

· 研究报告 ·

4 种黄山菊花品种的抗氧化和抗炎活性研究

汪 麟¹, 方 煜², 余文武², 洪 泽² (1. 黄山市产品质量检验研究院, 安徽 黄山 245000; 2. 黄山市光合生态农业发展有限公司, 安徽 黄山 245211)

[摘要] 目的 探究 4 种黄山菊花品种水提物的抗氧化和抗炎活性。方法 采用 ABTS、FRAP 和 DPPH 3 种方法测定黄山金丝皇菊、黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊 4 种菊花水提物的抗氧化活性, 并通过 NF- κ B 报告基因法和大鼠足肿胀模型评估其抗炎活性。结果 ABTS、FRAP 和 DPPH 结果显示, 4 种菊花水提物均具有抗氧化作用, 其中黄山金丝皇菊作用最强, 其次是黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。NF- κ B 报告基因和大鼠足肿胀模型结果显示, 4 种菊花提取物均能够一定程度的抑制 LPS 诱导的 NF- κ B 转录活性和缓解角叉菜胶致大鼠足趾肿胀程度, 其中, 黄山皇菊作用最为显著, 其次是黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。结论 4 种黄山菊花品种的水提物均表现出一定的抗氧化及抗炎活性, 其抗氧化活性由强到弱依次为黄山金丝皇菊、黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊, 抗炎活性由强到弱依次为黄山皇菊、黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。

[关键词] 抗氧化; 抗炎; 菊花; 足肿胀

[文章编号] 2097-2024(2023)05-0325-04

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202211024

Antioxidant and anti-inflammatory activities of four kinds of Huangshan chrysanthemum

WANG Lin¹, FANG Yu², YU Wenwu², HONG Ze² (1. Huangshan Product Quality Inspection Institute, Huangshan 245000, China; 2. Huangshan Photosynthetic Ecological Agriculture Development Co., Ltd, Huangshan 245211, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the antioxidant and anti-inflammatory activities of four kinds of Huangshan chrysanthemum. **Methods** ABTS, FRAP and DPPH were used to detect the antioxidant activities of *Huangshan golden silk chrysanthemum*, *Huangshan chrysanthemum*, *Huangshan gongju*, and *Huangshan dendranthema*. Their anti-inflammatory activities were evaluated by NF- κ B reporter gene assay and rat foot swelling models. **Results** The outcomes of ABTS, FRAP and DPPH showed that the water extracts of four kinds of chrysanthemum all had certain antioxidant activities and the activities of *Huangshan golden silk chrysanthemum* were strongest, followed by *Huangshan chrysanthemum*, *Huangshan gongju*, and *Huangshan dendranthema*. Results of NF- κ B reporter gene assay and rat foot swelling models showed that four extracts of chrysanthemum morifolium could inhibit the transcription of NF- κ B induced by LPS and alleviate foot swelling of rat induced by carrageenan, with the strongest activity of *Huangshan chrysanthemum*, followed by *Huangshan golden silk chrysanthemum*, *Huangshan gongju*, and *Huangshan dendranthema*. **Conclusion** The antioxidant activities of *Huangshan golden silk chrysanthemum* were strongest, followed by *Huangshan chrysanthemum*, *Huangshan gongju*, and *Huangshan dendranthema*. The anti-inflammatory activities of *Huangshan chrysanthemum* were strongest, followed by *Huangshan golden silk chrysanthemum*, *Huangshan gongju*, and *Huangshan dendranthema*.

[Key words] antioxidation; anti-inflammation; chrysanthemum; feet swelling

菊花为菊科植物菊花的干燥头状花序, 是一种常见的药食两用的花卉, 具有清热、明目、疏风、解毒之功效^[1-2]。根据经典的记载, 中国栽培菊花历史已有 3 000 多年。汉朝《神农本草经》记载: “菊花久服能轻身延年”。现代药理学研究表明, 菊花具

有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗炎以及保肝等作用^[3-12], 因此, 常作为保健饮品服用。安徽黄山是菊花的重要产地, 拥有黄山金丝皇菊、黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊等多个品种, 其中皇菊的黄酮含量极高, 富含多种氨基酸、维生素和微量硒元素, 具有重要的药用价值; 而道地黄山贡菊更是菊花中的上品, “白边黄芯绿屁股”, 处于四大药菊之首。本研究主要对以上四种菊花品种进行研究, 对比其抗氧化及抗炎活性, 为菊花抗氧化和抗炎品种的开发提

[作者简介] 汪 麟, 本科, 高级工程师, 研究方向: 食品质量控制和食品检验, Email: 695221578@qq.com

[通信作者] 洪 泽, 本科, 研究方向: 黄山菊花的质量控制, Email: kimi2316@163.com

供参考和借鉴。

1 材料与试剂

4 种菊花(黄山金丝皇菊、黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊)来源于黄山市产品质量检验研究院;总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS 法)、总抗氧化能力检测试剂盒(FRAP 法)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼试剂盒(DPPH 法)购自 Solarbio;双报告基因检测试剂盒购自 Promega;LPS 购自美国 Sigma 公司;SD 大鼠,雄性,体重 180~220g,购自上海斯莱克实验动物中心。

2 实验方法

2.1 菊花提取工艺

4 种不同菊花经粉碎机粉碎并过 60 目筛,各取 100 g,加入 1000 ml 去离子水浸泡 12 h,然后加热回流提取 2 h,过滤去除滤渣,滤液用旋转蒸发仪(60℃)蒸发去除溶剂,然后经真空干燥彻底去除水分^[13]。由于 4 种菊花水提物得率基本一致(约 17%),因此后续用相同质量的水提物表征同等质量的菊花。

2.2 ABTS 法检测抗氧化能力

将等体积的 ABTS 溶液和氧化剂溶液混合配置成 ABTS 工作母液,室温避光存放 24 h。使用前,把 ABTS 工作液用 PBS 稀释 30~50 倍,要求 ABTS 工作液的吸光度减去相应的 PBS 空白对照后, A734 为 0.7±0.05,对应的 A405 在 1.4 左右。称取菊花粗提物粉末 100 mg,用适量蒸馏水充分溶解。同时,用蒸馏水将 10 mmol/L Trolox 标准溶液稀释成 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L。于 96 孔板的每个检测孔中加入 200 μl ABTS 工作液,空白对照孔中加入 10 μl 蒸馏水;标准曲线检测孔中加入 10 μl 各浓度 Trolox 标准溶液;样品检测孔中加入 10 μl 样品溶液,轻轻混匀。室温孵育 2~6 min 后测定 A734。根据标准曲线计算样品的总抗氧化能力^[14]。

2.3 FRAP 法检测总抗氧化能力

将 TPTZ 稀释液与 TPTZ 溶液充分混匀再加入检测缓冲液,从而配制成 FRAP 工作液。称取菊花粗提物粉末 100 mg,用适量蒸馏水充分溶解。称取 27.8 mg 本试剂盒提供的 FeSO₄·7H₂O,溶解并定容到 1 ml,此时浓度即为 100 mmol/L。取适量 100 mmol/L FeSO₄ 溶液用蒸馏水稀释至 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L。于 96 孔板的每个检测孔中加入 180 μl FRAP 工作液,空白对照孔

中加入 5 μl 蒸馏水;标准曲线检测孔中加入 5 μl 各浓度 FeSO₄ 标准溶液;样品检测孔中加入 5 μl 样品溶液,轻轻混匀。室温孵育 2~6 min 后测定 A593。根据标准曲线计算样品的总抗氧化能力^[14]。

2.4 DPPH 法检测总抗氧化能力

称取菊花粗提物粉末 100 mg,用适量蒸馏水充分溶解。同时,用蒸馏水将 10 mmol/L Trolox 标准溶液稀释成 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L。于 96 孔板的每个检测孔中加入 190 μl DPPH 工作液,空白对照孔中加入 10 μl 蒸馏水;标准曲线检测孔中加入 10 μl 各浓度 Trolox 标准溶液;样品检测孔中加入 10 μl 样品溶液,混匀后室温避光静置 30 min,测定 A515。根据标准曲线计算样品的总抗氧化能力^[14]。

2.5 双报告基因法测定菊花提取物的抗炎活性

Raw264.7 细胞以适当密度接种于 96 孔板,实验分别设置空白组、LPS 刺激组和不同药物浓度处理组,每组分别设置 3 个复孔。细胞过夜贴壁,利用转染试剂共转染报告基因质粒 pNF-κB-Luc 和 pRL-SV40,转染 6 h 后换液。转染 24 h 后加药,药物孵育 2 h 后加入 LPS(终浓度 1 μg/ml)刺激 6 h,双报告基因法检测 NF-κB 转录活性。

2.6 菊花提取物对角叉菜胶致小鼠足肿胀的治疗作用

取 SD 大鼠 48 只,随机分为 6 组,分别为空白组、模型组、菊花水提物给药组(2 g/kg,相当于菊花 11.76 g/kg)。各组大鼠连续灌胃给药 3 d,模型组给予相同体积的生理盐水,第 4 天于每只大鼠右后足垫皮下注射 1.0% 角叉菜胶 100 μl,致炎后灌胃给予相应药物,分别在致炎前和致炎后 1、2、4 h,测量大鼠致炎侧足容积,计算足趾肿胀率和肿胀抑制率^[15-16]。按下式计算小鼠足趾肿胀率和抑制率:肿胀率=(致炎后足趾体积-致炎前足趾体积)/致炎前足趾体积×100%,抑制率=(模型组足趾肿胀率-给药组足趾肿胀率)/模型组足趾肿胀率×100%。

3 数据统计

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,单因素方差分析(One way ANOVA)比较各组差异,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

4 实验结果

4.1 线性关系

ABTS、FRAP 和 DPPH 线性方程以及相关系数见表 1。

表 1 ABTS、FRAP、DPPH 的线性方程及相关系数

项目	方程	相关系数
ABTS	$Y=0.662\ 4X+0.715\ 3$	$r=0.999\ 5$
FRAP	$Y=0.298\ 5X+0.060$	$r=0.999\ 4$
DPPH	$Y=0.459\ 8X-0.023\ 8$	$r=0.998\ 9$

从表 1 可以看出, ABTS、FRAP 以及 DPPH 测定方法具有很好的线性。

4.2 4 种菊花水提物抗氧化能力

ABTS 法检测菊花水提物总抗氧化能力, 结果显示, 4 种菊花的抗氧化能力存在明显差异, 其中, 黄山金丝皇菊抗氧化能力最强, 为 (0.481 ± 0.052) mmol/g(总抗氧化能力用 TEAC 标准溶液表示), 其次是黄山皇菊, 为 (0.402 ± 0.043) mmol/g, 然后依次是黄山贡菊 (0.369 ± 0.031) mmol/g 和黄山黄菊 (0.287 ± 0.014) mmol/g。FRAP 和 DPPH 检测以上四种菊花水提物抗氧化能力, 结果与 ABTS 法类似, 黄山金丝皇菊抗氧化能力最强, 其次依次是黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。综上, 可以得出结论: 黄山金丝皇菊水提物抗氧化能力最强, 其次是黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊(表 2)。

表 2 4 种菊花抗氧化能力

名称/抗氧化能力	FRAP(mmol FeSO ₄ /g)	ABTS(mmol Trolox/g)	DPPH(mmol Trolox/g)
黄山金丝皇菊	0.504 ± 0.049	0.481 ± 0.052	0.359 ± 0.025
黄山皇菊	0.421 ± 0.036	0.402 ± 0.043	0.305 ± 0.033
黄山贡菊	$0.347\pm0.028^{##}$	0.369 ± 0.031	$0.277\pm0.041^{\#}$
黄山黄菊	$0.270\pm0.017^{###,**}$	$0.287\pm0.014^{###}$	$0.208\pm0.019^{###,*}$

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与黄山皇菊比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, 与黄山金丝皇菊比较。

4.3 4 种菊花水提物对 LPS 诱导的 NF- κ B 转录活性的影响

利用双报告基因的方法检测 4 种菊花水提物对 Raw264.7 细胞 NF- κ B 转录活性的影响, 结果显示 4 种菊花水提物均能够一定程度的抑制 LPS 诱导的 NF- κ B 的转录活性。相同作用浓度下, 黄山皇菊 NF- κ B 抑制活性最强, 其次依次是黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。结果表明黄山皇菊抗炎作用最强, 其次是黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊(图 1)。

4.4 4 种菊花水提物对角叉菜胶致大鼠急性炎症的影响

为了进一步确认 4 种菊花提取物的抗炎活性, 我们构建了角叉菜胶致大鼠足肿胀模型。大鼠足趾肿胀率和肿胀抑制率如表 3 所示, 1 h 时间点, 给

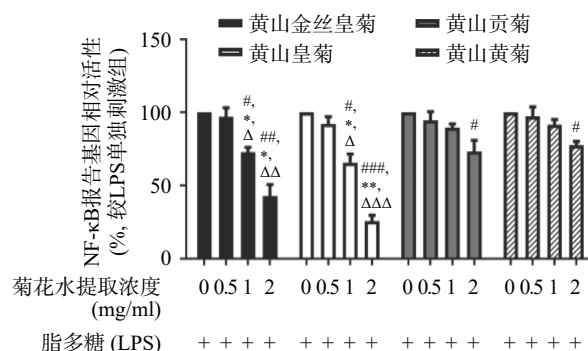


图 1 4 种菊花水提物对 LPS 诱导的 NF- κ B 转录活性的影响

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与黄山贡菊相同剂量组比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, 与 LPS 单独刺激组比较; Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$, $\Delta\Delta\Delta$ $P<0.001$, 与黄山黄菊相同剂量组比较。

予菊花水提物处理的各组大鼠足趾肿胀均低于模型对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。2 h 时间点, 黄山皇菊和黄山金丝皇菊对足趾肿胀仍然具有抑制作用, 而黄山贡菊和黄山黄菊抑制作用消失; 组间比较, 黄山皇菊足趾肿胀抑制作用优于黄山贡菊和黄山黄菊($P<0.05$)。4 h 时间点, 各组对足趾肿胀的抑制作用消失。综上结果表明, 黄山皇菊的抗炎活性最好, 其次是黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊, 该结论与 NF- κ B 报告基因结果一致。

表 3 角叉菜胶致大鼠急性炎症模型结果 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	1 h		2 h		4 h	
	肿胀率 (%)	抑制率 (%)	肿胀率 (%)	抑制率 (%)	肿胀率 (%)	抑制率 (%)
模型组	41.6 ± 4.5	—	52.5 ± 10.7	—	45.1 ± 8.2	—
黄山金丝皇菊	$31.5\pm 5.9^{\#}$	24.3	$42.3\pm 7.1^{\#}$	19.5	44.9 ± 8.8	0.5
黄山皇菊	$28.9\pm 5.9^{##}$	30.6	$38.9\pm 7.8^{##,*\Delta\Delta}$	26.0	46.4 ± 10.0	-2.8
黄山贡菊	$31.8\pm 6.3^{\#}$	23.7	50.0 ± 11.7	4.8	46.4 ± 8.3	-2.8
黄山黄菊	$33.3\pm 6.2^{\#}$	20.1	51.0 ± 7.3	2.9	44.9 ± 8.8	0.6

* $P<0.05$, 与黄山贡菊比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, 与模型组比较; $\Delta\Delta$ $P<0.01$, 与黄山黄菊比较。

5 结论

本研究采用 ABTS、FRAP 和 DPPH 这 3 种方法测定了 4 种黄山菊花水提物的抗氧化活性, 并通过报告基因法和大鼠足肿胀模型评估了其抗炎活性。结果表明, 4 种菊花表现出不同的抗氧化活性和抗炎活性, 其中黄山金丝皇菊的抗氧化能力最强, 其次是黄山皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊; 而黄山皇菊的抗炎活性最强, 其次是黄山金丝皇菊、黄山贡菊和黄山黄菊。菊花中黄酮类化合物具有清除自由基和超氧阴离子的能力, 其抗氧化能力与黄酮

类化合物含量有关;而菊花中的抗炎成分相对复杂,包含多糖、黄酮类化合物(如木犀草素、槲皮素及黄酮苷等)、有机酸(如绿原酸)和挥发油等,4 种不同菊花在抗炎及抗氧化方面的活性差异可能与上述成分的差异有关^[2,17-18]。尽管不同菊花品种在抗氧化和抗炎活性方面存在差异,但是均表现出良好的药用及食用价值,人们在日常生活中可以根据使用目的的不同进行选择,如考虑通过饮用菊花茶起到抗氧化目的,可以优先选用金丝皇菊,而如果考虑菊花抗炎作用,则可以考虑黄山皇菊。总之,4 种黄山道地菊花提取物均表现出一定的抗氧化活性及抗炎活性,常饮之有保健功效。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2022, 323.
- [2] 王德胜, 黄艳梅, 石岩, 等. 菊花化学成分及药理作用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(23): 9-11, 17.
- [3] 张健, 李友宾, 钱大玮, 等. 菊花化学成分及药理作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(10): 1941-1942.
- [4] YANG W S, KIM D, YI Y S, et al. AKT-targeted anti-inflammatory activity of the methanol extract of *Chrysanthemum indicum* var *albescens*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 201: 82-90.
- [5] YANG L, AOBULIKASIMU-NUERBIYE, CHENG P, et al. Analysis of floral volatile components and antioxidant activity of different varieties of *Chrysanthemum morifolium*[J]. *Molecules*, 2017, 22(10): 1790.
- [6] XUE G M, LI X Q, CHEN C, et al. Highly oxidized guaianolide sesquiterpenoids with potential anti-inflammatory activity from *Chrysanthemum indicum*[J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(2): 378-386.
- [7] LI Y F, YANG P Y, LUO Y H, et al. Chemical compositions of *chrysanthemum teas* and their anti-inflammatory and antioxidant properties[J]. *Food Chem*, 2019, 286: 8-16.
- [8] MING K, CHEN Y, SHI J T, et al. Effects of *Chrysanthemum indicum* polysaccharide and its phosphate on anti-duck hepatitis a virus and alleviating hepatic injury[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 102: 813-821.
- [9] ZHAO W H, ZENG C, JIA Q Q, et al. Effects of the Kunlun snow *chrysanthemum* polysaccharides on acetaminophen-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis using animal model[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2018, 31(3): 985-990.
- [10] KIM K J, KIM Y H, YU H H, et al. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Chrysanthemum boreale*[J]. *Planta Med*, 2003, 69(3): 274-277.
- [11] KUANG C L, LV D, SHEN G H, et al. Chemical composition and antimicrobial activities of volatile oil extracted from *Chrysanthemum morifolium* Ramat[J]. *J Food Sci Technol*, 2018, 55(7): 2786-2794.
- [12] LEE J S, KIM H J, LEE Y S. A new anti-HIV flavonoid glucuronide from *Chrysanthemum morifolium*[J]. *Planta Med*, 2003, 69(9): 859-861.
- [13] 宋雷, 绽春蕊, 杨世英, 等. 杭黄菊提取物的体外抗菌活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2015, 27: 455-458.
- [14] 杨璐齐, 陈冠林, 俞憬, 等. 6种菊花抗氧化活性及总酚含量的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(18): 6-10.
- [15] 白小军, 杨锋, 呼睿, 等. 消肿止痛膏对足肿胀模型大鼠足肿胀度的影响[J]. *陕西中医*, 2017, 38(8): 1144-1145.
- [16] 肖百全, 朱少璇, 杨威, 等. 角叉菜胶致大鼠足肿胀模型探讨及其机制研究[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(23): 63-65.
- [17] 张晓媛, 段立华, 赵丁. 菊花化学成分及药理作用的研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(7): 1702-1704.
- [18] 瞿璐, 王涛, 董勇喆, 等. 菊花化学成分与药理作用的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2015, 1: 98-104.
- [收稿日期] 2022-11-09 [修回日期] 2023-02-24
- [本文编辑] 李睿旻

(上接第 276 页)

- [31] 蔡志基, 李密, 王越, 等. 国产河豚毒素的药理研究(摘要)[J]. *河北水产科技*, 1983(1): 1-3.
- [32] LI W J, BERGMAN S M, HOLMES R P, et al. Tetrodotoxin protects against acute ischemic renal failure in the rat[J]. *J Urol*, 1992, 147(2): 519-522.
- [33] 刘皓, 刘延东. 河豚毒素在制备治疗前列腺病症药物组合物中的应用、药物组合物及制备方法: CN107308166A[P]. 2017-11-03.
- [34] 徐跑, 赵继红, 蒋火金, 等. 河豚毒素在制备抑制肺癌细胞或肿瘤增长的药物中的应用: CN108524521A[P]. 2018-09-14
- [35] W·林, 克劳德·卡迪纳尔, F·H·沈. 河豚毒素的固体口服制剂: CN1972689A[P]. 2007-05-30.
- [36] KAVOOSI M, O'REILLY T E, KAVOOSI M, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and concentration-QTc analysis of tetrodotoxin: a randomized, dose escalation study in healthy adults[J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(8): E511.
- [37] 赵继红, 汤波澜. 一种河豚毒素口服液态制剂及其制备方法: CN102784102A[P]. 2015-01-21.
- [38] HAGEN N A, CANTIN L, CONSTANT J, et al. Tetrodotoxin for moderate to severe cancer-related pain: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design trial[J]. *Pain Res Manag*, 2017, 2017: 7212713.
- [39] HONG B, HE J, SUN J, et al. Analgesia effect of enteric sustained-release tetrodotoxin pellets in the rat[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(1): E32.
- [40] H·布希曼, J·M·维拉·赫尔南德斯, J·M·贝扬斯. 钠通道阻滞剂治疗由于化疗而产生的神经病理性疼痛的用途: CN 101563079 A[P]. 2013-09-04.
- [41] 易瑞灶, 陈晖, 洪碧红, 等. 河豚毒素冻干粉针剂及其制备方法: CN101352422A[P]. 2009-01-28.
- [收稿日期] 2022-07-30 [修回日期] 2022-11-18
- [本文编辑] 崔俐俊