

赶黄草总黄酮分级萃取及活性分析

余付香¹, 陈明旭¹, 成桥¹, 陈韬¹, 付亮², 丁春邦^{1*}

¹四川农业大学生命科学学院, 雅安 625014; ²四川省达州市农业科学研究所, 达州 635000

摘要:以赶黄草茎叶为实验材料, 用乙酸乙酯、正丁醇对赶黄草乙醇粗提物(EF)进行分级萃取, 依次得到乙酸乙酯相(AF)、正丁醇相(BF)和水相(WF), 分别测定各相黄酮含量、体外抗氧化和抑菌活性。结果表明, 乙酸乙酯相的黄酮含量最高, 为 133.36 mg/g, 超过赶黄草总黄酮含量的 50%; 乙酸乙酯相的 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子清除能力和亚铁离子螯合能力最强, 其 IC₅₀ 值分别为 0.076、0.209、0.038、0.593 mg/mL; 乙酸乙酯相的抑菌效果显著, 对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度均为 0.075 mg/mL。

关键词:赶黄草; 总黄酮; 分级萃取; 抗氧化; 抑菌

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.013

Classified Extraction and Activity of Total Flavonoids from *Penthorum chinense Purse*

YU Fu-xiang¹, CHEN Ming-xu¹, CHENG Qiao¹, CHEN Tao¹, FU Liang², DING Chun-bang^{1*}

¹College of life Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

²Dazhou Institute of Agricultural Science, Dazhou 635000, China

Abstract: In this study, total flavonoids of *Penthorum chinense Purse* were extracted by ethanol. The ethanol extract (EF) was further divided into ethyl acetate extraction phase (AF), n-butanol extraction phase (BF) and water extraction phase (WF) by fractional extraction. Among them, the content of total flavonoids existed in AF was 133.36 mg/g, higher than 50% of the total flavonoids content. AF exhibited the strongest antioxidant activities in chelating ferrous ion ability, DPPH free radical scavenging, hydroxyl radical scavenging and superoxide anion scavenging tests, with IC₅₀ values of 0.076, 0.209, 0.038 and 0.593 mg/mL, respectively. In addition, AF also possessed the highest antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, with the minimum inhibition concentration (MIC) of 0.075 mg/mL.

Key words: *Penthorum chinense Purse*; total flavonoids; fractional extraction; antioxidant activity; antibacterial activity

赶黄草(*Penthorum chinense Purse*)又名水泽兰、水杨柳、扯根菜等, 为虎耳草科(Saxifragaceae)扯根菜属(*Penthorum*)多年生草本植物^[1], 是苗族传统药物。始载于明代《救荒本草》, 现被收载于《中药大辞典》^[2]和《四川中药志》^[3], 用于治疗黄疸、水肿、跌打损伤以及各种肝炎、胆囊炎、脂肪肝等^[4]。在俄罗斯远东地区、日本和朝鲜等地均有分布, 在我国主要分布于四川、贵州、云南等省区^[5]。赶黄草可以直接食用或者做茶饮用, 含多种有效成分, 现已用于临床, 黄酮类化合物是其主要活性成分^[6]。黄酮类物质是一个供氢体, 能猝灭单线态氧及螯合金属

离子, 有很强的氧化还原能力, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抗衰老以及防止骨质疏松、保护心血管、降血脂等疗效^[7,8]。

目前从天然产物中提取黄酮类物质, 以溶剂热浸提为主^[9]。不同的黄酮类化合物, 其结构差异造成了物质溶解性的差异, 可以依据粗提物中成分的极性不同, 选择不同的溶剂进行分级萃取使得物质得到较好的分离富集, 这样不仅可以使黄酮类化合物与杂质分离, 还可以使苷类与苷元或极性苷元与非极性苷元得到相互分离, 进而筛选出强效活性物质的存在部位^[10]。据文献报道, 复序橐吾分级萃取各部位均含有黄酮类成分, 其中以乙酸乙酯部位总黄酮含量最高, 且对自由基有显著的清除作用; 高良姜未分级萃取的黄酮类粗提物具有抑菌活性, 但活性小于分级萃取后的乙酸乙酯层^[11,12]。目前, 关于

赶黄草总黄酮的分级萃取及其活性研究尚未见报道。因此本实验采用分级萃取的方法,比较各萃取相的黄酮含量、体外抗氧化和抑菌活性,寻找在含量、抗氧化和抑菌活性等方面占优势的黄酮极性部分,为更好的利用赶黄草资源和开发天然抗氧化剂、抑菌剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料

赶黄草茎叶,2015年9月采自四川达州,经四川农业大学丁春邦教授鉴定为虎耳草科扯根菜属植物赶黄草(*Penthorum chinense* Purse)。晾干粉碎,过60目筛,混匀,用石油醚除去色素后干燥备用。

1.1.2 实验菌种

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),为四川农业大学植物学实验室保存。

1.1.3 仪器与试剂

BT-124S 电子天平(德国 Sartorius 公司);RM-220 实验室超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(常州智博瑞仪器制造有限公司);高速冷冻离心机(德国 Thermo 公司);DZF 真空干燥箱(北京永光明医疗仪器有限公司);DNP-9082 电热恒温培养箱(上海三发科学仪器有限公司);RE-2000B 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器);HZQ-X100 震荡培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司);AIR TECH 超净工作台(苏净集团安康公司制造);Spectra Max M2 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

2,2-二苯基-1-苦味基肼(DPPH, Sigma);PMS(上海瑞永生物科技有限公司);菲啰嗪、芦丁标准品、抗坏血酸(Vc)、乙醇、乙酸乙酯、正丁醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、EDTA-2Na、FeSO₄、水杨酸、H₂O₂、NADH、NBT(成都科龙化工试剂厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

准确称取70g材料,按料液比1:20(g/mL)加入70%乙醇于80℃水浴下浸提3次,每次2h,得到乙醇粗提物,蒸发浓缩,回收溶剂,得不含醇味的样品水溶液,依次经乙酸乙酯、正丁醇反复萃取收集得乙酸乙酯相和正丁醇相,最后剩下水相。分别测定各相的总黄酮含量,将乙醇粗提物(EF)、乙酸乙酯

相(AF)、正丁醇相(BF)和水相(WF)分别浓缩干燥,4℃储藏备用。

1.2.2 样品中总黄酮含量的测定

参照孙京沙^[13]的方法适当改进,绘制标准曲线。准确称取干燥至恒重的芦丁标准品25.0mg,用80%乙醇溶解后,定容至50mL,配制质量浓度为0.5g/L的芦丁标准溶液。分别吸取0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL芦丁标准溶液置于10mL具塞试管中,用80%乙醇补至1.0mL,加入质量分数为5%的亚硝酸钠溶液0.2mL,摇匀,静置6min,再加10%的硝酸铝溶液0.2mL,摇匀,静置6min,最后加入1.0mol/L NaOH溶液2.0mL,用80%乙醇补至4.0mL,摇匀,放置15min,于510nm下测定吸光值,以芦丁浓度(X,g/L)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,得标准曲线回归方程为 $y = 7.0423x - 0.0005$,相关系数 $R^2 = 0.9990$ 。

黄酮含量(mg/g) = 样品液中黄酮浓度 × 样品液体积 / 赶黄草粉末质量

1.2.3 抗氧化活性测定

1.2.3.1 DPPH 自由基清除能力的测定

参考令狐晨等^[14]的方法稍加改进,以Vc为对照,将各部黄酮和Vc配成不同质量浓度(0.0625~1.0000mg/mL)的样品溶液。取50μL样品溶液与150μL 0.6mmol/L DPPH溶液混匀,室温静置30min,517nm处测吸光值,试验3次重复。

DPPH 自由基清除率(%) = $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100$

式中, A_i 为加入样品的反应液吸光值; A_j 为样品的吸光值; A_c 为以蒸馏水代替样品反应液吸光值。

1.2.3.2 羟自由基清除能力的测定

参考Tahmouzi等^[15]的研究方法稍加改进。以Vc为对照,将各部黄酮和Vc配成不同质量浓度(0.0625~1.0000mg/mL)的样品溶液。依次加入50μL 9.0mmol/L FeSO₄溶液、50μL 9.0mmol/L 水杨酸-乙醇溶液、50μL 样品溶液、50μL 8.8mmol/L H₂O₂于在96孔板中,混合均匀后,室温下反应1h,510nm处测定吸光值,试验3次重复。

羟自由基清除率(%) = $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100$

式中, A_i 为加入样品的反应液吸光值, A_j 为样品的吸光值, A_c 为以蒸馏水代替样品的反应液吸光值。

1.2.3.3 超氧阴离子清除能力的测定

参考马慧萍等^[16]的方法稍加改进。以Vc为对

照,将各部黄酮和 Vc 配成不同质量浓度(0.0625 ~ 1.0000 mg/mL)的样品溶液。依次加入 50 μ L 样品溶液、50 μ L 0.156 mmol/L NBT 溶液、50 μ L 0.47 mmol/L NADH 溶液、50 μ L 0.06 mmol/L PMS 溶液于 96 孔板中,混合均匀后,37 $^{\circ}$ C 下恒温水浴 5 min,560 nm 处测定吸光值,试验 3 次重复。

超氧阴离子清除率(%) = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$

式中, A_1 为加入样品的反应液吸光值; A_2 为样品的吸光值; A_0 为以蒸馏水代替样品的反应液吸光值。

1.2.3.4 Fe^{2+} 螯合能力的测定

参考王忠合等^[17]的方法稍加修改。以 EDTA-2Na 为对照,将各部黄酮和 EDTA-2Na 配成不同质量浓度(0.0625 ~ 1.0000 mg/mL)的样品溶液。依次加入 50 μ L 样品溶液、100 μ L 0.125 mmol/L $FeSO_4$ 溶液、50 μ L 1.0 mmol/L 菲罗嗪溶液于 96 孔板中,充分混合后,室温静置 10 min,562 nm 处测吸光值,试验 3 次重复。

Fe^{2+} 螯合率(%) = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$

式中, A_1 为加入样品反应液的吸光值; A_2 为样品的吸光值; A_0 以蒸馏水代替样品溶液的吸光值。

1.2.4 抑菌活性测定

1.2.4.1 黄酮溶液的抑菌活性测定

采用滤纸片法^[18]测定各部黄酮对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性。将各部黄酮分别

表 1 赶黄草不同溶剂萃取相的黄酮含量($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Total flavonoids contents of different solvent extraction from *P. chinense* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别 Group	EF	AF	BF	WF
含量 Content (mg/g)	205.25 \pm 0.11	133.36 \pm 0.06	53.21 \pm 0.30	19.06 \pm 0.02

2.2 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相的抗氧化能力分析

2.2.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基是一种稳定的自由基,其孤对电子在 517 nm 处有特征强吸收(深紫色)。抗氧化剂可直接与孤对电子配对,使 DPPH 自由基吸收减弱,颜色从紫色逐渐变成黄色,因此可以通过测定吸收减弱的程度,间接评价该抗氧化剂的活性^[20]。

由图 1 可知,赶黄草总黄酮不同极性萃取相对 DPPH 都有较强的清除能力,并随黄酮浓度增加而增强,具有一定的量效关系,在高浓度时清除率趋于平缓。当各相黄酮浓度达到 0.5 mg/mL 时,AF、BF、EF 三者的清除率接近对照 Vc,其最大清除率为

配制成浓度为 1.25、2.50、5.00、10.00 和 20.00 mg/mL 的溶液。将活化后的菌种配成 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 的菌悬液并涂平板,取无菌滤纸片贴于含菌平板上,于滤纸片上加 5 μ L 黄酮溶液,用 1.25 万单位/mL 的庆大霉素和 20 mg/mL 的羧苄青霉素做阳性对照,相同溶剂作空白对照,37 $^{\circ}$ C 培养 24 h,用游标卡尺测量抑菌圈大小。

1.2.4.2 最低抑菌浓度(MIC)的测定

根据刘文朵^[19]的方法做适当修改。采用二倍稀释法将黄酮配制成 0.150 ~ 0.035 mg/mL 的水溶液,按照 1.2.4.1 的方法测定抑菌圈大小,计算最低抑菌浓度(MIC)。

1.2.5 实验数据处理

采用 Microsoft Excel 2010、SPSS 17.0、Origin 9.0 对实验数据进行统计分析处理。所有试验均重复三次。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂萃取相的赶黄草黄酮含量分析

不同溶剂萃取相的赶黄草黄酮含量见表 1。由表可以看出,黄酮粗提物的含量为 205.25 mg/g,萃取相中乙酸乙酯相的黄酮含量最高,超出乙醇粗提物中黄酮含量的 50%,其次是正丁醇相,水相黄酮含量最低。表明赶黄草中黄酮的极性部分与乙酸乙酯的极性最为相似。

AF(95.21%)、EF(91.28%)、BF(90.20%)、WF(61.31%), IC_{50} 值分别为 AF(0.076 mg/mL)、EF(0.108 mg/mL)、BF(0.167 mg/mL)、WF(0.601 mg/mL),对 DPPH 自由基清除率 IC_{50} 值做差异性分析,得到乙酸乙酯、乙醇、正丁醇、水四相之间存在显著差异($P < 0.05$)。这说明乙酸乙酯相对 DPPH 的清除能力最强,乙醇粗提物次之,然后是正丁醇相,水相清除能力最弱。

2.2.2 羟自由基清除能力

羟自由基是一种较活泼、毒性较强的活性氧自由基,氧化性比重铬酸钾和高锰酸钾还强,反应速度快,寿命短,几乎可以和所有细胞成分发生反应,对机体造成的危害极大^[21]。利用 Fenton 体系产生羟

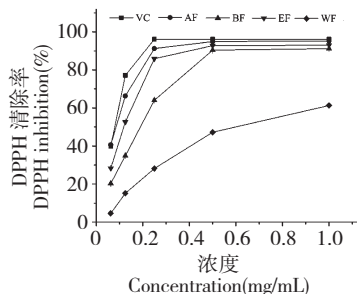


图1 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相对 DPPH 自由基清除率
Fig. 1 DPPH radical scavenging effect of different solvent extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

自由基,加入水杨酸反应产生能在 510nm 处有强吸收峰的有色物质,其吸光值与 $\cdot\text{OH}$ 的量成正比^[22]。

由图 2 可以看出,赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相对羟自由基都具有一定的清除活性,并随着黄酮浓度的增大存在良好的量效关系。当质量浓度达到 1 mg/mL 时,AF、EF、BF 和 WF 对羟自由基的最大清除率分别为 79.61%、73.37%、72.70% 和 42.81%。IC₅₀值分别为 0.209、0.266、0.342、1.442 mg/mL,显著性分析表明,乙酸乙酯相、乙醇粗提物、正丁醇相、水相之间存在显著性差异($P < 0.05$),其中乙酸乙酯相对羟自由基清除能力最强,正丁醇相次之,然后是乙醇粗提物,水相清除能力最弱,都低于阳性对照 Vc。

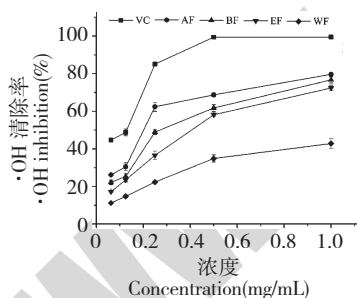


图2 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相对羟自由基清除能力
Fig. 2 Hydroxyl scavenging effect of different solvent extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

2.2.3 超氧阴离子清除能力

黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶体系产生超氧阴离子自由基,NBT 被超氧阴离子自由基还原成蓝紫色的 Formazane。比色 Formazane 即间接测定超氧阴离子^[23],从而间接测出黄酮的抗氧化活性。

由图 3 可以看出,在一定浓度范围内,样品对超氧阴离子的清除率与质量浓度呈明显的量效关系。当样品浓度为 1 mg/mL 时,AF、EF、BF 和 WF 对超

氧阴离子的最大清除率分别为 97.79%、94.07%、94.61% 和 88.38%,IC₅₀值分别为 0.038、0.063、0.077、0.328 mg/mL,其中乙酸乙酯相和正丁醇相、乙醇粗提物、水相存在显著性差异。乙酸乙酯相对超氧阴离子清除活性最强,乙醇粗提物次之,然后是正丁醇相,水相清除能力最弱。

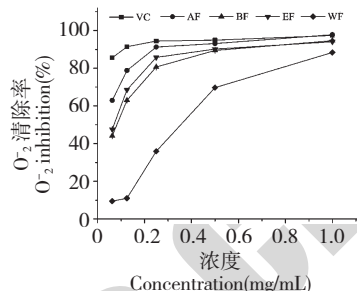


图3 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相对超氧阴离子清除能力
Fig. 3 Superoxide radical scavenging effect of different solvent extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

2.2.4 Fe²⁺螯合能力

人体内过多的铁催化产生活性氧自由基,而引起周围组织的氧化,造成毒性损害。黄酮能螯合过渡金属(Fe³⁺、Fe²⁺、Cu²⁺)起到抗氧化作用,而且黄酮螯合金属后的清除自由基的能力增强^[24]。通过黄酮与亚铁离子螯合的能力,能表现出黄酮的抗氧化活性的强弱。

由图 4 可以看出,赶黄草中黄酮的四种不同溶剂萃取相对 Fe²⁺的螯合能力差异性较大,其中 AF 的螯合效果最明显,其次是 BF 和 EF,WF 最弱,它们螯合 Fe²⁺能力都随质量浓度的增大呈递增趋势。在质量浓度为 1 mg/mL 时,AF、EF、BF 和 WF 对 Fe²⁺的最大螯合率分别为 57.69%、37.67%、36.73% 和 19.00%,其 IC₅₀值分别为 0.593、1.275、1.969、13.772 mg/mL。说明赶黄草黄酮提取物经

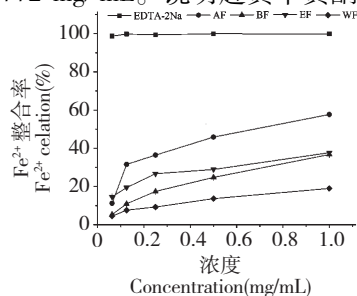


图4 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取取的 Fe²⁺螯合率
Fig. 4 Fe²⁺ chelating effect of different solvent extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

过分级萃取后,在乙酸乙酯相的黄酮对 Fe^{2+} 的螯合作用能力最强。

2.3 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相的抑菌活性

2.3.1 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相的抑菌圈测定

由表2可知,赶黄草总黄酮不同溶剂相中的正丁醇相和水相对两种受试菌株没有明显的抑菌活性,而乙醇粗提物和乙酸乙酯相有较强的抑菌活性。当黄酮溶液浓度为 20 mg/mL 时,乙酸乙酯相对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌圈分别为

10.07 mm 和 10.33 mm, 低于阳性对照羧苄青霉素的抑菌活性和庆大霉素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性,较阳性对照庆大霉素对铜绿假单胞菌的抑菌活性稍高。乙醇粗提物对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌圈分别为 9.65 mm 和 9.75 mm, 低于阳性对照的抑菌活性。表明乙酸乙酯相抑菌活性更强。对比分析乙酸乙酯相和乙醇粗提物对两种菌种的抑菌能力,发现对铜绿假单胞菌抑菌能力比金黄色葡萄球菌的抑菌能力更强。

表2 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相的抑菌圈直径

Table 2 The inhibition zone diameters of different fractional extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

组别 Group	抑菌圈直径 The diameter of antibacterial (mm)	
	金色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
空白对照 Blank control	6.00	6.00
庆大霉素 Gentamicin	23.58 ± 0.001 ^d	9.99 ± 0.39 ^b
羧苄青霉素 Gentamicin	42.30 ± 0.37 ^e	17.32 ± 0.38 ^d
EF	9.65 ± 0.13 ^b	9.75 ± 0.10 ^b
AF	10.07 ± 0.09 ^c	10.33 ± 0.32 ^c
BF	6.23 ± 0.24 ^a	6.20 ± 0.12 ^a
WF	6.15 ± 0.06 ^a	6.11 ± 0.23 ^a

注:表中同列数据后小写字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT)。

Note: The data within the same column followed by the same letter indicated no significant difference at $P=0.05$ level, based on Duncan's multiple range test (DMRT).

2.3.2 赶黄草总黄酮不同溶剂萃取相的最小抑菌浓度(MIC)

由表3可知,乙酸乙酯相对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有抑制作用的最低抑菌浓度均为 0.075 mg/mL,乙醇粗提物对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有抑制作用的最低抑菌浓度为 0.15

mg/mL,均小于羧苄青霉素对铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度,大于其他阳性对照的抑菌浓度。这表明乙酸乙酯相的抑菌活性比乙醇粗提物的抑菌活性强,再次表明赶黄草黄酮提取物经分级萃取后,活性部分主要集中在乙酸乙酯相。

表3 赶黄草不同溶剂萃取相的最低抑菌浓度

Table 3 The MIC of different solvent extraction from the total flavonoids of *P. chinense*

组别 Group	最低抑菌浓度 MIC (mg/mL)	
	金色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
庆大霉素 Gentamicin	0.01250	0.02500
羧苄青霉素 Gentamicin	0.00625	20.00000
EF	0.15000	0.15000
AF	0.07500	0.07500

3 结论

赶黄草的乙醇粗提物总黄酮含量为 205.25 mg/g,经分级萃取后,乙酸乙酯相含量最高,为 133.36 mg/g,超过乙醇粗提物中黄酮含量的 50%,其次是正丁醇相,水相的含量相对较低。表明赶黄草黄酮的极性部分与乙酸乙酯的极性最为相似。

体外抗氧化试验结果表明,乙酸乙酯相对 DP-PH、羟自由基、超氧阴离子的清除能力最强,对 Fe^{2+} 的螯合能力最强。其 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子清除率、 Fe^{2+} 螯合率的最大值分别为 95.21%、79.61%、97.79%、57.69%, IC_{50} 值分别为 0.076、0.209、0.038、0.593 mg/mL,乙醇粗提物次之,然后是正丁醇相,水相的抗氧化能力最弱。表明赶黄草黄酮提取物经过分级萃取后,在乙酸乙酯相的黄酮抗氧化活性最好。

体外抑菌试验结果表明,乙酸乙酯相对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌有较强的抑菌活性,最低抑菌浓度为 0.075 mg/mL;乙醇粗提物次之,最低抑菌浓度为 0.15 mg/mL,水相和正丁醇相对这两种菌没有明显的抑菌活性。表明赶黄草黄酮提取物的乙酸乙酯萃取相有更强的抑菌活性。

综上所述,赶黄草分级萃取得到的乙酸乙酯萃取相黄酮含量最高,抗氧化活性和抑菌活性最强,在含量、抗氧化和抑菌活性等方面占优势的黄酮极性部分主要集中在乙酸乙酯萃取相中。

参考文献

- 1 Flora of China Editorial Commission of the Chinese Academy of Sciences (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China (中国植物志). Beijing: Science Press, 1985. 124-125.
- 2 Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). The dictionary of Traditional Chinese Medicine (中药大辞典). Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1979. 2645.
- 3 Sichuan Chinese Herbal Medicine Collaborative Writing Group (四川中药志协作编写组). Sichuan Chinese Herbal Medicine (四川中药志). Chengdu: Sichuan People's Publishing House, 1979. 116.
- 4 Lu Q, Jiang MH, Jiang JG, et al. Isolation and identification of compounds from *Penthorum chinense* Pursh with antioxidant and antihepatocarcinoma properties. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 11097-11103.
- 5 Ikeda H, Itoh K. Germination and water dispersal of seeds from a threatened plant species *Penthorum chinense*. *Ecol Res*, 2011, 16: 99-106.
- 6 Compilation group of National Assembly of Chinese Herbal Medicine (全国中草药汇编编写组). National Assembly of Chinese Herbal Medicine (全国中草药汇编). Vol II. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000. 480-483.
- 7 Hu YY (胡杨洋), Wang SP (王胜鹏), Chen RE (陈锐娥), et al. Research progress on pharmaceutical research and applications of *Penthorum chinense* Pursh. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2012, 28: 136-139.
- 8 Wang A, Lin L, Wang Y. Traditional Chinese herbal medicine *Penthorum chinense* Pursh: A phytochemical and pharmacological review. *Am J Chin Med*, 2015, 43: 601-620.
- 9 Jia XJ (贾学静), Li L (李乐), Ding CB (丁春邦), et al. Optimization of microwave-assisted extraction of total flavonoids from matured leaf Hawk Tea by response surface methodology and its antioxidant activity. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 2014: 85-91.
- 10 Huang XM (黄晓敏). Study on the antibacterial effect and separation active components of flavonoids from *Pinus massoniana needles*. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering (仲恺农业工程学院), MSc. 2014.
- 11 Zhu M (朱梅). Studies on the bioactive constituents of *Ligularia jaluensis* and *Ligularia intermedia* in Changbaishan region. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), PhD. 2013.
- 12 Li ZM (李钟美). Extraction and application on preservation of Galangal flavonoids antibacterial substance. Guangzhou: Guangdong Ocean University (广东海洋大学), MSc. 2015.
- 13 Sun JS (孙京沙). The extraction, purification and anti-ageing property of flavonoids from *Zostera marina* L. Shandong: Ocean University of China (中国海洋大学), PhD. 2014.
- 14 Linghu C (令狐晨), Xmmuer A (谢姆西努尔·阿卜来提), Aytulun S (阿依吐伦·斯马义). *In vitro* antioxidant activity of saponins and flavonoids from Xinjiang *Diaphragma Juglandis* Fructus. *J Shaanxi Uni Sci Tech* (陕西科技大学学报), 2016, 34: 134-137.
- 15 Tahmouzi S. Optimization of polysaccharides from Zagros oak leaf using RSM: Antioxidant and antimicrobial activities. *Carbohydr Polym*, 2014, 106: 238-246.
- 16 Ma HP (马慧萍), Jing LL (景临林), Fan PC (樊鹏程), et al. Protective effect of 5,6,7-trihydroxy-8-methoxy-flavone antioxidant on mice with hypobaric hypoxia. *Med Pharm J Chin PLA* (解放军医药杂志), 2015, 27(12): 10-14.
- 17 Wang ZH (王忠合), Wang J (王军), Chen RY (陈瑞英). Effect of roasting treatment and enzymatic hydrolysis on functional properties of peanut protein. *Food Ferment Ind* (食品

- 与发酵工业),2013,39:153-158.
- 18 Le W (乐薇),She YS (余雨珊),Wu SJ (吴士筠). Effect of extraction methods on antibacterial activities of total flavonoids from *Indocalamus* leaves. *Chem Bioeng* (化学与生物工程),2015,11:31-33.
 - 19 Liu WD (刘文朵). Study on inhibition of antibacterial substances of *Pinus massoniana* needles on food spoilage bacteria. Guangzhou:Zhongkai University of Agriculture and Engineering (仲恺农业工程学院),PhD. 2013.
 - 20 Liu CH (刘春红),Ma Y (马宇),He ZM (何忠梅),*et al.* Partial characterization and antioxidant activities of water-soluble polysaccharide isolated from *Bulbus Fritillariae ussuriensis*. *Food Sci* (食品科学),2011,21:29-33.
 - 21 Bae H,Jayaprakasha G,Jifon J,*et al.* Extraction efficiency and validation of HPLC method for the flavonoid analysis from peppers. *Food Chem*,2011,130:751-758.
 - 22 Liu YJ (刘以娟),Fan FH (范方辉),Wang FB (王芳宾),*et al.* Study on antioxidant activity of grape seed extract *in vitro*. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技),2012,18:143-151.
 - 23 Sakanaka S,Ishihara Y. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Food Chem*,2008,107:739-744.
 - 24 Malesev D,Kuntic V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J Serb Chem Soc*,2007,72:921-939.
-
- (上接第 928 页)
- 2 Omene C, Wu J, Frenkel K. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) derived from propolis, a honeybee product, inhibits growth of breast cancer stem cells. *Invest New Drugs*,2012,30:1279-1288.
 - 3 Lin HP, Lin CY, Huo C,*et al.* Caffeic acid phenethyl ester induced cell cycle arrest and growth inhibition in androgen-independent prostate cancer cells via regulation of Skp2, p53, p21Cip1 and p27Kip1. *Oncotarget*,2015,6:6684-6707.
 - 4 Kasala ER, Bodduluru LN, Madana RM,*et al.* Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: mechanistic perspectives. *Toxicol Lett*,2015,233:214-225.
 - 5 Sun L, Chen AL, Huang HC,*et al.* Chrysin: a histone deacetylase 8 inhibitor with anticancer activity and a suitable candidate for the standardization of Chinese propolis. *J Agric Food Chem*,2012,60:11748-11758.
 - 6 Sforzin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol*,2011,133:253-260.
 - 7 Huang S, Zhang CP, Wang K,*et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*,2014,19:19610-19632.
 - 8 Zhang CP (张翠平), Ping S (平舜), Huang S (黄帅),*et al.* Research progress in geographic origins, plant origins and chemistry of propolis. *Chin Pharm J* (中国药学杂志),2013,48:1889-1892.
 - 9 Zhou JH, Li Y, Zhao J,*et al.* Geographical traceability of propolis by high-performance liquid-chromatography fingerprints. *Food Chem*,2008,108:749-759.
 - 10 Mok-Ryeon A, Shigenori K, Yumiko U. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem*,2007,101:1383-1392.
 - 11 Xuan HZ (玄红专), Li Z (李振), Fu CL (付崇罗),*et al.* The anticancer properties of caffeic acid phenethyl ester and its molecular mechanisms. *Food Res Dev* (食品研究与开发),2013,34:97-100.
 - 12 Rashid S, Nafees S, Vafa A,*et al.* Inhibition of precancerous lesions development in kidneys by chrysin via regulating hyperproliferation, inflammation and apoptosis at pre clinical stage. *Arch Biochem Biophys*,2016,606:1-9.
 - 13 Zhang CP, Huang S, Wei W,*et al.* Development of high-performance liquid chromatographic for quality and authenticity control of Chinese propolis. *J Food Sci*,2014,79:C1315-C1322.
 - 14 Huang S, Zhang CP, Li G,*et al.* Identification of catechol as a new marker for detecting propolis adulteration. *Molecules*,2014,19:10208-10217.
 - 15 Xuan H, Wang Y, Li A,*et al.* Bioactive components of Chinese propolis water extract on antitumor activity and quality control. *Evidence-Based Comple Alternat Med* (eCAM),2016,2016:9641965.