



胡馨睿,陶秀花,谢雄雄,等.锐尖山香圆叶片不同乙醇浓度提取物的化学成分及其生物活性分析[J].江西农业大学学报, 2025, 47(6): 1482–1491.

HU X R,TAO X H,XIE X X,et al.Chemical composition and biological activity of ethanol gradient extracts from *Turpinia arguta* leaves[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2025,47(6):1482–1491.

锐尖山香圆叶片不同乙醇浓度提取物的化学成分及其生物活性分析

胡馨睿¹,陶秀花²,谢雄雄²,邓绍勇²,李盛春²,夏诗琪²,
胡小红²,杨小丽^{2*},蔡军火^{1*}

(1.江西农业大学 林学院,江西 南昌 330045;2.江西省林业科学院,江西 南昌 330013)

摘要:【目的】采用不同浓度乙醇提取锐尖山香圆叶片,测定提取物中的有效成分含量,并评估其抗氧化和抗炎活性,综合筛选出提取效率与生物活性俱佳的乙醇浓度,以期山香圆药材的粗提工艺优化提供参考依据。【方法】采用水提醇沉法和梯度乙醇溶液(10%、30%、50%、70%、90%)提取锐尖山香圆叶,获得不同浓度乙醇提取物,通过紫外分光光度法测定提取物的总多酚、总黄酮含量,高效液相色谱法检测女贞苷、野漆树苷及熊果酸含量;通过 DPPH、ABTS 自由基清除试验和 FRAP 总抗氧化能力测试,评价各提取物的抗氧化能力;通过 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞建立 NO 炎症因子模型,评价提取物的抗炎活性。【结果】乙醇浓度对有效成分的提取率影响较大,70% 乙醇组呈现较优综合提取效能,其女贞苷、野漆树苷、熊果酸、总多酚含量均高于其他组,90% 乙醇组次之,10% 乙醇组最低。在总黄酮含量对比中,90% 乙醇组最高,但与 70% 乙醇组无明显区别,结合溶剂成本效益分析,70% 乙醇可能为工艺优化平衡点。抗氧化活性测试结果表明,总多酚和总黄酮含量与抗氧化、抗炎指标呈显著正相关($P<0.05$);70% 乙醇提取物在 DPPH(清除率为 62.7%)、ABTS(清除率为 70%)和 FRAP(总抗氧化能力为 0.29 $\mu\text{mol Trolox/mL}$)试验中表现最优;抗炎活性结果表明,在给药质量浓度为 0.075 mg/mL 时,70% 乙醇提取物和 90% 乙醇提取物表现出良好的 NO 炎症因子抑制活性,抑制率分别为 74.24%、76.89%。【结论】70% 乙醇是提取锐尖山香圆叶片活性成分的较优溶剂体积分数。该体积分数提取物不仅有效富集了女贞苷、野漆树苷、熊果酸、总多酚及总黄酮(含量与 90% 乙醇相当)等关键活性物质,且展现出较好的综合抗氧化(DPPH、ABTS 清除率及 FRAP 值最高)和抗炎活性(NO 抑制率 74.24%)。研究结果表明,70% 乙醇在生物活性化合物得率、功能活性和经济成本效益之间实现了较佳平衡。其高效性可能归因于中等极性的乙醇溶剂对中等极性及其低等极性化合物(如三萜类的熊果酸、中等极性黄酮苷类化合物)以及强极性多酚类化合物均具有良好的溶解性。这种广泛的溶解特性克服了单一极性溶剂的局限性,实现了对植物中不同极性范围活性成分的同步高效提取。从产业化角度考虑,70% 乙醇具有显著优势:相比高浓度乙醇,可降低 20%~25% 的溶剂成本;多批次重复试验显示工艺 RSD<3%,具有工艺稳定性;经减压回收后残留乙醇无毒无害,安全性能较好。本研究为锐尖山香圆药材的标准化粗提工艺、质量控制及后续制剂开发提供了一定的数据支撑。未来研究可深入探索提取物中化合物间的协同作用,并通过体内模型验证其活性,如通过等效线图法分析女贞苷与熊果酸的协同效应,建立角叉菜胶致大鼠足肿胀等炎症模型以进行体内验证,探索纳米乳剂等新型递药系统以提高生物利用

收稿日期:2025-05-09 修回日期:2025-07-03

基金项目:江西省自然科学基金青年基金项目(20242BAB20257)

Project supported by the Youth Fund Project of Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20242BAB20257)

作者简介:胡馨睿,硕士生,orcid.org/0009-0009-2077-2722,2564537341@qq.com; *通信作者:杨小丽,助理研究员,博士,主要从事中药材化学成分与药理活性研究,orcid.org/0009-0001-6695-7636, yangxiaoli@jxlky.cn; 蔡军火,教授,博士,博士生导师,主要从事球根花卉的开花调控与应用研究,orcid.org/0000-0002-7731-4492, cjhuo7692@163.com。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取 CC BY-NC-ND 协议

度,建立以野漆树苷和熊果酸为双指标成分的HPLC指纹图谱。工业应用层面,建议考虑采用70%乙醇作为主溶剂的多级萃取工艺,以期最大化资源利用率和活性成分的综合回收率。

关键词:锐尖山香圆;女贞苷;野漆树苷;乙醇提取;抗氧化活性;抗炎活性

中图分类号:S567.23⁹;R284.2

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2286(2025)06-1482-10

CSTR:32399.14.aauj.2025128



Chemical composition and biological activity of ethanol gradient extracts from *Turpinia arguta* leaves

HU Xinrui¹, TAO Xiuhua², XIE Xiongxiang², DENG Shaoyong², LI Shengchun²,
XIA Shiqi², HU Xiaohong², YANG Xiaoli^{2*}, CAI Junhuo^{1*}

(1.College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2.Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330013, China)

Abstract: [Objective] Ethanol solutions of different concentrations were used to extract the leaves of *Turpinia arguta*, followed by the determination of active ingredient contents in the extracts, the evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory activities, and the comprehensive screening of the optimal ethanol concentration with high extraction efficiency and favorable biological activities. This study is intended to provide a reference for the optimization of the crude extraction process of *Turpinia arguta* medicinal materials. [Method] The extraction was performed using water extraction-alcohol precipitation and gradient ethanol solutions (10%, 30%, 50%, 70%, and 90%). The contents of total polyphenols and total flavonoids were determined by ultraviolet spectrophotometry, while the concentrations of specnuezhenide, rhoifolin, and ursolic acid were quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC). Antioxidant activities were assessed through DPPH and ABTS radical scavenging assays, as well as the ferric reducing antioxidant power (FRAP) test. Anti-inflammatory activity was evaluated by measuring the inhibitory effects of extracts on nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. [Result] Ethanol concentration significantly influenced the extraction efficiency of bioactive constituents. The 70% ethanol group demonstrated superior comprehensive extraction performance, yielding the highest contents of specnuezhenide, rhoifolin, ursolic acid, and total phenolics compared to other concentrations. Extracts using 90% ethanol ranked second, while the 10% ethanol group showed the lowest yields. In terms of total flavonoid content, the 90% ethanol extract exhibited the highest level among all groups; however, no significant difference ($P>0.05$) was observed between the 90% and 70% ethanol groups. Considering solvent cost-benefit analysis, 70% ethanol likely represents the optimal equilibrium point for process optimization. Antioxidant activity assays revealed significant positive correlations ($P<0.05$) between total phenolic/flavonoid contents and antioxidant/anti-inflammatory indices. The 70% ethanol extract displayed optimal antioxidant capacity across all tests: DPPH radical scavenging rate (62.7%), ABTS radical scavenging rate (70%), and FRAP value (0.29 $\mu\text{mol Trolox/mL}$). For anti-inflammatory activity, at a concentration of 0.075 mg/mL, both 70% and 90% ethanol extracts demonstrated substantial inhibition of NO production, with inhibition rates of 74.24% and 76.89%, respectively. [Conclusion] 70% ethanol represents an optimal solvent concentration for extracting active constituents from *Turpinia arguta* leaves. Extracts obtained using this concentration effectively enriched key bioactive compounds, including ligustroflavone, rhoifolin, ursolic acid, total phenolics, and total flavonoids (with flavonoid content comparable to 90% ethanol extracts). Furthermore, they exhibited superior comprehensive bioactivity, demonstrating the highest antioxidant capacity (as evidenced by DPPH and ABTS radical scavenging rates, and FRAP values) and significant anti-

inflammatory activity (NO inhibition rate of 74.24%). These results indicate that 70% ethanol achieves an optimal balance between bioactive compound yield, functional activity, and economic feasibility. The high extraction efficiency likely stems from the favorable solvation properties of this medium-polarity solvent. Specifically, 70% ethanol exhibits strong dissolving capacity for diverse target compounds spanning medium-polarity (e. g., medium-polarity flavonoid glycosides), medium-to-low polarity (e. g., triterpenoids such as ursolic acid), and polar polyphenols. This broad-spectrum solvation capability overcomes the limitations of single-polarity solvents, enabling simultaneous and efficient extraction of bioactive compounds with diverse polarity ranges from plant materials. From the perspective of industrialization, 70% ethanol demonstrates distinctive advantages. Compared with high-concentration ethanol, it can reduce the solvent cost by 20%–25%. Multi-batch repeated experiments show that the relative standard deviation (RSD) of the process is less than 3%, indicating good process stability. After vacuum recovery, the residual ethanol is non-toxic and harmless, with favorable safety performance. This study provides valuable data to support the standardization of the primary extraction process, quality control, and subsequent formulation development of *Turpinia arguta* crude drugs. Future research could further explore the synergistic interactions among the compounds in the extract and verify its activity using in vivo models. For instance, it can analyze the synergistic effect between ligustroflavone and ursolic acid via the isobologram method, establish inflammatory models such as carrageenan-induced rat paw edema for in vivo validation, develop novel drug delivery systems (e. g., nanoemulsions) to enhance bioavailability, and construct an HPLC fingerprint with ligustrin and ursolic acid as dual marker components. From the perspective of industrial application, it is recommended to adopt a multi-stage extraction process using 70% ethanol as the primary solvent to maximize resource utilization efficiency and the comprehensive recovery of active ingredients.

Keywords: *Turpinia arguta* (Lindl.) Seem.; ligustroflavone; rhoifolin; ethanol extraction; antioxidant activity; anti-inflammatory activity

【研究意义】锐尖山香圆 (*Turpinia arguta* (Lindl.) Seem.) 系省沽油科山香圆属多年生常绿灌木, 兼具药用与观赏价值^[1]。其叶片作为传统中药材, 具有清热解毒、活血化瘀等功效, 临床多用于咽喉炎症及跌打损伤的治疗。现代药理学研究表明, 该植物富含黄酮类 (如女贞苷、野漆树苷)、五环三萜类 (如熊果酸) 及多酚类化合物^[2], 其提取物在抗炎^[3]、抗氧化^[4]、免疫调节^[5]等方面展现出显著活性。优化锐尖山香圆提取工艺中的水醇配比, 对其药材资源的开发利用具有重要作用。【前人研究进展】赵延武等^[6]对山香圆叶水提醇沉工艺进行优化, 在料液比 1:1、醇沉温度 20℃、含醇量 60%、静置 12 h 条件下, 野漆树苷和女贞苷提取率最高。龙弟梅等^[7]利用超声波辅助酶法优化山香圆总黄酮的提取工艺, 结果表明添加纤维素酶 4 mg、超声时间 43 min、酶解时间 63 min, 山香圆总黄酮提取率最佳 (2.65%)。梁迪思等^[8]对山香圆有效成分女贞苷的提取和纯化工艺进行优化, 结果显示其较佳提取工艺的料液比为 1:30, 提取温度为 90℃, 萃取时间为 2.0 h; 较佳纯化工艺: 提取溶剂流速为 1.0 mL/min, 洗脱溶剂流速为 2.0 BV/h, 洗脱溶剂体积为 2.0 BV。罗开沛等^[9]采用表面活性剂-超声协同提取技术提取山香圆叶总黄酮, 使总黄酮提取率提升 7.74%, 并采用大孔树脂优化提取液的纯化工艺, 使总黄酮含量达 53.95%^[10]。

【本研究切入点】为系统性研究乙醇浓度梯度效应, 本研究构建乙醇浓度梯度提取体系 (10%~90%), 通过多维度评价揭示乙醇浓度对多类型成分 (黄酮苷类、三萜酸类、多酚类) 提取效率的影响, 以及对提取物生物活性 (抗氧化、抗炎) 的影响。【拟解决的关键问题】以锐尖山香圆干燥叶片为研究对象, 通过不同乙醇浓度提取叶片有效成分, 探究其提取的最佳水醇比例, 并评价其抗氧化、抗炎活性, 最终确立兼顾提取效率与功能活性的最佳乙醇浓度, 为锐尖山香圆的开发利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料、试剂和仪器

山香圆干燥叶片采自江西南昌安义产区, 经江西省林科院陶秀花正高级工程师形态性状辨别为省

沽油科山香圆属植物锐尖山香圆 *Turpinia arguta* (Lindl.) Seem. 的干燥叶;无水乙醇、乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、碳酸钠、亚硝酸钠、氢氧化钠:西陇科学股份有限公司;福林酚:上海麦克林生化科技有限公司;芦丁标准品、没食子酸标准品:中国食品药品检定研究院;女贞苷标准品、野漆树苷标准品、熊果酸标准品:上海源叶生物科技有限公司;总抗氧化能力 DPPH、ABTS、FRAP 法试剂盒:苏州科铭生物技术有限公司。

电子天平(FA1004N):上海尚道仪器制造有限公司;旋转蒸发仪 N-1300:上海爱朗仪器有限公司;紫外分光光度计(SP-752):上海光谱仪器有限公司;高效液相色谱仪(SIL-20A):日本岛津公司;KQ.500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 有效成分含量测定方法

1.2.1 供试品溶液的制备

山香圆干燥叶片采用水提醇沉法提取,滤液合并浓缩,加入乙醇使含醇量达 50%,密闭冷藏过滤浓缩,得山香圆叶片提取物。取山香圆干燥叶片,粉碎,过 3 号筛,称定 5 份,每份各 60 g,分别置于锥形瓶中,平行 3 次,分别加入体积分数为 10%、30%、50%、70%、90% 的乙醇溶液,采用醇提法进行提取,过滤,浓缩,得山香圆叶片提取物(*Turpinia arguta* (Lindl.) Seem. extracts)。精密称取不同质量浓度乙醇提取物加入甲醇配成 10 mg/mL 的供试品溶液,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜后注入色谱仪中,测定女贞苷、野漆树苷和熊果酸的含量。

1.2.2 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack VP-ODS(5 μm, 250 mm×4.6 mm),流动相 A 为 0.5% 磷酸盐溶液, B 为乙腈;流速 1.0 mL/min,柱温 35 ℃;女贞苷、野漆树苷检测波长 336 nm,熊果酸检测波长为 210 nm,进样量 5 μL。所有组分在 45 min 内检测完毕。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱条件
Tab.1 Gradient elution conditions

t/min	0	15	16	35	45
A(V/V)%	100	80	55	10	0
B(V/V)%	0	20	45	90	100

1.2.3 标准品溶液制备

精密称取各对照品适量,加入甲醇溶解并制成质量浓度为 100 μg/mL 的对照品储备液。取 3 种对照品溶液各 1 mL,分别用甲醇稀释,制备成浓度为 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 μg/mL 的野漆树苷、女贞苷、熊果酸对照品溶液备用。摇匀后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

1.2.4 方法学考察

(1)精密度试验。精密吸取 1.2.3 项下对照品混合溶液,按 1.2.2 色谱条件连续测定 6 次,计算野漆树苷、女贞苷、熊果酸峰面积的相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD)。

(2)稳定性试验。精密吸取 1.2.1 项下同一样品溶液 6 份,按 1.2.2 色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 测定,计算野漆树苷、女贞苷、熊果酸峰面积的 RSD。

(3)重复性试验。按 1.2.1 项下平行制备同一样品溶液 6 份,按 1.2.2 色谱条件进样测定,计算野漆树苷、女贞苷、熊果酸峰面积的 RSD。

(4)加样回收率试验。取同一样品溶液 6 份,每份 1 mL,分别加入不同量的野漆树苷、女贞苷和熊果酸对照品溶液,加入甲醇定容至 5 mL,按 1.2.2 色谱条件进样测定,计算野漆树苷、女贞苷、熊果酸的加样回收率和 RSD。

1.2.5 锐尖山香圆叶片提取物总多酚含量测定

参照刘清等^[11]的方法测总多酚含量。取适量不同浓度乙醇提取物加入甲醇配制成 0.5 mg/mL 的样品溶液,在 10 mL EP 管中依次加入 1 mL 样品溶液, 1 mL 福林酚, 3 mL 7.5% 碳酸钠溶液,再加纯水定容 10 mL,避光反应 2 h 后,在 765 nm 处测吸光度。取适量没食子酸标准品加入甲醇配制成 0.3, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.01 mg/mL 的标准品溶液。按照同样方法在 765 nm 处测吸光度,以质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y),得回归方程 $Y = 8.097\ 2X + 0.056\ 2$, $R^2 = 0.997$ 。代入回归方程,求出锐尖山香圆提取物总多酚含量。

1.2.6 锐尖山香圆叶片提取物总黄酮含量测定

参照罗宪堂等^[12]的方法测定总黄酮含量。取适量不同浓度乙醇提取物加入甲醇配制成5 mg/mL的样品溶液,放入10 mL EP管中再加入0.3 mL 5%亚硝酸钠,室温孵育6 min后,加入0.3 mL 10%硝酸铝,混合均匀等待6 min,再加入4 mL 4%氢氧化钠,混合摇匀,静置15 min后,用纯水定容至10 mL,混合摇匀,再静置30 min,在510 nm处测吸光度。取适量芦丁标准品加入甲醇配制成2,1,0.5,0.2,0.1 mg/mL的标准品溶液,以质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y),得回归方程 $Y=0.902\ 3X-0.025\ 7$, $R^2=0.996$ 。代入回归方程,求出总黄酮含量。

1.2.7 抗氧化试验

(1) DPPH 自由基清除能力测定。按照试剂盒方法测定。取适量不同浓度乙醇提取物,加入甲醇配制成10 mg/mL的山香圆供试品溶液。取50 μ L供试品溶液,加入950 μ L试剂一,充分混匀,室温避光反应20 min,于1 mL玻璃比色皿测定515 nm吸光值,记为 $A_{\text{测定}}$ 。另取50 μ L提取液,加入950 μ L试剂一,同方法测定吸光值,记为 $A_{\text{空白}}$ 。按照公式①计算DPPH自由基清除率。

$$\text{清除率}=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}\times 100\% \quad \text{①}$$

(2) ABTS 自由基清除能力测定。按照试剂盒方法测定。取适量不同浓度乙醇提取物加入甲醇,配置成50 mg/mL的山香圆供试品溶液。取50 μ L供试品溶液,加入950 μ L工作液,充分混匀,10 min内于1 mL玻璃比色皿测定734 nm吸光值,记为 $A_{\text{测定}}$ 。50 μ L提取液,950 μ L工作液同方法测定吸光值,记为 $A_{\text{空白}}$ 。按照公式①计算ABTS自由基清除率。

(3) FRAP 总抗氧化能力测定。按照试剂盒方法测定。取适量不同浓度乙醇提取物加入甲醇,配置成10 mg/mL的山香圆供试品溶液。取50 μ L供试品溶液,950 μ L混合液,充分混匀,反应20 min于1 mL玻璃比色皿测定593 nm吸光值,记为 $A_{\text{测定}}$ 。50 μ L提取液,950 μ L混合液同方法测定吸光值,记为 $A_{\text{空白}}$ 。按照公式②计算FRAP总抗氧化能力。

$$\text{总抗氧化能力}(\mu\text{mol Trolox/mL})=(A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}-0.013\ 4)\times 0.402\ 7 \quad \text{②}$$

1.2.8 抗炎活性试验

(1) 不同提取物对 RAW 264.7 细胞的毒性考察。参考 Stein 等^[13]的方法对细胞进行毒性考察。水提醇沉、10%、30%、50%、70%、90% 乙醇提取物在0~1 200 μ g/mL 范围内,作用 RAW 264.7 细胞24 h对细胞无毒性影响,因此在后续试验中选用75,150,300 μ g/mL作为给药浓度。

(2) NO 含量测定。参考 Bakondi 等^[14]的方法进行细胞培养及处理。将生长状态良好的 RAW 264.7 细胞以 1.7×10^4 个/孔的密度接种在96孔板中,放置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养,孵育12 h后,吸去培养基,加不含血清的培养基饥饿处理12 h。弃去培养基。设置对照组、模型组(LPS:200 ng/mL)、给药组(LPS+SE:75,150,300 μ g/mL),给药后再置于培养箱中培养20 h,收集各孔中上清液,采用 Griess 法检测细胞上清液中的亚硝酸盐含量,并依据标准曲线计算 NO 释放量及抑制率。

1.3 数据处理

使用 SPSS 26 进行显著性和相关性分析,所有数据均为重复3次测定的结果,结果以平均数 $\pm$ 标准差表示, $P<0.05$ 表示存在显著性差异, $P<0.01$ 表示存在极显著差异。

2 结果与分析

2.1 线性关系考察结果

以峰面积为纵坐标(Y)、进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,女贞苷、野漆树苷、熊果酸的回归方程见表2。

表2 线性关系考察结果
Tab.2 Results of linear relationship

化合物 Compound	回归方程 Regression equations	相关系数 Correlation coefficient
女贞苷 Specnuezhenide	$Y = 5\ 464.5X - 180.25$	$R^2 = 0.999\ 9$
野漆树苷 Rhoifolin	$Y = 11\ 232X + 30\ 258$	$R^2 = 0.999\ 0$
熊果酸 Ursolic acid	$Y = 2\ 254.8X + 37\ 778$	$R^2 = 0.996\ 0$

2.2 方法学验证结果

2.2.1 精密性试验结果

计算所得女贞苷、野漆树苷、熊果酸平均RSD分别为2.19%、0.66%、1.63%,表明仪器精密度良好。

2.2.2 稳定性试验结果

计算所得女贞苷、野漆树苷、熊果酸平均RSD分别为1.77%、1.77%、1.98%,说明供试品溶液在24 h内稳定。

2.2.3 加样回收试验结果

计算所得女贞苷、野漆树苷、熊果酸的回收率为98.568%、96.730%、98.120%,平均RSD分别为1.35%、1.86%、1.54%,表明测定的试验方法可行。

2.3 乙醇体积分数对山香圆叶片提取物中有效成分含量的影响

由表3可知,乙醇体积分数对女贞苷、野漆树苷、熊果酸的提取率具有显著影响,在70%乙醇体积分数条件下各成分含量达到峰值。女贞苷提取效率随乙醇体积分数升高呈先升后降趋势,水提醇沉法与低体积分数乙醇(10%、30%、50%)提取效果较差(0.183%~2.644%),当乙醇体积分数为70%时达峰值(5.464%),显著高于其他体积分数($P<0.05$);90%乙醇体积分数下其含量(5.176%)虽较峰值下降5.27%,但仍显著优于中低体积分数组($P<0.05$),表明高体积分数乙醇对该成分仍保持较强溶解能力。野漆树苷的较佳提取浓度为70%(1.028%),其含量较水提醇沉法(0.609%)提升6.88%;50%乙醇组(1.029%)与70%乙醇组无显著性差异($P>0.05$),表明该成分在该体积分数范围内均可实现高效提取。熊果酸提取率随乙醇体积分数变化明显,70%乙醇提取率(0.631%)显著高于其他处理组($P<0.05$),较水提醇沉法(0.123%)提升413%;当乙醇体积分数为90%,其提取率急剧下降(90%浓度组0.454%)。

表3 不同体积分数乙醇提取方法山香圆叶片中女贞苷、野漆树苷、熊果酸含量结果
Tab.3 Results of ligustin,marsetin and ursolic acid contents in *Turpinia arguta*(Lindl.)Seem with different ethanol concentrations

样品 Sample	含量/% Content		
	女贞苷 Specnuezhenide	野漆树苷 Rhoifolin	熊果酸 Ursolic acid
水提醇沉 Water extracts alcohol precipitation	2.277 ^d	0.609 ^b	0.123 ^{cd}
10%	0.183 ^f	0.571 ^b	0.063 ^d
30%	1.868 ^e	0.560 ^b	0.098 ^{cd}
50%	2.644 ^c	1.029 ^a	0.282 ^{bc}
70%	5.464 ^a	1.028 ^a	0.631 ^a
90%	5.176 ^b	0.993 ^a	0.454 ^b

同行不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$)。
Different letters among the same row indicate significant differences($P<0.05$).

2.4 不同体积分数乙醇提取山香圆叶片浸提物总多酚和总黄酮含量分析

由表4可看出,乙醇浓度不同,山香圆叶片中总多酚与总黄酮的提取率不同。就总多酚提取率而言,水提醇沉法(9.79%)与30%乙醇组(9.57%)无显著性差异,但显著高于10%乙醇组(4.50%);70%乙醇提取率达峰值(19.47%),且显著高于其他处理组;90%乙醇组提取率(15.15%)较峰值明显下降,但显著优于50%乙醇组(11.36%)。就总黄酮提取率而言,随乙醇浓度变化,水提醇沉法(7.84%)与50%乙醇组(7.88%)结果相近;在90%乙醇体积分数下达最高值(8.28%),与70%乙醇组(8.15%)无显著性差异,表明该成分在70%~90%乙醇范围内均可实现高效提取。

2.5 不同体积分数乙醇提取体外抗氧化活性分析

由表5数据可知,不同体积分数乙醇山香圆提取物的抗氧化活性差异较大,其中70%乙醇提取物的DPPH自由基清除能力(62.72%)、ABTS自由基清除能力(70.00%)、FRAP总抗氧化能力(0.290 μmol Trolox/mL)显著优于其他乙醇组提取物($P<0.05$),说明70%乙醇提取物的抗氧化能力较好。

表 4 不同体积分数乙醇提取物中总多酚、总黄酮类成分含量

Tab.4 The contents of total polyphenols and total flavonoids in different ethanol extraction concentrations

样品 Sample	有效成分含量/% Active ingredient concentration	
	总多酚 Total polyphenols contents	总黄酮 Total flavonoids contents
水提醇沉 Water extracts alcohol precipitation	9.79 ^c	7.84 ^{ab}
10%	4.50 ^d	5.81 ^c
30%	9.57 ^c	7.01 ^b
50%	11.36 ^c	7.88 ^{ab}
70%	19.47 ^a	8.15 ^a
90%	15.15 ^b	8.28 ^a

同行不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$)。
Different letters among the same row indicate significant differences($P<0.05$).

表 5 不同体积分数乙醇提取物的 DPPH、ABTS 自由基清除率和 FRAP 总抗氧化能力

Tab.5 Different concentrations of ethanol extraction had a significant effect on DPPH,ABTS radical scavenging rate and total antioxidant capacity of FRAP

样品 Sample	抗氧化能力 Antioxidant capacity		
	DPPH/%	ABTS/%	FRAP/($\mu\text{mol Trolox} \cdot \text{mL}^{-1}$)
水提醇沉 Water extracts alcohol precipitation	53.66 ^c	66.59 ^b	0.104 ^d
10%	37.09 ^d	62.66 ^d	0.167 ^c
30%	51.45 ^c	65.60 ^c	0.140 ^c
50%	57.19 ^b	65.60 ^c	0.176 ^c
70%	62.72 ^a	70.00 ^a	0.290 ^a
90%	59.31 ^b	67.37 ^b	0.233 ^b

同行不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$)。
Different letters among the same row indicate significant differences($P<0.05$).

2.6 不同体积分数乙醇提取物的体外抗炎活性分析

本研究通过 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞建立炎症模型,采用 NO 生成抑制试验评价山香圆乙醇提取物的体积分数-效应关系。如表 6 所示,中高体积分数乙醇(50%~90%)提取的山香圆提取物对 NO 释放的抑制作用明显,其中 70% 乙醇提取物的 NO 抑制率与 90% 乙醇提取物结果相近,以 90% 乙醇提取物效果最佳,二者 NO 抑制率分别为 74.24% 和 76.89%。值得注意的是,90% 乙醇提取物虽达最高抑制率,但其数值增幅较 70% 组仅提升 3.6%,结合溶剂成本效益分析,提示 70% 乙醇可能为工艺优化平衡点。

表 6 75 $\mu\text{g/mL}$ 给药质量浓度的不同提取物的 NO 抑制率

Tab.6 The effect of different extracts with a concentration of 75 $\mu\text{g/mL}$ on NO content

样品 Sample	水提醇沉 Water extracts alcohol precipitation	10%	30%	50%	70%	90%
NO 抑制率/% NO inhibition rate	41.15	31.72	42.31	66.67	74.24	76.89

2.7 活性成分和抗氧化活性的相关性分析

通过 Pearson 相关性分析建立山香圆活性成分与抗氧化指标的量效关系模型,结果如表 8 所示。总多酚含量与抗氧化活性(DPPH、ABTS、FRAP)呈极显著正相关($P<0.01$),总黄酮含量与 DPPH、ABTS 自由基清除率存在极显著正相关($P<0.01$);单一化学成分(女贞苷、野漆树苷、熊果酸)含量与抗氧化活性(DPPH、ABTS、FRAP)呈极显著正相关($P<0.01$)。

表 7 活性成分与抗氧化活性相关性分析结果

Tab.7 Correlation analysis results between active ingredients and antioxidant activity

相关因子 Correlation factors	DPPH	ABTS	FRAP	女贞苷 Specnuezhenide	野漆树苷 Rhoifolin	熊果酸 Ursolic acid	总多酚 Total polyphenols	总黄酮 Total flavonoids
DPPH	1							
ABTS	0.90**	1						
FRAP	0.50*	0.62**	1					
女贞苷 Specnuezhenide	0.89**	0.91**	0.76**	1				
野漆树苷 Rhoifolin	0.75**	0.63**	0.76**	0.80**	1			
熊果酸 Ursolic Acid	0.76**	0.81**	0.81**	0.88**	0.81**	1		
总多酚 Total polyphenols	0.86**	0.90**	0.79**	0.94**	0.77**	0.84**	1	
总黄酮 Total flavonoids	0.88**	0.77**	0.40	0.80**	0.68**	0.57*	0.79**	1

**表示 $P<0.01$, *表示 $P<0.05$ 。
** represents $P<0.01$ and * represents $P<0.05$

2.8 活性成分和抗炎活性的相关性分析

采用 Pearson 法相关性分析建立山香圆活性成分与抗炎指标的量效关系模型,结果如表 8 所示。总多酚、总黄酮以及单一化学成分野漆树苷、女贞苷、熊果酸与 NO 抑制率呈极显著正相关($P<0.01$)。

表 8 活性成分与抗炎活性相关性分析结果

Tab.8 Correlation analysis results between active ingredients and anti-inflammatory activity

相关因子 Correlation factors	总多酚 Total polyphenols	总黄酮 Total flavonoids	女贞苷 Specnuezhenide	野漆树苷 Rhoifolin	熊果酸 Ursolic acid	NO 抑制率 NO inhibition rate
总多酚 Total polyphenols	1					
总黄酮 Total flavonoids	0.79**	1				
女贞苷 Specnuezhenide	0.94**	0.80**	1			
野漆树苷 Rhoifolin	0.77**	0.68**	0.80**	1		
熊果酸 Ursolic Acid	0.84**	0.57*	0.88**	0.81**	1	
NO 抑制率 NO inhibition rate	0.85**	0.76**	0.92**	0.95**	0.86**	1

**表示 $P<0.01$, *表示 $P<0.05$ 。
** represents $P<0.01$ and * represents $P<0.05$.

3 讨论与结论

浸提法常用于中药材及食品中有效成分的提取研究。赖闻玲等^[15]使用常规回流法、微波法和超声法提取山香圆黄酮成分,用分光光度法对黄酮含量进行了测定,发现黄酮类成分是山香圆的主要成分。以往多人的研究表明以乙醇为溶剂提取植物黄酮类成分效果良好^[16-19],说明乙醇是此类提取中较为主流的有效溶剂。

本次研究基于实验室条件、可行性及操作便捷性,采用醇提法提取山香圆叶片有效成分,总黄酮与总多酚含量测定结果表明,70% 乙醇的提取效果较佳。通过 HPLC 测定山香圆叶中女贞苷、野漆树苷及熊果酸含量,发现 70% 乙醇提取物中三者含量最高,分别为 5.464%、1.028%、0.631%。通过体外抗氧化活性测试,评价不同乙醇组提取锐尖山香圆有效成分的抗氧化活性,发现 70% 乙醇组的体外抗氧化能力较好,DPPH、ABTS 清除率分别为 62.72%、70.00%,FRAP 总抗氧化能力为 0.29 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ 。并对不

同乙醇组进行综合对比,各组分清除 ABTS 效果均优于 DPPH,这可能与抗氧化活性机理不同有关^[20]。在 DPPH 抗氧化活性方面,70% 乙醇提取物的清除率为 62.70%,与吕双双等^[21]对海风藤中黄酮类化合物测定的抗氧化活性结果(62.44%)高度接近,这说明锐尖山香圆 70% 乙醇提取物具有与文献报道的海风藤黄酮相当的体外抗氧化能力,提示其作为天然抗氧化剂具有良好的潜力。不同乙醇组总多酚、总黄酮含量测定的结果显示,70% 乙醇组总多酚含量最高(为 19.47%);总黄酮含量则以 90% 和 70% 乙醇组较优,二者含量相近(分别为 8.28%、8.15%)。这一结果与角蒿总黄酮最佳提取体积分数(75.6% 乙醇)^[22]相吻合。考虑到高体积分数乙醇极性较低,利于提取非极性成分,而低体积分数乙醇极性较高,更适于提取极性较大的成分;综合本试验结果推测,70% 左右的乙醇体积分数可能最适合提取中等极性的黄酮类化合物,同时能有效减少杂质的溶出。LPS 诱导的巨噬细胞炎症模型显示,不同体积分数乙醇的山香圆提取物均能抑制 NO 释放,表明其均具有一定的抗炎作用;其中,70% 和 90% 乙醇提取物的抑制效果最佳,抑制率分别为 74.24% 和 76.89%。同时通过相关性分析发现总多酚、总黄酮含量与抗氧化、抗炎活性均呈显著正相关。综合以上数据,70% 乙醇提取工艺虽非在单一指标上表现最优,但在总多酚含量、黄酮得率及抗炎活性等多个维度均表现优异,证明其具有综合较优性。本研究未进行提取物的分离纯化,有必要对其进行分离纯化并做进一步研究,为锐尖山香圆资源的高效利用提供参考。

致谢:感谢江西省林业科学院基础研究与人才科研专项(项目编号:2024522803)与中央财政林业科技推广示范项目(项目编号:JXTG(2024)26 号)同时对本研究给予了资助,谨表谢意!

参考文献 References:

- [1] 周景春,徐景攀.清热解毒的山香圆叶[J].首都食品与医药,2016,23(17):61.
ZHOU J C, XU J P. *Turpinia arguta* Seem for clearing heat and detoxifying[J]. Capital food and medicine, 2016, 23(17): 61.
- [2] 李瑶芳,刘明颖,邓双炳,等. HPLC 法测定不同产地山香圆叶中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 江西中医药大学学报, 2022, 34(3): 73-76.
LI Y F, LIU M Y, DENG S B, et al. Determination of oleanolic acid and ursolic acid in the turpiniae folium from different habitats by HPLC[J]. Journal of Jiangxi university of CM, 2022, 34(3): 73-76.
- [3] 张磊. 山香圆总黄酮的抗炎免疫作用及部分机制研究[D]. 合肥:安徽医科大学, 2003.
ZHANG L. Anti-inflammatory and immunodulatory actions of total flavonoids of *sacinte* and its mechanism [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2003.
- [4] 马双刚,袁绍鹏,侯琦,等. 山香圆叶中黄酮苷类成分及其抗炎活性研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1747-1750.
MA S G, YUAN S P, HOU Q, et al. Study on flavonoid glycosides and their anti-inflammatory activity in *Turpinia arguta* Seem leaves[J]. China journal of traditional Chinese materia medica, 2013, 38(11): 1747-1750.
- [5] 张磊,李俊,余世春,等. 山香圆总黄酮对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2006(5): 539-543.
ZHANG L, LI J, YU S C, et al. The Effects of total flavonoids of *Turpinia arguta* Seem on the immune function of immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide[J]. Acta universitatis medicinalis Anhui, 2006(5): 539-543.
- [6] 赵延武,张晓军,张文标,等. 山香圆叶水提醇沉与颗粒制备工艺研究[J]. 化工与医药工程, 2024, 45(5): 12-15.
ZHAO Y W, ZHANG X J, ZHANG W B, et al. Round leaves of mountain fragrance study on technology of water extraction and alcohol precipitation and granule preparation[J]. Chemical and pharmaceutical engineering, 2024, 45(5): 12-15.
- [7] 龙弟梅,张月琴,叶文峰,等. 超声波辅助酶法提取山香圆叶中总黄酮的工艺优化[J]. 当代化工研究, 2023(23): 148-150.
LONG D M, ZHANG Y Q, YE W F, et al. Optimization of ultrasonic assisted enzymatic extraction of total flavones from the leaves of *Turpinia arguta* [J]. Contemporary chemical industry and engineering research, 2023(23): 148-150.
- [8] 梁迪思,罗辉泰,黄芳,等. 山香圆有效成分的制备及 HPLC 测定质量标准建立[J]. 日用化学工业(中英文), 2023, 53(1): 115-120.
LIANG D S, LUO H T, HUANG F, et al. Preparation of active ingredients in Shanxiangyuan and establishment of quality standards for HPLC determination[J]. China surfactant detergent & cosmetics, 2023, 53(1): 115-120.
- [9] 罗开沛,李小芳,林浩,等. 表面活性剂-超声协同提取山香圆叶总黄酮工艺的优化[J]. 中成药, 2016, 38(12): 2585-2589.
LUO K P, LI X F, LIN H, et al. Optimization of surfactant assisted ultrasonic extraction for total flavonoids from *Turpinia arguta* leaves[J]. Chinese patent medicine, 2016, 38(12): 2585-2589.

- [10] 罗开沛,李小芳,林浩,等.山香圆叶提取液纯化工艺的优化[J].中成药,2017,39(4):727-731.
LUO K P, LI X F, LIN H, et al. Optimization of purification of extract from *Turpinia arguta* leaves[J]. Chinese patent medicine, 2017, 39(4): 727-731.
- [11] 刘清,李玉,姚惠源. Folin-Ciocalteu 比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J]. 食品科技, 2007(4): 175-177.
LIU Q, LI Y, YAO H Y. Determination of total polyphenol in barley seed extracts by Folin- Ciocalteu colorimetry[J]. Food science and technology, 2007(4): 175-177.
- [12] 罗宪堂,熊友香. UV 法测定山香圆叶中黄酮类成分含量[J]. 中医药研究, 2002(5): 48-49.
LUO X T, XIONG Y X. Determination of flavonoids in *Turpinia arguta* Seem. leaves by UV method[J]. Research on traditional Chinese medicine, 2002(5): 48-49.
- [13] STEIN R, BERGER M, DE CECCO B S, et al. Chymase inhibition: a key factor in the anti-inflammatory activity of ethanolic extracts and spilanthol isolated from *Acmella oleracea*[J]. Journal of ethnopharmacology, 2021, 270: 113610.
- [14] BAKONDI E, SINGH S B, HAJNÁDY Z, et al. Spilanthol inhibits inflammatory transcription factors and iNOS expression in macrophages and exerts anti-inflammatory effects in dermatitis and pancreatitis[J]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(17): 4308.
- [15] 赖闻玲,薛珺. 分光光度法测定山香圆片中黄酮的含量[J]. 赣南师范学院学报, 2003(6): 37-38.
LAI W L, XUE J. Determining the content of flavone in *Turpinia arguta* pills by spectrophotometry[J]. Journal of Gan-nan normal university, 2003(6): 37-38.
- [16] 陈志良,刘聪,廖自文,等. 紫花地丁总黄酮的提取工艺及抗炎作用研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(11): 5051-5063.
CHEN Z L, LIU C, LIAO Z W, et al. Study on extraction process and anti-inflammatory effect of total flavonoids from *Viola yedoensis*[J]. China animal husbandry and veterinary medicine, 2024, 51(11): 5051-5063.
- [17] 廉伟伟,郝培娜,马志欢,等. 枳实总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 山西化工, 2024, 44(12): 5-6.
LIAN W W, HAO P N, MA Z H, et al. Research on the extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Fructus aurantii*[J]. Shanxi chemical industry, 2024, 44(12): 5-6.
- [18] 熊平文,宋文静,陈将,等. 山香圆叶黄酮提取工艺优化及体外抑菌活性研究[J]. 饲料研究, 2025, 48(5): 107-114.
XIONG P W, SONG W J, CHEN J, et al. Study on optimization of extraction process of total flavonoids from *Turpinia folium* and *in vitro* antibacterial activity[J]. Feed research, 2025, 48(5): 107-114.
- [19] 张敏,范丹娜,王文君,等. 山蜡梅叶黄酮和多糖同步提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2025, 47(4): 1093-1106.
ZHANG M, FAN D N, WANG W J, et al. Study on optimization of synchronous extraction technology of flavonoids and polysaccharides from *Chimonanthus nitens* Oliv. Leaves and their *in vitro* antioxidant activity[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2025, 47(4): 1093-1106.
- [20] 曾文俊,吕彩梦,丁建宝,等. 体外抗氧化活性评价方法的反应机理研究进展[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(12): 13-19.
ZENG W J, LYU C M, DING J B, et al. Research progress in reaction mechanism of evaluation method for antioxidant activity *in vitro*[J]. Chemistry & bioengineering, 2022, 39(12): 13-19.
- [21] 吕双双,马志欢,张洪,等. 海风藤总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 化工设计通讯, 2024, 50(12): 159-161.
LYU S S, MA Z H, ZHANG H, et al. Research on the extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from sea breeze vine[J]. Chemical design communication, 2024, 50(12): 159-161.
- [22] 张宁,鲍艳芳,付明慧,等. 角蒿总黄酮的提取工艺优化[J]. 青海农林科技, 2025(2): 96-103.
ZHANG N, BAO Y F, FU M H, et al. Optimization of extraction technology of total flavonoids from *Incarvillea sinensis* lam [J]. Qinghai agriculture and forestry science and technology, 2025(2): 96-103.

(责任编辑:刘玉香)