

· 基础研究 ·

核桃楸叶降血糖和抗氧化有效部位的筛选
及其成分分析[△]王会¹, 刘汇², 张楠茜¹, 张辉^{1*}, 高文义^{1*}, 孙佳明¹

1. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117; 2. 吉林省延边朝鲜族自治州食品药品检验所, 吉林 延吉 133000

[摘要] 目的: 筛选核桃楸叶乙醇提取物降血糖和抗氧化有效部位并确定其活性成分。方法: 制备核桃楸叶乙醇提取物的不同溶剂萃取部位: 二氯甲烷萃取部位、乙酸乙酯萃取部位、水饱和正丁醇萃取部位以及剩余水溶性成分部位, 采用体外 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性筛选模型, 测定核桃楸叶乙醇提取物各萃取部位降血糖活性, 以清除DPPH自由基能力研究其抗氧化活性, 进而应用紫外分光光度法考察各萃取部位总黄酮含量, 综合筛选并确定核桃楸叶乙醇提取物降血糖和抗氧化的有效部位, 最终通过超高效液相色谱法(UPLC)确定其活性成分。结果: 体外酶活性抑制试验显示, 核桃楸叶乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位在体外有明显的抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶作用, 其最大半数抑制浓度(IC₅₀)分别为0.014、0.13 mg·mL⁻¹, 均强于阳性药阿卡波糖(IC₅₀分别为0.044、0.158 mg·mL⁻¹); DPPH自由基清除与黄酮含量测定实验结果表明, 其乙酸乙酯萃取部位清除DPPH自由基能力亦强于其他萃取部位, 其IC₅₀为6.89 mg·mL⁻¹; 乙酸乙酯活性部位中总黄酮质量分数为86.11%, 为该部位的主要成分, 经标品比对照好的3个活性成分为金丝桃苷、异槲皮素和紫云英苷。结论: 核桃楸叶乙醇提取物乙酸乙酯萃取部位应为核桃楸叶降血糖和抗氧化有效部位, 主要活性成分为金丝桃苷、异槲皮素和紫云英苷。

[关键词] 核桃楸叶; α -葡萄糖苷酶; α -淀粉酶; DPPH; 有效部位; 活性成分

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)03-0312-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180926005

Screening and Chemical Analysis of Hypoglycemic and Antioxidant Effective Fractions from Leaves of
*Juglans mandshurica*WANG Hui¹, LIU Hui², ZHANG Nan-xi¹, ZHANG Hui^{1*}, GAO Wen-yi^{1*}, SUN Jia-ming¹

1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Institute of Food and Drug, Yanbian Korean Autonomous Prefecture, Yanji 133000, China

[Abstract] **Objective:** To screen and chemical analysis hypoglycemic and antioxidant effective fractions from the leaves of *Juglans mandshurica*. **Methods:** Activities of dichloromethane extract, ethyl acetate extract, butyl alcohol extract, water extract after extraction and ethanol extraction from the leaves of *J. mandshurica* were compared by using α -Glucosidase inhibition, α -Amylase inhibition and DPPH radical scavenging assays *in vitro*. The content of total flavonoids of effective fraction was measured by UV. The active components were determined by UPLC. **Results:** Enzyme inhibition kinetics *in vitro* showed the ethyl acetate part of ethanol extract of the leaves of *J. mandshurica* had strong α -glucosidase and α -Amylase inhibitory activity, maximum 50% inhibition concentration(IC₅₀) were 0.014 and 0.13 mg·mL⁻¹, respectively; all were stronger than the positive drug acarbose(IC₅₀ were 0.044 and 0.158 mg·mL⁻¹, respectively). The experimental results of DPPH free radical scavenging and flavone content determination showed that the DPPH free radical scavenging capacity of its extraction site of ethyl acetate was also better than that of other extraction sites, and its IC₅₀ was 6.89 mg·mL⁻¹. The total flavonoids content in the active site of ethyl acetate was 86.11%, which was the main component of the site. The three active ingredients which are better than the standard were hypericin, isoquercetin and astragaloside. **Conclusion:** Ethyl acetate extract of ethanol extract of the leaves of *J. mandshurica* was hypoglycemic and antioxidant effective fraction, the major active ingredient was hypericin, isoquercetin and astragaloside.

[Keywords] leaves of *Juglans mandshurica*; α -glucosidase; α -amylase; DPPH; effective fraction; active ingredients

[△] [基金项目] 吉林省卫生和计划生育委员会科研计划课题(2015Z067); 吉林省中医药科技项目(2018020)

* [通信作者] 张辉, 教授, 研究方向: 中药与天然药物有效成分研究; E-mail: zhanghui-8080@163.com
高文义, 教授, 研究方向: 中药分析学; Tel: (0431)86172503, E-mail: 565882264@qq.com

核桃楸叶是胡桃科胡桃属植物核桃楸 *Juglans Mandshurica* Maxim. 的树叶。原植物核桃楸, 又名胡桃楸^[1], 落叶乔木, 生长在中国东北、华北、河北等地区^[2-3], 其青果皮、茎、叶和树皮均可入药^[4]。糖尿病是近年来发病率迅速增加并严重危害人类健康的疾病之一, 糖尿病分为1型糖尿病和2型糖尿病, 后者是最常见的, 占糖尿病患者的90%以上^[5-6]。 α -葡萄糖苷酶抑制剂对餐后高血糖和高胰岛素血症有良好的防治效果, 用于治疗由碳水化合物代谢紊乱而引起的疾病; α -淀粉酶抑制剂对唾液淀粉酶和胰液淀粉酶活性具有良好的抑制作用, 阻碍食物中碳水化合物的代谢, 降低体内的血糖和血脂水平, 防止餐后高血糖^[7-8]。

近年来对核桃楸其他部位的研究报道较多, 但是对核桃楸叶的研究报道较少。本文建立了 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶体外抑制和DPPH自由基清除模型^[9-10], 用于研究核桃楸叶乙醇提取物不同极性萃取部位对 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶的抑制作用和DPPH自由基清除活性, 并采用紫外分光光度法测定总黄酮含量, 筛选核桃楸叶降血糖和抗氧化有效部位, 超高效液相色谱法(UPLC)分析确定其活性成分, 为研究其药理作用奠定基础, 对核桃楸叶的开发和应用具有指导意义^[11]。

1 材料

1.1 药材

核桃楸叶药材采于吉林省通化市, 由长春中医药大学张辉教授鉴定为核桃楸 *Juglans mandshurica* Maxim. 的干燥叶。

1.2 试剂与仪器

α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶、维生素E、阿卡波糖(Sigma, 美国), 对硝基苯酚- α -D-葡萄糖苷(PNPG, Sigma, 美国); 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH, Sigma, 美国); 维生素C(Sigma, 美国); 对照品芦丁(纯度 $\geq 98\%$)、金丝桃苷(纯度93.3%)、异槲皮素(纯度 $\geq 98\%$)和紫云英苷(纯度 $> 99\%$), 均购自中国食品药品检定研究院; 其余试剂均为分析纯。Agilent 1260 Infinity(美国安捷伦公司); BP211D型十万分之一电子天平(赛多利斯仪器有限公司); 酶标仪(Bio-Rad); KQ3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 紫外-可见分光光度计(Varian公司); DSHZ-300A型旋转式恒温振荡器(太仓市实

验设备厂); 96孔板; 各种型号移液枪及枪头等。

2 方法与结果

2.1 核桃楸叶各部位的提取与分离

称取适量的核桃楸叶, 置于圆底烧瓶中, 先用90%的乙醇水溶液回流提取1次, 再用70%的乙醇水溶液回流提取2次, 料液比均为1:10, 每次1h, 滤过, 合并提取液。回收乙醇, 减压浓缩。取500 mL核桃楸叶乙醇提取液, 挥至无醇味, 剩余350 mL, 取100 mL留为总提(A), 剩余的250 mL依次用二氯甲烷、乙酸乙酯、水饱和正丁醇萃取, 获得不同溶剂萃取部位, 依次标记为B、C、D, 萃取后溶液作为水层(E), 萃取方法为等体积萃取3次。收集各层萃取液, 减压浓缩、干燥至干膏, 作为供试药物^[12]。

2.2 测定核桃楸叶不同萃取部位(A~E)对 α -葡萄糖苷酶抑制活性

根据已有方法改进^[13-14], 检测在96孔板上进行, 先加入20 μ L不同浓度样品, 再加入40 μ L 0.5 U $\cdot$ mL⁻¹的 α -葡萄糖苷酶, 37 $^{\circ}$ C恒温振荡孵育5 min; 加入20 μ L 3 mmol $\cdot$ L⁻¹的底物PNPG, 37 $^{\circ}$ C恒温振荡孵育15 min, 最后加入100 μ L 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ Na₂CO₃, 立即测定405 nm处的吸光度(A)值^[15]。每个浓度样品同时进行3个平行测定并取平均值。实验均设定空白对照、背景对照、阴性对照, 按公式(1)计算抑制率, 并计算相应的IC₅₀值, A~E的 α -葡萄糖苷酶抑制活性如表1所示。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{A_{\text{阴性}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}})}{A_{\text{阴性}} - A_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (1)$$

表1 A~E对 α -葡萄糖苷酶抑制活性

样品	质量浓度/mg $\cdot$ mL ⁻¹	抑制率/%	IC ₅₀ /mg $\cdot$ mL ⁻¹
A	0.025	19.7	> 0.100
B	0.025	30.7	> 0.100
C	0.025	61.5	0.014
D	0.025	8.2	> 0.100
E	0.025	35.1	0.040
阿卡波糖	0.025	30.4	0.044

2.3 测定A~E对 α -淀粉酶抑制活性

应用3, 5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定 α -淀粉酶活性^[17], 反应体系为0.2 mL的 α -淀粉酶溶液, 在37 $^{\circ}$ C下预热5 min后, 加入0.4 mL淀粉溶液和

0.2 mL 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液在 37 ℃ 下反应 30 min。反应完成后加入 2 mL DNS, 在沸水中反应 10 min, 取出, 冷却, 取 0.5 mL 反应溶液置于 5 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 用紫外可见分光光度计测定 540 nm 处的 A 值, 实验均设有样品、背景对照、空白和空白对照。按公式(2)计算抑制率, 并计算相应的 IC₅₀ 值。反应体系见表 2, 抑制率结果见表 3。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{背景对照}}}{A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

表 2 A~E 对 α-淀粉酶活性反应体系

组别	酶液/ mL	样品/ mL	淀粉溶液/ mL	柠檬酸-柠檬酸 钠缓冲液/mL	DNS/ mL
空白组	0.2	—	0.4	0.2	2
空白对照组	—	—	0.4	0.2	2
样品组	0.2	0.2	0.4	0.2	2
背景对照组	—	0.2	0.4	0.2	2

注: —表示用同体积蒸馏水代替。

表 3 A~E 对 α-淀粉酶抑制活性

样品	质量浓度/mg·mL ⁻¹	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·mL ⁻¹
A	0.25	35.4	>1.000
B	0.25	7.5	>1.000
C	0.25	86.3	0.130
D	0.25	66.5	0.205
E	0.25	23.2	>1.000
阿卡波糖	0.25	74.4	0.158

2.4 测定 A~E 对 DPPH 自由基清除活性

采用 DPPH 法^[17-18]对分离得到的核桃楸叶乙醇提取物进行体外抗氧化活性评价。精密量取 2 mL 质量浓度为 26.4 mg·L⁻¹的 DPPH 甲醇溶液, 再分别加入 2 mL 不同浓度的用甲醇溶液制备的样品液, 混合均匀, 避光条件下反应 30 min, 测定其在 517 nm 处的 A 值^[15,19]。同时, 用 2 mL 甲醇溶液代替样品溶液作为空白对照, 将 2 mL 样品溶液与 2 mL 甲醇溶液混合作为样品对照, 将维生素 E 作为阳性对照, 按公式(3)计算样品液对 DPPH 溶液清除率。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right) \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_i 为与待测溶液混合后的 DPPH 溶液的吸光度; A_j 为与待测溶液混后的溶剂的吸光度; A₀ 为溶剂和 DPPH 溶液混后的吸光度。

A~E 的 DPPH 清除率如表 4 所示, 结果可知,

C 的清除率远高于其他 4 个部位, 因此, C 对 DPPH 自由基清除活性最好, 表明 C 是核桃楸叶抗氧化的有效部位。

表 4 A~E 的 DPPH 自由基清除活性

样品	质量浓度/mg·mL ⁻¹	清除率/%	IC ₅₀ /μg·mL ⁻¹
A	0.010	25.4	19.50
B	0.010	22.5	22.13
C	0.010	73.3	6.89
D	0.010	40.5	12.13
E	0.010	13.2	42.52
维生素 E	0.010	74.4	13.71

2.5 A~E 的总黄酮含量测定

运用紫外分光光度法^[20], 精密称取 11.5 mg(于 105 ℃ 干燥至恒重的)芦丁对照品, 置于 50 mL 容量瓶中, 先加入适量 60% 乙醇水溶液超声溶解, 再用适量的 60% 乙醇水溶液稀释定容, 制得芦丁对照品溶液(0.20 mg·mL⁻¹)。精密吸取上述芦丁对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加入 0.4 mL 5% NaNO₂ 溶液, 混合均匀, 静置 6 min, 加入 0.4 mL 10% Al(NO₃)₃ 溶液, 混合均匀, 静置 6 min, 加入 4.0 mL 4% NaOH 溶液, 最后用 50% 乙醇水溶液稀释至刻度, 混合均匀, 静置 15 min^[21]。将 50% 乙醇水溶液作为空白对照, 运用紫外分光光度法, 测定 512 nm 处不同质量浓度芦丁对照品溶液的 A 值。以 A 值为纵坐标(Y), 以芦丁对照品溶液的质量浓度为横坐标(X)进行线性回归, 制备标准曲线, 得回归方程为 Y = 0.654 3X - 0.061 1(r = 0.999 5, n = 3), 结果表明, 芦丁质量浓度在 0.23 ~ 1.15 mg·mL⁻¹ 呈良好的线性关系。

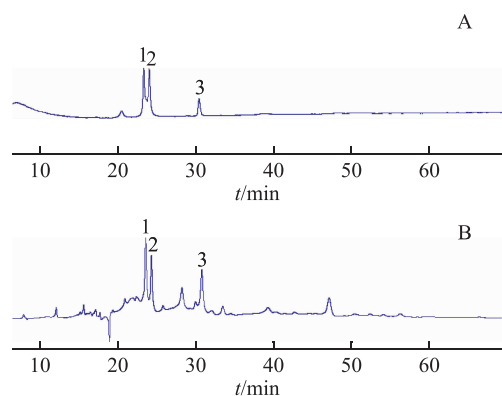
吸取适量的 A~E 样品液置于不同的容量瓶中, 依上述方法, 测定其 512 nm 处的 A 值, 将不加供试品的样品作为空白。结合标准曲线计算供试品中总黄酮的含量, 结果如表 5 所示。

表 5 A~E 的总黄酮含量测定结果

样品	总黄酮质量分数/mg·g ⁻¹
A	298.15
B	264.37
C	861.14
D	472.26
E	153.90

2.6 UPLC 分析

分析条件: Agilent SB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 100 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱 (0 ~ 10 min: 5% ~ 20% A; 10 ~ 40 min: 20% ~ 23% A; 40 ~ 45 min: 23% ~ 25% A; 45 ~ 70 min: 25% ~ 25% A; 70 ~ 75 min: 25% ~ 100% A; 75 ~ 95 min: 100% ~ 100% A)。流速为 300 μL·min⁻¹, 检测波长为 254 nm, 柱温为 25 °C, 溶液均为 1 mg·mL⁻¹。混合标准品进样体积为 5 μL, 乙酸乙酯样品进样体积为 13 μL。色谱图显示有 3 个黄酮类成分的标准品与样品对应峰的保留时间一致, 表明样品中存在金丝桃苷、异槲皮素和紫云英苷 (见图 1)。



注: A. 对照品; B. 核桃楸叶乙酸乙酯样品; 1. 金丝桃苷; 2. 异槲皮素; 3. 紫云英苷。

图 1 核桃楸叶及对照品 HPLC 图

3 讨论

核桃楸叶乙醇提取物对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶有一定的抑制作用, 对 DPPH 具有清除作用, 但没有具体深入的研究报道。因此, 通过建立 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的体外抑制模型, 测定 DPPH 自由基清除活性和总黄酮含量, 进行 UPLC 分析, 筛选核桃楸叶的降血糖和抗氧化的有效部位及活性物质。对核桃楸叶各部位进行 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的体外抑制活性以及 DPPH 清除活性的实验, 结果表明核桃楸叶乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位在体外对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶有明显的抑制作用, 其 IC₅₀ 分别为 0.014、0.13 mg·mL⁻¹, 而阳性药阿卡波糖的 IC₅₀ 分别为 0.044、0.158 mg·mL⁻¹, 其对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制作用均强于阳性药阿卡波糖; 其乙酸乙酯萃取部位比其他萃取部位

具有更明显的 DPPH 自由基清除能力, 其 IC₅₀ 为 6.89 mg·mL⁻¹, 应该是核桃楸叶的降血糖和抗氧化有效部位; 乙酸乙酯活性部位中总黄酮质量分数为 86.11%, 是该部位的主要成分, 其有效成分是金丝桃苷、异槲皮素和紫云英苷。通过本实验, 可以初步确定该活性部位中主要活性物质为黄酮类化合物, 且主要活性成分是金丝桃苷、异槲皮素和紫云英苷。该研究为进一步研究核桃楸叶的药理作用打下坚实基础, 也为深入研究核桃楸叶的应用价值提供理论支持。

参考文献

- [1] 石建辉, 王金辉, 车东, 等. 核桃楸树皮化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2005, 7(1): 7-8.
- [2] 常仁龙, 孙佳明, 张博, 等. 核桃楸叶化学成分研究[J]. 中成药, 2009, 31(7): 1082-1085.
- [3] 赵娜娜, 刘汇, 孙道磊, 等. 核桃楸不同药用部位的抗氧化活性比较[J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34(1): 26-28.
- [4] 任晓蕾, 曹贵阳, 初东君, 等. 核桃楸不同药用部位总黄酮含量测定及变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 104-106.
- [5] 陈栏心. 广西 1996 ~ 2012 年艾滋病流行特征及流行地区数理判别模型研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2014.
- [6] 孙佳明, 张林林, 宗颖, 等. 甘草降血糖和抗氧化的有效部位筛选研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(12): 2879-2880.
- [7] 冯长根, 陈凌, 刘霞. 以中草药为来源的 α-葡萄糖苷酶抑制剂筛选研究进展[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(6): 669-672.
- [8] 吕凤霞, 陆兆新. α-淀粉酶抑制剂的研究进展[J]. 食品科学, 2002, 23(3): 152-155.
- [9] 洪佳敏, 林宝妹, 张朝坤, 等. 番石榴醇提物抗氧化能力及 α-葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(1): 1-7.
- [10] 胡绪乔, 原菲, 严春艳, 等. 银杏多糖的分离鉴定和体外抗氧化活性测试[J]. 中药材, 2011, 34(12): 1950-1953.
- [11] 杨楠, 贾晓斌, 张振海, 等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 373-381.
- [12] 许有瑞, 伊辉, 张可峰, 等. 瑞药葫芦钻中 α-葡萄糖苷酶抑制活性部位的筛选[J]. 中国药房, 2017, 28(16): 2235-2237.
- [13] 徐婷, 褚江洪, 丁萍英, 等. 葛根素对 α-葡萄糖苷酶抑制作用机理的探讨[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(1): 43-45, 48.

(下转第 322 页)

参考文献

- [1] CHEN B S, TUULI M G, LONGTINE M S, et al. Pomegranate juice and punicalagin attenuate oxidative stress and apoptosis in human placenta and in human placental trophoblasts[J]. AM J Physiol-endoc M, 2012, 302(9): 1142-1152.
- [2] SILVA O, VIEGAS S, MELLO-SAMPAYO C. Anti-Helicobacter pylori activity of *terminalia macroptera* root[J]. Fito-terapia, 2012, 83(5): 872-876.
- [3] 徐云凤, 李光辉, 封雨晴, 等. 安石榴苷的纯化及对金黄色葡萄球菌抑菌作用的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 110-113.
- [4] KULKARNI A P, MAHAL H S, KAPOOR S, et al. In vitro studies on the binding, antioxidant, and cytotoxic actions of punicalagin[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(4): 1491-1500.
- [5] CHEN L G, HUANG W T, LEE L T, et al. Ellagitannins from *Terminalia calamansanai* induced apoptosis in HL-60 cells[J]. Toxicol in vitro, 2009, 80(6): 603-609.
- [6] ENDO E H, CORTEZ D A G, UEDA-NAKAMURA T, et al. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*[J]. Res Microbiol, 2010, 161(7): 534-540.
- [7] LIN C C, HSU Y F, LIN T C. Effects of punicalagin and punicalin on carrageenan-induced inflammation in rats[J]. Am J Chin Med, 1999, 27(3/4): 67-70.
- [8] ARTURSSON P, PALM K, LUTHMAN K. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport[J]. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 46(1/3): 27-43.
- [9] 刘振平, 陈祥贵, 彭海燕, 等. RP-HPLC法同时测定石榴皮中4种多酚类成分的含量[J]. 中国药房, 2013, 24(3): 238-240.
- [10] 杨婧芝. MDR1基因多态性对富马酸卢帕他定吸收影响的机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [11] 杨海涛, 王广基. Caco-2单层细胞模型及其在药学中的应用[J]. 药学报, 2000, 35(10): 797-800.
- [12] ARTURSSON P, KARLSSON J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficient in human intestinal epithelial (Caco-2) cell[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 175(3): 880.
- [13] BAJAJ G, RODRIGUEZ-PROTEAU R, VENKATARAMAN A, et al. Mdr1 function is sensitive to the phosphorylation state of myosin regulatory light chain[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398: 7-12.

(收稿日期: 2018-08-16 编辑: 王丽英)

(上接第315页)

- [14] 白冰, 李玉萍, 叶军, 等. 马齿苋活性成分中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(2): 657-658, 660.
- [15] 孙佳明, 杜延佳, 宗颖, 等. 白芍降血糖和抗氧化的有效部位筛选研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(9): 2113-2114.
- [16] 赵蓉, 李多伟, 任涛, 等. DNS比色法测定白芸豆中 α -淀粉酶抑制剂活性的方法研究[J]. 中成药, 2013, 35(3): 573-576.
- [17] 恽祥惠, 邢丽娜, 李云, 等. 建立基于96孔板检测的FRAP法和DPPH法及其在橘核抗氧化活性研究中的应用[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1275-1278.
- [18] 冯改利, 宋小妹, 邓羽, 等. DPPH法筛选大血藤抗氧化活性有效部位[J]. 陕西中医, 2011, 32(9): 1233-1235.
- [19] 孙佳明, 宗颖, 雷岱虹, 等. 甘草乙醇提取物的体外抑制 α -葡萄糖苷酶、抗氧化活性及HPLC-MS分析[J]. 中成药, 2013, 35(9): 1943-1946.
- [20] 罗海青, 曾子盈, 邢奕丹, 等. 黄皮叶总黄酮的含量测定及其抗氧化活性研究[J]. 广东药科大学学报, 2018, 34(4): 438-441.
- [21] 钱慧琴, 秦晶晶, 赵媛, 等. 月季不同部位总黄酮含量分析及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(20): 19-22.

(收稿日期: 2018-09-26 编辑: 王丽英)