

响应面法优化川丹参总黄酮提取工艺及其体外抗氧化活性评价

赵学友(临朐县人民医院, 山东 潍坊 262600)

摘要: 目的 采用响应面法优化川丹参中总黄酮提取工艺, 并初步探究总黄酮的体外抗氧化活性。方法 在单因素试验的基础上, 以甲醇浓度(A)、提取时间(B)、提取温度(C)为自变量, 运用 Box-Behnken 试验设计-响应面法优化超声辅助提取川丹参总黄酮工艺。同时, 测定川丹参总黄酮对超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟基自由基($\cdot OH$)和 DPPH $\cdot$ 3 种自由基的体外清除活性。结果 通过响应面试验设计得到川丹参总黄酮最佳提取工艺: 甲醇浓度 71%, 超声时间 52 min, 超声温度 55 $^{\circ}C$, 在此工艺条件下提取得率可达 12.493%。在所测浓度范围内, 川丹参总黄酮对 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 和 DPPH $\cdot$ 均有一定的清除效果, 其最大清除率分别达到 93.4%, 60.3%和 40.3%。结论 Box-Behnken 设计-响应面法优化川丹参总黄酮提取工艺方法简便, 可预测性较好; 川丹参总黄酮具有体外抗氧化活性, 值得进一步研究和利用。

关键词: 川丹参; 总黄酮; 提取工艺; 响应面法; 抗氧化

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2017)05-0686-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.011

引用本文: 赵学友. 响应面法优化川丹参总黄酮提取工艺及其体外抗氧化活性评价[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 686-691.

Optimization of Extraction of Total Flavonoids from *Salvia Miltiorrhiza* Bge. by Response Surface Analysis and Evaluation of Its Antioxidant Activity *in Vitro*

ZHAO Xueyou(Linqu People's Hospital, Weifang 262600, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the ultrasonic-assisted extract on total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza* Bge. and evaluate its *in vitro* antioxidant activity. **METHODS** On the basis of single-factor test, the ultrasonic-assisted extraction process parameters of total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza* Bge. were optimized by the response surface method on the methanol concentration(A), extraction time(B) and extraction temperature(C). Meanwhile, the scavenging effects of total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza* Bge. on superoxide free radical($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl free radical($\cdot OH$) and DPPH $\cdot$ were determined. **RESULTS** The optimum conditions for total flavonoids of *Salvia miltiorrhiza* Bge. were as follows: methanol concentration was 71%, ultrasonic time was 52 min, and extraction temperature was 55 $^{\circ}C$. Under these conditions, the yield of total flavonoids could reach 12.493%. The total flavonoids had a certain scavenging effect on $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ and DPPH $\cdot$, with the maximum scavenging rate of 93.4%, 60.3% and 40.3%, respectively. **CONCLUSION** The Box-Behnken design and response surface analysis can well optimize the ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza* Bge. and has good predictability. The total flavonoids from *Salvia miltiorrhiza* Bge. have antioxidant activity *in vitro*, so this plant is worth further research and utilization.

KEY WORDS: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; flavonoids; extraction technology; response surface methodology; antioxidant activity

中药丹参系唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎, 味苦, 归心、肝经, 具有活血祛瘀、痛经止痛、清心除烦和凉血消痈等功效, 用于治疗胸痹心痛, 脘腹胁痛, 热痹疼痛, 心烦不眠, 月经不调, 痛经闭经^[1]。现代药理学研究发现, 丹参具有抗氧化^[2-4]、对抗心肌细胞缺氧/复氧(A/R)损伤^[5]、抗肝纤维化^[6]、抗动脉硬化^[7]、抑制肿瘤内新生血管^[8]及抗皮肤损伤等药理活性。基于丹参药材在化学成分及药理作用方面研究基础^[9-11], 为明确川丹参中的总黄酮提取工艺参数, 本实验在单因素试验基础上, 采用响应面法^[12](response surface methodology, RSM)3

因素 3 水平试验设计, 快速有效确定多因子系统提取总黄酮的最佳条件。丹参药材在化学成分及抗氧化等药理作用方面研究基础较好, 但目前就四川产丹参中黄酮类成分的体外抗氧化的研究并未见文献报道。本实验采用超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)和 DPPH $\cdot$ 3 种体系对四川产丹参总黄酮的体外抗氧化活性进行了综合考察, 以期为进一步探究川丹参抗氧化活性及深入开发利用该中药资源提供理论依据。

1 材料与仪器

川丹参(批号: 20140810)购于四川省德阳市中江县集凤镇中药材基地, 经青海大学药学院袁明

作者简介: 赵学友, 男, 主管药师 Tel: (0536)3120000 E-mail: xyzhao132@126.com

副教授鉴定为川丹参的根及根茎。芦丁(上海士锋生物科技有限公司, 批号: 15030102, 货号: B10724, 纯度 $\geq 98\%$); 甲醇(色谱纯, 山东禹城化学试剂厂); 二苯代苦味酰基自由基(Sigma 公司); 邻二氮菲(上海中泰化学试剂有限公司); 三羟甲基氨基甲烷(Tris, 成都化学试剂厂); 邻苯三酚、双氧水、无水乙醇、七水合硫酸亚铁、磷酸二氢钠、石油醚(沸程 60~90 $^{\circ}\text{C}$)、乙酸乙酯、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠和磷酸氢二钠均为国产分析纯。维生素 C(Vc, 无锡济民可信山禾药业股份有限公司, 批准文号: 国药准字 H32025345, 批号: 20140810)。

UV-759 型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); KQ-250DB 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司); 101-1ES 型电热鼓风干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂); 优普 UPT 系列超纯水器(成都超纯科技有限公司); ALC-110.4 型电子天平(德国 Acculab 公司); DLSB-5/20 低温冷却循环泵(郑州长城科工贸有限公司)。

2 方法

2.1 响应面法优化川丹参总黄酮提取工艺

2.1.1 川丹参总黄酮的提取 采用甲醇-水混合液提取川丹参。将川丹参烘干, 粉碎后过 40 目筛, 精确称取 2.0 g 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 按照一定的液料比、甲醇浓度、提取时间和提取温度进行超声辅助溶剂提取, 重复 2 次。提取完成后, 合并提取液, 过滤, 浓缩, 用 30%乙醇定容至 25 mL 量瓶中, 即为样品溶液。

2.1.2 芦丁对照品溶液的配制 精确称取干燥至恒重的芦丁对照品 5.0 mg, 用 30%乙醇溶解并定容于 25 mL 量瓶中, 摇匀, 即得浓度为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。准确移取芦丁对照品溶液 5.00 mL, 在 450~600 nm 处测定吸收度, 在 510 nm 处有最大吸收, 故选 510 nm 为测定波长。分别移取芦丁对照品溶液 0.00, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mL 于 25 mL 量瓶中, 用 30%乙醇稀释至 10 mL, 加入 1.0 mL 5%NaNO₂ 溶液摇匀, 立刻加入 1.0 mL 10%Al(NO₃)₃ 摇匀, 放置 10 min。加入 5 mL 浓度为 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液, 用 30%乙醇定容, 混合后摇匀, 放置 10 min, 以试剂空白为参比, 在 510 nm 处测吸光度值^[13]。以芦丁浓度 $C(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 以吸光度 A 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到标准曲线方程为 $A=10.209C-0.0013$, $r=0.9993$ 。

2.1.3 总黄酮的含量测定 取“2.1.1”项下定容后的样品溶液 2 mL 于 25 mL 量瓶中, 在 510 nm 处测量吸光度, 计算总黄酮的提取得率。

总黄酮提取得率($\%$)= $C\times\text{稀释倍数}\times V/m\times 100\%$, 其中 $C(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$: 由回归方程计算出总黄酮含量; $V(\text{L})$: 提取液体积; $m(\text{g})$: 样品质量。

2.1.4 单因素试验 采用超声波辅助法提取川丹参总黄酮。分别以甲醇浓度、液料比、提取温度、提取时间 4 个因素为自变量, 以川丹参总黄酮提取得率为因变量, 分别固定其中 3 个因素条件, 变化某一因素条件, 进行单因素试验, 考察某一因素对川丹参总黄酮提取得率的影响^[14]。

2.1.5 响应面法优化提取条件 综合各单因素试验结果, 4 个因素中以甲醇浓度(A)、提取时间(B)和提取温度(C)对总黄酮提取得率影响较大, 因此建立上述 3 因素的 3 水平中心组合试验设计, 对川丹参总黄酮提取条件进行优化, 见表 1。

表 1 中心组合设计因素与水平表

Tab. 1 Factors and levels in the central composite design

水平	因素		
	A 甲醇浓度/%	B 时间/min	C 温度/ $^{\circ}\text{C}$
-1	60	30	40
0	70	45	50
1	80	60	60

2.2 体外抗氧化实验

2.2.1 O₂⁻清除能力测定 测定方法参考文献[15]。取 6 支 10 mL 量瓶, 分别加入 4.5 mL Tris-HCl 缓冲溶液、3.0 mL 蒸馏水, 混匀后, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 环境下放置 20 min, 后加入邻苯三酚溶液 0.4 mL, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下保温 4 min, 立即加入 1 mL $10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸, 蒸馏水定容, 于 325 nm 处测定吸光度 A_0 及 A_x 。另取 5 支量瓶严格按照如上操作, 以蒸馏水代替邻苯三酚溶液为对照组, 以 Vc 为阳性对照, 在 325 nm 处测定吸收波长 A_{x0} 。样品溶液对 O₂⁻清除率= $[1-(A_x-A_{x0})/A_0]\times 100\%$ 。其中, A_0 : 空白组溶液的吸光度值; A_x : 样品组吸光度值; A_{x0} : 对照组吸光度值。

2.2.2 ·OH 清除能力测定 采用邻二氮菲-Fe²⁺氧化法^[16]测定川丹参对·OH 的清除能力。取 1 mL 浓度为 $0.75\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻二氮菲溶液于试管中, 加入 1 mL 不同浓度的粗提物溶液和 PBS 缓冲液 2 mL($0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na₂HPO₄ 溶液 81 mL 和 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaH₂PO₄ 溶液 19 mL 完全混合, pH

7.4), 混匀, 加入 1 mL 浓度为 $0.75 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FeSO_4 溶液混匀, 再加入 1 mL 0.01% 的过氧化氢溶液, 37°C 水浴条件下反应 1 h, 在 536 nm 下测得的吸光值记为 A_i , 以 1 mL 蒸馏水代替粗提物溶液所测得的吸光值记为 A_j , 以 1 mL 30% 的乙醇溶液代替 1 mL 过氧化氢所测得的吸光值为 A_k 。以 Vc 作为阳性对照。依下列公式计算川丹参总黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率} = \frac{A_i - A_j}{A_k - A_j} \times 100\%$$

2.2.3 DPPH·清除能力的测定 向 2 mL 不同浓度的样品溶液中分别加入 2 mL $0.08 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DPPH·乙醇溶液, 立即混匀, 于黑暗环境中反应 30 min, 在 517 nm 处测定得吸光度 A_1 。同条件下以 2 mL 乙醇溶液替代 DPPH·乙醇溶液测得的吸光值记作 A_2 。取 2 mL 乙醇溶液, 加入 2 mL 含 DPPH·的乙醇溶液, 立即混匀后于黑暗条件下反应 30 min, 测得吸光值记为 A_3 。以 Vc 作为阳性对照。依据下列公式计算川丹参总黄酮对 DPPH·的清除率^[17]。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3} \right) \times 100\%$$

3 结果

3.1 单因素试验结果

3.1.1 甲醇浓度的选择 当甲醇浓度在 50%~70% 之间, 川丹参总黄酮的提取得率随浓度增加而增大; 当甲醇浓度为 70% 时总黄酮提取得率达到最大值。继续增加甲醇浓度, 总黄酮提取得率呈现下降趋势。原因可能是随着甲醇浓度的增大, 黄酮类化合物达到饱和, 同时一些杂质等成分溶出量增加, 这些成分与黄酮类化合物竞争性溶出, 从而导致黄酮类化合物得率下降。结果见图 1。因此, 本实验选取甲醇浓度为 60%~80% 进行 Box-Behnken 试验设计。

3.1.2 料液比的选择 川丹参总黄酮的提取得率随溶剂量增加而增大, 当料液比达到 1:30 时提取得率最大, 继续增加溶剂量后提取得率反而有所降低, 结果见图 2。可能的原因是料液比过小, 黄酮在溶剂中溶解不充分; 料液比过大, 则导致样品中一些非黄酮类的化合物溶解度增大, 与黄酮类化合物竞争性溶出, 从而干扰黄酮的提取, 使其得率减小。

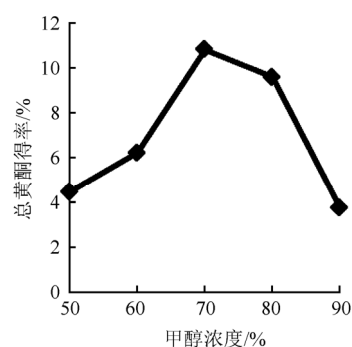


图 1 甲醇浓度对总黄酮提取得率的影响

Fig. 1 The effect of methanol concentration on the yield of total flavonoids

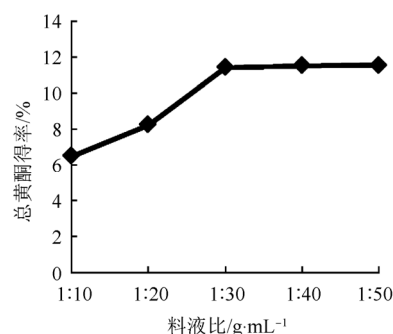


图 2 料液比对总黄酮提取得率的影响

Fig. 2 The effect of ratio of material to liquid on the yield of total flavonoids

3.1.3 提取温度的选择 提取温度为 50°C 时, 川丹参总黄酮的提取得率近最大值。温度升高至 60°C , 总黄酮的提取得率略微增加。继续升高温度, 总黄酮的提取得率明显下降, 可能的原因是温度过高引起了黄酮类物质的结构变化, 导致提取得率降低。选择提取温度为 $40\sim60^\circ\text{C}$ 进行 Box-Behnken 试验设计。

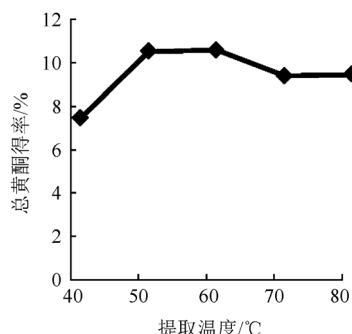


图 3 提取温度对总黄酮提取得率的影响

Fig. 3 The effect of extraction temperature on the yield of total flavonoids

3.1.4 提取时间的选择 提取时间在 5~45 min 内总黄酮提取得率不断增大,在超声时间 45 min 时,川丹参总黄酮的提取得率近最大值;当继续延长提取时间,提取得率不再明显增大,黄酮类化合物已渐达饱和,不再明显溶出。结果见图 4。因此,选择提取时间为 30~60 min 进行 Box-Behnken 试验设计。

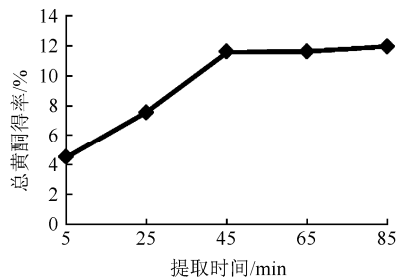


图 4 提取时间对总黄酮提取得率的影响

Fig. 4 The effect of extraction time on the yield of total flavonoids

3.2 响应面法优化川丹参总黄酮提取工艺

3.2.1 响应面分析试验结果 采用 Box-Behnken 设计结合响应面法,以总黄酮提取得率为响应值 Y,对影响超声提取川丹参总黄酮的工艺参数(A: 甲醇浓度, B: 时间, C: 温度)进行优化,试验结果见表 2。采用 Design-Expert 8.0 软件对各因素进行回归拟合,得到回归方程: $Y=11.78+0.46A+1.95B+0.50C-0.076AB+0.25AC+0.41BC-2.11A^2-3.84B^2-0.40C^2$,回归模型方差分析结果见表 3。由表 3 可知,决定系数 $r^2=0.975$,说明该拟合方程与实际情况相符,且误差较小,能充分反映出各因素与响应值之间的关系;其失拟项在 $\alpha=0.05$ 水平上为极显著($P<0.01$),说明使用该方程模拟实际的 3 因素 3 水平分析是可行的。3 因素对总黄酮提取得率的影响不是呈简单的线性关系。通过该方程发现,该回归模型 F 检验为极度显著($P<0.0001$)。各种因素之间存在着一定的交互作用, B、 A^2 、 B^2 为极显著项($P<0.0001$); A、C、 C^2 为显著项($P<0.05$)。同时 A、B 和 C 3 个因素方差分析的 F 值依次为 6.39, 113.25, 7.60,可以推断,在所选择的试验范围内,3 个因素对总黄酮提取得率影响的顺序为超声时间(B)>超声温度(C)>甲醇浓度(A)。在有交互作用存在下,3 因素对川丹参总黄酮提取得率的影响顺序为 BC>AC>AB。

3.2.2 因素间的交互影响 根据拟合模型绘制总黄酮提取得率响应面的三维图,可直观地看出响

应面的最高点,即参数范围内的极值以及因素间的相互作用对响应值的影响。

根据拟合模型绘制 3 因素对总黄酮提取得率影响的响应面三维图,可直观地看出响应面的最高点,即参数范围内的极值以及因素间的相互作用对响应值的影响。Design-Expert 8.0 软件处理后三维响应面见图 5。由图 5 可知,甲醇浓度和超声温度对总黄酮提取得率的影响较为显著,表现为曲线较陡,即随着甲醇浓度、超声温度的增加或减少,响应值变化较大;提取时间对总黄酮提取得率的影响不大,表现为曲线较为平滑,即随提取时间增加或减少,响应值变化较小。

表 2 响应面试验结果

Tab. 2 The experiment result of response surface

组别	A 甲醇浓度/%	B 时间/min	C 温度/℃	Y 总黄酮提取得率/%
1	60	30	50	8.107
2	70	30	60	8.749
3	70	60	40	5.504
4	70	45	50	11.795
5	70	45	50	11.269
6	70	60	60	9.906
7	70	30	40	5.993
8	80	45	40	4.148
9	70	45	50	11.479
10	60	45	40	3.279
11	80	30	50	8.743
12	70	45	50	12.108
13	70	45	50	12.243
14	60	60	50	9.293
15	60	45	60	7.648
16	80	45	60	8.212
17	80	60	50	10.928

3.2.3 川丹参总黄酮提取工艺条件的确定及验证

通过软件 Design-Expert 8.0 求解方程,得出了川丹参总黄酮最优提取工艺条件: 甲醇浓度为 69.6%,超声时间为 51.6 min,超声温度为 45.3 ℃,在此工艺条件下川丹参总黄酮提取得率为 12.493%。综合考虑时间、成本等因素,对工艺参数进行了一定的修正,确定适宜的提取工艺条件: 甲醇浓度为 71%,超声时间为 52 min,超声温度为 45 ℃。在此条件下进行 3 组平行实验,取其平均值为 12.372%,与其理论值偏差为 0.969%,可见采用上述响应面法优化川丹参总黄酮的提取条件比较可靠。

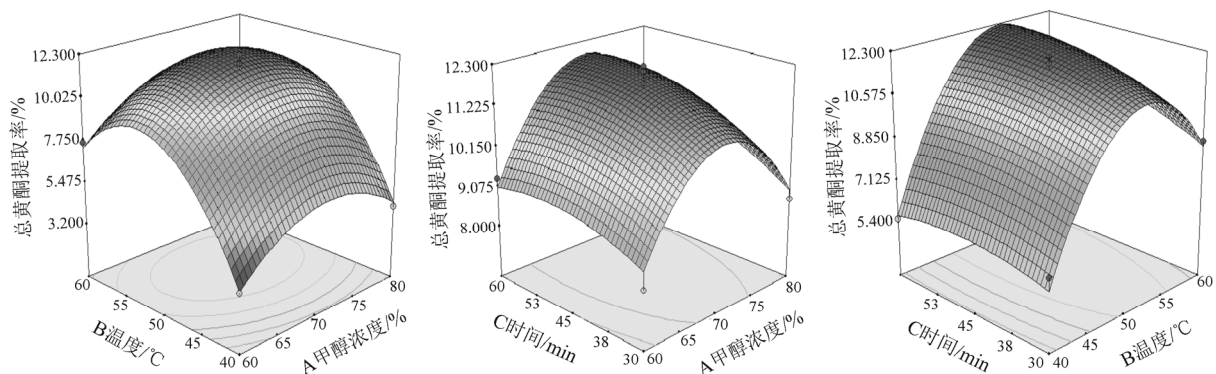


图 5 $Y=f(A,B)$, $Y=f(A,C)$, $Y=f(B,C)$ 的响应面

Fig. 5 Responsive surface of $Y=f(A,B)$, $Y=f(A,C)$, $Y=f(B,C)$

表 3 拟合二次多项式模型的方差分析

Tab. 3 Analysis of variance (ANOVA) for the fitted quadratic polynomial model

方差来源	平方和	均方	F 值	P 值
模型	122.18	13.58	50.60	<0.000 1
A	1.71	1.71	6.39	0.039 3
B	30.38	30.38	113.25	<0.000 1
C	2.04	2.04	7.60	0.028 2
AB	0.023	0.023	0.087	0.777 0
AC	0.25	0.25	0.93	0.367 0
BC	0.68	0.68	2.52	0.156 1
A ²	18.81	18.81	70.11	<0.000 1
B ²	62.20	62.20	231.81	<0.000 1
C ²	0.66	0.66	2.48	0.039 3
残差	1.88			
失拟项	2.82	0.40	2.39	0.008 8
纯误差	0.67	0.17	0.27	
总差	124.06			
决定系数	0.975			
矫正的决定系数	0.967			

3.3 体外抗氧化体系评价

3.3.1 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除 由图 6 可知, Vc 浓度 $> 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对 $O_2^{\cdot-}$ 始终有很强的清除作用。川丹参总黄酮样品对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用较明显, 但当浓度 $< 2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 清除作用明显弱于 Vc, 当川丹参总黄酮浓度在 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 最大清除率可达 90.6%。随着总黄酮浓度进一步增大, 清除率仍有所增加, 说明川丹参总黄酮对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力存在一定的剂量关系。

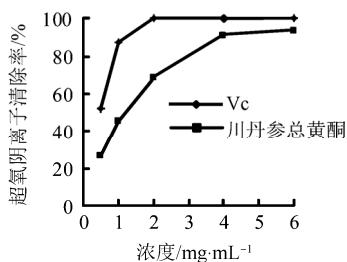


图 6 川丹参总黄酮对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用

Fig. 6 Scavenging effect of total flavonoids on $O_2^{\cdot-}$

3.3.2 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除 川丹参总黄酮对羟基自由基有一定的清除效果, 且随着溶液浓度的增加, 清除率不断增加, 但与 Vc 相比, 其清除效果不强。当川丹参总黄酮浓度达到 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率仅为 60%。川丹参总黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 的清除效果不显著。结果见图 7。

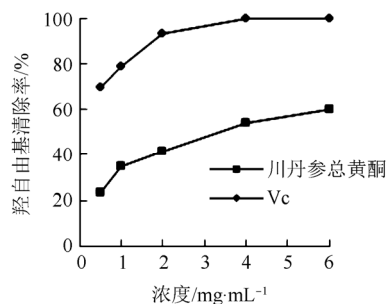


图 7 川丹参总黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用

Fig. 7 Scavenging effect of total flavonoids on $\cdot\text{OH}$

3.3.3 对 DPPH $\cdot$ 体系的清除 由图 8 可知, 在实验浓度 $0.5 \sim 6.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内, 阳性对照物 Vc 对 DPPH $\cdot$ 的清除率较高, 保持在 60% 以上, 在浓度为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时清除率达到 100%。而川丹参总黄酮样品对 DPPH $\cdot$ 的清除作用虽然随着其样品浓度的增大而逐渐升高, 但清除活性始终低于阳性对照。

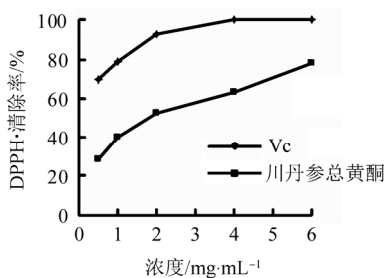


图 8 川丹参总黄酮对 DPPH $\cdot$ 清除作用

Fig. 8 Scavenging effect of total flavonoids on DPPH $\cdot$

4 讨论

考虑到有些黄酮类成分含酚羟基多, 极性偏大, 为了尽可能将全部黄酮类成分提取出来, 采用甲醇-水混合液作为提取溶剂。运用 Design-Expert 软件, 通过 Box-Behnken 试验设计-响应面法建立川丹参总黄酮提取率与甲醇浓度、超声时间和超声温度 3 因素之间的二次多项拟合方程, 能够很好地运用多元二次方程来拟合因素和响应值之间的函数关系, 在单因素试验的基础上, 选取多种因素进行综合考察, 通过对回归方程的分析寻求最优工艺参数。与其他分析方法相比, Box-Behnken 设计可以评价指标和因素间的非线性关系, 操作方便, 条件预测性好, 对实验影响因素研究更全面, 可靠性高。建立的模型能够很好地预测出川丹参总黄酮提取率, 预测值与实际提取率差异较小, 可以应用到其他药材总黄酮提取工艺中。然而, 川丹参总黄酮中的具体化学成分种类及含量还需进一步明确, 以期对川丹参总黄酮的抗氧化活性提供明确的量效关系。

体外抗氧化活性的实验结果表明, 川丹参总黄酮可作为一种良好的天然抗氧化剂, 对 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 和 DPPH $\cdot$ 均有一定的清除效果, 但是对各自自由基的清除强度存在差异。其中, 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除效果在所测最高浓度时与 Vc 相当, 对另外 2 种自由基的清除效果均弱于 Vc。仅从最大清除率比较而言, 川丹参总黄酮抗氧化性由强到弱依次为 $O_2^{\cdot-} > DPPH\cdot > \cdot OH$ 。 $\cdot OH$ 是所有氧自由基中最活泼的, 抗清除能力较强, 这在一定程度上解释川丹参总黄酮对 $\cdot OH$ 的清除率仅有 60.3% 的实验结果。同时, 对于川丹参与其他产地丹参的有效成分的抗氧化作用及物质基础的差异比较也值得进一步探究。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 70.
- [2] LI X, XUE Z F, ZHU W X. Antioxidant activities and contents of total flavonoids and phenols from different parts of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. Food Sci(食品科学), 2011, 32(3): 108-111.
- [3] WANG Y. Antioxidant activity of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. and *Salvia miltiorrhiza* Bunge. F. alba in vitro [D]. Northwest A&F University(西北农林科技大学), 2011.
- [4] WANG P Q, KONG X M, KANG W Y. Antioxidant activity of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and different processed products [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26(7): 1132-1136, 1042.
- [5] HUANG H, HE H, WANG D H. Separate experimental study of effect of lignum acronylchiae total flavonoids, lignum acronylchiae oil, tanshinone in the Guanxin Danshen capsule against cardiomyocytis anoxia/reoxygenation injury [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(2): 191-194.
- [6] WANG W X. Chemical constituents in anti-hepatic fibrosis fraction of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013, 25(6): 789-791.
- [7] LI C X, YU J, LU Y F, et al. Advances in protective effects of tanshinones on cardiovascular and cerebrovascular diseases [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2016, 35(8): 542-546.
- [8] ZHANG W J, ZHANG X L, JIANG F. Effect of depsides salts from *Salvia miltiorrhiza* on proliferation and apoptosis of Glioma U251 cells [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(9): 1137-1141.
- [9] LI C X, YU J, LU Y F, et al. Advances in protective effects of tanshinones on cardiovascular and cerebrovascular diseases [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2016, 35(8): 542-546.
- [10] MA B X, DONG C K. New advance of the pharmacological research of *Salvia miltiorrhiza* [J]. China Pharm(中国药房), 2014, 25(7): 663-665.
- [11] LI Q Y, LIU Y, BAO H Y. Progress on pharmaceutical effects and chemical constituents of *Salvia miltiorrhiza* in recent five years [J]. Food Drug(食品与药品), 2014, 16(2): 145-146.
- [12] CHANG S P, YU X, LIANG Z Y, et al. Optimization of extraction technique of total flavonoids in *Polygonum Chinese* by response surface methodology [J]. Pharm Today(今日药学), 2016, 26(1): 36-38, 50.
- [13] ZHANG Q L, LIANG Y X, LI W C, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from *Hypocoum leptocarpum* Hook. f. et Thoms by response surface analysis [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013, 25(6): 841-845.
- [14] ZHANG L M, LI R C, HAO L M, et al. Response surface methodology for optimization of extracting total flavonoids from Maca leaves and antioxidant evaluation [J]. Mod Food Sci Tech(现代食品科技), 2014, 30(4): 233-239.
- [15] XU Y, WEI H P, WU Y, et al. Study on optimization of extraction of total flavonoids from Zingiber striatum by response surface methodology and its antioxidant activity [J]. Sci Tech Food Ind(食品工业科技), 2015, 36(5): 233-239.
- [16] GONCALES S, GREVENSTUK T, MARTINS N, et al. Antioxidant activity and verbascoside content in extracts from two uninvestigated endemic Plantagospp [J]. Indust Crops Prod, 2015, 65(65): 198-202.
- [17] HO R, VIOLETTE A, CRESSEND D, et al. Antioxidant potential and radical-scavenging effects offlavonoids from the leaves of *Psidium cattleianum* grown in French Polynesia [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(3): 274-277.

收稿日期: 2016-07-11
(本文责编: 曹粤锋)