态因子年均温、年降水量、日照时数、TP 及 TK 对平贝母中多糖及总生物碱含量影响较大。综上,平贝母对温度适宜性较高, $-30^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 均可生长 [29]。由于平贝母生物碱和多糖对生长环境的适应性各不相同,在栽培时可以根据需要进行环境条件的调整,例如温暖、降水量较高、湿润且日照时数较低的环境有利于生物碱合成与积累。

通过清除 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基的能力和总还原力对平贝母主要成分进行抗氧化试验,发现平贝母的主要活性成分具有较强的抗氧化能力,对体外自由基有较好的清除作用。6 个产地平贝母生物碱提取液 DPPH 自由基清除率及总还原力均呈现浓度依赖性。在不同产地平贝母中,吉林省白山市平贝母虽然生物碱含量较低,但抗氧化能力较强,而吉林市敦化市平贝母不仅生物碱含量最低,抗氧化能力也较差。6 个产地平贝母多糖提取液 DPPH 自由基清除率及超氧阴离子自由基与浓度并无明显线性关系;其中吉林省敦化市和黑龙江省尚志市样品多糖含量较高,且抗氧化能力较强。除湖北省恩施市样品外,其余 5 个产地平贝母中生物碱含量均远低于多糖含量,但 6 个产地的平贝母样品生物碱 DPPH 自由基

清除率均高于多糖 DPPH 自由基清除率,且平贝母生物碱总还原力也较高,故推测生物碱类是平贝母发挥抗氧化作用的主要成分。

平贝母作为一种重要的药食两用植物,其成分含量的差异直接影响其药效和应用价值,并且其作为一种天然植物来源的抗氧化剂,其与合成抗氧化剂的比较研究也具有重要意义。未来可以进一步评估平贝母的抗氧化效果和安全性与合成抗氧化剂之间的差异,并探索其不同领域的应用前景。

参考文献

- 1 Zhang Y,Wei Y,Zhang ZH,et al.Effect of base fertilizer on the yield and agronomic traits of *Fritillariae ussuriensis* Maxim.[J].Spec Wild Econ Anim Plant Res(特产研究),2019,41:26-28.
- 2 Ding CH,Guo SL,Sun HF,et al.Research progress of medicinal plant pingbeimu (*Fritillaria ussuriensis* Maxim)[J].Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报),2018,24:73-75.
- 3 Wang ST,Yang YY,Xu L,et al.Textual research on traditional chinese medicine pingbeimu(*Fritillariae Ussuriensis* Bulbus) and Beimu(*Fritillaria*) herbal medicine[J].J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报),2021,23:149-156.
- 4 Zhang M,Zhang Y,Xu SB,et al.Preparation, structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharide-iron complex from *Fritillaria ussuriensis*[J].Food Sci(食品科学),2020,41:36-42.
- 5 Liu CY,Zhen D,Du HH,et al.Synergistic anti-inflammatory effects of peimine, peiminine, and forsythoside a combination on LPS-induced acute lung injury by inhibition of the IL-17-NF- κ B/MAPK pathway activation [J].J Ethnopharmacol,2022,295:115343.
- 6 Chen DY,Zhang ZZ,Li RR,et al.Research progress on quality safety status and analytical methods of bulbus *Fritillaria*[J].J Food Safe Qual(食品安全质量检测学报),2021,12:9242-9250.
- 7 Wang RC,Wang XY,Qiao YF,et al.Research progress on the analysis of active ingredients and elements in *Fritillaria ussuriensis* bulbus[J].Chin J Anal Chem,2022,51:100192.
- 8 Xu LX,Fan LZ,Jiang S,et al.Recent progress of chemical constituents and pharmacological effects of *Fritillaria*[J].Chin J Med Chem(中国药物化学杂志),2022,32:61-73.
- 9 Yang ZH,Cheng C,Gao XY.Content determination of peimine and peiminine in Xingbei Zhike granules by HPLC-ELSD[J].China Pharm(中国药业),2019,28:31-33.
- 10 Shen Y,Sun HF.Advance in studies on chemical constituents of *Fritillaria ussuriensis* and their pharmacological effects[J].Chem Eng(化学工程师),2018,32:62-66.
- 11 Wang YH,Wu XM,Zheng YL.Determination of polysaccharide content of *Platycodon grandiflorum* from different origins and harvest periods[J].Shaanxi Agric Sci(陕西农业科学),2005,51:32-34.
- 12 Ye QQ,Du BJ,Zhang PG,et al.Relations between soil factors and active ingredient content of *Fritillariae Pallidiflorae* Bulbus in Xinjiang[J].Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2017,23:41-47.
- 13 Wei QY,Li TT,Chen JT.The regulation of reactive oxygen species on dendritic cells[J].Chin J Biochem Mol Biol(中国生物化学与分子生物学报),2021,37:1017-1023.
- 14 Zhao RS,Liang WJ,Deng WC,et al.Study on the mechanism of curcumin in protecting osteoblast function through anti-oxidative stress[J].Res Dev Nat Prod(天然产物研究与开发),2022,34:1311-1318.
- 15 Tafani M, Sansone L, Limana F,et al.The interplay of reactive oxygen species,hypoxia,inflammation,and sirtuins in cancer initiation and progression[J].Oxid Med Cell Longev,2016,2016:3907147.
- 16 Nunes-Silva A.The association between physical exercise and reactive oxygen species (ROS) production[J].J Sports Med Doping Stud,2015,5:1000152.

- 17 Liu CH, Jin ZD, Han BR. Antioxidant activity of polysaccharide FUP-1 from *Fritillaria ussuriensis* Maxim in D-galactose-induced aging mouse model[J]. Food Sci(食品科学), 2011, 32: 285-288.
- 18 Guo CG, Liu XF, Wang YG, et al. Extraction and activity study of total alkaloids from *Platycodon grandiflorum*[J]. Farm Mach(农业机械), 2013(17): 83-86.
- 19 Li K, Li ZJ. Methods of Soil Agrochemical Analysis(土壤农化分析方法)[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2019: 42-38.
- 20 Sun HF, Shen Y. Optimization extracting the total alkaloids from *Fritillaria ussuriensis* Maxim[J]. Chem Eng(化学工程师), 2018, 32: 9-11.
- 21 National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I(中华人民共和国药典: 第一部)[M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020: 4.
- 22 Chen L, Shen L, Wu YM, et al. Antioxidant activity of water-soluble polysaccharide isolated from Taibai *Fritillariae*[J]. Food Sci Technol(食品科技), 2013, 38: 214-217.
- 23 He JZ, Shao P, Meng XH, et al. Analysis of structural characteristics of polysaccharide from *Ganoderma lucidum*[J]. Anal Chem(分析化学), 2010, 38: 372-376.
- 24 Hou MN, Liu CP, Hou SP, et al. Comparison of polysaccharide content and antioxidant activity of *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li in different rears[J]. China Wild Plant Resour(中国野生植物资源), 2023, 42: 44-47.
- 25 Wang CB, Chen JW, Wang K, et al. Analysis of total flavonoids in different parts of wild planting *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg and comparison of their anti-inflammatory and antioxidant capacity[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2024, 45: 321-329.
- 26 Ma WH. Antioxidant activity of polysaccharide from *Fritillaria thunbergii* bulb *in vitro*[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2014, 32: 1191-1193.
- 27 Chen L, Huang G. Extraction, characterization and antioxidant activities of pumpkin polysaccharide[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 118: 770-774.
- 28 Chen YX, Shu C, Wan H, et al. Optimization of extraction technology of alkaloids and its anti-oxidation from *Fritillaria* of Shennongjia[J]. J Wuhan Univ Technol.(武汉轻工大学学报), 2018, 37: 1-5.
- 29 Liu LL, Chen ZS. Fritillary bulb standardized cultivation[J]. Spec Econ Anim Plants(特种经济动植物), 2011, 14: 45-47.

收稿日期: 2024-05-13

接受日期:

基金项目: 吉林省科技厅重点专项(20210204178YY); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2021-ISAPS)

*通信作者 E-mail: liyali@caas.cn