

阿魏酸松柏酯的研究进展

李韶菁, 张迎春, 苏培瑜, 陈畅, 李德凤, 杨洪军*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 阿魏酸松柏酯广泛存在于多种植物中, 具有良好的药理活性, 目前国内外对阿魏酸松柏酯的研究报道较少。该文通过查阅国内外近 30 年有关阿魏酸松柏酯的研究文献, 对其理化性质、提取分离、含量测定、稳定性、生物活性等进行了系统综述。结果发现阿魏酸松柏酯性质很不稳定, 在光照和高温下极易分解为阿魏酸, 因此目前提取分离方法以加压液体萃取法为佳, 高效液相色谱法仍为其含量测定的常用方法, 其药理活性包括抗菌、抗肿瘤、抗氧化、舒张血管等。这些研究将为含阿魏酸松柏酯中药的质量标准制定及产品开发提供参考。

[关键词] 阿魏酸松柏酯; 阿魏酸; 川芎; 当归; 稳定性; 生物活性

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0229-03

Advances in Research of on Coniferyl Ferulate

LI Shao-jing, ZHANG Ying-chun, SU Pei-yu, CHEN Chang, LI De-feng, YANG Hong-jun*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] Coniferyl ferulate was widely present in various plants. In recent years, many studies were reported on it. However, more and more attention was paid to its excellent pharmacological activities discovered. In order to research it more systematically, the related reports during the past three decades years had been searched and summarized, including its physical and chemical properties, extraction and separation, content determination, stability and biological activities. Many studies showed that coniferyl ferulate is poorly unstable and easy to decompose, especially in the condition of strong light and high temperature, and so far the pressurized liquid extraction method was a better way to extract and high performance liquid was the method common used to content determination; Many of the strong pharmaceutical activities such as antimicrobial, anticancer, antioxidant, diastolic blood vessels were found, which provide information reference to quality standards and product development of chinese medicine containing Coniferyl ferulate.

[Key words] Coniferyl ferulate; ferulic acid; Ligusticum chuanxiong; Angelica sinensis; stability; biological activity

阿魏酸松柏酯 (Coniferyl ferulate) 存在于伞形科植物欧当归^[1]、当归、川芎^[2]以及其他一些植物^[3]中, 具有较强的

药理活性。阿魏酸松柏酯受热遇光极易分解成阿魏酸和松柏醇(图 1), 而这一现象在含阿魏酸松柏酯中药质量标准制定中, 未引起充分重视, 为此, 本文对近 30 年来阿魏酸松柏酯的研究做一综述, 为含阿魏酸松柏酯中药的质量标准制定、及产品开发提供参考。

1 阿魏酸松柏酯的理化性质及稳定性

阿魏酸松柏酯, 即 3-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)-丙烯酸 3-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)-烯丙基酯^[4], 为无色油状物^[3] (一说黄色油状物^[5]), 最大紫外吸收波长为 270 nm, 299 nm, 318 nm^[6]。考察了阿魏酸松柏酯在当归药材中的稳定性, 预测出阿魏酸松柏酯在 25 ℃ 下含量下降 10% 的时间约为 13 d,

[收稿日期] 2010-09-20

[基金项目] 中国中医科学院自主选题项目 (Z02063)

[第一作者] 李韶菁, 博士, 副研究员, 研究方向: 分子药理学, Tel: 010-84035184, E-mail: shaojingli2004@vip.sina.com

[通讯作者] * 杨洪军, 研究员, 博士, 研究方向: 药理学, Tel: 010-64014411-2948, E-mail: hongjun0420@vip.sina.com

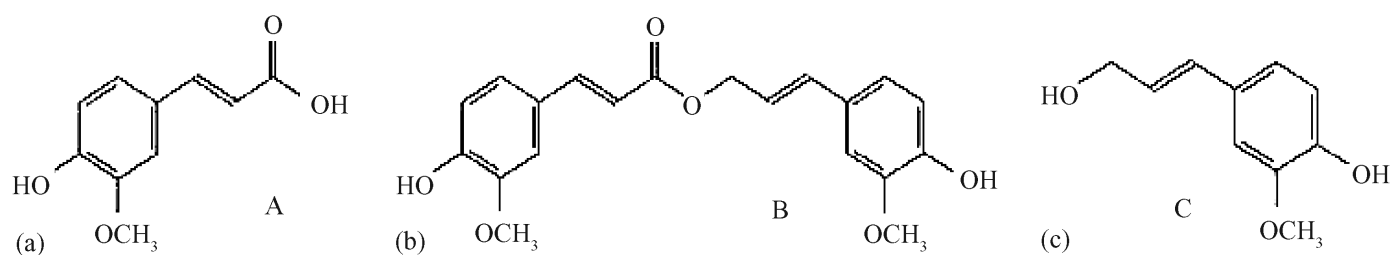


图 1 阿魏酸 (a)、阿魏酸松柏酯 (b) 及松柏醇 (c) 结构图

并通过实验验证,阿魏酸松柏酯实际分解速度快于预测值,推测药材中另外还有可以分解阿魏酸松柏酯的酶存在,且在高温时酶失活^[7]。在当归中提取阿魏酸松柏酯的稳定性研究中显示^[8]:阿魏酸松柏酯在甲醇、强酸、弱碱、甲醇-水及高温等情况下易分解成阿魏酸。在这些工艺中,甲醇-甲酸(95/5)被认为是提取阿魏酸松柏酯较好的溶剂。在阿魏酸松柏酯受光照和温度影响的研究中,研究者^[9]分别将其置于棕色瓶中 60℃ 的烘箱中加热 12 h;置于透明玻璃瓶中在阳光下照射 8 h,结果都表明阿魏酸松柏酯有明显减少,而阿魏酸是其主要分解产物,提示光照和高温均易于阿魏酸松柏酯分解成阿魏酸。

2 阿魏酸松柏酯的提取分离

阿魏酸松柏酯性质很不稳定,因此选择适当的工艺,尽量多的将其从药材中提取出来是研究者们关注的主要问题之一。在阿魏酸松柏酯的提取工艺上,有学者评价了利用超声提取、加压液体萃取、超临界萃取、水蒸气蒸馏、煎煮 5 种方法对当归中阿魏酸松柏酯的提取效率^[10],结果表明:加压液体萃取 = 超声提取 > 超临界萃取 > 水蒸气蒸馏、煎煮。水蒸气蒸馏和煎煮液中没有检测到阿魏酸松柏酯。

孔亮^[11]称取 120 g 川芎粉(35 目),加入 800 mL 的乙醇,回流煮沸计时,1 h 后将提取液经微孔滤膜(0.45 μm)过滤,收集滤液。在 40℃ 下减压蒸馏除掉溶剂,剩余物移至活化好的 SPE 柱中,先后以 200 mL 30% 乙腈-水和 60% 的乙腈-水淋洗,收集 60% 洗脱液,其中的阿魏酸松柏酯纯度经 HPLC 分析约为 35%。再分别以 50%、37% 的乙腈-水为流动相,用半制备柱 A 和 B 继续纯化阿魏酸松柏酯,减压蒸馏除去溶剂后得到阿魏酸松柏酯的纯品。

3 阿魏酸松柏酯的含量测定

高效液相色谱法(HPLC)是测定中药中成分含量的常用方法之一,具有灵敏度高、分析速度快、所需样品少等优点。在利用高效液相色谱法测定当归和川芎中阿魏酸松柏酯含量的研究中,YueYu^[2]等利用 Agilent 1100 LC/DAD 系统和 Agilent 化学工作站。色谱条件 Zorbax ODS C₁₈ 分析柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)和 Zorbax ODS C₁₈ 预柱(4.6 mm × 12.5 mm, 5 μm),检测波长 318 nm,流动相乙腈-1% 醋酸水溶液(50:50),柱温 25℃,体积流量 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。测定了 7 批当归、5 批川芎中阿魏酸松柏酯的含量,具有良好的精密度和重现性。得出阿魏酸松柏酯在当归中的含量分别为 8.68, 12.31, 11.15, 10.03, 8.7, 5.2, 3.8 mg·g⁻¹,在川芎中的含量分别为 3.7, 4.6, 4.4, 4.5, 7.4 mg·g⁻¹。并

认为在一般情况下,阿魏酸松柏酯在当归中的含量要稍高于川芎。

谢京晶^[12]等采用 Zorbax ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为 1% 醋酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0 min, 10% B; 7 min, 33% B; 55 min, 33% B),流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长为 324 nm。阿魏酸松柏酯的线性范围为 38.00 ~ 380.00 μg·mL⁻¹(r = 0.9995);加样回收率为 105.3%(RSD 3.2%)。孔亮^[13]等利用 LC-8A 高效液相制备色谱仪,SPD-10Avp 紫外可见检测器,C₁₈ 色谱柱(分析型 4.0 mm × 200 mm, 5 μm),色谱填料为 Kromasil,以外标法对市售川芎提取液中的阿魏酸松柏酯进行定量,采用乙醇为溶剂,提取时间为 60 min,得出了阿魏酸松柏酯在 316 nm 下的标准曲线方程,并计算出川芎中的阿魏酸松柏酯的含量是 89.64 ppm,回收率 75.59%,RSD 为 2.23%。

4 阿魏酸松柏酯的生物活性

4.1 抗菌 有学者从 *Lomatium californicum* 中分离得到阿魏酸松柏酯后,采用纸片琼脂扩散法抑菌试验,分别用营养琼脂和葡萄糖琼脂培养葡萄球菌和枯草芽孢杆菌,以直径为 6 mm 的纸片吸取浓度为 100, 500, 1 000 μg 的阿魏酸松柏酯,将纸片均匀间隔贴于各琼脂培养基表面,轻压纸片使接触良好,放入 37℃ 恒温培养箱中,18 h 后取出,测量抑菌圈的大小。结果显示阿魏酸松柏酯对葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有一定的抗菌活性^[14]。

4.2 抗肿瘤 体外药理实验模型显示,阿魏酸松柏酯具有良好的抗肿瘤活性。孔亮^[4,11]以宫颈癌 HeLa 细胞为模型,采用 MTT 法测试中药川芎提取物及其代谢物、阿魏酸松柏酯及其代谢物抑制肿瘤细胞的活性,结果表明培养液中的药物为 0.1 g·L⁻¹时,川芎粗提物的抑制率为 12.3%,经过与肝匀浆温孵 60 min 的代谢物的抑制活性消失。阿魏酸松柏酯随着浓度的增加,其肿瘤细胞抑制逐渐升高,在 5.4 g·L⁻¹时,抑制率超过 80%,而它的代谢物-阿魏酸乙酯在整个试验的浓度范围内没有任何抑制 HeLa 肿瘤细胞的活性。据以上结果推断阿魏酸松柏酯在体内没有抗肿瘤活性,是因为它在体内被肝脏迅速代谢转化为无肿瘤细胞抑制活性的阿魏酸乙酯。

4.3 抗氧化 抗氧化是阿魏酸松柏酯的主要药理活性之一。有学者运用高效液相色谱-二极管阵列-质谱(HPLC-DAD-MS)技术和 2,2'-连氮-(3-乙基苯并咪唑啉-6-磺酸)二氢盐(ABTS)自由基清除法识别当归挥发油中的抗氧化成分,认为阿魏酸松柏酯是其中起到抗氧化反应的主要成分。

同时还采用二苯代苦味肼基自由基(DPPH)、ABTS和 β -胡萝卜素漂白法(β -CBT)3种体外抗氧化活性分析方法,与阳性对照维生素C(VC)、丁基羟基茴香醚(BHA)比较,对当归挥发油、67%的阿魏酸松柏酯、92%的阿魏酸松柏酯进行了抗氧化活性评价。结果显示阿魏酸松柏酯所产生的抗氧化效应的大小与当归挥发油的抗氧化效非常接近^[15]。

4.4 舒张血管 在心脑血管系统方面,阿魏酸松柏酯也表现出良好的药理活性,Naito T^[16]等研究发现,阿魏酸松柏酯具有较好的血管扩张作用。

5 讨论与展望

由于阿魏酸松柏酯性质不稳定,为更好更全面地控制中药质量,有学者^[8]提出了“游离阿魏酸”和“总阿魏酸”的概念,认为游离阿魏酸是指在植物体中本来就含有的那部分阿魏酸,总阿魏酸是游离阿魏酸和其他途径分解生成的阿魏酸之和;并认为在用化学分析方法评价中药质量时,应优先采用“总阿魏酸”的含量作为评价指标。因此2010版《中国药典》对川芎及当归中阿魏酸含量测定项下用70%甲醇加热回流30 min,所得不是当归中阿魏酸真实的含量,应该为阿魏酸和阿魏酸松柏酯分解生成的阿魏酸之和,对此,国内已有学者提到^[7]。

阿魏酸松柏酯在诸多方面均具有良好的药理活性,近年来随着相关研究的不断深入,逐渐显示出阿魏酸松柏酯是一个非常具有开发前景的化合物,成为国内外研究者追逐的热点,有望开发为一类新药。但由于阿魏酸松柏酯物化性质不稳定,极易分解,因此在强化合成、提取分离、药理药效等方面的研究外,应着重加强其稳定性研究,为富含阿魏酸松柏酯的新药研发下游工作奠定坚实的基础。我国建立了川芎、当归等富含阿魏酸松柏酯药材的GAP种植基地,为进一步研究和开发阿魏酸松柏酯提供了丰富的资源。加强基础研究,各学科紧密协作,将有望将阿魏酸松柏酯开发成全新的具有良好用途的一类新药。这对于促进我国医药工业的发展,提高我国的天然创新药物的水平具有重要意义。

[参考文献]

[1] Sibylle Zschock, Jiang-Hua Liu, Hermann Stuppner, et al. Comparative Study of Roots of *Angelica sinensis* and Related Umbelliferous Drugs by Thin Layer Chromatography, HPLC Chromatography, and LGMS Spectrometry [J]. PHYTOCHEMICAL ANALYSIS, 1998, 9(6):283.

[2] Yue Yu, Qing-Wen Zhang Yi-Tiao Wang et al. A rapid HPLC method for determination of coniferylferulate in *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2007 (16): 197.

[3] MOHAMED A. METWALLY, ROBERT M. KING, HAROLD ROBINSON. An acetylenic epoxide and a

ferulate from *Coreopsis longula* [J]. Phytochemistry, 1985, 24(1):182.

[4] 邹汉法,孔亮,孙乃昌,等.阿魏酸松柏酯在抗癌药物中的应用[P].中国专利2003101049290,2005.

[5] LU Xin-hua, ZHANG Jin-juan, LIANG Hong, et al. Chemical Constituents of *Angelica sinensis* [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2004, 13(1):2.

[6] LU G H, CHAN K L, LIANG Y Z, et al. Development of high-performance liquid chromatographic fingerprints for distinguishing Chinese *Angelica* from related umbelliferae herbs [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1073(1-2):383.

[7] 谢京晶,赵静,李绍平.基于化学成分变化的当归药材保质期预测[J].中国中药杂志,2008,33(16):1997.

[8] Guang-Hua Lu, Kelvin Chan, Kelvin Leung, et al. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis* [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1068(2):209.

[9] Song-Lin LI, Ru YAN, Yun-Kau TAM, et al. Post-Harvest Alteration of the Main Chemical Ingredients in *Ligusticum chuanxiong* HORT [J]. (Rhizoma Chuanxiong). Chem Pharm Bull, 2007, 55(1):140.

[10] Jing-Jing Xie, Jia Lu, Zheng-Ming Qian, et al. Optimization and Comparison of Five Methods for Extraction of Coniferyl Ferulate from *Angelica sinensis* [J]. Molecules, 2009, 14(1):555.

[11] 孔亮.体外代谢用于中药活性成分筛选的研究.中国科学院研究生院博士学位论文[D],2005:135.

[12] 谢京晶,于珥,王一涛,等.HPLC法同时测定当归药材中6种成分的含量[J].药物分析杂志,2007,27(9):1314.

[13] 孔亮,于志远,陈学国,等.对川芎中一种有效成分的定量定性分析研究[C].第十五次全国色谱学术报告会文集(下册),2005:718.

[14] Chou SC, Evergam MC, Sturtz G, et al. Antibacterial activity of components from *Lomatium californicum* [J]. PHYTOTHERAPY RESEARCH, 2006, 20(2):153.

[15] Li SY, Yu Y, Li SP. Identification of antioxidants in essential oil of radix *Angelicae sinensis* using HPLC coupled with DAD-MS and ABTS-based assay [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(9):3358.

[16] Naito T, Iketani Y, Kubota K., Shimoda Y. Vasodilators containing coniferyl ferulate and phthalide dimers of *Cnidium officinale* [P]. Jap Pat, 07233060, 1995.

[责任编辑 顾雪竹]