

芹菜素的制备、鉴定与纯化的研究

刘本国¹, 杨继国², 邱晓斌², 张瑞婷¹, 宁正祥²

(1. 河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 芹菜素具有抗肿瘤、降血压等多种生理活性功能, 在功能性食品和医药领域极具应用前景, 但由于传统的芹菜素生产是以洋苜蓿和旱芹为原料, 其芹菜素的含量很低, 这就导致芹菜素的生产得率低, 生产成本高, 限制了其广泛应用。亮叶杨桐是我国特有的植物, 其叶富含以芹菜素为苷元的类黄酮物质, 本文研究了以亮叶杨桐叶为原料制备芹菜素的方法。通过向亮叶杨桐叶的水提液中加入一定量的硫酸, 加热酸解, 可获得大量沉淀物, 其主要的成分经紫外、红外、电喷雾质谱及核磁分析, 鉴定为芹菜素, 液相色谱表明该粗品中芹菜素含量为 64.80%。通过测定该粗品中芹菜素在不同温度, 不同浓度的乙醇中溶解能力的分析, 本研究确定采用恒温浓度梯度法精制芹菜素, 获得的芹菜素纯度为 92.44%。

关键词: 芹菜素; 亮叶杨桐; 鉴定; 制备

文章编号: 1673-9078(2013)12-2947-2952

Preparation, Identification and Purification of Apigenin

LIU Ben-guo¹, YANG Ji-guo², QIU Xiao-bin², ZHANG Rui-ting¹, NING Zheng-xiang²

(1. School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

(2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Apigenin possesses many bioactivities such as antitumor and antihypertension, which can be widely used in functional food and medicine. Apigenin was used to be prepared from *Matricaria recutita* and *Apium graveolens*. Their low contents of apigenin led the low yield and high cost of apigenin, which limited the extensive application of apigenin. *Adinandra nitida* is a special plant in China, whose leaves is rich in flavonoids with apigenin as aglycone. The preparation of apigenin from *Adinandra nitida* leaves was studied. The water extract of *Adinandra nitida* leaves was heated and hydrolyzed with sulfuric acid. The main component of the obtained precipitate was identified as apigenin by UV, IR, ESI-MS and NMR. And the content of apigenin in the precipitate was determined as 64.80% by HPLC. The solubility of apigenin in the ethanol with different temperatures and concentrations was measured, and the constant temperature-concentration gradient technology was developed to purify apigenin. The purity of apigenin reached 92.44%.

Key words: apigenin; *Adinandra nitida*; identification; preparation

亮叶杨桐 (*Adinandra nitida*) 为茶科 (*Theaceae*) 杨桐属 (*Adinandra*) 植物, 主要分布于我国广西、广东、贵州等地区, 资源丰富^[1]。亮叶杨桐生长在日照时间短、云雾和湿度较大、气候凉爽的悬崖陡壁间, 其叶质柔软, 持嫩性较强, 我国华南地区民间广泛饮用的代茶-石崖茶 (石芽茶) 就是以亮叶杨桐的嫩叶为原料制成的^[2]。石崖茶具有饮后回甜的特殊风味, 不仅清爽止渴, 排腻解闷, 还具有消炎、解毒、降压、退热和止血等功效, 民间常用它来防治各种炎症、无名肿痛及外伤等疾病, 不仅能收到满意的疗效且无副

收稿日期: 2013-08-11

基金项目: 国家自然科学基金 (31101232、21166024); 河南省高校科技创新团队支持计划 (13IRTSTHN006); 河南省教育厅高校青年骨干教师资助计划项目 (2012GGJS-139)

作者简介: 刘本国 (1978-), 男, 博士, 副教授, 主要从食品化学研究

通讯作者: 杨继国 (1977-), 男, 博士, 副研究员, 主要从食品化学研究

作用^[3-6]。研究表明^[3]亮叶杨桐叶富含以芹菜素为苷元的类黄酮物质。芹菜素又名芹黄素、洋芹素, 是一种重要的类黄酮。近几年的研究表明, 芹菜素具有多种生理活性功能: ①抗癌, 对癌症的起始、促进、发展三个主要阶段均有显著抑制作用, 对乳腺癌、结肠癌、黑色素瘤有很好的治疗效果^[7-8]; ②解痉、降血压、舒张血管^[9-10]; ③通过抑制巨噬细胞 NO 合酶的高表达实现抗炎作用^[11]; ④通过增强 GABA 能神经传递发挥镇静、抗焦虑作用^[12]; ⑤对多种革兰氏阴性菌具有抑制作用^[13-14]。由于芹菜素具有上述生物活性, 故而在功能性食品和医药领域具有很广泛的应用前景, 但由于传统的芹菜素生产是以洋苜蓿和旱芹为原料, 其芹菜素含量很低, 这就导致芹菜素的生产得率低, 生产成本高。而亮叶杨桐在华南地区广泛存在, 因此开发以亮叶杨桐叶为原料制备芹菜素的新型工艺, 制备高纯度芹菜素具有现实意义, 这样不仅可以解决有效部

位生物产量低、有效成分含量少,尤其是有效成分单体含量低等芹菜素制备和应用过程中的瓶颈问题,而且可以实现亮叶杨桐资源的深度开发,这对于开发具有独立知识产权的我国特色植物资源、发展新型的功能性食品具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 原料

亮叶杨桐叶,购自广西省来宾市金秀县。

1.1.2 试剂

芹菜素标准品,陕西慧科植物开发有限公司;色谱纯甲醇,美国 DIKMA 公司;甲醇,天津百世化工有限公司;乙醇,天津百世化工有限公司;无水氯化铝,上海兴塔美兴化工厂;甲醇钠,天津科密欧化学试剂开发中心;盐酸,广州化学试剂厂;乙酸钠,广州化学试剂厂;硫酸,广州化学试剂厂。

1.1.3 仪器

TU-1810PC 紫外可见光光度计,北京普析通用仪器公司; TENSOR 27 红外光谱仪,德国 Bruker 公司; HCTplus 电喷雾质谱仪,德国 Bruker 公司; DRX400,核磁共振波谱仪,德国 Bruker 公司; 1525 高效液相色谱,美国 Waters 公司; arium[®]611 超纯水系统,德国 Sartorius 公司; Alpha-4 真空冷冻干燥机,德国 CHRIST 公司; FA2004 电子分析天平,上海天平仪器厂; FA2003 电子分析天平,上海精科公司; RE-52 旋转蒸发器,上海雅荣生化仪器公司; SHZ-D(II) 循环水式真空泵,巩义市英峪予华仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 亮叶杨桐叶水提液酸解产物的制备

150 g 亮叶杨桐叶,加水 1500 mL,在电炉上加热提取 1 h,过滤,残渣再加入 1500 mL 水,加热提取 1 h,过滤合并二次获得的提取液,待其冷却后,按照每 100 mL 提取液加入 2 mL 浓硫酸的比例加入适量的浓硫酸,反应液在电炉上加热 10 min,趁热抽滤,所得沉淀干燥后,用乙醇重结晶 3 次,所得产物供波谱结构分析。

1.2.2 酸解产物主要成分的结构鉴定

样品的紫外-可见光吸收光谱采用 TU-1810PC 紫外可见光光度计测定,图谱扫描范围为 220~500 nm。样品的红外光谱采用溴化钾压片法,用 TENSOR 27 红外光谱仪测定。样品的质谱采用 HCTplus 型电喷雾质谱仪测定,流动注射泵的速度为 0.1 mL/h,扫描

方式为负离子模式,扫描范围为 100~1000 m/z。产物的 ¹H 和 ¹³C 核磁谱采用 DRX-400 核磁共振波谱仪测定,样品用 DMSO-d₆ 溶解。

1.2.3 酸解工艺条件的研究

200 g 亮叶杨桐叶,加水 4500 mL,在电炉上加热提取 1.5 h,过滤,残渣同法再加热提取二次,过滤,合并三次获得的提取液,供酸解工艺研究用。通过观察向所得的 200 mL 水提液中加入不同量的硫酸,在 500 W 电炉上加热酸解不同时间后趁热抽滤,烘箱干燥,测定产品得率,确定适宜的酸解工艺条件。

1.2.4 芹菜素含量的测定

芹菜素含量的测定采用液相色谱法。准确称取 52.6 mg 的芹菜素对照品溶解于适量甲醇中,并准确定容于 100 mL 作为母液,然后分别取 0.25、0.5、1、2、3、5 mL 于 6 个 10 mL 的容量瓶中,并用甲醇定容,作为不同浓度的标准液,取上述标准液过 0.45 μm 的滤膜后,用色谱进行测定,色谱柱为 Diamonsil[®] C18 柱 (4.6×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇与水的混合 (7:3, V/V),流速 1.0 mL/min,检测波长为 268 nm,进样量为 10 μL。以色谱峰面积为纵坐标,芹菜素对照品浓度为横坐标,得线性回归方程 $Y=33783X-43787$, $R^2=0.9991$,可知芹菜素在 0.013~0.26 mg/mL 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系。

1.2.5 粗品中芹菜素在不同浓度、不同温度乙醇中溶解能力的测定

取芹菜素粗品 10 g 左右,分别加入浓度为 40、60、80、100% 的 100 mL 乙醇溶液中,在温度为 35 °C、75 °C 水浴中保持 10 h,然后分别吸取 1 mL 上述溶液,甲醇定容于 100 mL 容量瓶中,供 HPLC 分析,测定粗品中芹菜素在相应浓度和温度的乙醇中的溶解能力。

1.2.6 粗品中芹菜素在 75 °C 乙醇中溶解能力随时间变化的测定

取 2 g 左右的芹菜素粗品加入 100 mL 无水乙醇,在 75 °C 水浴中加热,冷凝回流,每隔 1 h,取 2 mL 溶液,用甲醇定容于 100 mL 容量瓶中,供 HPLC 分析,测定粗品中芹菜素在 75 °C 乙醇中的溶解能力随时间的变化。

1.2.7 恒温浓度梯度法精制芹菜素的研究

取 3 g 左右的芹菜素粗品加入 200 mL 无水乙醇,在 75 °C 水浴中加热,冷凝回流 6 h,抽滤,滤液于 75 °C 水浴中加热,冷凝回流,同时蠕动泵以 4 mL/min 的速度分别滴加 100、200、300、400、500、600 mL 的水,加水完毕后保持 1 h,抽滤,收集析出物,烘箱

干燥后, 称重, 计算得率, 用 HPLC 法测定析出物纯度。

2 结果与讨论

2.1 酸解产物主要成分的鉴定

类黄酮的紫外-可见光吸收光谱具有两个吸收带, 带 I 304~350 nm (由 B 环桂皮酰基系统的电子跃迁引起的吸收), 带 II 240~285 nm (由 A 环苯甲酰基系统电子跃迁引起的吸收)^[15], 本实验获得的酸解产物的紫外最大吸收波长为 268 nm、334 nm, 可推断出该酸解产物可能为黄酮类物质。在酸解产物的红外光谱图, 可发现有黄酮类化合物所具备的基团: 酚羟基 (3434 cm^{-1})、羰基 (1661 cm^{-1})、苯环 (1444、1482、1530、1606 cm^{-1}) 等。酸解产物的电喷雾质谱表明其主要成分的分子量为 269.6 左右, 推测其可能为芹菜素。图 1 和图 2 分别是酸解产物的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱, 综合前面的波谱分析及参考文献^[15], 该黄酮被鉴定为芹菜素 (图 3), 核磁谱图解析如下: ① $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ , 12.970 (1H, s, 5-OH), 10.584 (2H, s, 4' 和 7-OH), 7.918 (2H, d, $J=8.8$ Hz, 2' 和 6'-H), 6.923 (2H, d, $J=8.8$ Hz, 3' 和 5'-H), 6.773 (1H, s, 3-H), 6.477 (1H, br, 8-H), 6.193 (1H, br, 6-H)。② $^{13}\text{C-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ , 182.189 (C-4), 164.576 (C-7), 164.166 (C-2), 161.902 (C-5), 161.610 (C-4'), 157.748 (C-9), 128.906 (C-2' and C-6'), 121.622 (C-1'), 116.395 (C-3' and C-5'), 104.147 (C-10), 103.278 (C-3), 99.278 (C-6), 94.404 (C-8)。

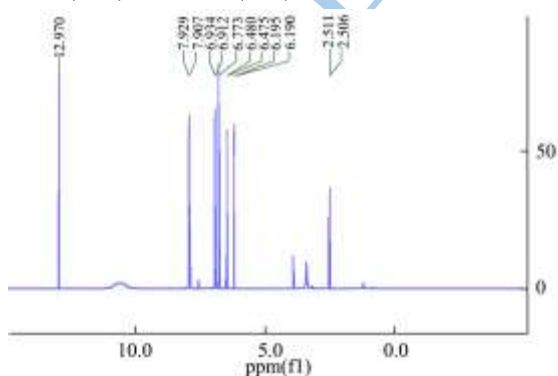


图 1 酸解产物的 ^1H 核磁谱图

Fig.1 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of the acid hydrolysate

波谱分析的结果证明: 本研究采用的硫酸水解法可以从亮叶杨桐叶的水提液中得到芹菜素。传统的水解 O-糖苷类黄酮制备苷元的方法是: 将待水解的类黄酮物质溶解于一定量的 2 mol/L $\text{HCl}:\text{MeOH}$ (1:1) 溶剂中, 在圆底烧瓶内蒸汽浴加热 60 min, 在旋转蒸发器

中蒸干后, 收集酸解产物^[16]。该方法比较复杂, 不适用于工业化生产, 主要用于实验室的结构分析之用。而本研究中采用的硫酸水解法, 方法简单, 成本低, 且充分利用芹菜素在热水中溶解度低的特性, 酸解结束后迅速趁热过滤, 可最大程度的将杂质保留在热溶液中, 一步获得较纯的芹菜素产品。本法具有很强的工业化前景, 因此有必要在优化酸解工艺条件, 并研究芹菜素的实用纯化方法。

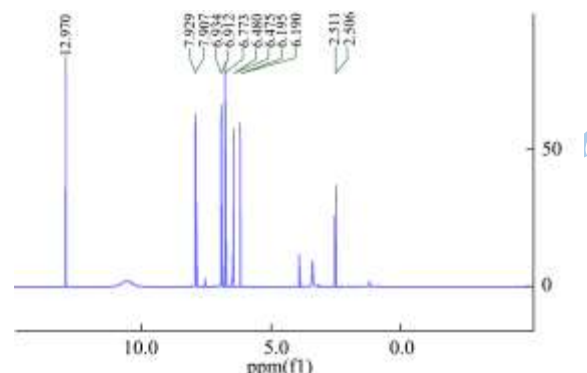


图 2 酸解产物的 ^{13}C 核磁谱图

Fig.2 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of the acid hydrolysate

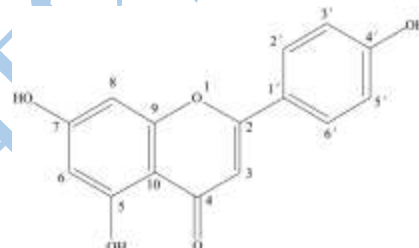


图 3 芹菜素的结构

Fig.3 Chemical structure of apigenin

2.2 酸解工艺条件的优化

按 1.2.3 方法制得亮叶杨桐叶水提取液约 8700 mL, 总类黄酮含量为 5.9 mg/mL, 总类黄酮提取率约为 80.6%。该溶液供研究制备芹菜素的酸解工艺条件。图 4 为向 200 mL 水提液液中分别加入 0.25、0.5、1、2、3、4 mL 硫酸, 在 500 W 电炉上加热 10 min 后趁热抽滤, 所得芹菜素粗品的得率的测定结果。由图可知, 随着随着硫酸加入量的增加, 酸解产物的得率不断上升, 但当硫酸加入量超过 0.5 mL 时, 上升趋势平缓, 因此从节约硫酸用量, 降低污染的角度考虑, 将加酸量定为 0.5 mL/200 mL 水提液。图 5 为向 200 mL 水提液中加入 0.5 mL 硫酸, 在 500 W 电炉上分别加热 5、10、15、20、25 min 后趁热抽滤, 所得芹菜素粗品的得率测定结果。由图可知, 随着水解时间的增加, 酸解产物的得率不断上升, 但当水解时间超过 15 min 时, 上升趋势平缓, 因此将水解时间定为 15 min。

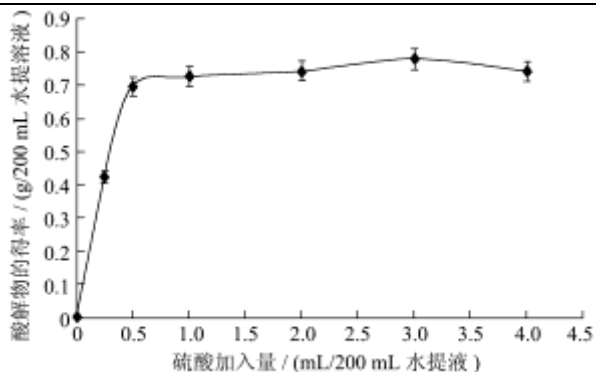


图4 硫酸用量对酸解产物得率的影响

Fig.4 Effect of addition of sulfuric acid on yield of the acid hydrolysate

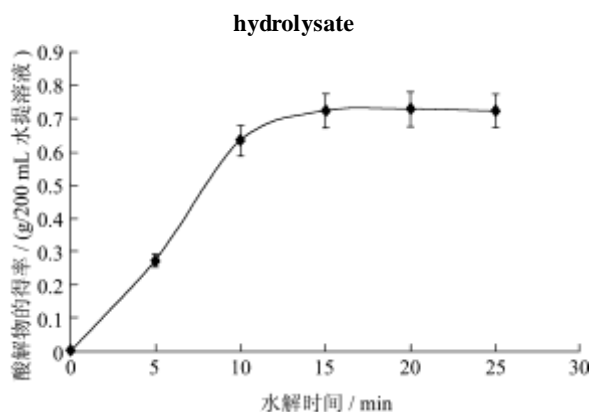


图5 水解时间对酸解物的得率的影响

Fig.5 Effect of hydrolysis time on yield of the acid hydrolysate

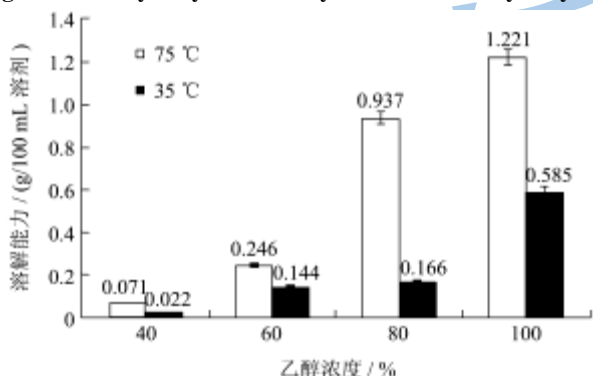


图6 粗品中芹菜素在不同浓度、不温度的乙醇中的溶解度

Fig.6 Solubility of apigenin in different concentration ethanol solutions at different temperatures

用酸处理的方法将糖基从 O-糖苷类黄酮化合物上分离下来所需要的时间不仅仅取决于酸的强度,同时也取决于糖的性质、类型和位置。根据参考文献^[6]的报道,采用以 HCl 和甲醇为溶剂的加热酸解法时,黄酮醇的 3-O-葡萄糖苷和 7-O-葡萄糖苷完全水解需 2~6 min, 7-和 4'-O-葡萄糖黄酮(或黄酮醇)苷及 3-O-葡萄糖黄酮醇苷水解就需要 60~250 min。类黄酮化合物的 C-糖苷则不能水解。潘尾婕等^[7]报道过水解葛根黄酮制备葛根素和大豆苷元的工艺,其水解条件为:用 5%的盐酸水解葛根黄酮提取物 4 h。而张英等^[8]

报道的水解竹叶黄酮糖苷的条件为:在甲醇体系中,底物浓度 1 mg/mL,盐酸浓度 1 mol/L,水解时间 55 min。而本研究所确立的硫酸水解法在加酸量,溶剂成本,水解时间上均远低于上述方法,且底物浓度高,酸解效率高,操作简单,前期的类黄酮糖苷水提法成本低,本方法极具工业化前景。本方法是否适于用于其它植物中类黄酮糖苷的水解还有待研究。

2.3 粗品中芹菜素在不同温度、不同浓度乙醇中溶解能力的分析

根据芹菜素的溶解性以及工艺实用性的考虑,本研究选择了以乙醇为溶剂来精制芹菜素。为了合理的选择精制方法及乙醇溶剂体系,本研究首先对粗品中芹菜素在不同温度、不同浓度乙醇中的溶解能力进行了分析,如图 6,可发现:①乙醇浓度对粗品中芹菜素的溶解能力影响非常大,75 °C时,粗品中芹菜素在 100%和 40%乙醇中的溶解度分别为 1.221 和 0.071 g/100 mL 溶剂。②较之乙醇浓度,温度对芹菜素的影响较小,粗品中芹菜素在 35 °C和 75 °C的 100%乙醇中的溶解度分别为 1.221 和 0.585 g/100 mL 溶剂。从上述分析结果可看出如果采用传统的温度梯度法来精制芹菜素,当溶液中芹菜素的析出和溶解达到平衡时,几乎还有一半的芹菜素还保留在溶液中,导致芹菜素的收率太低。但采用传统的浓度梯度法时,随着乙醇浓度的下降,溶液温度的也不断降低,杂质的析出也增大,导致芹菜素收率虽高但纯度不高。因此有必要对传统的浓度梯度法进行改进。通过对图 6 的分析,可发现较之粗品中芹菜素在 75 °C的 100%乙醇中的溶解度(1.221 mg/mL),粗品中芹菜素在 35 和 75 °C时 40%乙醇溶解度的差异不大(分别为 0.022 和 0.071 g/100 mL),这意味着可以通过保持溶液温度在 75 °C(以减少在乙醇浓度降低时杂质的析出),通过向溶有芹菜素的饱和乙醇溶液中逐渐滴加入一定量的水来降低乙醇浓度的方法,达到提高芹菜素收率和纯度的目的。

2.4 粗品中芹菜素在 75 °C的乙醇中溶解量随时间变化的分析

从图 7 可知随着时间的延长,粗品中的芹菜素在 75 °C的乙醇中的溶解量逐步上升,但当时间超过 6 h 后,其上升趋缓,此时芹菜素的溶解量为 1.02 g/100 mL 乙醇,从节省时间和能源的角度考虑将粗品在 75 °C乙醇中保温时间定为 6h。

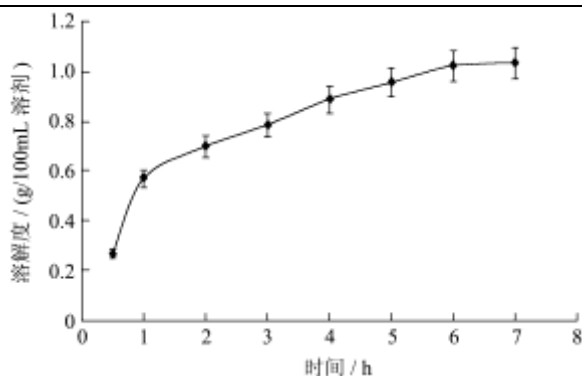


图7 粗品中芹菜素的溶解度随时间的变化

Fig.7 Relationship between solubility of apigenin and time

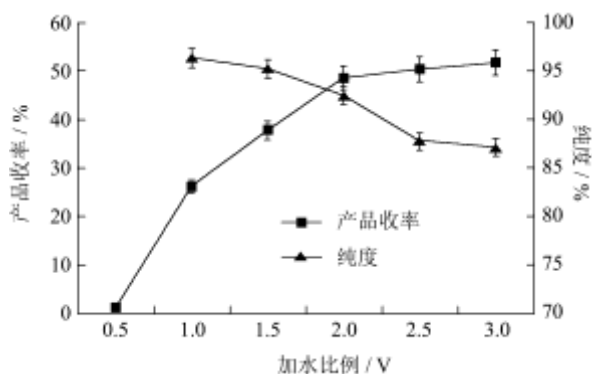


图8 加水量对产品收率和纯度的影响

Fig.8 Effect of water-added proportion on yield and purity of the product

2.5 恒温浓度梯度法精制芹菜素

图8为采用恒温浓度梯度法精制芹菜素时,加水量对产品收率和纯度的影响(加水量为0.5 V时,析出物太少,所以未测定其纯度)。从图可知,虽然减少加水量可以获得高纯度的芹菜素产品,但产品的收率太低,如加水量为1 V时,所获得的芹菜素产品浓度高达96.26%,此时的产品收率仅为26%。从图中可以看出当加水量为2 V时,产品收率高达48.45%,而产品的纯度仍然高达92.44%,当加水量超过2 V后,产品的收率上升趋势,而纯度下降较大,若加水量为3 V时,产品收率为50.21%较之2 V时仅上升了1.76%,而产品纯度低于90%为87.67%,较之2 V时下降了4.77%。因此综合考虑产品的纯度和收率,同时为了节约用水量,缩短精制时间,将浓度梯度法中的流加水量定为2 V。

3 结论

经UV、IR、ESI-MS、NMR的波谱解析,确认采用硫酸水解法从亮叶杨桐叶的水提液中获得的水解产物的主要成分为芹菜素。从亮叶杨桐叶的水提液中制备芹菜素的最适酸解条件为:每200 mL提取液加

入0.5 mL硫酸,反应液在电炉上加热15 min。在此条件下,每200 mL水提液可得到 0.737 ± 0.039 g芹菜素粗品,粗品的芹菜素含量为 $64.80 \pm 1.95\%$ 。通过对粗品中芹菜素在不同温度,不同浓度的乙醇中溶解能力的分析,确定采用恒温浓度梯度法精制芹菜素,方法如下:3 g芹菜素粗品加入200 mL无水乙醇,在75 °C水浴中加热6 h,抽滤,滤液于75 °C水浴中加热,同时蠕动泵以4 mL/min的速度滴加2倍体积即400 mL的水,加水完毕后保持1 h,抽滤,收集析出物,烘箱干燥。此法下获得的产品芹菜素含量为92.44%,产品收率为48.45%。

参考文献

- [1] 袁尔东,肖仔君,刘本国,等.亮叶杨桐叶总黄酮提取及抑菌活性的研究[J].现代食品科技,2009,25(3):305-308
Yuan E, Xiao Z, Liu B, et al. Extraction and antimicrobial activity of flavonoids from *Adinandra nitida* leaves [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2009, 25(3): 305-308
- [2] 袁尔东,宁正祥,刘本国,等.亮叶杨桐叶中山茶苷A的分离纯化及其抗氧化性能的研究[J].食品工业科技,2008,29(4):212-214
Yuan E, Ning Z, Liu B, et al. Research on purification and antioxidant activity of camellianin A from *Adinandra nitida* leaves [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(4):212-214
- [3] Yuan E, Liu B, Ning Z. Preparation and antioxidant activity of camellianin A from *Adinandra nitida* leaves [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2008, 32(5): 785-797
- [4] Liu B, Yang J, Ma Y, et al. Antioxidant and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of ethanol extract and pure flavonoids from *Adinandra nitida* leaves [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2010, 48(12): 1432-1438
- [5] Yuan E, Liu B, Ning Z, et al. Preparative separation of flavonoids in *Adinandra nitida* leaves by high-speed counter-current chromatography and their effects on human epidermal carcinoma cancer cells [J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(3): 1158-1163
- [6] Liu B, Ning Z, Zhan Y, et al. Characterization and DPPH radical scavenging activity of methanol and supercritical carbon dioxide extracts from leaves of *Adinandra nitida* [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2008, 32(4): 431-432
- [7] Mariappan G, Sundaraganesan N, Manoharan S. The spectroscopic properties of anticancer drug apigenin investigated by using DFT calculations, FT-IR, FT-Raman and NMR analysis [J]. *Spectrochimica Acta Part A*:

- Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2012, 95(1): 86-99
- [8] Zhong Y, Krisanapun C, Lee S H, et al. Molecular targets of apigenin in colorectal cancer cells: Involvement of p21, NAG-1 and p53 [J]. European Journal of Cancer, 2010, 46(18): 3365-3374
- [9] 隋海霞,支媛,刘海波,等.芹菜素舒张血管作用及其机制研究[J].卫生研究,2011,40(4):416-422
- Sui H, Zhi Y, Liu H, et al. Endothelium-dependent vasorelaxation effects induced by apigenin on the thoracic aorta of rats and its possible mechanism [J]. Journal of Hygiene Research, 2011, 40(4): 416-422
- [10] 李雪梅,牛文泽,陈翔.芹菜素对大鼠脑缺血再灌注后 VEGF 表达的影响及意义[J].中国病理生理杂志, 2010, 26(12): 2473-2477
- Li X, Niu W, Chen X. Effect of apigenin on expression of VEGF in cerebral ischemia and reperfusion rats [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010, 26(12): 2473-2477
- [11] 王杰松,张俊平,张珉,等.芹菜素抑制 IL-1 和脂多糖诱导软骨细胞产生 NO[J].第二军医大学学报,1999,20(6):362-364
- Wang J, Zhang J, Zhang M, et al. Inhibitory effect of apigenin on nitric oxide production in chondrocytes induced by IL-1 and LPS [J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 1999, 20(6): 362-364
- [12] Viola H, Wasowski C, Levi de Stein M, et al. Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptor-ligand with anxiolytic effects [J]. Planta Medicine, 1995, 61(3): 213-216
- [13] Martini ND, Katerere D R P, Eloff J N. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 93(2-3): 207-212
- [14] Eumkeb G, Chukrathok S. Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae* [J]. Phytomedicine, 2013, 20(3-4): 262-269
- [15] Liu B, Li W, Zhao J, et al. Physicochemical characterisation of the supramolecular structure of luteolin/cyclodextrin inclusion complex [J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 900-906
- [16] Markham K R. 黄酮类化合物物结构鉴定技术[M].北京:科学出版社,1990
- Markham K R. Techniques of flavonoid identification [M]. Beijing: Science Press, 1990
- [17] 潘妮婕,刘谦光.酸水解法从葛根中提取分离葛根素和大豆苷元[J].天然产物研究与开发,2000,12(6):66-69
- Pan W, Liu Q. Puerarin and daidzein were isolated from *pueraria lobata* by the method of hydrolyzing [J]. Natural Product Research and Development, 2000, 12(6): 66-69
- [18] 张英,吴晓琴,陈秀俊.竹叶黄酮糖苷的水解及其苷元的抗氧化性能研究- I 黄酮糖苷水解工艺的响应面法优化[J].中国粮油学报,2001,16(3):34-37.
- Zhang Y, Wu X, Chen X. Hydrolysis of flavone glycoside of bamboo leaf and antioxidative property of hydrolytic glycone - I optimizing the hydrolytic parameters of flavones [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2001, 16(3): 34-37