

绞股蓝抗氧化活性物质的分离鉴定

石嫚嫚, 姜建国

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 研究绞股蓝抗氧化活性物质的成分以及其自由基清除和抗氧化活性。采用多种柱分离技术进行分离纯化, 应用 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱分析鉴定化合物的结构, HPLC 分析其指纹图谱, 采用 DPPH、ABTS 和 FRAP 三种体外检测体系进行抗氧化和自由基清除活性的研究。从绞股蓝正丁醇和乙酸乙酯萃取物中分离鉴定出 2 个抗氧化活性较强的化合物, 分别为山奈酚-3-O-[2'-反式-肉桂酰基-3'-O- β -D-葡萄糖基-3'-O- β -D-葡萄糖基] (化合物 1)、3,4-二羟基苯基-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (化合物 2)。HPLC 证实正丁醇和乙酸乙酯部位分别含化合物 1 和 2。DPPH 自由基清除实验, 化合物 1 和化合物 2 都显示了较好的自由基清除能力。在浓度为 400~800 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 化合物 2 的抗氧化活性高于阳性对照 Vc; ABTS 实验, 在 12.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 化合物 1 和化合物 2 的清除能力均高于 Vc; FRAP 实验结果为在较低浓度下, Vc 的抗氧化活性高于化合物 1 和化合物 2, 但是在 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 1 和化合物 2 的抗氧化活性接近 Vc。

关键词: 绞股蓝; 活性物质; 纯化; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2017)9-109-114

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.9.016

Isolation and Identification of Compounds with Antioxidant Activity from *Gynostemma pentaphyllum* Makino

SHI Man-man, JIANG Jian-guo

(College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Compounds with radical-scavenging and antioxidant activities were isolated from *Gynostemma pentaphyllum* Makino, and their antioxidant properties were studied. The compounds were purified using various column chromatography techniques, the structures of the compounds were determined mainly by proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$) spectroscopy, and the fingerprints of the compounds were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The radical-scavenging and antioxidant activities of the compounds were evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Two compounds with strong antioxidant activity were obtained from the *n*-butanol and ethyl acetate fractions of *G. pentaphyllum* and identified as kaempferol 3-O-[2G-(*E*)-coumaroyl-3G-O- β -D-glucosyl-(3R)-O- β -D-glucosylrutinoside] (compound 1) and 3,4-dihydroxyphenyl-O- β -D-glucopyranoside (compound 2). The presence of compounds 1 and 2 in the *n*-butanol and ethyl acetate fractions, respectively, was verified by HPLC fingerprinting. DPPH assays revealed that both compound 1 and compound 2 have strong radical-scavenging activity against DPPH. In the concentration range of 400~800 $\mu\text{g/mL}$, the antioxidant activity of compound 1 was stronger than that of vitamin C (Vc). ABTS assays showed that in the concentration range of 12.5~100 $\mu\text{g/mL}$, the radical-scavenging activities of compound 1 and compound 2 were stronger than that of Vc. Finally, FRAP assays indicated that the antioxidant activities of compounds 1 and 2 at low concentrations were weaker than that of Vc, but the activities of these compounds at a concentration of 800 $\mu\text{g/mL}$ were comparable to that of Vc.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum*; active ingredients; purification; antioxidant activity

绞股蓝 (*Gynostemma pentaphyllum* Makino) 属于葫芦科属, 是一种多年生匍匐植物, 被广泛用作蔬菜、膳食补充剂和草药茶^[1]。绞股蓝茶已经商业流通于美

收稿日期: 2017-02-16

基金项目: 广州市科技计划项目 (201604020150)

作者简介: 石嫚嫚 (1989-), 女, 硕士, 研究方向: 天然产物

通讯作者: 姜建国 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物

国、中国以及包括日本在内的许多其它的亚洲国家^[2]。绞股蓝也被应用于功能性食品等领域^[3]。

绞股蓝含有皂苷、黄酮、多糖、维生素和氨基酸等成分, 被报道具有多种药理活性, 有抗炎^[4]、降血脂^[5]、降血压^[6]、抗癌^[7]、安神^[8]和护肝^[9]等功效。1976年, Nagai 等人发现绞股蓝茎叶中含有大量的活性物质—绞股蓝皂苷^[10], 从而掀起了国内外学者研究绞股

蓝皂苷的狂潮。迄今为止,从绞股蓝中已经分离得到170多种皂苷^[11],绞股蓝皂苷被认为是主要的活性物质^[12]。目前,绞股蓝活性成分研究多集中于萜类、皂苷和多糖等成分,很少有关于其它成分的研究。为了寻找更多活性物质充分利用绞股蓝属资源,丁建南从疏花绞股蓝(*G. laxiflorum*)中分离到商陆素、异鼠李素、槲皮素、商陆甙和芦丁五种黄酮类化合物^[13],杨飞等从绞股蓝正丁醇提取物中分离到芦丁和山奈酚3-O-芸香糖苷^[4]。Wang等^[14]用95%乙醇浸泡,有机溶剂萃取,硅胶柱纯化得到2个木脂素类物质,分别为Ligballinone和Ligballinol。文献显示绞股蓝有抗氧化作用,在众多的天然抗氧化剂中,植物黄酮类和多酚类成分具有较强的清除自由基能力,有效减轻细胞的过氧化胁迫从而阻止低密度脂质的过氧化^[15]。

为了探索更多生物活性物质,本文对绞股蓝全草的化学成分进行分析,纯化得到一个黄酮类化合物和多酚类化合物,分别为山奈酚-3-O-[2'-反式-肉桂酰基-3'-O-β-D-葡萄糖基-3'-O-β-D-葡萄糖基]-3,4-二羟苯基-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。通过DPPH、ABTS和FRAP三种体外检测体系,对二者清除自由基、抗氧化活性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

七叶绞股蓝,产自陕西平利,购买于广州清平药材市场,植物样品由华南农业大学生命科学院郝刚教授鉴定。

1.2 试剂

1,1-二苯基-苦基苯肼(DPPH),美国Sigma公司;2,2'-联氮-双(3-乙基苯噻唑啉-6-磺酸)(TBTS+·),美国Sigma公司;TPTZ,美国Sigma公司;FRAP工作液(10 mmol/L TPTZ溶液,20 mmol/L FeCl₃溶液,0.3 mol/L 醋酸钠溶液按顺序体积比1:1:10配制)现配现用。

1.3 主要仪器设备

电子分析天平,上海精密科技仪器有限公司;冰箱,合肥美菱股份有限公司;U3000高效液相色谱仪,德国THERMO公司;96孔板,美国COSTAR公司;移液枪,德国THERMO公司;多功能酶标仪,瑞士TECAN公司;ZF-2型三用紫外仪,上海市安亭电子仪器厂;核磁共振波谱仪,德国Bruker公司;质谱仪,德国Bruker公司。

1.4 实验方法

1.4.1 抗氧化活性物质的提取与分离

干燥的绞股蓝2 kg,经过粉碎过筛后按料液比1:15,用75%的乙醇加热回流提取3次。合并提取液,用旋转蒸发仪在50℃下减压浓缩至黑色浸膏。将浸膏用蒸馏水溶解,依次用等体积的乙酸乙酯和正丁醇萃取。正丁醇部位(45 g)经过硅胶柱层析,用氯仿-甲醇洗脱得到7个组分,依次标记为氯仿:甲醇100:20(n-Bu:1)、80:20(n-Bu:2)、3:1(n-Bu:3)、10:4(n-Bu:4)、10:5(n-Bu:5)、50:50(n-Bu:6)和0:100(n-Bu:7)。组分3(3 g)有大量松针状晶体析出,经过葡聚糖凝胶柱层析甲醇洗脱,进一步用ODS柱分离,用甲醇-水(30:70)洗脱得到化合物1(300 mg)。乙酸乙酯部位(30 g)经过硅胶柱层析,用氯仿-甲醇洗脱得到8个组分,依次标记为氯仿:甲醇100:16(EA:1)、90:20(EA:2)、80:20(EA:3)、3:1(EA:4)、10:4(EA:5)、10:5(EA:6)、50:50(EA:7)和0:100(EA:8)。组分2(600 mg)经葡聚糖凝胶柱层析甲醇-水(70:30)洗脱后用聚酰胺柱分离,甲醇-水(40:60)洗脱得化合物2(35 mg)。

1.4.2 HPLC 指纹图谱分析

色谱柱:YMC C₁₈(250×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇为流动相B,水为流动相D,按表1梯度洗脱;流速:0.8 mL/min;柱温:30℃;检测波长:254 nm。

表1 流动相梯度洗脱程序

时间 /min	流速 /(mL/min)	流动相组成	
		流动相 B /%	流动相 D /%
0	0.8	15	85
12	0.8	30	70
25	0.8	30	70
35	0.8	45	55
45	0.8	45	55
50	0.8	55	45
60	0.8	70	30

1.4.3 抗氧化活性测定

将待测样品和阳性对照Vc按照倍半稀释法配制一系列不同摩尔浓度的待测液,采用96孔板法^[16],测定其对各自由基的清除能力。DPPH自由基清除能力按照文献所述方法^[17]进行测定;ABTS自由基清除能力按照文献所述方法^[18]进行测定;铁离子还原力(FRAP法)参照文献所述方法^[19]进行测定。

1.4.4 统计分析方法

所有实验设有三个平行，实验数据用均数±标准差表示。平均值之间的显著性差异用 t-检验法评估，用 SPSS 13.0 软件进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 结构鉴定

表2 化合物1的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 化学位移表

Table 2 ¹H-NMR and ¹³C-NMR chemical shifts for compound 1

	δ_C	δ_H
糖苷配基		
2	159.0	
3	134.9	
4	179.0	
5	162.8	
6	99.9	6.15 br d (2.0)
7	165.7	
8	95.0	6.34 br d (2.0)
9	158.3	
10	105.8	
1'	122.8	
2'	132.3	7.96 d (8.8)
3'	116.3	6.90 d (8.8)
4'	161.2	
5'	116.3	6.90 d (8.8)
6'	132.3	7.96 d (8.8)
Glc-I		
1	100.8	5.54 d (8.0)
2	74.4	5.20 t (9.2)
3	84.5	3.92 t (9.2)
4	70.1	3.50 m
5	76.6	3.53 m
6	68.4	3.51 m, 3.88 m
Glc-II		
1	104.7	4.43 d (8.0)
2	74.7	3.20 t (8.0)
3	77.4	3.30 m
4	71.2	3.30 m
5	78.0	3.32 m
6	62.4	3.60 m, 3.86 m
Glc-III		
1	105.5	4.41 br d (7.2)
2	75.3	3.28 m
3	77.4	3.42 m
4	70.7	3.40 m

5	77.5	3.28 m
6	62.0	3.72 m, 3.75 m
Rha		
1	102.2	4.60 br s
2	71.3	4.00 br s
3	83.0	3.60 m
4	72.4	3.48 m
5	69.4	3.49 m
6	18.0	1.11 d (6.4)
酰基		
1''	127.3	
2'',6''	131.4	7.45 d (8.8)
3'', 5''	116.8	6.80 d (8.8)
4''	161.1	
7''	147.3	7.67 d (15.6)
8''	115.1	6.41 d (15.6)
9''	168.7	

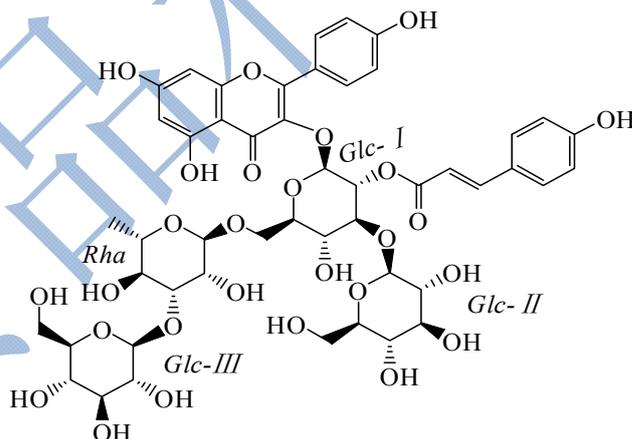


图1 化合物1的结构式

Fig.1 Chemical structure of compound 1

化合物1为黄色松针状晶体，以聚酰胺薄层层展开，呈现单一斑点，在254 nm紫外光下有黄色荧光。喷洒1%硝酸铝显色剂，黄色荧光更加明亮。ESI-MS m/z : 961.5348。¹H-NMR (Methanol-d₄, 400 MHz)谱显示山奈酚结构的共振[δ_H 6.15(1H, br d, $J=2.0$ Hz); 6.34(1H, br d, $J=2.0$ Hz); 7.96(2H, d, $J=8.0$ Hz); 6.90(2H, d, $J=8.8$ Hz)], 一个(E)-酰基基团[δ_H 7.45(2H, d, $J=8.8$ Hz); 6.80(2H, d, $J=8.8$ Hz); 7.67(1H, d, $J=15.6$ Hz); 6.41(1H, d, $J=15.6$ Hz)和四个异头质子 [δ_H 5.54(1H, d, $J=8.0$ Hz); 4.43(1H, d, $J=8.0$ Hz); 4.41(1H, br d, $J=7.2$ Hz); 4.60(1H, br s)].¹³C-NMR(150 MHz、Methanol-d₄)谱中，糖苷配基中包含一个内葡萄糖(δ_C 100.8, 74.4, 84.5, 70.1, 76.6, 68.4)，一个内鼠李糖(δ_C 102.2, 71.3, 83.0, 72.4, 69.4, 18.0)，两个终端葡萄糖(δ_C 104.7, 74.7, 77.4, 71.2, 78.0,

62.4) 和 (δ_C 105.5, 75.3, 77.4, 70.7, 77.5, 62.0)。耦合常数 ($J=7.6\sim 8.0$ Hz) 表明三个 *D*-葡萄糖均为 β 构型。将 Glc- I 的异头质子 (δ_H 5.54) 与糖苷配基 C-3 (δ_C 134.9) 关联起来, 推测内葡萄糖与糖苷配基的 C-3 相连。反过来, Rha 的异头质子 (δ_H 4.60) 与 Glc- I 的 C-6 (δ_C 68.4), Glc- II 的异头质子 (δ_H 4.43) 与 Glc- I 的 C-6 (δ_C 77.4), Glc-III 的异头质子 (δ_H 4.44) 与 Rha 的 C-3 (δ_C 83.0) 关联起来推测糖环部分在糖苷配基 C-3 处的连接顺序为 Glc- I (6 \rightarrow 1)[(3 \rightarrow 1) Glc- II] Rha (3 \rightarrow 1) Glc-III。另外, 酰基部分与 Glc- I 的 C-2 相连。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (表 2) 和文献^[20]数据对照基本一致, 故鉴定化合物为山奈酚-3-O-[2'-反式-肉桂酰基-3'-O- β -D-葡萄糖基-3'-O- β -D-葡萄糖基], 其结构式如图 1。

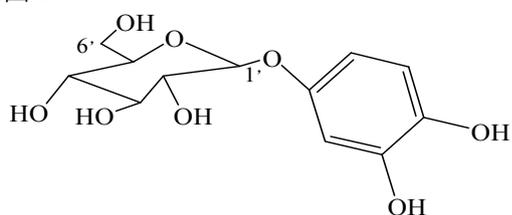


图 2 化合物 2 的结构式

Fig.2 Chemical structure of compound 2

化合物 2 为黄色粉末, 以聚酰胺薄层层析展开, 呈现单一斑点, 在 254 nm 紫外光下有黄色荧光。ESI-MS m/z : 288。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6): δ_H 8.91(1H, s, OH), 8.49(1H, s, OH), 6.59(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.47(1H, d, $J=2.7$ Hz, H-2), 6.32(1H, dd, $J=8.5, 2.7$ Hz, H-6), 5.23(1H, d, $J=4.4$ Hz, OH), 5.02(1H, d, $J=5.1$ Hz, OH), 4.59(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 4.54(1H, s, OH), 3.65(1H, dd, $J=11.0, 1.5$ Hz, H-6'), 3.45(1H, m, H-6'), 3.17(4H, m, H-2', -3', -4', -5')。¹³C-NMR (DMSO- d_6) δ_C 150.8 (d), 145.6(s), 140.3(s), 115.5(d), 106.8(d), 105.4(d), 101.8(d), 76.9(d), 76.7(d), 73.4(d), 69.8(d), 60.8(t)。化合物 2 的 ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献^[21]对照, 确定为 3,4-二羟基苯基-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 结构式见图 2。

2.2 HPLC 指纹图谱分析

化合物 1 和正丁醇部位 HPLC 指纹图谱对照图如图 3 所示, 在相同色谱条件下, 正丁醇部位和分离纯化得到的化合物 1 保留时间一致, 约为 38.4 min。因此可知正丁醇部位含有化合物 1 组分。

化合物 2 和乙酸乙酯部位 HPLC 指纹图谱对照图如图 4 所示, 在相同色谱条件下, 乙酸乙酯部位和分离纯化得到的化合物 2 保留时间一致, 约为 39.9 min。

因此可知乙酸乙酯部位含有化合物 2 组分。

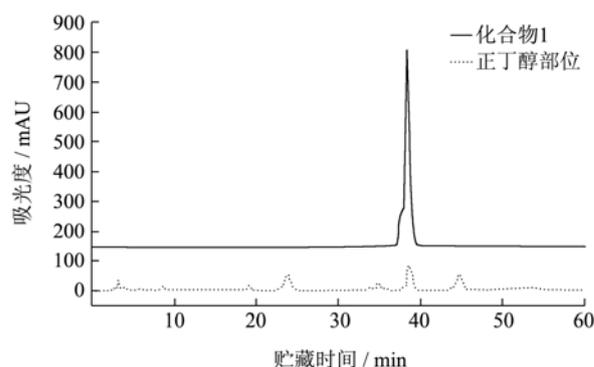


图 3 化合物 1 和正丁醇部位 HPLC 指纹图谱

Fig.3 HPLC fingerprints of compound 1 and the *n*-butanol fraction of *Gynostemma pentaphyllum*

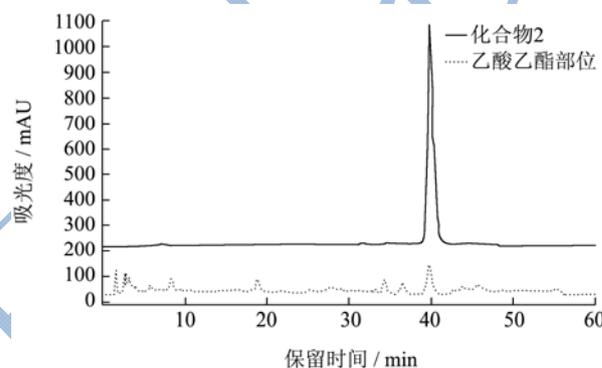


图 4 化合物 2 和乙酸乙酯部位 HPLC 指纹图谱

Fig.4 HPLC fingerprints of compound 2 and the ethyl acetate fraction of *Gynostemma pentaphyllum*

2.3 抗氧化活性

2.3.1 DPPH 自由基清除效果

不同摩尔浓度的化合物和 Vc 对 DPPH 自由基清除结果如图 5 所示。

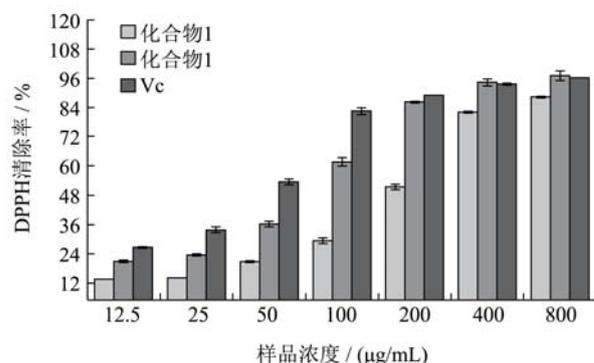


图 5 不同样品对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.5 Comparison of DPPH free radical-scavenging activities of compound 1, compound 2, and Vc

由图 5 可以得到, 各样品对 DPPH 自由基清除效果呈现良好的量效关系, 即清除 DPPH 自由基的能力随着样品质量浓度的增大而增强。但是, 不同样品在

不同浓度下对 DPPH 自由基清除强弱各有不同。在中、低浓度 (12.5 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 和 200 $\mu\text{g/mL}$) 下, Vc 的清除能力最强, 化合物 2 次之, 化合物 1 最弱。在高浓度条件下, 化合物 2 的清除能力超过了 Vc。在 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 1 的清除率达到了 88%, 表现出较好的清除作用, 接近阳性对照的效果。Lee 等^[20]从乌龙茶中分离山奈酚-3-O-[2'-反式-肉桂酰基-3'-O- β -D-葡萄糖基-3'-O- β -D-葡萄糖基]芸香苷并评价 DPPH 自由基清除活性, EC_{50} 值约为 468.46 $\mu\text{g/mL}$, 本实验测定的数据趋势与其一致, 活性比其略高。

2.3.2 ABTS 自由基清除效果

不同摩尔浓度的化合物和 Vc 对 ABTS 自由基清除结果如图 6 所示。

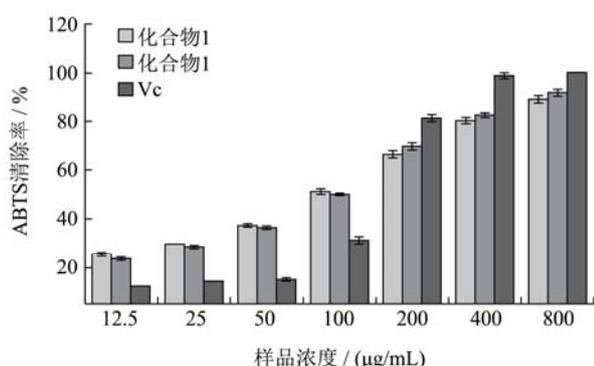


图 6 不同样品对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.6 Comparison of ABTS free radical-scavenging activities of compound 1, compound 2, and Vc

由图 6 可知, 各样品对 ABTS 自由基清除效果呈现良好的量效关系, 即样品质量浓度越大, 其清除 ABTS 自由基的清除能力越强。其中 Vc 的清除能力增强得更加明显。在中、低浓度 (12.5 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$) 下, 化合物 1 和化合物 2 的清除能力均高于 Vc, 清除能力强弱顺序为化合物 1 > 化合物 2 > Vc。但是在高浓度条件下, 化合物 1 和化合物 2 的抗氧化能力稍低于 Vc。在 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 1 和化合物 2 的清除率分别为 89% 和 91%, 清除效果接近于阳性对照。

清除自由基实验说明化合物 1 和化合物 2 清除自由基具有一定的靶向性, 可能它们具有结构活性关系。分子结构中羟基的数量和位置影响化合物的活性^[22], 具体的作用机理有待进一步研究。

2.3.3 铁离子还原力 (FRAP) 测定

FRAP 值表示待测样品抗氧化能力的强弱, FRAP 值越大说明样品的抗氧化能力越强。不同质量浓度的化合物和 Vc 的 FRAP 值见图 7。

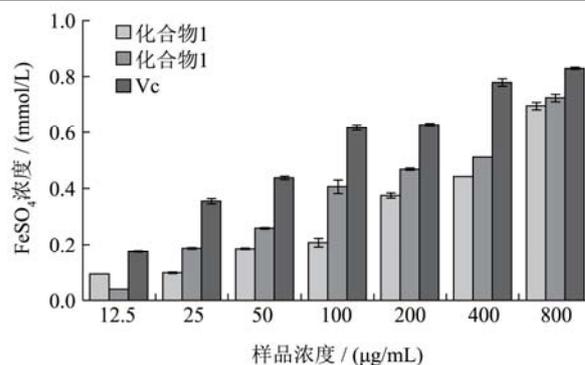


图 7 不同样品还原 Fe^{3+} 的能力

Fig.7 Comparison of Fe^{3+} reducing activities of compound 1, compound 2, and Vc

图 7 表明, 各样品的 FRAP 值具有一定的浓度依赖性, 即样品质量浓度的越大, 其 FRAP 值越大, 说明样品的抗氧化能力随着摩尔浓度的增大而增强。在较低浓度 (12.5 $\mu\text{g/mL}$ 和 25 $\mu\text{g/mL}$) 下, Vc 的 FRAP 值明显高于化合物 1 和化合物 2。表明在较低浓度下, Vc 的抗氧化活性高于化合物 1 和化合物 2。但是随着样品摩尔浓度的增加, 各物质抗氧化能力增强的幅度不同, 化合物 1 和化合物 2 抗氧化能力增加得较 Vc 显著。在 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 1 和化合物 2 的 FRAP 值分别为 0.69 和 0.72, 抗氧化活性接近 Vc。

3 结论

3.1 绞股蓝粗提物依次经过乙酸乙酯、正丁醇萃取得到乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物, 经过硅胶柱、ODS 柱、聚酰胺柱等分离条件得到黄酮类化合物山奈酚-3-O-[2'-反式-肉桂酰基-3'-O- β -D-葡萄糖基-3'-O- β -D-葡萄糖基]和多酚类化合物 3,4-二羟苯基-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

3.2 通过 DPPH、ABTS 和 FRAP 三种体外检测体系, 研究化合物 1 和化合物 2 的抗氧化活性。实验结果表明, 化合物 1 和化合物 2 具有较强的抗氧化能力, 且抗氧化能力与样品摩尔浓度呈现量效关系。在 DPPH 自由基清除实验中, 化合物 1 和化合物 2 都显示了较好的自由基清除能力。在浓度为 400~800 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 化合物 2 的抗氧化活性高于阳性对照 Vc; ABTS 实验中, 在 12.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 化合物 1 和化合物 2 的清除能力均高于 Vc; FRAP 实验结果为在较低浓度下, Vc 的抗氧化活性高于化合物 1 和化合物 2, 但是在 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 化合物 1 和化合物 2 的抗氧化活性接近 Vc。

3.3 绞股蓝黄酮和多酚类化合物具有抗氧化活性, 化合物 1 和化合物 2 表现出较强的抗氧化能力, 在功能性食品及膳食补充剂等多个领域具有广阔的应用前

景。

参考文献

- [1] Huang T H, Razmovski-Naumovski V, Salam N K, et al. A novel LXR-alpha activator identified from the natural product *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2005, 70(9): 1298-1308
- [2] Xie Z, Huang H, Zhao Y, et al. Chemical composition and anti-proliferative and anti-inflammatory effects of the leaf and whole-plant samples of diploid and tetraploid *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 125-133
- [3] 高益芝,余秉琦.绞股蓝酒的研制[J].无锡轻工业学院学报,1993,12(3):183-186
GAO Yi-zhi, YU Bing-qi. Preparation of *Gynostemma pentaphyllum* wine [J]. *Journal of the Wuxi Institute of Light Industry*, 1993, 12(3): 183-186
- [4] Yang F, Shi H, Zhang X, et al. Two new saponins from tetraploid jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*), and their anti-inflammatory and alpha-glucosidase inhibitory activities [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 3606-3613
- [5] Megalli S, Aktan F, Davies N M, et al. Phytopreventative anti-hyperlipidemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in rats [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 2005, 8(3): 507-515
- [6] Norberg A, Hoa N K, Liepinsh E, et al. A novel insulin-releasing substance, phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(40): 41361-41367
- [7] Zheng K, Liao C, Li Y, et al. Gypenoside L, isolated from *Gynostemma pentaphyllum*, induces cytoplasmic vacuolation death in hepatocellular carcinoma cells through reactive-oxygen-species-mediated unfolded protein response [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2016, 64(8): 1702-1711
- [8] 冯冰虹,陈玲,陈洪芬,等.绞股蓝总皂甙注射剂中枢抑制作用的初步研究[J].广东药学院学报,1995,11(4):264-265
FENG Bing-hong, CHEN Ling, CHEN Hong-fen, et al. Inhibitory effects of total saponins from *Gynostemma pentaphyllum* on central nervous system [J]. *Journal of Guangdong college of Pharmacy*, 1995, 11(4): 264-265
- [9] Yoshikawa M, Morikawa T, Kashima Y, et al. Structures of new dammarane-type triterpene saponins from the flower buds of *Panax notoginseng* and hepatoprotective effects of principal Ginseng saponins [J]. *Journal of Natural Products*, 2003, 66(7): 922-7
- [10] Nagai M, Lzawa K, Nagumo S, et al. Two glycosides of a novel dammarane alcohol from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1981, 29(3): 779-783
- [11] 史琳,宋东平,潘明佳,等.绞股蓝皂苷成分的研究进展[J].药物评价研究,2011,34(6):456-464
SHI Lin, SONG Dong-ping, PAN Ming-jia, et al. Research advances on the saponins of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Drug Evaluation Research*, 2011, 34(6): 456-464
- [12] Karikura M, Miyase T, Tanizawa H, et al. Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. V. The decomposition products of ginsenoside Rb2 in the large intestine of rats [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1990, 38(10): 2859-61
- [13] 丁建南.疏花绞股蓝黄酮化合物的分离与鉴定[J].江西科学,1996,14(4):223-227
DING Jian-nan. Isolation and identification of flavonoids from *Gynostemma laxiflorum* [J]. *Jiangxi Science*, 1996, 14(4): 223-227
- [14] Wang X W, Zhang H P, Chen F, et al. A new lignan from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2009, 20(5): 589-591
- [15] Tijburg L B M, Mattern T, Folts J D, et al. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1997, 37(8): 771-785
- [16] 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
YUN Xiang-hui, XING Li-na, LI Yun, et al. Establishment of improved FRAP and DPPH methods based on 96-well plate detection and its application in evaluating the antioxidant capacity of citrus seeds [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2014, 25(5): 1275-1278
- [17] Blois M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [J]. *Nature*, 1958, 181(4617): 1199-1200
- [18] Wolfenden B S, Willson R L. ChemInform abstract: radical-cations as reference chromogens in kinetic studies of one-electron-transfer reactions: pulse-radiolysis studies of 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) [J]. *Chemischer Informationsdienst*, 1982, 2(7)
- [19] Benzie I F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1): 70-76
- [20] Lee V, Chen C, Liao Y, et al. Structural determination and

- DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea (*Camellia sinensis*) [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2008, 56(6): 851-853
- [21] Verotta L, Orsini F, Pelizzoni F, et al. Polyphenolic glycosides from *African proteaceae* [J]. Journal of Natural Products, 1999, 62(11): 1526-1531
- [22] Lien E J, Mogi G, Harvey J E, et al. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(3-4): 285-294

现代食品科技