

· 基础研究 ·

脑心通胶囊肠吸收液清除 DPPH 自由基的有效成分辨识研究[△]

郭宇飞, 赵晔, 何子龙, 方文娟, 吴宏伟, 杨洪军, 张方博*

中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700

[摘要] 目的: 以肠吸收液-体外活性相结合, 并利用拆方重组法研究脑心通胶囊中发挥抗氧化作用的单味或多味中药。方法: 应用外翻肠囊法制备肠吸收液, 同时拆方或构建重组方, 生化试剂盒结合酶标仪检测 DPPH 自由基的清除率, 寻找脑心通胶囊组方中抗氧化作用的单味或多味中药。结果: 丹参、黄芪和赤芍的抗氧化作用显著高于脑心通胶囊组, 将此三味药组合成三味复方, 同时从全方中去除上述三味药, 重组成去三味复方, 均按原方配比组合, 制备肠吸收液, 结果显示, 三味复方组仍具有较强的抗氧化活性, 而去三味组方的抗氧化活性显著降低。当单味药的质量浓度在单味药组、三味复方组及脑心通胶囊组中的质量浓度相同时, 三味复方组活性显著低于脑心通胶囊组, 与三味药单独作用比较, 也明显下降。结论: 黄芪、丹参和赤芍是脑心通胶囊抗氧化作用的主要活性成分, 但脑心通胶囊抗氧化作用仍是全方的综合作用结果。

[关键词] 脑心通胶囊; 肠吸收液; 拆方重组; DPPH 自由基

[中图分类号] R289; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)04-0448-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180712006

Effective Components Identification of Naoxintong Capsule Intestinal Absorption Liquid Scavenging DPPH

GUO Yu-fei, ZHAO Ye, HE Zi-long, FANG Wen-juan, WU Hong-wei,

YANG Hong-jun, ZHANG Fang-bo*

Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

[Abstract] **Objective:** The study aims at finding components in Naoxintong capsule through separation and combination of the prescription with intestinal absorption liquid-activity *in vitro* as mode of administration. **Methods:** Naoxintong intestinal absorption liquids of single, combination and total prescription were prepared. DPPH scavenging activity was measured by biochemical tests and a microplate reader. One or more of traditional Chinese medicine in Naoxintong capsule which displayed antioxidant activity were screened through separation and combination of prescription. **Results:** Antioxidant activity of Radix Salviae Miltiorrhizae, Rstragali Radix and Radix Paeoniae Rubra were stronger than that of Naoxintong capsule. Combined these three kinds of Chinese medicines into one prescription, meanwhile, combined the remained Chinese medicine into the other prescription, the proportion of every ingredient was consistent with original prescription, and then intestinal absorption liquid in each group was prepared. Results showed that antioxidant activity of prescription with the three was the strongest, and antioxidant activity of prescription without the three was quite low. When the concentration of any kind of Chinese medicine in the above three was identical with the concentration in the prescription and single herb, Naoxintong capsule showed the best antioxidant activity, and single herb group took the second place. **Conclusion:** Radix Salviae Miltiorrhizae, Rstragali Radix and Radix Paeoniae Rubra are the main components exerting antioxidant activities in Naoxintong capsule, but antioxidant activity of Naoxintong capsule is the comprehensive effect of whole herb in the prescription.

[Keywords] Naoxintong capsule; intestinal absorption liquid; separation and combination of prescription; DPPH free radical

[△] [基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09201-201-26)

* [通信作者] 张方博, 助理研究员, 研究方向: 中药药理; E-mail: fbzhang@icmm.ac.cn

中药复方的复杂性是中药复方研究的重点和难点,包括组成的复杂、成分的复杂以及作用机制的复杂,因此解析中药复方的复杂性,成为亟待解决的科学难题。中药复方的拆方研究是指把方剂中的药物逐步减去一味或几味中药,以考察其疗效的变化,或者进一步寻找有效成分^[1]。真武汤的拆方研究结果表明,其强心作用的主要药物是附子,但附子的毒性也较强,当与方中其他药物配伍后,如与生姜配伍,既增强全方的强心利尿作用,又降低毒性^[2]。拆方研究在中药复方组方理论研究中广泛使用。

脑心通胶囊由黄芪、当归、全蝎、赤芍、丹参、没药(制)、桂枝、桑枝、地龙、川芎、桃仁、乳香(制)、鸡血藤、红花、牛膝、水蛭等16味药组成^[3],具有化瘀通络、益气活血之功效,临床用于治疗脉络瘀阻、气虚血滞所导致的中风中经络、口眼歪斜、肢体麻木、舌强语謇及胸痹心悸等^[4]。研究表明益气活血方(法)通过增强心肌细胞线粒体中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性,降低丙二醛(MDA)含量,有效抑制氧自由基引发的损伤,降低细胞膜通透性,减少心肌细胞肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的释放,起到心肌保护作用^[5-6]。

自由基(Free Radical)是指外层轨道含有未配对电子的原子、原子团或特殊状态的分子,主要包括氧自由基、羟自由基、过氧自由基和氮氧自由基等。自由基参与机体多种生理活动,病理状态下过量产生的自由基可破坏组织,并造成功能损伤。研究报道自由基与动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、心律失常、充血性心力衰竭等心血管疾病的发生发展有密切关系^[7]。临床急性冠脉综合征病人血浆抗氧化能力减弱,血浆丙二醛(MDA)水平升高,其活性可作为判断疾病严重程度和预后的标准^[8]。黄嘌呤氧化酶活力增高可引起超氧阴离子自由基产生增多,造成心肌细胞膜结构和功能的破坏,膜液态性、流动性及通透性改变,使用黄嘌呤氧化酶抑制剂可缓解心衰病人的症状^[9]。

鉴于前期研究已建立过氧化氢损伤大鼠胚胎心肌细胞株(H9c2)模型,结果表明脑心通胶囊肠吸收液具有抗氧化作用,如升高总抗氧化能力(T-AOC)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)和过氧化氢酶(CAT)的水平,降低MDA和ROS的水平^[10]。1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH)自由基清除实验为体外评价药物抗氧

化活性的简易方法。DPPH是以氮为中心的稳定自由基,常用于体外评价物质的抗氧化活性。若受试物能清除DPPH,则受试物可能具有降低羟自由基、烷自由基、过氧自由基和打断脂质过氧化链反应的抗氧化作用^[11]。

本课题组以脑心通胶囊为研究对象,采用“肠吸收-体外活性”结合拆方重组模式对脑心通胶囊清除DPPH自由基的抗氧化作用进行初步解析,试从复方整体和单味药两个方面揭示脑心通胶囊各组成中药发挥药效的比重,再通过高活性药物的重组和去除进行活性确证。

1 材料与仪器

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠,体质量(230±20)g,购于军事医学科学院实验动物中心,许可证号:SCXK-(Jun)2012-0004。

1.2 药物及试剂

脑心通胶囊及黄芪、赤芍、全蝎、水蛭、红花、丹参、鸡血藤、川芎、当归、桃仁、牛膝、桑枝、桂枝、乳香(制)、没药(制)和地龙等16味药超微粉末由陕西步长制药有限公司提供;95%乙醇、葡萄糖、氯化钾、磷酸二氢钠、氯化钠、氯化镁、碳酸氢钠和氯化钙均为国产分析纯;DPPH(东京化成工业株式会社)。

1.3 仪器

BP110S型电子分析天平(Sartorius);SpectraMax M5多功能酶标仪(Molecular Devices);旋转蒸发器(EYELA SB-1100);循环水真空泵SHZ-DⅢ(巩义予华仪器有限责任公司);ALC-M型组织-器官水浴系统(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 肠吸收液制备

称取脑心通胶囊粉末50g,加入95%乙醇1000mL,回流提取2h,抽滤,滤液旋转蒸发至干。按照4g/25mL原药材的比例加入Tyrode缓冲液(NaCl 8.00g, KCl 0.28g, NaHCO₃ 1.00g, NaH₂PO₄ 0.05g, MgCl₂ 0.10g, CaCl₂ 0.20g, 葡萄糖 1.00g, pH 7.4),超声复溶,提取物全部溶解,得到分散均匀的混悬液,即制作肠吸收液的供试液。大鼠实验

前禁食 12 h, 颈部脱臼处死, 沿腹中线剪开皮肤, 然后沿腹白线剪开肌肉。找出胃幽门, 自幽门以下 10 cm 开始截取肠段并冲洗干净。将硅胶套管的一端插入肠管中, 将肠道内表面翻转, 用细线结扎; 然后用 0 ℃ Tyrode 缓冲液冲洗肠段内表面, 将另一端用线结扎, 确保不漏液。量取 25 mL 脑心通胶囊供试液(或加入 Tyrode 缓冲液, 为空白肠吸收液), 预先将其加入麦氏浴管中, 同时通入 95% O₂和 5% CO₂的混合气体, 开启 37 ℃ 恒温水浴循环系统。用注射器吸取 2 mL Tyrode 缓冲液, 注入肠管中, 然后将其置于麦氏浴管中。2 h 后收集肠管内液体, 0.22 μm 无菌滤膜过滤分装, -20 ℃ 保存待用。

2.2 DPPH 氧自由基清除

吸取待测液 50 μL 于 96 孔板, 加入 150 μL 的 DPPH 溶液, 混匀后避光静置 30 min, 以空白肠吸收液为空白对照, 在 517 nm 处测定吸光度值(A₁); 同时测定上述待测液 50 μL 与 150 μL 80% 乙醇混合后 517 nm 的吸光度值(A₂); 再测定 50 μL Tyrode 缓冲液与 150 μL DPPH 溶液混合后 517 nm 的吸光度值(A₃)。每个样品设 3 个复孔, 实验重复 3 次, 按公式(1)计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_3] \times 100\%$$

2.3 数据处理

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示, SPSS 21.0 软件进行聚类分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 脑心通胶囊及 14 个单味药的 DPPH 自由基清除作用

由于乳香及没药为树脂类药物, 两者醇提取物不溶于 Tyrode 缓冲液, 无法制备肠吸收液, 其余 14 种单味药按前述方法制备出相应的肠吸收液, 生药量及稀释起始质量浓度见表 1。结果显示脑心通胶囊肠吸收液能清除 DPPH 自由基, 呈剂量依赖性(见图 1)。14 味单药均表现出清除 DPPH 自由基的作用, 呈剂量依赖性。稀释 4 或 8 倍质量浓度时(即 250 或 125 μg·mL⁻¹), 桃仁、桂枝、红花、鸡血藤、川芎、当归、桑枝、地龙、全蝎、水蛭的自由基清除率明显低于脑心通胶囊组, 牛膝的自由基清除率与脑心通胶囊组比较, 差异无统计学意义, 丹参、黄芪、赤芍的自由基清除率显著高于脑心通

胶囊组($P < 0.05$)(见图 2)。单味药质量浓度与其在脑心通胶囊原方中的质量浓度相同时, 丹参、黄芪、赤芍的自由基清除率与脑心通胶囊组的差异无统计学意义, 其他各组均显著降低(见图 3)。聚类分析结果表明 14 味单药被分为两类: 第一类为丹参、黄芪和赤芍; 第二类为剩余 11 味药(见图 4)。

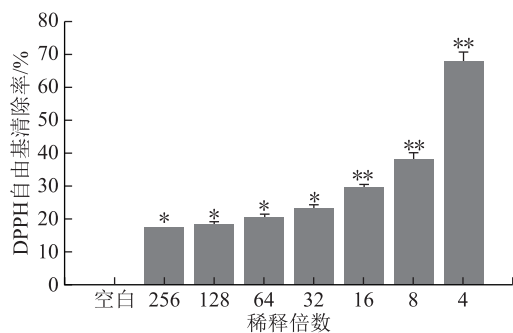
表 1 脑心通胶囊全方以及各单味药
肠吸收液相关质量浓度

组别	μg·mL ⁻¹		
	生药质量浓度	稀释 4 倍质量浓度	原方中质量浓度
脑心通全方	1	250	247.00
红花	1	250	8.10
当归	1	250	16.83
赤芍	1	250	16.83
丹参	1	250	16.83
桂枝	1	250	12.47
黄芪	1	250	41.15
牛膝	1	250	16.83
鸡血藤	1	250	12.47
全蝎	1	250	8.10
桑枝	1	250	16.83
水蛭	1	250	16.83
桃仁	1	250	16.83
川芎	1	250	16.83
地龙	1	250	16.83

3.2 重组复方的 DPPH 自由基清除作用

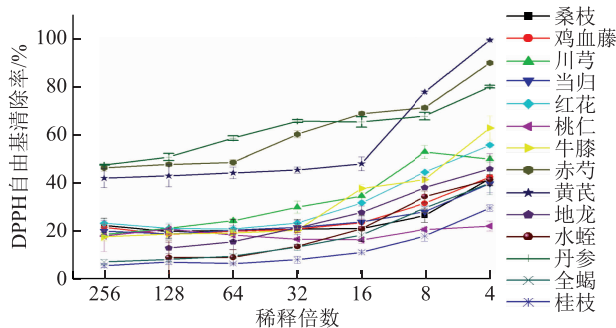
将丹参、黄芪和赤芍组成三味复方, 去除丹参、黄芪和赤芍重组成去三味复方, 将以上复方制备成相应的肠吸收液, 与脑心通胶囊肠吸收液对比, 观察这 3 组的 DPPH 自由基清除作用。两组药物各药称量与全方比例相同, 制备过程与全方肠吸收液制备过程相同, 三味复方生药质量浓度为 0.3 mg·mL⁻¹, 稀释 4 倍时作用质量浓度为 75 μg·mL⁻¹; 去三味复方生药质量浓度为 0.7 mg·mL⁻¹, 稀释 4 倍时作用质量浓度为 175 μg·mL⁻¹; 脑心通胶囊生药质量浓度为 1.0 mg·mL⁻¹, 稀释 4 倍时作用浓度为 250 μg·mL⁻¹。结果表明 3 种组合复方均具有显著的 DPPH 自由基清除作用。与脑心通胶囊肠吸收

液的自由基清除作用相比较,三味复方自由基清除作用最强,脑心通胶囊其次,去三味复方最弱(见图5)。将丹参、黄芪和赤芍各单味药制成肠吸收液,与三味复方肠吸收液($75\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、脑心通胶囊肠吸收液($247\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对比,并使单味药质量浓度与其在全方中的质量浓度相同(见表1),观察这5组肠吸收液的DPPH自由基清除作用,结果表明脑心通胶囊自由基清除作用最佳(见图6)。



注:与空白组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图1 不同稀释倍数脑心通胶囊肠吸收液对DPPH自由基清除的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注:与脑心通胶囊组相比,* $P < 0.05$ 。

图2 不同稀释倍数脑心通胶囊以及14味单药对DPPH自由基清除的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

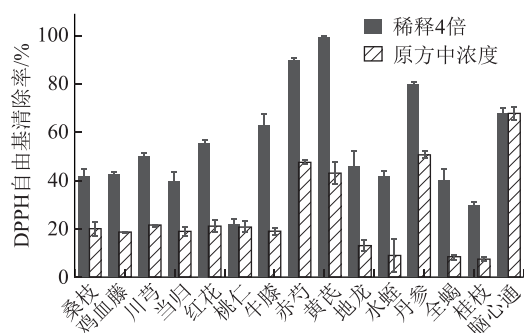
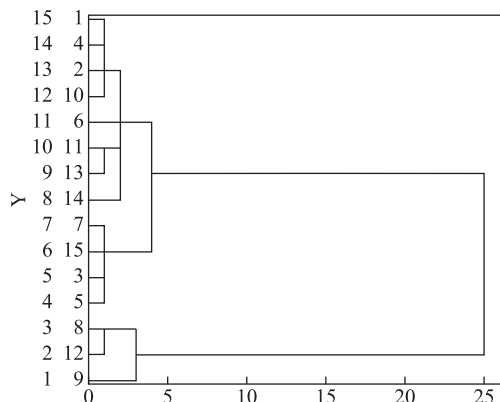
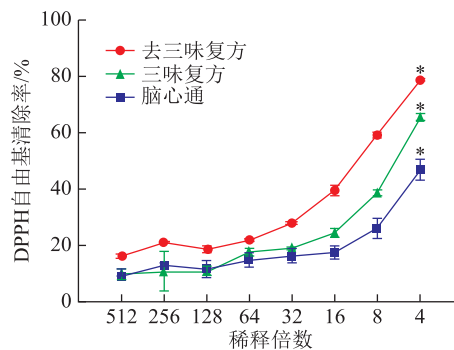


图3 单味药和脑心通胶囊原方等质量浓度时DPPH自由基的清除率比较($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注:14味单药被分为两类:第一类为丹参、黄芪、赤芍;第二类为剩余11味。1~15分别代表桑枝、鸡血藤、川芎、当归、红花、桃仁、牛膝、赤芍、黄芪、地龙、水蛭、丹参、全蝎、桂枝和脑心通胶囊。

图4 聚类分析14味单药对DPPH自由基的清除作用



注:与脑心通胶囊组相比,* $P < 0.05$ 。

图5 三味复方、去三味复方以及脑心通胶囊对DPPH自由基的清除作用($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

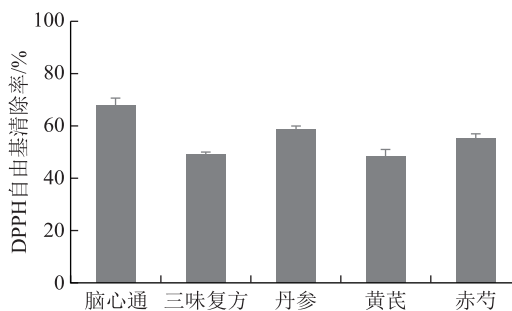


图6 各组质量浓度相同时对DPPH自由基的清除作用($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

4 讨论

肠囊外翻技术是相对比较成熟稳定的体外肠吸收模型,已广泛用于药物吸收和代谢等研究中。近年来也开始应用于中药有效成分辨识的研究,例如肠囊外翻技术应用于车前子的吸收成分群和药效成分群的快速发现^[12];应用此方法使用大鼠不同肠段

对养血清脑颗粒中芍药苷和阿魏酸的吸收动力学特征进行研究^[13]。本课题组利用肠囊外翻法制备元胡止痛方的肠吸收液,研究其对离体血管舒张活性的影响^[14-15],并应用脑心通胶囊肠吸收液研究心肌细胞保护作用等^[10]。疏风解毒胶囊肠吸收液能抑制LPS诱导巨噬细胞释放多种细胞因子^[16]。本研究的肠吸收液的制备,使用Tyrode缓冲液复溶提取物,使肠吸收液中以水溶性成分居多,更适合于以水溶性成分为主的中药。与血清药理学相比较,肠吸收液的成分多,含药量较高而干扰性成分少,活性显著。此法操作简单、重复性好,是中药有效成分辨识和机制研究的有效手段。

氧化应激在多数心血管疾病的病理生理发展过程中发挥重要作用,氧化应激过程中,体内氧化和抗氧化失衡,大量氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)生成和堆积过多,伴或不伴抗氧化能力下降,引起细胞化学损害,功能障碍,导致心肌细胞凋亡甚至坏死^[17-18]。DPPH自由基是人工合成的、稳定的有机自由基,常用来体外评价和筛选抗氧化活性,此法具有稳定性好、灵敏度高、操作简便等优点。DPPH清除能力与心血管疾病密切相关,可体外评价和筛选抗心血管疾病药物的药效^[19]。与健康男性相比较,冠心病男性病人血清DPPH清除能力明显下降^[20-21]。同时,若健康男性血清DPPH清除能力下降,其罹患冠心病的风险增加^[21]。本实验通过观察脑心通胶囊全方、单味药以及重组方肠吸收液清除DPPH自由基的影响,不同于体内病理生理过程产生的自由基,只是作为抗氧化作用的其余补充,初步评价其心血管保护作用。

实验结果表明14个单味药清除DPPH自由基的强度各不相同,稀释等倍质量浓度(4倍)时,黄芪、丹参和赤芍的抗氧化作用显著高于脑心通胶囊组,桃仁无明显抗氧化作用,其他10味药均有一定的抗氧化作用,但明显低于脑心通胶囊组。因此黄芪、丹参和赤芍可能是脑心通胶囊发挥抗氧化作用的主要参与者。为确证此假设,根据聚类分析结果将丹参、黄芪和赤芍组合成三味复方,同时从脑心通胶囊原方中去除上述三味药,重组成去三味复方,均按脑心通胶囊原方配比组合,通过提取制备肠吸收液,进行抗氧化活性再评价。结果显示,三味复方组仍具有较强的抗氧化活性,而去三味组方的抗氧化活性显著降低,进一步说明脑心通胶囊中丹参、黄芪、赤芍发挥着主要抗氧化作用。然而,

单味药的质量浓度在单味药组、三味复方组及脑心通胶囊组中的质量浓度相同时,三味复方组活性显著低于脑心通胶囊组,与三味药单独作用比较,也明显下降。由此推测丹参、黄芪和赤芍是脑心通胶囊抗氧化作用的主要活性成分,但其抗氧化作用仍是全方综合的作用结果,其作用机制有待深入研究。

丹参为中药活血化瘀常用药,现代药理研究表明丹参可减少或清除自由基,抑制过氧化反应,打断级联反应^[22]。在脑心通胶囊肠吸收液中检测到来自丹参的成分仅有丹参素、迷迭香酸、丹酚酸B和丹参酮I 4种成分,其中只有迷迭香酸和丹酚酸B具有明确的抗氧化作用,因此迷迭香酸和丹酚酸B可能为脑心通胶囊抗氧化作用的有效成分。

黄芪中的黄芪总黄酮、黄芪总皂苷、黄芪总多糖都具有清除氧自由基的作用,脑心通胶囊肠吸收液中可检测到来自黄芪的成分包括芒柄花苷、绿原酸、毛蕊异黄酮苷、黄芩苷、香豆精、刺芒柄花素、黄芪甲苷等,而芒柄花苷的抗氧化作用远小于毛蕊异黄酮苷^[23]。绿原酸、毛蕊异黄酮苷、黄芩苷、黄芪甲苷具有较强的抗氧化作用,可能为脑心通胶囊抗氧化作用的主要有效成分。

赤芍中发挥抗氧化作用的成分主要为没食子酸芍药苷、没食子酸、没食子酸氧化芍药苷及儿茶精^[24]。脑心通肠吸收液中来自赤芍的成分包括芍药苷、芍药内酯苷、没食子酰芍药苷、没食子酸,因此,脑心通胶囊中没食子酸可能是脑心通胶囊抗氧化作用的主要有效成分。

综上,本研究从体外DPPH自由基清除实验来评价脑心通胶囊的抗氧化作用,DPPH为人工合成的自由基,不同于机体病理生理过程产生的多种自由基,且抗氧化作用仅为心血管疾病众多分子发病机制之一,因此本实验无法模拟和重现在体的病理过程,具有一定的不足性和局限性。丹参、黄芪、赤芍单独作用时虽表现出显著的抗氧化活性,但三味药组合时,抗氧化作用弱于脑心通胶囊全方,因此脑心通胶囊的抗氧化作用是全方综合作用的结果,但主要发挥抗氧化作用的仍是黄芪、丹参、赤芍。通过全方、拆方以及重组方结合肠吸收液模式研究中药复方体外活性,辨识发挥主要药效的成分,为中药复方体外给药以及活性研究提供新的研究方法和思路。

参考文献

- [1] 李伟东,蔡宝昌. 中药复方研究思路的探讨[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(3):216-218.
- [2] 王均宁,龙子江,王钦茂. 真武汤及其拆方强心利尿作用的实验研究[J]. 中成药,1997,19(3):27-29.
- [3] 赵涛,赵步长,伍海勤,等. 脑心通胶囊在心脑血管病中的作用研究[J]. 中医杂志,2012,53(24):2150-2152.
- [4] 孔德梅. 脑心通胶囊对冠心病患者血液流变的影响[J]. 药物与临床,2009,17(9):788-789.
- [5] 邓常青,葛金文,胡俊. 益气活血法抗脑缺血再灌注损伤机理的实验研究 I—益气活血药物对氧自由基所致大鼠脑组织损伤的影响[J]. 湖南中医学院学报,1994,14(2):38-41.
- [6] 马静,龙钢,王宗仁,等. 益气活血复方对心肌线粒体氧自由基损伤的保护作用[J]. 心脏杂志,2006,18(2):178-181.
- [7] 童荣生. 自由基与心血管疾病[J]. 现代临床医学,2007,33(增刊2):188-190.
- [8] AZIZOVA O A, SERGIENKO V I, SYRKIN A L, et al. Clinical and prognostic significance of free radical processes in patients with coronary heart disease[J]. Vestn Ross Akad Med Nauk,2009,10:32-40.
- [9] HANASSOULIS G, BROPHY J M, RICHARD H, et al. Gout, allopurinol use and heart failure outcomes[J]. Arch Intern Med,2010,170:1358-1364.
- [10] ZHANG F B, HUANG B, ZHAO Y, et al. BNC Protects H9c2 Cardiomyoblasts from H₂O₂-Induced Oxidative Injury through ERK1/2 Signaling Pathway[J/OL]. Evid Based Complement Alternat Med,2013. [http://dx. doi. org/10.1155/2013/802784](http://dx.doi.org/10.1155/2013/802784). doi:10.1155/2013/802784.
- [11] 宋怀恩,闻轲. 抗氧化剂筛选方法的研究进展[J]. 中国药物化学杂志,2003,13(2):119-122.
- [12] 谭琴,朱晶晶,王维皓,等. 肠外翻技术快速发现车前子吸收入成分群的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(2):150-153.
- [13] 陈晓鹏,李昂,褚扬,等. 养血清脑颗粒中有效成分的肠外翻吸收研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(4):159-162.
- [14] 黄斌,陈晓萌,张迎春,等. 元胡止痛方肠吸收液对大鼠离体胸主动脉环张力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):117-120.
- [15] ZHANG Y C, XU H Y, CHEN X M, et al. Study on the application of intestinal absorption in vitro coupled with bioactivity assessment in Yuanhu Zhitong preparation[J]. J Med Plants Res,2012,6(10):1941-1947.
- [16] 何子龙,方文娟,张方博,等. 疏风解毒胶囊肠吸收液对LPS诱导巨噬细胞释放细胞因子的影响[J]. 中国现代中药,2015,17(4):345-348.
- [17] DORN II G W. Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodeling[J]. Cardiovasc Res,2009,81(3):465-473.
- [18] BUTLER T L, AU C G, YANG B, et al. Cardiac aquaporin expression in humans, rats, and mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2006,291(2):H705-H713.
- [19] MORALES D, PIRIS A J, RUIZ-RODRIGUEZ A, et al. Extraction of bioactive compounds against cardiovascular diseases from Lentinula edodes using a sequential extraction method[J]. Biotechnol Prog,2018,34(3):744-765.
- [20] GAWRON-SKARBEEK A, CHRZCZANOWICZ J, KOSTKA J, et al. Physical Activity, Aerobic Capacity, and Total Antioxidant Capacity in Healthy Men and in Men with Coronary Heart Disease[J/OL]. Oxid Med Cell Longev,2015. [http://dx. doi. org/10.1155/2015/197307](http://dx.doi.org/10.1155/2015/197307). doi:10.1155/2015/197307.
- [21] GAWRON-SKARBEEK A, CHRZCZANOWICZ J, KOSTKA J, et al. Cardiovascular risk factors and total serum antioxidant capacity in healthy men and in men with coronary heart disease[J/OL]. Biomed Res Int,2014. [https://www. hindawi. com/journals/bmri/2014/216964/](https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/216964/). doi:10.1155/2014/216964.
- [22] 马丙祥,董宽凯. 丹参的药理作用研究新进展[J]. 中国药房,2014,25(7):663-665.
- [23] 张鑫,杨英杰,吕庆章. 黄芩异黄酮类化合物抗氧化活性的密度泛函理论研究[J]. 化学研究与应用,2012,24(11):1662-1669.
- [24] 黄海兰,王国明,徐波. 赤芍抗氧化活性及其成分研究[J]. 食品科学,2007,28(7):76-77.

(收稿日期:2018-07-12 编辑:王丽英)