

三种龙葵果提取物的体外抗氧化及抗炎活性评价

郭瑞, 李焱, 王萍

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要: 龙葵果被广泛用于解热和利尿。本文研究了黑果龙葵(SNL)、黄果龙葵(SDL)和红果龙葵(SAM)三种龙葵果的石油醚(PE)、乙酸乙酯(EtoAc)、正丁醇(n-BuOH)萃取物体外抗氧化和抗炎能力。分别以 DPPH·清除试验和二价铁离子还原能力(FRAP)探讨了体外抗氧化能力, 以抗坏血酸(Vc)作为阳性对照; 并以透明质酸酶和脂氧合酶抑制能力评价其抗炎效果, 分别以双氯芬酸钠和去甲二氢愈创木酚作为阳性对照。三种龙葵果不同溶剂萃取物中, 黑果龙葵乙酸乙酯萃取物抗氧化能力最强, DPPH·清除试验 IC₅₀ 为 119.43 μg/mL, FRAP 为 2.674 mM FeSO₄/L; 红果石油醚萃取物抗炎效果最好, 透明质酸酶和脂氧合酶抑制 IC₅₀ 分别为 810.67 μg/mL 和 781.28 μg/mL。黑果龙葵中总酚含量最高为 27.16 mg/g。红果龙葵中黄酮含量最高为 18.59 mg/g。这一研究为天然抗氧化剂和抗炎剂的开发提供了理论依据。

关键词: 龙葵果; 提取物; 抗氧化; 抗炎

文章编号: 1673-9078(2020)02-94-101

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.2.014

Evaluation on Antioxidant and Anti-inflammation *in Vitro* of Extracts of Three *Solanum Nigrum* L. Berries

GUO Rui, LI Yao, WANG Ping

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150076, China)

Abstract: *Solanum nigrum* L. berries have been widely used for anti-pyretic and diuretic in China. Antioxidant and anti-inflammation activities *in vitro* of extracts of *Solanum nigrum* Linnaeus (SNL), *Solanum diphyllum* Linnaeus (SDL) and *Solanum alatum* Moench (SAM) berry which were prepared by petroleum ether (PE), ethyl acetate (EtoAc) and n-butanol (n-BuOH). The antioxidant activities were evaluated by FRAP and DPPH· scavenging assays. Vitamin C was used as positive control. The results showed that DPPH· scavenging IC₅₀ and FRAP values of SNL-EtoAc extract were 119.43±1.19 μg/mL and 2.674±0.071 mM FeSO₄/L, respectively, indicating that it had the highest antioxidant activity. The anti-inflammation effect of different extracts was determined by hyaluronidase and lipoxygenase inhibition. SAM-PE extract had the highest anti-inflammation activity, which IC₅₀ were 810.67±79.02 and 781.28±28.01 μg/ml, respectively. Diclofenac sodium and 4,4'-(2,3-Dimethyltetramethylene) dipyrrocatechol were used as anti-inflammatory positive control. SNL had the highest content of total phenols (27.16±0.14 mg/g). SAM had the highest content of total flavonoids (18.59±0.14 mg/g). The results provided a theoretical supporting for developing natural antioxidant and anti-inflammatory resources.

Key words: extracts; *Solanum Nigrum* L.; antioxidant; anti-inflammatory

氧化和炎症在正常的生理过程中起重要作用, 参与调节细胞生长和细胞信号转导途径, 抵抗细胞损伤, 也可以抵抗外源刺激物或病原体对人体的入侵。炎症是宿主对外来挑战或组织损伤所做出的生物学反应, 是一种防御机制, 由活组织损伤引起, 一般表现为疼痛、红肿、发热、功能障碍等症状^[1]。通常情况下炎

收稿日期: 2019-09-04

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项项目 (2572018BA07)

作者简介: 郭瑞 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物活性物质分离及功能性

通讯作者: 王萍 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 植物活性物质分离及功能性

症是有益的, 但当其攻击人体自身组织、发生在透明组织或炎症产生过度时, 炎症就是有害的, 事实上, 炎症与活性氧 (ROS) 的过量产生是众多疾病 (如癌症、动脉硬化、糖尿病、肥胖症以及阿尔茨海默症等) 的病理基础, 甚至是导致这些疾病的诱因^[2-4]。通过抑制产生类花生酸物质的酶 (如磷脂酶 A₂, 环加氧酶和脂氧合酶), 从而减少炎症介质 (如前列腺素和白三烯等) 的产生是抗炎研究中重要的机制之一。

龙葵 (*Solanum nigrum* L.) 是一年生草本植物, 原产于欧亚大陆, 主要分布于温带、亚热带和热带地区, 在中国、印度以及美国、澳大利亚和南非均有生长^[5]。在中国, 龙葵包含三个亚种及一个变种, 分别

是黑果龙葵 (*Solanum nigrum* Linnaeus) (SNL), 黄果龙葵 (*Solanum diphyllum* Linnaeus) (SDL), 少花龙葵 (*Solanum photeinocarpum* Nakam.et Odashi) 和红果龙葵 (*Solanum alatum* Moench) (SAM)^[6]。龙葵因整株植物具有解热利尿的作用而被广泛用作中药, 龙葵果因其特有的风味而备受人们喜爱, 在印度地区人们常将龙葵叶作为蔬菜食用, 在南非, 成熟的龙葵果被加工成果酱食用。研究发现, 龙葵中含有多酚、黄酮、花色苷、生物碱、多糖等多种活性物质, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗糖尿病和抗增殖作用等多种活性^[7-10]。然而, 几乎所有的化学和药理学研究都集中于龙葵整株植物或叶片上, 对龙葵果的研究报道较少。本研究对 SNL, SDL 和 SAM 果实不同极性溶剂萃取物的体外抗氧化和抗炎活性进行了探索, 并对其生物活性物质的组成做出了分析, 未见相关报道。

在现代医学领域, 常常使用合成抗氧化剂和非甾体抗炎药物用于预防氧化损伤和治疗炎症性疾病。然而, 这些药物会产生多种副作用, 如促进肿瘤形成或导致胃刺激和胃溃疡等^[10,11]。因此, 寻找新的天然安全的资源作为抗氧化和抗炎药物的替代物具有重要意义。本研究通过对三种龙葵果不同极性萃取物的抗氧化和抗炎活性评价, 为该资源在保健食品乃至药物应用方面提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟的龙葵果采摘自中国黑龙江省哈尔滨市郊区, 将新鲜龙葵果用自来水清洗, 沥干水分。取新鲜浆果 (1 kg) 在室温下用 80% 乙醇 (15 L) 浸提 4 h 后过滤, 用旋转蒸发仪将乙醇蒸出。然后, 取乙醇提取物与水按 1:10 比例混悬, 依次用不同极性的有机溶剂石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 将各有机相蒸出, 萃取物储存在 -20 °C 以备进一步分析使用。

药品与试剂: 牛血清白蛋白、透明质酸酶, Sigma 公司; 没食子酸、芦丁、透明质酸钠、双氯芬酸钠、大豆脂氧合酶 (5-LOX)、去甲二氢愈创木酚 (NDGA)、亚油酸、DPPH、TPTZ, 上海源叶公司; 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、二甲基亚砷均为分析级, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

PHS-3C 型精密 pH 计, 上海精密仪器有限公司; TU-1810 型 PC722s 分光光度计, 上海精密仪器有限公司; DK-S12 电热恒温水浴锅, 上海森信试验仪器

有限公司; MB601 型全自动酶标仪, SafeDa 公司; Agilent Q-ToF LC-MS 6520 型质谱仪。

1.3 试验方法

1.3.1 体外抗氧化活性评价

1.3.1.1 二价铁离子还原能力测定

根据 Sabokbar 等^[12]的方法稍作修改测量铁离子还原能力。将 180 μ L FRAP 工作液 (10 mM TPTZ:20 mM FeCl₃:0.3 M 乙酸/1:1:10) 和 20 μ L 测试样品 (100~2500 μ g/mL) 于 96 孔板中混匀, 在 37 °C 下反应 5 min, 在 593 nm 处测量反应吸光度。使用 FeSO₄ 制作标准曲线。维生素 C (Vc) 用作阳性对照。

1.3.1.2 DPPH·清除活性

根据 Sun 等^[13]的方法稍作修改测量 DPPH·清除作用。将 50 μ L 不同浓度的样品萃取物 (50~1000 μ g/mL, 溶解在乙醇中) 于试管中, 加入 250 μ L 的 60 mM DPPH 溶液 (溶解在乙醇中) 中, 将混合物在室温下在黑暗条件下反应 30 min, 测量样品在 517 nm 处的吸光度。Vc 用作阳性对照。

$$\text{清除率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_b}{A_c} \right) \times 100\%$$

式中: A_c 为对照反应的吸光度 (包含 0.5 ml 乙醇和 2.5 mL DPPH 溶液); A_1 为测试样品的吸光度; A_b 为空白样品吸光度 (包含 0.5 ml 测试样品和 2.5 ml 乙醇)。

1.3.2 体外抗炎活性评价

1.3.2.1 抑制透明质酸酶活性测定

通过 Elson-Morga 法^[14]略有修改评估测试萃取物的透明质酸酶抑制活性。将萃取物溶解在 DMSO 中以获得不同浓度的样品溶液 (100~1000 μ g/mL)。500 μ L 透明质酸酶溶液 (溶解在 0.1 M pH 4.01 乙酸盐缓冲液) 于试管中, 加入 100 μ L 0.25 mM 氯化钙, 在 40 °C 下反应 20 min, 然后向混合物中加入 500 μ L 样品溶液中, 并在 40 °C 下反应 20 min, 然后加入 500 μ L 0.6 mg/mL 透明质酸钠溶液进一步反应 20 min, 然后向混合物中加入 100 μ L 0.4 N 氢氧化钠溶液, 于冰水浴 15 min。最后, 向混合物中加入 200 μ L 硼酸溶液, 并在沸水浴中反应 5 min。冷却至室温后, 加入 3 mL 对二甲氨基苯甲醛溶液, 5 min 后测定反应混合物在 585 nm 处的吸光度, 双氯芬酸钠用作阳性对照, 如下式计算抑制率:

$$\text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{A - B}{C - D} \right) \times 100\%$$

式中: A -测试样品吸光度; B -不含酶溶液; C -只包含酶溶液; D -空白对照。

1.3.2.2 抑制脂氧合酶活性测定

根据 Wasledge 等^[15]描述的基于 96 孔板的 FOX 法略有修改测定萃取物的脂氧合酶抑制活性。将 50 μL 脂氧合酶溶液 (200 U/mL, 溶解在 50 mM pH7.4 Tris HCl 缓冲液) 与 20 μL 样品溶液 (植物萃取物或标准品) 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min, 之后, 加入 50 μL 亚油酸 (140 μM , 溶解于缓冲液中) 以引发反应, 并将反应混合物在黑暗中 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 20 min。通过加入 100 μL 新制备的 FOX 试剂 (包含 30 mM 硫酸, 100 μM 二甲酚橙, 100 μM 硫酸亚铁, 90% 甲醇, 10% 水) 终止反应, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下显色 30 min, 然后用酶标仪在 560 nm 处测量反应吸光度, NDGA 作为阳性对照。对于对照组, 在 FOX 试剂后加入底物亚油酸。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{样品对照}}}{A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}} \right) \times 100\%$$

1.3.3 活性物质含量测定方法

1.3.3.1 总酚含量测定

采用福林酚法^[16]测定, 取 1 mL 适当浓度的样品于试管中, 加 7 mL 蒸馏水, 摇匀, 加 0.5 mL 福林酚试剂, 充分摇匀, 1 min 之后, 加入 20% 碳酸钠溶液 1.5 mL, 加入 0.9 mL 蒸馏水混匀。于 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下避光反应 1 h。在 765 nm 波长下测定吸光值, 以没食子酸为标品。按下式计算:

$$\text{含量}(\text{mg/g}) = \frac{C \times V}{M \times 1000}$$

式中: C 为标曲中计算的活性物质浓度, mg/L; V 为提取液的体积, mL; M 为原料质量, g。

1.3.3.2 黄酮含量测定

采用亚硝酸钠-亚硝酸铝法^[17]测定, 0.5 mL 样品加入 30% 的乙醇至 5 mL, 然后加入 0.3 mL 5% 的亚硝酸钠, 摇匀。6 min 后加入 0.3 mL 10% 的硝酸铝, 混匀, 静置 6 min 后加入 4 mL 1.0 mol/L 的氢氧化钠溶液, 反应 15 min 后于 510 nm 波长下测定吸光值, 以芦丁为标准品制作标准曲线。

1.3.3.3 花色苷含量测定

采用 pH 示差法^[18], 取 1 mL 适当浓度的样品于试管中, 分别用 pH 1.0 和 pH 4.5 的缓冲液定容至 10 mL, 室温下, 避光反应, 反应达平衡后 (pH 1.0 为 50 min, pH 4.5 为 80 min), 分别在 510 nm 和 700 nm 下测定吸光度, 按下式计算花色苷含量。

$$\text{花色苷含量}(\text{mg/g}) = \frac{A \times M \times DF \times V}{\epsilon \times L \times W}$$

式中: A 为吸光度: $A = (A_{510\text{nm pH}1.0} - A_{700\text{nm pH}1.0}) - (A_{510\text{nm pH}4.5} - A_{700\text{nm pH}4.5})$; M 为矢车菊-3-葡萄糖苷的分子量, 449.2; DF 为稀释因子; V 为最终体积, mL; ϵ 为矢车菊-3-葡萄糖苷的消光系数, 26900; L 为光程, 1 cm; W 为产品重量, mg。

1.3.4 质谱分析

样品用甲醇溶解, 稀释至适当浓度。使用质谱仪 Agilent Q-ToF LC-MS 6520 对不同萃取物的成分进行质谱分析。一级质谱条件: 电离源: ESI; 离子模式: 正离子; 干燥气体: 氮气, 10 L/min; 干燥气体温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气压: 45 psig; 碎裂电压: 100 V; OTC1 RF Vpp: 750 V; 毛细管电压: 3000 V; 扫描范围 m/z : 100~1000。二级质谱条件: 碰撞电压: $m/z < 300$, 10 eV; $300 < m/z < 400$, 15 eV; $400 < m/z < 600$, 20 eV; $600 < m/z < 700$, 30 eV; $700 < m/z < 900$, 40 eV; $m/z > 900$, 50 eV。

1.4 数据分析

试验结果表示为三次重复试验的平均值 \pm 标准偏差。使用单因素方差分析 (ANOVA) 对数据进行统计学分析, 当 $p < 0.05$ 时, 认为是统计学上具有显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 体外抗氧化活性

2.1.1 二价铁离子还原能力

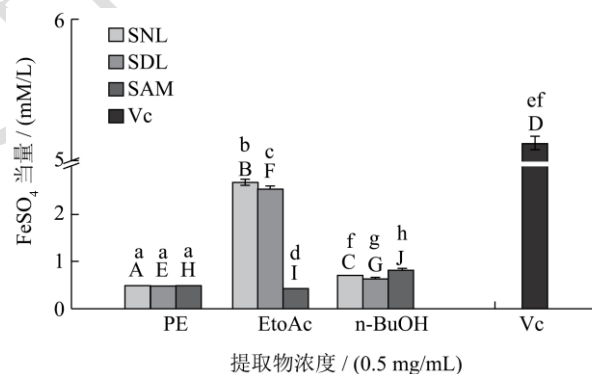


图 1 不同提取物二价铁离子还原能力

Fig.1 Ferric ions reducing power activity of extracts

注: A~h 表示不同浆果同一溶剂萃取物之间的差异, A~J 表示同种浆果不同萃取物之间的差异, 不同字母代表差异显著 ($p < 0.05$)。

铁离子还原能力如图 1 所示。用二价铁离子还原能力评价抗氧化活性, 其中抗氧化剂是还原剂, 吸光值与抗氧化剂对活性氧物质氧化的还原能力成正比^[19]。在 0.5 mg/mL 时, 龙葵果萃取物二价铁离子还原能力依次为: SNL-EtoAc > SDL-EtoAc > SAM-n-BuOH, 以 FeSO_4 当量表示 FRAP 值分别为 $2.674 \pm \text{mM/L}$, 2.517 mM/L 和 0.802 mM/L 。三种龙葵果石油醚萃取物对二价铁离子的还原能力均较低, 且结果没有显著性差异 (FeSO_4 当量分别为 0.487 mM/L , 0.469 mM/L 和 0.483

mM/L)。三种龙葵果不同萃取物的铁离子还原能力均低于阳性对照 Vc (FeSO₄ 当量为 5.126 mM/L)。

2.1.2 DPPH·清除活性

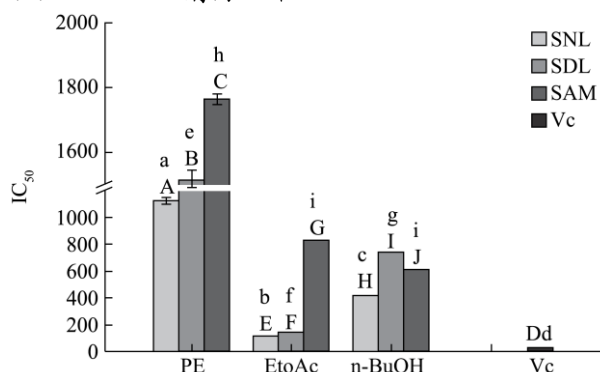


图2 不同萃取物 DPPH·清除活性

Fig.2 DPPH radical scavenging activity of extracts

DPPH·清除试验是一种快速、简便的评价自由基清除活性的方法，常用于评价萃取物中酚类作为氢原子或电子供体的活性^[20]，可用于研究天然化合物或植物萃取物的抗氧化能力^[21]。SNL-EtoAc 具有最高的自由基清除活性，IC₅₀ 为 119.43 μg/ml，这一结果优于 Edith 等^[22]的研究，其龙葵果乙醇萃取物 IC₅₀ 为 163.00 μg/mL。SDL-EtoAc 和 SAM-EtoAc 的萃取物低于 SNL-EtoAc 萃取物的清除活性，IC₅₀ 分别为 138.34 μg/mL 和 826.60 μg/mL。三种龙葵果 DPPH·清除活性均低于阳性对照 Vc，IC₅₀ 为 36.24 μg/mL，然而，黑果龙葵和黄果龙葵乙酸乙酯萃取物萃取物均高于其他萃取物的 DPPH·清除活性，这是因为乙酸乙酯萃取物含有更多的酚类化合物^[23]。

显然，在三种龙葵果中，SNL 显示出最强的抗氧化能力，其中 SNL-EtoAc 和 SDL-EtoAc 萃取物具有最高的抗氧化能力，然而对于 SAM，正丁醇萃取物显示最高的抗氧化能力，其原因可能是不同萃取物活性物质种类及含量区别所致。

2.2 体外抗炎活性

2.2.1 透明质酸酶抑制

三种龙葵果不同提取物透明质酸酶抑制活性的结果如图 3 所示。透明质酸是结缔组织细胞外基质的重要成分，透明质酸酶是在炎症期间涉及组织重塑的酶之一，其可以降解人和动物组织中的透明质酸的粘度并引起炎症^[24,25]。在透明质酸酶抑制试验中，SAM-PE 萃取物抑制率最高，IC₅₀ 为 810.67 μg/ml，阳性对照双氯芬酸钠 IC₅₀ 为 700.35 μg/mL，SDL-PE 萃取物和 SNL-EtoAc 萃取物 IC₅₀ 为 950.67 μg/mL 和 1022.10 μg/mL。三种龙葵果的正丁醇萃取物对透明质酸酶几乎没有抑制作用，IC₅₀ 分别为 4048.92 μg/mL，5151.76

μg/mL 和 13625.60 μg/mL。

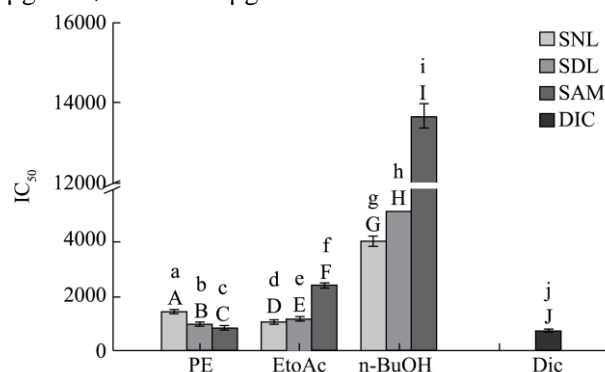


图3 不同提取物透明质酸酶抑制活性

Fig.3 Hyaluronidase inhibitory activity of extracts

2.2.2 脂氧合酶抑制

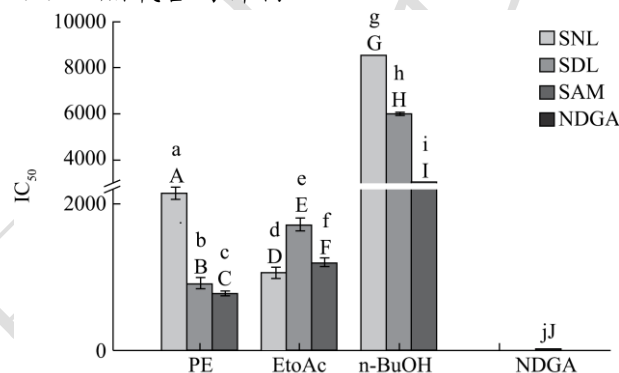


图4 不同提取物脂氧合酶抑制活性

Fig.4 Lipoxygenase inhibitory activity of extracts

花生四烯酸是一种不饱和脂肪酸，通过 5-LOX 在体内代谢产生炎症介质如前列腺素和白三烯等^[26]，因此，抑制 5-LOX 活性可用于评价抗炎能力。图 4 结果表明，SAM-EtoAc 具有最强的 5-LOX 抑制活性。三种龙葵果萃取物对 5-LOX 的抑制活性依次为：SAM-PE>SDL-PE>SNL-EtoAc，IC₅₀ 分别为 781.28 μg/mL，923.70 μg/mL 和 1061.76 μg/mL；但三种龙葵果萃取物对 5-LOX 的抑制作用均明显低于阳性对照 NDGA (IC₅₀, 36.81 μg/mL) (p<0.05)。SNL，SDL 和 SAM 的正丁醇萃取物对 5-LOX 几乎没有抑制作用，IC₅₀ 分别为 8525.92 μg/mL，5997.53 μg/mL 和 3034.42 μg/mL。

2.3 龙葵果中活性物质的含量

龙葵果中活性物质含量如表 1 所示。

表 1 三种龙葵果活性物质含量

项目	总酚/(mg/g)	黄酮/(mg/g)	花色苷/(mg/g)
黑果龙葵	27.16±0.14	17.56±0.07	1.01±0.06
黄果龙葵	21.50±0.35	4.42±0.02	-
红果龙葵	12.6±0.218	18.59±0.14	0.98±0.02

三种龙葵果中活性物质含量各不相同。黑果龙葵中总酚和花色苷的含量最高,分别为 27.16 mg/g, 1.01 mg/g。红果龙葵中黄酮含量最高为 18.59 mg/g。然而在黄果龙葵中未检测到花色苷。黑果龙葵的抗氧化活性最高,可能是由于其中含有较高的酚类化合物。这一结果与 Jung 等^[27]研究报道酚类物质在抗氧化活性中起主要作用的结果相符。黄酮类化合物的基本结构是由两个苯环和一个含氧吡喃环组成的黄酮核,已经从具有抗炎活性植物中分离出许多黄酮类化合物,红果龙葵中黄酮含量最高,可能是其具有最佳抗炎活性的原因。

2.4 最佳萃取物质谱化学成分分析

基于体外抗氧化和抗炎功能评价的分析,萃取物的化学成分质谱分析结果如表 2。

化合物 1 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 149,在二级质谱检测中,并未发现其碎片离子信息,故推断其为肉桂酸。通过面积归一化法计算,该物质在黄果石油醚萃取物中含量最高,含量为 6.43%。

化合物 2 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 279,其碎片离子的 m/z 为 149 (如图 5a),二者相差 130,推断 m/z 130 为有机酸如甲基富马酸。该物质在 SNL-EtoAc 中含量最高,含量为 51.85%。其次是 SDL-EtoAc 中,含量为 21.73%。

化合物 3 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 301,其特征碎片离子的 m/z 为 163 (如图 5b),这与 Alexander^[28]和 Yuan 等^[29]的研究结果相一致,故可以证明该物质为山奈素。经面积归一化法计算,发现该物质在红果龙葵中含量较高,石油醚萃取物和乙酸乙酯萃取物中的含量分别为 48.3%和 63.42%。这可能是红果龙葵具有最佳的抗炎活性的原因之一。

化合物 4 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 317,在

二级质谱检测中,发现其特征碎片离子 m/z 为 151,这与 Hassan^[30]等的研究发现一致;在 Zhang 等^[31]的研究中,发现[M-H]⁻的分子离子峰为 315,且在二级质谱分析中也同样发现特征碎片离子 m/z 151,故推断该物质为异鼠李素。该物质在 SAM-PE 中含量较高,含量为 26.69%。

化合物 5 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 338,在二级质谱检测中,发现其特征碎片离子 m/z 为 149 (如图 5c),这与 Daji 等^[32]研究结果相符,故推断该物质为对香豆酰奎宁酸。仅在黄果龙葵中检测到该物质,且在 SDL-PE 中含量最高,含量为 58.16%。研究报道,对香豆酰奎宁酸可以抑制环氧合酶的活性而发挥抗炎作用^[33]。因此,该物质可能在黄果龙葵发挥生物活性时起重要作用。

化合物 6 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 355,在二级质谱检测中,发现其特征碎片离子 m/z 为 163 (如图 5d),这与 Larbat 和 Sun 等^[34,35]的研究结果一致,故推断该物质为咖啡酰基奎宁酸。咖啡酰基奎宁酸是一种酚酸类化合物,研究发现其具有抗炎活性^[33]。在黑果龙葵和黄果龙葵中检测到该物质,且在黄果龙葵中的含量相对较高,其含量为 10.09%,然而,在红果龙葵中未检测到该物质。

化合物 7 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 377,二级质谱检测结果如图 (5e) 这与 Sanz 等^[36]的研究结果一致,故推断该物质为橄榄素苷元。

化合物 8 的分子离子峰[M+H]⁺的 m/z 为 579,在二级质谱分析中,发现其特征碎片离子 m/z 为 301 (如图 5f),二者相差 278,经分析 278 由质量单位为 146 的脱氧己糖(鼠李糖),以及质量单位为 132 的戊糖(木糖或阿拉伯糖)组成^[37]。故推断该化合物为山奈素-五碳糖-鼠李糖苷。

表 2 龙葵果萃取物化学成分质谱分析

Table 2 MS profile of three *Solanum nigrum* L. berries

化合物	离子源	MS (M+H) ⁺	MS ² (m/z)	含量/%				
				SNL-EtoAc	SDL-PE	SDL-EtoAc	SAM-PE	SAM-EtoAc
1	ESI ⁺	149	-	1.35	5.97	6.43	-	4.24
2	ESI ⁺	279	149,161,205	51.85	13.09	21.73	2.47	3.42
3	ESI ⁺	301	163,301	18.17	13.41	16.60	48.30	63.42
4	ESI ⁺	317	151,243,302	14.81	5.80	6.41	26.69	15.67
5	ESI ⁺	338	111,125,142,149	-	58.16	27.47	-	-
6	ESI ⁺	355	163,281	0.45	-	10.09	-	-
7	ESI ⁺	377	215,301,375	1.87	-	3.57	-	-
8	ESI ⁺	579	301	11.49	-	2.00	22.54	13.25

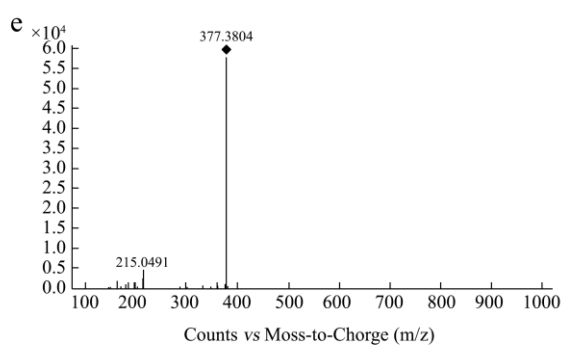
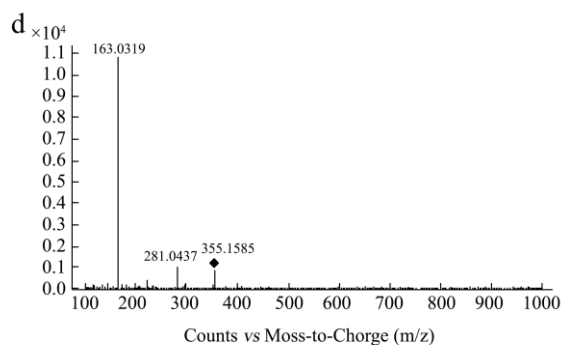
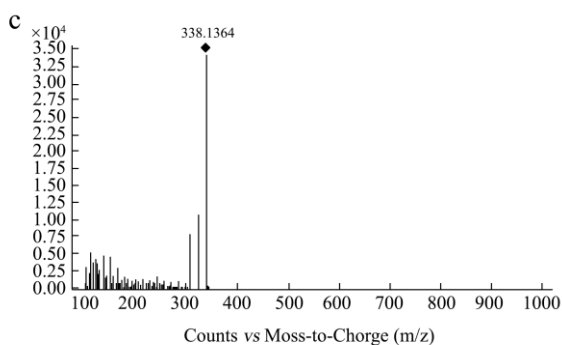
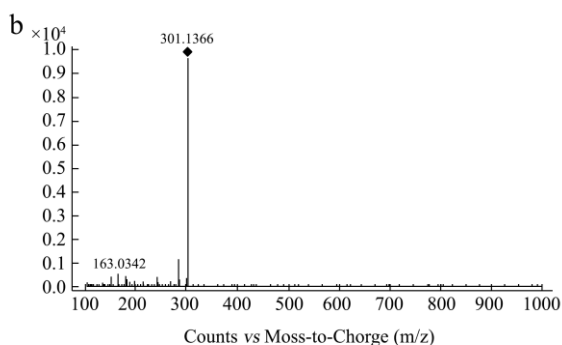
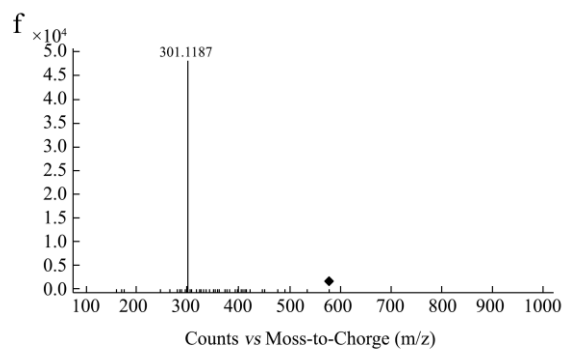
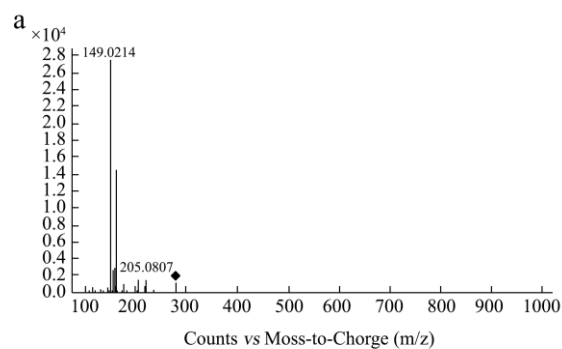


图5 龙葵果萃取物二级质谱图

Fig.5 MSMS of prolife of three *Solanum nigrum* L. berries extracts

3 结论

三种龙葵果活性物质的种类和含量均有不同，这是导致三种龙葵果抗氧化与抗炎能力存在差异的主要原因。本研究结果表明，黑果龙葵乙酸乙酯萃取物具有最高的抗氧化活性，且黑果龙葵的总酚含量最高。而红果龙葵石油醚萃取物具有最高的抗炎活性；红果龙葵中黄酮含量最高。体外抗氧化和抗炎能力均较好的是黑果龙葵乙酸乙酯萃取物。这一结论为天然抗氧化剂和抗炎药物替代物的开发和利用提供理论依据。

参考文献

- [1] Balkan I A, Goren A C, Kirmizibekmez H, et al. Evaluation of the *in vitro* anti-inflammatory activity of *Nerium oleander* L. flower extracts and activity-guided isolation of the active constituents [J]. Records of Natural Products, 2018, 12(2): 128-141
- [2] Kim J, Jeong S H, Lee W, et al. *In vitro* anti-inflammatory activity of *Pothos scandens* extract in RAW 264.7 cells [J]. Food Science and Biotechnology, 2017, 26(3): 791-799
- [3] Shettar A K, Kotresha K, Kaliwal B B, et al. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ximenia americana extracts [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2015, 11:918-923
- [4] Alawode T T. Phytochemical investigation, *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory evaluation of leaf extracts of *Solanum erianthum* [J]. Current Journal of Applied Science and Technology, 2017,24(5): 1-11
- [5] Xiang L, Wang Y, Yi X, et al. Anti-inflammatory steroidal glycosides from the berries of *Solanum nigrum* L. (European black nightshade) [J]. Phytochemistry, 2018, 148: 87-96
- [6] Xiarepati T X, Alimu Ted. Study on nutrition componds of *Solanum alatum* moench [J]. Guangdong Chemical Industry,

- 2017, 44(15): 76-77
- [7] Lee S, Lim K T. Antioxidative effects of glycoprotein isolated from *Solanum nigrum* Linne on oxygen radicals and its cytotoxic effects on the MCF cell [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(2): 466-470
- [8] Ding X, Zhu F, Gao S. Purification, antitumour and immunomodulatory activity of water-extractable and alkali-extractable polysaccharides from *Solanum nigrum* L. [J]. Food Chemistry, 2012, 131(2): 677-684
- [9] Cen Y, Xiao A, Chen X, et al. Screening and separation of α -amylase Inhibitors from *Solanum nigrum* with amylase-functionalized magnetic graphene oxide combined with high-speed counter-current chromatography [J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(24)
- [10] Wang H C, Chung P J, Wu C H, et al. *Solanum nigrum* L. polyphenolic extract inhibits hepatocarcinoma cell growth by inducing G2/M phase arrest and apoptosis [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(1): 178-185
- [11] Botterweck A, Verhagen H, Goldbohm R A, et al. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: Results from analyses in the netherlands cohort study [J]. Food & Chemical Toxicology, 2000, 38: 599-655
- [12] Sabokbar N, Khodaiyan F. Total phenolic content and antioxidant activities of pomegranate juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(1): 739-747
- [13] Sun J, Yao J, Huang S, et al. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 276-281
- [14] Han S S, Hur S J, Lee S K. A comparison of antioxidative and anti-inflammatory activities of sword beans and soybeans fermented with *Bacillus Subtilis* [J]. Food & Function, 2015, 6(8): 2736-2748
- [15] Waslidge N B, Hayes D J. A colorimetric method for the determination of lipoxygenase activity suitable for use in a high throughput assay format [J]. Analytical Biochemistry, 1995, 231(2): 354
- [16] Li H, Wang X, Li Y, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected china wines [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460
- [17] Dewanto V, Wu X, Adom K K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(10): 3010-3014
- [18] Sun J, Yao J, Huang S, et al. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 276-281
- [19] Hodzic Z P H M A. The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extract. [J]. European Journal of Scientific Research, 2009, 28(3): 471-477
- [20] Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, et al. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*) [J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 764-770
- [21] Deepti K, PUmadevi, GVijayalakshmi, et al. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Morindatinctoria Roxb.* leaf extracts [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 3:1440-1442
- [22] Edith Agbo Adouko. Antioxidant potentialities of black nightshade and sweet potatoes leaves consumed in Côte d'Ivoire [J]. American Journal of Food and Nutrition, 2018,6(1):28-32
- [23] Mensor L L, Menezes F S, Leitao G G, et al. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the Use of DPPH free radical method [J]. Phytotherapy Research: PTR, 2001,15(2):127-130
- [24] Pillai LS. *In-vitro* anti-inflammatory studies in *Cleomeviscosa* L. and *Cleome burmanni* & A. *Cleomeaceae* [J]. International Journal of Pharmacy Science Research, 2014, 5: 5000-5005
- [25] Jayaprakasam R, Ravi T K. Evaluation of antiarthritic activity of the root extract of *Acalypha indica* Linn. using *in vitro* techniques [J]. International Journal of Phytopharmacy, 2013, 2(6): 1561-1565
- [26] Sarveswaran R, Jayasuriya W J A. *In vitro* assays to investigate the anti-inflammatory activity of herbal extracts: A review [J]. World Journal of Pharmaceutical Research, 2017, 17(6): 131-141
- [27] Hana Jung H J L H. Anthocyanins in rubus fruits and antioxidant and anti-inflammatory activities in RAW 264.7 cells [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 5(24): 1879-1886
- [28] Alexander A. Chernonosova E A K B. Identification of phenolic compounds in myricaria bracteata leaves by high-performance liquid chromatography with a diode array detector and liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2017, 27: 576-579
- [29] Yuan B, Byrnes D, Giurleo D, et al. Rapid screening of toxic glycoalkaloids and micronutrients in edible nightshades

- (*Solanum spp*) [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018,26(2):751-760
- [30] Wafaa H B, Hassan R H A. UPLC-PDA-ESI-MS/MS analysis, isolation of chemical constituents, cytotoxic, antioxidant, antiviral and antimicrobial activities of the aerial parts of *Lycium Shawii roem* [J]. European Journal of Pharmaceutical, 2017, 9(4)
- [31] Xia Zhang. Simultaneous qualitative and quantitative study of main compounds in *Commelina communis* Linn. by UHPLC-Q-TOF-MS-MS and HPLC-ESI-MS-MS [J]. Journal of Chromatographic Science, 2018: 1-13
- [32] Daji G, Steenkamp P, Madala N, et al. Phytochemical composition of solanum retroflexum analysed with the aid of ultra-performance liquid chromatography hyphenated to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-qTOF-MS) [J]. Journal of Food Quality, 2018, 2018: 1-8
- [33] Ribeiro V P, Arruda C, Abd E M, et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review [J]. Pharmaceutical Biology, 2018, 56(1): 253-268
- [34] Larbat R, Paris C, Le Bot J, et al. Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of micro-tom and patio tomatoes, in response to nitrogen limitation [J]. Plant Science, 2014, 224: 62-73
- [35] Sun J, Song Y, Zhang J, et al. Characterization and quantitative analysis of phenylpropanoid amides in eggplant (*Solanum melon gena* L.) by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3426-3436
- [36] Sanz M, Fernandez De Simon B, Cadahia E, et al. LC-DAD/ESI-MS/MS study of phenolic compounds in ash (*Fraxinus excelsior* L. and *F. americana* L.) heartwood effect of toasting intensity at cooperage [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2012, 47(7): 905-918
- [37] Määttä K R, Kamal-Eldin A, Törrönen A R, et al. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of phenolic compounds in berries with diode array and electrospray ionization mass spectrometric (MS) detection: Ribes species [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6736-6744

(上接第 45 页)

- [35] 祝超智. 金华火腿抗氧化肽的活性研究及组分鉴定[D].南京:南京农业大学,2015
ZHU Chao-zhi. Activity study and component identification of antioxidant peptides in Jinhua ham [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015
- [36] 纪俊敏,谢文磊.生物体系中脂质过氧化及抗氧化剂抗氧化活性的检测与评价[J].中国油脂,2004,7:33-37
JI Jun-min, XIE Wen-lei. Detection and evaluation of lipid peroxidation and antioxidant activity in biological systems [J]. Chinese Oils and Fats, 2004, 7: 33-37
- [37] Saeed S, Howell N K. High-performance liquid chromatography and spectroscopic studies on fish oil oxidation products extracted from frozen Atlantic mackerel [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1999, 76: 391-397
- [38] 黄友如.脂肪氧合酶催化亚油酸诱导大豆蛋白聚集机理[D].江南大学,2006.
HUANG You-ru. Mechanism of protein aggregation induced by linoleic acid catalyzed by lipoxygenase [D]. Jiangnan University, 2006