

当归醇提物阿魏酸含量和体外抗氧化性检测

孙晓春, 李 铂, 黄文静, 王 楠, 宋忠兴, 唐志书

(陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712083)

摘 要:为明确宕昌当归醇提物中阿魏酸含量和体外抗氧化能力,采用高效液相色谱法检测了12批当归药材中阿魏酸含量,并对4批当归药材醇提物的体外抗氧化能力进行了检测。结果表明,阿魏酸含量在0.1393%~0.2335%范围内,均高于中国药典规定的0.05%。当归醇提物的体外抗氧化能力($\cdot\text{OH}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和总抗氧化能力)均高于同浓度下Vc的抗氧化能力。综上,宕昌当归醇提物具备良好的体外抗氧化能力,可作为潜在天然抗氧化剂。

关键词:宕昌当归;醇提物;阿魏酸;抗氧化

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,其性温,味甘、辛。归肝、心、脾经;具有补血活血、调经止痛等功效^[1~2]。主要包括挥发油^[3]、多糖^[4]、有机酸^[5]等成分。研究显示,阿魏酸具有抗氧化和清除自由基的作用,同时还具有抗肿瘤、降血脂、抗病毒等重要作用^[2,6]。《中国药典》2015年版将阿魏酸规定为当归药材的检测指标。王婕等^[7]建立了HPLC法测定当归药材中阿魏酸和藁本内酯含量的方法。李琰等^[8]以HPLC法测定21个产地当归的阿魏酸含量,阿魏酸的含量在0.243%~1.026%之间,结果表明不同产地的当归阿魏酸含量相差较大。目前关于当归多糖^[9~10]、挥发油^[11]的抗氧化活性研究均有报道。笔者对甘肃省陇南市宕昌县采收的12批当归药材中阿魏酸含量进行了测定,并对其中4批药材醇提物的体外抗氧化活性进行了检测,为天然抗氧化剂的开发提供数据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

当归采收于甘肃省陇南市宕昌县。经陕西中医药大学中药鉴定教研室王继涛高级实验师鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。

阿魏酸对照品(批号 wkq17022303,四川省维克奇生物科技有限公司出品),甲醇(成都市科隆化学有限公司),DPPH(笛医生物科技有限公司),Vc(成都科龙化工试剂厂),总抗氧化能力试剂盒

(批号 20180306,南京建成生物工程研究所),超氧阴离子清除能力试剂盒(批号 201702,苏州科铭生物技术有限公司)。

KQ3200 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),FA2004B 电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司),UV-2600 紫外分光光度计(日本岛津),1510 全波长酶标仪(赛默飞世尔科技公司),e2695 高效液相色谱仪(沃特世科技有限公司)。

1.2 当归醇提物制备

参照《中国药典》2015年版进行制备。

1.3 阿魏酸含量检测

参照《中国药典》2015年版,色谱条件:色谱柱 Agilent TC-C18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),以乙腈-0.085%磷酸溶液(17:83)为流动相;流速 1.0 mL·min⁻¹ 检测波长为 316 nm;柱温 35 ℃。

1.4 清除 DPPH· 活性测定方法

参照吴小燕等^[12]的清除 DPPH· 活性测定方法。

1.5 清除·OH 活性测定方法

参照汪荔等^[13]的清除·OH 活性测定方法,以水杨酸法测·OH 清除率。

1.6 总抗氧化能力测定

按照试剂盒说明书操作。

1.7 清除超氧阴离子自由基活性

按照试剂盒说明书操作。

1.8 统计分析

试验所得数据利用 Excel 2013 进行分析和制图。

收稿日期:2018-09-18 修回日期:2018-10-31

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-C-QIN-45)。

第一作者简介:孙晓春(1985-),女,河北保定人,讲师,研究方向为药用植物栽培与质量控制。

通信作者:唐志书。

2 结果与分析

2.1 阿魏酸含量检测结果

阿魏酸对照品色谱图如图 1A 所示,当归样品

色谱图如图 1B 所示,其中保留时间 17.1 min 色谱峰为阿魏酸。12 批当归样品中阿魏酸含量检测结果如表 1 所示。阿魏酸含量在 0.1393%~0.2335%之间,均高于中国药典规定的 0.05%。

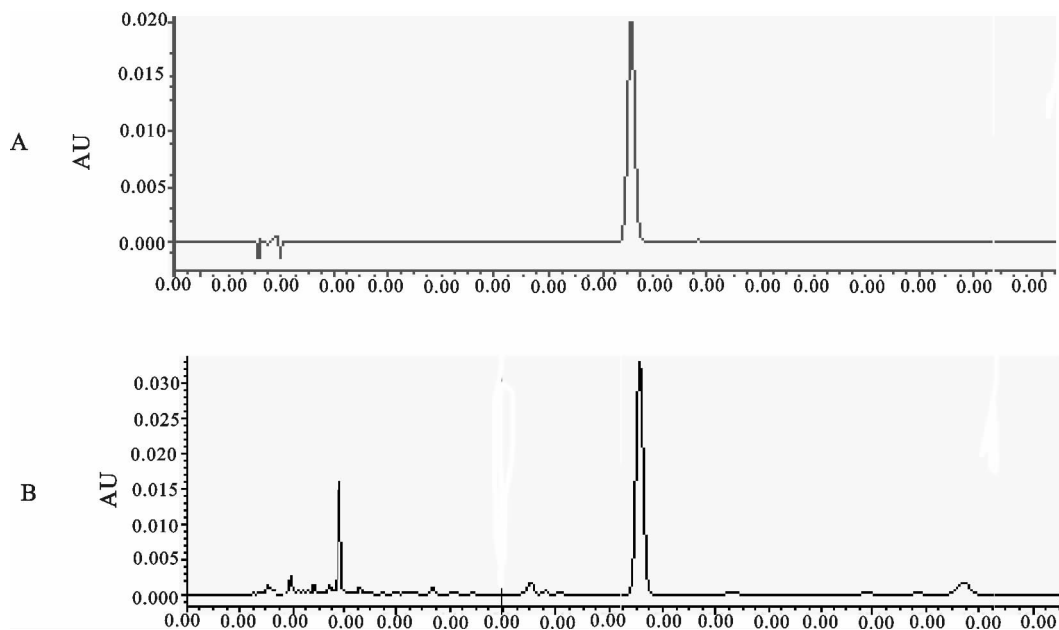


图 1 对照品(A)和供试品(B)高效液相色谱

表 1 阿魏酸含量检测结果

编号	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7	s8	s9	s10	s11	s12
阿魏酸含量/%	0.2335	0.2231	0.1858	0.1393	0.1863	0.2064	0.1834	0.1765	0.2142	0.1597	0.1594	0.1955

2.2 体外抗氧化性检测结果

2.2.1 清除 DPPH· 活性测定结果 随机选取 4 批当归醇提物(s2、s7、s10 和 s12)进行体外抗氧化活性检测,以 Vc 作为对照。对 DPPH· 清除结果如图 2 所示。4 批当归醇提物对 DPPH· 均具有清除作用,并且随浓度增加,清除作用增加,呈量效关系。浓度为 $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,s2、s7、s10 和 s12 对 DPPH· 的清除率分别为 77.98%、81.44%、81.97%和 85.16%,相同浓度下 Vc 对 DPPH· 的清除率为 53.65%。结果表明当归醇提物对 DPPH· 的清除作用高于 Vc 对 DPPH· 的清除作用。

2.2.2 清除 ·OH 活性测定结果 对 ·OH 的清除结果如图 3 所示。4 批当归醇提物对 ·OH 的清除作用良好。浓度为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,s2、s7、s10 和 s12 对 ·OH 的清除率分别为 53.06%、47.15%、67.45%和 62.42%,相同浓度下 Vc 对 ·OH 的清除率为 6.56%。结果表明当归醇提物对 ·OH 的清除作用高于 Vc 对 ·OH 的清除作用。

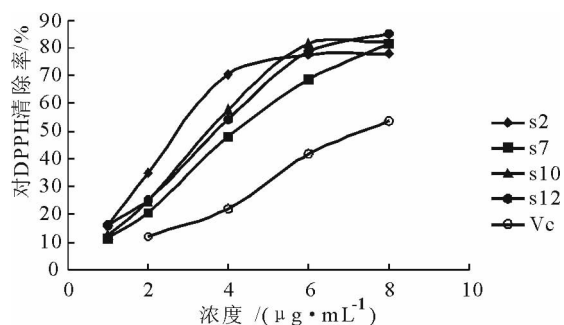


图 2 当归醇提物和 Vc 对 DPPH· 清除结果

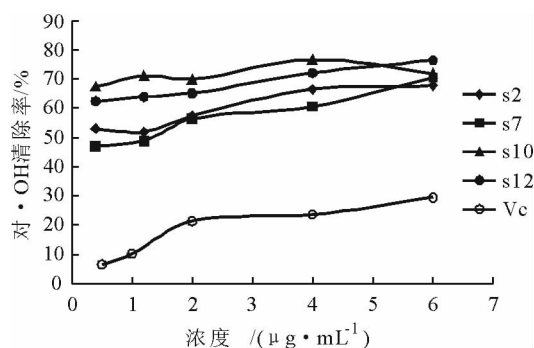


图 3 当归醇提物和 Vc 对 ·OH 清除结果

2.2.3 清除超氧阴离子自由基活性测定结果
对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除结果如图 4 所示。4 批当归醇提取物对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除作用良好,无显著性差异,而其清除能力明显高于 Vc 对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除能力。浓度为 $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,s2、s7、s10 和 s12 对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除率分别为 49.09%、45.42%、57.03%和 57.80%,Vc 对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除率为 19.28%。

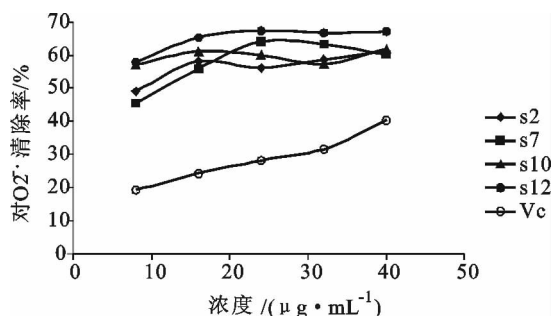


图 4 当归醇提取物和 Vc 对 $O_2^{\cdot -}$ 清除结果

2.2.4 总抗氧化能力测定结果 按照试剂盒方法操作,样品抗氧化活性以达到同样 A 值所需的 FeSO_4 的浓度($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)表示,所需 FeSO_4 的量越大,表明总抗氧化能力越高。结果如图 5 所示,在相同浓度下,当归醇提取物的总抗氧化能力均高于 Vc 的总抗氧化能力。

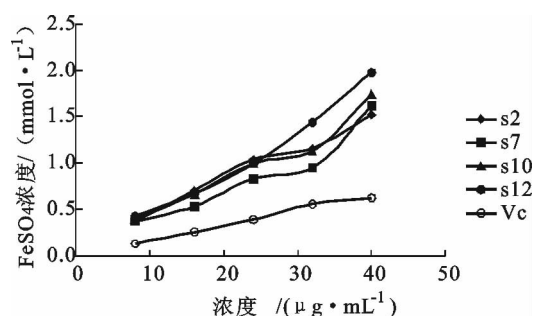


图 5 当归醇提取物和 Vc 的总抗氧化能力检测结果

3 结论

所采样品中阿魏酸含量在 0.1393% ~ 0.2335% 之间,均高于中国药典规定的 0.05%。采用四种体系($\cdot\text{OH}$ 、 $\text{DPPH} \cdot$ 、 $O_2^{\cdot -}$ 和总抗氧化能力)检测了当归醇提取物的体外抗氧化能力,均高于同浓度下 Vc 的抗氧化能力。结果表明,宕昌当归

醇提取物具有良好的体外抗氧化能力,可为天然抗氧化剂的开发提供理论数据。

参 考 文 献:

- [1] 李曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(06):1 023-1 028.
- [2] 钟小明,陈旭东,余鸿. 当归药理作用的研究进展[J]. 四川解剖学杂志, 2007, 15(01):44-46.
- [3] Wanling Y, Ling Z, Yongli H, et al. The investigation of anti-inflammatory activity of volatile oil of Angelica sinensis by plasma metabolomics approach [J]. International Immunopharmacology, 2015, 29(02):269-277.
- [4] Wang J, Ge B, Li Z, et al. Structural analysis and immunoregulation activity comparison of five polysaccharides from Angelica sinensis [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 140:6-12.
- [5] Wei W L, Huang L F. Simultaneous determination of ferulic acid and phthalides of Angelica sinensis based on UPLC-Q-TOF/MS. [J]. Molecules, 2015, 20(03):4681-494.
- [6] 申安. 高效液相色谱法测定不同产地当归中阿魏酸的含量[J]. 中医学报, 2015, 30(03):421-422.
- [7] 王婕,赵建邦,宋平顺. 30 批当归中阿魏酸、藁本内酯含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):70-73.
- [8] 李球,徐丽珍,林佳,等. 不同产地当归中阿魏酸的含量比较[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(11): 838-840.
- [9] 田苏阳,郝长春,孙润广,等. 超声波提取的当归多糖化学修饰及其抗氧化活性研究[J]. 植物科学学报, 2015, 33(04):545-553.
- [10] 贾敏,杨铁虹,姚秀娟,等. 当归多糖硫酸酯的抗氧化作用研究[J]. 中药材, 2007, 30(02):185-188.
- [11] 吴海燕,华永丽,郭延生,等. 甘肃岷县当归不同药用部位挥发油的提取及其成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(09):1 225-1 229.
- [12] 吴小燕,王仁才,石浩,等. 小米枣黄酮、多糖及其复配物体外抗氧化性评价[J]. 中南药学, 2016, 14(10):1 070-1 074.
- [13] 汪荔,王征,张娇,等. 传统工艺与膜分离技术联合对马齿苋多糖的提取分离与抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(10):1 676-1 681.