

## 宽叶独行菜 12 个不同样点总黄酮含量测定及分析

王秀<sup>1,3</sup>, 张玉佩<sup>1,3</sup>, 吴楠<sup>1,3</sup>, 吴小可<sup>1,3</sup>, 梅丽娟<sup>1</sup>, 杨小兵<sup>2</sup>, 陶燕铎<sup>1</sup>, 于瑞涛<sup>1\*</sup><sup>1</sup>中国科学院藏药研究重点实验室, 青海省藏药研究重点实验室, 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; <sup>2</sup>东莞金美济药业有限公司, 东莞 523000; <sup>3</sup>中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:**为了建立紫外分光光度法同时测定宽叶独行菜 12 个不同样点中总黄酮含量的方法, 采用三氯化铝比色法, 以芦丁为对照品, 在检测波长为 421 nm 条件下测定宽叶独行菜 12 个不同样点的总黄酮含量。结果表明, 总黄酮在范围内线性关系良好 ( $r=0.998$ ), 加样回收率范围为 91.83% ~ 102.50%, 平均回收率为 96.77%, RSD 为 3.39%。该方法简便准确, 重复性好, 可为宽叶独行菜的质量控制提供参考。

**关键词:**总黄酮; 紫外分光光度法; 三氯化铝比色法; 宽叶独行菜

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021) Suppl-0062-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.S.009

## Determination and analysis of total flavonoids of *Lepidium latifolium* L. from 12 different locations

WANG Xiu<sup>1,3</sup>, ZHANG Yu-pei<sup>1,3</sup>, WU Nan<sup>1,3</sup>,  
WU Xiao-ke<sup>1,3</sup>, MEI Li-juan<sup>1</sup>, YANG Xiao-bing<sup>2</sup>, TAO Yan-duo<sup>1</sup>, YU Rui-tao<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;<sup>2</sup>Dongguan Jinmeiji Pharmaceutical Co., Ltd., Dongguan 523000, China;<sup>3</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** To establish a method for the simultaneous determination of total flavonoids in 12 different samples of *Lepidium latifolium* L. by ultraviolet spectrophotometry.  $AlCl_3$  colorimetry was used to determine the content of total flavonoids in 12 samples of *L. latifolium* from different locations with the detection wavelength of 421 nm and rutin as the control. The results showed that the total flavonoids had a good linear relationship ( $r=0.998$ ). The average recovery of sample addition is 96.77%, which ranged from 91.83% ~ 102.50%, with RSD 3.39%. The method is simple, accurate and reproducible, and can be used as a reference for quality control of *L. latifolium*.

**Key words:** total flavonoids; UV spectrophotometry;  $AlCl_3$  colorimetry; *Lepidium latifolium* L.

宽叶独行菜 *Lepidium latifolium* L. 为十字花科 Brassicaceae 独行菜属 *Lepidium* L. 植物, 又称大辣、辣辣根、止痢草。宽叶独行菜资源量极大, 欧洲南部、非洲北部、亚洲西部及中部, 东达远东皆有分布; 我国主要分布在东北、华北及内蒙古、陕西、甘肃、宁夏、青海、西藏等地<sup>[1]</sup>。全草入药, 有清热燥湿、治

菌痢、肠炎的作用<sup>[2]</sup>。《藏药志》中记载: 藏医以其干燥的根和全草入药, 辛、涩, 温无毒; 治内脏淤血、骨症、风湿关节炎及其引起的水肿、高血压<sup>[3]</sup>。其主要化学成分为黄酮类、挥发油类、脂肪酸类等<sup>[4-6]</sup>。黄酮类化合物种类繁多, 其生理生化活性多种多样<sup>[4]</sup>, 具有抗氧化<sup>[7-9]</sup>、调节血脂<sup>[10]</sup>, 抗炎<sup>[11,12]</sup>、抑菌<sup>[13-15]</sup>、抗肿瘤<sup>[16,17]</sup>, 抗类风湿关节炎<sup>[18]</sup>、抗糖基化、乙酰胆碱酯酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性<sup>[19]</sup>, 对 CCl<sub>4</sub> 致急性肝损伤小鼠、大鼠肝纤维化具有保护作用<sup>[20-23]</sup>等药理活性。本研究采用紫外分光光度法对宽叶独行菜 12 个不同样点总黄酮的含量进行分析, 以期为宽叶独行菜的质量控制提供参考, 为其

收稿日期: 2020-06-18 接受日期: 2020-08-19

基金项目: 青海省科技项目 (2021-HZ-806); 青海自然科学基金 (2022-0302-ZJC-0055); 西宁市科技项目 (2018-Y-23); 青海省藏药研究重点实验室创新平台发展建设专项 (2017-ZJ-Y11)

\* 通信作者 Tel: 86-013897406734; E-mail: yuruitao@nwipb.cas.cn

进一步研究开发及利用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

FZ102 型微型植物试样粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂);优普超纯水机(四川成都超纯科技有限公司);X105BDU 型电子天平(Switzerland);KQ5200E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);752N 紫外可见分光光度计(上海凌光仪器有限公司)。

### 1.2 试剂与材料

分析纯无水三氯化铝(常州武进湟星催化剂

厂);3WE1-LYF8 国家药品标准物质芦丁(中国食品药品检定研究院);分析纯甲醇(天津市凯通化学试剂有限公司);超纯水(优普超纯水机自制)。其他试剂均为分析纯。宽叶独行菜样品药材共 12 批(编号 K1~K12,具体信息见表 1);经中国科学院西北高原生物研究所梅丽娟研究员鉴定为十字花科独行菜属植物宽叶独行菜 *Lepidium latifolium* L. 的干燥全草,标本号为 0333410,存放于中国科学院青藏高原生物标本馆。

表 1 12 个样品分布地点信息

Table 1 The information of locations of 12 samples

| 编号<br>No. | 采集地<br>Acquisition place | 采集时间<br>Acquisition time | 经纬度<br>Longitude and latitude | 海拔<br>Altitude (m) |
|-----------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|--------------------|
| K1        | 平安区曹家堡路                  | 2018.9                   | N 36°30'56'', E 102°4'22''    | 2 082              |
| K2        | 平安区猫沟路                   | 2018.9                   | N 36°30'11'', E 102°10'30''   | 2 028              |
| K3        | 共和县龙羊新村                  | 2018.9                   | N 36°8'51'', E 100°55'23''    | 2 621              |
| K4        | 都兰县香日德镇                  | 2018.9                   | N 36°1'19'', E 97°55'35''     | 3 053              |
| K5        | 都兰县香加乡                   | 2018.9                   | N 36°3'56'', E 98°9'38''      | 3 438              |
| K6        | 都兰县热水乡                   | 2018.9                   | N 36°7'49'', E 98°11'42''     | 3 413              |
| K7        | 都兰县县城                    | 2018.9                   | N 36°25'39'', E 98°9'22''     | 3 080              |
| K8        | 格尔木小干沟                   | 2018.9                   | N 36°5'10'', E 94°49'41''     | 3 247              |
| K9        | 甘肃省武威市                   | 2016.6                   | N 36°44'38'', E 102°25'31''   | 3 080              |
| K10       | 西宁市生物所                   | 2016.6                   | N 36°38'4'', E 101°45'33''    | 2 280              |
| K11       | 格尔木纳赤台                   | 2018.9                   | N 35°52'48'', E 94°34'26''    | 3 563              |
| K12       | 昆仑山口                     | 2018.9                   | N 35°38'24'', E 94°04'07''    | 4 768              |

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 溶液制备

##### 1.3.1.1 显色剂的制备

精密称取三氯化铝 1.34 g,置于烧杯中,用玻璃棒搅拌,加入少量甲醇溶解。溶解后倒入 100 mL 容量瓶,用甲醇冲洗烧杯和玻璃棒三遍,转移至容量瓶。用甲醇定容至刻度,配置成 0.10 mol/L 三氯化铝溶液。

##### 1.3.1.2 对照品溶液的制备

精密称取芦丁标准品 20.0 mg,置于烧杯中,用玻璃棒搅拌,加入少量甲醇溶解。溶解后倒入 100 mL 容量瓶,用甲醇冲洗烧杯和玻璃棒三遍,转移至容量瓶。用甲醇定容至刻度,配置成 0.2 mg/mL 芦丁母液。

##### 1.3.1.3 供试品溶液的制备

将不同样点宽叶独行菜用自来水洗去根部泥土,自然阴干,用粉碎机进行粉碎,过 80 目筛。称取

粉末 2 g,置于具塞玻璃瓶中,加入 20 mL 甲醇,称定重量,超声提取 30 min。取出后静置至室温,用甲醇补足减失的重量,过滤,得到提取液。

##### 1.3.1.4 空白溶液的制备

精密吸取 0.10 mol/L 三氯化铝溶液 2 mL,置于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,配置成空白溶液。

#### 1.3.2 检验波长的确定

芦丁与  $\text{AlCl}_3$  发生显色反应所生成的黄色络合物,在 421 nm 左右有较强吸收<sup>[24]</sup>。在 200~700 nm 波长范围内进行扫描验证,确定检验波长选取 421 nm 处。

#### 1.3.3 线性关系考察

精密吸取 0.2 mg/mL 的芦丁母液 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.2、1.5 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,分别精密吸取 0.10 mol/L 三氯化铝溶液 2 mL

加入各容量瓶。甲醇定容至刻度,配置成浓度分别为2、6、10、14、18、24、30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  芦丁溶液。

使用紫外-分光光度计,以相应溶液作空白,于421 nm 下测定各浓度芦丁溶液的吸光度。以溶液浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。得到线性回归方程  $y = 0.0226x + 0.0105$ ,  $R^2 = 0.998$ ,结果表明总黄酮在2.0~30.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

### 1.3.4 精密度试验

精密吸取芦丁母液0.5 mL,置于10 mL 容量瓶中,分别精密吸取0.10 mol/L 三氯化铝溶液2 mL 加入各容量瓶,甲醇定容至刻度。使用紫外-分光光度计,以相应溶液作空白,在421 nm 处连续测定6次。

### 1.3.5 稳定性试验

精密吸取供试品溶液1 mL,置于10 mL 容量瓶中,分别精密吸取0.10 mol/L 三氯化铝溶液2 mL 加入各容量瓶,甲醇定容至刻度。调整供试品溶液的量,0.1~2 mL,使421 nm 处测定的吸光度在0.2~0.8 范围内,以减小误差。使用紫外-分光光度计,以相应溶液作空白,于421 nm 下,0、15、30、45、60、75、90 min 时测定吸光度。

### 1.3.6 重复性试验

取宽叶独行菜粉末2 g 5 份,分别按“1.3.1.3”

项下制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液2 mL,置于10 mL 容量瓶中,分别精密吸取0.10 mol/L 三氯化铝溶液2 mL 加入各容量瓶,甲醇定容至刻度。使用紫外-分光光度计,以相应溶液作空白,于421 nm 下测定吸光度,并计算样品的含量。

### 1.3.7 加样回收率实验

称取已知总黄酮(按芦丁计)的平均含量的宽叶独行菜 K1 粉末9 份,每份1.0 g,精密称定,按样品含量的50%、100%、150% 加入芦丁对照品,如表5 所示,按“1.3.1.3”项下方法制备供试液,同法作试剂空白,在421 nm 的波长下测定吸光值。

### 1.3.8 样品含量测定

精密吸取供试品溶液1 mL,置于10 mL 容量瓶中,分别精密吸取0.10 mol/L 三氯化铝溶液2 mL 加入各容量瓶,甲醇定容至刻度。调整供试品溶液的量,0.1~2 mL,使421 nm 处测定的吸光度在0.2~0.8 范围内,以减小误差。使用紫外-分光光度计,以相应溶液作空白,于421 nm 下测定吸光度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 实验结果

#### 2.1.1 精密度试验考察结果

结果如表2 所示,吸光度 RSD 为0.80%,表明仪器的精密度良好。

表2 精密度试验测定结果( $n=6$ )

Table 2 Results of precision test ( $n=6$ )

| 序号 No.         | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 平均值 Average | RSD(%) |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| 吸光度 Absorbance | 0.624 | 0.628 | 0.619 | 0.632 | 0.627 | 0.620 | 0.625       | 0.80   |

#### 2.1.2 稳定性试验考察结果

结果如表3 所示,供试品溶液在1.5 h 内稳定。

表3 稳定性试验测定结果( $n=7$ )

Table 3 Results of stability test ( $n=7$ )

| 编号 No. | 0 min | 15 min | 30 min | 45 min | 60 min | 75 min | 90 min | RSD(%) |
|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| K1     | 0.511 | 0.509  | 0.503  | 0.498  | 0.493  | 0.489  | 0.489  | 1.82   |
| K2     | 0.422 | 0.416  | 0.409  | 0.407  | 0.398  | 0.398  | 0.395  | 2.49   |
| K3     | 0.598 | 0.588  | 0.578  | 0.568  | 0.562  | 0.558  | 0.554  | 2.86   |
| K4     | 0.296 | 0.298  | 0.300  | 0.298  | 0.297  | 0.296  | 0.296  | 0.50   |
| K5     | 0.501 | 0.502  | 0.500  | 0.502  | 0.502  | 0.501  | 0.503  | 0.19   |
| K6     | 0.687 | 0.680  | 0.674  | 0.666  | 0.662  | 0.655  | 0.647  | 2.11   |
| K7     | 0.342 | 0.342  | 0.338  | 0.334  | 0.331  | 0.327  | 0.324  | 2.12   |
| K8     | 0.548 | 0.538  | 0.534  | 0.532  | 0.531  | 0.529  | 0.527  | 1.32   |
| K9     | 0.398 | 0.408  | 0.409  | 0.406  | 0.403  | 0.401  | 0.399  | 1.08   |

续表 3(Continued Tab. 3)

| 编号<br>No. | 0 min | 15 min | 30 min | 45 min | 60 min | 75 min | 90 min | RSD<br>(%) |
|-----------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|
| K10       | 0.558 | 0.557  | 0.556  | 0.554  | 0.552  | 0.549  | 0.546  | 0.80       |
| K11       | 0.487 | 0.481  | 0.475  | 0.474  | 0.471  | 0.469  | 0.465  | 1.57       |
| K12       | 0.560 | 0.571  | 0.565  | 0.562  | 0.558  | 0.556  | 0.552  | 1.11       |

## 2.1.3 重复性试验考察结果

值 0.491, RSD 为 2.41%, 说明该实验重复性较好。

重复性试验考察结果如表 4 所示, 吸光度平均

表 4 重复性试验测定结果 ( $n=5$ )Table 4 Results of repetitive test ( $n=5$ )

| 序号  | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 平均值   | RSD(%) |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 重复性 | 0.503 | 0.493 | 0.498 | 0.489 | 0.472 | 0.491 | 2.41   |

## 2.1.4 加样回收率考察结果

范围为 91.83% ~ 102.50%, 9 个样品平均回收率为

如表 5 所示, 宽叶独行菜 K1 样品加样回收率

96.77%, RSD 为 3.39%。

表 5 加样回收率试验结果 ( $n=9$ )Table 5 Results of recovery tests ( $n=9$ )

| 序号<br>No. | 称样量<br>Sample mass(g) | 原有量<br>Original content (mg) | 加入量<br>Added mass(mg) | 测得量<br>Measured content(mg) | 回收率<br>Recovery rate(%) | 平均回收率<br>Average recovery<br>rate(RSD)(%) |
|-----------|-----------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|---|
| K1-1      | 1.004 5               | 8.638 7                      | 4.30                  | 12.83                       | 97.40                   | 96.77(3.39)                               |
| K1-2      | 1.008 4               | 8.672 2                      | 4.30                  | 12.72                       | 94.25                   |   |
| K1-3      | 1.007 6               | 8.665 4                      | 4.30                  | 12.67                       | 93.20                   |   |
| K1-4      | 1.004 0               | 8.634 4                      | 8.60                  | 17.09                       | 98.34                   |   |
| K1-5      | 1.005 3               | 8.645 6                      | 8.60                  | 17.46                       | 102.50                  |   |
| K1-6      | 1.006 8               | 8.658 5                      | 8.60                  | 17.15                       | 98.75                   |   |
| K1-7      | 1.002 9               | 8.624 9                      | 12.9                  | 21.06                       | 96.37                   |   |
| K1-8      | 1.004 8               | 8.641 3                      | 12.9                  | 20.49                       | 91.83                   |   |
| K1-9      | 1.003 1               | 8.626 7                      | 12.9                  | 21.33                       | 98.46                   |   |

## 2.1.5 样品含量测定结果

样品含量测定结果如表 6 所示。

表 6 样品总黄酮含量测定结果

Table 6 Results of total flavonoids content in samples

| 编号<br>No. | 采集地<br>Acquisition place | 吸光度<br>Absorbance(A) | 样品质量<br>Sample mass(g) | 总黄酮含量<br>Total flavone content(mg/g) |
|-----------|--------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------------|
| K1        | 平安区曹家堡路                  | 0.499                | 1.005 3                | 8.60                                 |
| K2        | 平安区猫沟路                   | 0.406                | 1.006 3                | 6.96                                 |
| K3        | 共和县龙羊新村                  | 0.572                | 1.004 3                | 9.90                                 |
| K4        | 都兰县香日德镇                  | 0.297                | 1.002 9                | 1.27                                 |
| K5        | 都兰县香加乡                   | 0.502                | 1.002 0                | 4.34                                 |
| K6        | 都兰县热水乡                   | 0.667                | 1.007 3                | 11.54                                |
| K7        | 都兰县县城                    | 0.334                | 1.001 7                | 5.72                                 |

续表 6(Continued Tab. 6)

| 编号<br>No. | 采集地<br>Acquisition place | 吸光度<br>Absorbance(A) | 样品质量<br>Sample mass(g) | 总黄酮含量<br>Total flavone content(mg/g) |
|-----------|--------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------------|
| K8        | 格尔木小干沟                   | 0.534                | 1.002 9                | 9.24                                 |
| K9        | 甘肃省武威市                   | 0.403                | 1.008 4                | 3.45                                 |
| K10       | 西宁市生物所                   | 0.553                | 1.004 3                | 4.78                                 |
| K11       | 格尔木纳赤台                   | 0.475                | 1.001 5                | 8.20                                 |
| K12       | 昆仑山口                     | 0.561                | 1.005 0                | 4.84                                 |

## 2.2 系统聚类分析

为评价不同产地的宽叶独行菜药材的质量差异,采用 SPSS 22.0 统计软件对药材样品进行系统聚类分析,选用组间联结法,采用欧式距离作为药材样品的测度,结果 12 个产地的宽叶独行菜药材可分为 2 类,第一类:K4、K5、K7、K9、K10 和 K12;第二类:K1、K2、K3、K6、K8 和 K11。聚类分析树状图见图 1。

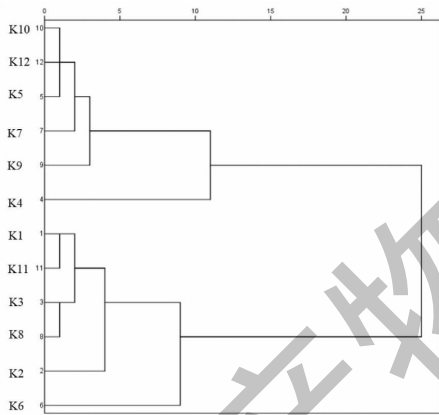


图 1 聚类分析树状图

Fig. 1 Cluster analysis tree diagram

## 3 讨论

紫外分光光度法是常见的总黄酮测定方法之一,检测方法有三氯化铝比色法、直接测定法、差示分光光度法<sup>[25]</sup>,亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠法专属性不强,可能因为具有邻二酚羟基的非黄酮类物质在芦丁显色的最大波长处 510 nm 左右也有较强吸收<sup>[26]</sup>,因此测定结果会偏高,差示分光光度法测得的总黄酮含量偏低<sup>[25,26]</sup>,因此亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠法、差示分光光度法,均不适合宽叶独行菜总黄酮的测定,直接测定法需要专属的对照品,在未知宽叶独行菜中具有何种黄酮类化合物的情况下,本研究采用三氯化铝显色法对宽叶独行菜 12 个不同样点的总黄酮含量进行测定。在所测 12 个不同地

点样品中,总黄酮含量从大到小依次为 K6 > K3 > K8 > K1 > K11 > K2 > K7 > K12 > K10 > K5 > K9 > K4,即,都兰县热水乡采集的宽叶独行菜的样品含量最高为 11.54 mg/g,其次为共和县龙羊新村 9.90 mg/g,含量最少的采样点在都兰县香日德镇 K4 样品,含量为 1.27 mg/g。在进行加样回收率的实验时,选取 K1 样品(采集于平安区曹家堡路),原因在于平安县宽叶独行菜分布多,离市区近,采样方便。

本研究通过系统聚类分析将 12 个产地的药材样品分为 2 类,K4、K5、K7、K9、K10 和 K12 聚为一类;总黄酮含量较低,K1、K2、K3、K6、K8 和 K11 聚为一类,总黄酮含量较高,表明平安县曹家堡路、平安县猫沟路、共和县龙羊新村、都兰县热水乡、格尔木小干沟、格尔木纳赤台产地的药材样品质量较好;聚类分析评价有助于鉴定不同产地宽叶独行药材的质量。造成以上药材总黄酮含量不同的原因可能与药材生长的气候条件、土壤质量、采收时间、储存条件等有关<sup>[27]</sup>,综上所述,该方法简便准确,精密度、稳定性、重复性好,可为宽叶独行菜的质量控制提供参考,为其进一步研究开发及利用奠定基础。

## 参考文献

- 1 Chinese Flora Editorial Board of the Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1987: 51.
- 2 Northwest of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences. Economic Flora of Qinghai (青海经济植物志) [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House: 1987: 227.
- 3 Northwest of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences. Tibetan Medicine (藏药志) [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1991: 28.
- 4 Xu CY, Wang LP, Wang T. Optimization of ultrasonic-assisted extraction for polysaccharide from *Lepidium latifolium* by response surface methodology [J]. J Cereals Oils (粮食与油脂), 2015, 28(2): 59-62.
- 5 Yu RT, Zhang XW, Mei LJ, et al. GC-MS Analysis of petrole-

- um ether fraction from *Lepidium latifolium* [J]. Chin J Anal Lab(分析实验室), 2010, 29:398-400.
- 6 Yu RT, Zhang XW, Mei LJ, et al. GC-MS analysis of fatty acid from *Lepidium latifolium* L [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2012, 24:66-68.
- 7 Wang YB, Shi Y, Yuan YJ. Ultrasonic assisted extraction of polyphenols and flavonoids from Maijishan wild *Acanthopanax* and their antioxidant activities *in vitro* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:2153-2162.
- 8 Xie Y, Li P, Sui X, et al. Study on optimization of extraction conditions of *Ledum palustre* L. by response surface methodology and its antioxidant activities [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:475-481.
- 9 Wei XR, Song XJ, Long JY, et al. Optimization of extraction and purification technology and antioxidant activity of total flavonoids from *Mesona chinensis* Benth. [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40:1185-1188.
- 10 Huang ZH, Song YQ, Yan DS. Investigation of ion liquid combined with ultrasound-assisted extraction technology of total flavones from *Microcos paniculata* and study on its lipids regulation activity [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50:5995-6001.
- 11 Ma P, Guo ZW, Zhang LY, et al. Ultrasonic-microwave synergistic extraction and anti-inflammatory activity of total flavones from millet bran [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1966-1975.
- 12 Dang YH, Lv JL, Ren Y, et al. Extraction optimization for total flavonoids from *Pleioblastus amarus* branches and the *in vitro* anti-inflammatory activity [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40:331-335.
- 13 Li H, Zhang P, Xing MY, et al. Antioxidant and antibacterial activities of *Capparis zeylanica* leaf extract [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1910-1919.
- 14 Du YX, Zhang JW, Hu ZH, et al. Optimization of ultrasonic extraction technology of total flavonoids and its bacteriostasis from leaves of *Ilex centrochinensis* S. Y. Hu [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2019, 41:2200-2203.
- 15 Zhang YL, Yan Y, Tian XL. The effects of  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  on the extraction and antibacterial activity of total flavonoids from sweet potato leaves [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:2039-2045.
- 16 Zhao B, Xiang XL, Wang W, et al. Preparation of flavonoids from sea buckthorn and its inhibitory effect on human prostate cancer PC-3 cell *in vitro* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30(1):27-32.
- 17 Ren QR, Wang YN, Wang Y, et al. *In vitro* antioxidant activity and antitumor activity of total flavonoids from *Elsholtzia densa* Benth. [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29(1):14-21.
- 18 Yan XT, Chen HG, Zhou X. Research progress of rheumatoid arthritis effect and mechanism of flavonoids [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:1101-1108.
- 19 Yang SH, Chen HL, Wang WQ, et al. Antiglycation activity, acetylcholine esterase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of total flavonoids from corn silk [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:1230-1239.
- 20 Xi BT, Zhong ML, Cao HK, et al. Hepatoprotective effects and mechanism of *Cyclea hypoglauca* (Schauer) Diels total flavonoids on mice with acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:1208-1213.
- 21 Huang SM, Gao Y, Cao HK, et al. Protective effects and functional mechanism of *Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke total flavonoids on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:212-217.
- 22 Luo XY, Mai YS, Zhu L, et al. Protective effect and mechanism of total flavonoids of Fructus Livistonae on acetaminophen-induced liver injury [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50:925-930.
- 23 Li Y, Yi H, Cai YL, et al. Effect of total flavonoids of *Astragalus membranaceus* on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2019, 41:1710-1713.
- 24 Ma TT, Zhang QL, Li J, et al. AlCl<sub>3</sub> colorimetry for determination of total flavonoids [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(1):54-56.
- 25 Qin YR, Zhang YS, Zhang K, et al. Comparative study of determination methods of total flavonoids in vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) [J]. Modern Food Sci Technol(现代食品科技), 2019, 35:302-309.
- 26 Ding JX, Li WZ, Li HF, et al. Adaptability study on determination of total flavonoids in extract of *Ginkgo biloba* leaves by ultraviolet spectrophotometry [J]. Food Drug(食品与药品), 2012, 14(7):260-263.
- 27 Jia LL, Wei L, Zhao J, et al. Content determination of 7 constituents in *Wikstroemia indica* and its principal component and cluster analysis [J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28:4706-4710.