

- 荷兰《文摘与引文数据库》(Scopus)
- 瑞典开放存取期刊目录 DOAJ
- 美国EBSCO
- 美国《化学文摘》CA
- 英国《食品科技文摘》FSTA
- 日本科学技术振兴机构数据库JST
- 世界期刊影响力指数(WJCI)报告
- 食品科学与工程领域高质量科技期刊分级目录第一方阵T1
- 北大核心期刊
- 中国精品科技期刊
- 中国科技核心期刊CSTPCD
- 中国核心学术期刊RCCSE
- 中国农林核心期刊A
- 中国生物医学Sino Med

## 粉条儿菜总黄酮提取工艺优化及抗氧化、抗炎活性分析

杨菁, 刘顶鼎, 陈滕, 刘静, 麻秀萍, 汪祖华

### Extraction Process Optimization and Antioxidant, Anti-Inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.

YANG Jing, LIU Dingding, CHEN Teng, LIU Jing, MA Xiuping, and WANG Zuhua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040190>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 菟丝子总黄酮提取工艺及其抗氧化活性

Extraction Process of Total Flavonoids from *Cuscuta chinensis* and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(23): 151-157 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.025>

#### 线叶旋覆花总黄酮的提取工艺优化及其抗氧化活性分析

Optimization of Extraction Process of Total Flavonoids from *Inula linearifolia* and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(22): 151-156,162 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.22.027>

#### 芦蒿总黄酮的提取工艺优化及抗炎活性研究

Optimization of Extraction Technology and Anti-inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Artemisia selengensis* Turcz.

食品工业科技. 2020, 41(24): 118-124 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020226>

#### 无花果总黄酮闪式提取工艺优化及其抗氧化活性

Optimization of Flash Extraction Process of Total Flavonoids from Fig (*Ficus carica* L.) and Its Antioxidant Activities

食品工业科技. 2020, 41(12): 186-191,220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.12.030>

#### 柿叶总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性

Optimization of the Extraction Technology of Total Flavonoids and *in Vitro* Antioxidant Activity of Extract from Persimmon Leaves

食品工业科技. 2020, 41(13): 32-38,45 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.006>

#### 复合酶辅助超声提取西藏芜菁总黄酮工艺优化及抗氧化活性分析

Enzyme-assisted Ultrasonic Extraction of Total Flavonoids from *Brassica rapa* L. Optimization and Its Antioxidant Activity Analysis

食品工业科技. 2021, 42(6): 174-180 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040345>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨菁, 刘顶鼎, 陈滕, 等. 粉条儿菜总黄酮提取工艺优化及抗氧化、抗炎活性分析 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 192–200. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040190

YANG Jing, LIU Dingding, CHEN Teng, et al. Extraction Process Optimization and Antioxidant, Anti-Inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 192–200. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040190

· 工艺技术 ·

# 粉条儿菜总黄酮提取工艺优化及抗氧化、 抗炎活性分析

杨菁<sup>1,2,3</sup>, 刘顶鼎<sup>1</sup>, 陈滕<sup>1,2,3</sup>, 刘静<sup>1</sup>, 麻秀萍<sup>1,2</sup>, 汪祖华<sup>1,3,\*</sup>

(1. 贵州中医药大学药学院, 贵州贵阳 550025;

2. 贵州中医药大学茶+大健康食品开发研究中心, 贵州贵阳 550025;

3. 贵州中医药大学纳米药物技术研究中心, 贵州贵阳 550025)

**摘要:** 为优化粉条儿菜总黄酮的提取工艺, 并探究抗氧化、抗炎活性。本研究以总黄酮得率为指标, 采用单因素实验考察乙醇浓度、料液比、提取时间对粉条儿菜总黄酮得率的影响, 在此基础上利用 Box-Behnke 响应面法对提取条件进行优化; 以 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基、羟基自由基清除能力为指标评价粉条儿菜总黄酮的抗氧化活性; 采用脂多糖诱导巨噬细胞 RAW264.7 建立炎症模型以评价粉条儿菜总黄酮抗炎活性。结果表明, 粉条儿菜总黄酮的最佳提取工艺为: 乙醇浓度 40%、料液比 1:125 g/mL、提取时间 30 min, 得到粉条儿菜总黄酮平均得率为 1.34%; 粉条儿菜总黄酮对 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基、羟基自由基的清除能力与其质量浓度呈正相关, IC<sub>50</sub> 值分别为 5.46、21.69 和 56.01 μg/mL; 粉条儿菜总黄酮在 12.5~100 μg/mL 范围内能明显抑制脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 NO 的分泌, 其 IC<sub>50</sub> 为 6.95 μg/mL。该提取工艺稳定、可靠, 可用于粉条儿菜总黄酮的提取, 且粉条儿菜总黄酮具有一定的抗氧化、抗炎活性。

**关键词:** 粉条儿菜, 总黄酮, 提取工艺, 抗氧化活性, 抗炎活性

中图分类号: TS231

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2024)02-0192-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040190



本文网刊:

## Extraction Process Optimization and Antioxidant, Anti-Inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.

YANG Jing<sup>1,2,3</sup>, LIU Dingding<sup>1</sup>, CHEN Teng<sup>1,2,3</sup>, LIU Jing<sup>1</sup>, MA Xiuping<sup>1,2</sup>, WANG Zuhua<sup>1,3,\*</sup>

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

2. Tea+Big Health Food Development and Research Center, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine,  
Guiyang 550025, China;

3. Nano-drug Technology Research Center of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine,  
Guiyang 550025, China)

**Abstract:** The objective of this study was to optimize the extraction process of total flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. and explore its antioxidant, anti-inflammatory activity. With the yield of total flavonoids as an evaluation index, single factor tests were used to investigate the effects of ethanol concentration, material liquid ratio and the extraction time on the total flavonoids content of *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. On this basis, the Box-Behnken method was used to optimize the extraction conditions. The antioxidant activity of total flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. were evaluated by measuring DPPH free radical, ABTS<sup>+</sup> free radical, hydroxyl free radical scavenging ability. The inflammatory

收稿日期: 2023-04-21

基金项目: 贵州中医药大学 2021 年国家自然科学基金后补助资金科研创新探索专项 (2018YFC170810510); 贵州中医药大学科研项目 (贵中医科院内 [2019]76 号)。

作者简介: 杨菁 (1988-), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 中药 (民族药) 有效成分及质量标准研究, E-mail: YangJingQing1124@163.com。

\* 通信作者: 汪祖华 (1984-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 苗药创新药物制剂, 纳米药物递送系统的研究与开发, E-mail: wangrui551601@163.com。

model was established by lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages to evaluate the anti-inflammatory activity of total flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.. The results showed that optimum extraction process was ethanol concentration of 40%, material liquid ratio of 1:125 g/mL, the extraction time of 30 min. The average yield of total flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. was 1.34%. The scavenging ability of total flavonoids on DPPH radical, ABTS<sup>+</sup> radical and hydroxyl radical were positively correlated with the concentration, and the IC<sub>50</sub> values were 5.46, 21.69 and 56.01 µg/mL, respectively. The total flavonoids of *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. could significantly inhibit the secretion of NO in LPS-induced RAW 264.7 macrophages within a certain concentration range, and the IC<sub>50</sub> value was 6.95 µg/mL. The extraction process of total flavonoids is stable and reliable, which can be used for the extraction of total flavonoids, and the total flavonoids from *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. has certain antioxidant and anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.; total flavonoids; extraction process; antioxidant activity; anti-inflammatory activity

粉条儿菜为百合科植物粉条儿菜 *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.的全草<sup>[1]</sup>,既可作为食品,也可作为药品<sup>[2]</sup>,为我省少数民族常用药。其性味甘、苦、平,具有清肺止咳,活血调经,杀虫的功效,用于治疗咳嗽,咯血,百日咳,肺癰等<sup>[3]</sup>。粉条儿菜别名又叫肺筋草、小肺筋草、金线吊白米等,主要分布于自甘肃南延至华东和西南各省<sup>[4]</sup>,通常生长在茂密的山坡、路旁或灌木丛中,喜潮湿、稍阴凉的环境,耐旱,适应性较强<sup>[5]</sup>。粉条儿菜在民间应用广泛,在清明后可作为野生蔬菜食用<sup>[6]</sup>,在食品及药品领域具有较好的开发应用前景。

目前对粉条儿菜的基础研究较薄弱,仅有少量关于化学成分的研究。通过查阅文献可知,粉条儿菜含有生物碱、挥发油、甾体、黄酮等多类成分<sup>[7-11]</sup>。有学者从粉条儿菜中分离出美商陆酚 A、异美商陆酚 A<sup>[9]</sup>、5-羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮<sup>[10]</sup>、芹菜素<sup>[11]</sup>等黄酮类化合物。研究表明,多数黄酮类化合物具有抗氧化<sup>[12]</sup>、神经保护、抗心肌缺血、降压、抗炎、抗肿瘤及降血糖等药理作用<sup>[13-14]</sup>,且多种疾病的发生均可能与炎症及氧化应激反应有关。因此,粉条儿菜中以芹菜素为代表的黄酮类化合物可能为该植物抗炎及抗氧化的有效组分之一,具有一定的研究意义。

植物中总黄酮类化合物的提取方法主要有溶剂提取法、酶解提取法、回流提取法及超声辅助提取法等<sup>[15]</sup>,其中超声辅助提取法是利用超声波的空化、粉碎、搅拌等特殊作用,通过破坏植物体的细胞壁,同时促使颗粒破碎变小,有利于溶剂和底物之间的相互作用,使活性物质从植物体中释放出来。较多研究者采用超声辅助提取法结合响应面法对其工艺参数进行考察,以提高提取率。与其它提取方法相比,该提取方法具有提取时间短、提取效率高、操作简单的优点,近年来多用于植物中有效成分的提取<sup>[16-17]</sup>。王念等<sup>[18]</sup>以干燥桑叶为原料,采用不同提取溶剂,对浸提法和超声辅助提取法制备得到的桑叶提取物的提取率、提取物中总酚含量、抗氧化能力和对 DPPH 自由基的清除能力进行了比较,发现超声辅助提取法的提取率、提取物中总酚含量均高于浸提法,超声辅助提取法制备得到的桑叶提取物清除 DPPH 自由基的

能力和总抗氧化能力略高于浸提法。张晓南等<sup>[19]</sup>通过超声辅助法从拐枣种子中提取二氢杨梅素,采用单因素和 Box-Behnken 响应面设计法考察了乙醇体积分数、超声辐照功率、提取温度、液料比和超声辐照时间对二氢杨梅素得率的影响,获取最佳提取工艺条件,这种提取方法简单快速,效率高,有利于拐枣资源的综合加工利用。

关于粉条儿菜中总黄酮的提取及抗氧化抗炎活性的研究未见相关报道。因此,本研究以粉条儿菜总黄酮为研究目标,采用超声辅助提取法,结合单因素实验和 Box-Behnken 响应面法对总黄酮的提取工艺进行优化,同时对体外抗氧化抗炎活性进行初步研究,旨在为其在食品及医药行业的充分开发利用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

粉条儿菜 采自贵州省安顺市关岭县,经贵州中医药大学王波老师鉴定为百合科(Liliaceae)粉条儿菜属(*Aletris*)植物粉条儿菜 *Aletris spicata* (Thunb.) Franch.的全草,干燥后粉碎,过 40 目筛,备用;芹菜素 标准品(纯度≥98%) 成都曼思特生物科技有限公司;DPPH(1,1-苯基-2-苦肼基自由基,纯度≥98%)、ABTS(2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐,纯度≥99.0%)、水杨酸 合肥干盛生物科技有限公司;L-抗坏血酸(纯度≥99.5%) 上海易恩化学技术有限公司;RAW264.7细胞株 武汉普诺赛生命科技有限公司;脂多糖 Sigma 公司;DMEM 高糖培养基 Gibco 公司;胎牛血清 Biological 公司;CCK-8 试剂盒 上海陶术生物科技有限公司;一氧化氮试剂盒 碧云天生物技术;其他试剂均为分析纯。

UV-5500 紫外可见分光光度计 上海元析仪器有限公司;PS-40AD 超声清洗机 深圳市洁康洗净电器有限公司;FA2204N 电子天平 上海菁海仪器有限公司;EX225DZH 电子天平 奥豪斯仪器常州有限公司;BB150 二氧化碳培养箱、1550 型全波长酶标仪 赛默飞世尔科技公司;CKX63 倒置相差显

显微镜 上海蛮吉光电科技有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 总黄酮含量测定

1.2.1.1 标准品溶液的制备 取干燥至恒重的芹菜素标准品 5.500 mg, 精密称定, 用 40% 乙醇溶解后转移至 100 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 即得 55.00  $\mu\text{g/mL}$  芹菜素标准品溶液。

1.2.1.2 测定波长的选择 分别精密移取标准品溶液和总黄酮供试品溶液各 1.5 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加入 1.5% 三乙胺乙醇溶液 2.0 mL, 摇匀, 用 40% 乙醇溶液定容至刻度, 在 200~800 nm 范围内进行光谱扫描, 结果显示两种溶液在 396 nm 处均有最大吸收, 试样空白在相应位置无干扰, 故选择 396 nm 作为测定波长。

1.2.1.3 标准曲线的绘制 精密移取标准品溶液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL, 分别置 25 mL 容量瓶中, 按照“1.2.1.2”项下方法, 以相应溶剂为空白, 采用紫外-可见分光光度法, 于 396 nm 处测定吸光度。以芹菜素浓度为横坐标(C), 吸光度为纵坐标(A), 绘制标准曲线, 得回归方程  $A=0.0825C+0.0131$  ( $R^2=0.9998$ ), 且在 2.20~8.80  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内呈良好线性关系。

1.2.1.4 粉条儿菜总黄酮含量的计算 取粉条儿菜粉末 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 25 mL 40% 乙醇, 称定重量, 在超声功率为 240 W, 超声频率为 40 kHz, 常温条件下超声处理 30 min, 放冷至室温, 再称定重量, 用 40% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 按照“1.2.1.2”项下方法测定吸光度(A), 根据回归方程计算提取液中总黄酮的质量浓度(C), 按式(1)计算粉条儿菜总黄酮得率。

$$Y = \frac{C \times 25 \times 25}{1.5 \times W \times 10^6} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中, Y 为总黄酮得率, %; C 为测定样品溶液中总黄酮的质量浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ; 25 为测定样品溶液体积, mL; 25 为总黄酮提取液总体积, mL; 1.5 为移取的总黄酮提取液体积, mL; W 为称取粉条儿菜的质量, g。

### 1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 乙醇浓度对总黄酮得率的影响 参照“1.2.1.4”项下方法进行提取, 固定料液比 1:125 g/mL, 提取时间 30 min, 超声功率为 240 W, 超声频率为 40 kHz, 考察不同乙醇浓度(30%、40%、50%、60%、70%)对总黄酮得率的影响。

1.2.2.2 料液比对总黄酮得率的影响 参照“1.2.1.4”项下方法进行提取, 固定乙醇浓度 40%, 提取时间 30 min, 超声功率为 240 W, 超声频率为 40 kHz, 考察不同料液比(1:75、1:100、1:125、1:150、1:175 g/mL)对总黄酮得率的影响。

1.2.2.3 提取时间对总黄酮得率的影响 参照

“1.2.1.4”项下方法进行提取, 固定料液比 1:125 g/mL, 乙醇浓度 40%, 超声功率为 240 W, 超声频率为 40 kHz, 考察不同提取时间(10、20、30、40、50 min)对总黄酮得率的影响。

1.2.3 响应面试验 在单因素实验基础上, 利用 Design-Expert 8.0.6 软件, 以乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)为影响因素, 总黄酮得率(Y)为评价指标进行响应面试验, 因素与水平见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平设计  
Table 1 Factors and levels of response surface experiment

| 因素          | 水平    |       |       |
|-------------|-------|-------|-------|
|             | -1    | 0     | 1     |
| A 乙醇浓度(%)   | 30    | 40    | 50    |
| B 料液比(g/mL) | 1:100 | 1:125 | 1:150 |
| C 提取时间(min) | 20    | 30    | 40    |

1.2.4 抗氧化活性测定 将提取得到的粉条儿菜总黄酮提取液浓缩至总黄酮浓度为 0.50 mg/mL, 即得用于抗氧化活性测定的样品溶液。

1.2.4.1 DPPH 自由基清除能力的测定 参考文献[20~21]的方法并做出适当调整。分别精密移取 0.025、0.05、0.1、0.5、1.0 mL 样品溶液, 置 10 mL 容量瓶中, 用蒸馏水补至 1 mL, 加入 3.5 mL 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液, 用乙醇定容至刻度, 避光反应 30 min, 在 517 nm 处测定吸光度值; 以不加样品的溶液在同一波长下测定 DPPH 溶液吸光度值; 以不加 DPPH 的溶液在同一波长下测定样品吸光度值; 用同浓度水平  $V_C$  溶液作为阳性对照, 计算清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中,  $A_1$  为样品溶液反应后的吸光度值;  $A_2$  为不加 DPPH 的溶液吸光度值;  $A_0$  为不加样品的溶液吸光度值。

1.2.4.2 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力的测定 参考文献[22~23]方法并略作修改。将 7 mmol/L ABTS<sup>+</sup>溶液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液按体积 1:1 混合, 室温避光下静置过夜, 即得 ABTS<sup>+</sup>储备液, 在 12~16 h 内, 将其用蒸馏水稀释 10 倍, 得到 ABTS<sup>+</sup>工作液。

分别精密移取 0.025、0.1、0.5、1.0、1.5 mL 样品溶液, 置 10 mL 容量瓶中, 各加入 2.5 mL ABTS<sup>+</sup>工作液, 加蒸馏水定容至刻度, 室温下避光反应 10 min, 在 734 nm 处测定吸光度; 以不加样品的溶液在同一波长下测定 ABTS<sup>+</sup>工作液吸光度; 以不加 ABTS<sup>+</sup>工作液的溶液在同一波长下测定样品吸光度; 用同浓度水平  $V_C$  溶液作为阳性对照, 计算清除率。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中,  $A_1$  为样品溶液反应后的吸光度值;  $A_2$  为不加 ABTS<sup>+</sup>工作液的溶液吸光度值;  $A_0$  为不加样品的溶液吸光度值。

1.2.4.3 羟基自由基清除能力的测定 按陈佳敏等<sup>[24]</sup>报道的方法。精密移取 0.3、0.6、0.9、1.2、1.5 mL 样品溶液, 置 10 mL 容量瓶中, 用蒸馏水补至 1.5 mL, 各加入 1 mL 4.5 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 溶液和 1 mL 4.5 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液, 再加入 1 mL 4.4 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 1 mL, 于 37 ℃ 水浴反应 30 min, 在 510 nm 处测定吸光度; 以不加样品的溶液在同一波长下测定羟基自由基溶液吸光度; 以不加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的溶液在同一波长下测定样品吸光度; 用同浓度水平 V<sub>C</sub> 溶液为阳性对照, 计算清除率。

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中,  $A_1$  为样品溶液反应后的吸光度值;  $A_2$  为不加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的溶液吸光度值;  $A_0$  为不加样品的溶液吸光度值。

## 1.2.5 抗炎活性测定

1.2.5.1 细胞活力检测 将 RAW264.7 细胞复苏于培养瓶中, 在 37 ℃、5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。当细胞生长密度至 80% 左右时进行传代, 用移液枪轻轻将贴壁的细胞吹打下来。

参照文献<sup>[25-26]</sup>, 取对数生长期的 RAW 264.7 细胞, 将细胞浓度调整为  $5 \times 10^4$  个/mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL, 于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。分别设置空白组、对照组及给药组, 空白组及对照组加入 DMEM 培养基 100 μL, 且空白组不含细胞, 给药组以不同质量浓度(12.5、25、50、100、150 μg/mL) 粉条儿菜总黄酮提取物, 每组设置 6 个复孔, 培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 培养箱孵育 2 h, 用酶标仪在 450 nm 处测量 96 孔板的 OD 值, 以细胞存活率表示毒性大小。

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{OD}_{\text{给药组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}}{\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

1.2.5.2 NO 释放量检测 试验分为空白组(仅含 DMEM 无细胞), LPS 模型组(LPS 1.0 μg/mL)及粉条儿菜总黄酮提取物组(LPS 1.0 μg/mL 和 12.5、25、50、100 μg/mL 总黄酮提取物), 每孔加入体积为 100 μL, 于 37 ℃ CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 24 h。用培养基稀释亚硝酸盐(NaNO<sub>2</sub>)对照品, 收集 96 孔板细胞上清液 50 μL, 室温静置 5 min, 分别加入 50 μL Griess 试剂 I 和 50 μL Griess 试剂 II, 540 nm 处测量 96 孔板的 OD 值, 代入 NaNO<sub>2</sub> 对照曲线计算产生的 NO 量。

## 1.3 数据处理

所有试验均平行操作 3 份, 采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行响应面试验设计及数据处理; 采用

IBM SPSS Statistics25 软件对数据进行差异性显著分析,  $P < 0.05$  表示差异显著; 采用 Excel 2010 和 GraphPad Prism 8.3.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 乙醇浓度对总黄酮得率的影响 如图 1 所示, 粉条儿菜总黄酮得率随乙醇浓度的增大呈现先升后降的趋势, 当乙醇浓度为 40% 时, 总黄酮得率达最大, 为 1.25%, 之后随着乙醇浓度的增大, 总黄酮得率逐渐降低。其原因可能是在低浓度范围内, 即小于 40% 时, 根据相似相溶原理, 粉条儿菜中极性较大的黄酮类化合物易溶于大极性溶剂中, 且由于乙醇的强渗透力, 随着乙醇浓度的增大, 粉条儿菜总黄酮得率逐渐上升; 但乙醇浓度继续增大后, 一方面是溶剂极性变小, 另一方面是一些醇溶性、脂溶性或其它低极性杂质也同时被提出, 从而导致总黄酮得率下降<sup>[27]</sup>。

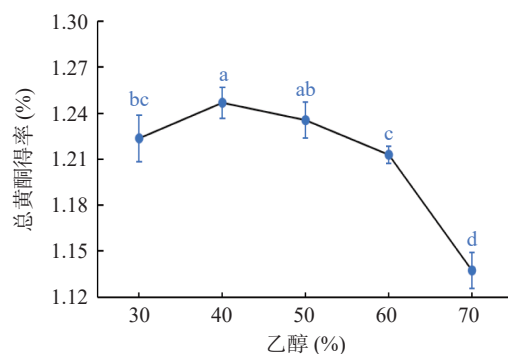


图 1 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on the yield of total flavonoids

注: 不同小写字母表示总黄酮得率之间差异显著 ( $P < 0.05$ ); 图 2~图 3 同。

2.1.2 料液比对总黄酮得率的影响 如图 2 所示, 粉条儿菜总黄酮得率随着料液比增加而先升后略降, 在 1:125 g/mL 时达到最大值, 为 1.24%, 但继续增加时总黄酮得率反而略有降低。其原因可能是在提取溶剂体积较小时, 固液间的接触面积较小, 得到总黄酮较少, 而后当料液比大于 1:125 g/mL 时, 过多

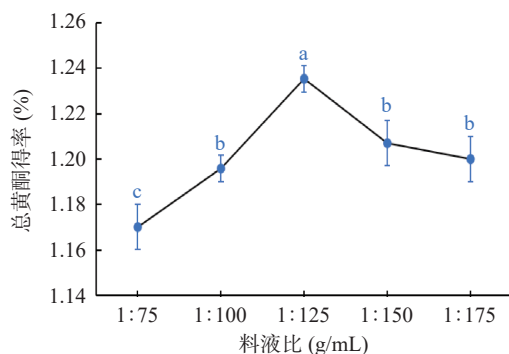


图 2 料液比对总黄酮得率的影响

Fig.2 Effect of material liquid ratio on the yield of total flavonoids

的提取溶剂会消耗部分超声波的能量,导致作用于粉条儿菜粉末中的超声波能量减弱,降低了黄酮类成分从细胞中溶出的能力,使得总黄酮得率下降<sup>[28]</sup>。

**2.1.3 提取时间对总黄酮得率的影响** 如图 3 所示,随着提取时间的增加,粉条儿菜总黄酮得率在 10~30 min 呈直线上升趋势,30 min 时得率达最大,为 1.31%,随着提取时间的继续延长,总黄酮得率反而出现下降的趋势。其原因可能是当提取时间过短时,粉条儿菜中的黄酮类成分没有被完全溶出,总黄酮得率较低,在 30 min 之后,随着提取时间的增加,其它杂质逐渐被溶出,或由于长时间超声波振荡的影响,粉条儿菜中一些不稳定黄酮类成分被破坏,导致总黄酮的得率减少<sup>[29]</sup>。

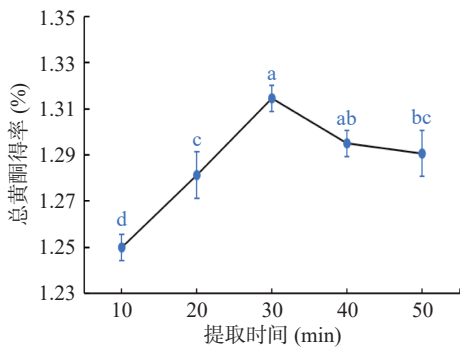


图 3 提取时间对总黄酮得率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the yield of total flavonoids

**2.2 响应面试验结果**

**2.2.1 响应面模型的建立与分析** 在单因素实验基础上,以乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)为影响因素,总黄酮得率(Y)为评价指标进行响应面分析。结果见表 2。

表 2 试验设计及结果  
Table 2 Experiment design and results

| 实验号 | A乙醇浓度 (%) | B料液比 (g/mL) | C提取时间 (min) | 总黄酮得率 (%) |
|-----|-----------|-------------|-------------|-----------|
| 1   | 40        | 1:150       | 40          | 1.29±0.02 |
| 2   | 30        | 1:100       | 30          | 1.21±0.01 |
| 3   | 50        | 1:125       | 40          | 1.28±0.06 |
| 4   | 50        | 1:125       | 20          | 1.25±0.13 |
| 5   | 40        | 1:150       | 20          | 1.25±0.07 |
| 6   | 30        | 1:125       | 40          | 1.21±0.23 |
| 7   | 50        | 1:100       | 30          | 1.26±0.12 |
| 8   | 40        | 1:100       | 40          | 1.26±0.05 |
| 9   | 40        | 1:125       | 30          | 1.33±0.03 |
| 10  | 50        | 1:150       | 30          | 1.28±0.16 |
| 11  | 30        | 1:125       | 20          | 1.16±0.32 |
| 12  | 30        | 1:150       | 30          | 1.23±0.41 |
| 13  | 40        | 1:125       | 30          | 1.29±0.08 |
| 14  | 40        | 1:125       | 30          | 1.32±0.16 |
| 15  | 40        | 1:125       | 30          | 1.31±0.05 |
| 16  | 40        | 1:125       | 30          | 1.31±0.01 |
| 17  | 40        | 1:100       | 20          | 1.25±0.09 |

根据 Box-Behnken 响应面法得到的试验结果,利用 Design-Expert 8.0.6 软件对实验数据进行多元二次回归,得出总黄酮得率:  $Y=0.27+0.026A+6.959\times 10^{-3}B+0.013C-1.614\times 10^{-4}AB-4.621\times 10^{-3}AC+5.883\times 10^{-3}BC-0.042A^2-0.011B^2-0.028C^2$ ,对回归模型进行方差分析,结果见表 3。

表 3 方差分析结果  
Table 3 Results of ANOVA

| 来源             | 平方和                   | 自由度 | 均方                    | F值                    | P值     | 显著性 |
|----------------|-----------------------|-----|-----------------------|-----------------------|--------|-----|
| 模型             | 0.020                 | 9   | $2.173\times 10^{-3}$ | 16.35                 | 0.0007 | **  |
| A 乙醇浓度         | $5.581\times 10^{-3}$ | 1   | $5.581\times 10^{-3}$ | 41.99                 | 0.0003 | **  |
| B 料液比          | $3.874\times 10^{-4}$ | 1   | $3.874\times 10^{-4}$ | 2.92                  | 0.1315 |     |
| C 提取时间         | $1.388\times 10^{-3}$ | 1   | $1.388\times 10^{-3}$ | 10.45                 | 0.0144 | *   |
| AB             | $1.042\times 10^{-7}$ | 1   | $1.042\times 10^{-7}$ | $7.837\times 10^{-4}$ | 0.9784 |     |
| AC             | $8.541\times 10^{-5}$ | 1   | $8.541\times 10^{-5}$ | 0.64                  | 0.4491 |     |
| BC             | $1.984\times 10^{-4}$ | 1   | $1.384\times 10^{-4}$ | 1.04                  | 0.3414 |     |
| A <sup>2</sup> | $7.313\times 10^{-3}$ | 1   | $7.313\times 10^{-3}$ | 55.02                 | 0.0001 | **  |
| B <sup>2</sup> | $5.026\times 10^{-4}$ | 1   | $5.026\times 10^{-4}$ | 3.78                  | 0.0929 |     |
| C <sup>2</sup> | $3.199\times 10^{-3}$ | 1   | $3.199\times 10^{-3}$ | 24.07                 | 0.0017 | **  |
| 残差             | $9.303\times 10^{-4}$ | 7   | $1.329\times 10^{-4}$ |                       |        |     |
| 失拟值            | $4.171\times 10^{-4}$ | 3   | $1.390\times 10^{-4}$ | 1.08                  | 0.4514 |     |
| 绝对误差           | $5.132\times 10^{-4}$ | 4   | $1.283\times 10^{-4}$ |                       |        |     |
| 总和             | 0.020                 | 16  |                       |                       |        |     |

注: \* 表示差异显著( $P<0.05$ ); \*\* 表示差异极显著( $P<0.01$ )。

由表 3 可知,模型  $F=16.35$ ,  $P=0.0007<0.01$ ,说明该回归模型效果极显著,失拟项  $P=0.4514>0.05$ ,说明模型与数据拟合程度良好;  $R^2=0.9546$ ,表明相关性较强;  $R^2_{adj}$  和  $R^2_{pred}$  在合理范围内一致,差异小于 0.4,表明模型可很好地解释大部分因素变化引起的响应值变化,可用此模型对粉条儿菜总黄酮的最佳提取工艺条件进行预测。

根据各影响因素的  $F$  值可知,各因素对粉条儿菜总黄酮得率的影响程度不同,由高到低依次为乙醇浓度(A)>提取时间(C)>料液比(B)。其中模型一次项 B,模型交互项 AB、AC、BC 以及模型二次项 B<sup>2</sup>,影响不显著( $P>0.05$ );模型一次项 C 影响显著( $P<0.05$ ),模型一次项 A,模型二次项 A<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>,影响极为显著( $P<0.01$ )。

**2.2.2 响应面交互作用分析** 各因素交互作用对粉条儿菜总黄酮得率的响应面和等高线如图 4 所示。响应面越陡峭的一方,对总黄酮得率的影响越大。由图 4 可知,乙醇浓度对总黄酮得率的影响大于料液比和提取时间的影响;提取时间对总黄酮得率的影响大于料液比的影响。由此可得,乙醇浓度对总黄酮得率的影响最大,其次是提取时间,最后是料液比,与方差分析所得结论一致。

**2.2.3 最佳提取工艺的确定与验证** 通过 Design-Expert 8.0.6 软件进行计算,得到粉条儿菜总黄酮最佳提取工艺为:乙醇浓度 43.1%、料液比 1:134.62 g/mL、提取时间 32.54 min,理论上粉条儿菜总黄酮得率为 1.32%。结合实际情况,将提取条件定为:乙醇

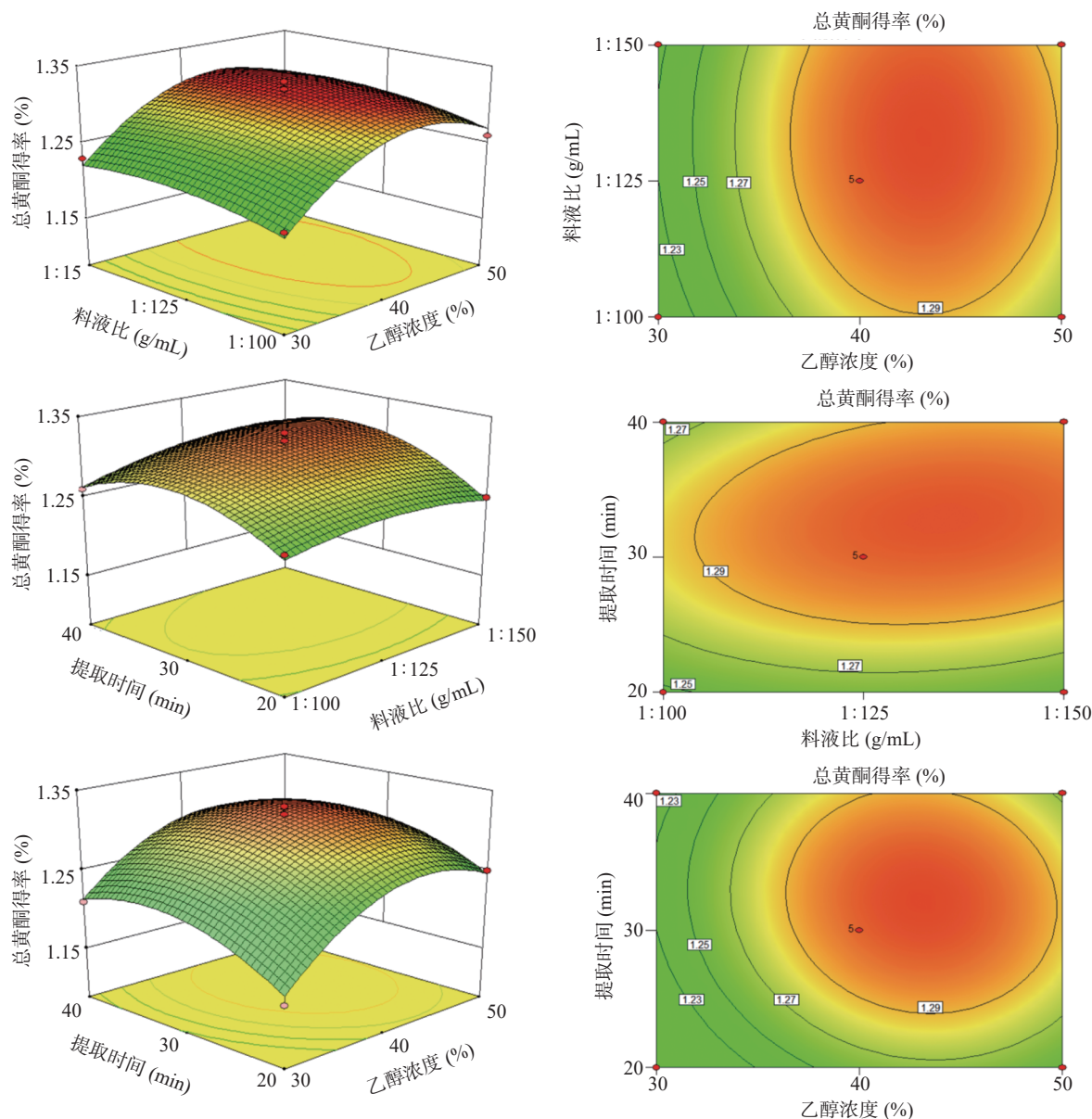


图 4 各因素交互作用对总黄酮得率的响应面和等高线图

Fig.4 Response surface and contour plot of interactive effects on the yield of total flavonoids

浓度 40%、料液比 1:125 (g/mL)、提取时间 30 min。取粉条儿菜粉末 0.2 g, 按此工艺条件进行提取, 平行实验 3 次。结果测得粉条儿菜总黄酮得率分别为 1.34%、1.35%、1.34%, 平均得率为 1.34% (RSD=0.27%), 与模型预测值接近, 说明用该数学模型对粉条儿菜总黄酮得率进行预测是可行的。

### 2.3 抗氧化活性测定

**2.3.1 DPPH 自由基清除能力** 如图 5 所示, 在 1.25~25.00  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 随着  $V_c$  和粉条儿菜总黄酮浓度的升高, 清除 DPPH 自由基能力均逐渐增强, 且总黄酮清除率与其浓度表现出明显的剂量效应关系, 但此浓度范围内总黄酮对 DPPH 自由基清除能力弱于同浓度  $V_c$ 。当浓度大于 25.00  $\mu\text{g/mL}$  时, 随着浓度继续增大, 清除率趋于平缓, 总黄酮的清除率与  $V_c$  接近, 在浓度为 50.00  $\mu\text{g/mL}$  时,  $V_c$  的清除率为 99.75%, 总黄酮的清除率为 97.37%。经计算得  $V_c$  的

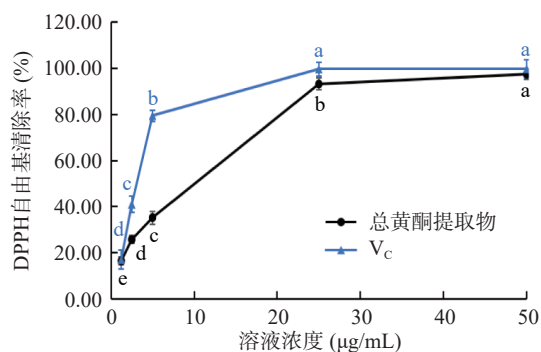


图 5 总黄酮提取物对 DPPH 自由基清除率

Fig.5 DPPH scavenging activities of total flavonoids extracts  
注: 不同小写字母表示清除率之间差异显著 ( $P<0.05$ ); 图 6~图 7 同。

$IC_{50}$  值为 2.76  $\mu\text{g/mL}$ , 总黄酮的  $IC_{50}$  值为 5.46  $\mu\text{g/mL}$ , 表现了较好的 DPPH 自由基清除能力。

**2.3.2 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力** 如图 6 所示。在 2.5~

50.00  $\mu\text{g/mL}$  范围内,  $V_C$  和粉条儿菜总黄酮清除  $\text{ABTS}^+$  自由基的能力均随着浓度的升高而逐渐增强, 与浓度呈正相关, 之后其清除  $\text{ABTS}^+$  自由基的能力趋于平缓。 $V_C$  在 50.00  $\mu\text{g/mL}$  时, 清除率达最大 (96.05%),  $\text{IC}_{50}$  值为 4.39  $\mu\text{g/mL}$ ; 而总黄酮在浓度为 75.00  $\mu\text{g/mL}$  时, 清除率达到最大, 为 77.07%, 其  $\text{IC}_{50}$  值为 21.69  $\mu\text{g/mL}$ 。由此可见, 粉条儿菜总黄酮具有一定的  $\text{ABTS}^+$  自由基清除能力, 但效果低于  $V_C$ 。

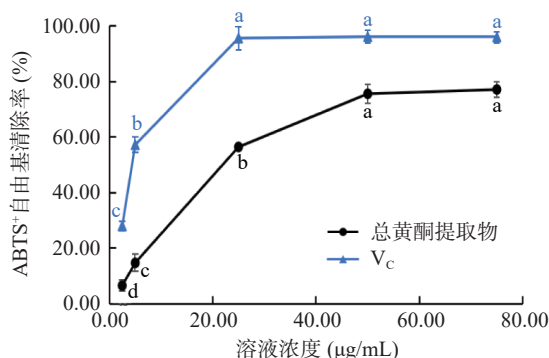


图 6 总黄酮提取物对  $\text{ABTS}^+$  自由基清除率

Fig.6  $\text{ABTS}^+$  scavenging activities of total flavonoids extracts

**2.3.3 羟基自由基清除能力** 如图 7 所示。 $V_C$  在 20.00~80.00  $\mu\text{g/mL}$  时, 清除羟基自由基的能力随浓度的增加呈上升趋势 (57.69%~99.63%), 浓度继续增加, 清除率趋于稳定, 并达到最大值, 其  $\text{IC}_{50}$  值为 18.56  $\mu\text{g/mL}$ 。粉条儿菜总黄酮清除羟基自由基的能力随浓度的增加而明显上升 (13.52~94.04%), 在浓度为 100.00  $\mu\text{g/mL}$  时, 清除率最大, 为 94.04%, 与  $V_C$  的最大清除率接近 (99.88%),  $\text{IC}_{50}$  值为 56.01  $\mu\text{g/mL}$ 。虽然粉条儿菜总黄酮清除率比  $V_C$  较弱, 但仍表现出一定的抗氧化能力。

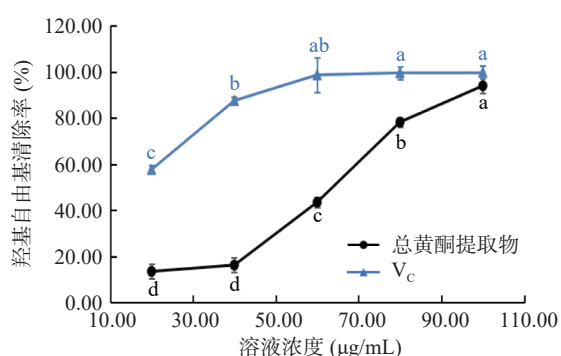


图 7 总黄酮提取物对羟基自由基清除率

Fig.7 Hydroxyl free radical scavenging activities of total flavonoids extracts

## 2.4 抗炎活性测定

**2.4.1 细胞活力检测** 采用 LPS 诱导巨噬细胞 RAW264.7 构建炎症反应细胞模型, 测定粉条儿菜总黄酮提取物在不同浓度下对 RAW264.7 细胞存活率的影响。结果如图 8 所示, 与对照组比较, 总黄酮提取物浓度在 12.5~100  $\mu\text{g/mL}$  范围内对细胞存活率的影响无显著差异, 细胞存活率可达 85% 以上, 说明此

浓度范围内的总黄酮提取物对细胞基本无毒性。当浓度达 150  $\mu\text{g/mL}$  时细胞存活率显著 ( $P<0.05$ ) 下降, 降到了 42%, 说明在此浓度下总黄酮提取物产生细胞毒性。因此选取 12.5~100  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内的总黄酮提取物进行后续实验。

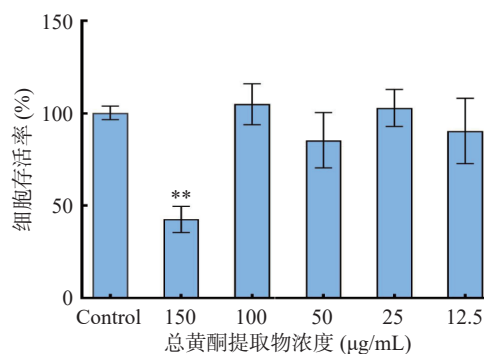


图 8 不同浓度总黄酮提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞存活力的影响

Fig.8 Effect of different mass concentrations of total flavonoids extracts on LPS-induced cell survival in RAW264.7 macrophages

注: 与对照组比较, \*\* $P<0.01$ 。

**2.4.2 NO 释放量检测** NO 参与多种生理功能调节, 与炎症密切相关, 在 LPS 诱导的巨噬细胞急性炎症模型过程中起重要作用<sup>[30]</sup>。粉条儿菜总黄酮提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞分泌 NO 的结果见图 9 所示, LPS 1.0  $\mu\text{g/mL}$  作用于细胞 24 h 后, 与对照组比较, 模型组细胞培养液中的 NO 含量显著提高 ( $P<0.01$ ), 为 44.19  $\mu\text{g/mL}$ , 是对照组的 29 倍, 说明细胞炎症模型是成功的; 与模型组比较, 各浓度总黄酮提取物的细胞培养液中 NO 含量显著降低 ( $P<0.05$ ), 并且随着浓度的增加, NO 释放量呈现减少的趋势,  $\text{IC}_{50}$  为 6.95  $\mu\text{g/mL}$ , 这说明粉条儿菜总黄酮具有较好的抗炎活性, 且表现出一定的浓度依赖性。

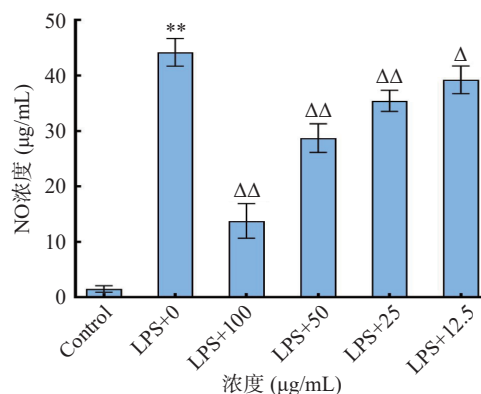


图 9 总黄酮提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞分泌 NO 的影响

Fig.9 Effect of total flavonoids extracts on LPS-induced NO production in RAW264.7 macrophages

注: 与对照组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta\Delta P<0.01$ ,  $\Delta P<0.05$ 。

### 3 结论

本文首次对粉条儿菜总黄酮的提取工艺及抗氧化抗炎活性进行研究。采用黄酮类化合物应用较多的超声辅助提取法,通过单因素和 Box-Behnken 响应面法对粉条儿菜总黄酮进行提取工艺考察,同时结合实际得到的最佳提取工艺为:乙醇浓度 40%、料液比 1:125 g/mL、超声提取时间 30 min,测得粉条儿菜总黄酮平均得率为 1.34%;与模型预测值(1.32%)接近,说明用该数学模型对粉条儿菜总黄酮得率进行预测是可行的,符合超声辅助提取法省时节能、保护热不稳定性成分、效率高的特点,可用于粉条儿菜总黄酮的提取。

常用的抗氧化活性评价方法为自由基清除能力测定,是在自由基溶液中加入抗氧化剂,根据所产生的光学差异来反映抗氧化活性<sup>[31]</sup>。实验中以 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基、羟基自由基清除能力为指标,对粉条儿菜总黄酮抗氧化活性进行了分析。结果表明,粉条儿菜总黄酮具有较强的还原力,对 DPPH、ABTS<sup>+</sup>及羟基自由基表现出较好的清除能力,并呈现剂量效应。可见粉条儿菜总黄酮有着作为植物黄酮资源的挖掘潜力和应用价值,可作为一种天然的抗氧化剂开展深入研究。

据文献 [32–33] 报道,粉条儿菜中的黄酮化合物美商陆酚 A 和芹菜素均具有一定的抗炎活性。因此本实验中使用 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞对粉条儿菜总黄酮进行抗炎活性研究,其结果表明一定浓度(12.5、25、50、100 μg/mL)总黄酮提取物能使细胞培养液中 NO 含量显著( $P < 0.05$ )降低,且随着提取物浓度的增加,NO 释放量减少,这说明粉条儿菜总黄酮提取物具有较好的抗炎活性。

此外,本研究仅对粉条儿菜总黄酮的提取工艺、体外抗氧化抗炎活性进行了考察,由于目前总黄酮中已知成分较少,因此后续还需要对总黄酮中的未知成分进行深入挖掘,并结合体内实验研究粉条儿菜总黄酮抗氧化抗炎的物质基础和作用机制,为进一步开发和应用粉条儿菜总黄酮提供理论依据,并为粉条儿菜资源的充分利用及提高应用价值奠定基础。

### 参考文献

- [1] 谢宗万,范崔生,朱兆仪. 全国中草药汇编[M]. (第二版) (上册). 北京:人民卫生出版社,1996: 677-678. [XIE Z W, FAN C S, ZHU Z Y. National Compilation of Chinese Herbal Medicine[M]. (second edition) (Volume 1). Beijing: People's Health Publishing Society, 1996: 677-678.]
- [2] 既是药品又是食品的药材 粉条儿菜[N]. 华兴时报, 2012-02-02(第 11 版; 健康周刊). [It is both medicine and food medicine. [A] *letris spicata* (Thunb.) Franch. [N]. Huaxing Times, 2012-02-02 (Edition 11: Health Weekly).]
- [3] 邱德文,杜江. 中华本草苗药卷[M]. 贵阳:贵州科技出版社, 2005: 423-424. [QIU D W, DU J. Chinese Materia Medica of Miao. [Medicinal Volume[M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 2005: 423-424.].]
- [4] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准

- [M]. 贵阳:贵州科技出版社, 2003: 256. [Guizhou Provincial Drug Administration. Quality standard of Chinese medicinal materials and ethnic medicinal materials in Guizhou Province[M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing Society, 2003: 256.]
- [5] AKAHORI A, YASUDA F, OKANISHI T. Steroidal saponins of *Aletris spicata*(THUNB.) Franch[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1971, 19(11): 2409–2411.
- [6] 艾怀森. 采集见闻[N]. 大自然, 2002(第三期). [AI H S. Collect information [N]. In Nature, 2002 (Phase 3).]
- [7] 何维维,吕享,谢军丽,等. 黔产民族药肺筋草的化学成分预试验研究[J]. *广东化工*, 2021, 48(13): 63–64,54. [HE W W, LÜ X, XIE J L, et al. Preliminary study on chemical components of the *Aletris spicata*(Thunb.) Franch.[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2021, 48(13): 63–64,54.]
- [8] QIAN H, RONG L, YAO Y, et al. C-glycosylflavone from *Aletris spicata*[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 45: 191–193.
- [9] 黄兰,潘杰,曹佩雪,等. 肺筋草化学成分研究[J]. *中草药*, 2013, 44(7): 812–815. [HUANG L, PAN J, CAO P X, et al. Study on chemical compositions of *Aletris spicata*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(7): 812–815.]
- [10] 李林珍,王孟华,孙建博,等. 粉条儿菜化学成分的研究[J]. *中国药科大学学报*, 2014, 45(2): 175–177. [LI L Z, WANG M H, SUN J B, et al. Chemical constituents from *Aletris spicata*[J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2014, 45(2): 175–177.]
- [11] LI L Z, WANG M H, SUN J B, et al. Flavonoids and other constituents from *Aletris spicata* and their chemotaxonomic significance[J]. *Natural Product Research*, 2014, 28(15): 1214–1217.
- [12] OJO B A, AFOLABI L B, NWONUMA O C, et al. Puerarin: A review on the pharmacological activity, chemical properties and pharmacokinetics of main isoflavonoid[J]. *The Natural Products Journal*, 2022, 12(1): 1–10.
- [13] 祁建宏,董芳旭. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. *北京联合大学学报*, 2020, 34(3): 89–92. [[QI J H, DONG F X. Research progress of the pharmacological action of flavonoids[J]. *Journal of Beijing Union University*, 2020, 34(3): 89–92.]
- [14] BONIFACE P K, EUTROPHE L D K. Pharmacological activity and mechanism of action of flavonoids from diverse milletia plant organs[J]. *The Natural Products Journal*, 2022, 12(7): 24–52.
- [15] 吴海莹,倪春林,王磊. 植物中黄酮类化合物的提取方法及其应用[J]. *广州化工*, 2022, 50(18): 23–25. [WU H Y, NI C L, WANG L. Research progress on extraction methods of flavonoids from plant[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2022, 50(18): 23–25.]
- [16] CHAVEZ-GONZALEZ L M, SEPULVEDA L, VERMA K D, et al. Conventional and emerging extraction processes of flavonoids[J]. *Processes*, 2020, 8(4): 434–463.
- [17] 郭孝武. 一种提取中草药化学成分的方法-超声提取法[J]. *天然产物研究与开发*, 1999(3): 37–40. [GUO X W. A method to extract chemical components from Chinese herbs-ultrasonic method[J]. *Natural Product Research and Development*, 1999(3): 37–40.]
- [18] 王念,李浚哲,李鹏飞,等. 浸提和超声辅助提取法对桑叶提取物抗氧化活性的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(6): 77–82. [WANG N, LI J Z, LI P F, et al. Effects of solvent extraction and ultrasound-assisted extraction on antioxidant activity of mulberry leaf extracts[J]. *China Food Additives*, 2021, 32(6): 77–82.]
- [19] 张晚南,朱鸿维,赵善舫,等. 响应面优化超声辅助法提取拐

- 枣种子中二氢杨梅素的工艺[J]. 植物研究, 2020, 40(5): 775-781. [ZHANG X N, ZHU H W, ZHAO S B, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of dihydromyricetin from seeds of *Hovenia dulcis* Thunb. using response surface methodology[J]. Bulletin of Botanical Research, 2020, 40(5): 775-781.]
- [20] 鞠玉旋, 谢倩, 陈清西. 石仙桃总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 园艺与种苗, 2021, 41(11): 15-20, 27. [JÜ Y X, XIE Q, CHEN Q X. Optimization of extraction process and analysis of antioxidant activity of total flavonoids from *pholidota chinensis* lindl[J]. Horticulture & Seed, 2021, 41(11): 15-20, 27.]
- [21] CAO Q Q, FU Y Q, ZHANG C B, et al. Effect of brewing water on the antioxidant capacity of green tea infusion with DPPH assay[J]. Journal of Chemistry, 2022, 2022: 1-8.
- [22] YISEOP K, YOUNGBAE K, KIHAN K. A study on DPPH and ABTS antioxidant activity and sensory evaluation of seolgitteok with walnut and health CRISIS(*Juglans Regia*)[J]. International Journal of Crisis & Safety, 2021, 6(4): 25-37.
- [23] 唐文文, 陈垣. 党参地上茎叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(17): 171-177. [TANG W W, CHEN H. Extraction process of total flavonoids and their antioxidant activity[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2021, 49(17): 171-177.]
- [24] 陈佳敏, 汪涛, 郭巧生, 等. 基于熵权 TOPSIS 法对不同产地野菊花醇提物抗氧化性抗炎活性的比较[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4): 907-914. [CHEN J M, WANG T, GUO Q S, et al. Comprehensive antioxidant and anti-inflammatory activity of alcohol extracts from *Chrysanthemum indicum* in different areas based on entropy weight and TOPSIS methodology[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 46(4): 907-914.]
- [25] 吴莉娟, 彭效明, 居瑞军, 等. 响应面法优化微波超声辅助提取重楼及其抗炎活性研究[J]. 中药材, 2022(7): 1700-1704. [WU L J, PENG X M, JÜ R J, et al. Optimization of microwave ultrasound-assisted extraction of heavy floor and its anti-inflammatory activity[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2022(7): 1700-1704.]
- [26] MERLIN T, BASHI M B, DEVI S J R, et al. Evaluation of the anti-Inflammatory activity of kokilaksham kashayam on lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 2022, 92(4): 807-815.
- [27] 夏雨弘, 刘颖, 周茗, 等. 小二仙草总黄酮提取工艺的优化及其抗氧化活性分析[J/OL]. 食品工业科技: 1-14[2023-04-03]. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2022100235. [XIA Y H, LIU Y, ZHOU M, et al. Extraction process optimization and antioxidant activity of total flavonoids from *Haloragis micrantha* (Thunb.) R. Brown[J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-14[2023-04-03]. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2022100235.]
- [28] 孔方, 李莉, 刘言娟. 超声辅助低共熔溶剂提取苹果叶中的总黄酮[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 134-139, 147. [KONG F, LI L, LIU Y J. Ultrasonic-assisted deep eutectic solvents extraction of total flavonoids from apple leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 134-139, 147.]
- [29] 王丽煊, 郭文娟, 钱晓明. 基于响应面法的艾草总黄酮提取工艺优化[J]. 天津工业大学学报, 2022, 41(2): 42-48. [WANG L H, GUO W J, QIAN X M. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Artemisia argyi* based on response surface methodology[J]. Journal of Tianjin Polytechnic University, 2022, 41(2): 42-48.]
- [30] HWANG D, KANG M J, JO M J, et al. Anti-inflammatory activity of  $\beta$ -thymosin peptide derived from pacific oyster (*crassostrea gigas*) on NO and PGE2 production by down-regulating NF- $\kappa$ B in LPS-Induced RAW264.7 macrophage cells[J]. Marine Drugs, 2019, 17(2): 129.
- [31] 曾文俊, 吕彩梦, 丁建宝, 等. 体外抗氧化活性评价方法的反应机理研究进展[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(12): 13-19. [ZENG W J, LÜ C M, DING J B, et al. Research progress in reaction mechanism of evaluation method for antioxidant activity *in vitro*[J]. Chemistry Bioengineering, 2022, 39(12): 13-19.]
- [32] BI C C, HAN W W, YU J R, et al. Insights into the pharmacological and therapeutic effects of apigenin in liver injuries and diseases[J]. Heliyon, 2023, 9(5): e15609.
- [33] 廖慧君, 张叶金, 王钰, 等. 基于网络药理学探讨巴戟天治疗类风湿性关节炎的物质基础及作用机制[J]. 按摩与康复医学, 2021, 12(15): 47-52. [LIAO H J, ZHANG Y J, WANG Y, et al. Study on material basis and mechanism of *morinda officinalis* in treating rheumatoid arthritis based on network pharmacology[J]. Chinese Manipulation and Rehabilitation Medicine, 2021, 12(15): 47-52.]