

不同产地酸藤子根中 5 种成分的含量测定及抗氧化活性研究

韩佳威 李宗茗 罗珏苓 张仲敏 陈振兴 (通讯作者)

广西中医药大学 广西 南宁 530200

【摘要】：通过 HPLC 法同时测定 10 个产地酸藤子根中没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁的含量，并选用总抗氧化能力、DPPH 清除率、抑制羟自由基能力和抑制超氧阴离子自由基能力等 4 种体外抗氧化实验评价不同产地的酸藤子根的抗氧化活性。色谱分离采用 C₁₈ 色谱柱，以乙腈-0.1%磷酸水进行梯度洗脱，进样体积为 10 μ L，流速设定 1 mL/min，检测波长为 225 nm，柱温 30 $^{\circ}$ C。该条件下，没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁在测定范围内线性关系良好。方法学验证结果显示，精密性、稳定性、重复性、加样回收率试验的 RSD 均小于 2.0%。潮州市饶平县地区的酸藤子根中 5 种成分所含总量最高，并且其体外抗氧化作用最强，其他地区酸藤子均具有较好的抗氧化活性。建立的 HPLC 法灵敏度高、重复性好、准确可靠，适用于酸藤子的质量评价。同时，酸藤子药材具有较好的抗氧化作用，开发前景乐观。

【关键词】：酸藤子；HPLC；含量测定；抗氧化作用

DOI:10.12417/2811-051X.26.08.024

酸藤子为紫金牛科植物酸藤子 *Embelia laeta*(L.)Mez. 的干燥根，又名青龙钻、酸藤木、挖不尽、入地龙、酸藤果^[1,2]，全年均可采，切段、晒干入药。广西瑶药有“五虎、九牛、十八钻、七十二风”等说法，其中酸藤子就是七十二风之一的风打相兼药，其瑶药名为酸吉风，味酸、涩，平，归心、脾、肝经。《中国现代瑶药》、《中华本草》均记载了酸藤子具有清热解毒，活血散瘀，祛风收敛，健脾安胎的功效，主要用于口腔炎、咽喉炎、慢性肠炎，月经不调，血崩，风湿痛，类风湿性关节炎等疾病^[3,4]。酸藤子的疗效已经在民间悠久的用药历史中得到了肯定，但在《广西壮族自治区瑶药材质量标准》中并未涉及其成分的鉴定标准^[5]，很大程度上影响该药的应用与开发。有报道显示，酸藤子富含糖苷类、有机酸、黄酮类、多酚类、萜类等多种化学成分^[6-8]。因此，本文提出采用 HPLC 法同时测定 10 个不同产地的酸藤子根中 5 种成分（没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁等）的含量，并通过总抗氧化能力、DPPH 清除率、抑制羟自由基能力和抑制抑制超氧阴离子自由基能力等方面评价酸藤子根抗氧化作用，为酸藤子质量控制标准提供参考，并为酸藤子药材的深入研究及资源的开发利用提供实验证据。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

Agilent 1260 II 型 HPLC 仪（四元泵、DAD 检测器、OpenLAB 工作站（美国 Agilent 公司））；梅特勒 XS105 DualRange 电子分析天平（梅特勒-托利多公司）。

乙腈（色谱纯，德国默克公司）；磷酸（英德市溢蓬化工有限公司）；对照品原儿茶酸（批号：wkq20020706，纯度>98%），没食子酸（批号：wkq20010905，纯度>98%），表儿茶素（批号：wkq20012203，纯度>98%），儿茶素（批号 wkq20021707，纯度>98%），芦丁（批号：wkq20030203，纯度>98%）均购自四川省维克奇生物科技有限公司；其余试剂均为分析纯；DPPH（合肥博美生物科技有限责任公司）；总抗氧化能力检测试剂盒、羟自由基测试试剂盒、抑制与产生超氧阴离子自由基测定试剂盒（南京建成生物工程研究所）。实验用的酸藤子根药材分别采自广东省和广西壮族自治区各地。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

选用 GL Science C₁₈ 色谱柱（4.6 mm \times 250 mm，5 μ M）；以乙腈（A）-0.1%磷酸水（B）为流动相进行梯度洗脱，洗脱程序：0~10 min，5%A；10~15 min，5%~8%A；15~25 min，8%A；25~45 min，8%~12%A；45~60 min，12%A；60~70 min，12%~15%A；70~105 min，15%A；进样量为 10 μ L；流速为 1 mL/min；检测波长为 225 nm；柱温为 30 $^{\circ}$ C。

1.2.2 溶液的制备

（1）混合对照品溶液：精密称取没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁等对照品，制成浓度分别为 46.8 μ g/mL、48.2 μ g/mL、57.6 μ g/mL、52.9 μ g/mL、42.9 μ g/mL 的贮备液，备用。各取上述贮备液，制成浓度分别为 7.8 μ g/mL、8.0 μ g/mL、9.6 μ g/mL、8.8 μ g/mL 和 14.3 μ g/mL 的混合对照品溶液。

作者简介：韩佳，男（1998.4-），汉族，河南焦作人，研究生在读，研究方向：方剂组方原理、临床应用及实验研究；

通讯作者：陈振兴，男（1987.10-），汉族，广东江门人，博士，副教授，中药新药研究与开发。

基金项目：广西自然科学基金项目（2023GXNSFB026239）；广西中医药大学校级科研项目（2021QN003）。

(2) 供试品溶液：精密称取约 1.0g 10 个产地藤子根药材粉末（过 40 目筛），分别置于 50mL 锥形瓶中，加入双蒸水 20mL，超声（250W，频率 35kHz）提取 40min，过滤，重复提取 3 次，滤液放入蒸发皿中挥干，再用甲醇 20mL 将其溶解，摇匀，取上清用 0.45 μ M 微孔滤膜滤过，即得。

2 结果与讨论

2.1 指标性成分的确定

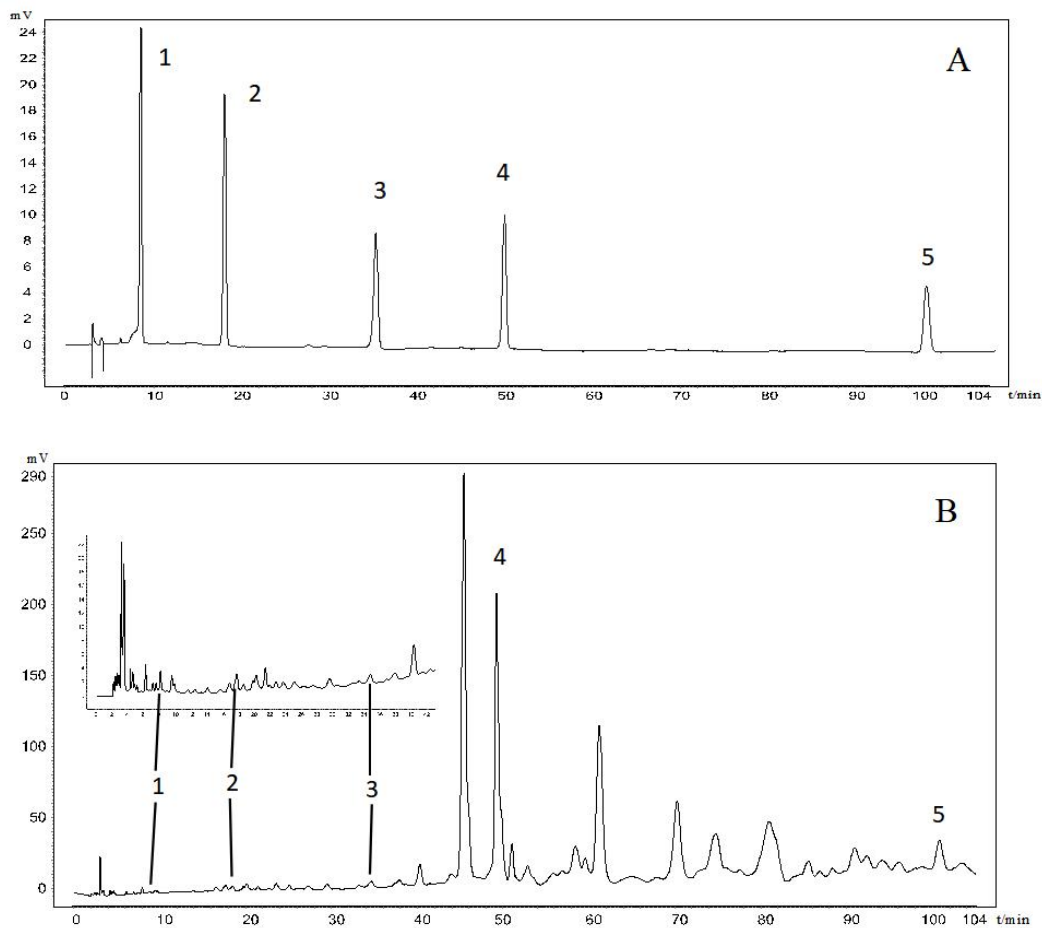
酸藤子作为常用瑶药，以清热解毒之功效，广泛应用在多种炎症相关的疾病。有报道酸藤子中分离得没食子酸、芦丁等酚类化合物^[9]。没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁存在于很多中草药中，且均溶于水，并在抗氧化、抗菌，抗

炎、抗肿瘤等方面有着广泛的药理基础^[10-15]。因此本研究以上述 5 种成分为主要的检测指标。

2.2 方法学考察

2.2.1 专属性分析

精密吸取混合对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L，使用 HPLC 仪，在“1.2.1”项陈述条件下进行分析，各溶液 HPLC 色谱图见图 1。结果表明，没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁等 5 种成分在混合对照品溶液与供试品溶液中成分峰均达到基线分离，各色谱峰与相邻色谱峰的分度均大于 1.5，表明方法专属性好。



注：1.没食子酸 2.原儿茶酸 3.儿茶素 4.表儿茶素 5.芦丁

图 1 混合对照品溶液（A）、酸藤子根样品溶液（B）的 HPLC 色谱图

2.2.2 线性关系分析

精密吸取对照品溶液，加甲醇逐级稀释，制成 6 个不同浓度梯度对照品溶液。按“1.2.1”项下陈述条件依次进样，以对照品的浓度为 X (μ g/ml) 作横坐标，以其对应的峰面积 Y 作纵坐标进行线性回归，计算得回归方程。没食子酸： $Y=43.43X-12.804$, $r=0.9996$ ；原儿茶酸： $Y=49.95X+1.3958$, $r=0.9995$ ；儿茶素： $Y=33.177X-2.2363$, $r=0.9998$ ；表儿茶素： $Y=33.425X$

+13.757, $r=0.9995$ ；芦丁： $Y=15.527X+0.8279$, $r=1.0000$ 。结果表明没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁质量浓度分别在 0.29~9.36、0.30~9.64、0.36~11.52、16.53~529、1.07~34.32 μ g/mL 范围内与峰面积表现出良好的线性关系。

2.2.3 精密度分析

精密吸取混合对照品溶液 10 μ L，进样 6 次，记录各待测成分的峰面积，结果显示，没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表

儿茶素、芦丁等 5 种成分的峰面积 RSD 分别为 1.01%、1.56%、1.68%、0.62%、1.05%，结果表明仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性分析

取同一份的酸藤子根供试品溶液，于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 按“1.2.1”条件进行分析，计算得没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁等 5 种成分的峰面积的 RSD 依次为 0.95%、1.15%、1.12%、1.24%、0.76%，提示供试品溶液在室温条件下 24h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性分析

取同一批酸藤子根供试品粉末 6 份，按“1.2.2.2”及“1.2.1”色谱条件进行分析测定，并计算得到没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁等 5 种成分的峰面积的 RSD 分别为 0.36%、0.85%、1.09%、0.25%、0.65%，表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率

称取已知含量的同一酸藤子根供试品 9 份，每份约 1.0 g，分别按称量样品中被测定成分含量的 50%（低浓度，3 份），100%（中浓度，3 份），150%（高浓度，3 份）加入相应对照品适量。按“1.2.2.2”项下方法制备供试品溶液进样测定，计算各成分的平均加样回收率。结果表明：没食子酸平均加样回

收率为 98.68%，RSD 为 1.12%；原儿茶酸平均加样回收率为 98.75%，RSD 为 1.36%；儿茶素平均加样回收率为 98.33%，RSD 为 1.01%；表儿茶素平均加样回收率为 98.75%，RSD 为 0.79%；芦丁平均加样回收率为 99.01%，RSD 为 1.02%；

2.3 样品含量测定

取 10 个产地采集的酸藤子根样品粉末（过 40 目筛）约 1.0 g，按“1.2.2.2”项下方法制备样品溶液，按“1.2.1”项下条件进行分析，平行测定 3 次，并计算样品中 5 种对照品的含量，结果见表 1。结果显示，10 个地区酸藤子根中 5 种成分含量差异较大，没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁的含量范围分别为：16.61~43.20 $\mu\text{g/g}$ 、16.58~53.95 $\mu\text{g/g}$ 、24.74~144.03 $\mu\text{g/g}$ 、1166.00~5393.74 $\mu\text{g/g}$ 、45.51~743.57 $\mu\text{g/g}$ 。计算各地区酸藤子根的 5 种成分总含量，按总含量从高到低排列：潮州市饶平县>钦州市灵山县>汕尾陆丰市>江门鹤山市>茂名市电白区>钦州市浦北县>玉林市容县>柳州市鹿寨县>贵港市平南县>南宁市青秀区。本研究所采集的酸藤子根药材均来源于两广地区，结合各酸藤子药材的地理位置信息，我们发现，酸藤子 5 种成分的含量高低跟纬度和沿海距离有着高度的相关性。纬度低、距离海洋近的酸藤子样品含有更多的总酚类化合物，提示酸藤子植物的成分产生可能跟全年日照、海洋性季风气候所带来的降雨等生长条件有着重要关系。

表 1 不同地区酸藤子根的各成分含有量测定结果（ $\mu\text{g/g}$ ，n=3）

产地	没食子酸	原儿茶酸	儿茶素	表儿茶素	芦丁
潮州市饶平县	43.20	48.35	144.03	5393.74	743.57
江门鹤山市	34.75	41.83	48.43	1939.83	211.55
茂名市电白区	28.44	27.44	32.04	1773.06	243.64
汕尾陆丰市	18.43	22.46	50.58	2671.05	243.80
钦州市灵山县	22.63	42.06	74.56	3438.21	199.09
钦州市浦北县	22.67	53.95	115.60	1559.25	127.22
贵港市平南县	27.83	18.88	25.45	1166.00	246.78
玉林市容县	39.35	27.17	34.17	1594.10	125.89
柳州市鹿寨县	22.12	16.58	41.86	1272.58	182.58
南宁市青秀区	16.61	22.57	24.74	1288.37	45.51

2.4 抗氧化作用检测方法的选择

当人体处于病理状态是，自由基在体内的存量会过量，对机体造成伤害，伴随着细胞和相关组织的损伤，导致各种疾病，包括心脏病、衰老和癌症等。自由基大部分来源于活性氧

（ROS），通常 ROS 包括超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢等。而在评价药材体外抗氧化作用众多方法中，DPPH 清除法是最常用方法之一；另外，良好的还原能力对应着较好的抗氧化能力，目前最常用的是还原铁离子

法, 即将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 后者再与有些物质反应形成稳固的络合物, 通常认为这种方法能够代表“总抗氧化能力”^[16,17]。因此, 本研究选用了总抗氧化能力、DPPH 清除率、抑制羟自由基能力和抑制抑制超氧阴离子自由基能力等方法从不同角度评价酸藤子根的抗氧化作用。

2.5 体外抗氧化活性测定与结果

2.5.1 待测溶液的制备

精密称量 1.0 g 的 10 个不同产地酸藤子根药材粉末, 置于 100 mL 锥形瓶中, 加入双蒸水 20 mL, 超声提取 40 min, 过滤, 重复提取 3 次, 滤液合并后用双蒸水定容至 100 mL, 然后再将 10 个产地的酸藤子根水提液稀释成 0.01、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mg/mL 6 个不同浓度, 备用。

2.5.2 总抗氧化能力 (T-AOC) 测定

依照测定试剂盒说明书规定的步骤进行操作, 分别测定待测溶液和维生素 C 各浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mg/mL) 的测定管和对照管在波长 520 nm 时, 各管吸光度值。按照总抗氧化能力的计算公式: 总抗氧化能力 (U/mL) = (测定 OD 值 - 对照 OD 值) / 0.01 × 30 × (反应液总量/取样量)。算出各浓度的酸藤子根水提液和维生素 C 的总抗氧化能力, 结果见图 2。

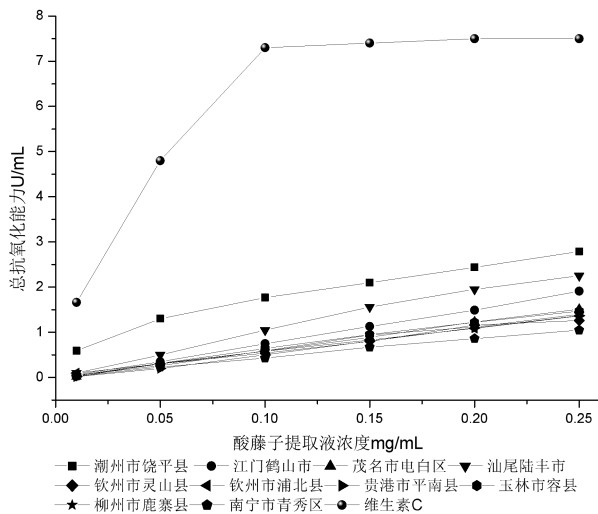


图 2 不同产地酸藤子根的总抗氧化能力

由图 2 可知, 在 0.01~0.25 mg/mL 质量浓度范围内, 不同产地酸藤子药材和 V_c 均表现出一定的量效关系, 随着质量浓度的增大, 总抗氧化能力也逐渐增强; V_c 浓度在 0.1 mg/mL 以后, 其总抗氧化能力趋于平稳。与 V_c 相比, 虽各产地酸藤子水提液的总抗氧化能力均低于相同浓度的 V_c , 但仍具有一定的抗氧化活性。其中, 总抗氧化能力最强的是潮州市饶平县, 最弱的是南宁市青秀区。

2.5.3 DPPH 自由基清除活性的测定

以 70% 乙醇为空白参比, 在 517 nm 波长处测定各样品吸光度。具体操作如下: 精密量取待测溶液 2 mL, 加入 2 mL 的

0.1 mmol/L DPPH 溶液, 混合均匀后于暗处反应 30 min, 记录吸光度 A_1 。另取 2 mL 待测溶液与 2 mL 70% 乙醇混合, 同法暗处静置 30 min, 测定吸光度作为样品背景校正值 A_2 。此外, 将 2 mL DPPH 溶液与 2 mL 70% 乙醇混合, 同法处理后测定吸光度 A_0 。按下式计算 DPPH 清除率: 清除率 (%) = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。不同浓度酸藤子根水提液的清除率结果见图 3, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 值见表 2, IC_{50} 值越小表明清除自由基能力越强。

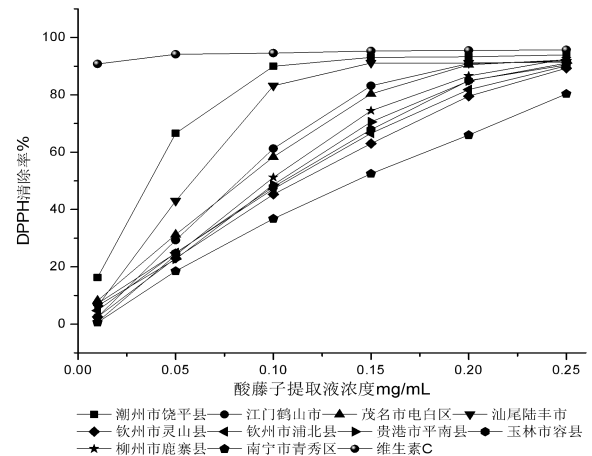


图 3 不同产地的酸藤子根 DPPH 清除率

表 2 不同产地酸藤子根液对 DPPH 自由基的清除能力 (n=3)

样品	半数清除浓度 IC_{50} (mg/mL)
V_c	0.006 ± 0.001
潮州市饶平县	0.041 ± 0.003
江门鹤山市	0.095 ± 0.007
茂名市电白区	0.093 ± 0.004
汕尾陆丰市	0.069 ± 0.005
钦州市灵山县	0.124 ± 0.007
钦州市浦北县	0.117 ± 0.002
贵港市平南县	0.113 ± 0.005
玉林市容县	0.113 ± 0.008
柳州市鹿寨县	0.110 ± 0.006
南宁市青秀区	0.152 ± 0.010

由图 3 可知, 在 0.01~0.25 mg/mL 质量浓度范围内, 不同产地酸藤子药材和 V_c 均表现出一定的量效关系, 随着质量浓度的增大, DPPH 清除率也逐渐升高; V_c 浓度在 0.05 mg/mL 以后, 其 DPPH 清除率趋于平稳。与 V_c 相比, 虽各产地酸藤子水提液的 DPPH 清除率均低于相同浓度的 V_c , 但对 DPPH 自由基均有较好的清除能力。由表 4 所示, DPPH 清除能力最

强的是潮州市饶平县, IC₅₀ 为 0.041 mg/mL; 最弱的是南宁市青秀区, IC₅₀ 为 0.152 mg/mL。

2.5.4 抑制羟自由基能力的测定

依照测定试剂盒说明书规定的步骤进行操作, 分别测定待测溶液和维生素 C 各浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25mg/mL) 的空白管、标准管、对照管、测定管在波长 550nm 时, 各管吸光度值。根据计算公式: 抑制羟自由基能力 (U/mL) = (对照 OD 值-测定 OD 值) / (标准 OD 值-空白 OD 值) × 标准品浓度 (8.824mmol/L) / 取样量, 计算出各浓度的酸藤子根水提液和维生素 C 抑制羟自由基能力, 结果见图 4。

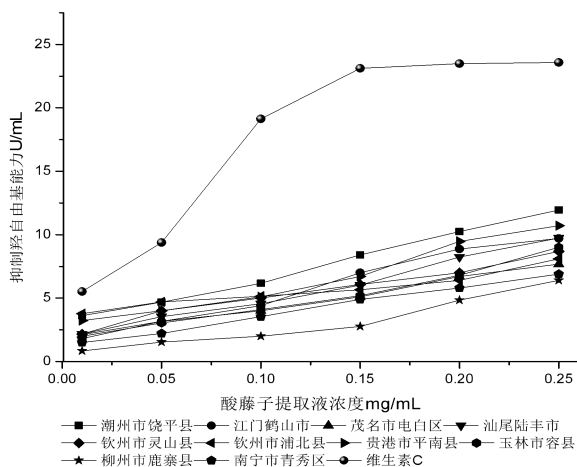


图 4 不同产地酸藤子根抑制羟自由基能力

由图 4 可知, 在 0.01~0.25 mg/mL 质量浓度范围内, 不同产地酸藤子药材和 V_C 均表现出一定的量效关系, 随着质量浓度的增大, 抑制羟自由基能力也逐渐增强; V_C 浓度在 0.15 mg/mL 以后, 其抑制羟自由基能力趋于平稳。与 V_C 相比, 虽各产地酸藤子水提液抑制羟自由基能力均低于相同浓度的 V_C, 但仍具有较好的抑制羟自由基活性。其中, 抑制羟自由基能力最强的是潮州市饶平县, 最弱的是柳州市鹿寨县。

2.5.5 抑制超氧阴离子自由基能力的测定

依照测定试剂盒说明书规定的步骤进行操作, 分别测定待测溶液各浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25mg/mL) 的对照管和测定管在波长 550nm 时, 各管吸光度值; 以维生素 C 为标准品, 配制成浓度为 0.15mg/mL 溶液, 按照相同的检测方法, 测定其吸光度作为标准 OD 值。根据计算公式: 抑制超氧阴离子自由基能力 (U/L) = (对照 OD 值-测定 OD 值) / (对照 OD 值-标准 OD 值) × 标准品浓度 (0.15mg/mL) × 1000mL, 计算

出各浓度的酸藤子根抑制超氧阴离子自由基能力, 结果见图 5。

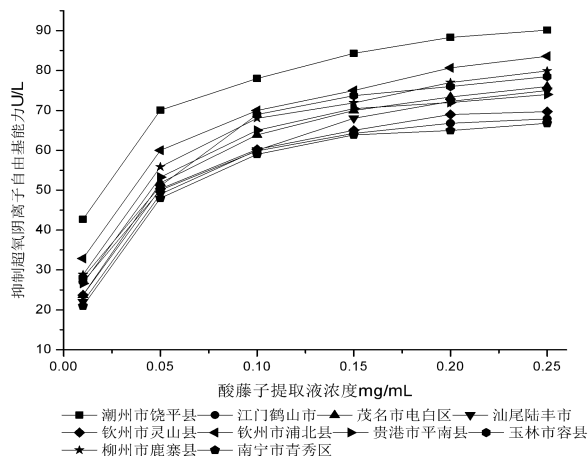


图 5 不同产地酸藤子根抑制超氧阴离子自由基能力

由图 5 可知, 在 0.01~0.25 mg/mL 质量浓度范围内, 不同产地酸藤子药材表现出一定的量效关系, 随着质量浓度的增大, 抑制超氧阴离子自由基能力也逐渐增强。其中, 抑制超氧阴离子自由基能力最强的是潮州市饶平县, 最弱的是南宁市青秀区。

2.6 酸藤子根的抗氧化作用

本研究通过 4 种常用的评价体外抗氧化作用的方法, 发现潮州市饶平县酸藤子根的抗氧化作用均最强, 其中在清除 DPPH 自由基实验中, 酸藤子根水提液浓度在 0.10 mg/mL 以后, 其清除率接近于同浓度的 V_C 溶液, 说明潮州市饶平县地区的酸藤子根具有较好的体外抗氧化作用。这可能与潮州市饶平县地区的酸藤子所含 5 种抗氧化成分 (没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁) 的总量最高有关, 其所含 5 种成分总量是钦州市灵山县 (第二) 的 1.7 倍, 明显高于其他产地。但酸藤子根的抗氧化作用与其成分的相关性, 仍需进一步实验证明。

3 结论

本研究采用 HPLC 法, 对酸藤子根中的没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芦丁 5 种成分进行含量测定, 能够对上述 5 种成分同时进行快速、高效的检测。不同地区之间的酸藤子根 5 种成分含量差异较大, 但均表现出较好的抗氧化作用。其中潮州市饶平县地区的酸藤子所含 5 种成分总量最高, 并且在 4 种有效的评价体外抗氧化实验中, 抗氧化作用均最强。本研究可为酸藤子质量控制标准提供参考, 并为酸藤子药材的深入研究及资源的开发利用提供实验依据。

参考文献:

[1] 中国科学院《中国植物志》编委会.中国植物志,第 58 卷[M].北京:科学出版社,1979.
[2] 张仲敏,周凤玲,陈振兴.瑶药酸藤子的研究进展[J].广西中医药大学学报,2021,24(01):69-73.

- [3] 戴斌.中国现代瑶药[M].南宁:广西科学技术出版社,2009.12.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》委员会.中华本草(第六册),第16卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999.
- [5] 广西壮族自治区食品药品监督管理局.广西壮族自治区瑶药材质量标准.2014年版[M].南宁:广西科学技术出版社,2014:216-217.
- [6] 梁臣艳,韦楠,甄汉深,等.酸藤子化学成分的初步研究[J].安徽农业科学,2011,39(19):11441-11442.
- [7] 李婉亭,李志强,曾祥昊,等.酸藤子的化学成分研究[J].中草药,2024,55(09):2868-2874.
- [8] 韩沙,张译,谢木水,等.酸藤子化学成分研究[J].中药材,2024,47(10):2510-2513.
- [9] 冯旭,李耀华,梁臣艳,等.酸藤子化学成分研究[J].中药材,2013,36(12):1947-1949.
- [10] Kelidari M, Abedi F, Hayes AW, Jomehzadeh V, Karimi G. The protective effects of protocatechuic acid against natural and chemical toxicants: cellular and molecular mechanisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2024, 397(8):5597-5616.
- [11] Dwivedi R, Bala R, Singh S, Sindhu RK. Catechins in cancer therapy: integrating traditional and complementary approaches. *Journal of complementary & integrative medicine* 2025, 22(4):574-586.
- [12] Li P, Song Y, Lv L, Zhang W, Jia A, Dong D, Zhai X. The role of gallic acid in liver disease: a review of its phytochemistry, pharmacology, and safety. *Frontiers in pharmacology* 2025, 16:1595508.
- [13] Yu L, Tian D, Su Z, Zhang L, Guo S, Zhu W, Fang Y, Wang P, Zhang N. Gallic acid alleviates exercise-induced muscle damage by inhibiting mitochondrial oxidative stress and ferroptosis. *J Transl Med* 2025, 23(1):30.
- [14] Keller AC, Lanaspá MA. Catechins for use in cardiovascular disease: Molecular mechanisms and contemporary bioassays. *J Pharm Biomed Anal* 2026, 268:117216.
- [15] Li Z, Wang Y, Fang D, Wang Y, Han H, Zhang X, Chen Z. Effects of rutin on renal function, oxidative stress and fibrosis in animal models of diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology* 2026, 17:1771010.
- [16] 谈利红,杨宗发,张丹,等.中药抗氧化活性成分及评价方法研究进展[J].亚太传统医药,2017,13(10):35-37.
- [17] 贾雪丽,祖姆热提·艾孜则,毕永贤,等.两种体外评价抗氧化活性方法影响因素分析:DPPH和ABTS[J].日用化学工业(中英文), 2024,54(07):866-872.