

- of wormwood essential oil using natural deep eutectic solvent; process optimization and compositional analysis[J]. *J Mol Liq*, 2023, 382: 121977.
- [9] Zhang J T, Tao R, Wang Y D, *et al.* Enzyme-assisted deep eutectic solvent extraction of *Litsea cubeba* volatile oil and its anti-*Aspergillus flavus* activity[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2025, 217: 117292.
- [10] 王淑惠, 刘泽干, 黄小凤, 等. 柴胡4种活性成分的体外抗氧化作用[J]. *医药导报*, 2023, 42(9): 1318-1325.
- [11] Pan X L, Liu Y L, Ma Z H, *et al.* Molecular insight into the mechanism of lignin dissolution in acid choline chloride-based deep eutectic solvents[J]. *J Mol Liq*, 2024, 406: 125123.
- [12] Cai X, Xiao M, Zou X W, *et al.* Extraction and separation of flavonoids from *Malus hupehensis* using high-speed countercurrent chromatography based on deep eutectic solvent [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1641: 461998.
- [13] 韦小翠, 杨书婷, 张 焱, 等. 2种辅助方法提取川芎挥发油成分 GC-MS 分析[J]. *中成药*, 2019, 41(1): 129-134.
- [14] 蒋 成, 臧振中, 陈丽华, 等. 川芎挥发油对雷公藤甲素体外透皮性能及细胞毒性的影响[J]. *中国药房*, 2024, 35(4): 413-418.
- [15] Carmen B, Dolores M M, Inmaculada N, *et al.* Neuroprotective potential of verbascoside isolated from *Acanthus mollis* L. leaves through its enzymatic inhibition and free radical scavenging ability[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(12): 1207.
- [16] Donoso-Bustamante V, Osorio E, Arias-Santé M F, *et al.* Antioxidant activity of sinapic acid anilides: DPPH, ABTS, FRAP, electrochemical and theoretical analysis[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2025, 222: 117656.
- [17] Wei Y N, Liu H M, Fu C Q, *et al.* Structural changes for lignin from Chinese quince during the sequential fractionation of cell wall polysaccharides[J]. *Process Biochem*, 2022, 113: 167-176.
- [18] Álvaro L, Beatriz G, Aloia R, *et al.* Recent advances in biorefineries based on lignin extraction using deep eutectic solvents: a review[J]. *Bioresour Technol*, 2023, 388: 129744.
- [19] Zhang S, Wu J H, Zheng J X, *et al.* Deep eutectic solvents/water systems in different pH for extracting pectin from mango peel: analysis of physicochemical and structural properties[J]. *Food Hydrocoll*, 2025, 168: 111578.
- [20] Li X Y, Huang S M, Wu X Y, *et al.* Reactive amino acid-derived deep eutectic solvents for tailored lignin modification[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 307(Pt 2): 142003.
- [21] Shu C H, Cheng H, Zhao M, *et al.* Synthesis of deep eutectic solvents based on triethylamine and organic acids and their application in fuel oil denitrogenation: a theoretical and experimental study[J]. *J Mol Liq*, 2023, 369: 120863.

## 倒地铃各部位黄酮提取工艺优化及其化学成分分析、抗氧化活性评价

薛咏兰<sup>1,2</sup>, 滕 钰<sup>2</sup>, 周映佑<sup>2</sup>, 李勇军<sup>1\*</sup>

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州省食品药品检验所, 贵州 贵阳 550081)

**摘要:** 目的 优化倒地铃藤、叶、果皮黄酮提取工艺, 并分析其化学成分, 评价其抗氧化活性。方法 以提取温度、提取时间、乙醇体积分数为影响因素, 总黄酮、槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷提取量为评价指标, 正交试验优化提取工艺。UPLC-QTOF-MS/MS 法分析化学成分, 测定 DPPH、ABTS 自由基清除率。结果 藤最佳条件为提取温度 80 ℃, 提取时间 150 min, 乙醇体积分数 60%; 叶、果皮最佳条件均为提取温度 80 ℃, 提取时间 120 min, 乙醇体积分数 60%。共鉴定出 14 种黄酮。藤、叶、果皮对 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 值分别为 2.36、10.38、0.50 mg/mL, 对 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 值分别为 2.35、8.15、0.52 mg/mL。结论 倒地铃各部位黄酮种类丰富, 抗氧化活性依次为果皮>藤>叶。

**关键词:** 倒地铃; 部位; 黄酮; 提取工艺; 化学成分; 抗氧化活性; 正交试验; UPLC-QTOF-MS/MS

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)06-1815-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.006

收稿日期: 2025-08-22

基金项目: 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZYY-2024-195)

作者简介: 薛咏兰 (1985—), 女, 高级工程师, 从事中药检验、研发工作。E-mail: 362421963@qq.com

\* 通信作者: 李勇军 (1973—), 男, 博士, 教授, 从事中药、民族药药效物质基础研究。E-mail: liyongjun026@126.com

# Optimization of extraction process, analysis of chemical constituents and evaluation of anti-oxidant activity for flavonoids from various parts of *Cardiospermum halicacabum*

XUE Yong-lan<sup>1,2</sup>, TENG Yu<sup>2</sup>, ZHOU Ying-you<sup>2</sup>, LI Yong-jun<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Guizhou Provincial Institute of Food and Drug Control, Guiyang 550081, China)

**ABSTRACT: AIM** To optimize the extraction process for flavonoids from vines, leaves and peels of *Cardiospermum halicacabum* L, to analyze its chemical constituents, and to evaluate its anti-oxidant activity.

**METHODS** With extraction temperature, extraction time and ethanol concentration as influencing factors, the extraction amounts of total flavonoids, quercetin and apigenin-7-O-glucuronidethe as evaluation indices, the extraction process was optimized by orthogonal test. UPLC-QTOF-MS/MS was adopted in the analysis of chemical constituents, after which the scavenging rates of DPPH and ABTS free radicals were determined. **RESULTS** The optimal conditions for vines were determined to be 80 °C for extraction temperature, 150 min for extraction time, and 60% for ethanol concentration. The optimal conditions for leaves and peels were determined to be 80 °C for extraction temperature, 120 min for extraction time, and 60% for ethanol concentration. Total 14 flavonoids were identified. The IC<sub>50</sub> values of vines, leaves, peels on DPPH free radical were 2.36, 10.38, 0.50 mg/mL, while those on ABTS free radical were 2.35, 8.15, 0.52 mg/mL, respectively. **CONCLUSION** Rich kind of flavonoids is observable in various parts of *C. halicacabum*, whose anti-oxidant activity is sequence of peels>vines >leaves

**KEY WORDS:** *Cardiospermum halicacabum* L; parts; flavonoids; extraction process; chemical constituents; anti-oxidant activity; orthogonal test; UPLC-QTOF-MS/MS

倒地铃为倒地铃属植物倒地铃 *Cardiospermum halicacabum* L 的干燥全草, 具有凉血、解毒、健胃、利尿、发汗等功效<sup>[1]</sup>, 是贵州民间常用中药材, 收载于《贵州中草药名录》, 用于治疗咽炎、百日咳、糖尿病、皮肤湿疹等病症<sup>[2]</sup>, 含有黄酮、氨基酸、糖、有机酸、香豆素、内酯、三萜、单宁、油脂等化学成分<sup>[3]</sup>, 其中黄酮是该药材主要活性成分之一, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等药理活性, 因其药用价值和临床疗效而呈现广阔的开发前景<sup>[4]</sup>。前期研究发现, 倒地铃中含量较高的黄酮类成分为槲皮苷和芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷<sup>[5]</sup>, 前者具有抗抑郁、调节免疫、抗氧化、调节血脂、抗炎、抗肿瘤、抗病毒等作用<sup>[6]</sup>, 而后者在治疗癌症、心脑血管疾病、神经疾病时也显示出一定功效<sup>[7]</sup>。

提取工艺是保证中药物质传递基础和临床疗效的关键, 其优劣将直接影响后者质量。本实验优化倒地铃藤、叶、果皮黄酮提取工艺, 并分析其化学成分, 评价其抗氧化活性, 以期为该药材开发利用提供技术支撑和科学依据。

## 1 材料

1.1 仪器 XP250DR 电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); UV2550 紫外分光光度仪 (日本岛津公司); 安捷伦 1260 Infinity 高效液相色谱仪 [安捷伦科技 (中国) 有限公司]; TD5A 台式低速离心机 (湖南赫西仪器装备有限公司); FED115 电热恒温干燥箱 (德国 Binder 公司); HXLG-12-50DG 真空冷冻干燥机 (上海沪析实业有限公司); R206 旋转蒸发仪 (上海申生科技有限公司); 安捷伦 1290 Infinity 超高效液相色谱仪、安捷伦 6545 Q-TOF 质谱仪 (美国安捷伦公司)。

1.2 试剂与药材 芦丁对照品 (江西佰草源生物科技有限公司, 批号 000507-202211, 纯度 ≥ 98%); 槲皮苷 (批号 nkl-0073240818, 纯度 ≥ 98%)、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (批号 nkl-01010240703, 纯度 ≥ 98%) 对照品 (成都钠钨锂生物科技有限公司); 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) (批号 D807297)、2, 2-联氨-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS) (天津市华盛化学试剂有限公司); 维生素 C、2, 6-二叔丁基对甲酚

(BHT)(上海麦克林生化科技有限公司)。倒地铃采自贵州省贵阳市观山湖区,经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为正品,于农历8月<sup>[8]</sup>采集,将其藤、叶、果皮自然风干后置于60℃烘箱中干燥3h,粉碎,过2号筛。甲醇、乙腈(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);无水乙醇(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司)。

## 2 方法与结果

2.1 总黄酮含量测定 采用分光光度法。

2.1.1 供试品溶液制备 取藤、叶、果皮粉末各约2.0g,精密称定,加入50mL 60%乙醇,称定质量,回流提取2h,冷却至室温,60%乙醇补足缺失的质量,过滤,即得。

2.1.2 对照品溶液制备 取芦丁对照品约10mg,精密称定,置于50mL量瓶中,60%乙醇溶解并稀释至刻度,即得(质量浓度约为0.2mg/mL)。

2.1.3 显色 采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法<sup>[9]</sup>,精密吸取对照品、供试品溶液适量,置于25mL量瓶中,加入1mL 5%  $\text{NaNO}_2$ ,摇匀,静置6min,加入1mL 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,摇匀,静置6min,加入10mL 4%  $\text{NaOH}$ 溶液,60%乙醇定容至刻度,静置15min。

2.1.4 检测波长筛选 取对照品、供试品溶液适量,按“2.1.3”项下方法显色,以60%乙醇为空白对照,在400~700nm波长范围内进行扫描。结果,各溶液均在510nm处有最大吸收,故选择其作为检测波长。

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0mL,按“2.1.3”项下方法显色,在510nm波长处测定吸光度。以对照品质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(A)进行回归,得方程为 $A=0.0149X-0.0055(r=0.9999)$ ,在4.46~62.44mg/mL范围内线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 精密量取“2.1.2”项下对照品溶液2.0mL,按“2.1.3”项下方法显色,在510nm波长处测定6次吸光度,测得其RSD为0.94%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密称取藤、叶、果皮粉末各2g,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,于0、2、4、6、8、10、12、24h各精密量取0.5mL,按“2.1.3”项下方法显色,在510nm波长处测定吸光度,测得其RSD分别为1.83%、1.67%、2.02%,表明溶液在24h内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 精密称取藤、叶、果皮粉末各6份,每份2g,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,分别精密量取0.5mL,按“2.1.3”项下方法显色,在510nm波长处测定吸光度,测得其RSD分别为2.21%、1.98%、1.53%,表明该方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取总黄酮含量已知的藤、叶、果皮粉末各6份,每份约1g,精密称定,按100%水平加入对照品,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,分别精密量取0.5mL,按“2.1.3”项下方法显色,在510nm波长处测定吸光度,计算回收率。结果,藤、叶、果皮中总黄酮平均加样回收率分别为98.85%、102.13%、98.47%,RSD分别为1.65%、1.35%、1.98%。

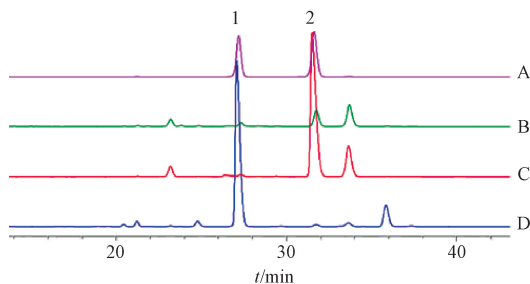
2.2 槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷含量测定 采用HPLC法。

2.2.1 色谱条件 参照覃川娴等<sup>[10]</sup>报道并进行修改,Waters- $\text{C}_{18}$ 色谱柱(4.6mm×250mm,5 $\mu\text{m}$ );流动相乙腈(A)-0.1%磷酸(B),梯度洗脱(0~10min,5%~15%A;10~20min,15%~17%A;20~32min,17%~19%A;32~40min,19%A;40~50min,19%~25%A);体积流量1.0mL/min;柱温30℃;检测波长350nm;进样量10 $\mu\text{L}$ 。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷对照品适量,加入1mL二甲亚砜溶解,甲醇稀释,即得(两者质量浓度分别为976.25、2087 $\mu\text{g/mL}$ )。

2.2.3 供试品溶液制备 取“2.1.1”项下供试品溶液适量,0.45 $\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,即得。

2.2.4 系统适用性考察 在“2.2.1”项色谱条件下,对照品、供试品溶液中各成分色谱峰保留时间基本一致,分离度大于1.5,见图1。



注:A~D分别为对照品、藤、叶、果皮。  
1. 槲皮苷 2. 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷  
1. quercetin 2. apigenin-7-O-glucuronidethe

图1 各成分HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL，置于5 mL量瓶中，60%乙醇定容至刻度，摇匀，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)进行回归，结果见表1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系 (n=6)

Tab.1 Linear relationships of various constituents(n=6)

成分	回归方程	r	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
槲皮苷	$Y=6.798\ 00X-2.718\ 16$	0.999 96	48.81~585.75
芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	$Y=8.431\ 96X-45.077\ 10$	0.999 93	104.34~1 252.05

2.2.6 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液1.5 mL，置于5 mL量瓶中，60%乙醇定容至刻度，摇匀，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷峰面积RSD分别为1.51%、1.34%，表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液适量，室温下于0、2、4、6、8、10、12、24 h在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得藤、叶、果皮中槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷峰面积RSD分别为1.18%、1.57%、1.69%、2.15%、0.63%、1.14%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 精密称取藤、叶、果皮粉末各6份，每份2 g，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得藤、叶、果皮中槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷含量RSD分别为1.88%、1.97%、1.36%、1.95%、2.03%、1.47%，表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取各成分含量已知的藤、叶、果皮粉末各6份，每份约1 g，精密称定，按100%水平精密加入对照品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，藤、叶、果皮中槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷平均加样回收率分别为100.74%、102.11%、99.75%、101.38%、98.56%、100.33%，RSD分别为1.88%、1.97%、2.36%、1.95%、1.58%、1.78%。

### 2.3 提取工艺优化

2.3.1 提取量计算 精密称取藤、叶、果皮粉末各5.0 g，置于圆底烧瓶中，分别加入100 mL 50%

乙醇，加热回流提取，提取完毕后采用布氏漏斗真空抽滤，取续滤液，合并后浓缩，转移至50 mL量瓶中，50%乙醇定容至刻度，即为提取液，测定总黄酮、槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷含量，计算提取量，公式为 $X = \frac{C \times V \times D}{W}$ 。其中，X为提取量，C为溶液质量浓度，V为溶液体积，D为稀释倍数，W为药材部位质量。

2.3.2 正交试验 在单因素试验基础上，取藤、叶、果皮粉末各5 g，固定料液比1:20，提取次数2次，以提取温度(A)、提取时间(B)、乙醇体积分数(C)为影响因素，因素水平见表2。

表2 正交试验因素水平

Tab.2 Factors and levels for orthogonal test

水平	因素		
	A 提取温度/℃	B 提取时间/min	C 乙醇体积分数/%
1	60	90	50
2	70	120	60
3	80	150	70

再参照文献[11]报道，赋予总黄酮、槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷提取量权重系数分别为0.4、0.3、0.3，计算综合评分，公式为综合评分=(总黄酮提取量/总黄酮提取量最大值)×100×0.4+(槲皮苷提取量/槲皮苷提取量最大值)×100×0.3+(芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷提取量/芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷提取量最大值)×100×0.3，结果见表3~5。由此可知，藤最优工艺为 $A_3B_3C_2$ ，即提取温度80℃，提取时间150 min，乙醇体积分数60%；叶、果皮最优工艺均为 $A_3B_2C_2$ ，即提取温度80℃，提取时间120 min，乙醇体积分数60%；各因素对藤、叶黄酮提取量的影响程度依次为 $A>B>C$ 、对果皮黄酮提取量的影响程度依次为 $B>C>A$ 。另外，叶中芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷含量较高，果皮中总黄酮、槲皮苷含量较高。

然后，进行方差分析，结果见表6。由此可知，各因素对藤、叶黄酮提取量的影响程度依次为 $A>B>C$ ，对果皮黄酮提取量的影响程度依次为 $B>C>A$ ，与表5一致，并且藤中因素A、叶中各因素、果皮中因素B有显著影响( $P<0.05$ )。

取各部位粉末约10 g，精密称定，按上述优化工艺进行3批验证试验，结果见表7。由此可知，各部位黄酮提取量总体上高于表3~5中，并且所得结果标准差较小，表明该工艺稳定准确。

表3 正交试验设计与结果 (藤)

Tab.3 Design and results for orthogonal test (vines)

试验号	A	B	C	D(空白)	提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )			综合评分/分
					总黄酮	槲皮苷	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	
1	1	1	1	1	20.10	0.26	1.20	79.60
2	1	2	2	2	21.33	0.29	1.32	86.53
3	1	3	3	3	23.23	0.28	1.27	87.93
4	2	1	2	3	21.17	0.31	1.38	89.05
5	2	2	3	1	21.88	0.31	1.39	90.48
6	2	3	1	2	23.51	0.27	1.30	88.31
7	3	1	3	2	21.01	0.36	1.32	91.24
8	3	2	1	3	23.48	0.37	1.31	95.97
9	3	3	2	1	23.11	0.40	1.36	98.67
平均值1	84.69	86.63	87.96	89.58	—	—	—	—
平均值2	89.28	90.99	91.42	88.69	—	—	—	—
平均值3	95.29	91.64	89.88	90.98	—	—	—	—
极差	10.61	5.01	3.46	2.29	—	—	—	—

表4 正交试验设计与结果 (叶)

Tab.4 Design and results for orthogonal test (leaves)

试验号	A	B	C	D(空白)	提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )			综合评分/分
					总黄酮	槲皮苷	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	
1	1	1	1	1	8.12	0.26	20.88	88.68
2	1	2	2	2	9.17	0.28	21.71	96.27
3	1	3	3	3	8.52	0.29	21.78	94.59
4	2	1	2	3	9.12	0.28	21.82	96.21
5	2	2	3	1	9.38	0.30	21.61	99.03
6	2	3	1	2	9.09	0.27	21.42	94.54
7	3	1	3	2	9.35	0.28	21.84	97.21
8	3	2	1	3	9.15	0.30	21.53	97.94
9	3	3	2	1	9.23	0.30	22.33	99.36
平均值1	93.58	94.30	94.27	95.95	—	—	—	—
平均值2	97.02	98.03	97.70	96.43	—	—	—	—
平均值3	98.45	96.72	97.08	96.66	—	—	—	—
极差	4.87	3.73	3.43	0.71	—	—	—	—

表5 正交试验设计与结果 (果皮)

Tab.5 Design and results for orthogonal test (peels)

试验号	A	B	C	D(空白)	提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )			综合评分/分
					总黄酮	槲皮苷	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	
1	1	1	1	1	160.13	24.45	0.43	93.92
2	1	2	2	2	170.55	25.08	0.45	98.35
3	1	3	3	3	163.48	24.53	0.43	94.77
4	2	1	2	3	163.11	24.91	0.44	95.81
5	2	2	3	1	174.17	24.84	0.43	97.54
6	2	3	1	2	175.69	23.45	0.40	94.22
7	3	1	3	2	162.09	24.75	0.43	94.72
8	3	2	1	3	177.89	24.40	0.42	97.19
9	3	3	2	1	176.78	24.44	0.43	97.65
平均值1	96.13	95.27	95.56	96.82	—	—	—	—
平均值2	95.86	97.69	97.27	95.76	—	—	—	—
平均值3	96.52	95.55	95.68	95.92	—	—	—	—
极差	0.66	2.43	1.71	1.06	—	—	—	—

表6 方差分析结果

Tab. 6 Results for analysis of variance

部位	因素	偏差平方和	自由度	F 值	P 值
藤	A	169.76	2	21.23	0.045
	B	44.52	2	5.57	0.152
	C	18.00	2	2.25	0.308
	D(误差)	0.80	2	—	—
叶	A	37.64	2	48.29	0.020
	B	21.49	2	27.57	0.035
	C	20.07	2	25.75	0.037
	D(误差)	0.78	2	—	—
果	A	1.18	2	1.98	0.335
	B	13.42	2	22.62	0.042
	C	7.53	2	12.69	0.073
	D(误差)	0.59	2	—	—

2.4 成分分析 采用 UPLC-QTOF-MS/MS 法。

表7 验证试验结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab. 7 Results for verification tests ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

部位	最优工艺	提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )		
		总黄酮	槲皮苷	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷
藤	提取温度 80 °C, 提取时间 120 min, 乙醇体积分数 60%	23.44±0.18	0.40±0.01	1.40±0.13
叶	提取温度 80 °C, 提取时间 150 min, 乙醇体积分数 60%	9.51±0.11	0.31±0.03	22.01±0.55
果皮	提取温度 60 °C, 提取时间 120 min, 乙醇体积分数 60%	178.11±0.95	25.11±0.12	0.46±0.01

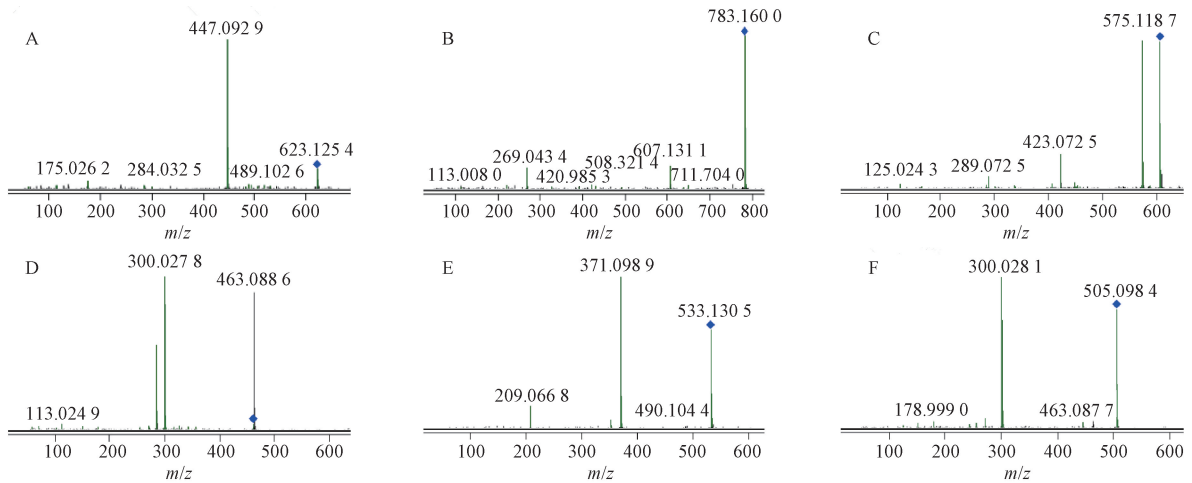
2.4.2.2 质谱 电喷雾双喷离子源 (Dual AJS ESI); 负离子扫描; 气体温度 320 °C, 体积流量 8 L/min; 雾化器压力 35 psi (1 psi=6.895 kPa); 鞘气温度 350 °C, 体积流量 11 L/min。

2.4.1 供试品溶液制备 取各部位乙醇提取液适量, 浓缩除去乙醇后冷冻干燥, 精密称取 0.2 g 粉末, 置于 50 mL 量瓶中, 80% 甲醇溶解并稀释至刻度, 混匀, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.4.2 分析条件

2.4.2.1 质谱 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸) (A) -乙腈 (含 0.1% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0~0.5 min, 5% B; 0.5~8 min, 5%~40% B; 8~15 min, 40%~100% B; 15~17 min, 100% B; 17~17.1 min, 100%~5% B; 17.1~20 min, 5% B); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 1 μL。

2.4.3 结果分析 通过 Qualitative Analysis B.08.0 软件对总离子流进行提取, 得到一级 TIC 色谱及二级碎片离子, 见图 2。再与 METLIN PCDL 数据库和相关文献比对, 共鉴定出 13 种黄酮, 具体见表 8。



注: A~F 分别为木犀草素-4-葡萄糖苷-7-半乳糖醛酸、6-羟基木犀草素-7-葡萄糖苷-3-葡萄糖醛酸、Hispidulin-7-(6'-E-p-coumaroylglucoside)、5, 6, 7, 2'-四羟基黄酮-7-葡萄糖醛酸苷、芹菜素-6-C-β-D-吡喃木糖基-8C-α-L-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-7-(6'-乙酰葡萄糖苷)。

图2 倒地铃提取物二级碎片离子质谱图

Fig. 2 Secondary fragment ion mass spectra for extract from *C. halicacabum*

以槲皮苷和芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷为例, 前者在一级质谱中的保留时间为 8.453 min, 分子离子  $m/z$  为 447.095 5, 推测其分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>, 二级质谱中碎片离子  $m/z$  301.035 8 为离子峰脱去

一分子 C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub> 的槲皮苷元碎片 [(M-H) -147]<sup>-</sup>,  $m/z$  178.999 0 为继续失去一分子 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> 的碎片 [(M-H) -147-122]<sup>-</sup>, 结合文献 [12] 鉴定为槲皮苷; 后者在一级质谱中的保留时间为 8.237 min,

分子离子  $m/z$  为 445.078 5, 推测其分子式为  $C_{21}H_{18}O_{11}$ , 二级质谱中碎片离子  $m/z$  113.024 8、175.024 3、269.046 3 分别对应  $C_{16}H_{13}O_8$ 、 $C_{15}H_{11}$

$O_5$ 、 $C_6H_9O_6$  的缺失, 结合洗脱时间、METLIN PCDL 数据库、文献 [13] 鉴定为芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸。

表 8 倒地铃提取物化学成分鉴定结果

Tab. 8 Results for chemical constituent identification of extract from *C. halicacabum*

序号	$t_R/min$	名称	分子式	分子离子 $m/z$	碎片离子 $m/z$	相对含量/%		
						藤	叶	果皮
1	5.513	木犀草素 4'-葡萄糖苷 7-半乳糖醛酸 <sup>[5]</sup>	$C_{27}H_{28}O_{17}$	623.13	175,284,447	—	—	1.02
2	5.631	6-羟基木犀草素 7-葡萄糖苷-3-葡萄糖醛酸 <sup>[5]</sup>	$C_{33}H_{36}O_{22}$	783.16	269,607	1.11	—	—
3	6.468	hispidulin 7-(6'- <i>E-p</i> -coumaroylglucoside)	$C_{31}H_{28}O_{13}$	607.15	125,289,423,575	—	—	0.70
4	7.361	木犀草素-7- <i>O</i> -葡萄糖醛酸苷 <sup>[14]</sup>	$C_{21}H_{18}O_{12}$	461.07	113,285,327	2.34	2.94	—
5	7.388	5,6,7,2'-四羟基黄酮-7-葡萄糖苷	$C_{21}H_{18}O_{12}$	461.07	285,300	—	—	0.39
6	7.504	异槲皮苷 <sup>[14]</sup>	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.09	153,301	—	—	6.12
7	7.830	槲皮素 3- <i>O</i> -丙二酰基葡萄糖苷	$C_{24}H_{22}O_{15}$	549.09	151,300	—	—	0.49
8	7.906	阿福豆苷 <sup>[15]</sup>	$C_{21}H_{20}O_{10}$	431.10	285	0.53	0.44	5.91
9	7.961	芹菜素-6- <i>C-β-D</i> -吡喃木糖基-8- <i>C-α-L</i> -吡喃阿拉伯糖苷	$C_{25}H_{26}O_{13}$	533.13	209,277,371	—	—	1.5
10	7.995	槲皮素 7-(6'-乙酰葡萄糖苷) <sup>[5]</sup>	$C_{23}H_{22}O_{13}$	505.10	178,300	—	—	4.52
11	8.103	芹菜素-7- <i>O</i> -葡萄糖醛酸苷 <sup>[13]</sup>	$C_{21}H_{18}O_{11}$	445.08	113,175,269	7.59	20.34	1.48
12	8.453	槲皮苷 <sup>[12]</sup>	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.09	179,301	1.98	1.48	22.85
13	8.509	6- <i>O</i> -甲基黄酮苷 <sup>[12]</sup>	$C_{22}H_{20}O_{12}$	475.09	113,175,299	6.01	6.63	—

注: —表示未检测到该成分。

## 2.5 抗氧化活性评价

### 2.5.1 供试液制备

取各部位乙醇提取液适量, 浓缩除去乙醇后冷冻干燥, 精密称取适量粉末, 50% DMSO 溶解并稀释成不同质量浓度, 即得。

### 2.5.2 $IC_{50}$ 值计算

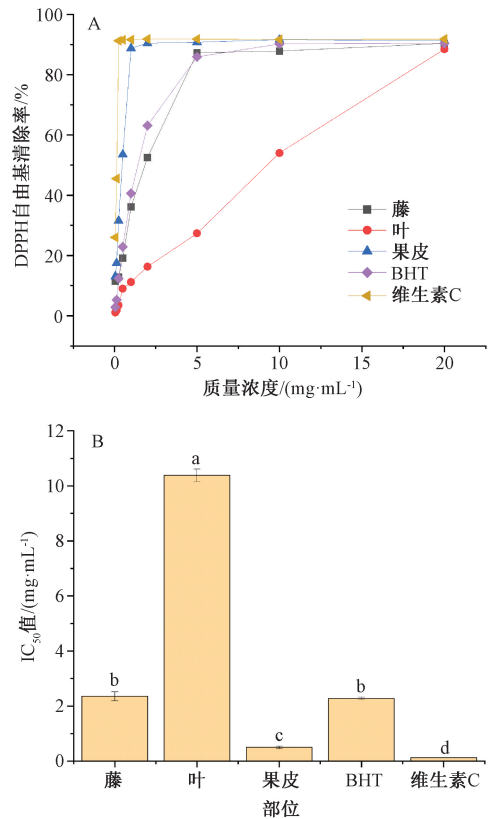
以样品质量浓度为横坐标, 自由基清除率为纵坐标进行回归, 计算样品对自由基的  $IC_{50}$  值 (清除率达到 50% 时样品质量浓度), 其数值越小, 抗氧化活性越强<sup>[16]</sup>。

### 2.5.3 DPPH 自由基清除能力

参照任美燕等<sup>[17]</sup>报道的方法, 并略作修改。取不同质量浓度供试液各 0.1 mL, 加入 4 mL 50 mg/L DPPH 甲醇溶液, 摇匀, 室温避光反应 30 min。将 0.1 mL 50% DMSO 和 4 mL 甲醇混匀, 作为空白对照, 维生素 C、BHT 作为阳性对照, 在 517 nm 波长处测定吸光度, 平行 3 次, 计算 DPPH 自由基清除率, 公式

为清除率 =  $(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\%$ , 其中  $A_0$  表示

DMSO、DPPH 自由基吸光度,  $A_1$  表示样品液、DPPH 自由基吸光度,  $A_2$  表示样品液、甲醇吸光度, 结果见图 3。由图 3A 可知, 随着提取物质量浓度增加 DPPH 自由基清除率升高, 并且藤、叶、果皮、BHT、维生素 C 分别在前者升至 5、20、1、5、0.25 mg/mL 后趋于平衡。由图 3B 可知, 藤、叶、果皮、BHT、维生素 C 对 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值分别为 2.36、10.38、0.50、2.28、0.13 mg/mL, 即清除能力依次为维生素 C>果皮>BHT=藤>叶。



注: 不同小写字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

图 3 倒地铃各部位对 DPPH 自由基清除能力的影响  
Fig. 3 Effects of various parts of *C. halicacabum* on scavenging capacity of DPPH free radical

### 2.5.4 ABTS 自由基清除能力

参照安容苗等<sup>[18]</sup>报道的方法, 并略作修改。制备 14.0 mmol/L ABTS

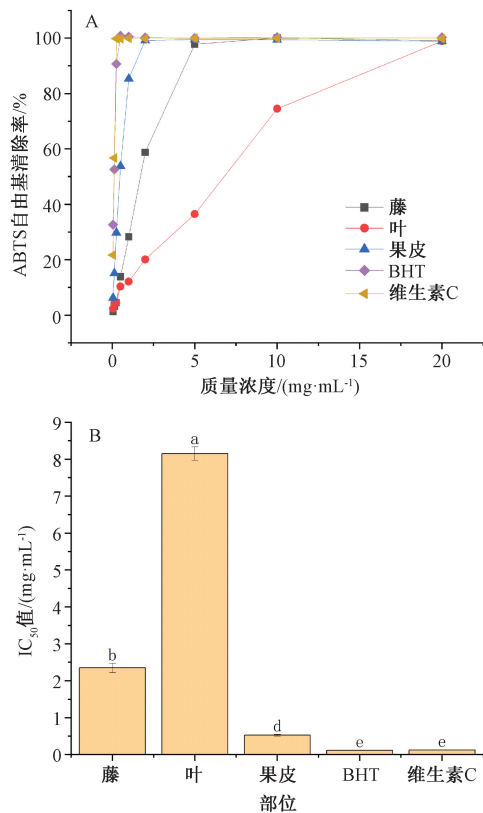
溶液、4.9 mmol/L 过硫酸钾溶液，各取 10 mL，混合均匀，室温避光保存 16 h 以上以充分反应，纯化水稀释，在 734 nm 波长处测得其平均吸光度为  $0.7 \pm 0.2$ ，即为 ABTS 自由基工作液。取不同质量浓度供试液各 0.1 mL，加入 5 mL ABTS 自由基工作液，摇匀，静置反应 6 min，将 0.1 mL 50% DMSO 和 5 mL 纯化水混匀，作为空白对照，维生素 C、BHT 作为阳性对照，在 734 nm 波长处测定吸光度，平行 3 次，计算 ABTS 自由基清除率，公式为清除率 =  $(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\%$ ，其中  $A_0$  表示 DMSO、ABTS 自由基吸光度， $A_1$  表示供试液、ABTS 自由基吸光度， $A_2$  表示供试液、纯化水吸光度，结果见图 4。由图 4A 可知，随着提取物质量浓度增加 ABTS 自由基清除率升高，藤、叶、果皮、BHT、维生素 C 分别在前者升至 5、20、1、0.25、0.25 mg/mL 后趋于平衡。由图 4B 可知，藤、叶、果皮、BHT、维生素 C 对 ABTS 自由基的  $IC_{50}$  值分别为 2.35、8.15、0.52、0.11、0.12 mg/mL，即清除能力依次为维生素 C = BHT > 果皮 > 藤 > 叶。

### 3 讨论与结论

倒地铃黄酮组成复杂，以单一成分进行考察时可能无法保证该药材整体质量。本实验以总黄酮、槲皮苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷提取量为评价指标，在保证总黄酮提取的同时兼顾活性物质，提高了评价的客观性，使其提取更充分，并且优化后提取工艺稳定可靠，重复性良好。

黄酮因其酚羟基结构而具有抗氧化活性，其数量和位置会直接影响作用强弱，以 B 环上最强，A 环上最弱<sup>[19]</sup>；槲皮苷 B 环上含抗氧化活性较强的邻二酚羟基，并且强于该环上仅含对酚羟基的芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷<sup>[20]</sup>，故倒地铃果皮抗氧化活性强于叶。另外，倒地铃不同部位抗氧化活性与其总黄酮含量呈正相关，即果皮 > 藤 > 叶。

综上所述，黄酮作为倒地铃主要活性物质，在医药、保健品等领域具有巨大的发展潜力和广阔的应用前景，但目前国内对该类成分提取方法、分析鉴定、生物活性、作用机制等方面的研究较少。本实验优化倒地铃不同部位黄酮提取工艺，并分析其化学成分，评价其抗氧化活性，发现该药材组成和活性均存在较大差异，可为其开发利用提供更科学可靠的依据。



注：不同小写字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

图 4 倒地铃各部位对 ABTS 自由基清除能力的影响  
Fig. 4 Effects of various parts of *C. halicacabum* on scavenging capacity of ABTS free radical

### 参考文献:

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草 (第 5 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 3969.
- [2] 贵州省中医研究所. 贵州中草药名录 [M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1988: 319.
- [3] 西庆男, 林坤河, 韦建华. 倒地铃化学成分和药理活性的研究进展 [J]. 广州化工, 2019, 47(17): 17-23.
- [4] 赵坤婷, 谢敏婷, 刘一蕊, 等. 倒地铃黄酮类成分研究现状和应用前景 [J]. 今日药学, 2024, 34(9): 699-703.
- [5] 薛咏兰, 周映佑, 滕钰. 倒地铃总黄酮提取工艺优化、稳定性考察和成分分析 [J]. 中国现代中药, 2025, 27(7): 1328-1336.
- [6] 李芳, 陈华伟, 钟军华, 等. 槲皮苷对非酒精性脂肪肝大鼠肝纤维化和炎症作用研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(12): 1753-1757.
- [7] 韩星, 李雪岩, 杨海洋, 等. 菊花水提物的质量控制成分筛选及其网络药理学作用研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(23): 3258-3265.
- [8] 陈君, 裴世成, 吴钢. 不同采收期倒地铃总黄酮及芦丁的含量变化 [J]. 广西科技大学学报, 2015, 26(4): 6-8; 16.
- [9] 张越. 砂仁中黄酮类化合物的提取及其生物活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.

- [10] 覃川娟, 何泽源, 黄清霞, 等. 一测多评法同时测定壮药倒地铃中6种黄酮类成分[J]. 广西中医药, 2023, 46(4): 65-70.
- [11] 瞿璐, 陈亚容, 何媛媛, 等. 多指标综合评分法结合正交试验优化过敏煎水提工艺[J]. 中药材, 2024, 47(5): 1236-1239.
- [12] 熊诗蓓, 邓闯, 范益飞, 等. 山茶各部位黄酮提取工艺优化及提取物成分分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 168-179.
- [13] 陆国寿, 黄周锋, 张赟赟, 等. 利用液相色谱-质谱联用法结合分子网络技术分析杉叶的化学成分[J]. 东北林业大学学报, 2023, 51(10): 47-53; 61.
- [14] Cheng H L, Zhang L J, Liang Y H, et al. Antiinflammatory and antioxidant flavonoids and phenols from *Cardiospermum halicacabum* (Dào Dì Líng) [J]. *J Tradit Complement Med*, 2013, 3(1): 33-40.
- [15] 张维琦, 陆希, 李华莹, 等. 桑寄生科植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2024, 47(4): 1030-1044.
- [16] 陈馨, 张欣然, 牟立婷, 等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap-MS鉴定黄芩的化学成分及血中移行成分[J]. 中草药, 2023, 54(9): 2722-2732.
- [17] 任美燕. 红薯叶黄酮超声提取工艺优化、抗氧化及抑菌研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(1): 224-232.
- [18] 安容苗, 袁婷, 郭雪峰. 箭竹属竹叶中黄酮类成分分析及其抗氧化活性[J]. 林产化学与工业, 2023, 43(1): 97-103.
- [19] 侯敏娜, 侯少平, 胡亚茹, 等. 黄芪总黄酮体外抗氧化性及抑菌活性的研究[J]. 华西药学杂志, 2022, 37(4): 380-384.
- [20] 刘杰, 王伯初, 彭亮, 等. 黄酮类抗氧化剂的构-效关系[J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2004, 27(2): 120-124.

## 基于量值传递与化学计量学评价丹参水提液纯化工艺

刘欢<sup>1</sup>, 刘红波<sup>1\*</sup>, 朱华旭<sup>2\*</sup>, 唐志书<sup>1,3</sup>, 樊修和<sup>1</sup>, 李碧霞<sup>1</sup>, 陆子游<sup>1</sup>, 郭冉<sup>1</sup>, 韩佳谊<sup>1</sup>

[1. 陕西中医药大学, 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 秦药特色资源研究与开发国家重点实验室(培育), 面向中药绿色制造的膜技术研究应用陕西省高校工程研究中心, 陕西 咸阳 712083; 2. 南京中医药大学, 江苏省植物药深加工工程研究中心, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023; 3. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029]

**摘要:** 目的 评价丹参水提液纯化工艺。方法 以总固体物、总酚酸及丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B 含量为关键质量属性, 建立 HPLC 指纹图谱, 进行主成分分析、聚类分析和正交偏最小二乘判别分析, 比较 2 种纯化方法对水提液基本理化性质、高分子杂质及其干燥物吸湿性的影响。**结果** 在超滤纯化工艺下, 4 种指标成分转移率高于在醇沉纯化工艺下。在超滤、醇沉纯化过程中, 水提液主要物质成分群均可较完整地传递, 超滤工艺在水提液成分转移率方面优于醇沉工艺, 醇沉法对蛋白质、果胶、淀粉高分子物质的去除效果整体上强于超滤法。**结论** 本实验通过指标成分转移率、HPLC 指纹图谱、基本理化性质、化学计量学等综合评价手段, 为丹参水提液纯化工艺优化提供了理论基础与实际参考。

**关键词:** 丹参水提液; 纯化工艺; 超滤; 醇沉; 量值传递; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2026)06-1823-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.007

收稿日期: 2026-02-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(82374046, 82274107); 陕西省重点研发计划项目(2024CY-JJQ-72); 陕西省中医药科研创新人才项目(2025-CXRC-04); 陕西中医药大学科技创新人才体系建设项目(2023-LJRC-04); 秦创原中医药产业创新聚集区项目(L2024-QCY-ZYYJJQ-X187)

作者简介: 刘欢(1998—), 男, 硕士在读, 从事中药制药新技术研究、应用工作。E-mail: 176991363394@163.com

\*通信作者: 刘红波(1987—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制药新技术研究。E-mail: 1501010@sntcm.edu.cn

朱华旭(1972—), 女, 博士, 研究员, 从事中药制药分离原理及其资源循环利用研究。E-mail: huaxu72@126.com