

狭叶荨麻醇提物的体外抗氧化及抗炎活性

贺子倩, 彭青, 蔡道琳, 王萍

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 为了开发利用狭叶荨麻资源, 本研究以狭叶荨麻为原料, 对其醇提物的体外抗氧化及抗炎活性进行了研究。在单因素试验的基础上, 采用响应面法对提取条件进行了优化, 得到最佳提取条件为提取时间 114 min、料液比 1:15、乙醇浓度为 64%, 所得醇提物得率(10.00±0.26)%, 该狭叶荨麻醇提物中活性物质含量总酚(160.77±0.01)mg/g、总黄酮(366.85±0.05)mg/g、原花青素(7.81±0.01)mg/g、皂苷(516.76±0.04)mg/g、生物碱(2.01±0.02)mg/g。在优化条件下进行了提取, 分别采用抗坏血酸(Vc)、双氯芬酸钠作抗氧化、抗炎阳性对照, 对所得狭叶荨麻醇提物进行总还原力、清除 DPPH·、清除·OH 及抑制透明质酸酶、抑制白蛋白变性活性评价。该狭叶荨麻醇提物总还原力高于 Vc, 且量效关系比 Vc 更明显($p<0.001$), EC_{50} 为 0.04 mg/mL; 清除 DPPH·、清除·OH 活性比 Vc 好, IC_{50} 分别是 0.02 mg/mL、1.87 mg/mL; 抑制透明质酸酶、抑制白蛋白变性活性与双氯芬酸钠相近, IC_{50} 分别是 2.43 mg/mL、0.31 mg/mL。

关键词: 狭叶荨麻; 提取物; 抗氧化; 抗炎; 响应面优化法

文章编号: 1673-9078(2018)08-36-43

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.8.006

Evaluation on the Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Ethanol Extracts from *Urtica Angustifolia* in Vitro

HE Zi-qian, PENG Qing, CAI Dao-lin, WANG Ping

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: *Urtica Angustifolia* was used as raw material to evaluate its antioxidant and anti-inflammatory activities in this research in order to develop *Urtica Angustifolia* resources. Based on the single factor tests, the optimum extraction conditions were determined by response surface methodology. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: extraction time 114 min, solid-liquid 1:15, ethanol concentration 64%. Under the optimal conditions, the ethanol extracts yield was (10.00±0.26)%, and in which the content of active substances total phenols, total flavonoids, procyanidins, saponins, alkaloids were (160.77±0.01) mg/g, (366.85±0.05) mg/g, (7.81±0.01) mg/g, (516.76±0.04) mg/g, (2.01±0.02) mg/g respectively. Meanwhile, Vitamin C and diclofenac sodium were used as antioxidant and anti-inflammatory positive control respectively to evaluate the total reducing power, capacities of scavenging DPPH·, scavenging ·OH and activities of inhibiting hyaluronidase and albumin denaturation. The reducing power of the *Urtica Angustifolia* ethanol extract was higher than Vc ($p<0.001$) and its EC_{50} was 0.04 mg/mL. The DPPH· and ·OH scavenging capacities were higher than Vc, and the IC_{50} on DPPH· and ·OH scavenging were 0.02 mg/mL, 1.87 mg/mL respectively. The inhibition of the *Urtica Angustifolia* ethanol extracts on hyaluronidase and inhibited albumin denaturation activity were similar to diclofenac sodium, and their IC_{50} values were 2.43 mg/mL and 0.31 mg/mL respectively.

Key words: *Urtica angustifolia*; extracts; antioxidant; anti-inflammatory; response surface methodology

狭叶荨麻(*Urtica Angustifolia*)是一种药食两用的传统山野菜, 黑龙江省分布较广。国外对荨麻属植物的研究相对较早, 尤其是对狭叶荨麻的同属植物, 如欧荨麻、麻叶荨麻、异株荨麻的开发, 并对异株荨

收稿日期: 2018-03-16

基金项目: 国家级大学生创新项目(201710225159)

作者简介: 贺子倩(1997-), 女, 本科生, 研究方向: 植物活性物质分离及功能性研究

通讯作者: 王萍(1964-), 女, 博士, 教授, 主要从事植物活性物质分离及功能性研究

麻不同部位的化学成分进行了详细研究, 发现其活性成分主要有甾醇、黄酮类、有机酸类、酚类、苯丙素类、植物蛋白质、多糖及其他类化合物^[1~3]。国内关于狭叶荨麻的研究较少, 据报道, 狭叶荨麻根中含有黄酮、甾醇、苷类、酚类化合物及糖类、蛋白质等成分; 茎中含有多糖类、甾体及萜类、有机酸等成分; 叶中含有色素、黄酮、甾醇、苷类、糖类、蛋白质和油脂等成分^[4]。

王静等采用了亚临界萃取技术对新疆野生狭叶荨麻中的黄酮类化合物进行提取^[5]。杜宏涛等通过响应

面法优化了超声波提取狭叶荨麻中黄酮和木脂素的工艺^[6]。张海悦、李茜采用了超声波辅助提取狭叶荨麻生物碱^[7]。张海悦和郭新力以狭叶荨麻叶为原料,采用乙醇提取得到了一种甾体皂苷^[8]。国内外对狭叶荨麻的作用研究较少,多利用小鼠建立模型、采用体内试验研究其提取物的活性。崔殿波和李薇等研究发现了狭叶荨麻乙酸乙酯提取物能显著抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀、蛋清所致大鼠足肿胀,并对醋酸所致小鼠扭体反应以及对热板小鼠表现出显著的镇痛作用^[9]。秦元满和魏恩科研究发现了狭叶荨麻甲醇提取液能明显延长小鼠的凝血时间和出血时间^[10]。

本研究利用乙醇溶液提取狭叶荨麻中活性物质,在单因素试验的基础上利用响应面法得到最佳提取条件,对其提取物进行活性物质含量的测定,同时进行体外抗氧化及抗炎活性评价,为推动国内狭叶荨麻的资源利用,为开发新型功能食品提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

狭叶荨麻采自小兴安岭地区,经晒干粉碎,过40目筛后于室温下密封保藏。

药品试剂:没食子酸标准品、芦丁标准品、儿茶素标准品、薯蓣皂苷元标准品、澳洲茄胺标准品,均购自上海源叶生物科技有限公司;其他药品试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

PHS-3C型精密pH计,上海精密仪器有限公司;TU-1810型PC722s分光光度计,上海精密仪器有限公司;DK-S12电热恒温水浴锅,上海森信试验仪器有限公司。

1.3 试验设计

1.3.1 单因素试验设计

取狭叶荨麻粉末5.00 g,使用不同浓度的乙醇溶液浸提,旋蒸、定容至相同体积。考察的单因素及水平设计为提取时间:60、90、120、150、180 min;提取温度:室温、35、45、55、65℃;提取料液比:1:10、1:15、1:20、1:25、1:30;乙醇浓度:40%、60%、70%、80%、100%。

1.3.2 响应面法优化试验

在单因素试验基础上,选取料液比、乙醇浓度、浸提时间作为3因素,并以总还原能力和透明质酸酶抑制率作为响应值,采用Box-Behnken中心组合试验

来确定最优提取条件。

1.4 活性物质含量测定方法

总酚含量的测定:福林酚-肖卡法^[11],以没食子酸为标品;总黄酮含量的测定:亚硝酸钠-亚硝酸铝法^[12],以芦丁为标品;原花青素含量的测定:香草醛-浓硫酸法^[13],以儿茶素为标品;皂苷含量的测定:香草醛-冰醋酸法^[14],以薯蓣皂苷元为标品;生物碱含量的测定:酸性染料法^[15],以澳洲茄胺为标品。

计算公式为 $X = (C \times N \times V) / M$

注: C 为活性物质浓度, mg/mL; N 为稀释倍数; V 为狭叶荨麻提取液体积, mL; M 为狭叶荨麻提取物质量, g。

1.5 狭叶荨麻醇提物抗氧化及抗炎活性评价

方法

1.5.1 体外抗氧化活性评价方法

清除DPPH·能力:参考文献^[16]的方法,略有改动;清除·OH能力:硫代巴比妥酸法^[17],用2-脱氧-D-核糖作底物;总还原能力:FRAP法^[18]。

1.5.2 体外抗炎活性评价方法

抑制透明质酸酶能力:参考文献^[19]方法,略改动;抑制白蛋白变性能力:参考文献^[20,21]方法,略改动。

1.6 数据处理

所有试验数据 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 21.0进行数据处理,Design-Expert 8.0.6进行试验设计及分析,Origin 8.5进行作图,以 $p < 0.05$ 为统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 提取时间的影响

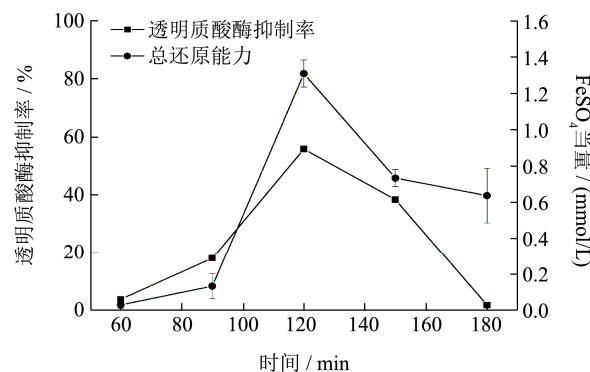


图1 提取时间对抗氧化及抗炎活性的影响

Fig.1 The effect of extraction time on antioxidation and anti-inflammatory

其他因素不变情况下,提取时间对狭叶荨麻醇提物抗氧化以及抗炎活性影响如图 1 所示,从图 1 可以看出,狭叶荨麻醇提物总还原能力在 120 min 出现最大值,透明质酸酶抑制率在 120 min 出现最大值。随着时间的延长,活性物质的溶出量增多。因此提取时间 120 min 为较优水平。

2.1.2 提取温度的影响

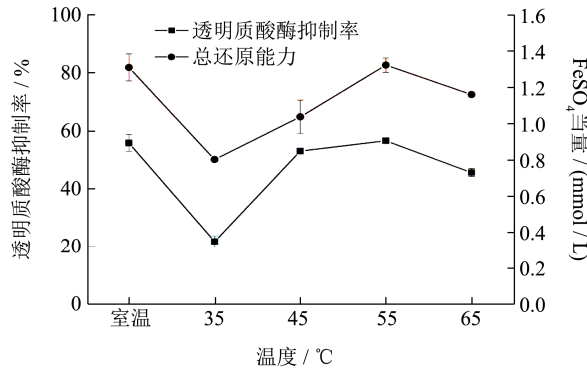


图 2 提取温度对抗氧化及抗炎活性的影响

Fig.2 The effect of extraction temperature on antioxidant and anti-inflammatory

其他因素不变情况下,提取温度对狭叶荨麻醇提物抗氧化以及抗炎活性影响如图 2 所示。从图 2 可以看出,狭叶荨麻醇提物总还原能力在室温出现最大值,透明质酸酶抑制率在室温出现最大值。

随着温度的缓慢上升,狭叶荨麻醇提物抗氧化能力及抗炎活性逐渐增强,说明温度对狭叶荨麻活性物质的提取有一定促进作用,而温度过高则影响提取物活性,抗氧化及抗炎活性会减弱。综合考虑能源的消耗,因此提取温度选为室温进行下一步 Box-Behnken 中心组合试验。

2.1.3 提取料液比的影响

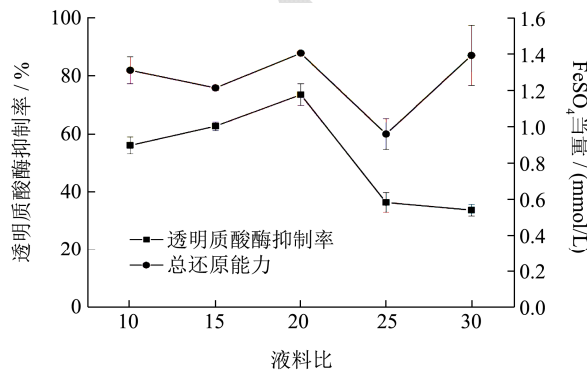


图 3 提取料液比对抗氧化及抗炎活性的影响

Fig.3 The effect of extraction solid-liquid on antioxidant and anti-inflammatory

其他因素不变情况下,提取料液比对狭叶荨麻醇提物抗氧化以及抗炎活性影响如图 3 所示。从图 3 可

以看出,狭叶荨麻醇提物总还原能力在料液比为 1:20 出现最大值,透明质酸酶抑制率在料液比为 1:20 出现最大值。狭叶荨麻醇提物抗氧化及抗炎活性在料液比为 1:20 左右达到较高值。说明了料液比过小导致活性物质得不到充分提取,而料液比过大也影响提取率。因此料液比 1:20 为较优水平。

2.1.4 乙醇浓度的影响

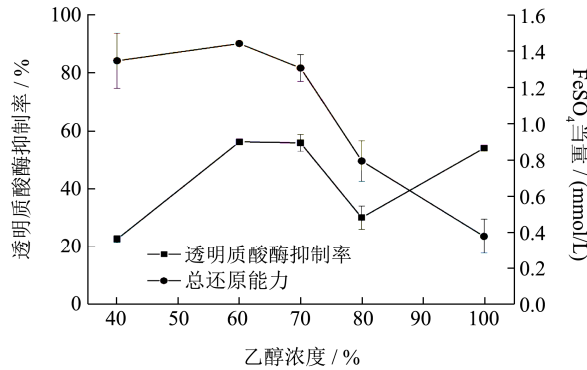


图 4 乙醇浓度对抗氧化及抗炎活性的影响

Fig.4 The effect of ethanol concentration on antioxidant and anti-inflammatory

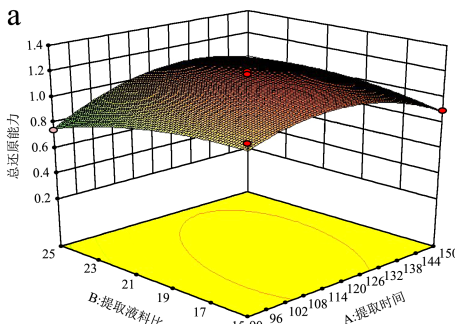
其他因素不变情况下,乙醇浓度对狭叶荨麻醇提物抗氧化以及抗炎活性影响如图 4 所示。从图 4 可以看出,狭叶荨麻醇提物总还原能力在乙醇浓度为 60% 出现最大值,透明质酸酶抑制率在乙醇浓度为 60% 出现最大值,同时综合在单因素试验时的其他指标(另文),选取乙醇浓度 70% 为较优水平。

根据单因素试验结果,Box-Behnken 中心组合试验水平设置及编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 中心组合试验设计因素水平

因素	水平		
	-1	0	+1
提取时间 (min, A)	90	120	150
料液比 (B)	1:15	1:20	1:25
乙醇浓度 (% , C)	55	70	85

2.2 Box-Behnken 中心组合试验结果



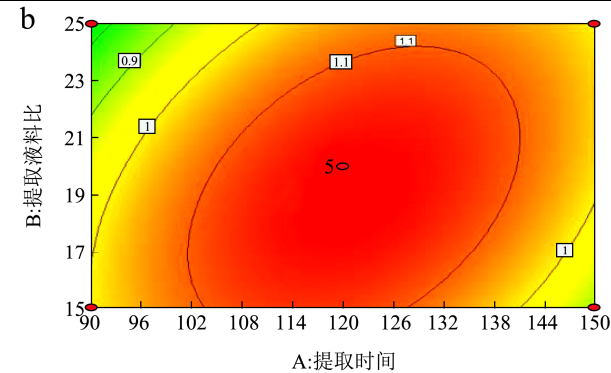


图 5 提取时间与液料比的交互作用响应面

Fig.5 The response surface methodology of extraction time and solid-liquid interactions

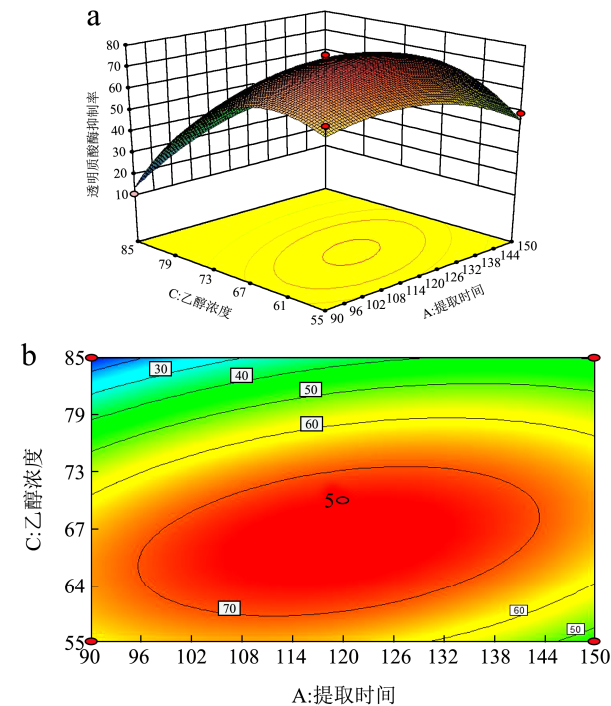


图 6 提取时间与乙醇浓度的交互作用响应面

Fig.6 The response surface methodology of extraction time and ethanol concentration interactions

在单因素试验的基础上，通过 Box-Behnken 中心组合试验进一步优化提取条件。Box-Behnken 中心组合试验设计结果见表 2，试验方差分析见表 3。

将表 3 的试验数据进行拟合，分别得到总还原能力 (mmol/L FeSO₄) 和透明质酸酶抑制率 (%) 的模拟方程：

$$Y_1=1.16+0.033A-0.033B-0.31C+0.086AB+7.399E-003AC-0.022BC-0.18A^2-0.070B^2-0.33C^2$$

$$Y_2=73.92+2.64A-3.22B-13.46C+4.54AB+10.31AC+3.08BC-10.34A^2+1.03B^2-23.45C^2$$

表 2 Box-Behnken 中心组合试验设计结果

Table 2 Results of the Box-Behnken Design

	A	B	C	Y ₁ 总还原能力	Y ₂ 透明质酸酶抑制率
1	0	0	0	1.18	75.98
2	0	1	1	0.42	43.32
3	1	0	-1	1.01	48.94
4	0	-1	1	0.47	40.11
5	1	0	1	0.41	35.29
6	-1	0	1	0.29	10.69
7	-1	0	-1	0.92	65.57
8	1	1	0	0.95	67.49
9	0	0	0	1.11	75.09
10	1	-1	0	0.90	68.31
11	0	0	0	1.13	66.67
12	0	-1	-1	1.06	65.85
13	-1	1	0	0.75	51.82
14	0	0	0	1.18	75.66
15	0	1	-1	1.10	56.72
16	-1	-1	0	1.05	70.81
17	0	0	0	1.20	76.18

由表 3 的方差分析结果可知，将总还原能力作为响应值，该模型 $p<0.0001$ ，说明该模型极显著；失拟误差 $p>0.05$ ，说明没有产生失拟现象。 R^2 为 0.9890，说明拟合度良好，方程的显著性及可靠性极高。方程一次项系数 C、二次项系数 A^2 、 C^2 和 AB 交互作用具有极显著性，方程二次项系数 B^2 具有显著性。各因素对总还原能力的影响的顺序为：乙醇浓度>提取时间>提取液料比。

提取时间与液料比交互作用对总还原能力具有极显著的影响。图 5 为提取时间与液料比的交互作用对总还原能力的影响。

将透明质酸酶抑制率作为响应值，该模型 p 为 0.0004，说明该模型极显著；失拟误差 $p>0.05$ ，说明没有产生失拟现象。 R^2 为 0.9613，说明拟合度良好，方程的显著性及可靠性极高。方程一次项系数 C、二次项系数 A^2 、 C^2 和 AC 交互作用具有极显著性。各因素对透明质酸酶抑制率的影响的顺序为：乙醇浓度>提取液料比>提取时间。提取时间与乙醇浓度交互作用对透明质酸酶抑制率具有极显著的影响。图 6 为提取时间与乙醇浓度的交互作用对透明质酸酶抑制率的影响。

表 3 Box-Behnken 中心组合试验方差分析

Table 3 Box-Behnken and analysis of variance

响应值	来源	自由度	平方和	均方	F 值	p 值	显著性
Y ₁	模型	9	1.48	0.16	69.79	< 0.0001	**
	A	1	8.683E-03	8.683E-03	3.70	0.0959	
	B	1	8.576E-03	8.576E-03	3.65	0.0976	
	C	1	0.78	0.78	330.68	< 0.0001	**
	AB	1	0.03	0.03	12.68	0.0092	**
	AC	1	2.19E-04	2.19E-04	0.09	0.7690	
	BC	1	1.88E-03	1.88E-03	0.80	0.4006	
	A ²	1	0.13	0.13	56.52	0.0001	**
	B ²	1	0.021	0.021	8.89	0.0205	*
	C ²	1	0.45	0.45	190.88	< 0.0001	**
	残差	7	0.016	2.348E-03			
	失拟误差	3	0.01	3.415E-03	2.20	0.2300	
	纯误差	4	6.195E-03	1.549E-03			
	合计	16	1.49				
Y ₂	模型	9	5017.71	557.52	19.34	0.0004	**
	A	1	55.86	55.86	1.94	0.2065	
	B	1	82.75	82.75	2.87	0.1340	
	C	1	1449.10	1449.10	50.27	0.0002	**
	AB	1	82.54	82.54	2.86	0.1345	
	AC	1	424.98	424.98	14.74	0.0064	**
	BC	1	38.07	38.07	1.32	0.2882	
	A ²	1	450.43	450.43	15.63	0.0055	**
	B ²	1	4.51	4.51	0.16	0.7043	
	C ²	1	2315.48	2315.48	80.33	< 0.0001	**
	残差	7	201.78	28.83			
	失拟误差	3	135.47	45.16	2.72	0.1787	
	纯误差	4	66.31	16.58			
	合计	16	5219.48	557.52			

注: $p<0.05$ 为显著, 用“*”表示; $p<0.01$ 为极显著, 用“**”表示。

通过 Box-Behnken 中心组合试验得到的最佳提取工艺条件为: 提取时间为 114 min、提取料液比为 1:15、乙醇浓度为 64%。在此条件下对狭叶荨麻进行提取得到的醇提物, 得率为 (10.00±0.26)%, 总还原能力为 (1.20±0.007) mmol/L FeSO₄, 透明质酸酶抑制率为 (81.42±0.62)%, 与模型预测误差值分别为 0.84% 和 0.30%, 说明预测较可靠。因此, BoX-Behnken 中心组合试验对狭叶荨麻提取条件的参数优化是可行的, 得到的工艺条件具有实际应用价值。

2.3 狭叶荨麻醇提物中活性物质的含量

在响应面优化后的提取条件下提取, 测定其醇提物中的活性物质含量。总酚 (160.77±0.01) mg/g、总

黄酮 (366.85±0.05) mg/g、原花青素 (7.81±0.01) mg/g、皂苷 (516.76±0.04) mg/g、生物碱 (2.01±0.02) mg/g。

2.4 狭叶荨麻醇提物的体外抗氧化活性评价结果

在响应面优化后的提取条件下提取, 采用抗坏血酸 (Vc) 作抗氧化阳性对照, 对所得狭叶荨麻醇提物进行清除 DPPH·、清除·OH、总还原力活性评价。

2.4.1 清除 DPPH·能力

狭叶荨麻醇提物对 DPPH·的清除作用如图 7 所示。从图 7 可以看出, 狭叶荨麻醇提物对 DPPH·具有显著的清除作用 ($p<0.001$), 量效关系明显

($y = -33265x^2 + 3226.9x + 3.0615$, $R^2 = 0.9936$), 在 0.05 mg/mL 时达到 $(81.02 \pm 0.03)\%$ 。以 Vc 做阳性对照, 在 0.05 mg/mL 时达到 $(71.63 \pm 0.33)\%$ 。狭叶荨麻醇提物和 Vc 的 IC_{50} 分别为 0.02 mg/mL 和 0.03 mg/mL。Vc 具有递电子和递质子能力, 对 DPPH· 的清除作用是通过抗氧化剂把电子和质子传递给 DPPH·, 从而生成稳定的分子态的 DPPH₂^[22]。抗氧化剂对 DPPH· 的清除是通过抗氧化剂递氢及递电子进行的, 由于狭叶荨麻醇提取物中酚酸、黄酮、原花青素^[23]等抗氧化剂的协同作用, 使得对 DPPH· 的清除能力超过了阳性对照 Vc ($p < 0.001$)。

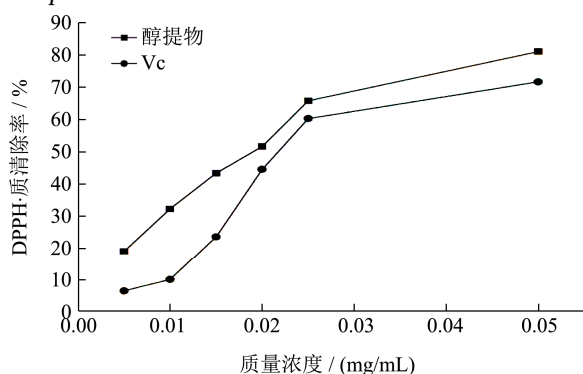


图7 狭叶荨麻醇提取物对 DPPH· 清除作用

Fig.7 The ethanol extractions of *Urtica Angustifolia* on DPPH· scavenging capacities

2.4.2 清除·OH 能力

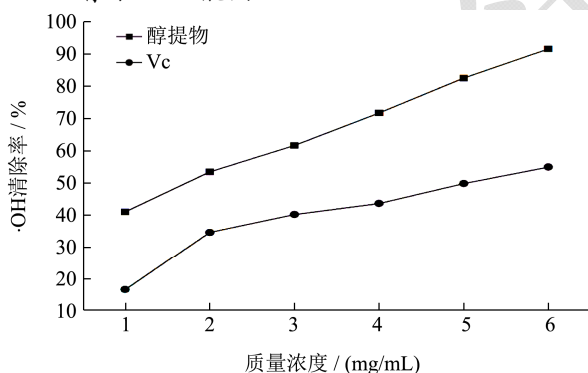


图8 狭叶荨麻醇提取物对 ·OH 清除作用

Fig.8 The ethanol extractions of *Urtica Angustifolia* on ·OH scavenging capacities

狭叶荨麻醇提取物对·OH 的清除作用如图8所示。从图8可以看出, 狭叶荨麻醇提取物对·OH 具有显著的清除作用 ($p < 0.001$), ·OH 清除与狭叶荨麻醇提取物质量浓度之间呈现显著的正相关性, 量效关系呈良好的线性关系 ($y = 9.9858x + 31.764$, $R^2 = 0.9979$)。以 Vc 做阳性对照, 在 6.0 mg/mL 时分别达到 $(91.27 \pm 0.43)\%$ 和 $(54.69 \pm 0.34)\%$ 。狭叶荨麻醇提取物和 Vc 的 IC_{50} 分别为 1.87 mg/mL 和 4.98 mg/mL。虽然 Vc 的还原性很强, 还能阻断 Fenton 反应, 但是狭叶荨麻中总黄酮、

总酚、原花青素类的物质含量高, 对·OH 的敏感程度高出 Vc, 清除·OH 能力远高于 Vc ($p < 0.001$)。

2.4.3 总还原能力

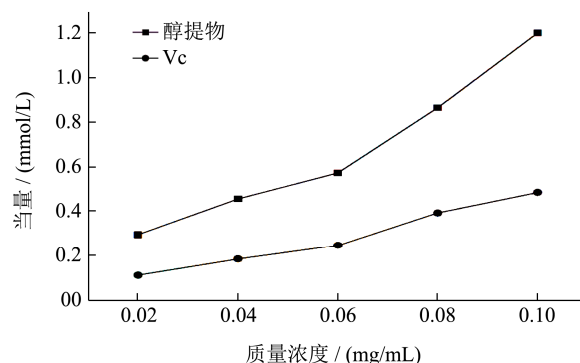


图9 狭叶荨麻醇提取物的总还原能力

Fig.9 The reducing power of ethanol extractions from *Urtica Angustifolia*

经测定, 回归方程为 $y = 0.5765x + 0.2207$, R^2 为 0.9992, 在 0.0~1.5 mmol/mL 线性关系良好。狭叶荨麻醇提取物的总还原能力如图9所示。从图9中可以看出, 狭叶荨麻醇提取物的总还原能力较强, 且随着浓度的不断提高影响也越显著 ($p < 0.001$), 在 0.1 mg/mL 时达到 (1.20 ± 0.01) mmol/L FeSO₄。醇提取物和 Vc 的 EC_{50} 分别是 0.04 mg/mL、0.10 mg/mL (以吸光值 $A = 0.5$, 即 0.48 mmol/L FeSO₄ 计算 EC_{50})。狭叶荨麻醇提取物中除多酚类外, 尚有皂苷、生物碱等抗氧化活性物质, 使得总还原力强于 Vc。因此, 狭叶荨麻醇提取物的总还原能力高于阳性对照 Vc。

2.5 狭叶荨麻醇提取物的体外抗炎活性评价

在响应面优化后的提取条件下提取, 采用双氯芬酸钠作为抗炎阳性对照, 对所得狭叶荨麻醇提取物进行抑制透明质酸酶、抑制白蛋白变性活性评价。

2.5.1 透明质酸酶活性的抑制

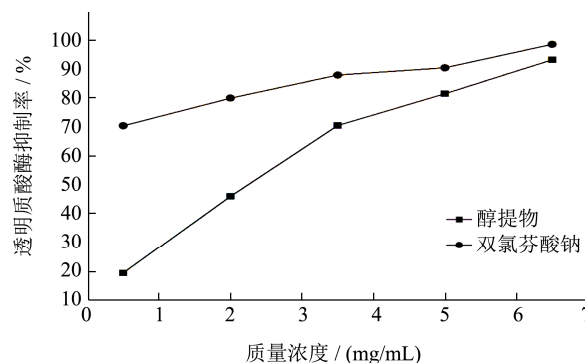


图10 狭叶荨麻醇提取物对透明质酸酶的抑制作用

Fig.10 The ethanol extractions of *Urtica Angustifolia* on inhibiting hyaluronidase activities

狭叶荨麻醇提取物对透明质酸酶的抑制作用如图

10 所示。从图 10 可以看出, 狭叶荨麻醇提取物在高浓度 6.5 mg/mL 时对透明质酸酶有较高的抑制率, 为 (93.14±0.08) %, 与阳性对照双氯芬酸钠 (98.44±0.23) %相近。狭叶荨麻醇提取物的 IC₅₀ 为 2.44 mg/mL。狭叶荨麻醇提取物中的皂苷、生物碱均具有抗炎活性^[24], 在一定浓度时能对透明质酸酶产生抑制作用。黄酮类被证实能够抑制透明质酸酶活性, 但作用机制尚不明确^[25], 这说明其是有效的透明质酸酶抑制剂。双氯芬酸钠在较低浓度时也对透明质酸酶有较高的抑制率且高于狭叶荨麻醇提取物。

2.5.2 白蛋白变性的抑制

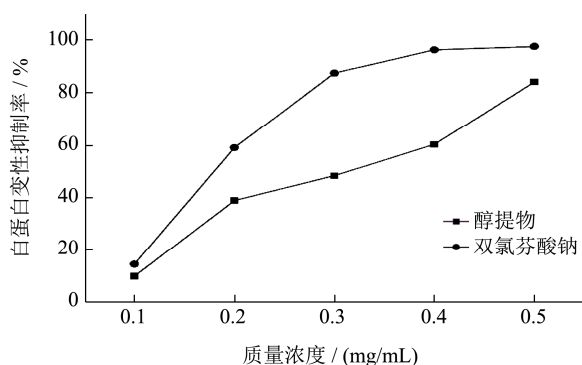


图 11 狭叶荨麻醇提取物对白蛋白变性的抑制作用

Fig.11 The ethanol extractions of *Urtica Angustifolia* on inhibiting albumin denaturation activities

狭叶荨麻醇提取物对白蛋白变性的抑制作用如图 11 所示。从图 11 可以看出, 狭叶荨麻醇提取物在 0.5 mg/mL 时对白蛋白变性的抑制率为 (84.14±0.57) %, 与阳性对照双氯芬酸钠 (97.58±0.34) %相近。狭叶荨麻醇提取物与阳性对照双氯芬酸钠的 IC₅₀ 值分别为 0.31 mg/mL 和 0.19 mg/mL。内源性蛋白的变化是一种诱发慢性炎症疾病的病因^[26], 狭叶荨麻醇提取物中皂苷、生物碱通过抑制炎症因子^[24], 起到抗炎作用。

3 结论

本研究在单因素试验的基础上, 采用 Box-Behnken 组合试验, 选取提取时间、提取料液比、乙醇浓度为因素确定三水平, 以总还原能力和抑制透明质酸酶能力为响应值来确定最优提取条件。进行试验后, 得到优化后的提取条件: 提取时间 114 min, 料液比 1:15, 提取溶剂乙醇浓度为 64%。在此条件下得到的狭叶荨麻醇提取物具有良好的抗氧化活性和抗炎活性。狭叶荨麻醇提取物对 DPPH·、·OH 清除效果显著, IC₅₀ 分别是 0.02 mg/mL、1.87 mg/mL, 较阳性对照 Vc 高; 具有较高的总还原能力, 在 0.1 mg/mL 时达到 (1.20±0.01) mmol/L FeSO₄, EC₅₀ 为 0.04 mg/mL。狭叶荨麻醇提取物在较高浓度时对透明质酸酶的抑制率较

高, 在 6.50 mg/mL 时达到 (93.14±0.08) %, IC₅₀ 值为 2.44 mg/mL; 对白蛋白变性的抑制作用与阳性对照双氯芬酸钠相近, IC₅₀ 分别为 0.31 mg/mL 和 0.19 mg/mL。狭叶荨麻醇提取物中的活性物质含量为: 皂苷>黄酮>总酚>原花青素>生物碱。研究^[27~29]表明, 多酚类、黄酮类、原花青素类物质具有抗氧化活性, 皂苷类、原花青素类、生物碱类物质具有抗炎镇痛的作用。由此可以看出, 狭叶荨麻醇提取物所具有的抗氧化及抗炎活性为多种活性物质共同作用的结果。

参考文献

- [1] Jeongrim Lee, Rawle I. Hollinsworth. Oligosaccharide-glucans with Unusual Linkages from *Sarcina Ventriculi* [J]. Carbohydrate Research, 1997, 304: 133-141
- [2] Kazumi Funane, Tadashi Ishii, Mayumi Matsushita, et al. Water-soluble and water-insoluble glucans produced by *Escherichia coli* recombinant dextranases from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F [J]. Carbohydrate Research, 2001, 334(1): 19-25
- [3] Abdel-Akher M, Smith F. The repeating unit of glycogen [J]. Journal of the American Chemical Society, 1951, 73(3): 994-996
- [4] 董艳杰, 张海悦, 郭新丽, 等. 一种新的保健食品资源-狭叶荨麻的开发和应用[J]. 食品工业科技杂志, 2007, 28(12): 213-215
DONG Yan-jie, ZHANG Hai-yue, GUO Xin-li, et al. Development and Application of a New Kind of Health Food Resource - *Urtica angustifolia* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(12): 213-215
- [5] 王静, 申玉飞, 杨清香. 亚临界萃取荨麻草中黄酮类化合物的工艺研究[J]. 陕西农业科学, 2016, 62(8): 18-20
WANG Jing, SHEN Yu-fei, YANG Qing-xiang. Study on the process of flavonoids compounds with using subcritical extraction of *Angustifolia* [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2016, 62(8): 18-20
- [6] 杜宏涛, 廖庆华, 曹勇, 等. 响应面法优化超声波辅助提取狭叶荨麻黄酮和木脂素工艺[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2013, 49(4): 360-364
DU Hong-tao, LIAO Qing-hua, CAO Yong, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of flavonoids and lignans from *Urtica angustifolia* by response surface method [J]. Journal of Beijing Normal University(Natural Science), 2013, 49(4): 360-364
- [7] 张海悦, 李茜. 响应面法优化超声波辅助提取狭叶荨麻生物碱工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 123-127

- ZHANG Hai-yue, LI Qian. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of alkaloids from whole herbs of *Urtica angustifolia* using response surface methodology [J]. Food Science, 2012, 33(12): 123-127
- [8] 张海悦,郭新力,韩永双,等.狭叶荨麻叶中荨麻皂苷的提取与鉴定研究[J].食品科学,2008,29(11):282-283
- ZHANG Hai-yue, GUO Xin-li, HAN Yong-shuang, et al. Extraction and identification of saponin from *Urtica angustifolia* Leaves [J]. Food Science, 2008, 29(11): 282-283
- [9] 崔殿波,李薇,王莹,等.狭叶荨麻提取物抗炎镇痛药理作用研究[J].中医药学报,2014,42(4):61-63
- CUI Dian-bo, LI Wei, WANG Ying, et al. Anti-inflammatory and analgesic effect of extracts from *Urtica Angustifolia* [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2014, 42(4): 61-63
- [10] 秦元满,魏恩科.狭叶荨麻抗凝血有效部位的探讨[J].中国中医药科技,2006,13(2):72
- QIN Yuan-man, WEI En-ke. Discussion on the effective site of anticoagulant blood of *Urtica angustifolia* [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 2006, 13(2): 72
- [11] Li H, Wang X Y, Li Y, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460
- [12] Dewanto V, Wu X, Adom K K. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(10): 3004-3010
- [13] 郑洪亮,何飞,腾飞,等.红皮云杉球果原花青素提取优化及抗氧化活性评价[J].食品工业科技,2014,35(10):258-263
- ZHENG Hong-liang, HE Fei, TENG Fei, et al. Study on the optimization of extraction technology and the antioxidant effect of Proanthocyanidins from *Picea koraiensis Nakai's* Cones [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 258-263
- [14] 向萍,王玉华,张秀艳,等.蒙药参竹精片总皂苷的含量及抗氧化研究[J].现代中药研究与实践, 2015,29(6):58-61
- XIANG Ping, WANG Yu-hua, ZHANG Xiu-yan, et al. Determination of total saponins content and study on antioxidant activity in shenzhujing tablets [J]. Research and Practice of Chinese Medicines, 2015, 29(6): 58-61
- [15] 高小棠,王萍.龙葵果生物碱提取纯化工艺研究[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2015,41(5):521-526
- GAO Xiao-tang, WANG Ping. Study on the extraction and purification conditions of alkaloids from the fruit of black nightshade (*Solanum nigrum* L.) [J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2015, 41(5): 521-526
- [16] Sun J, Yao J, Huang S, et al. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (lem.) A.C. Smith [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 276-281
- [17] Suksomtip M, Ukpisdawithid S, Bhusawang P, et al. Phenolic compound content, antioxidant and radical-scavenging properties of methanolic extracts from the seed coat of certain thai tamarind cultivars [J]. Journal of Food Biochemistry, 2010, 34(5): 916-931
- [18] Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake [J]. Food Chemistry, 2011, 128(1): 14-21
- [19] Han S S, Hur S J, Lee S K. A comparison of antioxidative and anti-inflammatory activities of sword beans and soybeans fermented with *Bacillus subtilis* [J]. Food Function, 2015, 6(8): 2736-2748
- [20] Mizushima Y, Kobayshi M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins [J]. Journal of Pharmaceutics and Pharmacology, 1968, 20(3): 169-173
- [21] Grabowska K, Podolak I, Galanty A, et al. *In vitro* anti-denaturation and anti-hyaluronidase activities of extracts and galactolipids from leaves of *Impatiens Parviflora* DC [J]. Natural Product Research, 2016, 30(10): 1219-1223
- [22] 李铨军,崔胜云.抗坏血酸清除 DPPH 自由基的作用机理[J].食品科学,2011,32(1):86-90
- LI Xuan-jun, CUI Sheng-yun. DPPH radical scavenging mechanism of ascorbic acid [J]. Food Science, 2011, 32(1): 86-90
- [23] 王忠雷,杨丽燕,张小华,等.天然产物抗氧化活性成分研究进展[J].药物评价研究,2012,35(5):386-390
- WANG Zhong-lei, YANG Li-yan, ZHANG Xiao-hua, et al. Research progress on active anti-oxidative components from natural products [J]. Drug Evaluation Research, 2012, 35(5): 386-390
- [24] 侯晓丽,孙铭学,高焕焕,等.抗炎天然产物活性成分研究进展[J].药学实践杂志,2015,1:20-27
- HOU Xiao-li, SUN Ming-xue, GAO Huan-huan, et al. Progress on anti-inflammatory natural products [J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2015, 1: 20-27

- [25] Isoyama T, Thwaites D, Seler M G, et al. Differential selectivity of hyaluronidase inhibitors toward acidic and basic hyaluronidases [J]. Glycobiology, 2006, 16(1): 11-21
- [26] 李祎,王萍.龙葵果汁发酵工艺优化及其抗炎、抑菌活性评价[J].现代食品科技,2017,6:248-254
LI Yi, WANG Ping. The optimization of fermentation process of *Solanum nigrum* L. Juice and evaluation of its anti-inflammatory and antibacterial activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 6: 248-254
- [27] 孙传范.原花青素的研究进展[J].食品与机械,2010,26(4): 146-148,152
SUN Chuan-fan. Research Progress on Procyanidins [J]. Food & Machinery, 2010, 26(4): 146-148, 152
- [28] 王凤云,戴岳,俞桂新.生物碱治疗类风湿性关节炎的研究进展[J].中药药理与临床,2010,26(3):74-77
WANG Feng-yun, DAI Yue, HAO Gui-xin. Progress in research on the treatment of rheumatoid arthritis by alkaloid [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2010, 26(3): 74-77
- [29] 许丽娜,卫永丽,彭金咏.天然产物薯蓣皂苷的研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(1):36-41
XU Li-na, WEI Yong-li, PENG Jin-yong. Advances in study of dioscin-a natural product [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(1): 36-41