

芒萁黄酮类物质成分鉴定及体外抗氧化活性研究

欧阳可凡¹, 王文君²

(1. 南昌大学食品学院, 江西 南昌 330031; 2. 江西农业大学食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045)

摘要:芒萁是一种在南方地区分布广泛的药用草,但目前利用不广。为充分研究其药理基础,应用超声辅助法提取芒萁黄酮,通过聚酰胺柱层析配合梯度洗脱对其进行分离纯化,鉴定其主要成分后,进行体外抗氧化实验。结果表明:芒萁黄酮的提取率为13.42%,纯化所得50%醇洗物部分的总黄酮含量最高,达到76.25%,主要含有阿福豆苷(2.155%)、木犀草素-5-O-葡萄糖(1.462%)、异槲皮苷(0.856%)。芒萁黄酮对羟基(OH)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)自由基的 IC_{50} 值分别为:1 079.01、248.74和50.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。芒萁黄酮含量高,抗氧化活性优良,极具开发价值。

关键词:芒萁;黄酮类物质;HPLC;抗氧化活性

中图分类号:Q948 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)05-0113-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2021.05.016

芒萁(*Dicranopteris pedata*),真蕨目里白科芒萁属植物,是亚热带红壤丘陵区次生植被的标志种和识别种,广泛分布于中国长江以南各省及东南亚地区^[1-2]。因其耐旱耐瘠耐酸、繁殖生长能力极强,在保护南方红壤侵蚀区水土流失起着重要作用^[3-4]。由于芒萁茎叶刚韧且粗糙,不易消化吸收,适口性较差^[5],通常不做饲草用,而被视做生态草、观赏草、能源草,同时也可做为工业草提取天然色素或做为药用草。据记载,芒萁可全株入药,有泻火利尿、止血化瘀的功效^[6]。芒萁含黄酮、皂苷及多糖类等活性成分,具有很强的抗氧化、抗菌、抗癌活性,对帕金森病也有一定的疗效^[7-10]。黄酮是一种植物次生级代谢产物,在人体中无法合成,仅可通过食物摄入。因其优异的抗氧化活性,能够起到预防心脑血管疾病、抗癌等作用^[11]。经

测定芒萁中黄酮的含量高达13%以上^[7],比红豆草和小冠花等豆科牧草的黄酮含量(0.46%~1.70%)^[12]要高得多。目前,芒萁在我国虽然分布极广,产量也极为巨大,但芒萁黄酮的保健功效和药理作用并未受到人们的关注。本研究采用超声波法辅助法提取芒萁黄酮,分析其总黄酮的含量,并对其成分进行鉴定,进而探讨了其体外抗氧化活性,以期为进一步开发利用芒萁这一南方地区常见药用草提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试芒萁于2020年7月采摘于江西省赣州市宁都县翠微峰国家森林公园。芦丁标准品、异槲皮苷标准品、木犀草素-5-O-葡萄糖苷标准品、阿福豆苷标准品:分析纯,北京Solarbio科技有限公司;聚酰胺树脂:30-60目,国药集团化学试剂有限公司;乙腈、甲醇:色谱纯,TEDIA USA;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):纯度 $\geq 97\%$,东京化成工业株式会社;2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、盐酸、过氧化氢、硫酸亚铁、硝酸铝、水杨酸、亚硝酸钠、氢氧化钠、维生素C、无水乙醇、过硫酸钾等:分析纯。

1.2 试验仪器

粉碎机:XM-800Y型,永康市鑫之鸿电器有限公司

收稿日期:2020-10-12;修回日期:2020-12-07

基金项目:国家自然科学基金项目(31560459);江西省主要学科学术和技术带头人计划资助项目(20182BCB22003)

作者简介:欧阳可凡(2000-),男,江西万安人。

E-mail:kefan.ouyang@email.ncu.edu.cn

王文君为通讯作者。

E-mail:wwjun9999@sina.com

司;数控超声波清洗器:KQ-250DE型,昆山市超声仪器有限公司;酶标仪:M2型,美国Molecular Device公司;有机相微孔滤膜:0.22 μm ,Millipore USA;冷冻干燥机:Scientz-10N,宁波新芝生物科技股份有限公司;液相色谱仪:Agilent 1260 Infinity,Agilent USA;数显恒温搅拌循环水箱:HH-60型,国华仪器制造有限公司;电子天平:AUY220型,日本京都岛津制作所;循环真空水泵:SHZ-D(Ⅲ)型,巩义市子华仪器有限责任公司;旋转蒸发器:N-1100型、油浴锅:OSB-2100型,上海爱朗仪器有限公司;低速离心机:TD4型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

1.3 芒萁黄酮的提取与纯化

1.3.1 芒萁黄酮粗提物制备 取其地上部位茎叶,剪碎并于60℃干燥后进行粉碎,过60目筛后密封保存。芒萁黄酮粗提物采用超声波辅助提取法提取^[7],取芒萁茎叶粉末5.0 g、与50%乙醇500 mL加入锥形瓶中混合,超声处理20 min,温度50℃,功率125 W;采用85℃恒温水浴90 min,4 000 r/min离心10 min后过滤,于60℃下进行真空减压浓缩至原体积的30%;冷冻干燥后保存备用。

1.3.2 芒萁黄酮的分离纯化 采用乙醇梯度洗脱法,根据文献^[13]略作修改:活化聚酰胺树脂后,取适量芒萁粗提物,用蒸馏水配制成浓度25 mg/mL的试样液,缓慢添加进层析柱上端,吸附时间为2 h。采用4个浓度梯度(0%、30%、50%、70%)的乙醇溶液进行梯度洗脱,流速为1.5 mL/min,洗脱至解吸液无明显颜色即换用更高浓度。收集各梯度醇洗液,于60℃减压浓缩后冷冻干燥,最终得到水洗物、30%、50%、70%醇洗物。

1.3.3 芦丁标准曲线制作 称量芦丁标准品10.0 mg,用50%乙醇配制成0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 mg/mL的标准液,采用 NaNO_2 -Al(NO_3)₃-NaOH显色法,于510 nm波长下测定其吸光度(A值),并制作标准曲线。采取最小二乘法进行线性回归,得到回归方程: $Y=0.38082A+0.01967$, $R^2=0.99987$,线性范围为0~0.02 mg/mL(图1)。

1.3.4 芒萁黄酮含量的测定 分别取2 mg上述芒萁黄酮粗提物及不同梯度乙醇洗脱物,以50%乙醇溶解后定容至10 mL容量瓶中,按1.3.3的方法测定其黄酮浓度,并计算总黄酮含量。

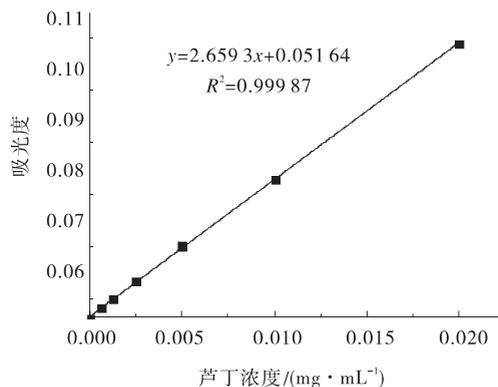


图1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

$$W = \frac{(C \times 10)}{M} \times 100\%$$

式中: W 为总黄酮百分含量,%; C 为总黄酮浓度,mg/mL; M 为样品质量,mg。

1.4 芒萁黄酮成分分析

采取HPLC法进行分析。分别取适量的芒萁黄酮粗提物和各浓度梯度醇洗物经甲醇溶解、有机滤膜(0.22 μm)过滤后采用C18色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),以乙腈(α)-0.4%乙酸超纯水(β)系统为流动相,梯度洗脱(0~15 min,10%~25% α ;15~30 min,25%~40% α ;30~40 min,40%~50% α),进样量10 μL ,流速1.0 mL/min,波长254 nm,柱温40℃。

将粗提物HPLC图谱各峰的峰面积数据代入标准品标准曲线,得到单体组分浓度,并计算黄酮单体组分百分含量。

$$W = \frac{C_1}{C_0} \times 100\%$$

式中: W 为单体组分百分含量,%; C_0 为粗提物浓度, $\mu\text{g/mL}$; C_1 为单体组分浓度, $\mu\text{g/mL}$ 。

1.5 芒萁黄酮体外抗氧化试验

1.5.1 芒萁黄酮清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)能力试验 根据文献^[14]修改如下:于10 mL离心管中加入2 mL FeSO_4 (6 mmol/L),2 mL试样,2 mL过氧化氢(6 mmol/L),2 mL水杨酸-乙醇(6 mmol/L),恒温水浴处理20 min(37℃),以蒸馏水为参考,于510 nm处测定吸光度。试样为不同浓度的(0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)芒萁纯化黄酮溶液或Vc溶液。重复3次。

采用以下公式计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = \left[1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100\%$$

式中: A_0 为空白对照的吸光度, A_1 为加入供试品的吸光度, A_2 为不加入水杨酸-乙醇溶液的吸光度。

1.5.2 芒萁黄酮清除 ABTS⁺ 能力试验 参考文献 [15-16] 的方法: 称取 ABTS 粉末 5.0 mg 于离心管, 按照文献 [17] 配制成 ABTS⁺ 工作液。于 4 mL 离心管中按顺序添加 1 mL 80% 乙醇, 1 mL ABTS⁺ 工作液, 摇匀, 避光静置 30 min, 于 734 nm 下测定吸光值 A_0 。于 4 mL 离心管中按顺序添加 0.25 mL 不同浓度 (20、40、60、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的芒萁纯化黄酮溶液或 Vc 溶液, 0.75 mL 80% 乙醇, 1 mL ABTS⁺ 工作液, 摇匀, 避光静置 30 min, 于 734 nm 下测定吸光值 A_1 。重复 3 次。

采用以下公式计算 ABTS⁺ 清除率。

$$\text{ABTS}^+ \text{清除率}(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 为空白对照的吸光度, A_1 为加入供试品的吸光度。

1.5.3 芒萁黄酮清除 DPPH 自由基能力试验 参考文献 [14] 的方法: 于 4 mL 离心管中按顺序添加 2 mL 的 DPPH-乙醇溶液 (0.1 mmol/L), 2 mL 浓度递增的芒萁纯化黄酮溶液 (10、15、20、30、40、60 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 避光反应 0.5 h, 以 70% 乙醇为参考, 于 517 nm 测定其吸光度。试样为不同浓度的 (10、15、20、30、40、60 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 芒萁纯化黄酮溶液或 Vc 溶液。重复 3 次。

采用以下公式计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left[1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \right] \times 100\%$$

式中: A_0 为空白对照的吸光度, A_1 为加入供试品的吸光度, A_2 为不加入 DPPH-乙醇溶液的吸光度。

1.5.4 统计分析 采用 Origin 2019 软件绘图, 采用 SPSS 21.0 进行 t 检验分析并计算其半抑制浓度 IC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 芒萁黄酮提取率及芒萁黄酮纯化物的黄酮含量

本试验通过超声波辅助提取法得到了芒萁黄酮粗提物 (CEE), 黄酮提取率为 13.42%。采用乙醇梯度洗脱法对芒萁黄酮粗提物进行分离纯化, 分别获得了

水洗物 (WE)、30% 醇洗物 (30% EE)、50% 醇洗物 (50% EE)、70% 醇洗物 (70% EE)。粗提物和不同梯度洗脱物黄酮含量测定结果见图 2。以 50% EE 的黄酮含量最高, 可达 76.25%, 其次为 30% EE、CEE、WE, 70% EE 的黄酮含量最低, 仅为 2.37%。

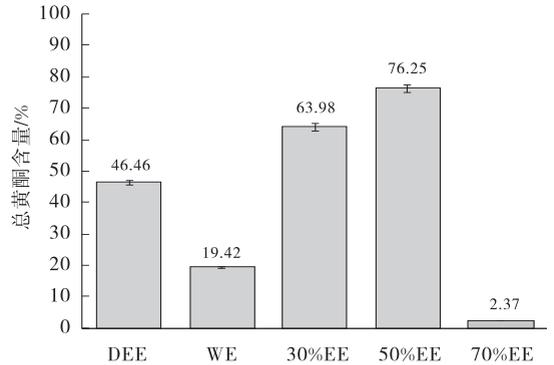


图 2 芒萁黄酮粗提物和不同梯度乙醇洗脱物的总黄酮含量

Fig. 2 Total flavonoid content of CEE and different ethanol eluates

注: CEE: 粗提物; WE: 水洗物; 30% EE: 30% 醇洗物; 50% EE: 50% 醇洗物; 70% EE: 70% 醇洗物

2.2 芒萁黄酮 HPLC 图谱及分析

芒萁黄酮粗提物和各醇洗物的 HPLC 图谱见图 3。除 70% EE 组分的 HPLC 图无明显峰外, 无论是粗提物还是各洗脱物的各峰分离效果都较好, 杂峰较少, 其纯化前后图谱各峰出峰时间并无明显差异。芒萁黄酮 3 个明显峰分别对应混合对照品中的异槲皮苷标准品、木犀草素-5-O-葡萄糖苷标准品、阿福豆苷标准品。

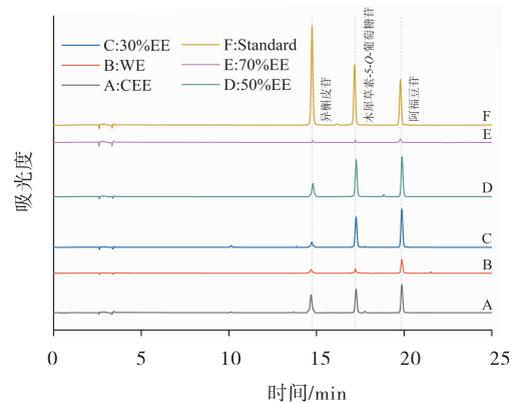


图 3 芒萁黄酮 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatogram of flavonoids from *Dicranopteris pedata*

注: A: CEE (粗提物); B: WE (水洗物); C: 30% EE (30% 醇洗物); D: 50% EE (50% 醇洗物); E: 70% EE (70% 醇洗物); F: 标准品

通过各标品标准曲线(表 1)计算,可得芒萁粗黄酮中所含有的 3 种黄酮类化合物含量分别为:异槲皮

苷 0.856%、木犀草素-5-O-葡萄糖苷 1.462%、阿福豆苷 2.155%。

表 1 黄酮标准品线性关系

Table 1 Linear relationship of flavonoid standards

成分	标准曲线	R^2	检出限/ng	定量限/ng
异槲皮苷	$Y=24.893X+53.734$	0.999 7	6.474	21.580
木犀草素-5-O-葡萄糖苷	$Y=17.546X+6.649$	0.999 8	1.136	3.787
阿福豆苷	$Y=15.425X-59.841$	0.999 5	11.637	38.790

2.3 芒萁黄酮体外抗氧化试验结果

本研究选择了黄酮纯度最高的 50% EE 进行试验,以评价芒萁黄酮的抗氧化能力。

2.3.1 芒萁黄酮对羟基自由基的清除能力 当浓度较低($< 200 \mu\text{g}/\text{mL}$)时,芒萁黄酮的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力略强于 Vc,但是随着浓度递增,达到 $400 \mu\text{g}/\text{mL}$ 及以上时,Vc 的抑制效果明显好于芒萁黄酮。芒萁黄酮、Vc 对羟基自由基的 IC_{50} 值分别为:1 079.01、301.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图 4)。

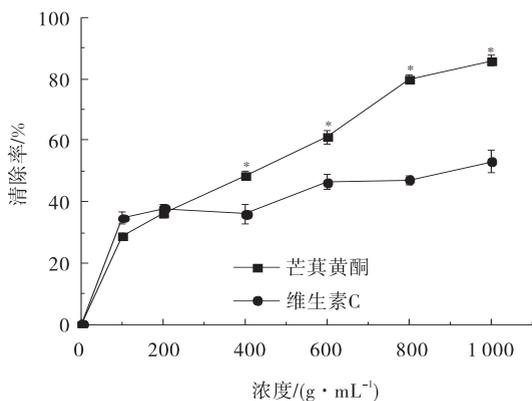


图 4 芒萁黄酮与 Vc 对羟基自由基的清除率

Fig. 4 Scavenging rate of dicranopteris pedata flavonoids and Vc on hydroxyl free radicals ($\cdot\text{OH}$)

注: * 表示同一浓度下的值差异显著($P < 0.05$), ** 表示同一浓度下的值差异极显著($P < 0.01$),无标志表示同一浓度下的值差异不显著($P > 0.05$),下图同

2.3.2 芒萁黄酮对 ABTS⁺ 的清除能力 在本试验条件下,芒萁纯化黄酮对 ABTS⁺ 自由基的清除率与浓度几乎呈线性关系。在低浓度时芒萁黄酮对 ABTS⁺ 自由基的清除效果远不如 Vc,但在 $400 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下,芒萁黄酮的清除效果达到 Vc 的 78.01%。如剂量再提高,有可能会进一步缩减两者的差距。芒萁黄酮、Vc 对 ABTS⁺ 自由基的 IC_{50} 值分别为 248.74、40.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图 5)。

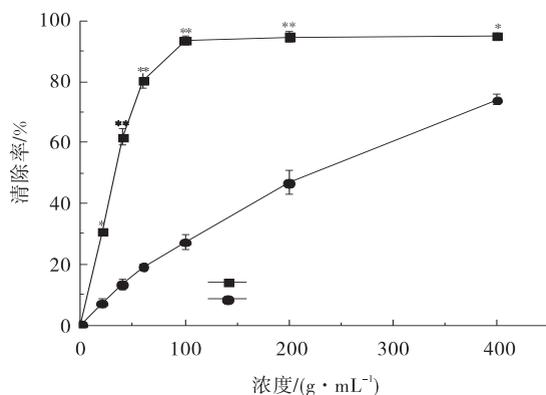


图 5 芒萁黄酮与 Vc 对 ABTS⁺ 自由基清除率

Fig. 5 Scavenging rate of *Dicranopteris pedata* flavonoids and Vc on ABTS⁺

2.3.3 芒萁黄酮对 DPPH 自由基的清除能力 芒萁黄酮对 DPPH 自由基的清除率同样也存在剂量依赖,随浓度增加清除率提高较快,近线性关系。芒萁黄酮、Vc 对 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 50.14、2.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图 6)。

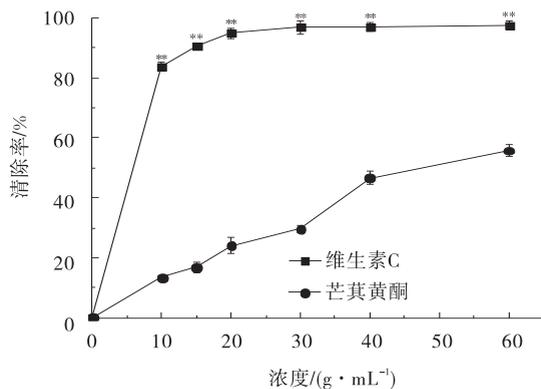


图 6 芒萁黄酮与 Vc 对 DPPH 自由基清除率

Fig. 6 Scavenging rate of *Dicranopteris pedata* total flavonoids and Vc on DPPH free radicals

3 讨论

目前,黄酮类化合物已在食品、化工、保健食品等多个行业广泛应用,是多种医药、护肤品、食品添加剂

的重要成分^[11]。芒萁作为药用草分布广泛,根据丁利君等^[7]的研究,其全株黄酮含量达到13.56%,是开发和利用黄酮的优质原料^[8]。陈少美等^[20]发现,不同采集部位对芒萁黄酮成分与含量的影响较大,其中以主根中含量最高(28.06%),依次是老叶(22.05%)、嫩叶(15.32%)、老茎(9.64%)、嫩茎(5.94%)。本研究以芒萁茎叶为原料,运用超声波法辅助法提取芒萁黄酮的提取率为13.42%,与上述研究中的茎、叶黄酮含量平均值接近。同时,运用本方法提得的芒萁黄酮得率,远高于同类方法提取紫花苜蓿(0.64%)、辣木叶(4.89%)的黄酮得率^[17-18],说明芒萁黄酮含量高,较易提取,在生产上具有较好的应用前景。倪再辉等^[19]检测出芒萁中含有芦丁、槲皮苷、阿福豆苷、槲皮素和山柰酚5种黄酮类物质。毛娟玲等^[10]于芒萁纯化后的二氯甲烷部分中鉴定出15个黄酮类化合物,于正丁醇部分中鉴定出19个黄酮类化合物。本研究在芒萁黄酮粗提物和各梯度醇洗物中鉴定阿福豆苷、木犀草素-5-O-葡萄糖苷和异槲皮苷3种黄酮类化合物,其中木犀草素-5-O-葡萄糖苷和异槲皮苷系首次在芒萁中发现。陈少美等^[20]认为芒萁不同部位、不同采集时间对黄酮成分与含量影响较大,或为产生差异的原因之一。同时,提取途径和纯化方法的差异也是影响黄酮类物质鉴定的重要因素。

植物源黄酮具有很强的抗衰老和抗氧化能力,在增益机体免疫调节功能、促进人类和家畜健康以及预防慢性病等方面发挥重要作用^[21-24]。因其具有抑制并清除活性氧的特性,可用于抵御氧化损伤。其机理是从黄酮类物质骨架上的羟基取代基电离出氢原子,来中和氧自由基,再与已电离的黄酮类物质结合,生成防止逆向结合的双体^[25-26]。丁利君等^[7]的研究中发现芒萁的水提液对羟自由基有很好的清除效果,而其乙醇提取液却不能清除羟自由基。但本研究中纯化后的芒萁黄酮能够很好地清除羟自由基,这与曾伟^[27]的研究结果相一致,这可能是纯化后黄酮成分与含量不同所致。芒萁纯化黄酮在对3种不同自由基的抑制效果上表现出较大差异,推测与其所含成分的协同作用、单体结构有关,芒萁成分与抗氧化活性的构效关系还有待更深层次的探讨。

4 结论

本研究通过超声波辅助醇提法对芒萁茎叶黄酮的

提取率为13.42%,纯化所得50%醇洗物部分的总黄酮含量最高,达76.25%,主要含有阿福豆苷(2.155%)、木犀草素-5-O-葡萄糖(1.462%)、异槲皮苷(0.856%)3种黄酮类物质。芒萁黄酮清除·OH、DPPH、ABTS⁺自由基的IC₅₀值分别为:1 079.01、248.74、50.14 μg/mL。表明芒萁黄酮含量高,抗氧化活性优良。

参考文献:

- [1] 秦仁昌. 中国植物志(第2卷)[M]. 北京:科学出版社, 1959.
- [2] 金迪,张明如,王佳佳,等. 遮阴和氮素梯度处理对芒萁光合生理的影响[J]. 森林与环境学报, 2020, 40(4): 412-419.
- [3] 王敬哲,陈志强,陈志彪,等. 南方红壤侵蚀区不同植被恢复年限下芒萁叶功能性状对土壤因子的响应[J]. 生态学报, 2020, 40(3): 900-909.
- [4] 黄桥明,黄俊,吕茂奎,等. 恢复年限、林下植被及季节对马尾松林土壤氮转化的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(8): 2556-2564.
- [5] 邹知明,邓玲姣,钱雪明,等. 广西几种野生植物草粉饲喂家兔的试验[J]. 饲料研究, 2011(8): 28-29.
- [6] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2006: 1681.
- [7] 黄保婷,陈垣,郭凤霞,等. 采收时期膜荚黄芪叶茶生物活性成分的影响[J]. 草原与草坪, 2021, 41(2): 122-128.
- [8] 谭小芳,平欲晖,李浩,等. 超声波法优选芒萁中总黄酮的提取工艺研究[J]. 广州化工, 2015, 43(17): 82-84.
- [9] Jung U J, Kim S R. Beneficial effects of flavonoids against parkinson's disease[J]. Journal of Medicinal Food, 2018, 21(5): 421-432.
- [10] 毛娟玲,平欲晖,双若男,等. UPLC-Q-TOF/MS法分析芒萁化学成分[J]. 中药材, 2019, 42(12): 2830-2837.
- [11] 王雪,乔博,张健鑫,等. 黄酮类化合物的应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(4): 159-163.
- [12] 张咏梅,晏石娟,曹致中,等. 4种豆科牧草总黄酮含量变化的研究[J]. 草原与草坪, 2009, 29(2): 1-5.
- [13] 陈慧. 黄金茶乙醇提取物的成分分析及降血糖作用研究[D]. 南昌:江西农业大学, 2018.
- [14] 王晨曦. 马齿苋黄酮类化合物分离纯化及抗糖尿病活性研究[D]. 南昌:江西科技师范大学, 2015.
- [15] Lucas-Abellán C, Mercader-Ros M T, Zafrilla M P, et al. Comparative study of different methods to measure antioxidant activity of resveratrol in the presence of cyclodextrins[J]. Food & Chemical Toxicology, 2011, 49

- (6):1255—1260.
- [16] 林恋竹,赵谋明. 反应时间对 DPPH 法、ABTS+法评价抗氧化性结果的影响[J]. 食品科学,2010,31(5):63—67.
- [17] 许英一,王宇,杨伟光. 紫花苜蓿叶总黄酮提取及抗氧化性[J]. 草地学报,2018,26(3):757—763.
- [18] 岳秀洁,李超,扶雄. 超声提取辣木叶黄酮优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2016,37(1):226—231.
- [19] 倪再辉,李齐激,杨艳,等. HPLC 法同时测定民族药芒萁中 5 个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2015,35(12):2111—2115.
- [20] 陈少美,宋飞飞,陈艳玉. 不同采集时间芒萁各部位总黄酮含量的动态变化[J]. 植物资源与环境学报,2014,23(4):102—104.
- [21] 杨硕,徐元庆,邢媛媛,等. 植物源黄酮类化合物对动物免疫和抗氧化功能影响的研究进展[J]. 动物营养学报,2019,31(7):2958—2964.
- [22] 师旭彤,郭凤霞,祁娟. 红三叶异黄酮抗氧化功能及其药理作用研究进展[J]. 草原与草坪,2012,32(4):74—79.
- [23] 刘艳丰,王梦竹,王文奇,等. 苜蓿黄酮对绵羊血液抗氧化性能的影响[J]. 饲料工业,2016,37(1):50—52.
- [24] Chen L, Teng H, Xie Z, *et al.* Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: An update on structure-activity relationship [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,2018,58(4):513—527.
- [25] 俞文英,张欢欢,吴月国,等. 黄酮类化合物的构效关系及其在肺部炎症疾病中的应用[J]. 中草药,2018,49(20):4912—4918.
- [26] 赵雪巍,刘培玉,刘丹,等. 黄酮类化合物的构效关系研究进展[J]. 中草药,2015,46(21):3264—3271.
- [27] 曾伟. 芒萁黄酮的纯化分离及抗氧化活性研究[D]. 广州:广东工业大学,2013.

Identification of flavonoid components from *Dicranopteris pedata* and its antioxidant activity in vitro

OUYANG Ke-fan¹, WANG Wen-jun²

(1. College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330031, China;

2. College of Food Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045, China)

Abstract: *Dicranopteris pedata* is a medicinal herb widely distributed in south China, but not widely utilized. The crude flavonoids were extracted using ultrasonic-assisted extraction, separated and purified by polyamide resin column chromatography with gradient elution. After the main components were identified by HPLC, in vitro antioxidant activity was investigated. The results showed that the yield of flavonoids from *Dicranopteris pedata* was 13.42%, and the total flavonoids content of the purified 50% ethanol gradient elution was the highest, reaching 76.25%, mainly containing afzelin (2.155%) and luteolin-5-O-glucoside (1.462%), isoquercitrin (0.856%). The scavenging values IC₅₀ of the flavonoids from *Dicranopteris pedata* on hydroxyl (·OH), DPPH, ABTS+ free radicals were 1 079.01, 248.74 and 50.14 μg/mL respectively. *Dicranopteris pedata* had a high content of flavonoids and excellent antioxidant activity, which is of great development value.

Key words: *Dicranopteris pedata*; flavonoids; HPLC; antioxidant activity