

兔儿伞总黄酮提取工艺的优化及体外活性研究

杨务彬

(十堰市太和医院·湖北医药学院附属医院 药学部,湖北 十堰 442000)

摘要: 通过响应面法优化了乙醇体积分数、超声时间和液料比等影响兔儿伞总黄酮超声提取工艺的关键参数,以 DPPH 自由基、超氧阴离子、ABTS⁺ 自由基清除能力及对酪氨酸酶抑制活性为评价指标,研究兔儿伞总黄酮的体外活性。在乙醇体积分数为 61%、提取时间为 34 min、液料比为 45 mL/g 的条件下,兔儿伞总黄酮的可以实现最佳提率,高达(11.53 ± 0.16)%,该值与预测值相符。体外活性研究发现,兔儿伞总黄酮对 DPPH 自由基、超氧阴离子和 ABTS⁺ 自由基具有较强的清除能力,同时具备较好的酪氨酸酶抑制活性。该提取工艺具有可行性,且总黄酮具有一定的体外活性,为兔儿伞总黄酮的开发提供了重要的研究基础。

关键词: 兔儿伞;总黄酮;响应面法;超声提取;体外活性

中图分类号: R283.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-8513(2024)06-0692-07

兔儿伞,首次记载于《救荒本草》,属于菊科多年生草本植物,学名为 *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim. 因其具大型伞房状花序,故又称“雨伞菜”、“一把伞”、“水鹅掌”等^[1]。兔儿伞味苦、辛,性温,具有祛风除湿,解毒活血,消肿止痛的功效。其药用价值较高,兔儿伞能有效消除巴豆油合剂引发的肿胀与炎症^[2],表现出显著的抗炎镇痛作用,其机制可能与降低血管通透性及抑制 PGE₂ 的合成释放有关^[3]。与阴性对照相比,兔儿伞的醇提取物在 S₁₈₀ 荷瘤小鼠实验中表现出显著的抗肿瘤作用,能够增加胸腺指数、减小肿瘤体积、延长存活期,且呈现剂量依赖性^[4]。此外,兔儿伞的乙醇提取物具有较好的清除羟自由基和超氧阴离子自由基的抗氧化能力^[5]。

兔儿伞中富含多种生物活性成分,这些成分赋予其广泛的药理作用。研究表明,兔儿伞中含有挥发油(β -芹子烯、大根香叶-1 β -醇等)^[6]、黄酮类成分(大豆苷、异槲皮苷、槲皮苷、山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷、芒柄花苷等)^[7-8]、三萜(齐墩果酸尼洛替星、 β -香树酯醇、羽扇豆酮、4-表常春藤酸)^[9]、甾体(胡萝卜苷等)、芪类化合物(α -葡萄糖素)、吡咯里西啶型生物碱(syneilesine、acetylsyneilesine 等)^[10]等多种化学成分。其中,黄酮类成分为兔儿伞的主要活性成分^[11],与模型组相比,不同剂量的兔儿伞总黄酮(100、200 和 400 mg/kg)能显著抑制小鼠耳朵二甲苯引发的肿胀,降低醋酸导致的毛细血管通透性,以及棉球引发的肉芽肿质量,并减少小鼠气囊中的炎症因子前列腺素 E₂ 和白细胞含量。然而,目前关于兔儿伞黄酮类的超声提取及其抗氧化活性的研究尚未见报道。本研究首次采用响应面法优化了兔儿伞总黄酮的超声提取工艺,并对其体外抗氧化及抑制酪氨酸酶活性进行研究,以期兔儿伞总黄酮在食品和美白类化妆品领域的应用提供科学依据。

1 实验

1.1 主要材料、试剂与仪器

兔儿伞购自河北保定安国橘井中药养生堂,经十堰市太和医院叶方副教授鉴定为菊科植物兔儿伞的全草。芦丁标准品(批号:20210614,纯度 \geq 98%)购自青岛捷世康生物科技有限公司;维生素 C(批号:20200105)、熊果苷(批号:20210408)、1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH,批号:20200429)均购自上海纯优生物科技有限公司。

UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声

收稿日期:2023-09-16.

基金项目:湖北省教育厅科学技术研究项目(B2018121);十堰市太和医院基金项目(2016JJXM013).

作者简介:杨务彬(1969-),男,硕士,副主任药师。主要从事中药新技术研究。

仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的绘制

精密称取芦丁标准品 5.12 mg,置于 25 mL 棕色容量瓶中,加入体积分数 60% 的乙醇溶液 20 mL,超声至溶解,自然冷却至室温,用上述乙醇溶液定容至刻度,摇匀,得到质量浓度为 0.205 mg/mL 的对照品储备溶液。取对照品储备溶液 0.0、0.1、0.6、1.2、1.8、2.4 和 3.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶,加入 0.5 mL 质量分数为 5% NaNO₃,混匀,静置 6 min,再加入 0.5 mL 质量分数为 10% Al(NO₃)₃,混匀静置 6 min,随后加入 5 mL 质量分数为 4% NaOH 溶液,最后用体积分数为 60% 的乙醇溶液定容,制成质量浓度分别为 0.002、0.013、0.025、0.037、0.049 和 0.061 mg/mL 的对照品溶液。混匀后全波长扫描,发现 510 nm 为对照品溶液的最大吸收波长。以吸光度 A 为纵坐标,芦丁的质量浓度 ρ_1 为横坐标,拟合获得的标准曲线为 $A = 5.4733\rho_1 + 0.0096$,相关系数 $R^2 = 0.9982$,这表明芦丁在 0.002048 ~ 0.06144 mg/mL 范围内具有良好的线性关系。

1.2.2 兔儿伞总黄酮提取率的测定

取兔儿伞药材,打碎,过 60 目筛。准确称取兔儿伞粉末 3.0 g,添加适量体积分数的乙醇溶液,称重,设定超声功率 80 W,提取温度 60 °C,超声提取,用对应体积分数的乙醇补足损失的重量,过滤,即得兔儿伞样品溶液。移取适量样品溶液,按照“1.2 项下”的方法,进行吸光度测定并按照式(1)计算兔儿伞总黄酮提取率。

$$\text{总黄酮提取率}(\%) = \frac{\rho_2 \times V \times n}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: ρ_2 为提取液中总黄酮的质量浓度(mg/mL), V 为提取液定容后的体积(mL), n 为稀释倍数, m 为兔儿伞质量(g)。

1.2.3 提取工艺优化

分别考察不同乙醇的体积分数(30%、40%、50%、60%、70%和80%)、不同超声提取时间(10、20、30、40、50和60 min)、不同液料比(20、30、40、50、60和70 mL/g)对兔儿伞总黄酮提取率的影响。根据单因素试验结果,以乙醇体积分数、提取时间、液料比为考察因素,利用 Box - Behnken 设计优化兔儿伞总黄酮的提取工艺。试验的因素及水平见表 1。

表 1 试验的因素水平表

水平	因素		
	A 乙醇的体积分数/%	B t/min	C 液料比/(mL · g ⁻¹)
-1	50	20	30
0	60	30	40
1	70	40	50

1.2.4 兔儿伞总黄酮的体外活性研究

1) 对 DPPH 自由基清除能力的影响

参照文献[12]的研究方法,精确称取 5.0 mg 的 DPPH,适量无水乙醇溶解,即得质量浓度 0.05 mg/mL 的 DPPH 溶液,室温条件下反应 30 min,于 517 nm 处进行吸光度值测定,记为 A_0 ;将最佳条件下提取的总黄酮溶液稀释成不同的质量浓度,分别取 2 mL 稀释后的总黄酮溶液,加入 2 mL DPPH 溶液,混匀后进行反应,测定吸光度,记为 A_1 。另取 2 mL 最佳条件下提取的总黄酮溶液,加入 2 mL 无水乙醇溶液,混匀后反应,测定吸光度,记为 A_2 。阳性对照为维生素 C,DPPH 自由基清除率计算见公式(2)。

$$\text{DPPH 自由基的清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

2) 对超氧阴离子自由基清除能力的影响

对兔儿伞总黄酮提取液进行稀释,根据文献[13]的方法于 517 nm 处进行吸光度测定,其中样品溶液的吸光度值为 A_1 ,空白溶液的吸光度值记为 A_0 ,超氧阴离子自由基清除率见公式(3)。

$$\text{超氧阴离子自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

3) 对 ABTS⁺ 自由基的清除能力的影响

依据文献[14]报道的方法对兔儿伞总黄酮清除 ABTS⁺ 自由基的能力进行测定,以维生素 C 为阳性对照,于 517 nm 波长进行吸光度值测定,其中 ABTS 溶液与蒸馏水混合后的吸光度值为 A'_0 ,ABTS 溶液与兔儿伞总黄酮提取液的吸光度值为 A'_1 ,蒸馏水与兔儿伞总黄酮溶液的吸光度为 A'_2 ,ABTS⁺ 自由基清除率见下述公式(4).

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = \frac{A'_0 - (A'_1 - A'_2)}{A'_0} \times 100\% . \quad (4)$$

4) 对酪氨酸酶活力的影响

取 8 个 10 mL 容量瓶,将最优条件下提取的兔儿伞总黄酮提取液稀释,分别得到质量浓度为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 和 1.4 mg/mL 的样品溶液. 同时将熊果苷配成相同质量浓度的阳性对照溶液. 参考文献[15]方法并进行改进,取多支比色管,均放入 0.5 mL 浓度为 4.8 mmol/L 的 L-多巴及 3.5 mL pH=6.8 PBS 缓冲溶液,依次 0.5 mL 加入不同质量浓度的样品溶液或阳性对照溶液;另取体积分数为 61% 的乙醇溶液 0.5 mL,代替样品溶液,作为空白对照,各比色管加入酪氨酸酶溶液 0.5 mL,常温下反应 5 min,在 490 nm 测定吸光度值,重复 3 次.

2 结果与讨论

2.1 乙醇体积分数对兔儿伞总黄酮提取率的影响

从图 1 可知,乙醇体积分数达到 60% 时,兔儿伞总黄酮的提取量最高. 然而,随着乙醇体积分数进一步增加,提取率逐渐下降. 这可能是由于乙醇体积分数过高改变了溶剂的极性,从而降低了兔儿伞粉末中细胞的通透性,导致总黄酮的提取率下降. 因此,选择体积分数为 60% 的乙醇作为提取工艺优化的关键参数.

2.2 超声提取时间对兔儿伞总黄酮提取率的影响

图 2 为不同超声提取时间下兔儿伞总黄酮的提取率. 可以看出,延长提取时间有助于增加兔儿伞总黄酮的溶出量. 当提取时间达到 30 min 时,总黄酮的溶出量达到最大值. 随后,随着提取时间的进一步延长,溶出量反而减少. 这可能是由于超声提取时间过长,导致兔儿伞中的不稳定黄酮类成分发生分解,或者是黏液质、糖类等杂质的溶出增加了溶液的黏度,阻碍了总黄酮的进一步溶出. 因此,选取 30 min 作为超声提取时间的优化参数.

2.3 液料比对兔儿伞总黄酮提取率的影响

由图 3 可知,兔儿伞总黄酮的提取率随着液料比的增加而增加,但在液料比继续增大后,提取率出现了轻微下降. 当液料比达到 40 mL/g 时,总黄酮的提取率达到最高值. 这可能是由于在液料比较低时,扩散过程受阻,导致黄酮无法完全溶出. 然而,过高的液料比会影响超声波能量的有效传递,反而降低了提取效率. 因此,选择 40 mL/g 的液料比作为工艺优化的关键参数.

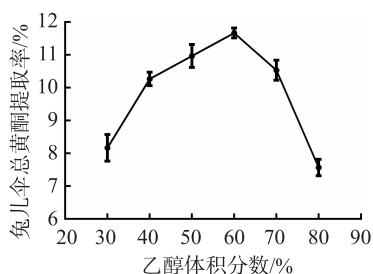


图 1 乙醇体积分数对兔儿伞总黄酮提取率的影响 ($n=6$)

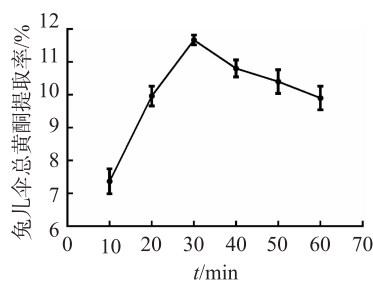


图 2 超声提取时间对兔儿伞总黄酮提取率的影响 ($n=6$)

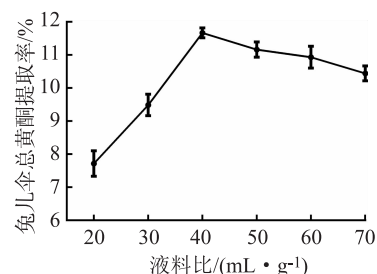


图 3 液料比对兔儿伞总黄酮提取率的影响 ($n=6$)

2.4 响应面法试验

2.4.1 响应面设计及结果分析

对试验结果进行多元回归分析,得到二次多项回归方程为 $Y = 11.468 + 0.3875A + 0.365B + 0.335C + 0.3275AB - 0.3825AC + 0.1675BC - 1.57525A^2 - 0.54025B^2 - 0.35525C^2$, 该方程的决定系数 $R^2 = 0.9760$, 调整系数 $R^2_{Adj} = 0.9451$, 表明该模型具有较高的准确性,适用于兔儿伞总黄酮提取率的预测分析.

表2 试验设计及结果

(n=3)

序号	A 乙醇体积分数/%	B t/min	C 液料比/(mL·g ⁻¹)	总黄酮提取率/%
1	70	30	50	9.65 ± 0.24
2	70	20	40	9.26 ± 0.16
3	70	30	30	9.87 ± 0.11
4	60	30	40	11.47 ± 0.29
5	50	30	30	8.66 ± 0.23
6	60	30	40	11.13 ± 0.31
7	60	40	50	11.55 ± 0.19
8	60	20	30	9.93 ± 0.22
9	50	20	40	8.81 ± 0.17
10	60	30	40	11.58 ± 0.25
11	60	30	40	11.52 ± 0.18
12	60	20	50	10.39 ± 0.34
13	70	40	40	10.55 ± 0.28
14	60	40	30	10.42 ± 0.12
15	60	30	40	11.64 ± 0.27
16	50	30	50	9.97 ± 0.21
17	50	40	40	8.79 ± 0.22

方差分析见表3,回归模型的 $F = 31.619$, $P < 0.001$,说明所建立的回归方程模型极具显著性;失拟项 $P = 0.226$,该值大于0.05,表明所选择的因素合理.乙醇体积分数、超声时间以及液料比3因素对兔儿伞总黄酮提取率的影响均具十分明显的差异($P < 0.01$).其中,AB、AC、C²对兔儿伞总黄酮提取率影响显著($P < 0.05$),A²、B²对兔儿伞总黄酮提取率的影响极为显著($P < 0.01$).

表3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	17.326	9	1.925	31.619	<0.001	**
A	1.201	1	1.201	19.731	0.003	**
B	1.066	1	1.066	17.506	0.004	**
C	0.898	1	0.898	14.746	0.006	**
AB	0.429	1	0.429	7.047	0.033	*
AC	0.585	1	0.585	9.612	0.017	*
BC	0.112	1	0.112	1.843	0.217	—
A ²	10.448	1	10.448	171.609	<0.001	**
B ²	1.229	1	1.229	20.185	0.003	**
C ²	0.531	1	0.531	8.728	0.021	*
残差	0.426	7	0.061	—	—	—
失拟项	0.267	3	0.089	2.239	0.226	—
纯误差	0.159	4	0.040	—	—	—
总差	17.752	16	—	—	—	—

注:**表示 $P < 0.01$ 差异十分显著;*表示 $P < 0.05$ 差异显著.

2.4.2 响应面分析

各条件对兔儿伞总黄酮提取率影响的相互作用见图4.乙醇体积分数与超声时间的交互作用以及乙醇

体积分数与液料比的交互作用曲面均呈陡峭状态,表明它们的相互作用对兔儿伞总黄酮提取率的影响显著;而超声时间与液料比交互作用曲面较为平缓,说明二者的交互作用对兔儿伞总黄酮提取率的影响不显著.该分析结果与回归分析一致,进一步证明了所建立模型的合理性和适用性.

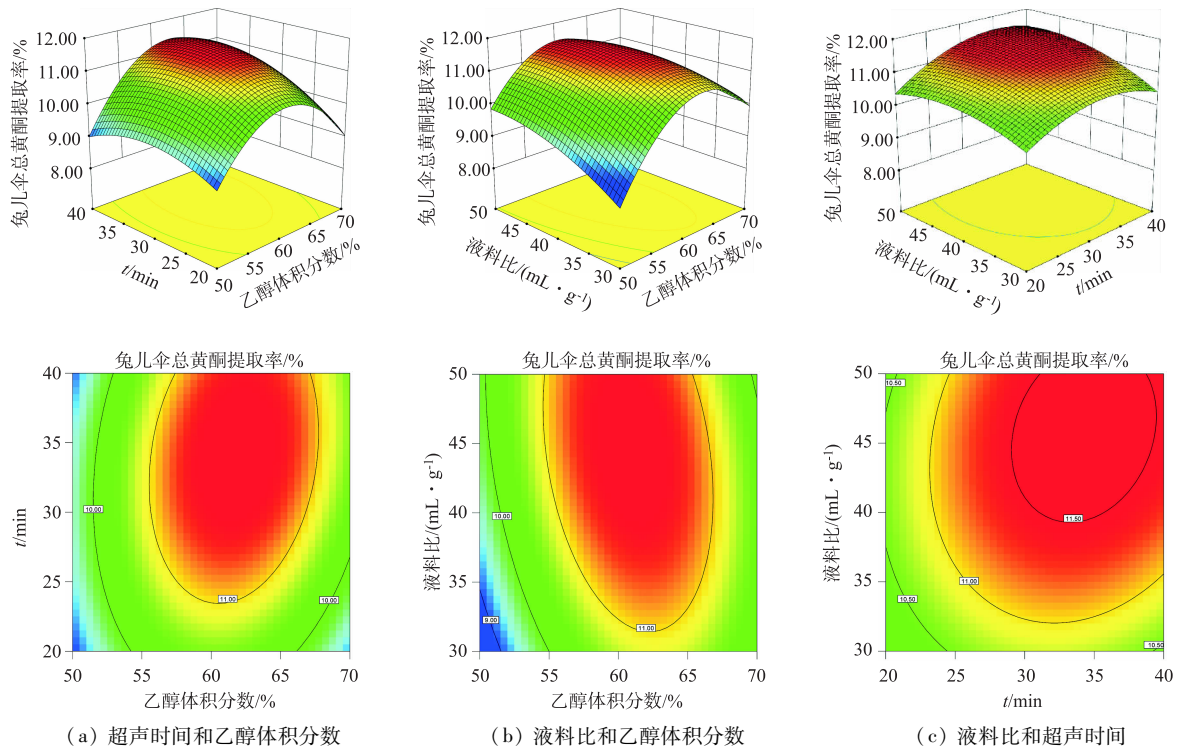


图4 影响兔儿伞总黄酮提取率的响应面图

2.4.3 最佳工艺的验证

在体积分数为 61% 的乙醇, 32.82 min 的提取时间, 42.78 mL/g 的液料比的条件下, 预测提取率为 11.66%. 为增强工艺的可操作性, 修正提取工艺为体积分数为 65% 的乙醇, 33 min 的提取时间, 43 mL/g 的液料比. 此工艺下兔儿伞总黄酮的平均提取率为 $(11.53 \pm 0.16)\%$, 这与预测值接近. 并且该值优于文献 [16] 报道的正交设计微波获得的兔儿伞总黄酮提取率 (11%). 这可能是由于正交设计因素取值范围较固定, 通常直接分析各水平效应, 不进行回归, 响应面法是序贯且可调的, 且进行回归分析. 此外, 由于微波的功率较高, 可能导致部分兔儿伞总黄酮破坏.

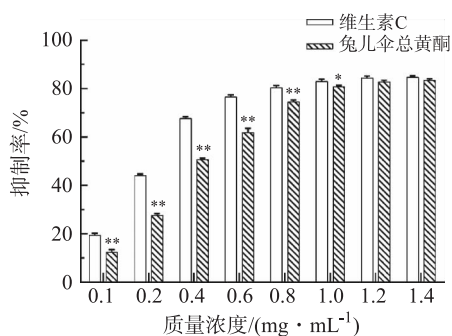
2.5 兔儿伞总黄酮的体外活性研究

2.5.1 对 DPPH 自由基清除能力的影响

图 5 为兔儿伞总黄酮提取液的质量分数对 DPPH 自由基清除率的影响. 兔儿伞总黄酮对 DPPH 自由基清除活性存在质量浓度依赖性. 当兔儿伞总黄酮提取液质量浓度小于 1.0 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率随其质量浓度增加而升高, 随后提取液的质量浓度增加, 抑制率基本不变. 与阳性对照维生素 C 比较, 当质量浓度低于 0.8 mg/mL 时, 二者对 DPPH 自由基清除活性差异非常显著; 当质量浓度为 1.0 mg/mL 时, 差异较为显著; 当质量浓度大于 1.2 mg/mL 时, 差异不具有显著性, 表明兔儿伞总黄酮具备较好的 DPPH 自由基清除能力.

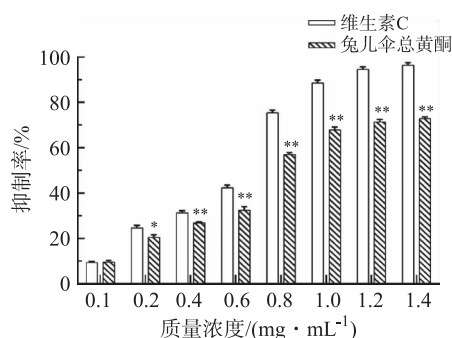
2.5.2 对超氧阴离子自由基清除能力的影响

图 6 为兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度对超氧阴离子自由基清除率的影响. 兔儿伞总黄酮对超氧阴离子自由基清除活性随质量浓度的增加而增强, 当兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度为 1.2 mg/mL 时, 抑制率基本不变. 与阳性对照维生素 C 比较, 当质量浓度为 0.1 mg/mL 时, 二者对超氧阴离子自由基清除活性无显著差异; 当质量浓度为 0.2 mg/mL 时, 差异较为显著; 当质量浓度为 0.2 ~ 1.4 mg/mL 时, 差异非常显著. 上述结果表明, 尽管兔儿伞总黄酮提取液对超氧阴离子自由基的清除能力弱于阳性对照维生素 C, 但仍具有一定的清除超氧阴离子自由基的能力.



与同质量浓度维生素 C 比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

图5 兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度对 DPPH 自由基清除率的影响 ($n = 3$)



与同质量浓度维生素 C 比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

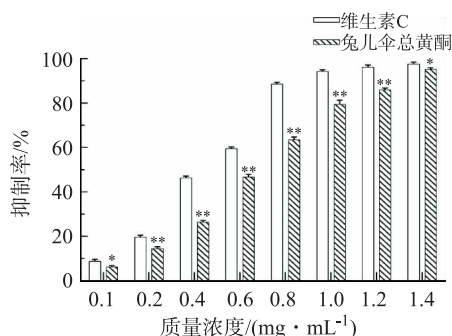
图6 兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度对超氧阴离子自由基清除率的影响 ($n = 3$)

2.5.3 对 ABTS⁺ 自由基清除能力的影响

图7为兔儿伞总黄酮提取液对 ABTS⁺ 自由基清除率的影响. 兔儿伞总黄酮对 ABTS⁺ 自由基清除活性与质量浓度存在良好的正相关性. 与阳性对照维生素 C 比较, 当质量浓度为 0.1 和 1.4 mg/mL 时, 二者对 ABTS⁺ 自由基清除率差异具有显著性; 当质量浓度为 0.2 ~ 1.2 mg/mL 时, 差异非常显著. 这表明兔儿伞总黄酮提取液对 ABTS⁺ 自由基清除能力虽弱于维生素 C, 但仍对 ABTS⁺ 自由基具有较好的清除活性.

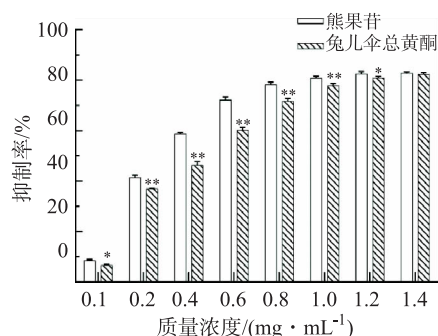
2.5.4 对酪氨酸酶活力的影响

图8为兔儿伞总黄酮提取液对酪氨酸酶活力的影响. 兔儿伞总黄酮对酪氨酸酶活性的抑制存在明显的质量浓度依赖性. 随着质量浓度的增加, 酪氨酸酶活性减弱. 与阳性对照熊果苷比较, 在质量浓度为 0.1 mg/mL 时, 二者对酪氨酸酶活力抑制能力的差异显著; 在质量浓度为 0.2 ~ 1.0 mg/mL 时, 差异非常显著; 而在 1.4 mg/mL 时, 抑制能力虽存在差异, 但不具有显著性. 这表明兔儿伞总黄酮提取液虽对酪氨酸酶的抑制作用稍弱于熊果苷, 但其仍能有效抑制黑色素的生成. 由于酪氨酸酶催化酪氨酸转化为黑色素^[17], 兔儿伞总黄酮通过抑制酪氨酸酶活性, 可以减少黑色素生成, 从而改善皮肤暗沉, 在美白化妆品领域具有潜在应用价值.



与同质量浓度维生素 C 比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

图7 兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度对 ABTS⁺ 自由基清除率的影响 ($n = 3$)



与同质量浓度熊果苷比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

图8 兔儿伞总黄酮提取液的质量浓度对酪氨酸酶抑制活性的影响 ($n = 3$)

3 结语

通过单因素实验, 系统考察了乙醇体积分数、提取时间和液料比等因素对兔儿伞总黄酮提取率的影响, 并利用响应面法进一步优化提取工艺, 最终确定最佳提取条件为体积分数为 61% 的乙醇、提取时间为 34 min、液料比为 45 mL/g. 在此条件下, 兔儿伞总黄酮的平均提取率为 $(11.53 \pm 0.16)\%$, 优于正交设计微波获得提取率. 这不但得益于响应面法的高灵活性和精确性, 而且避免了高功率微波对黄酮类化合物可能造成的破坏. 此外, 兔儿伞总黄酮在体外表现出良好的抗氧化活性, 能够有效清除 DPPH 自由基、超氧阴离子和 ABTS⁺ 自由基, 同时对酪氨酸酶具有显著的抑制作用, 展现出作为抗氧化剂和美白剂的开发潜力. 未来研究将进一步纯化和分离其活性成分, 进行更广泛的药理研究, 为其在临床应用中的合理使用提供科学依据.

参考文献:

- [1] 杨健. 四种太白山药用植物的化学成分研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011.
- [2] 潘国良,张志梅. 兔儿伞镇痛抗炎作用的研究[J]. 现代中西医结合杂志,2002,11(20):1985.
- [3] 刘丽华,陈文清,李加林. 兔儿伞总黄酮抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(13):291-293.
- [4] 吴素珍,李加林,朱秀志. 兔儿伞醇提物的抗肿瘤实验[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(2):102-104.
- [5] 李加林,刘丽华,吴素珍,等. 兔儿伞不同溶剂提取物的体外抗氧化作用研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):145-146.
- [6] 许亮,王冰,贾天柱. 锦灯笼与兔儿伞两种药材的挥发油成分研究[J]. 中成药,2007(12):1840-1843.
- [7] 夏岩石,杨建峰,韩成花,等. RP-HPLC-UV法同时测定兔儿伞中3种黄酮苷类成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2018,35(3):221-225.
- [8] 王富强,孙立秋,王金兰,等. 兔儿伞化学成分研究(II)[J]. 中草药,2020,51(11):2878-2885.
- [9] 王富强,丁娜,王金兰,等. 兔儿伞中三萜类化学成分研究[J]. 齐齐哈尔大学学报(自然科学版),2019,35(4):55-57.
- [10] ROEDER E, WIEDENFELD H, LIU K, et al. Pyrrolizidine alkaloids from SYNEILESIS ACONITIFOLIA [J]. Planta Medica, 1995,61(1):97-98.
- [11] 吴素珍,李加林,陈水亲,等. 兔儿伞中总黄酮及微量元素含量测定[J]. 中成药,2009,31(9):1468-1470.
- [12] 林继辉,谢冰冰,冯庆玲,等. 石仙桃总黄酮提取工艺及体外抗氧化研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2022,134(4):385-394.
- [13] TAO J, ZHAO Y Q, CHI C F, et al. Bioactive peptides from cartilage protein hydrolysate of spotless smoothhound and their antioxidant activity *in vitro*[J]. Marine Drugs, 2018, 16(4): 100.
- [14] 张靖鹏,翟宇晴,张得钧. 基于响应面法优化沙棘普洱茶粉水提工艺及体外抗氧化能力评价研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2024,143(1):31-40.
- [15] 付小华. 甘草黄酮对酪氨酸酶的抑制作用研究[J]. 中南药学,2017,15(4):436-439.
- [16] 吴素珍,李加林,范启兰,等. 兔儿伞总黄酮的微波提取工艺[J]. 湖北农业科学,2009,48(6):1471-1472.
- [17] PILLAIYAR T, MANICKAM M, NAMASIVAYAM V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2017, 32(1):403-425.

Optimization of extraction technology of total flavonoids in *Syneilesis aconitifolia* and study on its activity

YANG Wu-bin

(Department of Pharmacy, Taihe Hospital. The Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Shiyan 442000, China)

Abstract: The key parameters affecting the ultrasonic extraction process of total flavonoids from *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim., such as ethanol concentration, ultrasonic time, and liquid-to-solid ratio, were optimized using the response surface methodology. DPPH free radical, superoxide anion, ABTS⁺ free radical scavenging capacities, and tyrosinase inhibitory activity were used as evaluation indices to investigate the *in vitro* bioactivity of total flavonoids from *Tussilago farfara*. Under the optimal conditions of ethanol volume fraction at 61%, extraction time of 34 min, and liquid-to-solid ratio of 45 mL/g, the extraction yield of total flavonoids reached (11.53 ± 0.16)%, which was consistent with the predicted value. The *in vitro* bioactivity study revealed that the total flavonoids from *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim. exhibited strong scavenging activity against DPPH free radicals, superoxide anions, and ABTS⁺ free radicals, as well as significant tyrosinase inhibitory activity. This extraction process is feasible, and the total flavonoids show promising *in vitro* bioactivity, providing a valuable research foundation for the development of the total flavonoids from *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim.

Key words: *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim.; total flavonoids; Box-Behnken response surface methodology; ultrasonic extraction; the activity *in vitro*

(责任编辑 韩冬)