·实验研究·

Box-Behnken 响应面法优化超声波辅助离子液体提取黄芩化学成分方法及抗炎活性评价

郝　翠[1,2],翟立海[3,4],董红敬[1,2],薛富民[1,2],程　燕[1,2]

(1 齐鲁工业大学(山东省科学院)药学院,济南 250014;2 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省分析测试中心,山东省大型精密分析仪器应用技术重点实验室,济南 250014;3 鲁南制药集团股份有限公司,临沂 276006;4 国家手性制药工程技术研究中心,临沂 276006)

[**摘要**] **目的**:优化超声辅助离子液体法提取黄芩中黄酮类成分方法。**方法**:以野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 含量为评价指标,采用 Box-Behnken 响应面法对参数进行优化;MTT 法和 Griess 法评价提取物抗炎活性。**结果**:离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑碘盐([BMIm]I)提取黄芩的最佳方法为:离子液体浓度为 20%,料液比为 1∶60 g·mL^{-1},提取温度为 35 ℃,时间为 15 min,验证实验得 6 种成分含量分别为 0.73%,10.05%,2.61%,1.30%,0.45% 和 0.22%。MTT 法表明浓度超过 50 μg·mL^{-1}时细胞活力均显著降低。黄芩离子液体提取液可显著抑制一氧化氮(NO)的释放($P<0.01$),半数抑制浓度(IC_{50})值为 17.07 μg·mL^{-1}。**结论**:该方法简便可行,高效、绿色、重现性好,抗炎活性良好。

[**关键词**] 黄芩;Box-Behnken 响应面法;离子液体;抗炎活性

[**中图分类号**] R284;R917　　[**文献标志码**] A　　[**文章编号**] 1003－3734(2021)11－1031－07

Optimization of the extraction process of *Scutellaria baicalensis* by ionic liquids with Box-behnken response surface methodology and anti-inflammatory evaluation

HAO Cui[1,2], ZHAI Li-hai[3,4], DONG Hong-jing[1,2], XUE Fu-min[1,2], CHENG Yan[1,2]

(1 *School of Pharmaceutical Sciences, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan* 250014, *China*; 2 *Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Shandong Analysis and Test Center, Key Laboratory for Applied Technology of Sophisticated Analytical Instruments of Shandong Province, Jinan* 250014, *China*; 3 *Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi* 276006, *China*; 4 *National Chiral Pharmaceutical Engineering Technology Research Center, Linyi* 276006, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To optimize the extraction conditions of *Scutellaria baicalensis* by ultrasound-assisted ionic liquid and evaluate the anti-inflammatory activity. **Methods**: The extraction method of scutellarin, baicalin, baicalein, wogonoside, wogonin and oroxylin A by high performance liquid chromatography was established. The extraction process was optimized by Box-Behnken response surface method, with the index of comprehensive score such as weight coefficient and the anti-inflammatory activity was evaluated. **Results**: The optimal extraction conditions were as follows: the concentration of ionic liquid was 20%, the ratio of material to liquid was 1∶60 mL·g^{-1}, the extraction temperature was 35 ℃, the extraction time was 15 min. The contents of six chemicals were obtained as 0.73%, 10.05%, 2.61%, 1.30%, 0.45%, and 0.22% by the validation experiment. MTT assay showed that the cell viability significantly decreased as the concentration exceeded 50 μg·mL^{-1}. Compared with LPS group, the extraction at different concentrations significantly inhibited the release of NO ($P<0.01$), and the IC_{50} value was

[**基金项目**] 国家自然科学基金资助项目(21703126;81803662);山东省重点研发计划资助项目(2019GSF109063;2020CXG010506);山东省抗体制药协同创新中心开放课题资助项目(CIC-AD1805);齐鲁工业大学科教产融合试点工程资助项目(2020KJC-ZD09)

[**作者简介**] 郝翠,女,研究实习员,主要从事中药质量控制与临床药学研究。E-mail:haocui5566@qlu.edu.cn。

[**通讯作者**] 薛富民,男,副研究员,主要从事药物载体、纳米材料等研究。E-mail:xuefumin@qlu.edu.cn。程燕,女,副研究员,主要从事中草药的提取研究。E-mail:yancheng2020@qlu.edu.cn。

17.07 μg·mL^{-1}. **Conclusion**: The extraction process is simple, feasible, green, high efficiency and highly reproducible and the total flavonoids of *Scutellaria baicalensis* have obvious anti-inflammatory activity.

[**Key words**] *Scutellaria baicalensis*; Box-Behnken response surface methodology; ionic liquid; anti-inflammatory evaluation

黄芩为唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的干燥根,始载于《神农本草经》,列为中品[1],在中医临床上主治肺热咳嗽、泻痢、胎动不安等症[2]。现代药理及化学成分研究表明,黄芩具有抗病毒、抗炎、抗氧化、抗癌等生物活性,主要成分为黄酮苷及苷元类化合物[3-4]。

中药有效成分的提取方法主要采用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等有机溶剂提取[5]。黄芩饮片中黄酮类成分的提取方法主要为乙醇提取法,特别是70%乙醇提取效果更佳,而离子液体的出现弥补了传统有机溶剂提取效率低、操作相对复杂、有效成分发生变化或产生杂质等缺点。离子液体是室温离子液体(room-temperature ionic liquids)的简称,由有机阳离子(有机含氮杂环)和无机阳离子或有机阴离子构成,可用于黄酮、酚类、生物碱等化合物的提取,特别是咪唑类离子液体在黄酮类成分提取中发挥着重要作用[6-8]。有学者采用离子液体对黄芩饮片中的黄酮类成分进行相关研究,但指标成分相对较少,提取方法优化及生物活性研究尚未报道[9-10]。另外,响应面法与其他优化方法相比具有可信度高、优化时间短、实验设计合理等优点,基于课题组对离子液体提取化合物的研究[11],本文以8种咪唑类离子液体为溶剂,结合超声辅助萃取,HPLC法同时测定野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A这6种化学成分,Box-Behnken响应面法优化提取方法,并初步研究抗炎活性,旨在为黄芩绿色提取溶剂开发提供一定的理论参考和数据支持。

材　　料

1　仪器

Agilent 1260 Infinity Ⅱ液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);ME104电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);FW100中药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);KQ－600DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DZF－6050真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);细胞培养箱(美国Thermo公司);多功能酶标仪(美国BIO-RAD公司);TGL－16G型离心机(上海安亭科学机器厂);SW－CJ－1FD型单人单面净化工作台(苏州净化设备有限公司)。

2　试药和试剂

黄芩饮片购自山东中医药大学中鲁医院;离子液体1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([BMIm]Cl)、1-乙基-3-甲基咪唑溴盐([EMIm]Br)、1-丁基-3-甲基咪唑碘盐([BMIm]I)、1-乙基-3-甲基咪唑醋酸盐([EMIm]Ac)、1-丙基-3-甲基咪唑溴盐([PrMIm]Br)、1-丁基-3-甲基咪唑溴盐([BMIm]Br)、1-丙基-3-甲基咪唑醋酸盐([PrMIm]Ac)、1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐([BMIm]Ac)由中科院兰州化学物理研究所监制;野黄芩苷(批号:110842-201709)、黄芩苷(批号:110715-201318)、黄芩素(批号:MUST-13082206)、汉黄芩素对照品(批号:MUST-13092303)购自中国食品药品检定研究院;汉黄芩苷(批号:MUST-13052312)和千层纸素A对照品(批号:MUST-17063005)购自成都曼斯特生物科技有限公司;离子液体及对照品纯度均>98%。乙腈为色谱纯;水为娃哈哈纯净水。

3　细胞

小鼠巨噬细胞系RAW 264.7株购自美国ATCC公司;胎牛血清购自美国CLARK Bioscience公司;DMEM培养基购自美国Thermo公司。

方　　法

1　黄芩不同种类离子液体提取液的制备

黄芩饮片经干燥粉碎后,过100目筛,精确称取0.1 g黄芩于10 mL带塞玻璃管中,加0.1 g离子液体及4 mL水,30 ℃超声(功率为100 w)提取10 min,3 000 r·min^{-1}离心5 min,取上清液,即得。

2　黄芩HPLC分析方法的建立与测定

2.1　色谱条件　色谱柱:Agilent 5 TC-C_{18}柱(250 mm×4.6 mm);流速:0.8 mL·min^{-1};柱温:35 ℃;检测波长:274 nm;进样量:10 μL;流动相:0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)。梯度洗脱条件:0~5 min,18%~24%(B);5~10 min,24%~26(B);10~30 min,26%~40%(B);30~40 min,40%~50%(B);40~

50 min,50% ~100%(B)。

2.2 对照品溶液的制备 取野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 对照品各 10 mg,精密称定,加甲醇制成 10 mg·mL^{-1}的溶液,即得对照品储备液。

分别精密吸取少量对照品储备液至 10 mL 量瓶中,加甲醇制成 6 种成分浓度分别为 335,36,167.5,85,42.5 和 18 μg·mL^{-1}的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 分别精密吸取 0.5 mL 离子液体提取液,甲醇定容至 10 mL,0.22 μm 的微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.4 样品测定 采用高效液相色谱仪,取 10 μL 对照品和供试品溶液进样检测,记录 HPLC 图、保留时间和峰面积。

3 单因素实验

精确称取 0.1 g 黄芩置于 10 mL 带塞玻璃管中,用最佳离子液体为提取剂,考察离子液体浓度为 10%,20%,40%,60% 和 80%,料液比为 1∶40 g·mL^{-1},提取温度为 30 ℃,时间为 10 min,3 000 r·min^{-1}离心 5 min。取上清液,测定野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的含量,考察离子液体浓度对黄芩化学成分含量的影响;同时按照上述方法,然后固定其他实验因素条件,分别选择料液比分别为 1∶20,1∶40,1∶60,1∶80 和 1∶100 g·mL^{-1},提取温度分别为 35 ℃,45 ℃,55 ℃,65 ℃ 和 75 ℃,时间分别为 10,15,25,45 和 55 min 时,考察料液比、提取温度、提取时间对黄芩化学成分的影响。

4 Box-Behnken 响应面法优化提取方法

根据单因素实验结果,以料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)为自变量,通过 Design-Expert 8.0.6 软件,采用 Box-Behnken 响应面实验考察各因素间交互作用对化学成分提取率的影响,建立预测模型,优选最佳提取方法并进行验证。Box-Behnken 实验因素与水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验因素与水平

水平	实验因素		
	料液比(A)/mL·g^{-1}	提取温度(B)/℃	提取时间(C)/min
-1	1∶20	35	15
0	1∶40	45	30
1	1∶60	55	45

5 黄芩化学成分体外抗炎活性初步评价

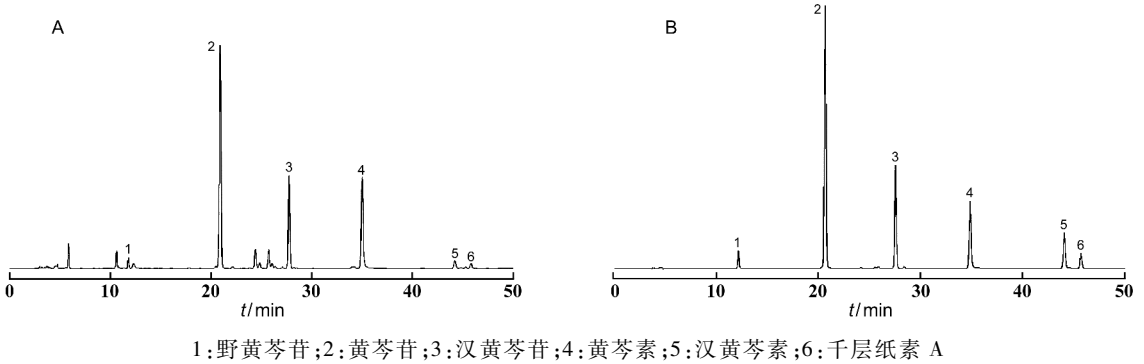
5.1 MTT 法测定细胞活力 取对数期生长的细胞,调整细胞悬液浓度,于 37 ℃、5% CO_2 培养箱培养 24 h 后,加入不同浓度梯度的药物,设 3 个复孔,24 h 后每孔加入 10 μL MTT 溶液,4 h 后弃培养液,每孔加 100 μL 二甲基亚砜(DMSO),震荡 10 min,酶标仪测定 OD490 nm 处各孔的吸光度值。根据 OD 值计算细胞活力(细胞活力 = 实验组 OD 值/对照组 OD 值 ×100%)。实验重复 3 次。

5.2 NO 释放量的测定[12] 将 RAW264.7 细胞按 2×10^5 个·mL^{-1}稀释,每孔加 100 μL,设 3 个复孔,24 h 后,各取 50 μL 上清液,加 50 μL Griess Reagent I 及 Griess Reagent II,酶标仪测定 OD540 nm 下的吸光度值,标准曲线法计算 NO 浓度,计算半数抑制浓度(IC_{50})。实验重复 3 次。

结果与分析

1 离子液体种类的确定

选取不同类型的离子液体[BMIm]Cl,[EMIm]Br,[BMIm]I,[EMIm]Ac,[PrMIm]Br,[BMIm]Br,[PrMIm]Ac 和[BMIm]Ac,按照黄芩化学成分含量的测定方法进行定量分析,并以 6 种化学成分的含量总和作为指标,与药典对比,确定实验最佳离子液体。样品与混合对照品的 HPLC 图见图 1。



1:野黄芩苷;2:黄芩苷;3:汉黄芩苷;4:黄芩素;5:汉黄芩素;6:千层纸素 A

图 1 样品(A)与混合对照品(B)HPLC 图

黄芩各化学成分含量见表 2,[BMIm]I 提取黄芩得到的黄酮含量最高,较药典方法采用 70% 乙醇提取含量高,故选择[BMIm]I 作为最佳离子液体。

表 2 不同离子液体及 70% 乙醇提取黄芩化学成分含量表 $\bar{x} \pm s$,%

离子液体	含量						
	野黄芩苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	千层纸素 A	总黄酮
[BMIm]Cl	0.54 ± 0.03	9.27 ± 0.12	2.55 ± 0.12	0.84 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.19 ± 0.04	13.77 ± 1.12
[EMIm]Br	0.56 ± 0.02	9.20 ± 0.13	2.61 ± 0.11	0.85 ± 0.04	0.39 ± 0.02	0.20 ± 0.02	13.82 ± 1.28
[BMIm]I	0.55 ± 0.06	9.94 ± 0.20	2.67 ± 0.14	1.07 ± 0.07	0.39 ± 0.04	0.19 ± 0.01	14.81 ± 1.46
[BMIm]I(无超声)	0.36 ± 0.04	8.42 ± 0.12	1.25 ± 0.14	0.94 ± 0.16	0.21 ± 0.02	0.15 ± 0.03	11.33 ± 1.85
[BMIm]Ac	0.54 ± 0.01	7.09 ± 0.23	2.35 ± 0.24	1.54 ± 0.08	0.40 ± 0.07	0.24 ± 0.07	12.16 ± 1.72
[EMIm]Ac	0.66 ± 0.03	9.47 ± 0.17	2.16 ± 0.21	1.35 ± 0.09	0.30 ± 0.04	0.14 ± 0.04	14.07 ± 1.60
[PrMIm]Br	0.65 ± 0.04	9.77 ± 0.21	2.20 ± 0.14	1.31 ± 0.04	0.29 ± 0.01	0.15 ± 0.03	14.36 ± 1.57
[BMIm]Br	0.64 ± 0.02	7.91 ± 0.16	1.95 ± 0.17	1.91 ± 0.08	0.31 ± 0.03	0.17 ± 0.08	12.89 ± 1.24
[PrMIm]Ac	0.73 ± 0.08	9.04 ± 0.04	2.53 ± 0.26	1.03 ± 0.11	0.54 ± 0.07	0.25 ± 0.07	14.12 ± 1.04
70% 乙醇(按药典方法提取)	0.57 ± 0.05	9.12 ± 0.13	2.78 ± 0.15	1.21 ± 0.14	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.03	13.60 ± 1.78

2 单因素实验结果与分析

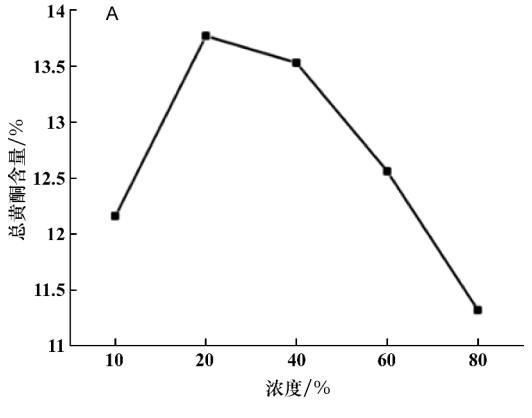
2.1 离子液体浓度对总黄酮含量的影响 由图 2A 可知,黄芩总黄酮含量随离子液体浓度的增加而增加,当浓度超过 20% 时,因离子液体的黏稠度增加,扩散能力减小,不利于黄芩化学成分的溶出,导致总黄酮含量下降[13]。因此实验选择 20% 的离子液体进行提取。

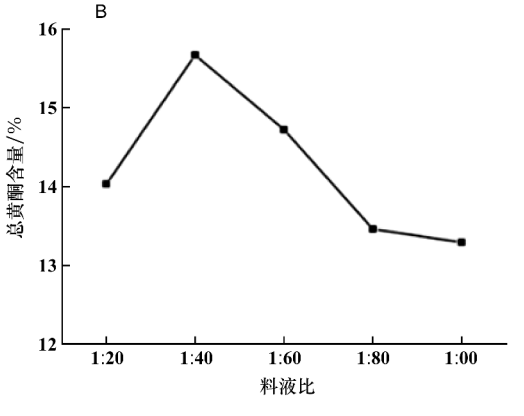
2.2 料液比对总黄酮含量的影响 由图 2B 可知,离子液体用量的增加,黄芩中总黄酮(即野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 6 种化学成分)含量增加,当料液比超过 1∶40 g·mL^{-1} 时,各成分溶出率逐渐降低,可见高离子液体用量不能增加总黄酮的含量,故选择料液比为 1∶40 g·mL^{-1} 适宜[14]。

2.3 温度对总黄酮含量的影响[15] 由图 2C 可知,温度升高,黄芩化学成分的含量呈现出先升高后下降的趋势,55 ℃后变化较少,45 ℃时,黄芩总黄酮的含量最高为 14.32%。因为温度升高,分子的扩散能力加快,黄酮类化学成分的溶出增加,温度过高时,苷类成分可能转化为苷元,黄酮类化合物含量可能降低。故最优的提取温度为 45 ℃。

2 时间对总黄酮含量的影响[16]

由图 2D 可知,黄芩总黄酮含量随提取时间的增加逐渐增加,当提取时间为 25 min 时,含量最高,超过 25 min 时,含量变化不大,说明 25 min 时,黄芩中的黄酮类成分基本上被提取出来。因此后续实验选择提取时间为 25 min。





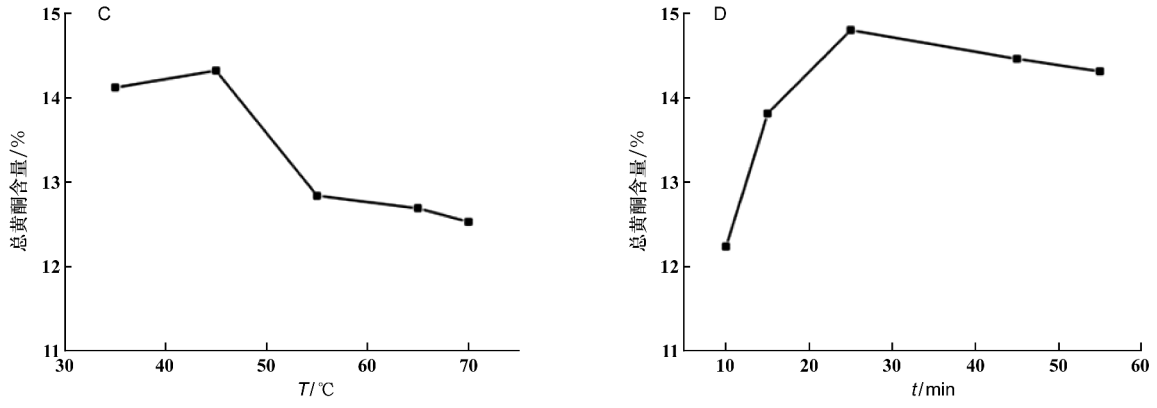


图 2　含水量(A)、料液比(B)、提取温度(C)、提取时间(D)对总黄酮含量的影响

3　Box-Behnken 响应面实验结果

3.1　响应面实验设计与分析　根据 Box-Behnken 响应面法优化提取方法的设计进行实验,将各实验得到的野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的含量进行加权综合评分(OD),计算 OD 值[17-20]。Box-Behnken 实验设计及结果见表 3。

表 3　Box-Behnken 实验设计与结果

实验编号	料液比(A) /g·mL^{-1}	提取温度(B) /℃	提取时间(C) /min	综合评分 (OD)
1	-1	-1	0	81.46
2	0	0	0	91.49
3	1	-1	0	85.50
4	0	0	0	90.86
5	1	0	-1	89.27
6	1	1	0	84.61
7	-1	0	-1	80.40
8	0	0	0	88.75
9	1	0	1	86.49
10	0	-1	-1	76.19
11	0	0	0	90.10
12	0	1	-1	82.70
13	0	-1	1	82.40
14	-1	1	0	86.03
15	-1	0	1	87.05
16	0	0	0	89.82
17	0	1	1	82.24

以 OD 值为响应值(Y),利用 Design-Expert 8.0.6 软件对各因素(A,B,C)进行多元回归分析,得到回归方程:$Y = -83.47 + 0.69A + 5.56B + 1.95C - 6.82 \times 10^{-3}AB - 7.86 \times 10^{-3}AC - 0.011BC - 1.09 \times 10^{-3}A^2 - 0.054B^2 - 0.018C^2$。

方差分析结果见表 4。

表 4　方差分析结果

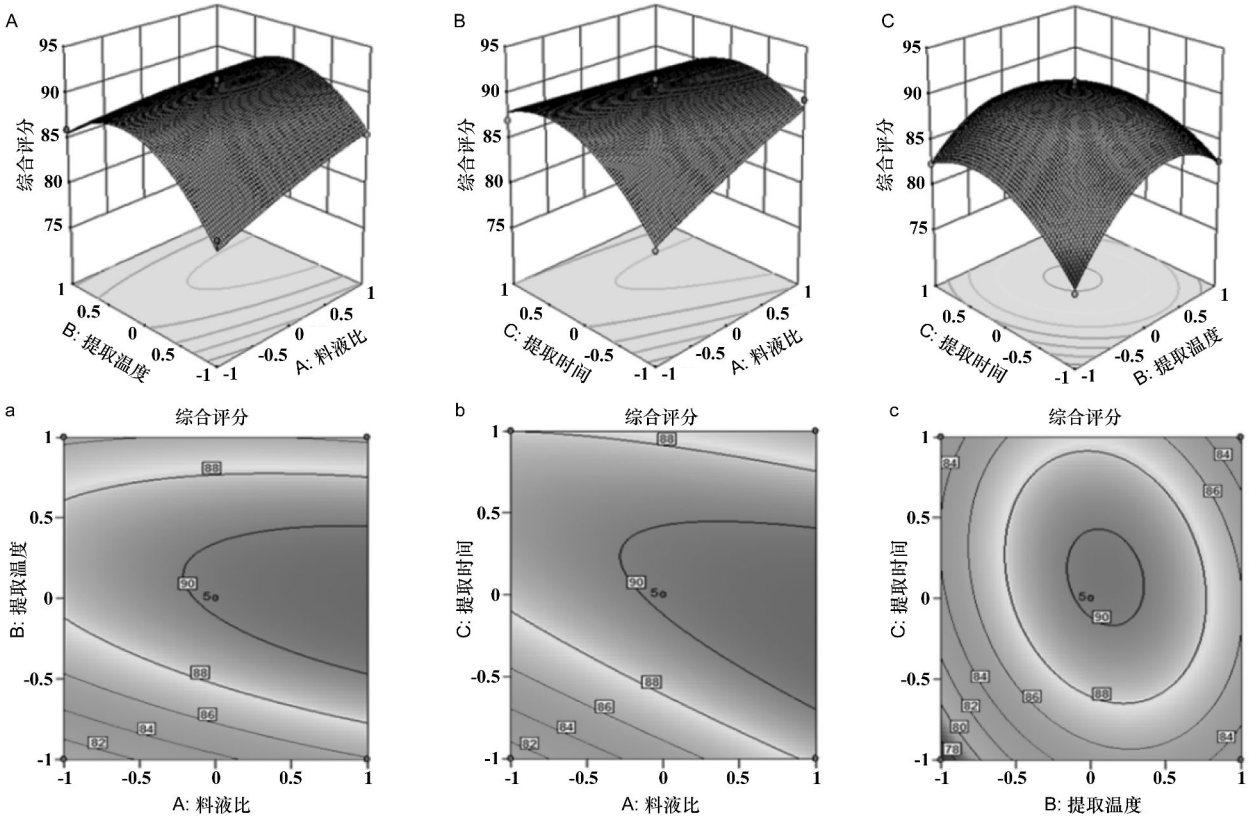
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	280.80	9	31.20	22.40	0.000 2^{b}
料液比(A)	14.94	1	14.94	10.73	0.013 6^{a}
提取温度(B)	12.58	1	12.58	9.03	0.019 8^{a}
提取时间(C)	11.61	1	11.61	8.33	0.023 4^{a}
AB	7.44	1	7.44	5.34	0.054 0
AC	22.22	1	22.22	15.95	0.005 2^{b}
BC	11.11	1	11.11	7.98	0.025 6^{a}
A^2	0.81	1	0.81	0.58	0.470 7^{a}
B^2	121.10	1	121.10	86.94	<0.000 1^{c}
C^2	65.96	1	65.96	47.36	0.000 2^{b}
残差	9.75	7	1.39	—	—
失拟性	5.38	3	1.79	1.64	0.315 1
纯误差	4.37	4	1.09	—	—
总差	290.55	16	—	—	—

与对照组比较,a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,c:$P<0.000\ 1$;—:无数据

由表 4 方差分析可知,模型 $P<0.01$,差异非常显著,模型拟合度较好,可反映各因素与响应值之间的关系;二项式方程决定系数 $R^2=0.966\ 4$ 与校正决定系数 $R^2=0.923\ 3$ 接近,表明预测值与实际值拟合度好;次变异系数(CV)=1.38%,故该模型的置信度高,准确性好;模型的失拟项不显著,说明影响离子液体提取黄酮的未知因素对实验结果干扰较小,可用来确定最佳提取方法。

该回归模型中,一次项 A 和 B 的 $P<0.05$,说明料液比和提取温度对黄芩化学成分的提取影响显

著;AC,BC,A^2,B^2 和 C^2 的 $P<0.05$,表明各因素之间存在着交互作用,影响黄芩的提取。各因素间的交互作用见图 3。



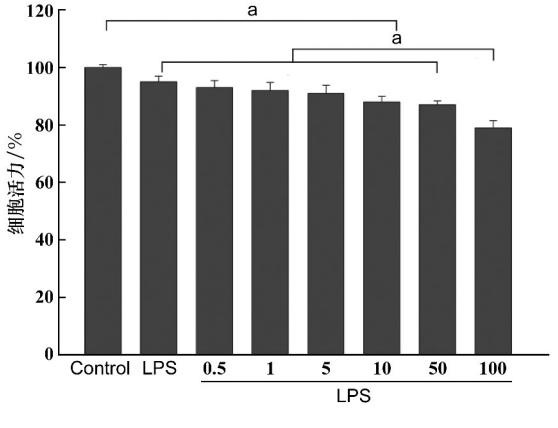
A-a:料液比和提取温度;B-b:料液比和提取时间;C-c:提取温度和提取时间

图 3 各因素对各指标成分综合评分影响的响应面图及等高线图

3.2 最佳提取方法及验证实验 由响应面的结果与分析可知,离子液体提取黄芩的最佳提取方法为:离子液体浓度为 20%,料液比为 1∶60 g·mL^{-1},提取温度为 35 ℃,提取时间为 15 min。按照最佳提取方法进行 3 次验证实验,结果野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的含量为(0.73 ± 0.02)%,(10.05 ± 0.24)%,(2.61 ± 0.11)%,(1.30 ± 0.04)%,(0.45 ± 0.03)% 和 (0.22 ± 0.02)%,总黄酮含量为(15.36 ± 0.31)%。表明模型的预测性较好,得到的提取方法重现性较好。

4 黄芩总黄酮对 RAW264.7 细胞体外抗炎活性评价

4.1 细胞活力 采用 MTT 法测定黄芩不同浓度提取液(0.5 ~ 100 μg·mL^{-1})对 RAW264.7 细胞活力的影响。如图 4 所示,细胞经过脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)刺激后,细胞活力均显著降低,当浓度超过 50 μg·mL^{-1}时,对细胞的活力的影响具有显著性差异。

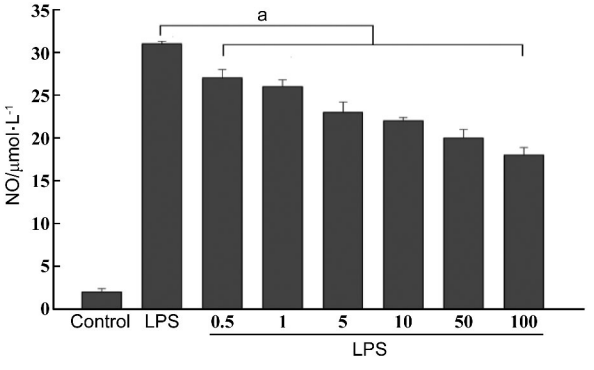


与对照组比较,a: $P<0.01$

图 4 不同浓度黄芩提取液对 RAW264.7 细胞活力的影响($n=9$)

4.2 对 NO 释放量的影响 采用 Griess 法测定上清液中炎症介质 NO 的释放量,利用 GraphPad Prism 7 软件计算半数抑制浓度(IC_{50})。由图 5 可知,

RAW264.7 细胞经 LPS 处理后，与正常组比较，NO 的释放量显著增加，约 13 倍。不同浓度提取液与 LPS 组相比，均可显著抑制 NO 的释放（$P<0.01$），并且随着浓度的增加，NO 释放量呈现减少的趋势，经软件计算得到 IC_{50} 值为 17.07 μg·mL^{-1}，说明经离子液体提取的黄芩总黄酮具有良好的抗炎活性。



与对照组比较，a：$P<0.01$

图 5 不同浓度黄芩提取液对 NO 释放量的影响（$n=9$）

讨　论

本实验以大宗药材黄芩为试材，以野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 多元化学成分作为综合评价指标，HPLC 法建立了一种超声辅助离子液体绿色、高效地提取黄芩中黄酮的方法。采用 Box-Behnken 响应面法，对各指标成分进行权重系数分配，得到离子液体[BMIm]I 为最优提取溶剂，最佳提取方法：离子液体浓度为 20%，料液比为 1∶60 g·mL^{-1}，提取温度为 35 ℃，提取时间为 15 min。与传统 70% 乙醇回流提取法相比，提取时间缩短了 165 min，提取效率提高 8.90%，溶剂消耗较少，并且经离子液体提取后的总黄酮仍具有良好的抗炎活性。

目前对于离子液体作为提取溶剂提取化合物的相关研究较多，但未见对超声辅助离子液体提取黄芩中的 6 种化学成分进行提取方法及生物活性的研究。本实验建立了同时测定 6 种化学成分的方法，并优化出最佳提取方法，初步探究抗炎活性，以期为黄酮类化合物的提取及离子液体的进一步应用做一些有意义的研究。

与传统方法相比，该方法具有能耗低、高效、快速、重现性较好等优点。离子液体提取后的溶剂回收利用也是一项值得深入研究的内容，后期将对回收工艺的开发及药效学的作用机制进行深入研究。该研究可为开发新型绿色溶剂及天然产物化学成分的提取提供一定参考。

[参 考 文 献]

[1] 郑勇凤，王佳婧，傅超美，等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药，2016，38(1)：141－147.

[2] 贾蔷，申丹，唐仕欢，等. 含黄芩中成药用药规律分析[J]. 中国中药杂志，2014，39(4)：634－639.

[3] 李作平，卫恒巧. 黄芩属植物化学成分的研究概况[J]. 国外医药(植物药分册)，1994，9(4)：147－156.

[4] 高中洪，黄开勋，徐辉碧. 黄芩中黄酮类生物活性的研究进展[J]. 中国药学杂志，1998，33(12)：3－5.

[5] 薛峰，李春娜，李朋收，等. 超声提取在中药化学成分提取中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(18)：231－234.

[6] FERREIRA AM，MORAIS ES，LEITE AC，*et al*. Enhanced extraction and biological activity of 7-hydroxymatairesinol obtained from Norway spruce knots using aqueous solutions of ionic liquids [J]. *Green Chem*，2017，19(11)：2626－2635.

[7] 马铭研，陈维. 超声辅助离子液体提取反相高效液相色谱法同时测定温郁金中姜黄素和吉马酮的含量[J]. 中国药学杂志，2017，52(7)：592－596.

[8] 田刚，潘文慧，贺国旭，等. 咪唑类离子液体在天然产物黄酮类成分提取中的应用[J]. 中草药，2019，50(7)：1713－1718.

[9] ZHANG Q，ZHAO SH，CHEN J，*et al*. Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *J Chromatogr B*，2015，1002：411－417.

[10] XIANG ZB，WU XL. Ultrasonic-microwave assisted extraction of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* using response surface methodology[J]. *Pharm Chem J*，2017，51(4)：318－323.

[11] CHENG Y，YU S，XUE FM. Comparison of the extraction efficiency of isoflavone compounds from puerariae lobatae by ionic liquids with 11 anions and 8 imidazolium-based cations[J]. *ACS Omega*，2020，5(15)：8962－8971.

[12] 陆程灿，赵琳，黄勇鑫，等. 超声辅助离子液体-反相高效液相色谱法同时测定垂丝海棠叶中槲皮苷、根皮苷和 3-羟基根皮苷含量[J]. 中国中药杂志，2016，41(11)：2131－2136.

[13] 郝翠，段文娟，赵恒强，等. 黄芩配方颗粒与标准汤剂体外抗炎活性的比较[J]. 中国新药杂志，2018，27(11)：1309－1314.

[14] 黄文静，孙晓春，周瑞，等. 响应面法优化黄芪茎叶总黄酮提取工艺及其抗炎活性研究[J]. 中国现代中药，2018，20(7)：871－877.

[15] 汪雁，金光明，钱立生，等. 离子液体提取枸树叶总黄酮的工艺[J]. 化工进展，2016，35(z2)：328－331.

[16] 黄飞，徐慧敏，王杰，等. Box-Behnken 设计-效应面法优化离子液体提取废次茶叶中咖啡因工艺[J]. 天然产物研究与开发，2017，29(3)：489－496.

[17] 邓雪，李家铭，曾浩健，等. 层次分析法权重计算方法分析及其应用研究[J]. 数学的实践与认识，2012，42(7)：93－100.

[18] 傅予，王宏，张岩，等. Box-Behnken 设计-响应面法优化番石榴叶总黄酮提取工艺及总黄酮对糖尿病小鼠糖耐量的影响研究[J]. 中国药房，2018，29(1)：49－53.

[19] 周心怡，刁勇，徐先祥. Box-Behnken 响应面法优化青黛炮制条件[J]. 中国现代应用药学，2019，36(23)：2881－2887.

[20] 李慧，刘其南，张丽，等. 基于层次分析法及多指标正交试验优选酒炖女贞子炮制工艺[J]. 中草药，2016，47(16)：2832－2837.

编辑：刘卓越/接受日期：2020－09－26