

黄蜀葵花黄酮抗氧化性及对 DNA 氧化损伤的保护作用

The antioxidant activities and protection on DNA oxidative damage of flavonoid from the flowers of *Abelmoschus manihot*

黎 望^{1,2} 孙培冬^{1,2} 季晓彤^{1,2} 路 帅^{1,2}

LI Wang^{1,2} SUN Pei-dong^{1,2} JI Xiao-tong^{1,2} LU Shuai^{1,2}

(1. 江南大学食品胶体与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122;

2. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122)

(1. Ministry of Education, School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;

2. The Key Laboratory of Food Colloids and Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:采用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇对黄蜀葵花乙醇提取物进行分级萃取,得到石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相 4 个不同极性成分。采用 DPPH·清除、·OH 清除和 H₂O₂ 清除试验考察了其抗氧化活性,研究了正丁醇相对·OH 和 H₂O₂ 诱导 DNA 氧化损伤的保护作用,并利用 HPLC—MS 对正丁醇中黄酮类物质进行了鉴定。结果表明:黄蜀葵花黄酮主要富集于乙酸乙酯相和正丁醇相;乙酸乙酯相对 DPPH· 的清除能力最好,IC₅₀ 值为 0.038 6 mg/mL,而正丁醇相对·OH 和 H₂O₂ 的清除能力较好,IC₅₀ 值分别为 0.225 0, 0.575 7 mg/mL;正丁醇相对·OH 和 H₂O₂ 诱导的 DNA 氧化损伤都有保护作用;正丁醇相中含有 11 种黄酮类化合物。

关键词:黄蜀葵花;黄酮;萃取相;抗氧化活性;DNA 氧化损伤

Abstract: The ethanol extracts of flowers from *Abelmoschus manihot* was extracted by petroleum ether, ethyl acetate and n-butyl alcohol, and four different polar portions were obtained. The scavenging effect of different phases on DPPH·, ·OH and H₂O₂ were studied to research the antioxidant activities of each phase. Moreover, the protection of n-butyl alcohol phase on DNA oxidative damage was also studied, and the flavonoids component was identified by HPLC—MS. The results showed that the ethyl acetate phase had the best scavenging effect on DPPH·, with IC₅₀ value 0.038 6 mg/mL. However, the n-butyl alcohol phase had scavenge ·OH and H₂O₂ best, and the IC₅₀ values were 0.225 0 and 0.575 7 mg/mL, respectively. The

n-butyl alcohol phase was proved to show protective effect in some degree on DNA oxidative damage, and totally 11 kinds of flavonoids were found in the n-butyl alcohol phase.

Keywords: *Abelmoschus manihot* flower; flavonoids; extracts; antioxidant activity; DNA oxidative damage

自由基是人体生物反应中产生的一类代谢产物,正常情况下处于动态平衡,但由于大气污染、紫外线照射以及不良生活习惯等因素,常使人体内自由基过剩,从而引发 DNA 氧化损伤,导致衰老和各种疾病。大量研究^[1-3]表明,黄酮类化合物具有较强的抗氧化作用,能够通过多种方式有效地清除自由基,从而预防、治疗疾病,减缓人体衰老等。而天然抗氧化剂的应用在食品、医药和化妆品行业日益凸显其优势。

黄蜀葵花为锦葵科秋葵属植物黄蜀葵的干燥花。黄蜀葵花含有黄酮类、还原糖类、鞣质、长链烃类化合物、多糖类化合物以及其他化学成分^[4],其中黄酮类化合物为黄蜀葵花主要活性成分。研究表明黄蜀葵花黄酮具有降血糖^[5]、改善肾纤维化^[6]、保护心肌损伤^[7]和促进血管新生^[8]等生物活性,但有关黄蜀葵花黄酮对 DNA 氧化损伤的保护作用尚未见报道。

本研究拟利用不同极性溶剂对黄蜀葵花乙醇提取物进行分级萃取,得到不同极性部位,并通过清除 DPPH·、·OH 和 H₂O₂ 试验进行抗氧化活性筛选,对活性较好的部位进行·OH 和 H₂O₂ 诱导的 DNA 氧化损伤的研究,并对该组分的黄酮类物质进行鉴定,为黄蜀葵花黄酮的药用机理研究提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

黄蜀葵花:产地河南,购自亳州市芝春堂药材采购站;

作者简介:黎望,女,江南大学在读硕士研究生。

通信作者:孙培冬(1967—),女,江南大学副教授,硕士。

E-mail: sunpeidong2004@126.com

收稿日期:2016—12—22

芦丁标准品:纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司;
质粒 pBR322 DNA:宝生物工程有限公司;
Goldview 染料:上海宝曼生物科技有限公司;
DPPH(1,1-二苯基苦酰基苯腙):美国 Sigma 公司;
其他试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

电子天平:ME203E 型,美国 Mettler-Toledo 公司;
超声波清洗仪:KH-100B 型,昆山禾创超声仪器有限公司;
恒温水浴锅:HH-S2 型,上海亚荣生化仪器厂;
旋转蒸发器:RE-5203 型,上海亚荣生化仪器厂;
循环水式真空泵:SHB-III 型,郑州长城科工贸有限公司;
双光束紫外可见分光光度计:U-1901 型,北京普析通用仪器有限公司;
荧光分光光度计:Cary Eclipse 型,美国 Varian 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 黄蜀葵花黄酮样品的制备 称取黄蜀葵花粉末,用 60%乙醇以 1:20(g/mL)的料液比在 50℃下超声提取 30 min,抽滤,将滤液减压浓缩得浸膏。将浸膏冷冻干燥得黄蜀葵花粗提物(ACF),再将其用适量水分散,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行少量多次的萃取,直至萃取相颜色较浅,将各相浓缩除尽溶剂后,干燥得到石油醚相(AFP)、乙酸乙酯相(AFE)、正丁醇相(AFB)和水相(AFW)4部分萃取相固体,测各相得率及黄酮含量。将各萃取相均用水超声溶解,并配制成不同浓度样品备用。

$$Y = \frac{M_1}{M_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y——得率,%;

M_1 ——各萃取相质量,g;

M_0 ——粗提取物质量,g。

1.3.2 黄酮含量的测定 以芦丁为标准品,采用 NaNO_2 — $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ — NaOH 法^[9]得到标准曲线 $A = 11.64571C - 0.00304$ ($R^2 = 0.9997$)。将各萃取相配制成相应浓度,分别测定其吸光度,根据式(2)计算黄酮含量。

$$X = \frac{C \times N \times V}{M}, \quad (2)$$

式中:

X——黄酮含量,mg/g;

C——稀释后样品溶液黄酮浓度,mg/mL;

N——稀释倍数;

V——体积,mL;

M——样品质量,g。

1.3.3 黄蜀葵花各萃取相对 DPPH·清除能力测定 参考文献[10],在 10 mL 离心管中加入 1 mL 不同浓度的萃取相溶液和 4 mL 0.04 mg/mL 的 DPPH 溶液,混合均匀,室温下避光反应 30 min,在 520 nm 处测定吸光度,以 V_c 为阳性对照。

$$S_1 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

S_1 ——DPPH 清除率,%;

A_1 ——1 mL 萃取相溶液+4 mL DPPH 溶液的吸光度;

A_2 ——1 mL 萃取相溶液+4 mL 乙醇的吸光度;

A_0 ——1 mL H_2O +4 mL DPPH 溶液的吸光度。

1.3.4 黄蜀葵花各萃取相对·OH 清除能力测定 参考文献[11],在 10 mL 离心管中依次加入 1 mL 0.75 mmol/L 邻二氮菲溶液、2 mL 磷酸缓冲溶液(pH=7.4)、1 mL 0.75 mmol/L 的 FeSO_4 溶液、1 mL 不同浓度萃取相溶液,最后加入 1 mL 0.01% H_2O_2 ,振荡摇匀,在 37℃下水浴 1 h,于 510 nm 处测吸光度,以 V_c 为阳性对照。

$$S_2 = \frac{A_2 - A_1}{A_3 - A_1} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

S_2 ——·OH 清除率,%;

A_1 ——1 mL 邻二氮菲+2 mL 磷酸缓冲溶液+1 mL FeSO_4 +1 mL H_2O +1 mL H_2O_2 的吸光度;

A_2 ——1 mL 邻二氮菲+2 mL 磷酸缓冲溶液+1 mL FeSO_4 +1 mL 萃取相溶液+1 mL H_2O_2 的吸光度;

A_3 ——1 mL 邻二氮菲+2 mL 磷酸缓冲溶液+1 mL FeSO_4 +2 mL H_2O 的吸光度。

1.3.5 黄蜀葵花各萃取相对 H_2O_2 清除能力测定 参考文献[12],在 10 mL 离心管中加入 40 mmol/L H_2O_2 磷酸缓冲溶液(pH=7.4)0.5 mL,萃取相溶液 0.5 mL,用 PBS(pH=7.4)稀释到 8 mL,混匀,静置反应 15 min,在 230 nm 处测其吸光度。

$$S_3 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

S_3 —— H_2O_2 清除率,%;

A_1 ——0.5 mL H_2O_2 +0.5 mL 萃取相溶液+7 mL PBS 的吸光度;

A_2 ——0.5 mL 萃取相溶液+7.5 mL PBS 的吸光度;

A_0 ——0.5 mL H_2O_2 +7.5 mL PBS 的吸光度。

1.3.6 黄蜀葵花正丁醇相对·OH 诱导 DNA 氧化损伤的保护作用 参考文献[13],在微量荧光比色皿中依次加入 1 μL 100 ng/ μL DNA、10 μL 0.1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ 溶液、10 μL 0.17 mol/L 的 EDTA-2Na 溶液、10 μL 0.015% H_2O_2 溶液、10 μL 10 mg/mL V_c 溶液、10 μL AFB 溶液、40 μL 1×TE 缓冲溶液及 0.5 μL Goldview 染料,混匀后静置 5 min,荧光测定条件为:狭缝 $E_x = 5$ nm, $E_m = 10$ nm,在激发波长 486 nm 下扫描 500~700 nm 范围内的荧光强度。

1.3.7 黄蜀葵花正丁醇相对 H_2O_2 诱导 DNA 氧化损伤的保护作用 参考文献[14],在微量荧光比色皿中依次加入 1 μL DNA、1 μL 30% H_2O_2 溶液、5 μL 待测 AFB 溶液、95 μL 1×TE 缓冲溶液以及 0.5 μL Goldview 溶液,混匀后放置 10 min,再置于紫外灯下照射 10 min,荧光测定条件同 1.3.6。

1.3.8 黄蜀葵花正丁醇相的 HPLC—MS 解析 AFB 用甲醇溶解,进行 HPLC—MS 分析。液相色谱条件:BEH C_{18} 柱

(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: 乙腈—0.1% 甲酸; 梯度洗脱, 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 45 °C; 进样量: 5 μL; 记录 200~400 nm 紫外光谱。质谱条件: 负离子模式; 检测范围 (m/z): 100~1 000; 毛细管电压: 3.5 kV; 锥孔电压: 30 V; 离子源温度: 100 °C; 脱溶剂温度: 400.0 °C; 脱溶剂气流量: 700 L/h; 喷雾气流量: 50 L/h; 检测电压: 1 800 V。

2 结果与分析

2.1 各萃取相得率及黄酮含量

由表 1 可知, 经萃取后水相的得率达到 67.39%, 但黄酮含量仅仅是 113.9 mg/g, 而乙酸乙酯相和正丁醇相中的黄酮含量分别达到 491.24, 417.68 mg/g。

表 1 不同极性部位得率及总黄酮含量

Table 1 The yield and content of flavonoid in different phase

部位	得率/%	黄酮含量/(mg·g ⁻¹)
AFP	2.61	68.8
AFE	4.88	491.2
AFB	18.26	417.6
AFW	67.39	113.9

2.2 黄蜀葵花各萃取相对 DPPH· 的清除能力

由图 1 可知, 各萃取相和 V_C 清除 DPPH· 的能力随着质量浓度的增大而增强, 且呈现量效关系。当质量浓度为 0.18 mg/mL 时, AFE 和 AFB 的清除率分别为 95.233%, 87.25%, 而 AFP 和 AFW 对 DPPH· 的清除率低于 50%。4 个萃取相中 AFE 的清除能力最好, 接近 V_C 的清除能力。

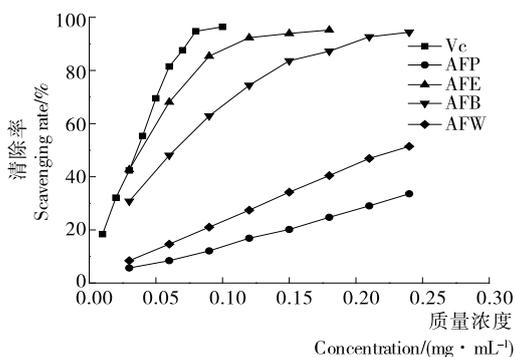


图 1 各萃取相对 DPPH· 的清除作用

Figure 1 Scavenging effect of extracts on free radical DPPH·

2.3 黄蜀葵花各萃取相对 ·OH 的清除能力

由图 2 可知, 各萃取相对 ·OH 的清除率随着质量浓度的增大而增强。AFB 和 AFE 对 ·OH 的清除能力高于 AFP 和 AFW。当样品质量浓度达到 0.4 mg/mL 时, AFB 和 AFE 对 ·OH 的清除率均高于 95%, AFW 的清除率为 56.33%, 而 AFP 对 ·OH 的清除率不足 50%, 表明 AFB 和 AFE 有较强的清除 ·OH 的能力。

2.4 黄蜀葵花各萃取相对 H₂O₂ 的清除能力

由图 3 可知, 在测定的质量浓度范围内, 随着质量浓度

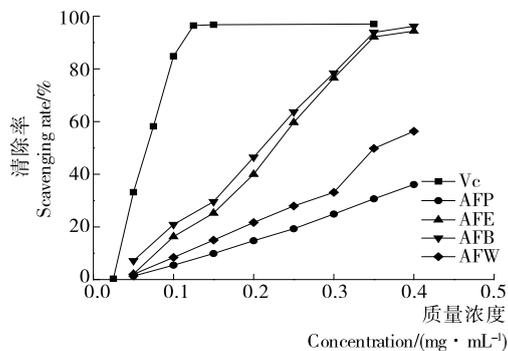


图 2 各萃取相对 ·OH 的清除作用

Figure 2 Scavenging effect of extracts on free radical ·OH

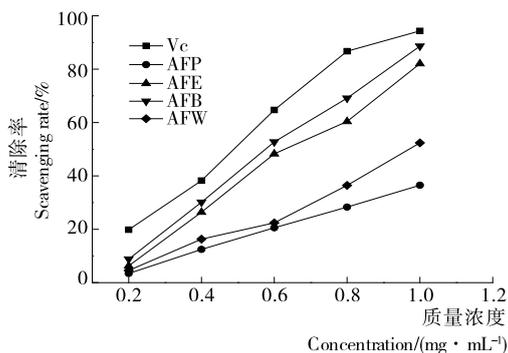


图 3 各萃取相对 H₂O₂ 的清除能力

Figure 3 The scavenging activity of extracts on H₂O₂

的增大, 各萃取相对 H₂O₂ 的清除能力也增强。当质量浓度为 1.0 mg/mL 时, AFP 和 AFW 的清除率比较低, 而 AFE 和 AFB 的清除率接近 90%, AFE 和 AFB 的 IC₅₀ 值分别为 0.628 5, 0.575 7 mg/mL。

2.5 AFB 对 ·OH 诱导的 DNA 氧化损伤的保护作用

由图 4 可知, Goldview-DNA 在波长 532 nm 左右有最大发射光谱, 在没有 ·OH 氧化损伤 DNA 时, 其荧光强度为 258.836 8 a.u.; 引入 ·OH 后, DNA 的双螺旋结构遭到破坏, 影响 DNA 和染料 Goldview 之间的能量传递, 导致体系荧光强度降低, 此时荧光强度为 61.324 7 a.u.。由图 5 可知, 加入 AFB 溶液后, 荧光强度增强, 说明样品溶液的存在减弱了

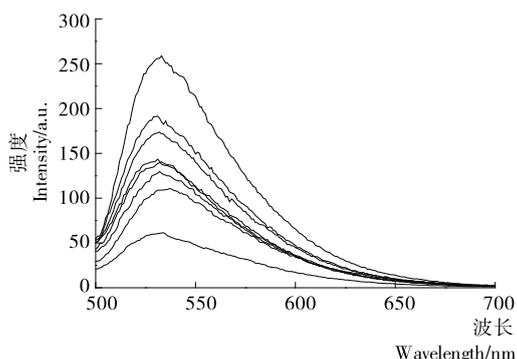


图 4 AFB 对 ·OH 诱导的 DNA 氧化损伤的保护作用

Figure 4 Protection of AFB on ·OH-induced oxidative DNA damage

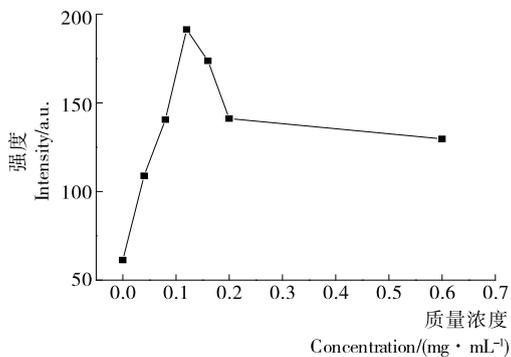


图5 不同质量浓度时 AFB 体系的最大荧光强度

Figure 5 The maximum fluorescence intensity of AFB system at different concentration

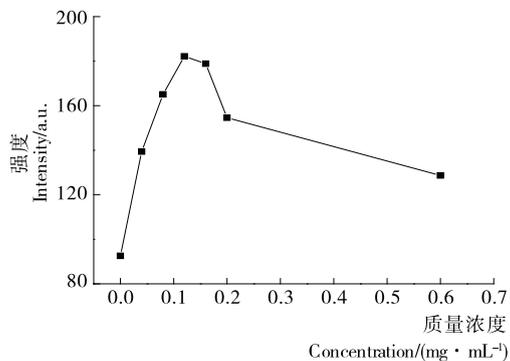


图7 不同质量浓度时 AFB 体系的最大荧光强度

Figure 7 The maximum fluorescence intensity of AFB system at different concentration

·OH 对 DNA 的氧化损伤程度。AFB 浓度低于 0.12 mg/mL 时,随着样品溶液质量浓度的增加,其荧光强度增强,即对 DNA 氧化损伤的保护作用增强,当浓度超过 0.12 mg/mL 时,对 DNA 氧化损伤的保护作用随着 AFB 浓度的增加而减弱。出现此现象的原因是:质量浓度低时,AFB 主要用于消除体系中·OH,从而抑制 DNA 的氧化损伤;而浓度过高时,AFB 除了清除·OH,还能与 DNA 发生相互作用,削弱了体系的荧光强度。

2.6 AFB 对 H₂O₂ 诱导 DNA 氧化损伤的抑制作用

由图 6、7 可知,在该试验条件下,Goldview—DNA 在波长 532 nm 左右有最大发射光谱,没有 H₂O₂ 氧化损伤 DNA 时,其荧光强度为 278.10 a.u.;引入 H₂O₂ 后,其荧光强度降至 91.521 a.u.,表明 H₂O₂ 的加入使 DNA 氧化损伤。加入 AFB 之后,体系的荧光强度也发生了变化。AFB 质量浓度低于 0.12 mg/mL,体系的荧光强度随着浓度的增加而增强;但浓度超过 0.12 mg/mL 后,体系的荧光强度就随浓度的增加而降低,但均大于仅被 H₂O₂ 氧化损伤的荧光强度,即 AFB 对 H₂O₂ 氧化损伤的 DNA 保护作用减弱,但对氧化损伤的 DNA 仍有保护作用,即 AFB 浓度在 0.04~0.60 mg/mL 时,对 H₂O₂ 氧化损伤的 DNA 有保护作用。

2.7 AFB 中黄酮类化合物结构鉴定

经过 HPLC—MS 分析,检测波长 350 nm 处的液相色谱图见图 8,而相应的色谱峰对应的最大紫外吸收波长和质谱

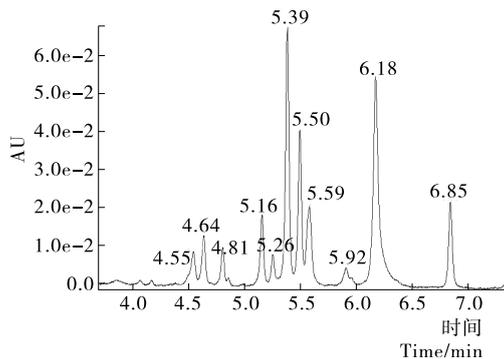


图8 AFB 在检测波长 350 nm 的色谱图

Figure 8 Chromatogram of AFB at 350 nm

数据见表 2,与相关的文献对照,推断鉴定出 11 个化合物。

文献[15]表明,负离子模式下的黄酮苷类化合物有如下裂解规律:3'位糖苷主要丢失糖分子,只产生[苷元-H]⁻离子,不产生[苷元-2H]⁻离子;7位糖苷丢失糖分子,不仅产生[苷元-H]⁻,还能产生[苷元-2H]⁻离子,但后者强度明显低于前者;3位糖苷分别发生丢失糖分子和糖苷键均裂,同时产生[苷元-H]⁻和[苷元-2H]⁻离子,但后者强度高于前者。黄酮苷元为槲皮素的黄酮类化合物会产生 m/z 301 或 300 离子;黄酮苷元为杨梅素和棉皮素的黄酮类化合物会产生 317 或 316 的离子,当同时有碎片离子峰 195、167 时为棉皮素。

表 2 中化合物 1、5、6 的分子离子峰都是 m/z 463,且都有碎片离子峰 m/z 301、300,表明苷元为槲皮素,而化合物 5、6 中 m/z 300 的碎片峰强于 m/z 301 的碎片峰,表明这两种化合物中糖苷为 3 取代^[15],而化合物 1 则相反,表明糖苷为 7 取代,在根据各物质的出峰时间,参考文献[16],推测 1、5、6 依次为槲皮素-7-O-葡萄糖苷、异槲皮素、金丝桃苷。化合物 2 的分子离子峰为 m/z 493,且有碎片离子峰 m/z 317,表明苷元为杨梅素或槲皮素,同时有碎片 m/z 195 和 167,则苷元为棉皮素,参考文献[16],推测该化合物为棉皮苷。化合物 3 的[M-H]⁻为 505,其分子量为 506,碎片离子峰 m/z 463、301 与文献[17]一致,推测为乙酰化金丝桃苷。化合物 4、10、11 分子离子峰都是 m/z 479,推测其分子量为 480,都有碎片离子峰 317,参考文献[16]推测其依次为杨梅

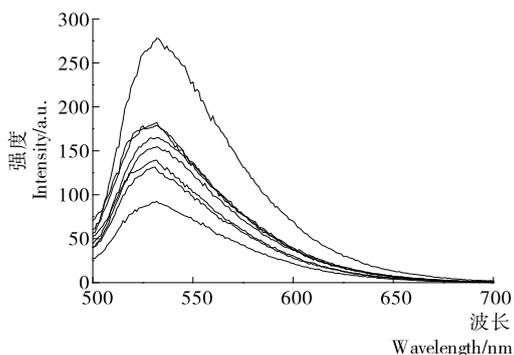
图6 AFB 对 H₂O₂ 诱导的 DNA 氧化损伤的保护作用

Figure 6 Protection of AFB on H₂O₂-induced oxidative DNA

表 2 HPLC 分离化合物的质谱数据
Table 2 Mass Spectrum data of compounds separated by HPLC

序号	保留时间/ min	[M-H] ⁻	紫外最大 吸收峰/nm	碎片离子峰 <i>m/z</i>	推测物质	参考文献
1	6.893	463	252,369	301,273,179,151,107	槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	[15~16]
2	6.218	493	358,377	317,316,271,227,195,167	棉皮苷	[16]
3	5.959	505	255,349	463,301,271,255,179,163,151	乙酰化金丝桃苷	[17]
4	5.630	479	254,371	317,271,179,151,107	杨梅素-3'- <i>O</i> -葡萄糖	[15~16]
5	5.543	463	256,352	300,301,271,255,243,179,151,107	异槲皮素	[15~16]
6	5.440	463	256,355	300,301,271,255,243,151	金丝桃苷	[15~16]
7	5.301	609	256,349	301,300,271,255,151,107	槲皮素-3- <i>O</i> -半乳糖基鼠李糖苷	[15~16]
8	5.197	609	256,357	301,300,271,255,179,151	芦丁	[15~16]
9	4.851	595	257,349	463,300,271,255,179,151	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖基阿拉伯糖苷	[15~16]
10	4.696	479	257,358	316,317,271,179	杨梅素-3- <i>O</i> -葡萄糖	[15~16]
11	4.592	479	255,350	317,316,271,179	杨梅素-3- <i>O</i> -半乳糖	[15~16]

素-3'-*O*-葡萄糖、杨梅素-3-*O*-葡萄糖、杨梅素-3-*O*-半乳糖。化合物 7、8 的分子离子峰为 m/z 609,且都有 m/z 301、300 的碎片离子峰,参考文献[16],推测这两种物质分别为槲皮素-3-*O*-半乳糖基鼠李糖、芦丁。化合物 9 的分子离子峰为 m/z 595,则分子量为 596,由文献[16]可知,该化合物为槲皮素-3-*O*-葡萄糖基阿拉伯糖苷。

3 结论

黄蜀葵花粗提物经不同极性的溶剂萃取后,得到 4 个萃取相,黄酮富集于乙酸乙酯相和正丁醇相。抗氧化活性的研究表明乙酸乙酯相和正丁醇相的抗氧化性优于石油醚相和水相,这与两相中总黄酮含量存在量效关系。其中乙酸乙酯相对 DPPH· 的清除能力最佳,清除率最高达 95.23%, IC_{50} 值为 0.038 6 mg/mL;而正丁醇相对 ·OH 和 H₂O₂ 的清除能力最好,清除率最高分别为 96.21% 和 88.62%, IC_{50} 值分别为 0.225 0 mg/mL 和 0.575 7 mg/mL。选取正丁醇相进行 DNA 氧化损伤的研究,结果表明在 0.04~0.60 mg/mL 时,AFB 对 ·OH 和 H₂O₂ 诱导的 DNA 氧化损伤都有保护作用,当质量浓度为 0.12 mg/mL 时,对 DNA 损伤的保护作用最强。通过 HPLC—MS 鉴定了正丁醇相中的 11 种黄酮类化合物。综上所述,黄蜀葵花黄酮具有较好的抗氧化活性,同时对 DNA 的氧化损伤也有较为显著的保护作用,且初步鉴定正丁醇相中的 11 种黄酮类化合物。本研究可为黄蜀葵花总黄酮在化妆品、食品和医药等领域的开发提供理论依据,但黄蜀葵花黄酮保护 DNA 氧化损伤的机理还有待进一步研究。

参考文献

[1] 唐春红.天然防腐剂与抗氧化剂[M].北京:中国轻工业出版社,2010:182.
[2] 涂宗财,傅志丰,王辉,等.红薯叶不同溶剂提取物抗氧化性及活性成分鉴定[J].食品科学,2015,36(17):1-6.
[3] 吴秋敏,苏平,刘芸.黄酮的抗氧化性和促氧化性研究进展[J].

食品工业科技,2014,35(24):379-383.
[4] 周雷.黄蜀葵花总黄酮研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(6):42-44.
[5] 陈刚.黄蜀葵花的化学成分和降糖活性研究[D].北京:中国人民解放军军事医学科学院,2006:43-47.
[6] 尹莲芳.黄蜀葵花对肾病大鼠尿排泄的影响及其作用机制[J].河北医科大学学报,2003,24(6):328-330.
[7] 范丽,郭岩,陈志武,等.黄蜀葵花总黄酮对小鼠急性心肌缺血缺氧损伤的保护作用[J].中国药房,2005,16(3):176-178.
[8] 潘武,蒋萌.黄蜀葵花总黄酮对人脐静脉血管内皮细胞形成新生血管的影响[J].徐州医学院学报,2010,30(6):359-361.
[9] 贾霖,黄国清,肖军霞.金银花中黄酮类化合物的提取工艺[J].食品研究与开发,2013,34(9):41-43.
[10] 王丹,翟梅枝,毛光瑞,等.核桃花粉提取物的抗氧化性研究[J].食品工业科技,2014,35(16):137-139.
[11] 孙鲜明,李小方,邓瑞雪,等.流苏花总黄酮超声提取工艺及抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2015,36(16):266-272.
[12] 张溢,孙培冬,陈桂冰,等.芡实多糖的提取、抗氧化活性及对质粒 DNA 氧化损伤防护作用的研究[J].食品工业科技,2015,36(11):122-126.
[13] 赵金莲,曾佑伟,李宽,等.荧光光谱法分析花茶对羟基自由基(·OH)诱导的 DNA 氧化损伤的保护作用[J].华南师范大学学报:自然科学版,2010(3):92-97.
[14] YANG Xu, LV Yuan-ping. Purification, characterization, and DNA damage protection of active components from Tartary Buckwheat (Fagopyrum tataricum) hull [J]. Food Sci Biotechnol, 2015, 24(6): 1 959-1 966.
[15] 阿布拉江·克依木.黄酮苷类天然产物的质谱分析方法研究[D].北京:中国协和医科大学,2006:71.
[16] 池玉梅,朱华云,居羚,等.高效液相—四极杆飞行时间串联质谱分析黄蜀葵花中黄酮醇类化合物[J].分析化学,2009,37(2):227-231.
[17] 吴桂梅.罗布麻叶中黄酮类化合物的分离提取及抗氧化、抗抑郁活性的研究[D].长春:长春师范学院,2011:38-39.