

炎模型的建立方法及特征分析[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4): 209-213.

[5] 任妮娜, 凌 益, 姚血明, 等. 类风湿关节炎动物模型研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2019, 8(10): 62-67.

[6] 孟小暇, 王满莲, 梁惠凌. 喀斯特地区药用植物地枫皮的研究进展[J]. 广西科学院学报, 2019, 35(1): 13-19.

[7] 姚小琴. 地枫皮酒治疗风湿性关节炎 11 例[J]. 浙江中西医结合杂志, 1996, 6(3): 178.

[8] 尚风琴. 怀牛膝与川牛膝功能活性成分的比较研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.

[9] 叶品良, 彭 娟, 刘 娟. 川牛膝研究概况[J]. 中医药学报, 2007, 35(2): 51-53.

[10] 赵敏杰, 鞠成国, 林桂梅, 等. 狗脊不同炮制品的抗炎作用及其机制研究[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1990-1993.

[11] 卢 芳, 张 凯, 刘树民. 基于抗风湿作用的淫羊藿拆分组分筛选研究[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(1): 105-110.

[12] 郭金婉, 张建中, 赵序利. 关节痛的病因研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(12): 881-885.

[13] 郭惠芳, 高丽霞. 2016 年风湿免疫病主要临床研究进展[J]. 临床荟萃, 2017, 32(2): 146-151.

艾柱挥发油和燃烧产物成分 GC-MS 分析及抗氧化活性比较

陈如一, 史悦悦, 张晓熙, 赵鑫钰, 夏道宗*
(浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** GC-MS 分析艾柱挥发油和燃烧产物成分及抗氧化活性比较。**方法** 通过超临界二氧化碳萃取设备提取艾柱挥发油, 特定装置收集艾柱燃烧产物, 采用 GC-MS 对艾柱挥发油和燃烧产物中的化学成分进行分析; 通过自由基清除 (DPPH、ABTS⁺) 和总抗氧化能力 (FRAP 法) 测定比较两者的体外抗氧化活性。**结果** 从艾柱挥发油中鉴定出 34 种挥发性成分, 其中主要成分是 γ -谷甾醇 (7.67%)、 α -生育酚 (6.30%)、乙酸羽扇醇酯 (5.10%)、亚油酸 (5.10%) 等; 从艾柱燃烧产物中亦鉴定出 34 种成分, 主要成分是苯酚 (3.01%)、3-呋喃甲醇 (2.77%)、邻苯二甲酸二丁酯 (2.41%)、豆甾醇 (2.18%) 等。艾柱挥发油和燃烧产物对 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 1 127、85.6 $\mu\text{g/mL}$, 对 ABTS⁺ 自由基的平均 IC₅₀ 值分别为 327.2、81.9 $\mu\text{g/mL}$, FRAP 均值分别为 0.278 4、0.802 mmol/L FeSO₄。**结论** 艾柱挥发油和燃烧产物在成分组成上存在较大差异, 艾柱燃烧产物的抗氧化活性明显优于艾柱挥发油。**关键词:** 艾柱; 挥发油; 燃烧产物; 抗氧化活性
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)12-3507-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.12.049

艾叶为菊科蒿属植物艾 *Artemisia argyi* Lévi. et Vant. 的干燥叶, 为 2020 年版《中国药典》一部所收录的中药材。艾叶性温, 味辛、苦, 归肝、脾、肾经, 具有温经止血、散寒止痛、理气安胎等功效^[1]。艾柱是由艾叶加工的艾绒填充而成的柱状物, 常用于中医药养生保健。研究表明, 艾柱含挥发油、黄酮、萜类及多糖等成分, 具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化等多种药理作用^[2-3]。艾灸疗法是传统针灸的重要组成部分, 是一种由经络调节、温热效应、燃烧产物的成分共同作用的综合效应。艾柱的燃烧产物较为复杂, 文献报道其成分差异较大, 除了与燃烧原材料有关外, 还与燃烧装置、测定方法等有关^[4]。

氧化应激是机体或细胞内氧化/抗氧化平衡失调的病理状态, 在多种疾病的发生发展中起着重要作用^[5]。目前有关

艾叶抗氧化功能的文献报道较多^[6], 但关于其加工产品艾柱的研究很少。郭太虎等^[7]研究发现艾灸可使 *D*-半乳糖所致衰老大鼠脑组织超氧化物歧化酶 (SOD) 活性升高, 丙二醛 (MDA) 水平下降, 提示艾灸具有较好的抗氧化效果。因此, 本研究主要对艾柱挥发油和燃烧产物成分进行 GC-MS 分析, 并通过自由基清除法和总抗氧化能力测定法比较其抗氧化活性, 以期为深入分析艾柱及艾灸作用机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 7890-5977A 型气相色谱-质谱仪 (美国 Agilent 公司); Concentrator Plus 真空浓缩仪、移液枪 (德国 Eppendorf 公司); HA120-50-01 超临界萃取装置 (中国南通华安公司); Synergy H1 酶标仪 (美国伯腾仪器有限公司); RE52CS-1 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-

收稿日期: 2020-02-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81673656, 82074085); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划 (2018R410032)

作者简介: 陈如一 (1996—), 男, 硕士生, 从事中药药理学研究。Tel: 15700068486, E-mail: 498996135@qq.com

* 通信作者: 夏道宗 (1978—), 男, 博士, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: (0571) 61768535, E-mail: xiadaozong@zcmu.edu.cn

网络出版日期: 2020-12-01

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20201201.1416.004.html>

Ⅲ 循环水式真空泵（巩义市予华仪器有限公司）；W201B 数控恒温水浴锅（上海申胜生物技术有限公司）；BSA224S-CW 电子天平〔赛多利斯（北京）天平有限公司〕；KQ-500DE 型 数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 药物与试剂 艾柱（浙江乾一生物科技有限公司，批号 20190415）；无水乙醇（国药集团化学试剂有限公司，批号 20190906）；95% 乙醇（上海凌峰化学试剂有限公司，批号 20181011）；抗坏血酸（广东光华化学厂有限公司，批号 20190811）；2，2-diphenyl-1-picrylhydrazyl（批号 STBG8547）、2，4，6-tris（2-pyridyl）-s-triazine（批号 BCBT2871）、2，2-azino-bis（3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt）（批号 SLBL5589V）均购于美国 Sigma 公司；硫酸亚铁七水合物（上海阿拉丁生化科技股份有限公司，批号 D172003）；过硫酸钾（宜兴市第二化学试剂厂，批号 170501）；三氯化铁六水合物（上海泰坦科技股份有限公司，批号 P1519028）；其他试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 艾柱挥发油提取 采用超临界二氧化碳萃取法。取艾柱 150 g，置入 CO₂ 超临界萃取釜中。萃取条件为萃取釜压力 21.5 MPa；温度 40 ℃；萃取时间 120 min；分离釜 I 压力 6.4 MPa，温度 45 ℃；分离釜 II 压力 6.4 MPa，温度 35 ℃。首次萃取时，每 0.5 h 加入 50 mL 无水乙醇作为夹带剂，循环萃取 2 次。得到的产品，离心除去蜡质沉淀，滤液于 40 ℃减压回收乙醇，得到脱蜡质艾柱挥发油。以 40 mg/mL 的质量浓度溶于无水乙醇中，超声波振荡溶解，加入适量无水硫酸钠脱水 2 h，取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜后，蒸发浓缩，得到艾柱挥发油^[8]。计算得艾柱挥发油的平均得率为 1.46%。

1.3.2 艾柱燃烧产物收集 取 50 g 艾柱于自制燃烧装置的燃烧塔中，暗火燃烧，在吸收瓶中加入无水乙醇作为烟雾吸收溶剂，缓冲瓶与真空泵连接。调节循环水泵控制艾柱的燃烧速度，使燃烧产物能够被充分吸收。将艾柱燃烧产物过滤，蒸馏浓缩后，离心取上清液，计算得艾柱燃烧产物的平均得率为 1.01%。

1.3.3 艾柱挥发油 GC-MS 分析 气相色谱条件为色谱柱 Agilent HP-5MS（30 m × 250 μm，0.25 μm）；载气高纯氮气，纯度 ≥ 99.999%；进样量 3 μL；体积流量 1 mL/min；分流比 20：1，进样口温度 300 ℃；柱温采用程序升温（100 ℃保持 10 min；8 ℃/min 升温至 180 ℃；3 ℃/min 升温至 230 ℃，保持 5 min；1 ℃/min 升温至 235 ℃；10 ℃/min 升温至 285 ℃；最后以 1 ℃/min 升温至 300 ℃，保持 5 min）。质谱条件为 EI 离子源，电子能量 70 eV；离子源温度 230 ℃；传输线温度 280 ℃；四极杆温度 150 ℃。全扫描模式为扫描范围 *m/z* 40 ~ 500；质谱检索标准库 NIST14.L 标准谱库。根据以上条件分析鉴定艾柱挥发油中的主要成分。

1.3.4 艾柱燃烧产物 GC-MS 分析 色谱柱、载气同 3508

“1.3.3”项；进样量 1 μL；体积流量 1 mL/min；分流比 10：1；进样口温度 300 ℃；柱温采用程序升温（50 ℃保持 10 min；4 ℃/min 升温至 100 ℃，保持 2.5 min；4 ℃/min 升温至 180 ℃，保持 1 min；5 ℃/min 升温至 230 ℃；1 ℃/min 升温至 235 ℃；10 ℃/min 升温至 285 ℃，保持 5 min；最后以 1 ℃/min 升温至 300 ℃，保持 10 min）。质谱条件同“1.3.3”项。

1.3.5 抗氧化活性测定

1.3.5.1 溶液制备 取适量艾柱挥发油、燃烧产物，分别制备成质量浓度为 50、100、250、500、1 000、2 500、5 000 μg/mL 的样品溶液，确保艾柱挥发油及燃烧产物样品溶液在相同质量浓度下，艾柱原料的量相同。精密称取 Vc 适量，制备成 5、10、25、50、100、250、500、1 000 μg/mL 的对照品溶液，均存放于低温避光处，现用现配。

1.3.5.2 DPPH 自由基清除能力测定 吸取 100 μL 0.2 mmol/L DPPH 和 100 μL 不同质量浓度的样品溶液于 96 孔板中，然后在室温（避光）下孵育 30 min，用 95% 乙醇做参比，在 517 nm 处测定吸光度值 A_i。测定 0.2 mmol/L DPPH 溶液与等体积 95% 乙醇的混合液的吸光度 A_e，以及待测液（样品组）与等体积 95% 乙醇混合液的吸光度 A_j^[9]。重复 3 次，取平均值。按如下公式计算待测样品的自由基清除率，清除率 = （1 - （A_i - A_j）/ A_e） × 100%。

1.3.5.3 ABTS⁺ 自由基清除能力测定 吸取 180 μL ABTS 分析溶液和 20 μL 不同质量浓度的样品溶液于 96 孔板中，混匀后于暗处静置 10 min，用 95% 乙醇做参比；在 734 nm 处测得吸光度值。以 20 μL 95% 乙醇替代样品溶液作为对照管，加 180 μL ABTS 分析溶液配置，测定吸光度值^[9]。重复 3 次，取平均值。按如下公式计算待测样品的自由基清除率，清除率 = （1 - 样品管 A₇₃₄/对照管 A₇₃₄） × 100%。

1.3.5.4 总抗氧化能力测定 吸取 6 μL 系列浓度为 400、600、800、1 000、2 000、5 000 μmol/L 的 FeSO₄ 溶液，与 180 μL FRAP 溶液混合，再加 18 μL 蒸馏水，在酶标仪中 37 ℃孵育 4 min，于 593 nm 下读取吸光值，以 FeSO₄ 溶液的浓度为横坐标，吸光值为纵坐标绘制标准曲线。吸取 6 μL 待测样品，与 180 μL FRAP 溶液混合，再加 18 μL 蒸馏水，在 37 ℃反应 4 min，于 593 nm 波长下读取吸光值（重复 3 次，取平均值），并在标准曲线上获得待测样品相应的 FeSO₄ 浓度，定义为当量浓度（FRAP 值）。结果表示为每 mg 样品中相当于的 FeSO₄ 的量（mmol/L）^[9]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 以及 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据分析及作图。

2 结果

2.1 艾柱挥发油中成分 GC-MS 分析 采用峰面积归一化法确定艾柱挥发油中各个组分的相对含量，结合相关文献以及 NIST14.L 标准谱库，取匹配度在 80 以上的最高值对成分进行归属。艾柱挥发油 GC-MS 总离子流图（TIC）见图 1，分析结果见表 1。结果显示，从艾柱挥发油中共鉴定出 34 种成分，主要为醇类、酚类、脂肪酸类、醛酮类、烯烃类。

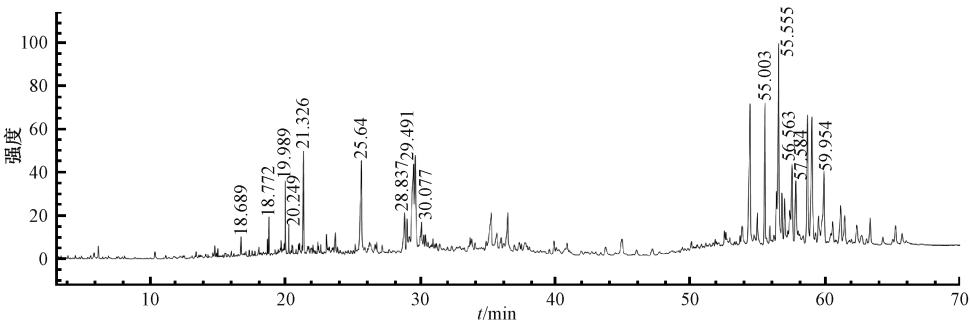


图 1 艾柱挥发油总离子流图

表 1 艾柱挥发油成分分析结果

t_R /min	分子式	名称	相对含量/%
5.826	C ₇ H ₆ O ₂	苯甲酸	0.13
6.123	C ₁₀ H ₁₈ O	龙脑	0.27
10.325	C ₉ H ₈ O	(<i>E</i>)-桂醛	0.26
14.979	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	丁香酚甲醚	0.13
15.571	C ₉ H ₈ O ₂	(<i>Z</i>)-肉桂酸	0.09
16.709	C ₁₀ H ₂₀ O ₃	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-trihydroxy- <i>p</i> -menthane	0.31
18.689	C ₁₅ H ₂₄ O	桉油烯醇	0.23
18.772	C ₁₅ H ₂₄ O	环氧石竹烯	0.56
19.679	C ₁₅ H ₂₄ O	11,11-二甲基-4,8-二亚甲基双环[7.2.0]十一烷-3-醇	0.17
19.913	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	3-丁基苯并呋喃-1(<i>3H</i>)-酮	0.09
19.989	C ₁₅ H ₂₆ O	十氢二甲基甲基乙烯基萘酚	0.98
20.249	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	3-亚丁基-1(<i>3H</i>)-异苯并呋喃酮	0.45
20.962	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	茉莉酸	0.20
21.326	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	(<i>E</i>)-蒿本内酯	2.14
21.657	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	肉豆蔻酸	0.13
23.051	C ₂₀ H ₃₈	新植二烯	0.35
25.640	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	棕榈酸	4.44
28.837	C ₂₀ H ₄₀ O	植物醇	1.67
29.491	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸	5.10
29.642	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α-亚麻酸	3.91
30.077	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	硬脂酸	0.55
34.857	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	二十酸	0.21
37.921	C ₁₄ H ₃₀ O	肉豆蔻醇	0.13
39.567	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	1,2-二(2-丙基戊基)甲酸酯	0.16
52.546	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	β-生育酚	0.27
55.003	C ₂₈ H ₄₈ O	菜油甾醇	0.89
55.555	C ₂₉ H ₄₈ O	豆甾醇	4.51
56.563	C ₂₉ H ₅₀ O	γ-谷甾醇	7.67
57.584	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	川陈皮素	3.60
57.860	C ₂₉ H ₄₆ O	豆固酮	2.34
58.729	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	乙酸羽扇醇酯	5.10
58.913	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	α-生育酚	6.30
59.954	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	环阿屯醇	2.42
65.265	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	(3β,23 <i>E</i>)-9,19-环羊毛甾-23-烯-3,25-二醇	0.79

2.2 艾柱燃烧产物中成分 GC-MS 分析 艾柱燃烧产物中化学成分的分析鉴定方法同“2.1”项，其 GC-MS 总离子流图见图 2，分析结果见表 2。结果显示，从艾柱燃烧产物中也鉴定出 34 种成分，主要为酚类、醇类、酯类、酮类、羧酸类、烷烃类。

2.3 抗氧化活性评价

2.3.1 DPPH 自由基清除作用 如图 3 所示，艾柱挥发油

及燃烧产物均可抑制 DPPH 自由基的产生，其 IC₅₀ 值分别为 1 127、85.6 μg/mL，阳性对照 Vc 的 IC₅₀ 值为 4.21 μg/mL。结果表明，艾柱燃烧产物对 DPPH 自由基的清除能力明显强于艾柱挥发油。

2.3.2 ABTS⁺ 自由基清除作用 如图 4 所示，艾柱挥发油及燃烧产物均可抑制 ABTS⁺ 自由基的产生，其平均 IC₅₀ 值分别为 327.2、81.9 μg/mL，阳性对照 Vc 的平均 IC₅₀ 值为

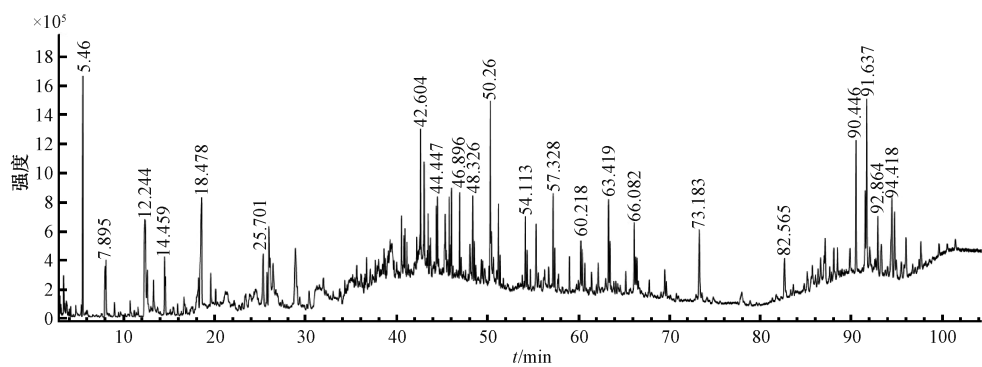


图 2 艾柱燃烧产物总离子流图 (TIC)

表 2 艾柱燃烧产物成分分析结果

<i>t_R</i> /min	分子式	名称	相对含量/%
5.460	C ₅ H ₆ O ₂	3-呋喃甲醇	2.77
7.895	C ₄ H ₈ O ₃	4-羟基丁酸	1.09
8.019	C ₄ H ₄ O ₂	2(5 <i>H</i>)-呋喃酮	0.73
8.931	C ₁₀ H ₁₆	1,3,3-三甲基三环(2.2.1.0 ^{2,6})庚烷	0.22
10.653	C ₆ H ₈ O	甲基环戊烯醇酮	0.20
12.244	C ₆ H ₆ O	苯酚	3.01
12.548	C ₂ H ₄ N ₄	3-氨基-1,2,4-三氮唑	0.47
14.459	C ₁₀ H ₁₆	双戊烯	0.91
14.552	C ₆ H ₈ O ₂	甲基环戊烯醇酮	0.54
19.525	C ₆ H ₆ O ₃	甲基麦芽酚	0.46
25.701	C ₇ H ₅ NS	苯并噻唑	0.48
25.926	C ₆ H ₁₂ N ₄	乌洛托品	1.22
40.493	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	2,5-二甲氧基苯乙酮	0.77
40.766	C ₁₅ H ₂₄ O	桉油烯醇	0.25
40.878	C ₁₅ H ₂₄ O	石竹素	0.36
42.604	C ₁₅ H ₂₆ O	十氢二甲基甲乙烯基萘酚	0.18
43.423	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	2-羟基-环戊烷酮	0.49
45.297	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	叉明草素	0.15
45.748	C ₁₆ H ₃₄ S	叔十六硫醇	0.71
45.993	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	methyl-2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>aR</i>)-4 <i>a</i> ,8-dimethyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7-octahydronaphthalen-2-yl]acrylate	0.29
46.896	C ₁₇ H ₃₂ O	13-十七炔-1-醇	0.86
48.326	C ₁₆ H ₂₈ O ₃	顺-乙酸(13,14-环氧基)-11-十四烯酸	1.07
50.260	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二丁酯	2.41
54.113	C ₁₇ H ₃₆ O	2-甲基-1-十六烷醇	1.05
57.328	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	7-methyl- <i>Z</i> -tetradecen-1-ol acetate	0.58
60.218	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	油酸	0.65
60.404	C ₂₅ H ₅₂	9-辛基-十七烷	0.51
62.121	C ₁₈ H ₃₅ NO	油酸酰胺	0.49
63.419	C ₂₀ H ₄₁ Cl	1-氯二十一碳烷	0.69
66.082	C ₂₂ H ₄₆ O	1-二十二醇	1.04
73.183	C ₂₄ H ₅₀ O	1-二十四醇	1.83
82.565	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	二十烯酸	0.80
90.446	C ₂₉ H ₄₈ O	豆甾醇	2.18
91.482	C ₃₀ H ₄₈ O	羽扇烯酮	1.27

45.7 μg/mL。表明，艾柱燃烧产物对于 ABTS⁺ 自由基的清除能力显著强于艾柱挥发油，与对照品 Vc 相当，显示出极好的抗氧化活性。

2.3.3 总抗氧化能力测定 以 FeSO₄ 浓度为横坐标 (*X*)，吸光度值为纵坐标 (*A*)，进行回归，得回归方程为 $A = 3.322\ 3X - 1.187\ 9$ ($r = 0.998\ 7$)。经过测定，艾柱挥发油

3510

的总抗氧化能力 (FRAP 均值) 为 0.278 4 mmol/L FeSO₄ 当量，艾柱燃烧产物的 FRAP 均值为 0.802 mmol/L FeSO₄ 当量，对照品 Vc 的 FRAP 均值为 8.003 mmol/L FeSO₄ 当量。结果表明，艾柱燃烧产物的总抗氧化能力要显著优于艾柱挥发油，FRAP 值约为后者的 2.9 倍。

3 讨论

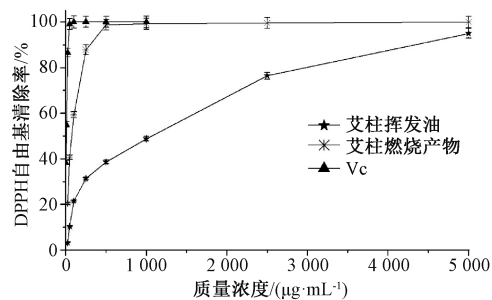


图 3 艾柱挥发油及燃烧产物对 DPPH 自由基的清除作用

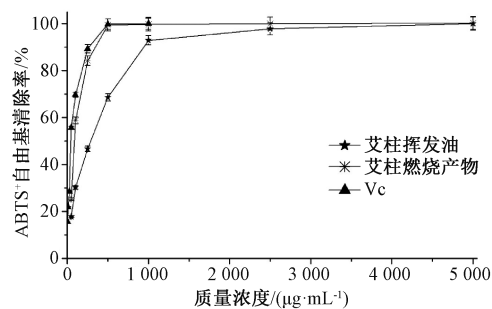


图 4 艾柱挥发油及燃烧产物对 ABTS⁺ 自由基的清除作用

艾灸疗法具有温通经脉、运行气血、回阳救逆、消毒散热、祛瘀散结等作用，其疗效的发挥与艾（柱）的药理作用、燃烧产物及其类芳香疗法作用等密切相关^[10]。于密密等^[11]采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用法对艾燃烧生成物中的苯酚含量进行定量测定，指出即使在极端情况下诊室内所产生的艾烟中的苯酚含量仍小于工业企业设计卫生标准（TJ36-79）规定的车间空气中有害物质最高容许浓度，证实了艾灸疗法的安全性。艾柱挥发油中含量最高的是以 γ -谷甾醇（7.67%）为代表的醇类化合物，占总峰面积的 19.73%，其他成分含量高低依次为酚类、脂肪酸类、醛酮类及烯炔类；其中一些化合物的生物活性已有报道，如 γ -谷甾醇、 α -生育酚、环氧石竹烯、龙脑、川陈皮素等具有抗氧化、抗炎抗菌、降脂、增强机体免疫力药理作用^[12-14]。

此外，本研究从艾柱燃烧产物中分析鉴定出 34 种化合物，但这些成分与艾柱挥发油有很大差异；所鉴定成分色谱峰面积之和占总峰面积的 30.73%；其中含量最高的是以苯酚（3.01%）为代表的醇（酚）类化合物，占总峰面积的 14.34%，其他成分含量高低依次为酯类、酮类、羧酸类及烷炔类；艾柱燃烧产物中苯酚、豆甾醇、羽扇烯酮等成分在抗氧化、消毒杀菌、抗炎镇痛等方面具有重要作用^[11, 15]。

现已证明与自由基有关的疾病有上百种，进行体外实验可以排除体内实验的复杂性，从而能够更为直接地观察受试物的作用效果，为受试物的体内实验提供科学依据^[16-17]。本研究通过自由基清除（DPPH、ABTS⁺）和总抗氧化能力（FRAP 法）测定比较艾柱挥发油和艾烟燃烧产物的体外抗氧化活性，结果表明艾柱燃烧产物的抗氧化活

性均明显强于艾柱挥发油。结合成分鉴定结果， α -生育酚是艾柱挥发油的重要组分，也可能是艾柱挥发油的主要抗氧化物质；此外，艾柱挥发油中具有较多的饱和及不饱和脂肪酸，但是烯炔类成分较少，这可能是其抗氧化活性弱于艾柱燃烧产物的重要原因。相反，在艾柱燃烧的过程中，产生了较多的苯酚、豆甾醇等活性物质，均具有较好的抗氧化活性。需要指出的是，本研究中所采用的体外抗氧化体系是水环境体系，在一定程度上限制了脂溶性物质抗氧化功能的发挥。另外，在以往对艾柱燃烧产物的研究中，多采用苯、正丁醇等有机溶剂进行吸收，具有一定的危害性^[4, 11]。本实验采用乙醇作为艾柱燃烧产物的吸收溶剂，更加贴近临床实际。

总之，本研究中艾柱挥发油和燃烧产物在成分组成上存在较大差异；在试验浓度范围内，艾柱燃烧产物的抗氧化活性明显优于艾柱挥发油，结果表明艾柱燃烧后，产生了更多活性成分，以期为深入研究艾柱药理作用机制和艾灸类芳香疗法提供依据。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[2] 丁圆平，刘靖怡，田 洋，等. 艾叶挥发油对 A549 细胞的抑制作用[J]. 中成药，2019，41(9)：2063-2068.

[3] 曹 玲，于 丹，崔 磊，等. 艾叶的化学成分、药理作用及产品开研究进展[J]. 药物评价研究，2018，41(5)：918-923.

[4] 郑婷婷，田瑞昌，刘国辉，等. 艾叶及其燃烧产物有效成分的研究进展[J]. 中华中医药杂志，2019，34(1)：241-244.

[5] 郭向辉，郑 慧，吴 巍. 白头翁皂苷 B4 对慢性肾功能衰竭大鼠肾组织的保护作用及其机制[J]. 吉林大学学报（医学版），2020，46(1)：90-95+210.

[6] 曹 玲，于 丹，崔 磊，等. 艾叶的化学成分、药理作用及产品开研究进展[J]. 药物评价研究，2018，41(5)：918-923.

[7] 郭太虎，莫明仙，赵昌金，等. 艾灸益气活血法对 D-半乳糖致衰老大鼠脑组织抗氧化能力的影响[J]. 云南中医中药杂志，2018，39(5)：77-79.

[8] 张 琪，刘 珺，吕玉宪，等. 超临界流体工艺萃取茶叶香气成分[J]. 食品研究与开发，2019，40(6)：105-110.

[9] 郭 璐，夏道宗，张晓熙，等. 石榴皮多组分提取工艺优化及多体系抗氧化活性评价[J]. 中华中医药杂志，2019，34(9)：4008-4012.

[10] 段文秀，吴子建，胡 玲，等. 不同浓度艾烟对大鼠肺功能及血浆、肺组织中肿瘤坏死因子- α 和白介素-1 β 含量的影响[J]. 针刺研究，2018，43(2)：98-103.

[11] 于密密，靳 然，赵百孝，等. SPME-GC-MS 法测定艾烟中苯酚的含量 [J]. 药物分析杂志，2012，32(10)：1870-1873.

[12] 张树清，彭 珍，付 宏，等. 维生素 A、E 辅助治疗小儿反复呼吸道感染的效果及对患儿免疫功能 IgG、IgA 的影响 [J]. 中国当代医药，2019，26(34)：81-83+91.

[13] 向 平, 娄桂群, 王仕艳, 等. 香薷、野草香挥发油分析及其生物活性评价[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1880-1884.

[14] 范晓丹, 丘泰球, 苏健裕. 龙脑制备方法及其药理药效研究进展[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(5): 122-126.

[15] 汪 帅, 孙 宇, 李春梅, 等. 豆甾醇的研究进展概述[J]. 中国药业, 2019, 28(23): 96-98.

[16] 夏道宗, 励建荣, 刘杰尔, 等. 高良姜总黄酮的超声萃取及其体外抗氧化作用研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(3): 63-69.

[17] 张 琦, 吴巧凤, 朱文瑞, 等. 石香薷总黄酮的体外抗氧化作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(10): 2317-2319.

夹竹桃花不同溶剂提取物的 GC-MS 分析及其抗氧化、抑菌活性

曹乃馨¹, 罗阳兰², 解修超^{1*}, 阎 勇², 邓百万¹

(1. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000; 2. 广西农业科学院微生物研究所, 广西南宁 530007)

摘要: **目的** 对夹竹桃花石油醚、二氯甲烷、无水乙醇、乙酸乙酯提取物进行 GC-MS 分析, 并考察其抗氧化、抑菌活性。**方法** 索氏提取法提取药材后, GC-MS 分析鉴定其成分, 测定其还原能力和对 DPPH、羟自由基的清除能力, 二倍连续梯度稀释法分析其对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌的抑制作用。**结果** 石油醚、二氯甲烷、无水乙醇、乙酸乙酯提取物的得率分别为 7.19%、5.97%、5.96%、4.33%, 化合物分别有 30、58、52、62 个。石油醚、无水乙醇提取物的还原、清除能力, 以及对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌的抑制作用较强。**结论** 石油醚、无水乙醇是提取夹竹桃花活性成分较理想的溶剂。

关键词: 夹竹桃花; 溶剂; 提取物; GC-MS; 抗氧化活性; 抑菌活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)12-3512-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.12.050

夹竹桃 *Nerium indicum* Mill. 是夹竹桃科夹竹桃属常绿直立大灌木, 其叶、皮、根、茎、花中含有强心甘类、甾体类、萜类、香豆素类、黄酮苷类等多种活性化合物, 具有灭螺、杀虫和化感作用, 还具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤、降血糖、强心的功效, 但易引起中毒^[1-8]。目前对夹竹桃的研究主要集中于强心甘、生物碱类、多糖等化学成分、药理活性及药物开发、生物防治及环境修复等方面^[9-10]。

李昌灵等^[11]研究了夹竹桃叶不同提取液的抑菌作用, 发现醇提取液的抑菌效果最好, 水提取液较弱, 醚提取液最弱。董道青等^[12]研究了夹竹桃叶五种有机试剂提取物对福寿螺的毒杀作用, 发现正己烷提取物的毒杀活性最高, 甲醇提取物的毒杀活性最低。研究发现夹竹桃叶具有一定的生物活性, 但对夹竹桃花的研究鲜见报道, 为明确夹竹桃花的生物活性以及不同溶剂提取物的效果, 本研究以石油醚、二氯甲烷、无水乙醇和乙酸乙酯四种有机试剂为溶剂, 用索氏提取法提取夹竹桃花的化学物质, 通过 GC-MS 进行组分分析, 并比较其抗氧化和抑菌活性, 旨在筛选出高活性、低成本的提取溶剂, 探索夹竹桃花的潜在药用价

值, 为夹竹桃花的深入研究和综合开发提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 N1000 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); SW-CJ-1D 型单人超净工作台 (上海苏净实业有限公司); YXQ-LS-50S 型高压灭菌锅 (上海博讯实业有限公司医疗设备厂); 7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪 (美国安捷伦公司); Epoch2 微孔板分光光度计 (美国 BioTek 公司)。

1.2 材料 夹竹桃花采自陕西省汉中市城固县 (北纬 N33°09'24", 东经 E107°20'00"), 40 ℃ 恒温干燥至恒重, 粉碎过 40 目筛保存于阴暗处备用。碧云天总抗氧化能力检测试剂盒 (FRAP 法)。枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*, 批号 CMCC63501); 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, 批号 CMCC26003); 大肠杆菌 (*Escherichia coli*, 批号 CMCC44102); 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, 批号 CMCC10104); 白色念珠菌 (*Candida albicans*, 批号 CMCC98001)。

2 方法与结果

收稿日期: 2021-05-10

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2020NY-062)

作者简介: 曹乃馨 (1996—), 女, 硕士生, 从事微生物代谢活性物质研究。Tel: 18409163627, E-mail: 2629248365@qq.com

* 通信作者: 解修超 (1978—), 男, 博士, 副教授, 从事微生物资源保护与开发利用研究。Tel: 15991069559, E-mail: 44557987@qq.com