

食用花卉中的多酚类成分及生物活性研究进展

Polyphenols composition and biological activity in the edible flowers

蔡霄英 龚茵茵

CAI Xiao-ying GONG Yin-yin

(1. 长沙理工大学化学与生物工程学院, 湖南 长沙 410114; 2. 湖南大学生物学院, 湖南 长沙 410012)

(1. College of Chemistry and Biology Science, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 2. College of Biology, Hunan University, Changsha, Hunan 410012, China)

摘要: 常见食用花卉中的多酚类化合物主要是黄酮类化合物与酚酸类化合物, 这些多酚类化合物具有清除自由基成分的抗氧化活性、抗肿瘤活性、调节心血管疾病, 以及防止纤维化、抗炎、防治糖尿病等生物活性。文章对近年来国内外对食用花卉中多酚类成分的相关研究进行了总结梳理和评述。

关键词: 食用花卉; 多酚类化合物; 抗氧化性; 生物活性

Abstract: The polyphenolic compounds in common edible flowers are mainly flavonoids and phenolic compounds. These polyphenolic compounds have the activities of antioxidant, antitumor, regulation of the cardiovascular disease, prevention of fibrosis, inflammation and diabetes. It was summarized the related researches on polyphenols in edible flowers at domestic and abroad in the present review, and this would provide reference for the development, utilization and research of edible flowers.

Keywords: edible flowers; polyphenolic compounds; oxidation resistance; biological activity

花卉不仅可用于观赏, 还可食用及药用^[1-3]。人类拥有悠久的食花历史, 并积累了丰富的实践经验^[4-5]。但是, 对其科学合理性仍存在较大争议, 缺乏现代科学的试验分析与论证。近几年, 随着自由基学说的兴起^[6-8], 拥有较强抗氧化性的多酚类化合物逐渐得到重视^[9], 对其的基础研究愈发深入。作为含有丰富多酚类化合物的食用花卉正成为重点研究对象^[10-13]。基于此, 在参考卫生和计划生育委员会的相关规定([2002]51号)基础上, 结合目前的研究现状, 对几种常见食用花卉(丁香、金银花、菊花、槐花、红花和玫瑰花)的多酚类成分及其生物活性的研究进展进行综述, 以期对食用花卉的科学食用提供理论依据。

1 食用花卉中的多酚类化合物

植物多酚是一类结构异常复杂的化合物, 主要以苯酚为基本骨架, 以苯环上的多羟基取代基为主要特征^[14]。依据其分子量的大小及结构的差异, 可分为单体多酚和多体多酚两大类^[15]。其中, 单体多酚主要包括各种黄酮类化合物(黄酮、双黄酮、异黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、黄烷酮醇、查耳酮等)和各种酚酸类化合物(没食子酸、鞣花酸、绿原酸等), 同时也包括了一些连接有糖苷基团的复合类多酚化合物(如花色苷、芸香苷等); 多酚的多体统称为单宁类物质, 常将其分为水解鞣质和缩合鞣质(原花青素等)两类(图 1)^[16]。目前, 对食用花卉中的单体多酚类化合物研究较多。

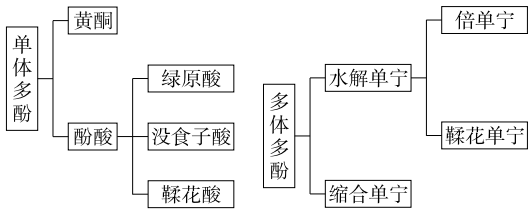


图 1 多酚类物质的分类

Figure 1 Polyphenols classification

1.1 黄酮类化合物

黄酮类化合物泛指两个苯环(A环与B环)通过中央三碳相互联结而成的一系列化合物^[17]。根据中央三碳的氧化程度、是否成环、B环的联结位置(2-或3-位)等特点, 又将其分为多种结构类型^[18]。食用花卉中的黄酮类化合物多为这些母体结构的衍生物, 常见的取代基有—OH、—OCH₃、—OCH₂O—及异戊烯基、咖啡酰基等(常见结构见图 2)^[19]。同时, 食用花卉中的黄酮类化合物多与糖结合以苷类的形式存在, 少数以游离态(苷元)的形式存在^[20]。

例如, 但春^[21]通过正、反相硅胶柱层析等各种分离手段从丁香花的乙醇提取物内得到了 11 个黄酮及其苷类化合物, 经鉴定分别为: 槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、异鼠

作者简介: 蔡霄英(1965—), 女, 长沙理工大学副教授, 本科。
E-mail: cai xiao ying_9826@sina.com

收稿日期: 2018-01-08

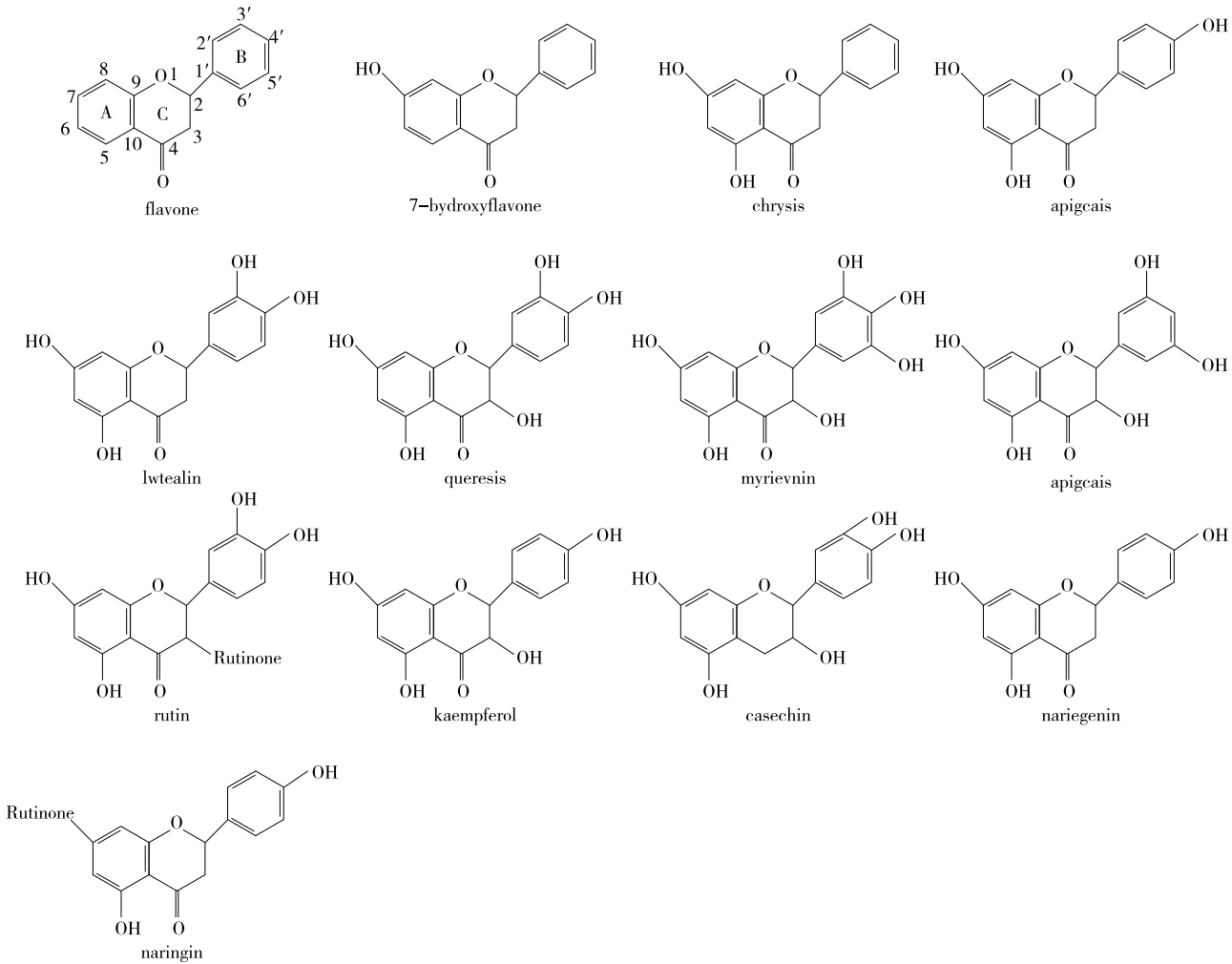


图 2 主要的黄酮类化合物基本结构

Figure 2 The skeleton structures of the main classes of flavonoids

李素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、山萘酚-3-*O*-葡萄糖醛酸苷、3,5,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮、鼠李素素-3-*O*- β -D-(6"-乙酰)葡萄糖甙、鼠李素素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、山萘甲黄素、木犀草素、槲皮素、杨梅素和异槲皮苷;Ma等^[22]从红花中分离、纯化出了8种黄酮类化合物,分别为:6-羟基山萘酚、山萘酚、槲皮素、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷、槲皮素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、芹菜素、圣草酚和野黄芩苷;冯卫生等^[23]从金银花中得到了5-羟基-7,3',4'-三甲氧基黄酮、5-羟基-7,3',4',5'-四甲氧基黄酮、5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮、金圣草素-7-*O*-新橙皮苷、木犀草素-5-*O*- β -D-葡萄糖苷、3'-甲氧基木犀草素、5,3'-二甲氧基木犀草素、木犀草素-7-*O*- α -D-葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*- β -D-半乳糖苷、伞花耳草素、芹菜素、忍冬苷和犀草素等黄酮类化合物;Yuki等^[24]通过对10个玫瑰亚属的120个分类群的玫瑰花中的黄酮类物质进行调查后发现,其含有6种山萘酚的苷类:3-芸香糖苷(63%)、4'-葡萄糖苷(4%)、3-槐糖苷(60%)、3-葡萄糖苷(在99%分类群中都含有)、7-葡萄糖苷(94%)和3-鼠李糖苷(70%);6种槲皮素的苷类:7-葡萄糖苷(90%)、4'-葡萄糖苷(4%)、3-葡萄糖醛酸苷(62%)、3-槐糖苷(69%)、3-葡萄糖苷(91%)和3-芸香糖苷(63%)。

Zhong等^[25]通过高效液相色谱结合高速逆流色谱的技术又从玫瑰花瓣里分离纯化了3种黄酮类化合物篇蓄苷、黄芪苷和胡桃苷。牛淑敏等^[26]则于2006年从玫瑰花中分离出槲皮素,丁凤伟^[27]验证了该成果,并对几个不同品种玫瑰花的总黄酮含量进行比较研究,发现其并不存在显著性差异。

而另一些食用花卉,不同品种间的黄酮种类与含量会存在一定的差异。菊花中主要的黄酮类化合物为有木犀草素,其他为香叶木素-7-*O*- β -D-葡萄糖、金合欢素-7-*O*-(6-*O*-乙酰)- β -D-葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、金合欢素-7-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷、金合欢素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、藤黄菌素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、4'-甲氧基藤黄菌素-7-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷、芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷、金合欢素、芹菜素-7-葡萄糖苷、香叶木素、芹菜素、刺槐苷、山萘酚异泽兰黄素、槲皮素、黄芩苷和大波斯菊苷等^[28]。谷彦杰等^[29]对8种主要栽培类型菊花中的木犀草素含量进行测定,发现不同品种间的木犀草素含量存在一定差异,依次为:毫菊>滁菊>祁菊>贡菊>杭菊>济菊>黄菊>怀菊。同时,不同花期的食用花卉所含的黄酮含量也存在差异,以金银花为例,其银花时含量可达3.433%,金花次之(2.988%),其次是白

蕾(2.621%),绿蕾中最低(2.539%)^[30]。

可见,花卉的品种、花期均会对其所含有的黄酮类成分产生影响,研究时应区别对待。

1.2 酚酸类化合物

酚酸类化合物在食用花卉中较为常见,其中以绿原酸和咖啡酸等为主^[31],结构见图 3。

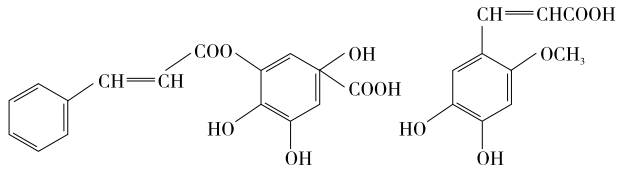


图 3 绿原酸和咖啡酸化合物结构

Figure 3 The structure of chlorogenic acid and caffeic acid compound

研究^[32]表明,仅在金银花中就有绿原酸、异绿原酸、绿原酸四乙酯、绿原酸甲酯、3-咖啡酰奎尼酸甲酯、5-二咖啡酰奎尼酸甲酯、3,5-二咖啡酰奎尼酸丁酯等多种酚酸类化合物。其中,异绿原酸是一种混合物,含有 7 种异构体,分别为:4,5-二咖啡酰奎尼酸、3,4-二咖啡酰奎尼酸、3,5-二咖啡酰奎尼酸、1,3-二咖啡酰奎尼酸、3-阿魏酰奎尼酸、4-阿魏酰奎尼酸、5-阿魏酰奎尼酸^[33]。

同时,绿原酸被认为是金银花在进行有氧呼吸过程经桂皮酸途径形成的一种苯丙素类化合物,由奎尼酸和咖啡酸缩合而成^[34]。在菊花中也有类似代谢途径,其常见的酚酸为:绿原酸、4-O-咖啡酰基奎尼酸、5-O-咖啡酰基奎尼酸、1,5-O-二咖啡酰基奎尼酸、1,3-二咖啡酰基-epi-奎尼酸、3,5-二咖啡酰基-epi-奎尼酸、3,4-O-二咖啡酰基奎尼酸、3,5-O-二咖啡酰基奎尼酸、1-咖啡酰基奎尼酸、3-咖啡酰基奎尼酸、咖啡酸-4-葡萄糖苷、3,4,5-三咖啡酰基奎尼酸、4-咖啡酰基-5-阿魏酰基奎尼酸等^[35]。

相较于黄酮类化合物,目前对食用花卉中的酚酸类研究的更为透彻,现在的研究方向更多偏向于应用方面。

2 食用花卉中多酚类化合物的生物活性

2.1 清除自由基的抗氧化活性

羟自由基、超氧阴离子和各种脂质过氧化物自由基均是在生物体内较为常见的自由基。这些自由基的产生途径较为多样,其中带有成对电子的化学基团、分子、原子通过发生均裂或直接获得一个电子转变为带奇数电子的自由基是最为常见的途径之一;人体内许多需氧酶类(黄嘌呤氧化酶、NADPH 氧化酶、黄素脱氢酶、葡萄糖氧化酶)等在催化反应时也都伴随着自由基的产生;肌红蛋白、血红蛋白的自动氧化过程也伴随着自由基的产生。可以说自由基的产生是伴随着生命中各种反应的进行,是不可或缺的。但是过量的自由基则会对体内的脂肪、糖类、蛋白质和核酸等生物分子造成损害,导致组织损伤,细胞的凋亡或退化,引起包括癌症、老化、免疫力下降及心血管疾病等一系列问题^[36]。

食用花卉中多酚类化合物的多元羟基通过与自由基发生反应,阻断其的链式反应,进而起到清除自由基,抗氧化的

作用。徐良雄^[37]对 46 种常见花卉的多酚含量与抗氧化能力的相关性进行分析,发现两者呈显著性正相关,且花瓣和花蕊是主要的抗氧化部位,其随着花的发育、成熟及衰老,总体的抗氧化能力呈下降趋势。Choi 等^[38]分别比较了金银花不同极性部位(甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇)提取物的抗氧化活性,发现其中的乙酸乙酯萃取物能显著地清除 DPPH 自由基和过氧亚硝基阴离子(ONOO^-),并抑制羟基自由基和活性氧(ROS)的产生。同时,以该活性为导向,成功地从乙酸乙酯部位中分离鉴定出木犀草素、异鼠李素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、原儿茶酸、木犀草苷、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷和咖啡酸等多酚类化合物。在菊花中也进行了类似研究,Kim 等^[39]通过各种分离纯化技术成功地从菊花中得到了 3,5-epi-DCQA 和 1-3-epiDCQA 2 个新化合物,并证明其具有较强的清除超氧阴离子自由基的能力,甚至在黄嘌呤/黄嘌呤氧化体系内表现出比槲皮素更强的自由基清除能力。Niu 等^[40]通过 HPLC-DAD-ESI/MSn 和 HPLC-DAD-DPPH 技术,发现了菊花提取物中具有强自由基清除能力的化合物为咖啡酰基奎尼酸,其的清除自由基活性达 92.22%。同样,Nguyen 等^[41]对菊科植物 *Chrysanthemum sinense* 花中的多种黄酮及咖啡酰基奎尼酸类化合物进行了 XOD 抑制活性的测定,结果表现为:4,5-二咖啡酰基奎尼酸、木犀草苷、3,5-二咖啡酰基奎尼酸、木犀草素、4,5-二咖啡酰基奎尼酸甲酯和 3,5-二咖啡酰基奎尼酸甲酯等化合物的 IC_{50} 均在一个数量级之内。其中,双咖啡酰基奎尼酸甲酯的活性明显优于双咖啡酰基奎尼酸;而黄酮苷元活性明显高于黄酮苷。VanderJagt 等^[42]通过对美国新墨西哥州的 30 种野生药用植物的抗氧化能力进行比较后,发现除了巴拉圭茶外,玫瑰花的总抗氧化能力优于其他植物。Gao 等^[43]的研究表明,玫瑰花中的抗氧化物质以多酚类化合物为主,结构为一种五倍子酸衍生物。

牛淑敏等^[44]研究发现,玫瑰花中的抗氧化成分是通过清除过多的自由基,来保持细胞膜及其生物大分子结构的完整性,进而提高抗氧化系统中最重要的一类酶 SOD 的基因表达量,保持 SOD 的高活性状态。随后,其通过体外抗氧化活性检测法来追踪玫瑰花中的抗氧化活性成分,并借助大孔树脂、硅胶柱层析和半制备液相等技术对该成分进行分离纯化,得到了 3,5,7,3',5'-五羟基黄酮和 3,4,5-三羟基苯甲酸 2 种多酚类化合物。姚育翠^[45]则发现玫瑰花中的原花青素也具有较强的抗氧化能力,并在一定的条件下要强于 V_c 。因而,玫瑰花多酚类提取物可被应用于油脂的贮藏,往猪油和花生油中添加 0.04%的提取物时,猪油和花生油的货架期分别延长了 4,2 个月,且和 V_c 联合使用时效果更佳^[46]。

食用花卉清除自由基的抗氧化活性是目前研究的一个热点,其基本的研究思路是:将食用花卉用不同极性的溶剂萃取→探究萃取物的清除自由基能力→以抗氧化能力为导向对该极性部位分离及纯化→单体进行药理试验。

2.2 抗肿瘤活性

食用花卉通过多种途径对不同肿瘤细胞产生抑制作用。玫瑰花甲醇提取物通过抑制组蛋白乙酰转移酶的活性,来减

少雄激素受体和组蛋白的乙酰化,从而减少雄激素介导的转录,进而抑制人类前列腺癌细胞系 LNC_aP 的生长^[47]。菊花提取物通过抑制异丙肾上腺素诱导的人肝癌细胞的有丝分裂来抑制肝肿瘤细胞的生长^[48]。藏红花素通过削弱 12-*O*-14 酰基磷酮-13 乙酸盐 (TPA) 对细胞蛋白磷酸化水平的刺激,并抑制 TPA 诱导的原癌基因表达,来抑制肿瘤^[49]。Leung 等^[50]在抑制人肺鳞状癌 CH27 细胞时,采用了金银花 95%乙醇提取物结合光动力学的方法。结果发现,在金银花提取物浓度 (50~150 μg/mL) 和光强度 (0.4~1.2 J/cm²) 一定时,会引起 CH27 细胞的凋亡,可能是通过金银花提取物改变 p38 相关信号通路及引起热休克蛋白 27 的表达和分布。

当前,借助迅速发展的分子生物学技术,食用花卉的抗肿瘤活性研究取得了较丰富成果,研究的重点也逐渐转向作用靶点等基础问题。

2.3 调节心血管疾病

食用花卉对心血管疾病有一定的治疗效果,孙昱等^[51]发现野菊花具有调节心血管疾病的功效,并得到了包括 (2*S*) 圣草酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、(2*S*)-橙皮素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖醛酸苷、(2*S*)-圣草酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖醛酸苷、香叶木素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖醛酸苷、槲皮素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖醛酸苷和木犀草素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷在内的 7 个黄酮类化合物。藏红花中的腺苷类化合物通过延长凝血酶原的生成时间和活化时间,来抑制胶原与二磷酸腺苷所导致的小血小板聚集,加速纤维蛋白酶和尿激酶的纤维活性,进而降低全血比黏度,达到对冠心病的治疗目的^[52]。玫瑰花中的黄酮类化合物则通过清除四氧嘧啶糖尿病小鼠内的自由基来提高其的抗氧化能力,进而达到降低血糖水平的效果。

食用花卉具有一定的调节心血管疾病功效,因而其未来可作为保健食品原材料的一部分,但要注意剂量的控制。

2.4 其他生物活性

自由基导致的脂质过氧化损伤被认为是诱发包括炎症、过敏和神经退化等多种疾病的基础,因而食用花卉中的多酚类化合物对这些疾病也有一定的治疗作用。研究^[53]表明,金银花的 75%乙醇提取物能够保护因二甲基亚硝胺所致急性肝损伤的大鼠,降低其的肝纤维化程度。谢新华等^[54]则通过试验探究了金银花对 IL-1β 性发热的解热作用机理,其通过增加热敏神经元的放电频率和减少冷敏神经元的放电频率,来逆转因 IL-1β 而引起的温度敏感神经元放电频率的改变,从而达到清热的功效。章李军等^[55]通过试验证明了菊花的提取物木犀草素具有舒张血管的功效,并能抑制炎症细胞内 NQ 及其诱导型合酶 NOS 的表达。张星海^[56]则比较了不同品种菊花(滁菊、亳菊、贡菊、杭菊和怀菊)的抗炎效果,发现亳菊的抗炎作用最好,其可能的途径是通过清除炎症发生过程中产生的自由基。赵洪芝^[36]则借助 UPLC-Q/TOF 分析仪器和萤光素酶报告基因检测系统构建了用于筛选金银花中具有 NF-κB 抑制活性成分的方法,并发现绿原酸为主要活性物。红花的水溶性组分则被证明能够抑制小血

板的聚集,预防血栓形成,保护缺血后再灌注损伤心肌的作用^[57]。同时,红花的注射液能够修复损伤后的脊髓组织功能及保护神经组织^[58]。

Song 等^[59]深入研究了红花提取物在脂多糖诱导人肺泡上皮 A549 细胞炎症信号转导中的作用,可能是通过抑制 Myd88、TLR-4、ICAM-1、IL-6 和 TNF 基因在 mRNA 和蛋白水平的表达和阻止白细胞对 A549 细胞的粘附进而抑制炎症信号的转导。西红花中的西红花苷-1 能通过抑制去甲肾上腺素和多巴胺的再摄取来治疗中度和重度抑郁症,而另一活性物(藏花醛奈酚)则经抑制 5-羟色胺的再摄取来达到疗效^[60-61]。

红花对于糖尿病也有一定的疗效。可能的作用途径是:抑制蛋白激酶 Cθ 磷酸化,从而抑制 c-Jun N 端蛋白激酶和核转录因子 κB 抑制蛋白激酶 β 的激活,最终改善 3T3-L1 脂肪细胞诱导的胰岛素抵抗^[62]。

3 结论

对食用花卉中的多酚类化合物合理利用,能够在一定程度上预防一些因自由基生产和消除不平衡而诱发的癌症、代谢综合症和神经系统退化等疾病,应给予重视。当前,对食用花卉的研究,主要集中于其活性成分单体上,而长期的食疗经验则说明,当食用花卉间配伍食用时,功效更佳,其所隐含的单体协同关系与功效之间的相关性尚需科学合理阐述,这将是未来研究的一个方向。

参考文献

[1] SHI Jia-yi, GONG Jin-yan, LIU Ji-er, et al. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(2): 477-482.

[2] 熊丽娜. 我国常见食用花卉多酚组分及其生物功效研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 1.

[3] 吴荣书, 袁唯, 王刚. 食用花卉开发利用价值及其发展趋势[J]. *中国食品学报*, 2004, 4(2): 100-103.

[4] 徐怀德. 花卉食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 1.

[5] 郑广填. 五种食用花卉营养与食用安全性研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2006: 2.

[6] GUO Shu-hong, BEZARDE E, ZHAO Bao-lu. Protective effect of greentea polyphenols on the SH-SY5Y cells against 6-OHDA-induced apoptosis through ROS-NO pathway[J]. *Free Rad Biol Med*, 2005(39): 682-695.

[7] 赵保路. 天然抗氧化剂茶多酚的健康作用及其机理[J]. *生物物理学报*, 2012, 28(5): 426-434.

[8] 吴夏. 五味子鲜果多酚提取鉴定及其对受损 HepG2 细胞保护作用的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 11-12.

[9] TSUTOMU H, HARUKA M, MIDORI N. Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cacao liquor and their antioxidant effects[J]. *Phytochemistry*, 2002(59): 749-758.

[10] 刘晓丽. 余甘子多酚的分离、鉴定与生理活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010: 2-5.

[11] 周晨, 谢宛玉. 黄酮类化合物诱导肿瘤细胞凋亡分子机制研究

- 进展[J]. 中国医药导报, 2010, 7(10): 18-19.
- [12] 杨会成. 海带多酚的提取、分离、及其抗肿瘤、抗菌活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008: 5-6.
- [13] TAKAKO Y, YOUNG A K, HYUN Y K. Protective effect of persimmon peel polyphenol against high glucoseinduced oxidative stress in LLC-PK1 cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007(45): 1 979-1 987.
- [14] 王玉团. 玫瑰花多酚和多糖类物质的初步研究[D]. 济南: 山东中医院大学, 2005: 10-20.
- [15] 黄雨洋. 红松多酚分离鉴定及抗氧化抗癌功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014: 1-10.
- [16] 苏东晓. 荔枝果肉多酚的分离鉴定及其调节脂质代谢作用机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014: 2-3.
- [17] 王先, 杨坤, 王兆守, 等. 微波辅助萃取-大孔树脂分离纯化芳樟叶黄酮[J]. 农业工程学报, 2009, 25(S1): 138-141.
- [18] 吴彩娥, 方升佐, 冯宗帅, 等. 青钱柳叶总黄酮大孔树脂纯化工艺[J]. 农业机械学报, 2009, 40(6): 133-137.
- [19] 于智峰, 王敏, 张家峰. 大孔树脂精制苦荞总黄酮工艺条件的优化研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(4): 253-257.
- [20] 李加兴, 陈选, 邓佳琴, 等. 黄秋葵黄酮的提取工艺和体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 121-123.
- [21] 但春. 丁香和升麻的化学成分研究[D]. 成都: 中国科学院研究生院成都生物研究所, 2006: 1.
- [22] MA C M, NAKAMURA N, HATTORI M. Inhibitory effects on HIV 1 Protease of tri-p-coumaroylspermidine from *Artemisia caruifolia* and related amides[J]. Chem Pharm. Bull., 2001, 49(7): 915-917.
- [23] 冯卫生, 陈欣, 郑晓珂, 等. 金银花化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(5): 338.
- [24] YUKI M, NORIO S, MASATO Y, et al. Anthocyanins in flowers of genus *Rosa*, sections *Cinnamomeae* (= *Rosa*), *Chinenses*, *Gallicanae* and some modern garde roses[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2000, 28(9): 887-902.
- [25] ZHONG Jie, YANG Yi, XIAO Zhong-ping, et al. Separation and purification of three flavonoids from the petal of *Rosa rugosa* Thunb. by HSCCC[J]. Asian Journal of Traditional Medicines, 2009, 4(6): 220-227.
- [26] 牛淑敏, 李巍, 李乐, 等. 玫瑰花中两种抗氧化成分的分离鉴定与活性测定[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2006, 39(1): 90-95.
- [27] 丁凤伟. 玫瑰花化学成分及有效部位的研究[D]. 济南: 山东中医院大学, 2014: 51-54.
- [28] 顾瑶华, 秦民坚. 我国药用菊花的化学及药理学研究新进展[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(6): 7-9.
- [29] 谷彦杰. 我国八种主流菊花商品药材中木犀草素含量测定[J]. 山东中医药大学学报, 2000, 24(1): 65.
- [30] 王晋. 金银花不同花期总黄酮含量的测定[J]. 现代农业科技, 2010(21): 114.
- [31] 马艺丹, 刘红, 廖小伟, 等. 神秘果种子多酚超声双水相复合提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 173-175.
- [32] 李英, 陈君, 李萍. 金银花中酚酸类和黄酮类成分的黄嘌呤氧化酶抑制活性[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(5): 407-411.
- [33] 宋卫霞. 金银花水溶性化学成分研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008: 33-57.
- [34] 周小玲, 杨代明, 李娜. 小麦酚多酚氧化酶活性测定方法的改进[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 84-87.
- [35] 王琦. 金银花的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008: 8-9.
- [36] 赵洪芝. 拟南芥植物代谢组学及金银花代谢产物抗炎活性研究[D]. 天津: 南开大学, 2012: 187-206.
- [37] 徐良雄. 花卉抗氧化筛选与玫瑰花抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2004: 9-10.
- [38] CHOI C W, JUNG H A, KANG S S, et al. Antioxidant constituents and a new triterpenoid glycoside from *Flos Lonicerae*[J]. Arch Pharm Res, 2007, 30(1): 1-7.
- [39] KIM H J, LEE Y S. Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities[J]. Planta Med, 2005, 71(9): 871-876.
- [40] NIU Y, YIN L, LUO S, et al. Identification of the antioxidants in *Flos Chrysanthemi* by HPLC-DAD-ESI/MS(n) and HPLC coupled with a post-column derivatisation system[J]. Phytochem Anal, 2013, 24(1): 59-68.
- [41] NGUYEN M T, AWALE S, TEZUKA Y, et al. Xanthine oxidase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum sinense*[J]. Planta Med, 2006, 72(1): 46-51.
- [42] VANDERJAGT T J, GHATTAS R, VANDERJAGT D J, et al. Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico[J]. Life Science, 2002, 70(9): 1 035-1 040.
- [43] GAO Xiang-qun, BJORK L, TRAJKOVSKI V, et al. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(14): 2 021-2 027.
- [44] 牛淑敏, 朱颂华, 李巍, 等. 中药材玫瑰花抗氧化及作用机制的研究[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2004, 37(2): 29-32.
- [45] 姚育翠. 玫瑰花中原花青素的分离分析及抗氧化活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 52-55.
- [46] 张雪莲. 玫瑰花多酚的分离纯化及其功能性饮料研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2007: 6-7.
- [47] LEE Y H, JUNG M G, KANG H B, et al. Effect of antihistone acetyltransferase activity from *Rosa rugosa* Thunb. (*Rosaceae*) extracts on androgen receptor-mediated transcriptional regulation[J]. Ethnopharmacol, 2008, 118(3): 412-417.
- [48] YUAN A, LI Z, LI X, et al. Distinct effect of chrysanthemum indicum Linne extracts on isoproterenol induced growth of human hepatocellular carcinoma cell[J]. Oncol Rep, 2009, 22(6): 1 357-1 363.
- [49] WANG C J, CHENG T C. Inhibition of protein kinase C and protooncogene expression of crocetin in NIH/3T3 cells[J]. Mol Carcinogen, 1996, 17(4): 235.
- [50] LEUNG H W C, HOUR M J, CHANG W T, et al. P38-associated path-way involvement in apoptosis induced by photodynamic therapy with *Lonicera japonica* in human lung squamous carcinoma CH27 cells[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(11): 3 389.

验,3 次实验 AA-2G 平均产量为 10.62 g/L,与模型预测值基本吻合,说明该试验选用的模型是合理的。

3 结论

本研究采用单因素试验设计及响应面分析法对 CGTase 酶法合成 AA-2G 的条件进行优化,得到了最优工艺条件为加酶量 90.78 U/g $\cdot\beta$ -环糊精,pH 9.07,底物浓度 56.81 g/L,底物配比 1:1(体积比),转化时间 24 h,温度 45 $^{\circ}$ C,在此条件下 AA-2G 产量为 10.62 g/L。相较于之前的研究^[15],AA-2G 产量达到较高水平。CGTase 酶被认为是合成 AA-2G 的最佳酶源,但该酶价格昂贵,本实验室利用海洋微生物 Y112 发酵制备的 CGTase 酶粉单位酶活较高,有利于降低生产成本。然而游离酶存在难以回收利用的缺点,后续将对固定化 CGTase 合成 AA-2G 进行研究,进一步提高 AA-2G 产量及固定化 CGTase 的利用次数。

参考文献

[1] NAIDU K A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview[J]. Nutr J, 2003, 2(7): 1-10.

[2] 彭家泽,刁杰. 抗坏血酸的生理功能及其在食品中的应用[J]. 食品与机械, 1994(4): 29.

[3] FUCHS J, KERN H. Modulation of UV-light-induced skin inflammationby D-alpha-tocopherol and L-ascorbic acid; A clinical study using solarsimulated radiation[J]. Free Radic Biol and Med, 2016, 37(9): 1 006-1 012.

[4] VERRAX J, CADROBBI J, DELVAUX M, et al. The association of vitamins C and K3 kills cancer cells mainly by autoschizis, a novel form of cell death basis for their potential use as coadjuvants in anticancer therapy[J]. Eur J Med Chem, 2003, 38(5): 451-457.

[5] YAMAMOTO I, TAI A. The current state on development of

novel vitamin derivatives[J]. Nihon Rinsho, 1999, 57(10): 2 332-2 338.

[6] PROUSOONTORN M H, PANTATAN S. Production of 2-O- α -glucopyranosyl L-ascorbic acid from ascorbic acid and β -cyclodextrin using immobilized cyclodextrin glycosyltransferase[J]. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 2007, 57(1/4): 39-46.

[7] 邢琳,张秀华,钊倩倩,等. α -环糊精葡萄糖基转移酶的高效表达及酶法制备 AA-2G 条件优化[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(11): 5-8.

[8] 高爱伟,李江华,刘龙,等. 酶法合成 2-氧- α -D-葡萄糖基-L-抗坏血酸(AA-2G)条件的研究[J]. 工业微生物, 2014, 44(1): 45-50.

[9] EIBAIID A I, BASHARI M O, MUSA A. Improvement of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid biosynthesis using ultrasonic radiation[J]. Trop J Pharm Res, 2015, 14(4): 599-604.

[10] 单丽媛. 固定化 CGTase 生物转化合成 AA-2G 及转化过程优化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 16-21.

[11] HAO Jian-hua, HUANG Li-ping, CHEN Xiao-tong, et al. Identification, cloning and expression analysis of an alpha-CGTase produced by strain Y112[J]. Protein Expres Purif, 2017, 140: 8-15.

[12] CHEN Xiao-tong, HUANG Li-ping, SUN Jing-jing, et al. Production and characterization of a new α -Cyclodextrin glycosyltransferase from a marine strain of Bacillus sp. Y112[J]. J Biobased Mater Bio, 2017, 11(3): 236-241.

[13] 张晓磊,郝建华,郑鸿飞,等. 1 株产 α -环糊精葡萄糖基转移酶菌株的产酶条件优化[J]. 中国海洋药物, 2015(5): 63-70.

[14] 熊艳军,宿玲恰,王蕾,等. 环糊精葡萄糖基转移酶的酿酒酵母表面展示及其生产 2-O- α -D-吡喃葡萄糖基抗坏血酸[J]. 微生物学报, 2015, 55(10): 1 305-1 313.

[15] 李标,唐双焱. 2-O- α -D-吡喃葡萄糖基抗坏血酸研究进展[J]. 广西科学, 2017, 24(1): 48-53.

(上接第 182 页)

[51] 孙昱,马晓斌,刘建勋. 野菊花心血管活性部位化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(1): 61-64.

[52] 陈琼,顾仁樾,周端. 藏红花对冠心病心绞痛患者血流变学的作用[J]. 辽宁中医杂志, 1997, 24(8): 372.

[53] 周达. 玫瑰黄酮类化合物的提取、分离及生物活性研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2010: 40-46.

[54] 谢新华,董军,付咏梅,等. 金银花解热作用及其机制的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(9): 2 071-2 073.

[55] 章李军,凌霜,陈刚领,等. 菊花提取物舒张血管及抗炎机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2009, 43(5): 60-63.

[56] 张星海. 不同来源菊花化学成分、抗炎作用及其机理的研究[D]. 南京: 南京中医院大学, 2014: 85-100.

[57] 刘剑刚,张大武,李婕,等. 藏红花对冠心病心绞痛患者血流变学的作用[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 189-193.

[58] 陈剑峰. 红花对大鼠急性脊髓损伤后保护机制的实验研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014: 4-9.

[59] SONG Li-juan, ZHU Yu, JIN Ming, et al. Hydroxysafflor yellow a inhibits lipopo-lysacchaide induced inflammatory signal transduction in human alveolar epithelial A549 cell[J]. Fitoterapia, 2013(84): 107-114.

[60] AKHONDZADEH S, FALLAH-POUR H, AFKHAML K, et al. Comparison of Crocus sativus L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression; a pilotdouble-blind randomized trial[J]. BMC Complem Alternat Med, 2004(10): 4-12.

[61] AKHONDZADEH S, TAHMACEBI-POUR N, NOORBALAL A A, et al. Crocus sativus L. in the treatment of mild to moderate depression; A double-blind, randomized and placebo-controlled trial[J]. Phytother Res, 2005, 19(2): 148-151.

[62] YANG Lin-a, QIAN Zhi-yu, JI Hui, et al. Inhibitory effect on protein kinase C by Crocetin attenuates palmitate induced insulin insensitivity in 3T3-L1 adipocytes[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 642(1/2/3): 47-55.