

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.06.032

野地瓜茎正丁醇萃取物中主要抗氧化活性成分的筛选

Screening of main antioxidant components in *n*-butanol extract from the stems of *Ficus tikoua* Bur.

刘永玲^{1,2} 叶思帆³ 杨怡¹

LIU Yong-ling^{1,2} YE Si-fan³ YANG Yi¹

方丽红¹ 赵治兵¹ 谢国芳^{1,2}

FANG Li-hong¹ ZHAO Zhi-bing¹ XIE Guo-fang^{1,2}

(1. 贵阳学院食品与制药工程学院, 贵州 贵阳 550005; 2. 贵州省果品加工工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550005; 3. 湖南大学, 湖南 长沙 410082)

(1. Food and Pharmaceutical Engineering Institute, Guiyang University, Guiyang, Guizhou 550005, China; 2. Guizhou Engineering Research Center for Fruit Processing, Guiyang, Guizhou 550005, China; 3. Hunan University, Changsha, Hunan 410082, China)

摘要: 探清野地瓜茎不同极性萃取物的抗氧化活性, 筛选并鉴定抗氧化活性较高萃取物的主要化学成分。通过系统溶剂法对野地瓜茎提取物进行萃取, 获得石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇相提取物及剩余上层被萃取水相提取物; 采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除能力、2,2'-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS) 自由基清除能力和总还原力 (TRPA) 试验综合评价其不同极性萃取物的抗氧化活性; 结合在线高效液相色谱—质谱—二苯基三硝基苯肼 (HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH) 快速筛选并鉴定活性较高萃取物中的抗氧化活性成分。结果表明: 正丁醇萃取物具有较强的抗氧化活性 ($P < 0.05$), 随着质量浓度的增大呈明显的剂量依赖效应, 正丁醇萃取物对 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除能力的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 (23.28 ± 0.21) , $(76.30 \pm 1.13) \mu\text{g}/\text{mL}$ 。经液相色谱、质谱、文献报道和对照品的综合分析, 从野地瓜茎正丁醇萃取物中筛选的 3 种抗氧化活性化合物为 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎

宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸。

关键词: 野地瓜茎; 抗氧化活性; 活性成分; 高效液相色谱—质谱—二苯基三硝基苯肼

Abstract: To investigate the antioxidant activity of different polar extracts from the stems of *Ficus tikoua* Bur. (FTB), the main chemical components of the highly active polar extracts were screened and identified. Petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, *n*-butanol extract and water extract of the remaining upper layer were obtained by systematic solvent method. The antioxidant activities of different polar extracts were evaluated by the scavenging ability of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) and total reducing ability (TRPA). HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH was used to quickly screen and identify the antioxidant characteristic components of higher polar parts from FTB stems. The results showed that the *n*-butanol extract had strong antioxidant activity ($P < 0.05$). With the concentration increasing, there is a significant dose-dependent effect. The IC_{50} of *n*-butanol extract to DPPH and ABTS were $(23.28 \pm 0.21) \mu\text{g}/\text{mL}$ and $(76.30 \pm 1.13) \mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Three compounds were identified to be 5-*O*-caffeoylquinic acid, 3-*O*-caffeoylquinic acid and 4-*O*-caffeoylquinic acid through comprehensive analysis of HPLC spectra, MS spectra, literature data and reference standards.

Keywords: *Ficus tikoua* Bur.; antioxidant activity; antioxidant components; HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH

基金项目: 贵州省教育厅青年科技人才成长项目 (编号: 黔教合 KY 字 [2017] 244); 2019 年度贵阳市科学技术局—贵阳学院科技专项资金项目 (编号: GYU-KYZ [2019~2020] 平台 PT16-06 号); 贵州省教育厅高等学校拔尖人才计划 (编号: 黔教合 KY 字 [2019] 066 号)

作者简介: 刘永玲, 女, 贵阳学院实验师, 硕士。

通信作者: 谢国芳 (1987—), 男, 贵阳学院教授, 硕士。

E-mail: xieguofang616@sina.com

收稿日期: 2020-03-04

野地瓜又名地果、地枇杷、过山龙、地板藤等,隶属桑科榕属多年生匍匐木质藤本。野地瓜为食药两用资源,广泛分布于中国的四川、贵州、广西、湖南等地,多野生,其果实营养丰富,全株均可入药,外用可治无名肿毒、烫火伤、止血等,煎药内服可治风热咳嗽、痢疾、水肿、黄疸、风湿疼等病症^[1]。现代研究^[2-3]发现,该属植物具有降血糖、抗肿瘤、抗菌、抗炎等作用。野地瓜含有多种化学成分,包括三萜类、甾醇类、香豆素类、酚苷类、脂肪酸类、烷烃类、多糖类和黄酮类物质^[4-5]。虽然已有野地瓜地下根中部分萃取物的抗氧化性报道^[6-7],但未见对野地瓜地上匍匐茎中抗氧化活性及抗氧化活性成分筛选和鉴定的研究报道。

开发具有抗氧化活性的天然产物成为目前食品和药物领域的研究热点,为此寻找各种高效分离和筛选天然产物的方法成为了人们研究的焦点。其中高效液相色谱串联自由基清除活性化合物检测系统(HPLC-DAD-DPPH)在线检测抗氧化活性化合物的方法发展较快^[8-9],即高效液相色谱(HPLC)柱后在线添加稳定的DPPH自由基,提取物经高效液相色谱柱分离后经反应环,洗脱液中的抗氧化剂与DPPH自由基发生给质子作用使其在517 nm处的特征吸收峰消失,在色谱图中形成负吸收峰,实现了粗提取物中抗氧化成分的在线筛选和检测,但对具有抗氧化活性的成分不能快速鉴别。近年来,出现了在线高效液相色谱-质谱-二苯基三硝基苯肼(HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH)技术,即在高效液相色谱串联自由基清除活性化合物检测系统筛选抗氧化成分的基础上,结合质谱在线分析,使天然活性产物一次进样便能从复杂混合物中在线筛选并鉴别具有清除DPPH自由基作用的化合物,弥补了采用单一技术缺乏抗氧化活性成分快速鉴定能力的不足^[10-11]。

为探讨野地瓜茎中抗氧化活性成分,试验拟采用DPPH、ABTS、TRPA 3种体外抗氧化试验筛选野地瓜茎不同极性萃取提取物,结合HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH技术快速筛选并鉴定有抗氧化活性的成分,以期野地瓜中抗氧化物质的研究开发提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

野地瓜茎样品:于2019年2月中旬采自贵州省毕节市赫章县白果镇犀牛塘村高桥组,经贵阳学院杨碧仙教授鉴定为桑科榕属野地瓜(*Ficus tikoua* Bur.)的茎;

C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm):WondaSil,日本岛津公司;

PEEK 盘管(15 m×0.254 mm):日本岛津公司;

三吡啶三吡嗪(TPTZ)、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS):美国Sigma公司;

1,1-二苯基-2-苦基肼基(DPPH):南京奥多福尼生物科技有限公司;

抗坏血酸、三氯乙酸(TCA):分析纯,上海聚源生物科技有限公司;

绿原酸:纯度>97%,中国食品药品检定研究院;

新绿原酸、隐绿原酸:纯度≥98%,美国斯坦福分析化学品公司;

甲醇:色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

试验用水为超纯水:北京嘉远环保科技有限公司;

其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:UV-2550型,日本岛津公司;

高效液相色谱仪:LC-20A型,配二极管阵列(DAD)检测器,日本岛津公司;

高效液相色谱仪:LC-16型,配UV检测器,日本岛津公司;

质谱仪:X500R QTOF型,美国AB SCIEX公司;

研磨机:A11型,德国IKA公司。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 野地瓜茎浸膏及不同萃取物的制备 取干燥的野地瓜茎(用蒸馏水洗净泥土,阴干)粉碎,称取200 g,按液料比20:1(mL/g)投料,于80℃下用75%乙醇回流提取2次,每次2 h,合并提取液后减压浓缩至无醇味得浸膏50 g,加入100 mL蒸馏水使浸膏充分溶解成混悬液,置于分液漏斗中,依次以两倍体积的石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇分级萃取,直至颜色变浅,得到相应萃取组分和上层被萃取水相,将各萃取液用旋转蒸发器减压浓缩后于75℃烘箱下烘干,分别得到石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、水相提取物为1.95, 3.20, 4.06, 12.04, 18.90 g,即得率分别为0.98%, 1.60%, 2.03%, 6.02%, 9.45%,置于4℃冰箱内备用。

1.3.2 野地瓜茎不同极性萃取物抗氧化活性测定 分别精密称定1.3.1条件下的石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇和水相萃取物,以V_C为阳性对照进行抗氧化活性分析。

(1) DPPH自由基清除率:根据文献^[12]。

(2) ABTS自由基清除率:根据文献^[13]。

(3) 总还原力(TRPA):根据文献^[14]。

1.3.3 溶液的配制

(1) DPPH自由基溶液的配制:称取DPPH标准品,精密称定,配制成浓度为25 μg/mL的甲醇溶液,0.45 μm滤膜过滤,现配现用。

(2) 样品溶液的制备:精密称定1.3.1条件下野地瓜茎正丁醇萃取物2.0 mg,用甲醇定容于10 mL容量瓶中,0.45 μm滤膜过滤,备用。

1.3.4 色谱与质谱工作条件 HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-

DPPH 在线筛选野地瓜茎正丁醇萃取物中抗氧化活性成分参数及装置流程参照耿丹丹等^[15]的方法并稍作改动。

(1) HPLC-1(LC-20A 高效液相色谱仪)工作条件: 色谱柱为 WondaSil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(A)—0.2% 冰乙酸溶液(B), 梯度洗脱程序为 0~8 min, 20%~25% A; 8~13 min, 25% A; 13~35 min, 25%~60% A; 35~37 min, 60%~20% A; 37~43 min, 20% A; 流速 1.0 mL/min; DAD 检测器, 检测波长 300 nm; 进样量 10 μL; 柱温 25 °C。样品经 HPLC-1 色谱柱后分流至 HPLC-2 的流速 0.7 mL/min, HPLC-1 色谱柱后分流至质谱的流速 0.3 mL/min。

(2) HPLC-2(LC-16 高效液相色谱仪)工作条件: 反相环为 PEEK 盘管 (15 m×0.254 mm); 流动相为 DPPH 甲醇溶液 (25 μg/mL), 流速 0.45 mL/min, UV 检测器, 检测波长 517 nm。

(3) 质谱工作条件: AB SCIEX X500R QTOF 质谱仪; 电喷雾 ESI, 正离子模式; 离子源温度 550 °C; 离子源电压 5 500 V; MS 扫描范围 50~1 500 Da; MS/MS 扫描范围 50~1 500 Da; MS 诱导碰撞电压 10 V; MS/MS 诱导碰撞电压 35 V。

1.4 数据处理

野地瓜茎不同极性组分体外抗氧化活性测定, 每个处理进行 3 次重复试验。试验数据用 Excel 进行整理, 测定结果用平均值±标准误差来表示。自由基清除率试验的半数抑制浓度 IC₅₀ 值用 SPSS 22.0 的 Probit Regression 计算; 试验数据采用 IBM SPSS 22.0 软件进行单因素差异分析, 以 P<0.05 为具有统计学显著差异; GraphPad Prism 7.0、中药色谱指纹图谱相似度评价系统作图。

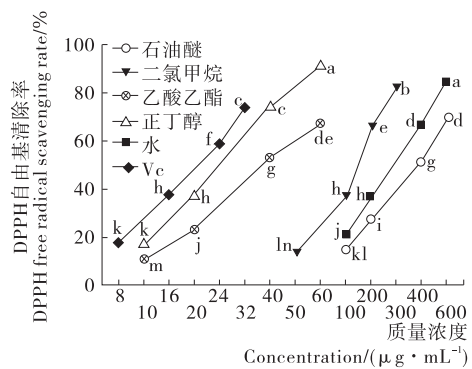
2 结果与分析

2.1 野地瓜茎不同极性萃取物抗氧化活性评价

2.1.1 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除作用 野地瓜茎不同极性萃取物与 V_C 经试验选择合适的浓度后对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除能力分别见图 1、2。由图 1、2 可知, 各极性萃取物均表现出一定的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除活性, 且随着浓度的增加, 清除能力逐渐增强, 表现出剂量相关性。其中正丁醇、乙酸乙酯萃取物和 V_C 在低浓度下就显示出较好的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除效果。图 1 中, V_C 和正丁醇、二氯甲烷、水相萃取物的浓度分别为 16, 20, 100, 200 μg/mL 时清除 DPPH 自由基的能力差异不显著, 说明 V_C 具有较强清除 DPPH 自由基的能力; 根据表 1 得知正丁醇和乙酸乙酯萃取物对 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 (23.28±0.21), (38.50±0.38) μg/mL, 且 V_C 和正丁醇萃取物对 DPPH 自由基的 IC₅₀ 差异不显著, 由此得到野地瓜茎不

同极性萃取物清除 DPPH 自由基能力的顺序为 V_C>正丁醇>乙酸乙酯>二氯甲烷>水>石油醚。图 2 中, 浓度为 100 μg/mL 时, 各极性萃取物对 ABTS 自由基的清除率具有显著性差异 (P<0.05), 即正丁醇萃取物对 ABTS 自由基的清除率分别是 V_C、乙酸乙酯、二氯甲烷、水和石油醚萃取物的 0.78, 1.22, 3.54, 8.52, 16.90 倍, 且根据表 1 中各极性萃取物的 IC₅₀ 值, 得到野地瓜茎不同极性萃取物清除 ABTS 自由基能力的顺序为 V_C>正丁醇>乙酸乙酯>二氯甲烷>水>石油醚。这一结果与杨世波等^[6]报道的野地瓜根中的抗氧化活性成分主要集中在其乙酸乙酯和正丁醇萃取物中的结论相似。

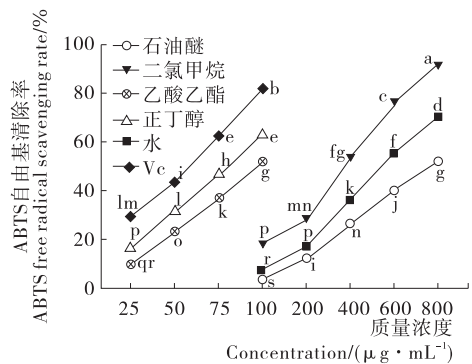
2.1.2 总还原力 抗氧化剂的还原能力与抗氧化活性呈正相关。按照 TRPA 的测定方法, 抗氧化剂的抗氧化活性越高其在 700 nm 处的吸光度值越高^[16]。在测定的质量浓度范围内 (图 3), 野地瓜茎不同极性萃取物与 V_C 均



字母不同表示数据间存在显著性差异 (P<0.05)

图 1 野地瓜茎不同极性萃取物和阳性对照 V_C 对 DPPH 自由基的清除作用

Figure 1 Effect of V_C and different extracts of *Ficus tikoua* Bur. stems on DPPH radical scavenging activity (n=3)



字母不同表示数据间存在显著性差异 (P<0.05)

图 2 野地瓜茎不同极性萃取物和阳性对照 V_C 清除 ABTS 自由基的能力

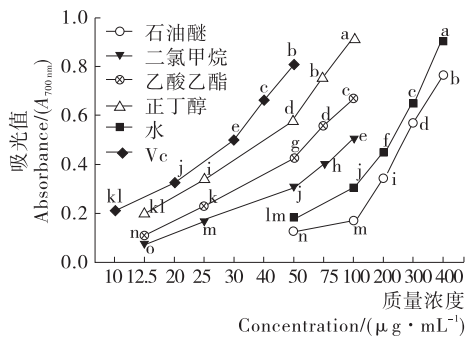
Figure 2 ABTS radical scavenging capacity of V_C and different extracts of *Ficus tikoua* Bur. stems (n=3)

表 1 野地瓜茎不同极性萃取物和阳性对照 V_C 对 ABTS 自由基和 DPPH 自由基的 IC₅₀[†]

Table 1 Half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of V_C and different extracts of *Ficus tikoua* Bur. stems against ABTS radicals and DPPH radicals (n=3)

样品	DPPH	ABTS
石油醚萃取物	364.52±5.30 ^e	763.57±0.97 ^f
二氯甲烷萃取物	136.04±5.07 ^c	306.75±1.91 ^d
乙酸乙酯萃取物	38.50±0.38 ^b	98.47±1.38 ^e
正丁醇萃取物	23.28±0.21 ^a	76.30±1.13 ^b
水萃取物	237.12±4.50 ^d	516.84±2.75 ^e
V _C (阳性对照)	19.48±0.55 ^a	49.29±0.64 ^a

† 同列肩标字母不同表示显著性差异(P<0.05); IC₅₀值越小,表示抗氧化能力越强。



字母不同表示数据间存在显著性差异(P<0.05)

图 3 野地瓜茎不同极性萃取物对还原力的影响

Figure 3 Reducing power of different extracts from *Ficus tikoua* Bur. stems (n=3)

有一定的还原能力,且随质量浓度的增加而增加,其中正丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷萃取物和 V_C 在低浓度下就显示出较好的还原能力,且在相同质量浓度为 50 μg/mL 时各极性萃取物具有显著性差异(P<0.05),正丁醇萃取物的还原能力分别是 V_C、乙酸乙酯、二氯甲烷、水和石油醚萃取物的 0.7,1.4,2.1,4.1,6.6 倍,由此得出各极性萃取物的还原能力大小顺序为 V_C>正丁醇>乙酸乙酯>二氯甲烷>水>石油醚。这一结果与 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除能力表现出一致的抗氧化效果,不同方法活性稍有不同。

试验以 V_C 为对照,采用 DPPH、ABTS 和 TRPA 3 种化学方法,综合分析野地瓜茎 5 种不同极性萃取物的抗氧化活性,筛选出正丁醇萃取物相对于其他极性萃取物具有显著的抗氧化活性(P<0.05),3 种方法对野地瓜茎不同极性萃取物的抗氧化活性测定是可互换的,故对筛选出的正丁醇萃取物进行抗氧化活性成分的筛选和鉴定。

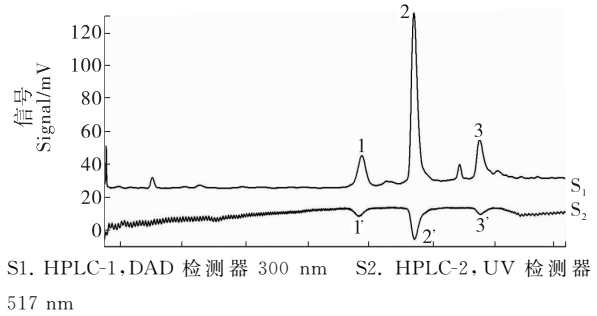


图 4 野地瓜茎正丁醇萃取物 HPLC 图谱及清除 DPPH 自由基图谱

Figure 4 Chromatograms of *n*-butanol extract from *Ficus tikoua* Bur. stems and their on-line screening of DPPH radical scavenging

2.2 野地瓜茎正丁醇萃取物抗氧化成分的在线筛选

分析所测化合物是否具有抗氧化活性是以与 DPPH 自由基溶液反应,在 517 nm 下的特征峰消失而形成负峰色谱图为依据的^[17]。试验对 HPLC-1 分析的检测波长进行选择,考察了正丁醇萃取物在常用的 230,254,280,300,360 nm 下的吸收情况。结果发现,正丁醇萃取物在各个波长下的色谱峰基本一致,但具有抗氧化活性化合物形成的负峰在 300 nm 处吸收更强。因此,选择 HPLC-1 的检测波长为 300 nm。如图 4 所示,S2 中的 1、2、3 号峰为正丁醇部位信号最强的抗氧化活性成分。

2.3 野地瓜茎正丁醇萃取物抗氧化成分的 ESI-MS 鉴别

由图 5 可知,化合物 1~3 的准分子离子峰[M+H]⁺ m/z 分别为 355.102 1,355.102 2,355.101 8,在 MS/MS 中分别出现了 m/z 163.038 5,163.038 3,163.038 6 的咖啡酰基特征碎片离子峰,推断其分子式为 C₁₆H₁₈O₉,由于具有相同的碎片离子,推测化合物 1~3 为绿原酸的同分异构体^[18]。依据文献^[19—20]报道,单咖啡酰奎尼酸和二咖啡酰奎尼酸所组成的绿原酸异构体共有 10 种,其中单咖啡酰基奎尼酸有 4 种,分别为 1-O-咖啡酰奎尼酸、3-O-咖啡酰奎尼酸、4-O-咖啡酰奎尼酸和 5-O-咖啡酰奎尼酸,但到目前为止,仅有 3-O-咖啡酰奎尼酸、4-O-咖啡酰奎尼酸和 5-O-咖啡酰奎尼酸在植物中发现。赵玉荣等^[21]、Nobuji 等^[22]报道植物中多同时存在 3-O-咖啡酰奎尼酸的异构体,其中包含 3-O-咖啡酰奎尼酸、4-O-咖啡酰奎尼酸及 5-O-咖啡酰奎尼酸;3-O-咖啡酰奎尼酸异构体在 C₁₈ 柱的洗脱顺序为 5-O-咖啡酰奎尼酸、3-O-咖啡酰奎尼酸和 4-O-咖啡酰奎尼酸。根据文献^[18,21—25]和 3 种单咖啡酰奎尼酸的出峰时间鉴定化合物 1~3 分别为 5-O-咖啡酰奎尼酸(新绿原酸)、3-O-咖啡酰奎尼酸(绿原酸)和 4-O-咖啡酰奎尼酸(隐绿原酸)。为了进一步验证试验的推测,通过在液相与对照品比对保留时间进一步

得到确认。

综上,根据[M+H]⁺的相对分子质量以及二级谱图,结合 DAD 光谱图、对照品及相关参考文献^[23-25],鉴

定化合物 1~3 为 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸。野地瓜茎正丁醇萃取物抗氧化活性成分的鉴定结果见表 2。

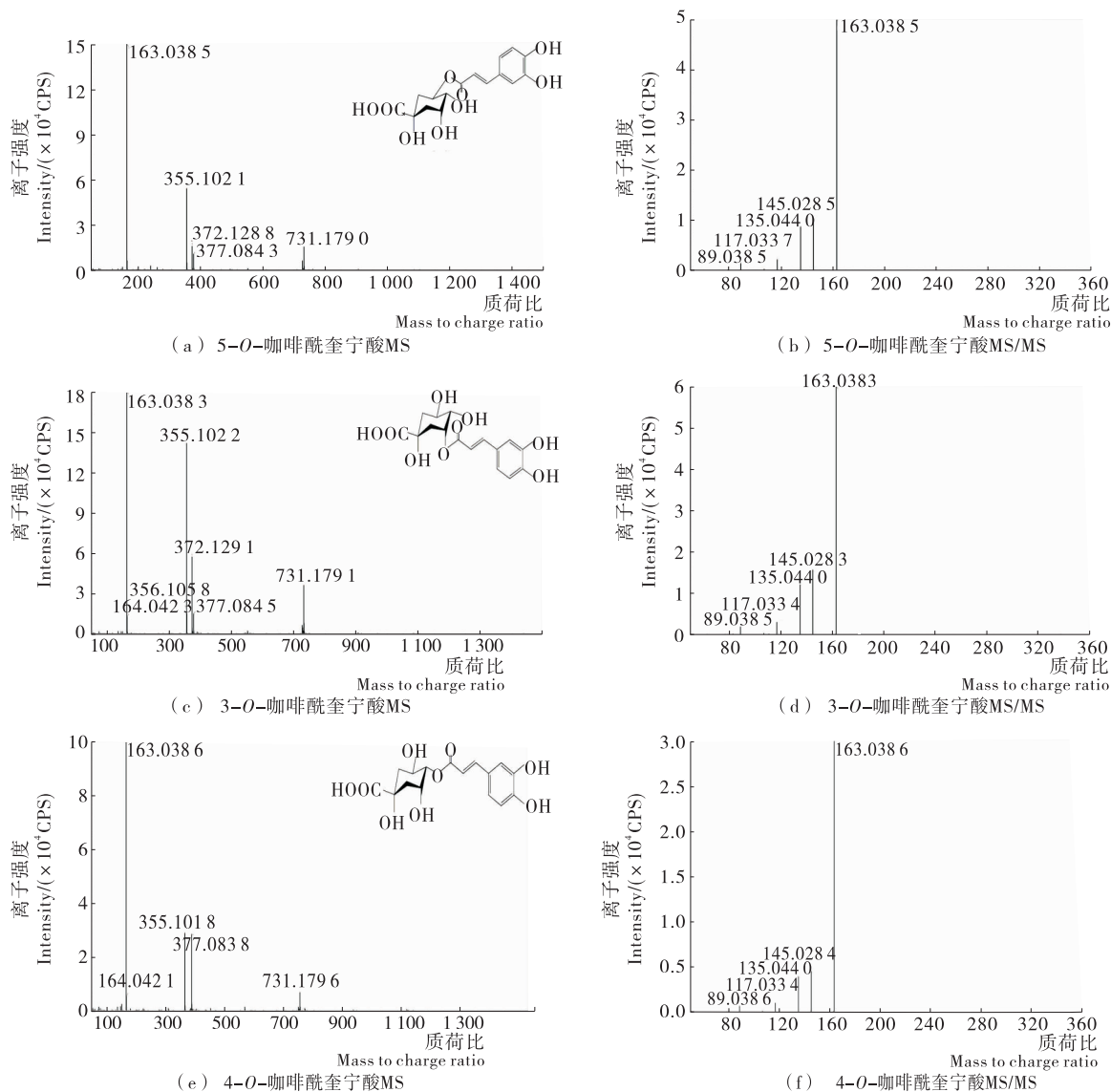


图 5 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸的 HPLC/ESI-MS 正离子模式质谱图

Figure 5 Mass spectrometric signals of 5-*O*-caffeoylquinic acid, 3-*O*-caffeoylquinic acid and 4-*O*-caffeoylquinic acid using HPLC/ESI-MS with positive ion mode

表 2 野地瓜茎正丁醇萃取物中抗氧化活性成分分析

Table 2 Analysis of antioxidative components in *n*-butanol extract from *Ficus tikoua* Bur. stems

峰号	保留时间/min	化合物	准分子离子峰 (<i>m/z</i>)	特征碎片 MS/MS	偏差	文献
1	6.609	5- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸	355.102 1[M+H] ⁺	163.038 5,145.028 5,135.044 0,117.033 7,89.038 5	-0.7	[21-25]
2	10.634	3- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸	355.102 2[M+H] ⁺	163.038 3,145.028 3,135.044 0,117.033 4,89.038 5	-0.4	[18,21-25]
3	12.013	4- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸	355.101 8[M+H] ⁺	163.038 6,145.028 4,135.044 0,117.033 4,89.038 6	-1.6	[21-25]

3 结论

(1) 采用乙醇回流法提取了野地瓜茎中的活性成分,以石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇从野地瓜茎水相混悬液萃取得到不同极性萃取物,综合3种体外抗氧化试验(DPPH、ABTS和TRPA)的结果得到野地瓜茎正丁醇萃取物具有显著的抗氧化活性($P < 0.05$)。

(2) 采用体外抗氧化性试验所筛选到的正丁醇部分经在线HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH技术筛选并鉴定出5-O-咖啡酰奎宁酸、3-O-咖啡酰奎宁酸和4-O-咖啡酰奎宁酸3种化合物,具有显著抗氧化能力。由于这类化合物的结构中存在酯键、不饱和双键和多元酚,在提取过程中,往往会通过水解和分子内酯基迁移而发生异构化,如3-O-咖啡酰奎宁酸酯键断裂产生奎尼酸峰(m/z 191)和咖啡酰基峰(m/z 163),咖啡酰基在奎尼酸上的不同取代形成了不同的衍生物,因此课题组后期对这3种活性抗氧化化合物进行分离时应注意提取工艺的优化。

(3) 在线高效液相色谱—质谱—二苯基三硝基苯肼(HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH)技术的出现对天然抗氧化活性成分的快速筛选和解析提供了新的途径,与体外抗氧化试验表现出互补优势。后期研究中,将对野地瓜茎正丁醇部分3种抗氧化活性化合物进行进一步分离、纯化以及鉴定。

参考文献

- [1] WEI Shao-peng, WU Wen-jun, JI Zhi-qin. New antifungal pyranoisoflavone from *Ficus tikoua* Bur. [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(6): 7 375-7 382.
- [2] FU Guang-miao, LI Wen-juan, HUANG Xiang-zhong, et al. Antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activities of isoflavonoids from the rhizomes of *Ficus tikoua* Bur [J]. Natural Product Research, 2018, 32(4): 399-405.
- [3] JEAN H D, CHRISTOPHE C F S, BATHELEMY N, et al. Antihepatotoxic and antioxidant activities of methanol extract and isolated compounds from *Ficus chlamydocarpa* [J]. Natural Product Communications, 2010, 5(10): 1 607-1 612.
- [4] 田民义, 彭礼军, 俸婷婷, 等. 地枇杷石油醚层化学成分研究[J]. 山地农业生物学报, 2014, 33(2): 89-91.
- [5] 杨秀群, 石登红, 余磊. 不同储存保鲜的野地瓜果实中糖分的HPLC法测定[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(23): 142-145.
- [6] 杨世波, 王伟, 张润芝, 等. 地板藤根的抗氧化和抑菌活性研究[J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2013, 22(4): 235-238.
- [7] 成英, 刘素君, 宋九华. 地瓜藤提取物的活性成分研究[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(1): 112-114.
- [8] 张强, 张京芳, 苏印泉. HPLC在线检测果汁抗氧化成分[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 165-170.
- [9] KOLEVA I I, NIEDERLANDER H A G, BEEK T A V. An on-line HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures [J]. Analytical Chemistry, 2000, 72(10): 2 323-2 328.
- [10] TAN Liang, GENG Dan-dan, HU Feng-zu, et al. Rapid identification and quantification of natural antioxidants in the seeds of Rhubarb from different habitats in China using accelerated solvent extraction and HPLC-DAD-ESI-MSⁿ-DPPH assay [J]. Journal of Chromatographic Science, 2015, 54(1): 48-57.
- [11] 游金坤, 严明, 庄阳秋, 等. HPLC-DAD-MS-DPPH在线筛选与定性黑脉羊肚菌抗氧化活性成分[J]. 中国食用菌, 2019, 38(9): 52-58.
- [12] 张静, 任小利, 李希希, 等. HPLC测定罗布麻茶黄酮主要组成成分及其体外抗氧化特性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 89-93.
- [13] 张海丰, 臧皓, 沈鹏, 等. 草苈蓉正丁醇萃取物的抗氧化活性及物质基础初步研究[J]. 中草药, 2018, 49(2): 382-388.
- [14] 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.
- [15] 耿丹丹, 董琦, 谭亮, 等. HPLC-DAD-ESI/MSⁿ-DPPH在线筛选与鉴别丹参和康定鼠尾草中抗氧化活性成分[J]. 分析测试学报, 2015, 34(3): 314-320.
- [16] 蔡俊, 陈季旺, 王茹, 等. 多肽体外抗氧化活性测定方法的比较[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 52-57.
- [17] 邢航, 张媛婷, 鲁雪峰, 等. 高效液相色谱—二苯基三硝基苯肼在线检测葡萄酒中抗氧化活性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 127-131.
- [18] 曹振民. HPLC-MS/MS法测定桑菊感冒丸中5种成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(1): 44-51.
- [19] 高梦笛, 王凤忠, 吕海洋, 等. 基于UHPLC-MS/MS法测定青海产黑枸杞中六种绿原酸单体含量[J]. 现代食品科技, 2017, 33(5): 265-269, 264.
- [20] 罗奇志, 王有志, 罗佳波. 绿原酸水解产物的高效液相色谱—电喷雾串联质谱分析[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1 345-1 349.
- [21] 赵玉荣, 陆姗姗, 朱张新, 等. 平卧菊三七提取物抗氧化活性研究与抗氧化特征成分的HPLC-MS/MS分析[J]. 中国现代中药, 2019, 21(3): 353-356.
- [22] NOBUJI N, KAYANO S I, HIROE K, et al. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in Prune (*Prunus domestica* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5 512-5 516.
- [23] CLIFFORD M N, JOHONSTON K L, KNIGHT S S, et al. Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(10): 2 900-2 911.
- [24] XU Jian-guo, HU Qing-ping, LIU Yu. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(46): 11 625-11 630.
- [25] 王翌臣, 王焕军, 张玲, 等. 大狼把草的化学成分液质联用快速鉴定分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 80-87.