

6 种黄酮协同抗氧化作用及构效关系研究

The synergistic antioxidant effect and structure-activity relationship of six flavonoids

肖星凝¹ 徐雯慧¹ 左丹¹ 廖霞¹ 明建^{1,2}

XIAO Xing-ning¹ XU Wen-hui¹ ZUO Dan¹ LIAO Xia¹ MING Jian^{1,2}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Engineering Research Center of Regional Food, Chongqing 400715, China)

摘要:以 ABTS⁺·清除能力为指标,采用 Chou-Talalay 中效原理设计试验,研究 6 种结构不同的小分子黄酮协同抗氧化作用及构效关系。结果表明:6 种黄酮化合物对 ABTS⁺·清除能力依次为:5,6,7-三羟基黄酮>6-羟基黄酮>3,7-二羟基黄酮>5-羟基黄酮>3-羟基黄酮>7-羟基黄酮>抗坏血酸,其中 5,6,7-三羟基黄酮、6-羟基黄酮和 3,7-二羟基黄酮氧化作用效果显著;在不同浓度下,两种黄酮复配物对 ABTS⁺·清除能力的联合作用指数 CI 值有较大差异;3,7-二羟基黄酮和其它 5 种黄酮都有明显的协同作用。充分说明 6 种黄酮化合物之间的协同抗氧化作用与化合物的羟基位置和数量有关,具有 C_{3,7}-二羟基是协同抗氧化作用的主要结构特点。

关键词:黄酮;抗氧化;构效关系;相互作用;中效原理

Abstract: In this study, the ABTS free radicals scavenging activity was as an indicator, the Chou-Talalay method was used to investigate the synergistic antioxidant effect and structure activity relationship of six kinds of small molecules with different structures. The results showed that the ABTS free radicals scavenging activity of the six kinds of flavonoids was in following order, i.e., 5,6,7-trihydroxy flavone > 6-hydroxyl flavone > 3,7-dihydroxy flavone > 5-hydroxy flavone > 3-hydroxy flavone > 7-hydroxyl flavone > ascorbic acid. Among them, 5,6,7-trihydroxy flavone, 6-hydroxy flavone and 3,7-dihydroxy flavone oxidation effect significantly, under different concentration and two flavonoid compounds on ABTS free radicals scavenging activity of the combined effect of CI values are quite different,

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31471576);重庆市特色食品工程技术研究中心能力提升项目(编号:cstc2014pt-gc8001);重庆市社会民生科技创新专项(编号:cstc2015shmszx80019)

作者简介:肖星凝,女,西南大学在读本科生。

通信作者:明建(1972—),男,西南大学教授,博士。

E-mail:mingjian1972@163.com

收稿日期:2016—12—29

dihydroxy flavone and other five kinds of flavonoids have obvious synergistic effect. It was also found that the synergistic antioxidant effects of the six flavonoid compounds were related to the position and quantity of the hydroxyl group, the main structural feature of the synergistic antioxidant effect of 3,7-dihydroxy.

Keywords: flavone; antioxidant; structure-activity relationship; interaction; Chou-Talalay method

黄酮类化合物是一类在植物界广泛分布,具有酚羟基的两个苯环(A 环和 B 环)通过一个三碳链相互连结而成的化合物^[1]。依据 C3 是否呈环及其氧化程度和 B 环的连接位置等特点可将黄酮类化合物分为 7 个子类,即黄酮、类黄酮、黄酮醇、异黄酮、花色苷、黄烷醇和查耳酮^[2]。大量研究^[3-5]表明,黄酮类化合物具有多种生理功能和药用价值,如抗氧化、保护心脑血管、抗骨质疏松作用、抗菌消炎、抗辐射和抗肿瘤等,其中最引人注目的是其抗氧化作用。据报道^[6],黄酮类化合物与其它抗氧化化合物(如单宁)的协同效应可能是物质高抗氧化活性的主要原因。

黄酮类化合物发挥其抗氧化作用主要是通过不同途径防御引起机体氧化损伤的自由基,因而其抗氧化作用与其组分、结构或聚合度都有密切关系^[7]。当前也有研究^[8]涉及分析其结构与抗氧化性的关系,但对黄酮类化合物协同抗氧化作用与构效关系研究相对较少,仍需要进一步深入。然而食物中的抗氧化物质发挥抗氧化作用往往是协同发挥作用的,但关于各种不同的黄酮之间如何发挥协同作用方面的研究还很少。本试验拟选用 3-羟基黄酮、5-羟基黄酮、6-羟基黄酮、7-羟基黄酮、3,7-二羟基黄酮和 5,6,7-三羟基黄酮 6 种结构不同的小分子黄酮作为研究对象,以抗坏血酸为对照,测定其抗氧化活性,并研究不同结构黄酮两两复配后抗氧化活性的变化及怎样复配才能产生协同抗氧化效应,以探讨抗氧化性与黄酮类化合物中取代基羟基的位置和数量的内在联系。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

3-羟基黄酮、5-羟基黄酮、6-羟基黄酮、7-羟基黄酮、3,7-二羟基黄酮、5,6,7-三羟基黄酮、ABTS:生化试剂,美国Sigma 公司;

其他试剂:分析纯,成都科龙化工试剂公司。

1.2 仪器与设备

电子天平:FA2004 型,上海恒丰科学仪器有限公司;

恒温水浴锅:HH-4 型,金坛市易晨仪器制造有限公司;

分光光度计:JH722 型,上海精科科学仪器厂;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9140A 型,上海齐欣科学仪器有限公司;

恒温磁力搅拌器:85-2A 型,金坛市科析仪器有限公司;

超声波清洗器:KQ3200DE 型,昆山市超声仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 ABTS⁺·清除率测定 根据文献[9],修改如下:将 ABTS 用 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液溶解,配成 7 mmol/L ABTS 储备液,在室温、避光条件下静置 12~16 h。将生成的 ABTS⁺·溶液用磷酸盐缓冲液(PBS, 10 mmol/L, pH 7.4)稀释至室温下 734 nm 处吸光值为 0.70±0.02,即得到 ABTS⁺·工作液。将 6 种黄酮用无水乙醇配置浓度分别为 5,10,15,20,30,40,50,60 μmol/L 的溶液。反应体系中,于 10 mL 试管中加入 1 mL 不同浓度的样品液和 3 mL ABTS⁺·工作液,混合均匀后 30 ℃水浴反应 6 min,以抗坏血酸为对照,无水乙醇为空白,测定反应液在 734 nm 处的吸光值 m_1 ,按式(1)计算样品的 ABTS⁺·清除率。然后计算出清除 50% ABTS⁺·的浓度(IC_{50})。

$$c = (1 - \frac{m_1}{m_0}) \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

c ——ABTS⁺·清除率,%;

m_1 ——样品液吸光度;

m_0 ——空白样吸光度。

1.3.2 抗氧化相互作用试验设计 根据 6 种黄酮化合物各自的 IC_{50} 值,分别配置浓度为 0.1,0.25,0.5,0.75,1.0,1.25,1.5 倍 IC_{50} 值的溶液。两个黄酮化合物复配,各个浓度均以等体积比混合均匀[如:0.5 mL 0.5(IC_{50})的化合物 1 与 0.5 mL 0.5(IC_{50})的化合物 2 混合],测定 ABTS⁺·清除率。

1.3.3 化合物联合作用指数分析 采用中效原理计算^[10-12]。两化合物联合作指数的公式为:

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2}, \tag{2}$$

式中:

$(D)_1$ ——化合物 1 与别的化合物联合作用产生 X 效应时所需的浓度;

$(D)_2$ ——化合物 2 与别的化合物联合作用产生 X 效应时所需的浓度;

$(D_x)_1$ ——化合物 1 单用产生 X 效应时所需的浓度;

$(D_x)_2$ ——化合物 2 单用产生 X 效应时所需的浓度。

通过 CI 值可以定量判断不同化合物间相互作用的性质以及强度(表 1)。衡量相互作用以平均 CI 值(Weighted Average CI, CI_{wt})表示,公式为:

$$CI_{wt} = \frac{(CI_{50} + 2CI_{75} + 3CI_{90} + 4CI_{95})}{10}, \tag{3}$$

式中:

CI_{50} ——在 EC_{50} (作用达到 50%时的浓度)时的 CI 值;

CI_{75} 、 CI_{90} 、 CI_{95} 同理。

表 1 化合物联合作用的平均 CI 值区间及相互作用评价

Table 1 The range of CI and description in compound combination studies		
CI 值区间	相互作用评价	符号
$CI_{wt} < 0.1$	协同作用非常强	+++++
$0.1 < CI_{wt} < 0.3$	协同作用强	+++ +
$0.3 < CI_{wt} < 0.7$	协同作用较强	+++
$0.7 < CI_{wt} < 0.85$	协同作用中等	++
$0.85 < CI_{wt} < 0.90$	协同作用轻微	+
$0.90 < CI_{wt} < 1.10$	相加作用	±
$1.10 < CI_{wt} < 1.20$	拮抗作用轻微	—
$1.20 < CI_{wt} < 1.45$	拮抗作用中等	— —
$1.45 < CI_{wt} < 3.3$	拮抗作用较强	— — —
$3.3 < CI_{wt} < 10$	拮抗作用强	— — — —
$10 < CI_{wt}$	拮抗作用非常强	— — — — —

1.3.4 统计分析 每个试验重复 3 次,结果用“平均值±标准差”表示,使用 Excel 2010 进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 6 种黄酮的 ABTS⁺·清除率

根据 ABTS⁺·溶液前后吸光度的变化可测定样品抗氧化能力^[13]。3-羟基黄酮、5-羟基黄酮、6-羟基黄酮、7-羟基黄酮、3,7-二羟基黄酮、5,6,7-三羟基黄酮 6 种黄酮化合物 ABTS⁺·清除率测定结果见图 1,其 IC_{50} 值分别为:17.40, 14.82,9.39,35.11,10.79,9.05 μmol/L,对照品抗坏血酸的 IC_{50} 值为 46.21 μmol/L,则其活性大小依次为:5,6,7-三羟基黄酮>6-羟基黄酮>3,7-二羟基黄酮>5-羟基黄酮>3-羟基黄酮>7-羟基黄酮>抗坏血酸。 IC_{50} 越低,表明对 ABTS⁺·的清除能力越强,反之则越弱。综合比较,6 种黄酮化合物对 ABTS⁺·清除能力均强于抗坏血酸,其中 5,6,7-三羟基黄酮清除能力最强,6-羟基黄酮较弱于 5,6,7-三羟基黄酮,而 3,7-二羟基黄酮,5-羟基黄酮,3-羟基黄酮,7-羟基黄酮显著弱于 5,6,7-三羟基黄酮,其中 7-羟基黄酮最弱。

羟基数目和位置是影响黄酮类化合物抗氧化活性的重要因素,黄酮各环的羟基位点上, C_3-OH 、 $3'-OH$ 、 $4'-OH$ 是与自由基反应的主要位点, C_5-OH 和 C_7-OH 结构能够增强黄酮类化合物抗氧化活性^[8]。然而羟基取代位置(主要

是邻二酚取代)对黄酮类化合物抗氧化作用的贡献更大,酚羟基的数量并非越多越好^[7]。如儿茶素 B 环上的邻位酚羟基对 ABTS⁺·清除能力的发挥起最重要作用,而 A 环和 C 环上的邻位酚羟基贡献很小^[14]。本试验结果 6-羟基黄酮抗氧化活性大于 3,7-二羟基黄酮也证明并非酚羟基的数量多抗氧化活性就越好。Zhang 等^[15]报道当 B 环和/或 A 环有相邻的-OH 基团时可大大提高黄酮类化合物的抗氧化能力,此外由于不同黄酮化合物的结构不同,它们在溶液中或水包油乳状液中反应表现出不同的抗氧化能力。

2.2 6 种黄酮两两复合物的抗氧化活性

由表 2 可知,当两种黄酮组合时,除了“5-羟基黄酮与 3,7-二羟基黄酮”“6-羟基黄酮与 3,7-二羟基黄酮”“3,7-二羟基黄酮与 5,6,7-三羟基黄酮”3 组以外,其他 12 个组合联合作用时对 ABTS⁺的清除效果都弱于它们单独作用的。“5-羟基黄酮与 3,7-二羟基黄酮”和“6-羟基黄酮与 3,7-二羟基黄酮”在浓度小于 0.75(*IC*₅₀)时,联合作用的清除率是小于两个单独作用或其中某一个单独作用,大于 0.75(*IC*₅₀)时,则

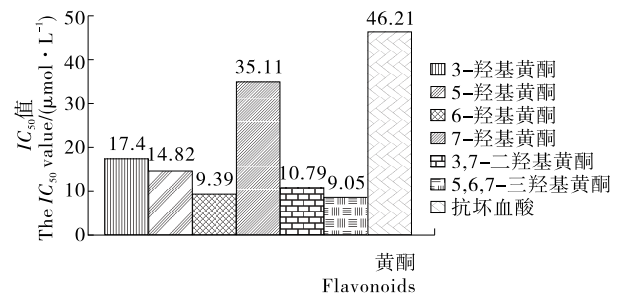


图 1 6 种黄酮化合物 ABTS⁺·清除率(*IC*₅₀ 值)
Figure 1 ABTS radical scavenging rates (*IC*₅₀) of Six Different Flavonoids

比单独作用时效果都好。“3,7-二羟基黄酮与 5,6,7-三羟基黄酮”则是从 0.5(*IC*₅₀)浓度开始联合作用效果超过单独作用。

表 3 是用中效原理算出各化合物联合作用时的平均 *CI* 值,从表 3 中可看出,3,7-二羟基黄酮和其它 5 种黄酮联合作用时都有或强或弱的协同作用(轻微协同,中等协同,协同),与 5-羟基黄酮、6-羟基黄酮和 5,6,7-三羟基黄酮联合作用时,其 *CI*_{wt} 为 0.6~0.7,表现为协同作用,与 7-羟基黄酮联合作用时,*CI*_{wt} 为 0.806,表现为中等协,与 3-羟基黄酮联合作用时 *CI*_{wt} 为 0.850,表现为轻微协同。6-羟基黄酮与 5,6,7-三羟基黄酮组合时,*CI*_{wt} 为 0.9~1.1,存在相加作用,而与其他黄酮(除 3,7-二羟基黄酮以外)联合作用时一般表现拮抗作用,与 3-羟基黄酮表现为轻微拮抗,与 5-羟基黄酮和 7-羟基黄酮表现为中等拮抗。此外,表现为中等拮抗作用的还有 5-羟基黄酮和 5,6,7-三羟基黄酮中等拮抗,剩下的为拮抗。总体上,没有出现强协同/拮抗或非常强协同/拮抗的组合。

抗氧化协同作用机理主要有修复再生、偶联氧化、吸收氧气、改变酶的活性、络合金属离子 5 大类^[16]。许多研究证实多种抗氧化剂联合使用效果往往要大于单一抗氧化剂的使用效果^[17],但是并非所有的抗氧化剂联合使用就一定有很好的协同效果,还存在一些影响因素,如还原电位、相对浓度、反应体系^[18]。大多数情况下,在一个特定的比例,协同效应达到最高水平^[19]。汤晓等^[20]认为黄酮间的协同或拮抗可能需要在氧化压力环境下才被激发。马燕妮等^[21]比较研究桑叶黄酮与鬼针草黄酮组分体外协同抗氧化活性时,表明在总黄酮量相同的情况下,分别提取后混合在一起对羟自由基的清除效果优于混合提取,其原因可能是两种原料放在一起提取,其中的化合物会发生相互反应,从而使黄酮类成分含量减少。从本试验也可看出单体黄酮的浓度和结构对协同作用有一定影响。

黄酮	ABTS ⁺ ·清除率/ %						
	0.10 <i>IC</i> ₅₀	0.25 <i>IC</i> ₅₀	0.50 <i>IC</i> ₅₀	0.75 <i>IC</i> ₅₀	1.00 <i>IC</i> ₅₀	1.25 <i>IC</i> ₅₀	1.50 <i>IC</i> ₅₀
3-羟基黄酮+5-羟基黄酮	5.87	7.83	10.43	18.48	21.30	23.04	29.57
3-羟基黄酮+6-羟基黄酮	5.77	7.21	20.43	25.48	43.51	44.71	48.32
3-羟基黄酮+7-羟基黄酮	2.30	7.13	9.43	13.79	19.54	20.23	20.92
3-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	1.35	9.89	20.22	31.24	42.70	52.36	60.45
3-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	3.26	7.39	8.48	14.78	20.65	24.78	30.87
5-羟基黄酮+6-羟基黄酮	3.10	9.29	17.26	27.21	34.51	40.49	45.13
5-羟基黄酮+7-羟基黄酮	1.57	10.11	12.36	19.10	26.74	30.11	38.88
5-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	3.65	13.01	29.91	45.21	54.79	67.81	79.68
5-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	1.89	6.50	13.63	21.80	26.62	36.69	41.09
6-羟基黄酮+7-羟基黄酮	9.46	14.64	18.47	26.80	31.08	43.02	45.05
6-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	7.38	15.66	31.77	51.23	65.10	76.51	87.70
6-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	7.59	14.48	22.30	31.72	40.69	53.33	60.23
7-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	7.61	14.13	28.26	40.00	48.04	58.91	64.31
7-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	2.57	4.07	4.93	11.35	17.99	21.20	28.05
3,7-二羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	4.12	13.17	31.89	39.71	53.50	63.17	74.49

表 3 两化合物复配清除 ABTS⁺· 的 CI 值

Table 3 The CI Value of two compound combinations on scavenging ABTS⁺·

组合	CI 值				IC ₅₀	相互作用判定
	EC ₅₀	EC ₇₅	EC ₉₀	EC ₉₅		
3-羟基黄酮+5-羟基黄酮	2.637	2.218	1.907	1.882	2.032	— — —
3-羟基黄酮+6-羟基黄酮	1.412	1.234	1.077	1.066	1.138	—
3-羟基黄酮+7-羟基黄酮	3.302	2.686	2.436	2.408	2.561	— — —
3-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	1.210	1.048	0.764	0.724	0.850	+
3-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	2.509	2.237	1.563	1.502	1.768	— — —
5-羟基黄酮+6-羟基黄酮	1.562	1.311	1.246	1.230	1.284	— —
5-羟基黄酮+7-羟基黄酮	1.974	1.525	1.509	1.487	1.550	— — —
5-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	0.913	0.768	0.616	0.584	0.663	+ + +
5-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	1.781	1.518	1.162	1.115	1.276	— —
6-羟基黄酮+7-羟基黄酮	1.598	1.335	1.346	1.334	1.364	— —
6-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	0.804	0.714	0.587	0.560	0.623	+ + +
6-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	1.210	1.102	0.870	0.840	0.938	±
7-羟基黄酮+3,7-二羟基黄酮	1.069	0.894	0.763	0.728	0.806	+ +
7-羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	2.800	2.314	1.870	1.799	2.024	— — —
3,7-二羟基黄酮+5,6,7-三羟基黄酮	0.968	0.879	0.573	0.526	0.655	+ + +

2.3 黄酮协同抗氧化构效关系

6 种黄酮化合物的化学结构见图 2,其不同点在于羟基数目和位置,这两者是影响其抗氧化活性的重要因素。Wolfe 等^[22]曾报道 B 环具有苯邻二酚基团的黄酮类和黄酮醇类化合物才有细胞抗氧化活性,其中具有 3',4'-邻羟基基团具有很强的细胞抗氧化活性(CAA),而 5'-羟基基团降低 CAA 值,C-环结构中,2,3-双键、3-羟基基团、4-酮基基团均对 CAA 很重要。与单体相比,黄酮混合物的协同抗氧化所涉及的构效关系更为复杂。Hidalgo 等^[23]认为黄酮混合物抗氧化的协同作用与拮抗效果,可能与黄酮之间的氢键缔合有关。Abou Samra 等^[24]研究表明,如果 2 种黄酮均有 3',4'-二羟基结构,混合后容易生成邻二苯醌结构,其抗氧化活

性会受到较强抑制。汤晓等^[25]报道含有较多 B 环羟基的黄酮类化合物更易发生拮抗作用,可通过调节黄酮单品的比例减小混合物的拮抗作用或增强其协同作用。4-羰基与 C₂=C₃对黄酮化合物抗氧化协同或拮抗作用的影响要大于 3',4'-邻二羟基,而 3',4'-邻二羟基的影响则大于 B 环仅有一个羟基的结构^[26]。

由试验结果发现,3,7-二羟基黄酮和其它 5 种黄酮联合作用时都有或强或弱的协同作用(轻微协同,中等协同,协同)。其中,与 5-羟基黄酮、6-羟基黄酮、7-羟基黄酮和 5,6,7,-三羟基黄酮联合作用表现为较强的协同作用,而与 3-羟基黄酮却表现出轻微协同作用关系。可以看出 A 环上的 C_{5,6,7}位羟基比 B 环上的 C₃位羟基具有较强的协同作用,与 3,7-二羟基黄酮具有较好的协同清除 ABTS⁺· 的效果;说明 A 环的 C₅-OH、C₆-OH、C₇-OH 是高抗氧化活性基团结构,这与 Wolfe 等^[22]的研究结果基本一致。此外,单个羟基和 3 个羟基数目的黄酮之间均表现出拮抗作用(除 6-羟基黄酮与 5,6,7-三羟基黄酮表现出轻微相加作用外)。充分说明 C_{3,7}-二羟基是几种黄酮协同抗氧化活性主要结构特点。

3 结论

6 种黄酮化合物对 ABTS⁺· 清除能力依次为:5,6,7-三羟基黄酮>6-羟基黄酮>3,7-二羟基黄酮>5-羟基黄酮>3-羟基黄酮>7-羟基黄酮>抗坏血酸,影响其抗氧活性主要因素是羟基化的程度和羟基的位置,但并非羟基取代基越多其抗氧化活性相对越强。对于 6 种黄酮化合物两两复合物协同抗氧化,化合物的结构和浓度会影响复配后协同作用效果,本研究表明 C_{3,7}-二羟基是几种黄酮协同抗氧化活性主要结构特点,但是否通用于其它结构类型黄酮有待进一步研究。对于两黄酮化合物之间相互作用机制还有待于研究。

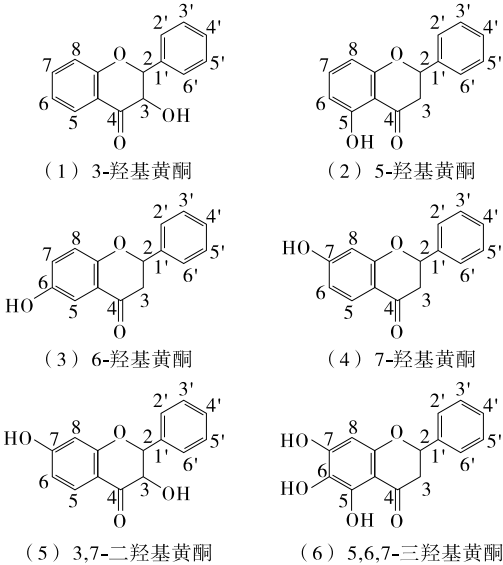


图 2 6 种黄酮结构

Figure 2 The structure of six flavonoids

本试验只采用一种抗氧化方法对其抗氧化和协同抗氧化活性进行评价,在后续的研究中可以结合其它抗氧化活性评价方法,如细胞抗氧化活性和动物试验等,进而全面评价其抗氧化活性和协同抗氧化作用,探索构效关系,为抗氧化功能性食品配料的科学筛选提供依据。

参考文献

[1] SINGH M, KAUR M, SILAKARI O. Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 84: 206-239.

[2] CASTELLANO G, GONZÁLEZ-SANTANDER J L, LARA A, et al. Classification of flavonoid compounds by using entropy of information theory [J]. *Phytochemistry*, 2013, 93: 182-191.

[3] WANG Xin, CAO Jian-guo, WU Yu-huan, et al. Flavonoids, antioxidant potential, and acetylcholinesterase inhibition activity of the extracts from the gametophyte and archegoniophore of *Marchantia polymorpha* L.[J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 360.

[4] VERMA A K, PRATAP R. The biological potential of flavones [J]. *Natural Product Reports*, 2010, 27(11): 1 571-1 593.

[5] BO Ya-cong, SUN Jin-feng, WANG Meng-meng, et al. Dietary flavonoid intake and the risk of digestive tract cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 24 836.

[6] BARKU V Y A, BOYE A, ERZAH F, et al. In-vitro antioxidant and wound healing roperties of *Combretum dolichopetalum* engl. &. diels (combretaceae) [J]. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2016, 6(5): 185-192.

[7] 吕丽爽, HO Chi-Tang, 汤坚. 二苯乙烯苷和白藜芦醇抗氧化构效关系研究[J]. *食品与机械*, 2009, 25(5): 57-58.

[8] 任红, 郑少杰, 张小利, 等. 基于不同抗氧化机制的黄酮类化合物构效关系研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(2): 384-388.

[9] SOONG Y Y, BARLOW P J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds [J]. *Food Chemistry*, 2004, 88(3): 411-417.

[10] CHOU T C. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method [J]. *Cancer Research*, 2010, 70(2): 440-446.

[11] CHOU T C. Theoretical basis, experimental design and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies [J]. *Pharmacological Reviews*, 2006, 58(3): 621-681.

[12] 丁豪, 杨海燕, 辛志宏. 昆仑雪菊黄酮类化合物的抗氧化相互作用研究[J]. *食品科学*, 2015, 36(21): 26-32.

[13] GÜLÇİN I. Antioxidant activity of l-adrenaline: A structure-activity insight [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2009, 179(2): 71-80.

[14] HONG Shan, LIU Song-bai. Targeted acylation for all the hydroxyls of (+)-catechin and evaluation of their individual contribution to radical scavenging activity [J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 415-421.

[15] ZHANG Yu-juan, WANG Dong-mei, YANG Li-na, et al. Pur-

ification and characterization of flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and correlation between their structure and antioxidant activity [J]. *Plos One*, 2014, 9(8): e105725.

[16] 严奉伟, 郭晔华, 程武. 菜籽多酚与 BHA 在菜籽油中的协同抗氧化作用[J]. *食品与机械*, 2009, 25(5): 10-13.

[17] FALLER A L K, LIU Rui-hai, FIALHO E. Feijoad a whole meal shows higher in vitro antioxidant activity than combination of individual ingredients [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(2): 1 097-1 101.

[18] REBER J D, EGGETT D L, PARKER T L. Antioxidant capacity interactions and a chemical/structural model of phenolic compounds found in strawberries [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2011, 62(5): 445-452.

[19] PANYA A, TEMTHAWEE W, PHONSATTA N, et al. Apolar radical initiated conjugated autoxidizable triene (apocat) assay: effects of oxidant locations on antioxidant capacities and interactions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(34): 7 546-7 555.

[20] 汤晓, 倪翠阳, 王丽英, 等. 水果混合物内黄酮抗氧化活性相互作用[J]. *食品科技*, 2014, 39(10): 212-218.

[21] 马燕妮, 张清华, 刘玉红, 等. 桑叶黄酮与鬼针草黄酮组分配伍抗氧化协同作用研究[J]. *食品与药品*, 2013, 15(3): 160-161.

[22] WOLFE K L, LIU Rui-hai. Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(18): 8 404-8 411.

[23] HIDALGO M, SÁNCHEZ-MORENO C, PASCUAL-TERESA S D. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(3): 691-696.

[24] ABOU SAMRA M, CHEDEA V S, ECONOMOU A, et al. Antioxidant/prooxidant properties of model phenolic compounds: Part I. Studies on equimolar mixtures by chemiluminescence and cyclic voltammetry [J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(2): 622-629.

[25] 汤晓, 焦泽武, 龚淑珍, 等. 黄酮混合物体外抗氧化活性的相互作用[J]. *食品科技*, 2013, 38(2): 198-206.

[26] 汤晓, 方伟, 沈秀丽, 等. 多黄酮混合物抗氧化活性的协同与拮抗作用[J]. *食品科学*, 2014, 35(5): 111-115.