

量瓶中,用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得。对照品溶液的制备:取 105 °C 干燥至恒重的马来酸多潘立酮对照品约 12.72 mg,精密称定,置 100 ml 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸适量,超声溶解,冷却,加 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 ml,置 25 ml 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度,摇匀,即得。测定法:取上述对照品溶液与供试品溶液,照分光光度法(中国药典二部附录 IV A),在 284 nm 波长处分别测定吸收度,计算,即得。两种方法试验测定结果见表 2。拟建立的高效液相新方法与原紫外光谱方法结果无显著性差异。

表 2 两种含量测定方法试验结果

批号	HPLC 法	UV 法	标准规定
100706	100.6	100.2	
100607	100.5	98.6	
081202	100.5	100.8	90.0%~110.0%
100404	99.0	99.4	
100307	101.2	101.2	

3 结论

本文建立了高效液相色谱法测定马来酸多潘立酮片含量的方法,该方法采用甲醇-0.5%乙酸铵(55:45)作为流动相,0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)超声提取马来酸多潘立酮,经十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱分离,在检测波长为 285 nm 条件下测定,其线性范围、相关系数、方法精密度、稳定性、重现性及回收率等指标均符合分析检测的要求,并且操作方便,结果准确可靠,与原紫外测定方法测定结果无明显差异,且专属性及先进性均优于原方法,适用性更广,是标准提高改进的理想方法。

参考文献

- [1]国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015.512
- [2]British Pharmacopoeia Commission. 英国药典[S].British:TSO (The Stationery Office),2013.附录 III B, VIII L

(收稿日期:2016-09-16)

南丹参不同提取部位体外抗氧化活性比较*

李晶¹ 沈震亚² 陈超¹ 文萍^{1#}

(1 江西省中医药研究院 南昌 330046; 2 江中药业股份有限公司 江西南昌 330046)

摘要:目的:研究南丹参不同提取部位对 1,1-二苯基苦肼(DPPH)的清除能力,结合化学成分分析,初步揭示南丹参抗氧化物质基础。方法:用回流提取法、水煎煮提取法结合不同溶剂梯度萃取法制备南丹参 8 个不同提取部位,通过观察其对 DPPH 自由基清除能力测定南丹参提取部位的体外抗氧化活性,并结合 HPLC 化学成分分析揭示其抗氧化作用物质基础。结果:南丹参各提取物中 5 个提取部位均有不同程度的体外抗氧化活性,其中以水-萃取后水部位抗氧化效果最佳,其次为醇-水沉部位,按每克药材计 DPPH 清除量分别为 155.269 mg 和 109.305 mg。结论:通过对南丹参不同提取部位抗氧化活性能力比较结合 HPLC 成分分析,发现其主要抗氧化活性成分为其中所含的原儿茶醛、丹酚酸 B、丹参素钠和丹参酮 II A。

关键词:南丹参;提取部位;DPPH

中图分类号:R965

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.10.045

南丹参是江西省广泛分布的野生药用资源,收载于 2014 年版江西省中药材标准,为唇形科植物南丹参 *Salvia bowleyana* Dunn 的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦的功效^[1],在我国部分地区作为丹参的替代用药使用^[2]。郭巧茹等^[3]通过 1,1-二苯基苦肼(DPPH)清除法对南丹参不同器官的抗氧化能力进行了比较研究,发现酚酸类成分是南丹参抗自由基的主要活性成分。本次实验通过对南丹参药材各个提取部位进行抗氧化活性研究,从中筛选出 DPPH 清除能力强的活性部位并通过 HPLC 法对其抗氧化活性成分进行了鉴定。现报告如下:

1 材料

1.1 提取部位的制备

1.1.1 药材来源 南丹参药材采自江西省都昌县

武山镇武山林场(经度:116° 28'12.36", 纬度:29° 31'54.12"),原植物经我院虞金宝研究员鉴定为南丹参,采集后除去杂质,低温烘干,并粉碎成过 40 目筛的粉末,备用。

1.1.2 醇溶性各提取部位的制备 取南丹参药材粉末 20 g 置平底烧瓶中,加 6 倍量乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并乙醇提取液,取适量稀释至药材含量为 0.4 g/ml,备测,剩余部分减压回收乙醇,加纯净水稀释成药材含量为 1 g/ml 的混悬液,依次以等量石油醚(60~90 °C)、乙酸乙酯、正丁醇梯度萃取 2 次,分别收集各部位及水沉部位。

1.1.3 水溶性各提取部位制备 取上述回流提取后的药渣,挥去乙醇加 6 倍量水煎煮提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并水煎煮液,取适量稀释至药材含量为 0.4 g/ml,备测,剩余部分减压浓缩至药材含量 1

* 基金项目:江西省自然科学基金青年基金项目(编号:20142BAB215065)

通讯作者:文萍, E-mail: 14834129@qq.com

g/ml,先后以等量乙醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 2 次,分别收集各部位及水部位。

1.2 仪器与试剂 SHIMADZU UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);1,1-二苯基苦肼(美国 Sigma 公司),无水乙醇(分析纯),娃哈哈纯净水。

2 实验内容及方法

2.1 DPPH 自由基清除测定法 分别精密吸取 1 ml 南丹参各提取部位,配 1 mg/ml 浓度的待测溶液,加入 0.102 mg/ml 的 DPPH 溶液 3 ml,摇匀后放置 60 min,以无水乙醇为空白对照,测定 517 nm 处的吸收度值,记为 A1;再测定上述 1 ml 无水乙醇与 3 ml DPPH 溶液混合后 517 nm 处的吸收值,记为 A2,通过以下公式计算对 DPPH 自由基的清除量。清除量(mg/g)=(A1-A2)÷ A1× 0.102× 3× 1 000。

2.2 线性关系考察 取 0.102 mg/ml DPPH 母液以无水乙醇梯度稀释成每毫升含 DPPH 为 89.25、76.50、51.00、38.25、25.50、10.20 μg 的溶液并测定吸光度,分别以 DPPH 浓度和吸光度为 X、Y 值进行线性回归,得回归方程 Y=0.011 128 86X+0.668 711, R²=0.992。结果表明:DPPH 含量在 10.2~102 μg/ml 之间浓度与吸光度呈线性相关。

2.3 反应时间考察 参照文献^[4]并稍作改进,精密吸取 1 ml 南丹参水提取部位溶液,加入 0.102 mg/ml 的 DPPH 溶液 3 ml,摇匀后放置 90 min,以无水乙醇为空白对照,于 517 nm 处每隔 2 min 测定吸收度,通过制备吸收度-反应时间曲线确定反应完全时间为 60 min,见图 1。

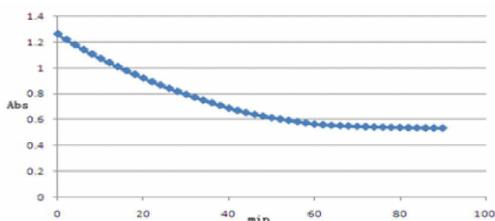


图 1 吸收度-反应时间曲线

2.4 各提取部位抗氧化能力测定 取南丹参药材各提取部位,以无水乙醇稀释分别至每毫升含药材量为 72、120、240、400、800、1 200 和 4 000 μg 的待测液,按 2.1 项下分别测定吸收度,并计算各提取部位 DPPH 清除量。研究发现南丹参醇提取物中正丁醇部位、水提取物中乙醚和乙酸乙酯部位基本无 DPPH 清除能力,其他各部位 DPPH 清除量较高,依次为水-萃取后水 > 醇-水沉 > 水-正丁醇 > 醇-石油醚 > 醇-乙酸乙酯,同时构建各提取物加入量与 DPPH 清除量的量效关系曲线,并分别计算每克

南丹参药材各提取物的 DPPH 清除量。见表 1。

表 1 南丹参各提取部位 DPPH 清除能力测定

待测液	量效曲线	R ²	线性范围(μg/ml)	清除量(mg/g)
醇-石油醚	Y=5.955 68× 10 ⁻⁴ X-0.000 11	0.9925	240-4 000	6.692
醇-乙酸乙酯	Y=8.586 02× 10 ⁻⁴ X-0.001 702	0.9995	120-4 000	3.429
醇-水沉	Y=1.025 21× 10 ⁻⁴ X+0.002 227	0.9992	72-1 200	109.305
水-正丁醇	Y=1.881 18× 10 ⁻⁴ X+0.000 687	0.9997	120-4 000	22.013
水-萃取后水	Y=1.455 33× 10 ⁻⁴ X-0.002 781	0.9992	72-1 200	155.269

2.5 各提取部位抗氧化活性物质 HPLC 分析 基于前期南丹参药材指纹图谱研究基础,为探明各提取部位中抗氧化活性成分,我们对有较好 DPPH 清除能力的各提取部位进行了 HPLC 色谱分析,经研究发现,这些提取部位所含化学成分主要为丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素、丹参酮 II A 以及丹参酮 I。

3 讨论

在各提取部位 DPPH 清除能力测定方法制定中,我们参照文献^[3-5],采用 1 ml 待测液加上 3 ml DPPH 母液的混合液作为底色,对清除量进行修正,结果通过对浓度在线性范围内的多批提取物进行吸收度测定,结果均显示在 517 nm 处无吸收。因此,对 DPPH 清除量计算进行了优化。此外,为进一步验证南丹参中具有抗氧化活性部位所含主成分的抗氧化活性,我们同时对 HPLC 分析出的各成分的对照品溶液进行了 DPPH 清除能力测定,结果显示每微克丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素、丹参酮 II A 以及丹参酮 I 对照品 DPPH 清除量依次为:4.398 mg、13.026 mg、4.256 mg、0.790 mg 和 0 mg,提示南丹参抗氧化活性成分为丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素和丹参酮 II A。

南丹参、丹参同属唇形科中药材,丹参是植物丹参的干燥根及根茎,南丹参是植物南丹参的干燥根及根茎,因两者在功效方面存在相同性,且南丹参在我国部分地区为地方习用药材,在江西、浙江民间亦作丹参入药。我们通过参加全国第四次资源普查发现南丹参广泛分布于江西省多个地区,且有一定蕴藏量。为扩大南丹参药用的使用范围,本研究对其化学成分和药理药效等方面进行了部分研究,为相关南丹参的临床应用和深入开发提供技术支撑。

参考文献

[1]江西省食品药品监督管理局.江西省中药材标准[S].上海:上海科学技术出版社,2014.230-231
 [2]卫生部药政管理局.中药材手册[M].北京:人民卫生出版社,1990.54
 [3]郭巧茹,陈莺莺,李琳,等.南丹参不同器官提取物清除 DPPH 能力的研究[J].福建师范大学学报(自然科学版),2012,28(1):98-101
 [4]李红,张元湖.应用 DPPH 法测定苹果提取物的抗氧化能力[J].山东农业大学学报(自然科学版),2005,35(1):35-38
 [5]王桂芹,郑玉华,钱进芳.虎杖根茎中蒽醌类成分的体外抗氧化活性[J].植物资源与环境学报,2011,20(2):43-48

(收稿日期:2016-09-13)