有葡萄糖取代。IR(KBr)υmax(cm^{-1}):3 427 示有羟基信号,1654 示有羰基信号,1 606 示有苯环。^{1}HNMR(CD_3OD):δ7.81 (1H, d,J=2.2Hz),δ7.56 (1H,dd,J=8.5,2.2 Hz),δ6.84(1H,d,J=8.5 Hz),根据其化学位移判断为芳香氢信号,并根据其耦合常数,此三个氢为 ABX 系统,δ6.39(1H,d,J=2.1Hz),δ6.19(1H,d,J=2.1Hz),的信号为芳香氢信号,根据其耦合常数两个氢为间位,δ5.13(1H,J=7.7 Hz)为葡萄糖的端基质子信号,根据耦合常数判断为 β 构型 δ3.4-3.8 为葡萄糖上的氢信号。UV 数据显示有黄酮特征吸收峰,氢谱数据与文献[5] 氢谱数据基本一致。故鉴定化合物 7 为槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷(quercetin-3-O-β-D-glucoside)。

2.2.3　化合物⑧ 黄色粉末,TCL 检查在紫外灯下为蓝色荧光斑点。ESI-MS m/z:179[M-1]$^+$。UV λmax:217,242,297,327 nm。IR(KBr)υmax(cm^{-1}):3 433 示有羟基信号,3 238,1 645 示有羧基信号,1 618 示有苯环,3 026 示有烯烃信号,因烯键与苯环信号和羧基上的羰基信号共轭,所以苯环信号和羧基上的羰基信号向低波数移动。^{1}HNMR(CD_3COCD_3):δ10.43(宽单峰)为羧基上的质子,δ8.34(宽单峰)和 δ8.31(宽单峰)均为与芳香环相连的羟基质子,δ7.54(1H,d,J=16 Hz)与 δ6.25(1H,d,J=16 Hz)根据其耦合常数为反式烯键的两个质子。δ7.15(1H,d,J=2.1 Hz),δ7.04(1H,dd,J=8.1,2.1 Hz),δ6.87(1H,d,J=8.1 Hz)根据其化学位移及耦合常数为芳香环上的 ABX 系统上的 3 个质子。化合物 8 为 2,4-二羟基苯丙烯酸(2,4-dihydroxy-cinnamic acid)。

3　讨论

巴西甘薯叶乙醇提取物经石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取后,醋酸乙酯萃取部位用硅胶柱色谱,Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等方法,分得 8 个化合物,经理化性质和波谱分析分别鉴定为:①银椴苷(tiliroside);②紫云英苷(astragalin);③鼠李柠檬素(rhamnocitrin);④鼠李素(rhamnetin);⑤山柰酚(kaempferol);⑥咖啡酸十八烷酯(octadecyl caffeate);⑦槲皮素-3-O-β-D 葡萄糖(quercetin-3-O-β-D-glucoside);⑧2,4-二羟基苯丙烯酸(2,4-dihydroxy-cinnamic acid)。其中化合物⑥~⑧为首次从该植物中分离得到。本实验为巴西甘薯叶的活性成分研究及开发应用提供了依据。

参考文献:

[1] 华希新,邬景禹,王胜武,等.药用甘薯"西蒙 1 号"的生物学特性及其栽培技术研究[J].中国甘薯,1988,2:51.

[2] 许建华,吴国土,叶庆林,等.西蒙 1 号甘薯茎叶抗肿瘤作用的研究[J].中药药理与临床,1998,14(6):32.

[3] 王方生. Simon 1 号甘薯对免疫功能影响的研究[J].中国甘薯,1988,2:69.

[4] Kittisak L, Rawiwun K, Nijsiri R, et al. Antimalarial naphthoquinones from Nepenthes thorelii[J]. Planta Medica, 1998, 64(3):237.

[5] 高玉敏,王名洲,王建平,等.金银花化学成分的研究[J].中草药,1995,26(11):568.

新疆天然雪莲与其组织培养物中水溶性多糖的研究

刘春兰,杜　宁,邓义红,杨　林,李　阳

(中央民族大学生命与环境科学学院,北京　100081)

摘要:目的 对新疆天然雪莲及其组织培养物进行多糖提取分离纯化,为合理利用雪莲提供一定依据。**方法** 雪莲经热水浸提,乙醇沉淀得粗多糖。粗多糖经 Sevage 法和酶法联合脱蛋白,得初步纯化的新疆天然雪莲多糖($XJXL_1$)和培养雪莲多糖($PYXL_1$)。**结果** 纸层析和气相色谱分析表明 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 是由多种单糖组成的酸性杂多糖。$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 对超氧阴离子自由基和羟自由基具有明显的清除效果,且对细菌有很好的抑制作用。**结论** 从多糖含量、清除自由基及抑菌活性实验可以证明新疆雪莲培养物是新疆天然雪莲的良好替代物,具有进一步开发生产的价值。

关键词:雪莲;　多糖;　自由基;　抑菌

中图分类号:R284.2　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1008-0805(2008)11-2604-03

Study on the Water Soluble Polysaccharide of *Sausurea involucrate* and Cultivated *Sausurea involucrate*

LIU Chun-lan, DU Ning, DENG Yi-hong, YANG Lin, LI Yang

(*College of Life and Environmental Science, Central University for Nationalities, Beijing* 100081, *China*)

Abstract: Objective To provide scientific cue for the use of *Sausurea involucrate*, Xinjiang *Sausurea involucrate* and tissue cultures were isolated and purified for polysaccharide. **Methods** The crude polysaccharide was extracted from *Sausurea involucrate* with hot water ,and precipitated by ethanol. The refined polysaccharide was prepared after eliminating protein. **Results** By using PC analysis and GC analysis, it was found that polysaccharide of *Sausurea involucrate* was composed of different kinds of sugar. Polysaccharide of *Sausurea involucrate* was effective in scavenging superoxide radical and hydroxyl radical. Furthermore, they had considerable antibiotic activity against bacteria, but had no inhibitory effects on epiphyte. **Conclusion** Cultivated *Sausurea involucrate* is a good substitute for crude *Saussurea involucrate* from the rate of extracted polysaccharide content, polysaccharide content, scavenging free radicals and antibacterial activity of the experiment.

Key words: *Sausurea involucrate*; Polysaccharide; Free radicals; Antibacterial activity

雪莲 *Sausurea involucrate* Kar. et Kir. 系菊科风毛菊属的高山草本植物,是我国民族药中有代表性的珍稀名贵药材,系国家 3 级濒危物种。其化学成分主要有黄酮类化合物、糖类、萜类及其衍生物、甾体成分、木脂素[1]。雪莲花的干燥地上部分入药,可祛风胜湿,通经活络,用于风湿性关节炎、小腹冷痛、月经不调[2]。现代药理研究表明雪莲花具有抗炎镇痛、抗癌、扩张血管、降血压、清除自由基及抗疲劳等作用。由于雪莲生长环境特

收稿日期:2008-05-15;　**修订日期:**2008-07-19

基金项目:国家"985"工程—中央民族大学"985"工程重点科研项目(No. cun985-3-3)

作者简介:刘春兰(1962-),女(汉族),吉林公主岭人,现任中央民族大学副教授,硕士学位,主要从事植物资源开发与研究工作.

异，人工栽培困难，加上雪莲被掠夺性采挖，致使目前雪莲资源匮乏，雪莲物种濒临灭绝。为此应用组织培养技术生产某些重要次生代谢产物的研究越来越受到人们的重视[3]。植物组织培养物是指在无菌和人工控制的营养及环境条件下，研究植物的细胞组织器官以及控制其生长发育的技术[4]。本论文就是对应用这种技术生产的新疆雪莲组织培养物[5]和新疆天然雪莲进行水溶性多糖提取分析，初步纯化，并进行体外清除自由基及抗菌活性初步比较研究，为进一步探讨雪莲多糖的药理活性，完善雪莲多糖的质量评价体系和合理利用天然雪莲提供依据。

1　器材与方法

1.1　材料与仪器　新疆天然雪莲 *Saussurea involucrata* Kar. et Kir.（地上部分，由中央民族大学生命与环境科学学院杨林老师鉴定，购自新疆和静县）；组织培养雪莲由杨林老师提供[5]。毛细管气相色谱仪 GC－2010 型（日本岛津）；FC－95A 馏分自助收集器（上海青浦沪西仪器厂）；722 型光栅分光光度计（上海分析仪器总厂）；8002 型电热恒温水浴锅（天津市中环实验电炉有限公司）；精密电子天平，LD4－8 型离心机（北京医用离心机）；101－3 型电热鼓风干燥箱（天津市泰斯特仪器有限公司）。

1.2　方法

1.2.1　雪莲粗多糖的提取　准确称取干燥的雪莲，加入 95% 的乙醇回流脱脂后，85℃水浴加热水提乙醇沉淀，95% 乙醇、无水乙醇洗沉淀去除单糖，离心，真空干燥后得去除单糖的雪莲多糖粗品。

1.2.2　雪莲粗多糖的确认及性质

硫酸－咔唑反应[6]：糖醛酸与咔唑反应，生成紫红色化合物。

费林试剂反应[7]：还原糖中的还原性醛基可以将费林试剂中的 Cu^{2+} 还原成 Cu^{+}，从而生成红色的沉淀。

取粗多糖水溶液 10 ml，加入过量的费林试剂煮沸 2 min，将产生的红色沉淀趁热除去，滤液加入硫酸酸化，加热煮沸 10 min 后用 10% 氢氧化钠中和，再加入一定量费林试剂，加热煮沸，观察是否有砖红色沉淀。

碘－碘化钾反应[8]：淀粉遇碘具有一种特征蓝色。取粗多糖水溶液 10 ml，加入碘化钾－碘试剂，观察溶液是否变蓝。

Molish 反应[8]：五碳糖类以及它们的双糖类均能被硫酸分解成糠醛，六碳糖类以及它们的双糖类同样地被分解成羟甲基糠醛。这些糠醛类化合物与 a－奈酚作用产生有色缩合产物。

苯酚－硫酸反应[8]：五碳糖类以及它们的双糖类均能被硫酸分解成糠醛，六碳糖类以及它们的双糖类同样地被分解成羟甲基糠醛。这些糠醛类化合物与苯酚作用产生橘红色缩合产物。

1.2.3　雪莲粗多糖蛋白质、糖含量及半乳糖醛酸含量测定　蛋白质含量测定采用凯氏定氮法检测[9]；总糖含量采用苯酚－硫酸法检测[10]；糖醛酸含量采用硫酸－咔唑法检测[11]。

1.2.4　雪莲粗多糖的初步纯化及组成分析

粗多糖的初步纯化：将粗多糖配成 2% 溶液，链酶蛋白酶与 Sevage 法联合脱蛋白，重复 3 次[12]。

纸层析法[13]：取 10 mg 多糖，完全酸水解，以 $BaCO_3$ 中和，沉淀过滤后将溶液浓缩至 1 ml，点样于新华 1 号中速滤纸（15 cm × 40 cm），展开剂为正丁醇：乙酸：水（4：1：5）。室温展层 30 h 后取出，吹干后喷显色剂。

气相色谱法[14]：取 10 mg 多糖，甲醇解，硅烷化上样。OV210 型毛细管柱（30 mm × 0.32 mm × 0.25 μm），氢气为载气，流速为 1.5 ml/s。柱温为 100 ℃→250 ℃，程序升温（5 ℃/min），FID 检测器。

1.2.5　雪莲多糖清除自由基活性测定　雪莲多糖清除 · OH 的测定[15~16]：清除率(%) = $(A_0 - A_{样品})/A_0 \times 100\%$

雪莲多糖清除 O_2^- · 的测定[17]：清除率(%) = $(A_0 - A_{样品})/A_0 \times 100\%$

雪莲多糖清除 R · 的测定[18]：清除率(%) = $(A_0 - A_{样品})/A_0 \times 100\%$

A_0—试剂空白吸光度；

$A_{样品}$—样品吸光度。

1.2.6　雪莲多糖抑菌活性研究

最低抑菌浓度试验[19]：①细菌：以紫外分光光度计在波长为 550 nm 处测定的细菌培养液的 *OD* 值表示，培养液 *OD* 值与培养液内细菌繁殖速度呈正相关，*OD* 值升高越快，表示培养液内细菌繁殖速度越快。在培养液中加入雪莲提取物，可延缓其 *OD* 值上升。若其吸光度与空白对照组一致，表明该培养液中完全没有细菌的生长繁殖，则该样液浓度即为雪莲提取液的最低抑菌浓度。②霉菌：用目视观察法确定最低抑菌浓度。

抑菌活性研究方法：采用原形纸片法[20,21]。分别刮取供试菌（5 种）菌苔于 5 ml 无菌水中，振荡摇匀得菌悬液，倒入溶化并冷却至 40～45℃的相应培养基中，摇匀后，迅速分装于培养皿中，待凝固后，取已消毒过的圆形滤纸蘸取多糖溶液，略干后贴于培养基平板上，同时做一溶剂空白对照。置恒温培养箱中培养（细菌 36～37℃，18～24 h；真菌 28～30℃，48～72 h）后分别观察结果，测量抑菌圈宽度的大小。以上步骤均为无菌操作，每个样品设 2 平行样，结果求平均值。

2　结果

2.1　雪莲水溶性多糖的提取及理化性质　将干燥的雪莲用 95% 乙醇回流脱脂，热水提取乙醇沉淀，常规干燥，得雪莲粗多糖，提取率分别为：新疆天然雪莲粗多糖（XJXL）15.9%，培养雪莲粗多糖（PYXL）7.1%。两种雪莲粗多糖均为灰褐色粉末状固体，无味，溶于水，不溶于乙醇，乙醚，丙酮，氯仿等有机溶剂。

Molish 反应与 α－奈酚作用产生有色缩合产物，苯酚－硫酸反应产生橘红色缩合产物。说明所提物质为多糖类。硫酸－咔唑反应生成紫红色化合物，可以鉴别雪莲水溶性粗多糖含有糖醛酸。费林试剂反应生成红色的沉淀，说明雪莲水溶性粗多糖含有还原性糖。碘－碘化钾实验无蓝色出现，说明两种雪莲水溶性粗多糖不含有淀粉。

雪莲粗多糖经凯氏定氮，苯酚－硫酸，硫酸－咔唑法测得蛋白质、糖含量及半乳糖醛酸含量结果见表 1。表明二者均为酸性杂多糖。

2.2　雪莲粗多糖的纯化及组成分析　两种雪莲粗多糖经链酶蛋白酶与 Sevage 法联合脱蛋白后，得初步纯化多糖 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$。由 PC、GC 分析，$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 的单糖组成及含量比结果见表 2，图 1～2。表明 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 的单糖组成基本相同，但含量有差别，其中 GalA 的含量 $XJXL_1$ 是 $PYXL_1$ 的 2.7 倍，$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 均是由多种单糖构成的杂多糖。

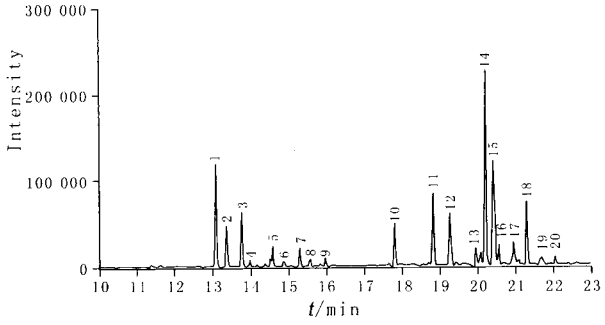
2.3　雪莲多糖清除自由基活性测定　本实验模拟产生 · OH，O_2^- · 和 R · 的 3 个体系，浓度远大于体内该两种自由基浓度[22]，在产生 · OH，O_2^- · 和 R · 的 3 个体系中加入浓度不同的 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$，实验结果见图 3～4 及表 3。

表 1　雪莲粗多糖的蛋白质、糖含量、半乳糖醛酸含量及游离蛋白含量分析结果　%

多糖种类	蛋白质含量	糖含量	半乳糖醛酸
XJXL	3.06	16.25	52.90
PYXL	5.75	15.37	18.67

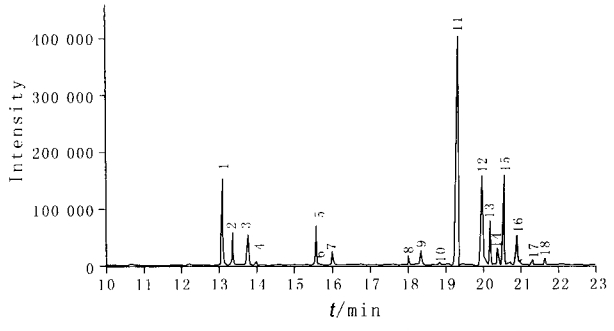
表 2　雪莲多糖的单糖组成及单糖组成比例

多糖种类	单糖组成	单糖组成 mol 比
$XJXL_1$	Xyl，Ara，Rha，Gal，Glc，GalA	1.0：7.0：1.7：2.3：1.7：32.6
$PYXL_1$	Xyl，Ara，Rha，Gal，Glc，GalA，Man	1.0：1.3：0.3：3.7：1.0：1.2：0.1



1,2,5,7. Ara　3,4,6. Rha　8,9. Xyl
12,13. Gal　16,17,19. Glc　10,11,14,15,18,20. Gal－A

图 1　新疆天然雪莲初步纯化多糖的 GC 色谱图



1,2. Ara　3,4,6. Rha　5,7,8. Xyl　11,12. Gal
15,16,18. Glc　10,13,14,17. Gal－A　9. Man

图 2　培养雪莲初步纯化多糖的 GC 色谱图

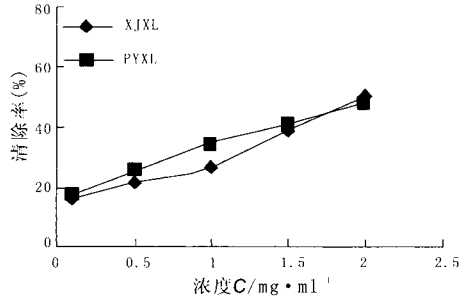


图 3　$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 对 · OH 的清除效果

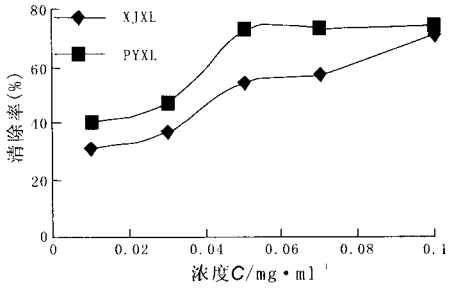


图 4　$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 对 O_2^- · 的清除效果

从图 3 可看出，当糖浓度达 0.5 mg/ml 时，$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 清除 · OH 效果较好；随多糖浓度成正相关性；相同浓度多糖清除 · OH 作用差别不大；当浓度达 1.5mg/ml 时，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 清除 · OH 效果相同，当浓度达 2.0 mg/ml 时，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 清除 · OH 均达到近 60%。体外实验表明，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 均为良好的 · OH 自由基清除剂。

从图 4 可看出：当糖浓度达 0.03 mg/ml 时，$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 清除 O_2^- · 效果很好；随多糖浓度成正相关性；在浓度达 0.1 mg/ml 前，相同浓度 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 多糖清除 O_2^- · 作用大小为 $XJXL_1 > PYXL_1$，$XJXL_1$ 清除率是 $PYXL_1$ 约 1.4～2 倍；但当浓度达 0.1 mg/ml 时，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 清除 O_2^- · 效果相同，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 清除 O_2^- · 达到近 70%。体外实验表明，$PYXL_1$ 和 $XJXL_1$ 均为良好的 O_2^- · 自由基清除剂。

比较图 3～4 可以看出，尽管 $PYXL_1$ 的提取率不及 $XJXL_1$，但是从清除率这点可以得出结论：雪莲组织培养物提取的水溶性多糖是野生雪莲提取的水溶性多糖的优良替代品。

从表 3 可看出，随糖浓度增高时，$XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 清除 R · 效率成负增加趋势。这可能由于在有自由基引发剂存在的条件下，与单糖一样，多糖也可以自动氧化，产生新的有机自由基，使多糖在产生 R · 的体系，本身产生的有机自由基与它清除的 R · 得到平衡，而在低浓度下，减少了多糖分子与自由基引发剂的反应概率，表现出多糖的抗氧化作用。

表 3　不同浓度的 XJXL 和 PYXL 对 R · 的清除率　%

多糖	0.5 μg · ml^{-1}	1.0 μg · ml^{-1}	5.0 μg · ml^{-1}	10.0 μg · ml^{-1}	50.0 μg · ml^{-1}	100.0 μg · ml^{-1}
XJXL	0.348 8	0.352 0	0.384 9	0.391 2	0.410 1	0.421 8
PYXL	0.355 7	0.353 7	0.412 3	0.402 5	0.436 2	0.447 9

$A_0 = 0.2870$

2.4　雪莲水溶性多糖的抗菌活性测定

2.4.1　最低抑菌浓度确定　结果见表 4。

表 4　最低抑菌浓度确定结果

雪莲多糖	细菌			真菌	
	E. c	S. a	B. s	A. n	P. c
$XJXL_1$	3	5	6	–	–
$PYXL_1$	4	5	6	–	–

“ – ”表示为检测到最低抑菌浓度

根据表 4，为了对多糖抗菌活性进行比较，选择多糖浓度为 7.5mg/ml 最低抗细菌测试浓度。真菌无最低浓度，故认为 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 对真菌无抑制作用。

2.4.2　多糖抗菌活性　结果见表 5。从表 5 中可知，$XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 对 E. c，S. a，B. s 均有一定作用，且 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 对细菌 E. c，S. a，B. s 的作用在相同糖浓度下，作用效果变化不特别明显。比较可以看出，尽管 $PYXL_1$ 的提取率不及 $XJXL_1$，但是从抗菌活性这点就可以把雪莲组织培养物提取的水溶性多糖替代野生雪莲提取的水溶性多糖。

表 5　多糖 $XJXL_1$ 和 $PYXL_1$ 抗菌活性

糖样	浓度	抑菌圈 l/mm			
	C/mg · ml^{-1}	E. c	S. a	B. s	空白
$XJXL_1$	7.5	11.0	10.8	10.9	0.0
	15	11.4	11.0	11.0	0.0
	30	11.6	11.4	11.2	0.0
$PYXL_1$	7.5	10.8	10.8	11.6	0.0
	15	11.1	11.0	11.0	0.0
	30	11.4	11.2	11.0	0.0

3　结论

本实验通过对新疆雪莲多糖及其组织培养物进行水溶性多

糖的提取，进一步分离纯化得多糖 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$；PC、GC 分析，$XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 单糖组成基本相同。对 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 进行抗菌实验及清除自由基活性研究。抗菌实验表明 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 对细菌有作用，对真菌无作用。清除自由基活性实验模拟产生 · OH，O_2^- · 和 R · 的的 3 个体系，其浓度远大于体内这 3 种自由基的浓度[18]。结果发现，$XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 对 O_2^- · 和 · OH 都具有明显的清除作用，而且在实验模拟的浓度范围内与浓度成正相关；但对 R · 几乎无清除效果。表明 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 是一种清除自由基良好的抗氧化剂。氧自由基与机体衰老有很密切的关系，推测新 $XJXL_1$ 及 $PYXL_1$ 可作为抗衰老保健或药物在临床上使用，但还有待于体内实验进一步证实。

从多糖提取率来看，新疆雪莲组织培养物不及新疆天然雪莲，但从糖含量、清除自由基及抗菌活性研究中可以证明组织培养新疆雪莲可作为新疆天然雪莲的良好替代物以解决新疆天然雪莲资源短缺的问题，具有进一步研究开发的价值。

参考文献：

[1] 袁晓凡，赵　兵，王玉春. 雪莲的研究进展[J]. 中草药，2004，35(12)：1424.

[2] 卫生部药典委员会. 卫生部药品标准 · 中药材，第 1 册[S]. 1992：10.

[3] 赵德修，赵丽丽. 雪莲花的研究进展[J]. 中草药，1996，27(6)6：272.

[4] 熊宗贵. 生物技术制药[M]. 北京：高等教育出版社，1999：8.

[5] 杨　林，覃筱燕. 新疆天然雪莲的组织培养及植株再生[J]. 中央民族大学学报，2006，15(1)：26.

[6] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京：中国轻工业出版社，1994：65.

[7] 陈耀祖. 有机分析[M]. 北京：高等教育出版社，1981：55.

[8] 张惟杰. 复合多糖生化技术[M]. 上海：上海科技出版社，1987：209，110，65，6.

[9] 王秀奇，秦淑媛，高天慧. 总氮量的测定－凯氏定氮法. 基础生物化学实验[M]. 北京：高等教育出版社，1996：113.

[10] 罗　毅，潘细贵. 苯酚－硫酸法测定多糖含量显色方式的优选[J]. 中国中医药信息杂志，2005，12(1)：45.

[11] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京：中国轻工业出版社，1994：125.

[12] 刘成梅，万　茵，涂宗财，等. 百合多糖脱蛋白方法的研究[J]. 食品科学，2002 23(1)：89.

[13] 郭瑞华，翟　丽. 豆豉多糖的提纯及成分分析[J]. 时珍国医国药，2006，17(4)：511.

[14] 徐　程，陈云龙，张　铭. 细茎石斛多糖 DMP2a－1 的结构分析[J]. 中国药学杂志，2004，39(12)：900.

[15] 吴少林，谢四才，杨　莉，等. 几种光催化反应体系中羟基自由基表观生成率的实验研究[J]. 感光科学与光化学，2006，24(2)：102.

[16] 张海容. 沙棘果皮多糖清除氧自由基的活性研究[J]. 植物学通报，2005，22(6)：703.

[17] Hassan H M. Determination of micobial damage caused by oxygen free radicals, and the protective rule of superoxide diserntase[A]. IN: Packer Led Methods in Enzymology[C]. NewYork: Academic Press, 1984, 105: 404.

[18] Bielski B H J. Generation of superoxide radicals in aqueous and ethanolic solutions by vacuum－UV photolysis[A]. IN: Packer Led., Methods in Enzymology Vol. 105[C]. New York: Academic Press, 1984: 81.

[19] 王南舟，钟立人，黄高雄. 鱼精蛋白抗菌特性的研究[J]. 食品科学，2000，21(4)：43.

[20] Zheng YI, Chen Yin－shan, Lu Hai－sheng. Screening for antibacterial and antifungal antivities in some marine algae from the Fujian coast of China Chin[J]. Oceanol Limnol, 2001, 19(4): 326.

[21] 赵良忠，段林东，余有贵，等. 金银花抗菌物质的提取及其抑菌作用的研究[J]. 邵阳高等专科学校学报，2001，14(3)：204.

[22] 周志刚，刘志礼，刘雪娴. 极大螺旋藻多糖的分离、纯化及其抗氧化特性的研究[J]. 植物学报，1997，39(1)：77.

抑制乙酰胆碱酯酶活性的蛇足石杉内生真菌筛选

承　曦[1]，陈　钧[1]*，朱大元[2]，郭尚彬[1]

（1. 江苏大学药学院，江苏 镇江　212013；

2. 中国科学院上海生命科学研究院上海药物研究所新药研究国家重点实验室，上海 201023）

摘要：目的 筛选具有乙酰胆碱酯酶抑制活性的蛇足石杉内生真菌菌株。**方法** 采用 DTNB 显色法，优化条件后筛选；对蛇足石杉的 29 株内生真菌菌株发酵液醇提物进行了酶抑制活性的初步筛选。**结果** xg，g8，g5，xgc2，xy7 对乙酰胆碱酯酶具有较高的抑制率，其 IC_{50} 分别是 285.62，293.53，434.17，668.82，856.21 μg/ml。**结论** 蛇足石杉内生真菌 xg，g8，g5 发酵醇提物能够较为显著地抑制乙酰胆碱酯酶，为寻找具有乙酰胆碱酯酶抑制作用的药用资源开辟了一条新的途径。

关键词：乙酰胆碱酯酶；　蛇足石杉；　内生真菌

中图分类号：R284.1　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1008-0805(2008)11-2607-03

Screening of Endophytic Fungi Isolated from *Huperzia serrata* for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity

CHENG Xi[1], CHEN Jun[1]*, Zhu Da-yuan[2], GUO Shang-bin[1]

(1. *College of Pharmacology, Jiangsu University, Zhenjiang* 212013, *China*; 2. *State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Medicines, Shanghai Institutes of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai* 201023, *China*)

Abstract: Objective To screen endophytic fungi from *Huperzia serrata* for acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity in

收稿日期：2008-01-15；　**修订日期：**2008-04-18

基金项目：中国科学院知识创新工程重大项目子课题(No. KSCX1－SW－11－6)

作者简介：承　曦(1982-)，男(汉族)，江苏无锡人，现任江苏大学药学院在读硕士研究生，学士学位，主要从事药用植物内生真菌活性代谢产物筛选及新药研发工作.

*通讯作者简介：陈　钧(1947-)，男(汉族)，安徽芜湖人，现任江苏大学药学院教授，博士学位，主要从事天然产物活性成分研究工作.