

羌活和宽叶羌活嫩叶的化学成分及抗氧化活性研究

哈马莫支阿木^{1,2}, 苏学燕^{1,2}, 李丽^{1,2}, 陈定巧^{1,2}, 张志锋^{1,2*}

¹西南民族大学青藏高原研究院、药学院, 成都 610041; ²四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 成都 610225

摘要: 本研究的目的是比较羌活及宽叶羌活嫩叶的化学成分及抗氧化活性, 为其资源的开发利用提供科学依据。实验采用 UHPLC-QTOF-MSMS, Waters Acquity HSS-T₃ (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) 分析柱, 以 0.10% 甲酸水 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 流速为 0.30 mL/min, 电喷雾电离 (ESI) 离子源, 正、负离子同时监测, 一级、二级质谱扫描精确捕捉未知成分的相对分子质量及碎片离子信息, 与标准品对照, 并结合文献以及 Chemical Book、Mass Bank 等数据库最终实现对羌活及宽叶羌活嫩叶化学成分的快速准确识别。运用 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除法考察羌活及宽叶羌活嫩叶的抗氧化活性。共检测到宽叶羌活及羌活嫩叶中 41 种化合物, 其中包括 16 种香豆素类、6 种黄酮类、5 种有机酸类化合物、2 种萜类、1 种生物碱和 11 种其他类。羌活及宽叶羌活嫩叶均具有体外抗氧化活性, 且羌活嫩叶的抗氧化活性优于宽叶羌活嫩叶。本法可快速、准确地地区分羌活及宽叶羌活嫩叶, 为其质量控制、合理应用及真伪品鉴别等提供科学依据。

关键词: 羌活; 宽叶羌活; 嫩叶; 化学成分; UHPLC-QTOF-MSMS; 抗氧化

中图分类号: R914.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020) Suppl-0001-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.S.001

Chemical constituents and antioxidant activity assessment of tender leaves in *Notopterygium incisum* and *N. forbesii*

HAMA Mo-zhi-a-mu^{1,2}, SU Xue-yan^{1,2}, LI Li^{1,2}, CHEN Ding-qiao^{1,2}, ZHANG Zhi-feng^{1,2*}

¹Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;

²Sichuan Provincial Qiang-Yi Medicinal Resources Protection and Utilization Technology Engineering Laboratory, Chengdu 610225, China

Abstract: In order to analyze and compare the chemical compositions and antioxidant activity in tender leaves of *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang and *N. forbesii* de Boiss. and provide scientific basis for the development and utilization as a new resource of *N. incisum* and *N. forbesii*. Chemical compositions of the different original samples were compared using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOF-MSMS), a Waters Acquity HSS-T₃ column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) was used for sample analysis. The mobile phase was consisted of 0.10% formic acid in water (A) and acetonitrile (B), and the flow rate was 0.30 mL/min. Electrospray ionization (ESI) ion source monitors positive and negative ions simultaneously, and primary and secondary mass spectrometry scans capture accurately relative molecular mass and fragment ion information of unknown components. Chemical composition was rapidly and accurately identified by comparing with standard samples, combining with literature and databases such as Chemical Book and Mass Bank. DPPH and ABTS⁺ free radical scavenging were used to examine the antioxidant activity in the tender leaves of *N. incisum* and *N. forbesii*. Then a total of 41 compounds were detected in tender leaves of *N. incisum* and *N. forbesii*, including 16 coumarins, 6 flavonoids, 5 organic acids, 2 terpenes, 1 alkaloid and 11 other compounds. And 38 chemical constituents were identified. Both *N. incisum* and *N. forbesii* tender leaves have antioxidant activity in vitro, and the antioxidant activity of *N. incisum* tender leaves is better than that of *N. forbesii* tender leaves. This method can quickly and accurately identify the chemical components in the tender leaves of *N. incisum* and *N. forbesii*, and provide scientific basis for quality control, reasonable application and identification of genuine and fake products of *N. incisum* and *N. forbesii*.

收稿日期: 2020-04-20 接受日期: 2020-07-02

基金项目: 国家重点研发项目 (2019YFC1712503); 四川省科技厅应用基础研究项目 (2018JY0071); 四川省中医药管理局项目 (2018JC0027); 西南民族大学中央高校基本科研业务专项 (2019HQZZ20)

* 通信作者 E-mail: zhangzhf99@gmail.com

Key words: *Notopterygium incisum*; *N. forbesii*; tender leaves; chemical composition; UHPLC-QTOF-MSMS; antioxidant activity

羌活为众所周知的中药,其来源为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 及宽叶羌活 *Notopterygium forbesii* de Boiss. 的干燥根及根茎,药用价值高,应用广泛^[1]。而羌活和宽叶羌活地上部分的嫩叶,在四川阿坝藏族自治州、四川甘孜藏族自治州通常作为蔬菜食用,据称有预防感冒的作用,有非常悠久的历史^[2,3]。课题组前期对羌活和宽叶羌活药材进行了化学成分研究,本研究发现羌活的嫩叶也具有跟羌活药材较为相似的化学成分^[4,5]。然而,到目前为止尚无羌活和宽叶羌活嫩叶的品质相关研究。

羌活具有散寒、祛风、除湿、止痛的功效,通常用于治疗风寒感冒头痛、风湿痹痛、肩背酸痛等^[6-9]。有关羌活药材的研究多,植物化学研究表明,羌活中含有香豆素、黄酮、酚酸、氨基酸等多种化合物^[10-13],现代药理活性研究表明,羌活具有镇痛消炎、抗心律失常、抗病毒活性、抗血栓形成等多种药理作用^[11-14]。然而,羌活嫩叶在当地被长期食用,是否也有相同的功效,其化学成分是否与羌活也有相似的化学成分尚不清楚。因此,开展中药羌活非药用部位嫩叶的化学成分研究,对羌活嫩叶的质量控制、作为新资源食品的合理应用提供科学数据,以

及对羌活资源的综合利用也具有重要的科学意义。

1 仪器

超高效液相色谱-超高质量精确度四极杆飞行时间质谱联用仪(安捷伦 6550)、MassHunter6.0 工作站;色谱柱为 Waters ACQUITY HSS-C₁₈ column (1.8 μm, 2.1 × 100 mm);METTLER AE240 电子天平(SHIMADZU, 日本);KQ-250B 型超声波清洗器(昆山超声波仪器有限公司);高速离心机(Eppendorf, Hamburg, 德国);HPLC 级乙腈、甲醇(Merck, 德国);HPLC 级甲酸(Fluka, 瑞典);Milli-Q 超纯水系统(Millipore, 美国)。

本实验中所用羌活嫩叶和宽叶羌活嫩叶均于 2017 年 8 月采自四川省九寨沟县,各样本均经作者鉴定为伞形科植物羌活(*N. incisum*)和宽叶羌活(*N. forbesii*)。香叶木苜(成都普瑞法科技开发有限公司,批号:18032306)、佛手柑内酯(成都康邦生物科技有限公司,批号:17061201)、异欧前胡素(四川省维克奇生物科技有限公司,批号:wkq6032205)、羌活醇(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号:Q-010-170426),且所有标准对照品经 UPLC 峰面积归一化法计算质量分数均大于 98%。

表 1 样本采集信息

Table 1 The information of sample collecting

No.	基源 Origin	采集地 Collection place	GPS	采集时间 Collection time
S1	羌活	四川省九寨沟县黑河乡	N33°30'33"E104°0'29"	2017 年 8 月
S2	宽叶羌活	四川省九寨沟县大录乡	N33°36'40"E103°44'23"	2017 年 8 月

2 实验方法

2.1 UHPLC 色谱条件

色谱柱: Waters Acquity HSS-T3 (1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm); 检测波长: 330 nm; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 1 μL; 流动相: 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱, 梯度如表 2。

2.2 质谱条件

电喷雾电离(ESI)离子源,正、负离子模式下采集数据,质量扫描范围 m/z 100 ~ 1 000, 离子源参数毛细管电压为 3 200 V, 锥孔电压 40 kV, 离子源温度为 100 °C, 脱溶剂气温度 350 °C, 脱溶剂气(N₂)体积流量 700 L/h, 碰撞能量(CE)30 ~ 45 V。

表 2 色谱洗脱梯度

Table 2 Chromatographic gradient elution procedure

时间 Time (min)	A (%)	B (%)
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	60	40
33	43	57
43	10	90
48	10	90
49	90	10
54	90	10

2.3 对照品溶液的制备

精密称取一定量的佛手柑内酯、羌活醇、异欧前胡素、香叶木苷标准品,用甲醇溶解于25 mL棕色容量瓶中,经0.22 μm 微孔滤膜过滤后制成混合对照品储备液。

2.4 供试品溶液的制备

分别精密称取羌活嫩叶及宽叶羌活嫩叶的药材粉末0.2 g(过3号筛),置于具塞锥形瓶中加入甲醇30 mL,称重、超声30 min,冷却至室温后称重,甲醇补足重量。用0.22 μm PTEE过滤,即得供试液。

3 实验结果

3.1 羌活与宽叶羌活的总离子流图比较

根据液相色谱及质谱分析条件,取羌活嫩叶和宽叶羌活嫩叶供试品溶液进行分析,羌活及宽叶羌活嫩叶总离子流色谱图如图1所示。羌活嫩叶在正负离子模式下得到的总离子流图具有明显的差异,负离子模式下被检测的成分较为丰富,而宽叶羌活正离子模式下得到的成分较多。正负离子模式下在

羌活及宽叶羌活嫩叶中共检测到41个色谱峰,其中羌活嫩叶中共检测到30个成分,其中11~18号、20、21号、22、23、33号峰为羌活嫩叶特有峰;在宽叶羌活嫩叶中共检测到28个成分,其中1、2、3、6、7、24、29、34、35、37、39号峰是宽叶羌活特有峰。

3.2 QTOF-MSMS 成分鉴定及分析

采用MassHunter 6.0软件进行数据处理,根据正、负离子模式下各化学成分的保留时间、分子离子峰、碎片离子峰等信息,与对照品、相关文献数据对比进行化学成分确认,鉴定了其中38个化合物(见图5),其中包括16个香豆素类、6个黄酮类、5个酚酸和有机酸类化合物、2个萜类、1个生物碱和8个其他类成分。本实验建立的分析方法共检测到羌活及宽叶羌活嫩叶中41种成分(见表3)。通过对比标准品的保留时间、分子离子鉴定出3号峰(绿原酸)、4号峰(紫花前胡苷)、19号峰(佛手柑内酯)、26号峰(欧前胡素)、27号峰(羌活醇)、29号峰(异欧前胡素),结合文献和数据库对其结构进行准确鉴定。

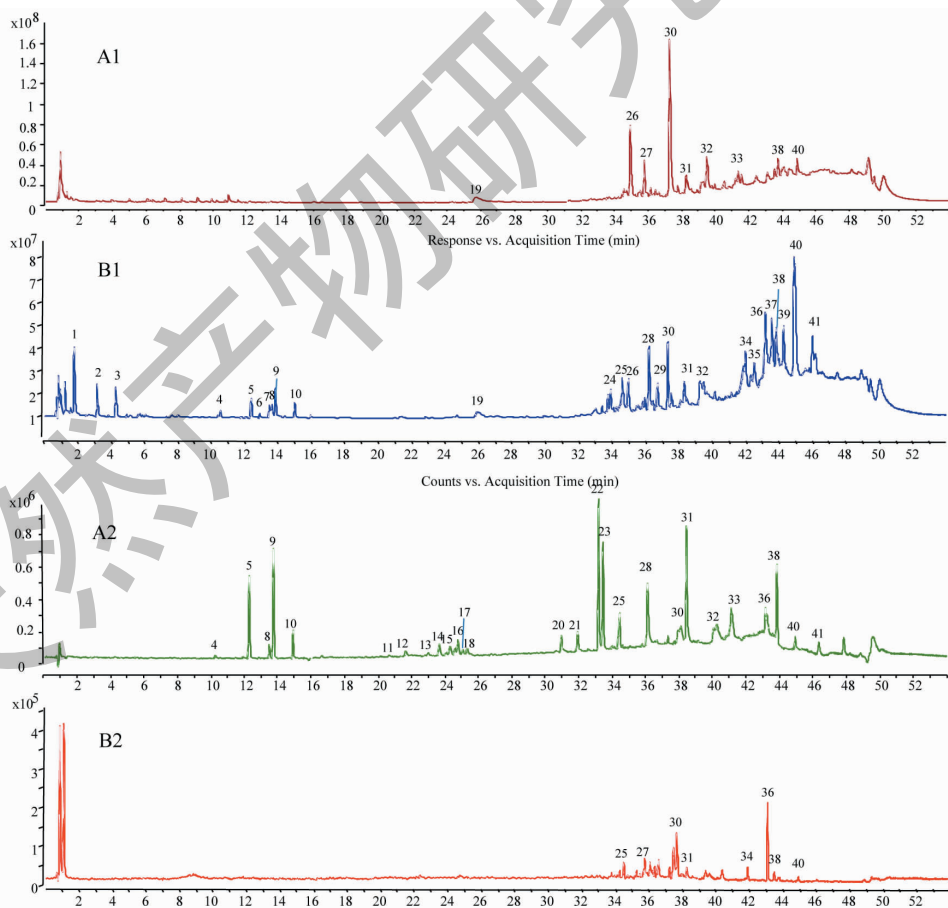


图1 羌活嫩叶和宽叶羌活的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograph of the leaf of *N. incisum* and *N. forbesii*

注:A:羌活;B:宽叶羌活。1. 正离子模式;2. 负离子模式。Note:A:*N. incisum*;B:*N. forbesii*. 1. TIC-pos;2. TIC-neg.

表3 羌活与宽叶羌活嫩叶 UHPLC-QTOF-MSMS 色谱图中指认的色谱峰

Table 3 UHPLC-QTOF-MSMS identified in the chromatogram of *N. forbesii* and *N. incisum*

峰号 No.	t_R (min)	分子式 Molecular formula	[M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Calc. mass (<i>m/z</i>)	MS/MS 质谱特征碎片 MS/MS fragments ion	鉴定 Identification
1	1.820	C ₁₇ H ₁₆ O ₉	—	365.087 6(-2.44)	203.034 9	香柑醇- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖
2	3.203	—	355.074 2	—	—	Unknow
3	4.127	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 7(0.30)	—	191.046 5	绿原酸
4	10.475	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	—	409.148 2(2.71)	246.937 3,28.869 2	紫花前胡苷
5	12.489	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	—	517.131 4(5.13)	355.205 5,162.521 9	3,4-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 B)
6	12.953	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	—	517.131 4(5.13)	355.205 5,162.521 9	3,5-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 A)
7	13.059	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	—	447.123 7(5.52)	241.087 4,179.085 5	前胡苷 V
8	13.334	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.230 6	—	463,301,298	香叶木苷
9	13.750	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₀	453.344 5	—	—	5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷
10	15.140	C ₄₀ H ₇₀ O ₈	679.506 8	—	—	双[2-[2-(十二烷氧基)乙氧基] 乙基邻苯二甲酸酯]
11	20.642	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₂	529.115 4(-6.75)	—	247.847 3,295.271 5	6- <i>O</i> -丙二酸紫花前胡苷
12	21.703	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	327.123 3(1.52)	—	228.123 5,212.011 4	丝立尼亭
13	22.904	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	—	271.098 5(-7.43)	201.055 3,173.060 7,145.065 8	苯甲酸乙二酯
14	23.683	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.056 6(-1.63)	—	183.047 2	香叶木素
15	24.346	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	329.175 5(1.01)	—	314.150 3,177.018 2,133.028 9	(-)-阿魏酸龙脑酯
16	24.768	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	—	299.162 8(4.58)	175.040 1,145.029 5,119.049 8	橙皮油内酯
17	25.100	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	349.085 8(-2.79)	—	149.061 0,134.036 4,117.033 5	阿魏酸对羟基苯乙酯
18	25.340	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	349.085 8(-2.79)	—	149.061 0,134.036 4,117.033 5	卡瓦胡椒素 A
19	25.645	C ₁₂ H ₈ O ₄	261.042 4(-7.43)	—	201.704 9,176.615 8,145.416 4	佛手柑内酯
20	30.974	C ₁₇ H ₁₆ O ₉	—	365.087 6(-2.44)	203.034 9	3,4,5-三羟基苯甲酸酯
21	31.885	C ₁₁ H ₆ O ₅	—	187.040 2(-6.57)	131.050 0,143.050 4	补肾脂素
22	32.161	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 6(1.20)	—	134.037 1	阿魏酸
23	33.46	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	271.097 0(-0.43)	—	106.041 7,137.023 0	茴香酸对羟基苯乙酯
24	34.052	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	—	271.095 9(2.16)	201.055 8,173.060 8,145.065 8	异欧前胡素
25	34.429	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	349.085 8(-2.79)	—	149.061 0,134.036 4,117.033 5	山姜素
26	35.098	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	—	271.095 9(2.16)	201.055 8,173.060 8,145.065 8	二甘醇二苯甲酸酯
27	35.899	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	—	355.156 6(-7.32)	172.561 9,216.784 8,272.888 5	羌活醇
28	32.128	—	520.333 3	—	—	Unknow
29	36.599	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	—	271.095 9(2.16)	201.055 8,173.060 8,145.065 8	异欧前胡素
30	38.124	C ₁₈ H ₁₈ O ₄	297.113 8(-1.91)	—	183.013 3,160.844 8,136.943 2	阿魏酸苯乙酯
31	38.424	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	447.244 5	—	—	1'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- 3-羟基野牡丹碱
32	40.312	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	329.175 5(1.01)	—	314.150 3,177.018 2,133.028 9	邻苯二甲酸二环己酯
33	41.157	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	353.271 6	—	—	(2,4,6-三甲基-3-环己烯-1,1-二基) 双(亚甲基)二戊酸酯
34	42.018	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	353.271 6	—	—	多沙前列素
35	42.573	C ₁₅ H ₂₆ N ₄ O	279.219 9	—	—	1,2,4-三嗪-5-醇,3-(环十二烷基胺)
36	43.22	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	247.122 4	—	—	二氢欧山芹素
37	43.539	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233.266 9	—	—	木香烯内酯
38	43.883	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	—	585.199 8(-5.38)	247.097 9,405.133 8	6- <i>O</i> -反-阿魏酰紫花前胡苷(羌活苷)
39	44.338	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.230 6	—	463,301,298	当药黄素(獐牙菜素)
40	44.977	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.230 6	—	463,301,298	斯皮诺素
41	46.402	C ₃₈ H ₃₂ N ₄ O ₃	593.255 8	—	—	Unknow

3.2.1 香豆素类成分的鉴定

香豆素是酚类化合物,其特征在于苯环连接在吡喃酮环上。它们具有芬芳的气味,并且天然存在于许多植物中。已知它们具有多种药理活性,例如抗氧化剂,抗癌剂,抗凝剂等^[15-17]。香豆素是羌活嫩叶中的主要化合物,通过总离子流图可见,包括佛手酚-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、紫花前胡苷、前胡苷 V、6-*O*-丙二酸紫花前胡苷、丝立尼亭、异欧前胡素、橙皮油内酯、阿魏酸对羟基苯乙酯、佛手柑内酯、补骨脂素、欧前胡素、羌活醇、1'-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(2*R*,

3*S*)-3-羟基野牡丹碱、二氢欧山芹素、6-*O*-反-阿魏酰紫花前胡苷(羌活苷)、卡瓦胡椒素 A 等 16 个化合物。

香豆素主要的裂解规律为连续的失去一系列的 CO 基团,再失去氢和乙炔,因此,其裂解途径是: $M-CO-CO-H-C_2H_2$ 。内酯结构使其较容易失去质量为 44 的 CO_2 分子。香豆素类化合物主要有两种碎裂形式失去羰基,由环上的羰基(5,8 位)碎裂、酯键上的羰基碎裂。本研究以欧前胡素为例对香豆素的质谱裂解规律进行分析,见图 2。

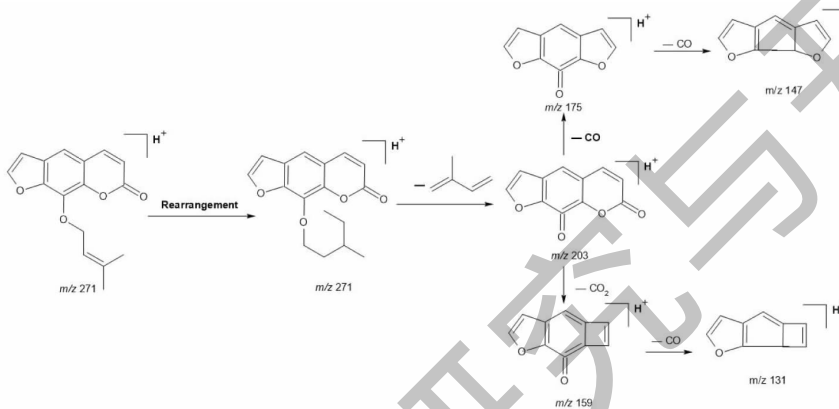


图 2 欧前胡素的主要裂解途径

Fig. 2 Main MS/MS fragmentation pathway of imperatorin

3.2.2 黄酮类化合物的鉴定

黄酮类化合物是以 2-苯基色原酮为母核的一类化合物,其结构特征在于拥有 $C_6-C_3-C_6$ 基本碳架。黄酮是一类重要的中药有效成分,具有多种药理活性,例如对心血管系统的作用、抗炎镇痛作用、抗氧化作用等^[18]。结合总离子流图及与对照品、相关文献数据对比,从羌活和宽叶羌活嫩叶中鉴定出香叶木苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、香叶木素、山姜素、当药黄素(牙菜素)、斯皮诺素 6 种黄酮类化合物。

由于黄酮类化合物具有相同的母核,因此在质中的裂解规律相似。黄酮苷类成分在裂解过程中主要发生糖苷键断裂,形成去掉糖的次级苷和苷元的碎片离子。黄酮苷含有的糖基主要是鼠李糖和葡萄糖,ESI 负离子模式下主要产生丢失该糖基的 $[M-H-146]^-$ 和 $[M-H-162]^-$ 碎片离子。黄酮苷元特征碎片离子 m/z 301、151,也可以作为黄酮类化合物鉴定的有利证据。以香叶木苷的质谱裂解规律为例,见图 3。

3.2.3 有机酸类化合物等鉴定

有机酸类常与钠、钾、钙、生物碱类等结合以盐

的形式存在,有些与甘油结合成酯或与高级醇结合成蜡,少数以游离的形式存在^[19]。它们作为一类重要的中药有效成分,具有许多生物活性,包括抗炎、抗氧化活性、抗肿瘤等^[20]。通过总离子流图,从羌活和宽叶羌活嫩叶中鉴定出绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 B)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 A)、阿魏酸、多沙前列素等 5 种化合物。有机酸类化合物主要的裂解规律为失去一个 $COOH$ 和 CH_3 ,

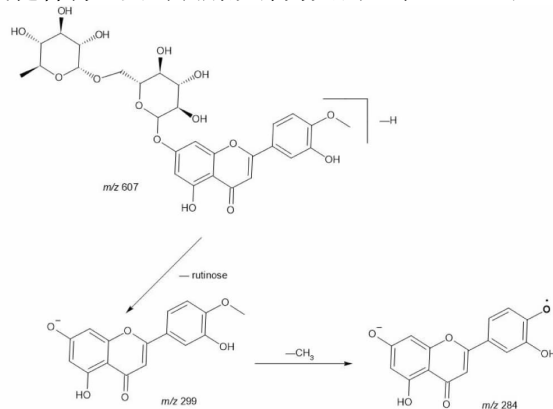


图 3 香叶木苷的主要裂解途径

Fig. 3 Main MS/MS fragmentation pathway of diosmin

因此,其裂解途径是: $M-COOH-CH_3$ 。以阿魏酸为例其质谱裂解规律见图4。

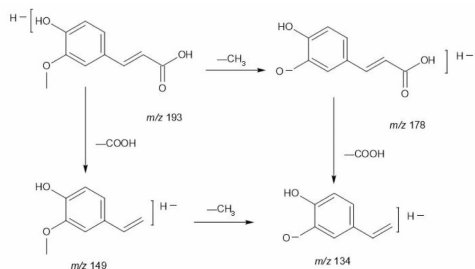


图4 阿魏酸的主要裂解途径

Fig. 4 Main MS/MS fragmentation pathway of Ferulic acid

3.2.4 萜类化合物的鉴定

萜类化合物是一类由甲戊二羧酸衍生而成,以异戊二烯为结构特征的自然烃类化合物,具有抗病原微生物作用、神经系统作用、抗肿瘤抗生育作用等^[21,22]。本研究从羌活和宽叶羌活嫩叶中分离鉴定了2种萜类化合物,包括双{2-[2-(十二烷氧基)乙氧基]乙基邻苯二甲酸酯、木香桉内酯。

3.2.5 生物碱的鉴定

生物碱是一类含氮的有机化合物,有着复杂的环状结构。生物碱在抗癌、抗菌消炎、抗病毒、抗心律失常、镇痛、解痉等方面有显著的作用^[23,24]。本研究从羌活和宽叶羌活嫩叶中分离鉴定了1个生物碱1,2,4-三嗪-5-醇,3-(环十二烷基胺)。

3.2.6 其他化合物的鉴定

除以上几类化合物外,还从羌活和宽叶羌活嫩叶中分离鉴定了8个其他化合物,包括(-)-阿魏酸龙脑酯、(3,4,5-三甲氧基苯甲酰)3,4,5-三羟基苯甲酸酯、茴香酸对羟基苯乙酯、二甘醇二苯甲酸酯、苯甲酸乙二酯、阿魏酸苯乙酯、邻苯二甲酸二环己酯、(2,4,6-三甲基-3-环己烯-1,1-二基)双(亚甲基)二戊酸酯。

3.3 羌活与宽叶羌活嫩叶的体外抗氧化活性研究

供试品的制备:精密称取羌活及宽叶羌活嫩叶各0.2 g,置于具塞锥形瓶中,加入甲醇20 mL称量。

超声30 min,冷却至室温,称量,甲醇补足失重。离心,取上清液,即得供试样品溶液。

3.3.1 DPPH 自由基清除能力测定

精密称取5 mg DPPH用无水乙醇定容到100 mL的棕色容量瓶内,超声10 min使其充分溶解在无水乙醇里,即得到浓度0.05 mg/mL的DPPH溶液。棕色容量瓶包裹避光纸,置于2 °C冰箱内低温避光保存。从棕色容量瓶内取1 mL DPPH溶液,分别加入样品溶液和空白溶液,在517 nm处测A值。平行测定3次,计算清除率,计算公式如下:

$$\text{自由基清除率} = [1 - (Ab - Ac) / Aa] \times 100\%$$

式中:Aa:无水乙醇+DPPH;Ab:样品+DPPH;Ac:样品+无水乙醇。

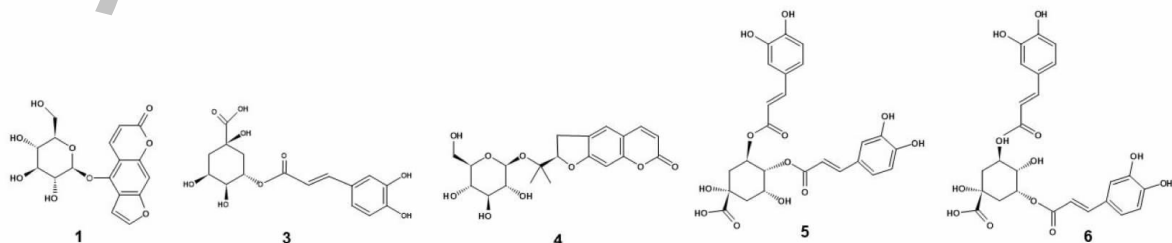
3.3.2 ABTS 自由基清除能力测定

精密称取ABTS⁺ 5 mg于具塞试管中,精密量取蒸馏水1.225 mL超声使其充分溶解,即得到浓度为7.4 mmol/L的ABTS⁺储备液;取过硫酸钾2 mg于具塞试管中,精密量取蒸馏水2.86 mL超声使其充分溶解,即得到浓度为2.6 mmol/L的过硫酸钾储备液,精密量取ABTS⁺储备液和过硫酸钾储备液各0.25 mL于1 mL离心管中在室温避光条件下静置14 h。再用无水乙醇稀释,得ABTS⁺工作液。分别加入样品溶液和空白溶液,在734 nm处测定吸光度值。平行测定3次,计算公式同上。

3.3.3 结果分析

羌活及宽叶羌活嫩叶对DPPH自由基表现出较好的清除能力,且其清除能力随浓度的增大而增大。如图6所示,当浓度达到0.5 mg/mL时,羌活嫩叶提取物自由基清除率达到90%,羌活嫩叶DPPH的清除能力明显高于宽叶羌活嫩叶。

羌活嫩叶和宽叶羌活嫩叶对ABTS自由基均具有一定的清除能力,当浓度达到1 mg/mL时,羌活嫩叶提取物清除率达到最高值83.9%,羌活嫩叶对自由基的清除率与样品浓度呈一定的量效关系,清除率随浓度增加而增加,宽叶羌活嫩叶对于ABTS⁺的清除能力弱于羌活嫩叶。



续图5(Continued Fig.5)



图5 羌活与宽叶羌活嫩叶中鉴定出的化学结构

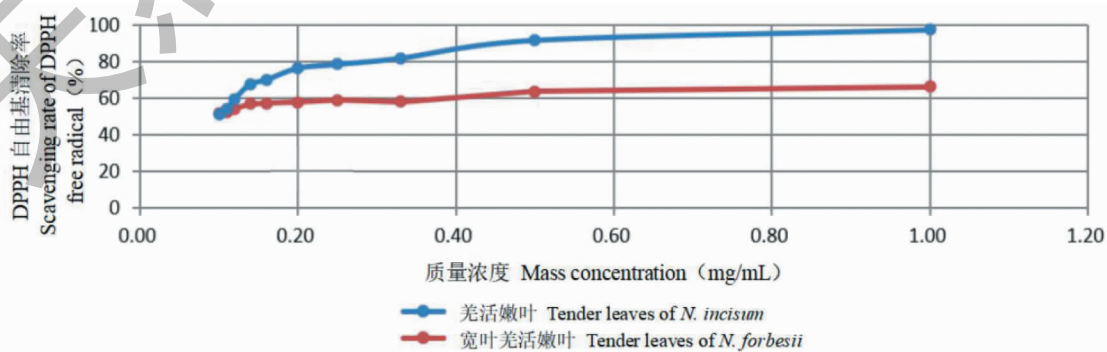
Fig. 5 Chemical structures identified in tender leaves of *N. forbesii* and *N. incisum*

图6 羌活及宽叶羌活嫩叶样品清除 DPPH 自由基能力比较

Fig. 6 Comparison of DPPH free radical scavenging ability between tender leaves in *N. incisum* and *N. forbesii*

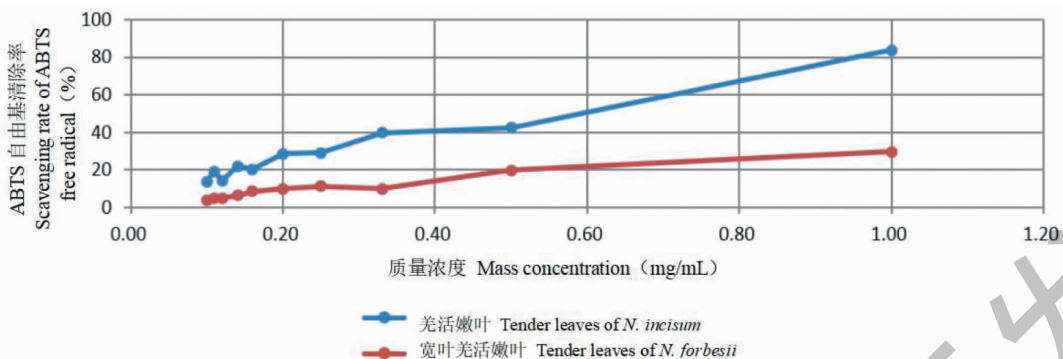


图7 羌活及宽叶羌活茎、叶样品清除 ABTS 自由基能力比较

Fig. 7 Comparison of ABTS free radical scavenging ability between tender leaves in *N. incisum* and *N. forbesii*

4 讨论与结论

本研究对羌活及宽叶羌活嫩叶进行了自由基清除能力的比较,发现羌活嫩叶具有较强的自由基清除能力,且高于宽叶羌活嫩叶,为羌活及宽叶羌活嫩叶在食品或药品领域中的开发和利用提供理论依据。本实验采用 UHPLC-QTOF-MS/MS 技术,对羌活嫩叶和宽叶羌活嫩叶进行质谱定性分析,共鉴定了 38 种化学成分。该方法快速简便灵敏度高,为羌活及宽叶羌活嫩叶作为新资源食品的质量控制,后续更加深入药理研究提供参考。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 182-183.
- 2 Jia Y, Bai JQ, Liu ML, et al. Transcriptome analysis of the endangered *Notopterygium incisum*: cold-tolerance gene discovery and identification of EST-SSR and SNP markers [J]. Plant Divers, 2019, 41(1): 1-6.
- 3 Liu ML, He YL, López-Pujol J, et al. Complex population evolutionary history of four cold-tolerant *Notopterygium* herb species in the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent areas [J]. Heredity, 2019, 123: 242-263.
- 4 Zhang JG, Li Y, Lv LY, et al. Simultaneous determination of four components in stems and leaves of *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang and *N. forbesii* de Boiss from different botanical sources by UPLC [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2020, 43: 381-386.
- 5 Ma XB, Wu Y, Li Y, et al. Rapid discrimination of *Notopterygium incisum* and *Notopterygium franchetii* based on characteristic compound profiles detected by UHPLC-QTOF-MS/

- MS coupled with multivariate analysis [J]. Phytochem Analysis, 2020, 31: 355-365.
- 6 Su XY, Wu Y, Li Y, et al. Effect of different post-harvest processing methods on the chemical constituents of *Notopterygium franchetii* by an UHPLC-QTOF-MS-MS metabolomics approach [J]. Molecules, 2019, 24(17): 3188.
- 7 Jiang SY, Qin JH, Sun H, et al. Dynamics of plant biomass and nutrients accumulation of *Notopterygium incisum* in artificial cultivation [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 2645-2648.
- 8 Jiang SY, Zhou Y, Sun H, et al. Ecological suitability assessment for *Notopterygium* plants transplanting along altitudinal gradients [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 2649-2654.
- 9 Yang J, Feng L, Yue M, et al. Species delimitation and interspecific relationships of the endangered herb genus *Notopterygium* inferred from multilocus variations [J]. Mol Phylogenet Evol, 2019, 133: 142-151.
- 10 Lin LW, Shi JM, Wang JZ, et al. Study on the chemical constituents of *Notopterygium incisum* radix [J]. West China J Pharm Sci (华西药学杂志), 2020, 35(1): 1-4.
- 11 Chen J, Fan J, Wang D, et al. Rapid and intelligent discrimination of *Notopterygium incisum* and *Notopterygium franchetii* by infrared spectroscopic fingerprints and electronic olfactory fingerprints [J]. Spectrochim Acta A-Mol Biomol Spectrosc, 2020, 232: 118176.
- 12 Bi JP, Li P, Xu XX, et al. Anti-rheumatoid arthritic effect of volatile components in *Notopterygium incisum* in rats via anti-inflammatory and anti-angiogenic activities [J]. Chin J Nat Med (中国天然药物:英文版), 2018, 16: 926-935.
- 13 Jiang X, Liu W, Wu Y, et al. *Notopterygium incisum* extract (NRE) rescues cognitive deficits in APP/PS1 Alzheimer's disease mice by attenuating amyloid-beta, tau, and neuroin-

- flammation pathology [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 249: 112433.
- 14 Zheng X, Chen Y, Ma X, et al. Nitric oxide inhibitory coumarins from the roots and rhizomes of *Notopterygium incisum* [J]. Fitoterapia, 2018, 131: 65-72.
- 15 Lei ZW, Yin RX, Li LL, et al. Progress on the synthesis of coumarin and its derivatives [J]. J Guizhou Tea (贵州茶叶), 2019, 47(3): 18-21.
- 16 Um MY, Moon MK, Ahn J, et al. Coumarin attenuates hepatic steatosis by down-regulating lipogenic gene expression in mice fed a high-fat diet [J]. Brit J Nutr, 2013, 109: 1590-1597.
- 17 Wu XW, Zhang YB, Zhang L, et al. Simultaneous quantification of 33 active components in *Notopterygium Rhizoma* et *Radix* using ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2018, 1092: 244-251.
- 18 Yu WY, Zhang HH, Wu YG, et al. Structure-activity relationship of flavonoids and its application in pulmonary inflammatory diseases [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 4912-4918.
- 19 Li J, Li YM, Gou YN, et al. Research progress in phenolic acid metabolism and allelopathic effect [J]. Heilongjiang Agr Sci (黑龙江农业科学), 2019(8): 175-182.
- 20 Lin PF, Jia XZ, Qi Y, et al. Advances in study on phenolic acids [J]. Guangdong Chem Ind (广东化工), 2017, 44(1): 50-52.
- 21 Wang L, Hu J, Zhao HG, et al. Research progress on terpenoid metabolic synthesis pathway and related function genes in medicinal plants [J]. J Tradit Chin Vet Med (中兽医医药杂志), 2018, 37(5): 38-41.
- 22 Shanmugam MK, Nguyen AH, Kumar AP, et al. Targeted inhibition of tumor proliferation, survival, and metastasis by pentacyclic triterpenoids: potential role in prevention and therapy of cancer [J]. Cancer Lett, 2012, 320(2): 158-170.
- 23 Xu XL, Zou JG, Liu YY, et al. Medicinal function and separation and purification of alkaloids: a review [J]. Food Sci (食品科学), 2009, 30(15): 238-240.
- 24 Shao YY, Yin SS, Wang KL, et al. Research progress in anti-tumor pharmacological effects of alkaloids in traditional Chinese medicine [J]. Central South Pharm (中南药学), 2019, 17: 1460-1465.
- (上接第 171 页)
- 69 Zheng YS, et al. Two-way effects of polysaccharide of *Millettia speciosa* Champ on tymphocyte proliferation in mouse lymph node [J]. Guangdong Coll Pharm (广东药学院学报), 2008, 24(1): 58-61.
- 70 Shi Y, et al. Immunoregulatory effects of polysaccharide on immunosuppressed mice [J]. Clin J Med Officer (临床军医杂志), 2008, 36: 530-532.
- 71 Wei CP, et al. Effect of *Radix Millettiae Speciosae* on mice immune function [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med (广州中医药大学学报), 2009, 26: 539-542.
- 72 Xie C, et al. Comparison of the immunoregulatory effects of *Radix Millettia Speciosae* and *Radix Millettia Championi* on immunosuppressed mice [J]. J Xi'an Jiaotong Univ: Med Sci (西安交通大学学报:医学版), 2016, 37: 451-454.
- 73 Xie C. The Regulatory effects and mechanisms of the total flavonoids of *Radix Millettia Speciosa* on immune system in mice [D]. Nanning: Guangxi Medical University (广西医科大学), 2016.
- 74 Tian JX, et al. Experimental study on the enhancement of immune function of mice by *Millettia speciosa* Champ. [J]. Mod Med Health Res (现代医学与健康研究), 2018, 2(10): 59-59.
- 75 Liu YL, et al. Chemical constituents of the roots of *Millettia speciosa* and their inhibitory effects on the formation of osteoclastic cell [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 2046-2188.