

## 4 种地衣提取物抗氧化和抗肿瘤活性研究

王慧, 王启林, 田娇, 党悦方, 刘建利, 李珊, 尚姣, 房敏峰\*

(西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 西北大学生命科学学院, 西安 710069)

**摘要:** 本研究初步评估了4种药用地衣(太白茶、金刷把、黑石耳、红石耳)不同溶剂提取物的抗氧化活性及其粗多糖的抗肿瘤活性。通过测定清除DPPH自由基、羟基自由基和还原能力, 对4种地衣不同溶剂提取物进行体外抗氧化活性评价, 结果表明, 金刷把和黑石耳的甲醇提取相清除DPPH自由基能力高于其它溶剂提取相, 其 $IC_{50}$ 值(半抑制浓度)分别为0.7847 mg/mL和0.5595 mg/mL; 黑石耳甲醇提取相( $IC_{50}$ =0.5747 mg/mL)清除羟基自由基能力优于阳性对照物Vc( $IC_{50}$ =0.6126 mg/mL); 黑石耳氯仿提取相、金刷把乙酸乙酯提取相和太白茶甲醇提取相清除羟基自由基能力与Vc相当; 4种地衣甲醇提取相还原能力均较强, 且与其浓度呈较好的量效关系。利用MTT法分析4种地衣多糖对HeLa、A375和Hep G2细胞体外生长增殖的抑制作用, 结果显示黑石耳粗多糖对Hep G2细胞的抑制作用较为突出( $IC_{50}$ =0.2567 mg/mL), 而金刷把抑制HeLa细胞的生长增殖作用最强, 其 $IC_{50}$ 值为0.4332 mg/mL。

**关键词:** 金刷把; 太白茶; 黑石耳; 红石耳; 抗氧化; 抗肿瘤

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)02-0181-08

## Antioxidant and Anticancer Activities of Extracts Derived from Four Kinds of Lichen

WANG Hui, WANG Qi-Lin, TIAN Jiao, DANG Yue-Fang, LIU Jian-Li,  
LI Shan, SHANG Jiao, FANG Min-Feng\*

(Key Laboratory of Resource Biological and Biotechnology in Western China, College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** The antioxidant and anticancer activities of various extracts and crude polysaccharides derived from four kinds of medicinal lichen were evaluated preliminarily in this study. The antioxidation activities were detected by DPPH radical-scavenging, OH<sup>·</sup> radical-scavenging, and reducing power. Results showed that the methanol extracts of *Lethariella cladonioides* and *Umbilicaria tornata* had higher DPPH radical-scavenging ability ( $IC_{50}$ =0.7847 mg/mL and  $IC_{50}$ =0.5595 mg/mL, respectively) than that of other extracts; the OH<sup>·</sup> radical-scavenging capacity of the methanol extract of *Umbilicaria tornata* ( $IC_{50}$ =0.5747 mg/mL) was higher than Vc ( $IC_{50}$ =0.6126 mg/mL); the OH<sup>·</sup> radical-scavenging capacity of the chloroform extract of *Umbilicaria tornata*, ethyl acetate extract of *Lethariella cladonioides*, and methanol extract of *Thamnolia subuliformis* were equal to Vc; the extracts derived from the four lichens all had a certain degree of reducing power, which were positively correlated with the quality concentration of the extracts. Polysaccharides of the four lichens exhibited significant antiproliferative activity against HeLa, A375, and Hep G2 cells by the MTT method. The crude polysaccharide of *Umbilicaria tornata* exhibited the most significant antiproliferative activity

收稿日期: 2013-08-13, 修回日期: 2013-09-10。

基金项目: 国家自然科学基金(J1210063); 教育部重点实验室开放基金(ZS12012); 中医药行业科研专项(201207002)。

作者简介: 王慧(1988-), 女, 硕士研究生, 主要从事中药资源生态研究(E-mail: xbdxyaya@126.com)。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: fff885@126.com)。

against Hep G2 cells in the four lichens ( $IC_{50} = 0.2567 \text{ mg/mL}$ ) ; the crude polysaccharide of *Lethariella cladonioides* exhibited the most significant antiproliferative activity against HeLa cells in the four lichens ( $IC_{50} = 0.4332 \text{ mg/mL}$ ).

**Key words:** *Lethariella cladonioides*; *Thamnolia subuliformis*; *Umbilicaria tornata*; *Umbilicaria hypococcinea*; Antioxidant activity; Anticancer activity

地衣是一类菌藻共生的低等植物，为世界广布种，约有 500 余属 26000 种，我国记录有 232 属 1766 种。地衣入药在我国具有悠久的历史，《诗经》中就有关于松萝药用的记载。据各种本草及有关资料记载，入药地衣已有 200 种左右。秦岭山区蕴藏着丰富的地衣资源，如红腹石耳、长松萝、金丝带等，并具有重要的研究价值。太白山药用地衣在陕西民间应用广泛，其中太白茶具有清热解毒、安神的功效，主治咽喉疼痛、腹痛、消化不良、中暑、阴虚潮热、肺热咳嗽、神经衰弱、高血压等症；金刷把具有镇静、消炎、止痛的功效，主治精神分裂、癫痫、神经衰弱、头晕目眩、跌打损伤等症；黑石耳健胃消食、理气止痛，主治消化不良等症；红石耳健胃消食、利水消胀<sup>[1]</sup>，主治消化不良、腹疼、痢疾、小儿疳积、妇女白带异常等症。

现代药理研究表明，氧化损伤是引起机体衰老、老年痴呆、帕金森症、心脑血管疾病以及癌症等多种疾病的重要原因<sup>[2,3]</sup>。地衣主要含酚酸和多糖两大类化学成分<sup>[4]</sup>，在抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抑菌方面活性显著<sup>[5]</sup>。而且地衣多糖还有良好的抗肿瘤活性<sup>[6]</sup>。张博等<sup>[7]</sup>采用细胞膜色谱结合 MTT 法发现，金刷把乙醚萃取部位所得结晶 G 对 HeLa 细胞增殖具有抑制作用， $IC_{50}$  为 18.49 mg/L；靳菊情等<sup>[8]</sup>研究发现，黑石耳粗多糖对羟基自由基和超氧阴离子自由基有较强的清除作用， $EC_{50}$  值分别为 1.72 mg/mL 和 2.12 mg/mL。太白山药用地衣具有较高的开发利用价值，但有关其抗肿瘤和抗氧化活性研究报道较少，故本实验采用系统预试法对太白山 4 种药用地衣(太白茶、金刷把、黑石耳和红石耳)不同溶剂提取物进行了抗氧化和抗肿瘤活性分析，以期为地衣资源开发利用提供依据。

## 1 材料

### 1.1 实验材料

4 种药用地衣材料均采自太白山，经西北大学

王玛丽教授鉴定，太白茶为不完全地衣类植物雪地茶 *Thamnolia subuliformis* (Ehrh.) W. Culb. 的枝状体；金刷把为梅衣科植物金丝刷 *Lethariella cladonioides* (Nyl.) Krog 的枝状体；黑石耳为皮果衣科植物裂叶石耳 *Umbilicaria tornata* (Ach.) Del. 的叶状体；红石耳为石耳科植物红腹石耳 *Umbilicaria hypococcinea* (Jatta) Llano 的叶状体。

细胞株 HeLa、Hep G2 和 A375 由第四军医大学提供。

### 1.2 仪器与试剂

U-3310 紫外-可见分光光度计(岛津)；μQuant 酶联免疫标定仪(美国 Bio-Tek)；没食子酸对照品购于成都普思生物科技有限公司(批号：08082901)；葡萄糖对照品购于中国药品生物制品检定所(批号：110833-200904)；其余试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 4 种地衣粗多糖及不同溶剂提取物的制备

#### 2.1.1 4 种地衣粗多糖的制备

分别称取太白茶、金刷把、黑石耳和红石耳的干燥样品粉末 1 g，加入适量氯仿索氏提取至提取液无色；药渣用沸水连续提取 2 次，每次 2 h。滤液合并后浓缩至 10 mL。加入乙醇使之沉淀并放入冰箱静置 24 h，离心；沉淀用无水乙醇、丙酮分别洗涤 3 次，Sevag 法脱蛋白，即得到 4 种地衣的粗多糖提取物。

#### 2.1.2 4 种地衣不同溶剂提取物的制备

分别称取太白茶、金刷把、黑石耳和红石耳的干燥样品粉末 1.0 g，依次加入氯仿、乙酸乙酯、甲醇、蒸馏水各 100 mL，梯度回流提取 1 h；提取液减压蒸干并复溶于甲醇中，即得到 4 种地衣的氯仿提取物、乙酸乙酯提取物、甲醇提取物和水提物。

## 2.2 4种地衣不同溶剂提取物中粗多糖及总酚酸含量测定

参照中华人民共和国国家标准 GB/T15672-2009“食用菌中总糖含量测定方法”对4种地衣不同溶剂提取物中的总糖含量进行测定。以葡萄糖为对照品(1 mg/mL)制定标准曲线, 得到回归方程 $y = 4.408x + 0.1162$  ( $r = 0.9996$ )。

### 2.2.2 总酚酸含量测定

采用 Folin 酚法对4种地衣不同溶剂提取物中的总酚酸含量进行测定<sup>[9]</sup>。以没食子酸为对照品(0.2 mg/mL), 在U-3310紫外-可见分光光度计(岛津)上766 nm处测定吸光值, 得到回归方程 $y = 0.148x + 0.0053$  ( $r = 0.9997$ ), 其中 $x$ 为总酚酸含量( $\mu\text{g/mL}$ ),  $y$ 为吸光度; 取各提取物样品溶液0.2 mL, 加入福林酚反应试剂进行反应, 分别测定其吸光值, 并根据标准曲线计算样品中总酚酸含量。

## 2.3 4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物抗氧化活性测定

### 2.3.1 清除 DPPH 自由基能力的测定

采用 Mohsen 法<sup>[10]</sup>对4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物的抗氧化活性进行测定。分别量取各样品溶液1 mL于试管中, 并加入0.1 mmol/L的DPPH 甲醇溶液3.0 mL, 充分混匀, 室温静置20 min后于515 nm处测定其吸光值; 以维生素C(Vc)和2,6-二叔丁基对甲苯酚(BHT)作阳性对照。DPPH 自由基清除率 $= [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ , 其中 $A_1$ 为反应体系吸光值,  $A_0$ 为阴性对照吸光值,  $A_2$ 为样品不加反应试剂的吸光值。采用 SPSS 19.0 软件进行非线性回归方程拟合, 计算 DPPH 自由基被清除一半时所需的样品浓度, 即 $\text{IC}_{50}$ 值。

### 2.3.2 清除羟基自由基能力的测定

参考 Tian 等<sup>[11]</sup>的 Fenton 反应法对4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物清除羟基自由基能力进行测定。分别量取0.1 mol/L PBS (pH7.4) 和1.5 mmol/L 邻二氮菲1 mL, 并加入各样品溶液1 mL, 混匀, 再加入1.5 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  1 mL 和0.01% (W/W)  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.5 mL, 37°C 孵育1 h, 然后于536 nm处测定吸光值 $A$ 。羟基自由基清除率 $= (A_0 - A_1) / (A_2 - A_1) \times 100\%$ , 式中 $A_0$ 为反

应体系吸光值,  $A_1$ 为甲醇和反应试剂的吸光值,  $A_2$ 为甲醇和反应试剂的吸光值(反应试剂中 $\text{H}_2\text{O}$ 代替 $\text{H}_2\text{O}_2$ )。采用 SPSS 19.0 软件进行非线性回归方程拟合, 计算羟基自由基被清除一半时所需样品的浓度, 即 $\text{IC}_{50}$ 值。

### 2.3.3 还原能力的测定

参照孙晓春和闫桂琴<sup>[12]</sup>的方法对4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物的还原能力进行测定。分别取各样品溶液和Vc溶液1.0 mL, 并加入0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.8)2.5 mL及1%铁氰化钾溶液2.5 mL, 混匀, 50°C水浴孵育20 min; 待其冷却后加入10% TCA 2.5 mL, 3000 r/min 离心10 min; 取上清液2.0 mL, 依次加入蒸馏水2.0 mL和0.1% 三氯化铁溶液0.5 mL, 混匀, 放置10 min后于700 nm处测定吸光值。

## 2.4 4种地衣粗多糖抗肿瘤活性的测定

将受试细胞 HeLa、Hep G2 和 A375 分别接种到含有10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液(pH 7.0~7.5)中, 置37°C恒温培养箱, 在5%  $\text{CO}_2$ 及饱和湿度的条件下传代培养。

采用 MTT 法对4种地衣粗多糖抗肿瘤活性进行测定。取对数生长期的受试细胞, 调整细胞密度为 $5 \times 10^7 / \text{L}$ , 接种于96孔板。实验组加入不同体积的受试样品溶液(10 mg/mL), 使最终质量浓度分别为5、10、20、50、100、200、400、800  $\mu\text{g/mL}$ ; 同时设置对照组和调零孔; 每组设置3个平行孔。恒温培养48 h后, 更换培养液, 并逐孔加入20  $\mu\text{L}$  新配制的MTT溶液(5 g/L), 继续培养4 h, 将上清液吸出, 弃去, 每孔加入150  $\mu\text{L}$  DMSO, 震荡10 min后, 于490 nm处测定吸光值(A)。细胞抑制率 $= (1 - \text{实验组 A 值}/\text{对照组 A}_0 \text{ 值}) \times 100\%$ , 若抑制率为正值表示受试样品对细胞生长增殖有抑制作用, 反之, 表示受试样品对细胞生长增殖有促进作用<sup>[2]</sup>。

## 3 结果与分析

### 3.1 4种地衣提取物中粗多糖及总酚酸的含量

分别采用苯酚-硫酸法与 Folin 酚法测定4种地衣不同溶剂提取物粗多糖中总糖及总酚酸含量, 结果显示(表1), 黑石耳提取物中总糖含量最高(38.07%), 金刷把和红石耳次之, 总糖含量分别为

35.75%和31.57%，太白茶含量最低，为19.61%；金刷把和红石耳中总酚酸成分主要集中在乙酸乙酯提取相，含量分别为128.50 mg/g和141.28 mg/g，而太白茶(87.28 mg/g)与黑石耳中(258.79 mg/g)总酚酸成分主要集中在甲醇提取相。

### 3.2 4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物抗氧化活性分析

#### 3.2.1 清除DPPH自由基能力

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)在有机溶剂中是一种稳定的以氮为中心的自由基，当DPPH溶液中加入自由基清除剂时，DPPH的孤电子被配对，溶液颜色变浅， $A_{517}$ 数值变小，且与DPPH自由基清除程度线性相关。采用Mohsen法对4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物清除DPPH自由基能力进行了测定，结果表明，对颜色的消除作用反映了4种地衣各样品清除DPPH自由基的能力，颜色越浅表示对DPPH自由基的清除能力越强， $IC_{50}$ 值越大。从表2中可以看出，太白茶乙酸乙酯提取相清除DPPH自由基能力最强，其 $IC_{50}$ 值为0.9358 mg/mL；金刷把和黑石耳甲醇提取相也表现出较强的清除DPPH自由基能力，其 $IC_{50}$

值分别为0.7847 mg/mL和0.5595 mg/mL；红石耳氯仿提取相清除DPPH自由基能力( $IC_{50}$ =0.8162 mg/mL)也高于其它溶剂提取相。

#### 3.2.2 清除羟基自由基能力

在活性氧自由基中，羟基是最活跃的自由基，它能够使与其接触的生物分子发生氧化损伤，从而导致衰老、诱发各种疾病等<sup>[13,14]</sup>。采用Fenton反应对4种地衣多糖及不同溶剂提取物清除羟基自由基能力的分析结果表明(表3)，这些多糖及提取物均具有清除羟基自由基的活性。其中，金刷把不同溶剂提取相清除羟基自由基能力大小为乙酸乙酯>氯仿>甲醇>水，其 $IC_{50}$ 值均大于阳性对照物BHT和Vc；红石耳乙酸乙酯提取相清除羟基自由基能力最强( $IC_{50}$ =2.1941 mg/g)，而太白茶与黑石耳甲醇提取相清除羟基自由基能力最强， $IC_{50}$ 值分别为0.6455 mg/g和0.5747 mg/g。金刷把乙酸乙酯提取相、太白茶甲醇相及黑石耳氯仿提取相清除羟基自由基能力与Vc相当，但黑石耳甲醇提取相清除羟基自由基能力优于阳性对照物Vc，是较强的羟基自由基(OH<sup>·</sup>)清除剂，可用于预防和改善氧化损伤。

表1 4种地衣不同溶剂提取物中总糖及总酚酸含量  
Table 1 Content of total phenols and sugar of different extracts from four lichens

地衣 Lichens	总酚酸 Total phenolic acid (mg/g)				总糖(%) Total carbohydrate
	氯仿 Chloroform	乙酸乙酯 Ethyl acetate	甲醇 Methanol	水 Water	
金刷把 <i>L. cladonioides</i>	73.26 ± 0.05	128.50 ± 0.08	59.18 ± 0.04	6.14 ± 0.02	35.75 ± 2.26
太白茶 <i>T. subuliformis</i>	79.40 ± 0.06	44.43 ± 0.04	87.28 ± 0.04	36.38 ± 0.03	19.61 ± 1.62
黑石耳 <i>U. tornata</i>	41.05 ± 0.03	58.68 ± 0.08	258.79 ± 0.04	20.28 ± 0.03	38.07 ± 1.09
红石耳 <i>U. hypococcinea</i>	29.85 ± 0.02	141.28 ± 0.04	47.25 ± 0.02	16.50 ± 0.05	31.57 ± 2.41

表2 4种地衣不同溶剂提取物及粗多糖清除DPPH自由基能力( $IC_{50}$ )  
Table 2  $IC_{50}$  values of DPPH radical-scavenging capacity of polysaccharides and different extracts derived from four lichens

不同溶剂提取相及粗多糖 Different extracts and crude polysaccharide	金刷把(mg/mL) <i>L. cladonioides</i>	太白茶(mg/mL) <i>T. subuliformis</i>	黑石耳(mg/mL) <i>U. tornata</i>	红石耳(mg/mL) <i>U. hypococcinea</i>
氯仿 Chloroform	1.8383	4.6073	1.3823	0.8162
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.7894	0.9358	2.0450	1.0425
甲醇 Methanol	0.7847	0.9456	0.5595	0.9459
水 Water	8.3200	3.2000	5.4678	5.1428
粗多糖 Crude polysaccharide	0.7196	2.6702	0.9533	0.8971
Vc	0.0117	0.0117	0.0117	0.0117
BHT Butylated hydroxytoluene	0.0534	0.0534	0.0534	0.0534

### 3.2.3 还原能力

还原能力是评估抗氧化剂活性的一个重要指标。样品还原能力越强, 吸光值越大。从图1和图2可以看出, 4种地衣不同溶剂提取物及粗多糖的还原活性均低于阳性对照药物BHT, 并与其浓度呈较好的量效关系; 4种地衣粗多糖及不同溶剂提取物的甲醇提取相还原能力都高于其它溶剂提取

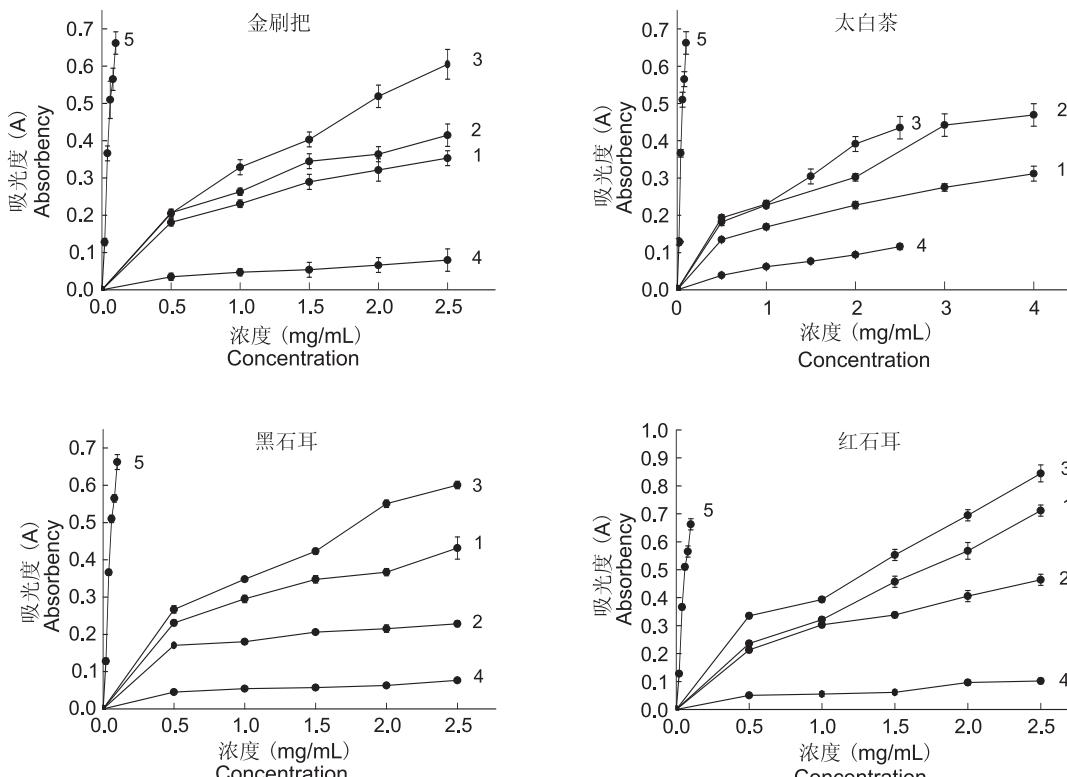
相; 黑石耳和红石耳还原能力大小为BHT>甲醇>氯仿>乙酸乙酯>水。

### 3.3 4种地衣粗多糖对HeLa、A375和Hep G2细胞体外增殖的影响

太白茶、金刷把、黑石耳和红石耳中粗多糖对HeLa、A375和Hep G2细胞体外增殖均有一定的影响。由图3可知, 低浓度的太白茶粗多糖

表3 4种地衣不同溶剂提取物及粗多糖清除羟基自由基能力( $IC_{50}$ )  
Table 3  $IC_{50}$  values of hydroxyl radical-scavenging capacity of polysaccharides and different extracts from four lichens

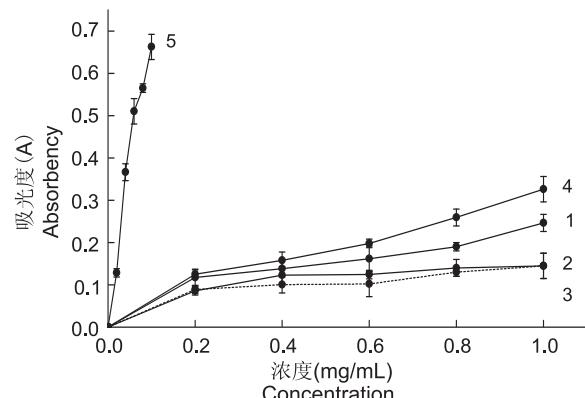
不同溶剂提取相及粗多糖 Different extracts and crude polysaccharide	金刷把 (mg/mL) <i>L. cladonioides</i>	太白茶 (mg/mL) <i>T. subuliformis</i>	黑石耳 (mg/mL) <i>U. tornata</i>	红石耳 (mg/mL) <i>U. hypococcinea</i>
氯仿 Chloroform	0.7908	0.8428	0.6151	2.2997
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.6334	0.7570	4.1926	2.1941
甲醇 Methanol	1.1206	0.6455	0.5747	3.2471
水 Water	5.0376	8.5667	1.6823	2.3934
粗多糖 Crude polysaccharide	2.2063	3.7266	3.0303	2.0971
Vc	0.6126	0.6126	0.6126	0.6126
BHT Butylated hydroxytoluene	0.5232	0.5232	0.5232	0.5232



1. 氯仿提取物; 2. 乙酸乙酯提取物; 3. 甲醇提取物; 4. 水提物; 5. BHT。

1. Chloroform extraction; 2. Ethyl acetate extraction; 3. Methanol extraction; 4. Water extraction; 5. Butylated hydroxytoluene.

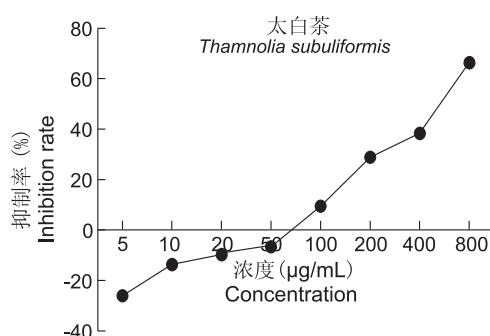
图1 4种地衣不同溶剂提取物的还原能力  
Fig. 1 Reducing power of different extracts from four lichens



1. 金刷把; 2. 太白茶; 3. 黑石耳; 4. 红石耳; 5. BHT。  
 1. *Lethariella cladonioides*; 2. *Thamnolia subuliformis*; 3. *Umbilicaria tornata*; 4. *Umbilicaria hypococcinea*; 5. BHT.

图 2 4 种地衣多糖的还原能力  
 Fig. 2 Reducing power of polysaccharides from four lichens

(5 ~ 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 可促进 HeLa 细胞的生长增殖, 而高浓度时(100 ~ 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )则抑制 HeLa 细胞的生长增殖, 其  $\text{IC}_{50}$  为 0.4943  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 金刷把粗多糖在实验梯度浓度范围(5 ~ 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )内, 均对 HeLa 细胞的生长增殖有抑制作用,  $\text{IC}_{50}$  值为 0.4332  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;



黑石耳粗多糖浓度在 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下表现为促进增殖, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上表现为抑制作用, 其  $\text{IC}_{50}$  值为 0.5241  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 红石耳粗多糖浓度大于 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 对 HeLa 细胞的生长有抑制作用,  $\text{IC}_{50}$  值为 0.6440  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。从表 4 可以看出, 除黑石耳粗多糖对 Hep G2 细胞的抑制作用较为突出外( $\text{IC}_{50} = 0.2567 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), 其它 3 种地衣粗多糖均对 A375 和 Hep G2 细胞体外生长增殖有一定的促进作用。另外, 4 种地衣粗多糖中, 金刷把粗多糖对 HeLa 细胞生长增殖的抑制作用最好, 其浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时即表现出了抑制作用。

## 4 讨论

### 4.1 地衣中总酚酸含量与抗氧化活性的关系

近年来, 从植物中寻找清除自由基的有效成分已引起国内外学者的广泛关注, 因为植物多酚类物质能够提供活泼氢原子, 有效地清除氧自由基。目前, 关于总酚酸含量与抗氧化活性之间的关系有两种观点, 一种认为总酚酸含量与其抗氧化活性之间

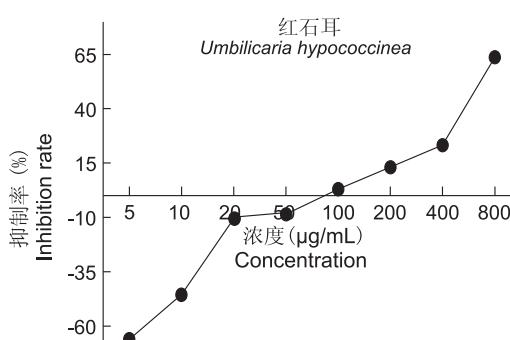
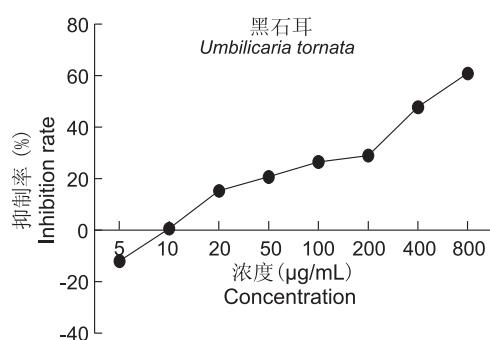
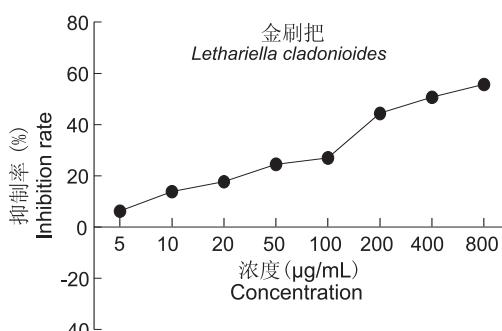


图 3 4 种地衣多糖对 HeLa 细胞的抑制率  
 Fig. 3 Effect of polysaccharides from four lichens on the inhibition of HeLa cells

表4 4种地衣粗多糖对A375和Hep G2细胞增殖的影响(抑制率)  
Table 2 Effect of polysaccharides from four lichens on the inhibition of A375 and Hep G2 cells

粗多糖浓度(μg/mL) Concentration of crude polysaccharide	金刷把(%) <i>L. cladonioides</i>		黑石耳(%) <i>U. tornata</i>		红石耳(%) <i>U. hypococcinea</i>		太白茶(%) <i>T. subuliformis</i>	
	A375	Hep G2	A375	Hep G2	A375	Hep G2	A375	Hep G2
800	21.00	43.83	56.92	67.60	8.13	58.22	40.54	48.11
400	17.42	32.40	42.36	59.35	-16.51	38.70	33.42	39.70
200	9.09	23.81	32.42	46.97	-20.45	26.39	19.90	24.37
100	-1.07	12.60%	18.99	32.66	-30.26	20.10	8.42	13.85
50	-21.23	8.81%	-8.42	22.37	-39.35	9.61	-4.06	0.54
20	-26.34	3.87%	18.50	13.70	-43.34	2.67	-17.12	-2.57
10	-31.66	-3.75%	-12.59	8.11	-57.12	-2.07	-20.99	-6.07
5	-36.12	-5.58%	-21.41	3.35	-62.22	-5.46	-24.2	-9.71
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	1.749	0.9802	0.5321	0.2567	0.9153	0.5803	1.013	0.7092

有显著相关性,而另一种认为总酚酸含量与其抗氧化活性之间没有相关性。本研究的分析结果与第二种观点一致,即4种地衣不同溶剂提取物中总酚酸含量与其抗氧化能力之间没有相关性,其原因可能是地衣提取物中还存在其它一些抗氧化成分(如色素等),起抗氧化作用的不仅仅是总酚酸类,而是多种抗氧化成分共同作用的结果;此外,采用Folin酚法测定的总酚酸含量是一个相对值,不同酚类成分具有不同的结构,从而具有不同的抗氧化活性。有研究表明<sup>[17]</sup>,采用不同抗氧化评价体系,不同溶剂提取物的抗氧化活性高低顺序存在差异,由此可见,在进行抗氧化剂筛选时应该采用多种方法来综合评价植物药用成分的抗氧化能力,其结果才较为准确、可靠。

#### 4.2 地衣粗多糖与抗氧化活性的关系

本实验对4种地衣粗多糖含量及其抗氧化活性进行了测定,结果表明黑石耳总糖含量最高(38.07%),并且4种地衣多糖均在一定程度上具有抗氧化活性,其中金刷把粗多糖清除DPPH自由基能力较为突出。因多糖的生物活性及其功能直接或间接接受其分子结构和空间构象的影响,如取代、降解等分子修饰都有可能影响其生物学活性<sup>[18]</sup>,4种地衣粗多糖含量与其抗氧化活性之间并不存在剂量依赖关系。

#### 4.3 地衣粗多糖与抗肿瘤活性的关系

Sylwia等<sup>[19]</sup>研究发现,多糖可以通过抗氧化清除自由基作用产生抗肿瘤活性,本实验金刷把粗

多糖具有较强的清除DPPH自由基和清除羟基自由基活性,为金刷把粗多糖进行体内抗肿瘤活性研究提供了新思路。除多糖外,地衣酸对抗肿瘤活性的研究也备受关注。早在30年前,就已经发现松萝酸有抗Lewis肺癌的活性,进一步的研究结果也表明,松萝酸对小鼠S<sub>180</sub>肉瘤具有显著的抑制作用,即松萝酸有较强的抗癌活性<sup>[20]</sup>。除黑石耳外其它3种地衣中均含有松萝酸,因此地衣抗肿瘤活性研究应该关注地衣酸和地衣多糖两大类成分,并进一步采用现代分子生物学手段阐明地衣抗肿瘤活性的物质基础及其遗传机制,为地衣药用资源的开发研究提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 王启林,房敏峰,胡正海.太白山药用地衣的种质资源及其化学成分的研究概况[J].中国野生植物资源,2011,30(4):1-6.
- [2] 梁启明,曲绍春,于晓风,徐华丽.刺五加皂苷对乳鼠心肌细胞氧化应激损伤的保护作用[J].中国中药杂志,2009,34(19):2489-2493.
- [3] Inbathamith L, Mekalai PT, Jancy ME, Piovano M, Garbarino JA. *In vitro* evaluation of antioxidant and anticancer potential of *Morinda pubescens* synthesized silver nanoparticles [J]. *J Pharm Res*, 2013, 6(1): 32-38.
- [4] 房敏峰,王启林,胡正海.地衣化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2011,42(12):2571-2576.

- [ 5 ] Marijana K, Nedeljko M, Slobodan J, Smriga M, Saito H. *Evernia prunastri* and *Pseudevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents [ J ]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 53: 112–118.
- [ 6 ] Kosanic M, Rankovic B, Stanojkovic T. Antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of 3 *Umbilicaria* species [ J ]. *J Food Sci*, 2012, 77: 20–25.
- [ 7 ] 张博, 贺浪冲. 用细胞膜色谱法分析金刷把中具有细胞毒活性的有效成分 [ J ]. 现代医药卫生, 2006, 12(15): 2303.
- [ 8 ] 靳菊情, 边晓丽, 葛萍. 黑石耳多糖对氧自由基和脂质过氧化的影响 [ J ]. 中药材, 2001, 24(9): 660–661.
- [ 9 ] Virgnia K, Nektarios A, Maria H, Rancan F, Roan S, Bochm K. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb [ J ]. *Food Chem*, 2013, 138(1): 406–413.
- [ 10 ] Mohsen SM, Ammar ASM. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts [ J ]. *Food Chem*, 2009, 112: 595–598.
- [ 11 ] Tian LM, Zhao Y, Guo C, Wang W, He XB. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata* [ J ]. *Carbohydr Polym*, 2011, 83: 537–544.
- [ 12 ] 孙晓春, 闫桂琴. 牛奶子树不同部位多糖抗氧化活性比较研究 [ J ]. 植物科学学报, 2011, 29(6): 734–737.
- [ 13 ] Ye H, Wang KQ, Zhou CH, Zhang W, Li YW. Purification, antitumor, and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from the brown sea-weed *Sargassum pallidum* [ J ]. *Food Chem*, 2008 (111): 428–432.
- [ 14 ] Jeong JB, Seo EW, Jeong HJ. Effect of extracts from pine needle against oxidative DNA damage and apoptosis induced by hydroxyl radical via antioxidant activity [ J ]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47: 2135–2141.
- [ 15 ] Lai F, Wen Q, Li L, He YL, Zhang Y. Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mungbean (*Vigna radiate* L.) hull with ultrasonic assisted treatment [ J ]. *Carbohydr Polym*, 2010, 81: 323–329.
- [ 16 ] Mateos-Paricio I, Mateos-Peinado C, Jimenez-Escrig A. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara [ J ]. *Carbohydr Polym*, 2010, 82: 245–250.
- [ 17 ] Ozsoy N, Can A, Yanardag R, Chen SK, Tsai M. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaves extracts [ J ]. *Food Chem*, 2008, 110(3): 571–583.
- [ 18 ] 许慧, 黄丽英. 植物多糖生物活性的研究进展 [ J ]. 福建医科大学学报, 2010, 2(1): 79–81.
- [ 19 ] Sylwia F, Zenon J, Jacek N, Patricia AA, Fernando T, Hanna L, Maria L, Milan S, Simon T, Shela G. Evaluation of inhibition of cancer cell proliferation *in vitro* with different berries and correlation with their antioxidant levels by advanced analytical methods [ J ]. *J Pharmaceut Biomed*, 2012, 62(12): 68–78.
- [ 20 ] 靳菊情, 丁东宁, 欧阳雪宇. 松萝酸的提取和抗癌活性研究 [ J ]. 西北药学杂志, 1996, 11(5): 211–212.

(责任编辑: 刘艳玲)