

密蒙花与其替代品结香总提物体外抗氧化活性作用的比较研究

李冉¹, 谢国勇^{1*}, 韩宇¹, 魏晓楠², 秦民坚^{1*}

1. 中国药科大学 中药学院 中药资源学系, 江苏 南京 210009

2. 衡水市冀州区医院, 河北 衡水 053200

摘要: **目的** 通过体外抗氧化活性检测, 比较密蒙花与其替代品结香总提物体外抗氧化能力的差异。**方法** 采用福林酚法测定密蒙花、结香总提物中总酚, 并采用 DPPH 自由基清除能力法、ABTS 清除能力法、Fe³⁺还原能力法和 Fe²⁺螯合能力法分别测定两者体外抗氧化能力, 选取维生素 C 和 EDTA-Na₂ 作为阳性对照。**结果** 密蒙花中总酚为结香的 3~5 倍; 除亚铁离子螯合试验外, 密蒙花的抗氧化作用均明显优于结香, 这与总酚的量呈正相关性。**结论** 两者总提取物中总酚和抗氧化能力差异显著, 密蒙花明显优于结香。

关键词: 密蒙花; 结香; 抗氧化能力; DPPH 自由基

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2018)02-0225-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.02.004

Comparison on antioxidant activities *in vitro* between *Buddleja officinalis* and *Edgeworthia chrysantha*

LI Ran¹, XIE Guo-yong¹, HAN Yu¹, WEI Xiao-nan², QIN Min-jian¹

1. Department of Resources Science of Traditional Chinese Medicines, School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. Hengshui Jizhou District Hospital, Hengshui, 053200, China

Abstract: objective To compare the antioxidant activity *in vitro* of total extraction for *Buddleja officinalis* Maxim. and its substitute *Edgeworthia chrysantha* Lindl. **Methods** The contents of total phenolic were determined by Folin-Ciocalteu method. Antioxidant abilities of *B. officinalis* and *E. chrysantha* *in vitro* were determined using the method of DPPH free radical clear ability, ABTS clear ability, Fe³⁺ reduction ability, and Fe²⁺ chelating capacity, and V_C and EDTA-Na₂ were selected as positive control. **Results** The total phenolic content of the *B. officinalis* was about 3 — 5 times that of the *E. chrysantha*. Except for Fe²⁺ chelation test, the antioxidant effect of the *B. officinalis* was clearly superior to *E. chrysantha*, which was positively correlated with the contents of the total phenolic. **Conclusion** The total phenolic content and antioxidant capacity of both are significant different, and *B. officinalis* is better than that of *E. chrysantha*.

Key words: *Buddleja officinalis* Maxim.; *Edgeworthia chrysantha* Lindl.; antioxidant ability; DPPH free radical

密蒙花为马钱科醉鱼草属植物密蒙花 *Buddleja officinalis* Maxim. 的干燥花蕾和花序, 始载于《开宝本草》, 为中国药典收载品种, 用于目赤肿痛, 多泪羞明, 目生翳膜, 肝虚目暗, 视物昏花^[1]。结香 *Edgeworthia chrysantha* Lindl. 属于瑞香科结香属植物, 始载于《群芳谱》, 其根、茎、花可分别入药,

其花蕾具有明目退翳的效果, 市场上常代密蒙花药用, 称为新蒙花^[2]。密蒙花主要含有苯乙醇苷类、黄酮类成分^[3], 结香中则以香豆素类、黄酮类成分为主^[4], 两者物质基础差异较大, 因此是否可以替代使用值得商榷。目前有关于两者的鉴别多集中于性状、紫外光谱、薄层色谱、显微等方面^[5-10]。李

收稿日期: 2017-08-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503220); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20150706)

作者简介: 李冉 (1993—), 女, 硕士, 从事中药资源研究。Tel: 18019553302 E-mail: 18019553302@163.com

*通信作者 谢国勇 (1985—), 男, 讲师, 博士, 从事中药资源研究。Tel: (025)86185130 E-mail: guoyongxie321@163.com

秦民坚, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药资源与开发研究。E-mail: minjianqin@163.com

秀兰等^[11]对两者进行了抑菌作用研究,发现密蒙花的抑菌作用较结香强。本实验选取4个指标,对两者体外抗氧化能力进行比较研究。

1 仪器和材料

Epoch Microplate Spectrophotometer 酶标仪 (Bio Tek Instruments); 5417R 高速控温离心机 (德国 Eppendorf); TDL-40B 低速台式离心机 (上海安亭科学仪器制造厂); ULUP-IV-20T 优普超纯水系统 (成都超纯水有限公司); KH5200DB 数控型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); MSE 分析天平 (北京赛多利斯天平有限公司); QE-100 万能粉碎机 (浙江屹立工贸有限公司); 单通道移液枪 (德国 Eppendorf); 96 孔板 (Nuncclon)。

没食子酸对照品 (质量分数 97.5%~102.5%, 货号 G7384, 美国 Sigma)、福林酚 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 F8060)、 Na_2CO_3 (分析纯, 南京化学试剂有限公司); 抗坏血酸 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 10004014); 1,1-二苯基-2,2-二硝基苯肼 (DPPH, 美国 Sigma, 货号 D9132); 甲醇 (色谱纯, 江苏汉邦科技有限公司); 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (ABTS, 质量分数 98%, 货号 A109612)、过硫酸钾 (质量分数 99.99%, 货号 P112194)、菲啰嗦 (质量分数 97%, 货号 P113310) 均购自阿拉丁工业公司; 铁氰化钾 (质量分数 99%, 批号 P816309)、三氯乙酸 (质量分数 99%, 批号 T818876) 均购自上海麦克林试剂公司; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 FeCl_2 、 $\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (国药集团化学试剂有限公司)。

密蒙花和结香经笔者鉴定,中国药科大学秦民坚教授复核,确定为马钱科醉鱼草属植物密蒙花 *Buddleja officinalis* Maxim. 的干燥花蕾和花序、瑞香科结香属结香 *Edgeworthia chrysantha* Lindl. 的干燥花蕾,见表1。

表1 密蒙花、结香样品来源信息

Table 1 Source information of *B. officinalis* and *E. chrysantha*

样品	批号	购买地	购买时间
密蒙花	M-1	广西玉林	2015-03
	M-2	安徽亳州	2015-03
	M-3	河北保定	2015-03
结香	J-1	上海	2015-09
	J-2	安徽亳州	2015-09
	J-3	西藏	2015-09

2 方法

2.1 总酚的测定

2.1.1 样品溶液的制备^[12] 分别精密称定密蒙花、结香粉末各 0.5 g, 平行 3 份, 置 50 mL 离心管中, 加入 80% 甲醇水溶液 15 mL, 超声提取 30 min 后, 1 500 r/min 下离心 10 min, 取上清, 残渣再加入 80% 甲醇 10 mL 重复提取 1 次, 合并上清液, 置 25 mL 量瓶中, 定容, 即得 20 mg/mL 的样品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品 12.52 mg, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 80% 甲醇溶解并加至刻度, 即得 500.8 $\mu\text{g/mL}$ 储备液。

2.1.3 标准曲线的建立 将没食子酸储备液用 80% 甲醇溶液稀释成 500.8、250.4、200.32、150.24、100.16、75.12、50.8 $\mu\text{g/mL}$ 。利用福林酚法^[13]: 取对照品溶液 200 μL , 加入 200 μL 福林酚试剂, 放置 5 min 后使充分混合, 精密加入 3% Na_2CO_3 溶液 7 mL, 混匀室温静置 1 h 后于 765 nm 处测定吸光值 (A) 值。取 80% 甲醇溶液 200 μL 作为空白溶液。以质量浓度为横坐标, A 值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=0.0013X+0.0761$ ($r^2=0.9990$), 结果表明在 50.8~500.8 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 取 150.24 $\mu\text{g/mL}$ 没食子酸对照品溶液, 于 765 nm 处连续测定 6 次 A 值, 结果其 RSD 值为 0.71%。

2.1.5 稳定性试验 取密蒙花 M-2、结香 J-1 样品, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、12、24、48 h 测定 A 值, 计算总酚的质量分数, 结果 RSD 值分别为 0.96%、0.65%。

2.1.6 重复性试验 取密蒙花 M-2、结香 J-1 样品, 各 5 份, 制备供试品溶液, 测定总酚的质量分数, 结果其 RSD 值分别为 1.45%、1.51%。

2.1.7 回收率试验 精密称取密蒙花 M-2、结香 J-1 样品各 0.25 g, 各 5 份, 分别精密加入没食子酸对照品适量, 制备供试品溶液, 测定总酚质量分数, 计算得平均加样回收率分别为 99.78%、100.07%, RSD 值分别为 3.65%、1.59%。

2.1.8 样品中总酚酸测定 将密蒙花提取液稀释至 10 mg/mL, 结香使用母液 (20 mg/mL)。取样品溶液 200 μL , 进行测定, 利用回归方程计算样品溶液中折合没食子酸的治疗浓度, 总酚质量分数以每克干药材中没食子酸质量计 (mg/g)。

2.2 DPPH 自由基清除作用的测定

参照 Yuan 等^[13]的方法。精密称取 4.05 mg

DPPH 溶解于 200 mL 甲醇中, 配制反应试剂(避光冷藏于 4 °C 冰箱中)。取 200 μ L 样品溶液(密蒙花样品质量浓度 2.000、1.500、1、0.750、0.500、0.250、0.125 mg/mL, 结香样品质量浓度 16、12、8、6、4、2、1 mg/mL), 精密移入 3 mL DPPH 溶液, 摇匀, 在室温条件下避光反应 30 min 后, 于 517 nm 处测定 A 值。用维生素 C 作为阳性对照(质量浓度分别为 80、60、40、20、10、5 μ g/mL), 计算清除率。

$$\text{DPPH 清除率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / A_{\text{对照}}$$

$A_{\text{样品}}$: 200 μ L 样品 + 3 mL DPPH 溶液; $A_{\text{空白}}$: 200 μ L 样品 + 3 mL 提取溶剂; $A_{\text{对照}}$: 200 μ L 提取溶剂 + 3 mL DPPH 溶液

2.3 ABTS 清除作用的测定

参照 Abdullah 等^[14]的方法。精密称取 ABTS 48.03 mg、过硫酸钾 8.25 mg 混合溶于 25 mL RO 水中 (ABTS 7 mmol/L、过硫酸钾 2.45 mmol/L), 室温避光放置 12 h, 后用 pH 7.4 的磷酸缓冲溶液 (PBS) 稀释 50 倍, 即得 ABTS 工作液(现配现用, 冰箱中保存)。取不同质量浓度样品 200 μ L (密蒙花样品质量浓度分别为 0.70、0.60、0.50、0.40、0.30、0.20、0.15 mg/mL, 结香样品质量浓度分别为 2.00、1.50、1.00、0.75、0.50、0.25 mg/mL), 加入 3 mL ABTS, 混合均匀, 避光反应 30 min, 于 734 nm 下测定 A 值。用维生素 C 作阳性对照(质量浓度分别为 50、40、30、20、15、10 μ g/mL), 计算清除率。

$$\text{ABTS 清除率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / A_{\text{对照}}$$

$A_{\text{样品}}$: 200 μ L 样品 + 3 mL ABTS 溶液; $A_{\text{空白}}$: 200 μ L 样品 + 3 mL PBS 溶液; $A_{\text{对照}}$: 200 μ L 提取溶剂 + 3 mL ABTS 溶液

2.4 三价铁离子还原能力的测定

参照 Basha 等^[15]的方法。新鲜配制 1% 铁氰化钾溶液 (0.500 g 定容至 50 mL)、0.1% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液 (0.166 8 g 定容至 100 mL)、10% 三氯乙酸溶液 (5.009 g 定容至 50 mL)。取不同质量浓度样品 500 μ L (密蒙花样品质量浓度分别为 2.50、2.00、1.50、1.00、0.75、0.50、0.25 mg/mL, 结香样品质量浓度分别为 16、12、8、6、4、2、1 mg/mL), 按顺序分别加入 PBS 溶液 (pH 6.6) 500 μ L、铁氰化钾溶液 500 μ L, 混合物于 50 °C 恒温水浴 20 min, 冷却后, 移入 500 μ L 三氯乙酸终止反应, 后于 4 000 r/min 下离心 10 min。精确吸取 500 μ L 上清液, 先后加入蒸馏水 500 μ L、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液 100 μ L, 混合反应 10 min, 于 700 nm 处测定 A 值。用维生素 C

作阳性对照(质量浓度分别为 120、90、60、45、30、15 μ g/mL), 计算还原能力 (OD)。

$$\text{三价铁离子还原能力(OD)} = \text{OD}_{\text{样品}} - \text{OD}_{\text{空白}}$$

OD 样品: 500 μ L 样品 + 反应试剂; OD 空白: 500 μ L 提取溶剂 + 反应试剂

2.5 亚铁离子螯合能力的测定

参照 Fakhfakh 等^[16]的方法。配制 2 mmol/L 氯化亚铁溶液 (3.99 mg 定容至 10 mL)、5 mmol/L 菲啰啉溶液 (24.69 mg 定容至 10 mL)、2 mmol/L EDTA- Na_2 溶液 (18.60 mg 定容至 25 mL)。取不同质量浓度样品 400 μ L (密蒙花样品质量浓度分别为 12、10、8、6、4、2、1 mg/mL, 结香样品质量浓度分别为 6.00、4.00、2.00、1.00、0.50、0.25 mg/mL), 先后加入氯化亚铁溶液 50 μ L、甲醇 2 mL、菲啰啉溶液 100 μ L, 充分混匀后于室温下反应 10 min, 在 562 nm 处测定 A 值。用 EDTA- Na_2 作阳性对照(浓度分别为 200、150、100、75、50、25 μ mol/L), 计算螯合率。

$$\text{亚铁离子螯合率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / A_{\text{对照}}$$

$A_{\text{样品}}$: 400 μ L 样品 + 反应试剂; $A_{\text{空白}}$: 400 μ L EDTA- Na_2 + 反应试剂; $A_{\text{对照}}$: 400 μ L 提取溶剂 + 反应试剂

2.6 数据处理和统计分析

所有实验均平行操作 3 份, 利用 SPSS 19.0 和 Excel 软件进行数据统计分析及作图, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 样品中总酚的测定

批号 M-1、M-2、M-3 密蒙花中总酚质量分数分别为 (43.42 $\pm$ 0.18)、(38.59 $\pm$ 0.21)、(33.99 $\pm$ 0.34) mg/g, 批号 J-1、J-2、J-3 结香中总酚质量分数分别为 (10.53 $\pm$ 0.07)、(9.47 $\pm$ 0.05)、(8.50 $\pm$ 0.07) mg/g。结果表明, 密蒙花中总酚是结香的 3~5 倍。

3.2 DPPH 自由基清除作用

DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基(甲醇中显深紫色), 在 517 nm 处有强吸收, 当有抗氧化物质存在时, 溶液颜色将变浅吸光值降低。

将密蒙花、结香样品溶液稀释成不同质量浓度, 测定 A 值, 并计算样品的 DPPH 自由基清除率和半数抑制浓度 (IC_{50}) 值, 见图 1、表 1。可见随着样品浓度增加, DPPH 清除率也随之增加, 具有明显的量效关系。 IC_{50} 值越小, 清除效果越好, 因此密蒙花清除 DPPH 自由基能力优于结香, 与阳性对照比较, 维生素 C > 密蒙花 > 结香。

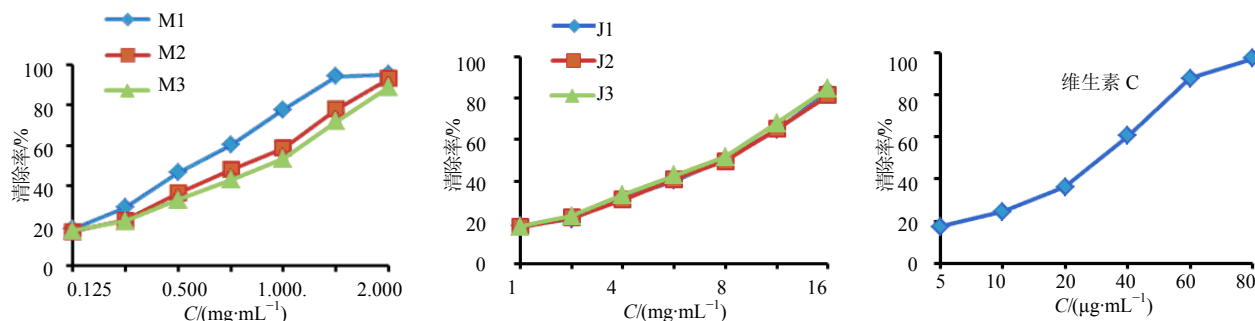


图1 DPPH 自由基清除作用测定结果

Fig. 1 Results of DPPH free radical scavenging activity

表1 抗氧化试验 IC_{50} 结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Table 1 Results of antioxidant test ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	批号	清除 DPPH 自由基 $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	清除 ABTS 自由基 $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	Fe^{3+} 还原 $EC_{50}/$ $(mg \cdot L^{-1})$	Fe^{2+} 螯合 $IC_{50}/$ $(mg \cdot L^{-1})$
密蒙花	M-1	0.41 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.72 ± 0.00	2.58 ± 0.01
	M-2	0.57 ± 0.00	0.33 ± 0.01	0.90 ± 0.00	2.36 ± 0.01
	M-3	0.67 ± 0.01	0.40 ± 0.00	1.13 ± 0.00	3.28 ± 0.02
结香	J-1	6.26 ± 0.27	0.81 ± 0.01	7.28 ± 0.04	1.08 ± 0.01
	J-2	6.43 ± 0.12	0.96 ± 0.01	6.74 ± 0.04	1.12 ± 0.03
	J-3	5.78 ± 0.05	0.77 ± 0.01	6.56 ± 0.05	1.45 ± 0.02
维生素 C		$18.34 \pm 0.22 \mu g \cdot L^{-1}$	$21.61 \pm 0.03 \mu g \cdot L^{-1}$	$46.05 \pm 0.21 \mu g \cdot L^{-1}$	
EDTA- Na_2					$87.95 \pm 0.21 \mu mol \cdot L^{-1}$

3.3 ABTS 自由基清除作用

ABTS 经活性氧化后可形成稳定的蓝色 ABTS 自由基, 在 734 nm 处有最大吸收, 自由基清除剂通过与其反应使得溶剂褪色, 颜色越浅, 吸光

值越小, 清除能力越强。从图 2 可知, 在试验浓度范围内, 样品浓度与清除率具有量效关系, 两者 IC_{50} 见表 1。可见密蒙花清除 ABTS 自由基能力也显著优于结香, 但都次于维生素 C。

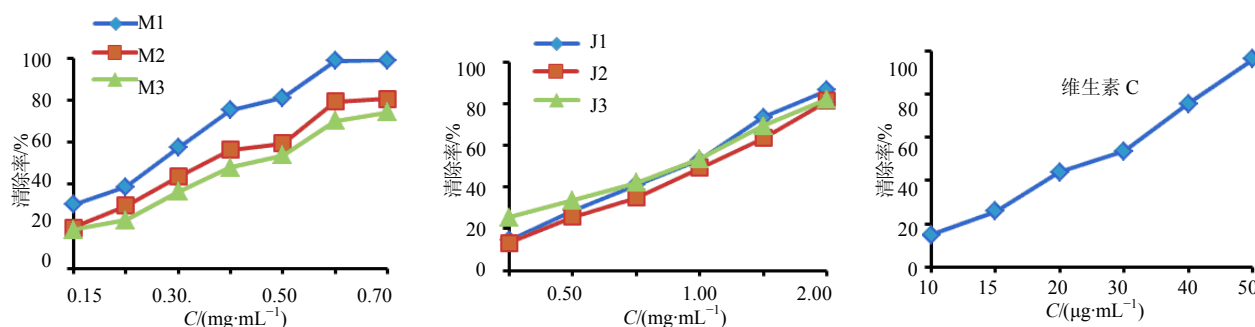


图2 ABTS 自由基清除作用测定结果

Fig. 2 Results of ABTS free radical scavenging activity

3.4 三价铁离子还原能力测定

体内过渡金属离子大多含有未配对电子 (如 Fe^{3+}), 它们可以催化自由基的形成, 具有抗氧化活性的物质可以通过自身的还原作用, 给出电子而清除自由基, 还原能力越强, 抗氧化性越强。由图 3

可知, 密蒙花和结香对三价铁离子均有一定的还原能力, 并具有剂量相关性。比较密蒙花与结香的半数有效浓度 (EC_{50}), 二者间存在显著性差异, 见表 1, 与上述两种指标一致, 密蒙花三价铁离子还原能力也显著优于结香, 但同样都次于维生素 C。

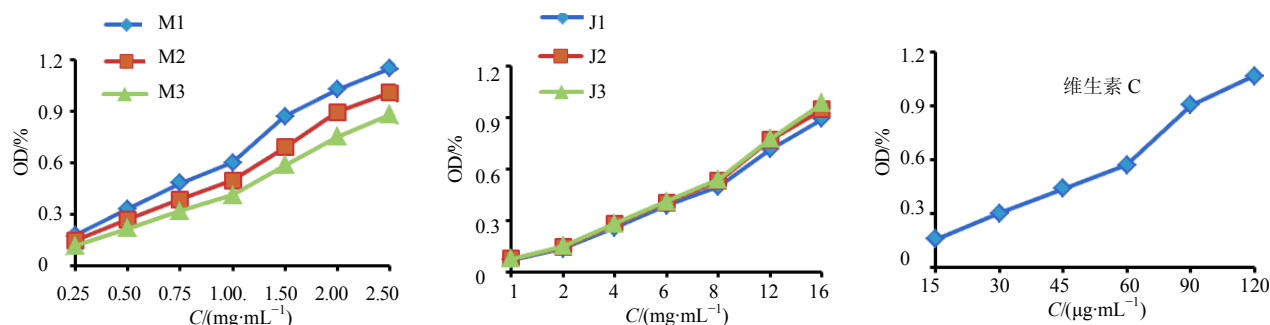


图3 三价铁离子还原能力测定结果

Fig. 3 Results of Fe^{3+} reduction ability

3.5 亚铁离子螯合能力测定

亚铁离子通过芬顿反应在体内产生自由基, 抗氧化剂可与 Fe^{2+} 螯合, 从而抑制自由基的生成。当加入菲啰啉试剂后, 即能与体系中剩余的 Fe^{2+} 形成紫红色络合物, 其在 562 nm 下有最大吸收, 颜色

越浅则样品溶液螯合能力越强。由图 4 及比较 IC_{50} (表 1) 可得, 结香的亚铁离子螯合能力远比密蒙花强, 这与前面 3 种指标所得结果有所区别。阳性对照 EDTA- Na_2 的 IC_{50} 为 87.95 $\mu\text{mol/L}$, 显示出极显著的螯合能力。

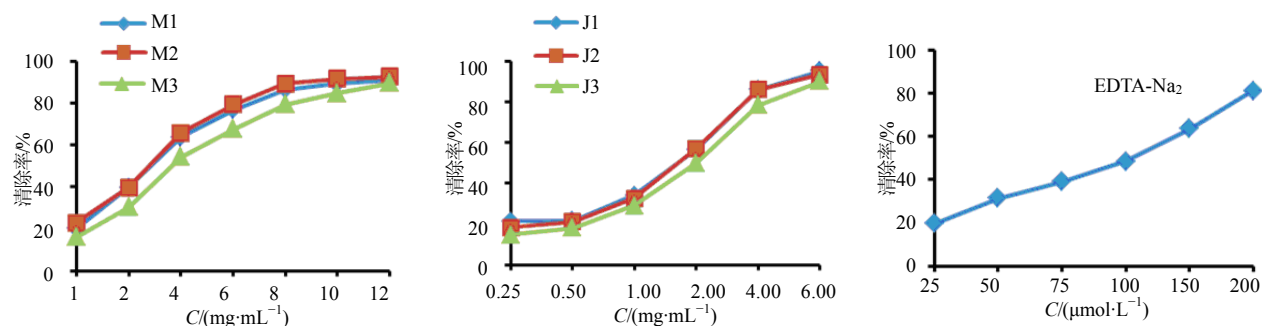


图4 亚铁离子螯合能力测定结果

Fig. 4 Results of Fe^{2+} chelating capacity

4 讨论

密蒙花(中国药典收载)和结香均具有治疗眼部疾病的作用, 但两者不属于同科属植物, 前期文献研究已表明两者所含化学成分不同, 也没有明确的研究证明两者具有相同的治疗作用, 因此市场上用结香来替代密蒙花使用值得商榷。自由基是人体内新陈代谢过程中产生的, 它与机体衰老和一些疾病的产生关系密切, 如癌症、动脉粥样硬化、老年痴呆和部分眼部疾病等^[17-18]。本实验通过比较两者对自由基的清除能力, 能从一定程度上反映出两者活性的差异。基于单一抗氧化指标并不能很好反映两者的效果好坏, 因此本实验采用了 4 个指标对密蒙花、结香的醇提液进行抗氧化能力的比较研究。

从实验结果可知, 虽然二者的活性均弱于阳性对照(维生素 C 和 EDTA- Na_2), 但也具有较好的活性, 且随其质量浓度的增加而增大。在 DPPH 自由

基、ABTS 自由基清除能力测定及 Fe^{3+} 还原能力测定 3 个试验中, 密蒙花的抗氧化活性较高, 这与总酚测定结果相一致(密蒙花中总酚为结香的 3~5 倍)。在 Fe^{2+} 螯合能力测定试验中, 则是结香的抗氧化活性较高, 这说明抗氧化能力不仅与其中的酚类物质有关, 还可能与其他化学成分有关。已知密蒙花中主要含有苯乙醇苷类(毛蕊花糖苷)、黄酮类(蒙花苷)等成分, 其中毛蕊花糖苷是密蒙花中含量最高的物质^[19], 且具有较强的抗氧化能力, 这从一方面决定了密蒙花会具有较为显著的抗氧化能力。结香中是以香豆素类、黄酮类成分为主, 这些成分可能与亚铁离子螯合能力较强, 但在自由基清除和还原能力方面活性较差。

综上所述, 密蒙花的抗氧化能力优于结香, 但不能仅以抗氧化能力的强弱决定其对眼部疾病的作用, 因此结香是否可作为密蒙花的替代品, 还有

待进行一步的药效研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 329.
- [2] 肖培根. 新编中药志 [M]. 第2卷. 北京: 化学工业出版社, 2002: 800.
- [3] 石璐, 谢国勇, 王飒, 等. 密蒙花的药学研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2016, 35(3): 34-40.
- [4] 童胜强, 颜继忠, 叶拥军, 等. 结香花化学成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(01): 44-45.
- [5] 高宾, 郭淑珍, 肖玲. 密蒙花的真伪鉴别 [J]. 首都医药, 2013(13): 46.
- [6] 方芳. 密蒙花与伪品结香的鉴别 [J]. 实用中医药杂志, 2008, 24(9): 607.
- [7] 蒲宇红, 王晓义. 密蒙花与伪品结香花的鉴别 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1280.
- [8] 孙永法, 庄衍秀, 刘秀华, 等. 密蒙花与3种易混品的理化鉴别 [J]. 山东中医杂志, 2000, 19(9): 551-552.
- [9] 夏丽. 密蒙花与常见伪品结香的鉴别 [J]. 人参研究, 1999, 11(1): 37.
- [10] 张金泉. 密蒙花与结香的鉴别 [J]. 中药通报, 1985, 10(8): 19.
- [11] 李秀兰, 孙光洁, 戴树培, 等. 密蒙花/结香有效成分的抑菌作用 [J]. 西北药学杂志, 1996, 11(4): 165-166.
- [12] 石璐. 密蒙花的化学成分与质量分析研究 [D]. 南京: 中国药科大学, 2016.
- [13] Yuan J, Hao L J, Wu G, *et al.* Effects of drying methods on the phytochemicals contents and antioxidant properties of *chrysanthemum* flower heads harvested at two developmental stages [J]. *J Funct Foods*, 2015, 19: 786-795.
- [14] Abdullah M Z, Ali J M, Abolmaesoomi M, *et al.* Anti-proliferative, *in vitro* antioxidant, and cellular antioxidant activities of the leaf extracts from *Polygonum minus* Huds: Effects of solvent polarity [J]. *Int J Food Prop*, 2017, 20(sup1): s846-s862.
- [15] Basha AS, Maheswaraiha A, Prasada R U J S. Antioxidant profile, acetylcholinesterase inhibition, and platelet aggregation of polyphenols and proteins from germinating green gram (*Vigna radiata*) [J]. *Int J Food Prop*, 2017, 20(sup1): s959-s971.
- [16] Fakhfakh N, Abdelhedi O, Jdir H, *et al.* Isolation of polysaccharides from *Malva aegyptiaca* and evaluation of their antioxidant and antibacterial properties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105(part 2): 1519-1525.
- [17] 谷新怡, 刘爱伟, 苏艳, 等. 黄芪在眼科疾病中的应用研究进展 [J]. 中国中医眼科杂志, 2016, 26(1): 46-49.
- [18] 李勇, 孔令青, 高洪, 等. 自由基与疾病研究进展 [J]. 动物医学进展, 2008, 29(4): 85-88.
- [19] 朱露, 雷鹏, 刘海涛, 等. HPLC同时测定密蒙花中毛蕊花苷、蒙花苷的含量 [J]. 中药实验方剂学杂志, 2014, 20(13): 76-79.