

本文引用: 蔡 荣, 徐春芳, 李 珊, 夏伯候, 李亚梅, 刘 武, 谢菁琛, 张智敏, 林丽美. 山银花茎叶与花化学成分和抗炎活性比较研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(9): 1598-1608.

山银花茎叶与花化学成分和抗炎活性比较研究

蔡 荣^{1,2}, 徐春芳^{1,2}, 李 珊^{1,2}, 夏伯候^{1,2}, 李亚梅^{1,2}, 刘 武³, 谢菁琛^{1,2}, 张智敏^{1,2*}, 林丽美^{1,2*}

1.湖南中医药大学药学院,湖南 长沙 410208;2.湘产大宗药材品质评价湖南省重点实验室,湖南 长沙 410208;

3.溆浦森鑫特色农业开发有限公司,湖南 怀化 419315

[摘要] 目的 比较山银花茎叶和花提取物的主要成分及抗炎活性差异。方法 通过 D101 大孔树脂制备富含酚酸与三萜类成分的山银花茎叶及花提取部位,采用 HPLC 测定样品中 6 种酚酸和 3 种三萜含量。利用脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导 RAW264.7 细胞炎症模型,将细胞分为空白对照组、模型组、地塞米松组(32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、山银花茎叶组(25、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、山银花组(29.5、59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),共 5 组。空白对照组和模型组给予等量的无血清培养基,其余组以含各药物的无血清培养基预处理 2 h 后,加入浓度为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS,继续培养 24 h。采用 Griess 法检测一氧化氮(nitric oxide, NO)释放量。将小鼠随机分为空白对照组、模型组、地塞米松组(5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、山银花茎叶组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),连续灌胃给药 7 d 后,除空白对照组外,其余各组小鼠于右耳内外侧涂抹巴豆油(40 μL)建立耳郭肿胀模型和左侧足趾皮下注射 1%角叉菜胶(30 μL)建立足趾肿胀模型。4 h 后,测定各组小鼠耳郭和足趾肿胀度,计算肿胀抑制率,采用 ELISA 法测定小鼠足趾肿胀组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)的含量。结果 山银花茎叶中总酚酸($P<0.01$)和隐绿原酸($P<0.05$)含量高于山银花,总三萜($P<0.01$)、灰毡毛忍冬皂苷乙($P<0.01$)、灰毡毛忍冬皂苷甲($P<0.05$)含量低于山银花。与空白对照组比较,模型组 RAW264.7 细胞 NO 水平、小鼠耳郭肿胀度和足趾肿胀度以及足趾肿胀组织中炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE2)水平均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,山银花茎叶组(50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)和山银花组(59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) RAW264.7 细胞 NO 水平降低($P<0.01$);山银花茎叶组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)耳郭肿胀度明显降低($P<0.01$),耳肿胀抑制率升高($P<0.01$);山银花茎叶组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)足趾肿胀度降低($P<0.01$),足趾肿胀抑制率升高($P<0.01$);山银花茎叶组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)足趾肿胀组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 PGE2 的含量降低($P<0.01$)。结论 山银花茎叶和花具有相似的酚酸和三萜成分,但其含量存在显著差异。山银花茎叶和花提取物对急性炎症均有明显抑制作用,其机制可能与抑制外周 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、PGE2 和 NO 炎症因子的表达有关。

[关键词] 山银花;灰毡毛忍冬;酚酸;三萜;指纹图谱;抗炎

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.09.008

Comparative study of chemical constituents and anti-inflammatory activities of stems/leaves and flowers of Flos Lonicerae

CAI Rong^{1,2}, XU Chunfang^{1,2}, LI Shan^{1,2}, XIA Bohou^{1,2}, LI Yamei^{1,2}, LIU Wu³, XIE Jingchen^{1,2},
ZHANG Zhimin^{1,2*}, LIN Limei^{1,2*}

[收稿日期]2023-03-05

[基金项目]国家重点研发计划项目(2017YFC1701900);湖南省教育厅重点项目(20A380)。

[第一作者]蔡 荣,女,硕士研究生,研究方向:中药物质基础与品质评价研究。

[通信作者]*张智敏,女,博士,实验师,E-mail:csldgzmm@163.com;*林丽美,女,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:lizasmile@163.com。

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;
2. Key Laboratory for Quality Evaluation of Bulk Herbs of Hunan Province, Changsha, Hunan 410208, China;
3. Xupu Senxin Characteristic Agricultural Development Co., Ltd., Huaihua, Hunan 419315, China

[Abstract] Objective To compare the differences of the chemical constituents and anti-inflammatory activities of the stem/leaf and flower of Flos Lonicerae. **Methods** The stem/leaf and flower extracts of Flos Lonicerae rich in phenolic acid and triterpene constituents were prepared using D101 macroporous resin. HPLC method was applied to determine the content of six phenolic acids and three triterpenes in the samples. Lipopolysaccharides (LPS) was used to induce RAW264.7 inflammatory cell model. Cells were divided into five groups: blank control group, model group, dexamethasone group ($32 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), Flos Lonicerae stem/leaf group ($25, 50, 100, 200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), and Flos Lonicerae flower group ($29.5, 59, 118, 236 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). The blank control and model groups were given equal amounts of serum-free medium, while the remaining groups were pretreated with serum-free medium containing each drug for two hours. LPS at a concentration of $1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ was added after 2 h of pretreatment, and continued to culture for another 24 h. Griess assay was used to examine the nitric oxide (NO) concentration. Mice were randomly divided into blank control group, model group, dexamethasone group ($5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Flos Lonicerae stem/leaf group ($1.25, 2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and Flos Lonicerae flower group ($1.25, 2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). After continuous intragastric administration for 7 d, except for the blank control group, the remaining groups of mice were coated with croton oil ($40 \mu\text{L}$) on the inner and outer sides of the right ear to establish an ear swelling model, and subcutaneously injected with 1% carrageenan ($30 \mu\text{L}$) on the left toe to establish a foot swelling model. The ear and foot swelling degrees of each group of mice were measured and the swelling inhibition rate was calculated four hours later. ELISA method was used to measure the interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and prostaglandin E2 (PGE2) content in foot swelling tissue. **Results** The content of the total phenolic acid ($P<0.01$) and cryptochlorogenic acid ($P<0.05$) in Flos Lonicerae stem/leaf was higher than that in Flos Lonicerae flower; while the content of total triterpenoids ($P<0.01$), macranthoidin B ($P<0.01$), and macranthoidin A ($P<0.05$) in Flos Lonicerae stem/leaf was lower than that in Flos Lonicerae flowers. Compared with the blank control group, the release level of NO in RAW264.7 cells, the swelling degree of mice ear and foot, and the levels of inflammatory factors (IL-1 β , IL-6, TNF- α , and PGE2) in swelling tissues increased significantly in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, the release level of NO in RAW264.7 cells decreased in Flos Lonicerae stem/leaf group ($50, 100, 200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) and Flos Lonicerae flower group ($59, 118, 236 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ($P<0.01$); the Flos Lonicerae stem/leaf group ($1.25, 2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Flos Lonicerae flower group ($1.25, 2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ($P<0.01$) showed a significant decrease in the ear swelling degree and an increase in inhibition rate; the Flos Lonicerae stem/leaf group ($2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Flos Lonicerae flower group ($2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ($P<0.01$) showed a decrease in foot swelling degree and an increase in the inhibition rate; the content of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and PGE2 in foot swelling tissues decreased in Flos Lonicerae stem/leaf group ($2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Flos Lonicerae flower group ($2.5, 5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ($P<0.05, P<0.01$). **Conclusion** The stems/leaves and flowers of Flos Lonicerae have similar phenolic acid and triterpenoid constituents, but there are significant differences in their content. Extracts from Flos Lonicerae stems/leaves and flowers have significant inhibitory effects on acute inflammation, and its mechanism may be related to the inhibition of the expressions of peripheral inflammatory factors of TNF- α , IL-6, IL-1 β , PGE2 and NO.

[Keywords] Flos Lonicerae; *Lonicera macranthoides*; Hand.-Mazz.; phenolic acid; triterpene; fingerprint; anti-inflammation

山银花是忍冬科植物灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.、红腺忍冬 *Lonicera hypoglauca* Miq.、华南忍冬 *Lonicera confusa* DC.、黄褐毛忍冬 *Lonicera fulvoto-mentosa* Hsu et S. C. Cheng 的干燥花蕾或带初开的花,具有清热解毒、疏散风热的功效,用于痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、

风热感冒、温病发热^[1]。药理研究发现,山银花具有许多药用特性,诸如抗病毒、抗氧化、抗菌和抗炎作用^[2-4]。

忍冬是山银花最早的药用名称,宋代及宋代以前多用忍冬的茎叶入药,到了明代,逐渐发展至茎、叶、花并用,明代以后,强调用花。现代研究发现,山

银花富含酚酸、三萜等多种活性成分^[5],山银花酚酸化合物主要包括绿原酸、咖啡酸、异绿原酸等^[6];山银花中三萜成分主要为灰毡毛忍冬皂苷甲、灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙等^[7]。酚酸和三萜是山银花抗炎活性的有效成分^[8-10]。目前研究多集中于花,茎叶的研究相对较少。金银花的药用部位是花和茎枝。过去,金银花叶并不常用于医疗,但最近其引起了越来越多学者的关注^[11-12]。前人比较了金银花不同组织的化学成分和抗炎作用,指出金银花的叶和茎具有类似于花蕾的化学成分^[13]和抗炎特性^[14],可能成为花蕾的替代或补充来源。在治疗肿胀和疥疮方面,金银花的花、茎和叶具有相同功效^[15]。

山银花生长过程中,除花蕾外,叶资源丰富,多数情况下弃之不用,如若可以将茎叶进行综合开发利用,则可实现茎叶的资源化。因此,本研究首先表征山银花茎叶与花中酚酸和三萜类成分的异同,然后利用巨噬细胞体外模型评价其抗炎作用,最后采用小鼠耳郭肿胀和足趾肿胀体内抗炎模型研究其对小鼠耳郭、足趾肿胀度的影响,并测定足趾肿胀组织炎症因子,为后续对山银花茎叶的利用奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 药材与试剂

山银花茎叶与花于2021年6月采集自湖南省怀化市溆浦县,经湖南中医药大学中药鉴定教研室龚力民副教授鉴定为灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand. -Mazz.的干燥茎叶与花蕾。

乙腈(色谱纯,批号:JA109230,默克股份两合公司);磷酸(色谱纯,批号:20100717,天津市光复精细化工研究所);地塞米松(纯度 $\geq 98\%$,批号:C12587834)、角叉菜胶(试剂级,批号:C12600607)、巴豆油(纯度 $\geq 95\%$,批号:C12229973)均购自上海麦克林生化科技有限公司;绿原酸标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTD002102)、咖啡酸标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:DST200918-013)均购自成都乐美天医药科技有限公司;异绿原酸A标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-Y06802109007)、异绿原酸B标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-Y06911812012)、异绿原酸C标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-Y07011805016)、新绿原酸标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-X01401903029)、隐绿

原酸标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-Y06701903029)、灰毡毛忍冬皂苷乙标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-H01411804026)、灰毡毛忍冬皂苷甲标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-H07411804027)、川续断皂苷乙标准品(纯度 $\geq 98\%$,批号:RFS-C00511804026)均购于成都瑞芬思生物科技有限公司。

DMEM培养基(批号:WH0021D111)、胎牛血清(批号:SA210518)均购于武汉普诺赛生命科技有限公司;脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(批号:127M4029V,美国Sigma公司);CCK-8(批号:22005145,北京兰杰柯科技有限公司);一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(批号:022421210906,上海碧云天生物技术有限公司);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒(批号:M08014507)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(批号:M16014508)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)试剂盒(批号:M17014509)均购于武汉华美生物工程股份有限公司;前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)试剂盒(批号:A8KL9RWGU4,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司)。

1.2 仪器

Waters e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);1510型酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司];RE-2000A型旋转蒸发器(巩义市中天仪器科技有限公司);P20-Y型超纯水仪(湖南科尔顿水务集团有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);microfuge 20R型高速冷冻离心机(美国Beckman Coulter公司);Synergy-HTX型多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);ZWY-100H型恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造有限公司);WT C6002型电子天平(杭州万特衡器有限公司)。

1.3 细胞株

小鼠巨噬细胞系(RAW264.7,目录号:TCM13)购自中国科学院上海细胞库。

1.4 动物

180只SPF级雄性KM小鼠,体质量18~22g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2019-0004,合格证号:430727221100100456。所有实验动物均饲养于湖南中医药大学动物实验

中心 SPF 级动物房中。适应性喂养 1 周,自由摄食,环境温度 24~26 ℃,相对湿度 50%~60%,实验全程按照动物伦理学标准进行(伦理批准号:LLBH-202112010001)

2 方法

2.1 提取物的制备

分别将山银花干燥茎叶、花蕾加 20 倍量蒸馏水煎煮 3 次,第 1 次煎煮 1.5 h,第 2 次和第 3 次各煎煮 1 h,趁热过滤,合并滤液,减压浓缩至质量浓度为 0.1 g·mL⁻¹,备用。

取 D101 大孔树脂,用乙醇浸泡 24 h,湿法装柱,用乙醇洗至流出液加适量蒸馏水后无白色混浊,再用蒸馏水洗至流出液无醇味。将预处理好的 D101 大孔树脂湿法装柱,分别加入上述山银花茎叶或花的水提液,上样流速为 1 mL·min⁻¹,静置 25 min 后,用 4 倍柱体积蒸馏水洗涤至无色,弃去。用 10 倍柱体积的 85%乙醇进行洗脱,洗脱剂流速为 1 mL·min⁻¹。收集洗脱液,浓缩干燥,即得。

2.2 总酚酸和总三萜含量的测定

2.2.1 总酚酸含量测定方法 以没食子酸为对照品,采用福林酚法进行测定。精密称取没食子酸标准品 4.1 mg 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得没食子酸标准储备液质量浓度为 0.41 mg·mL⁻¹。分别吸取没食子酸标准储备液 0、125、250、375、500、625、750、875、1 000 μL 置于 1 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制成没食子酸系列标准溶液。分别精密移取 0.5 mL 没食子酸系列标准溶液于 10 mL 容量瓶中,加入福林酚溶液 1.5 mL,振摇 10 s,黑暗条件下放置 10 min,再加入 8%碳酸钠溶液 2 mL,用蒸馏水定容至 10 mL,振摇 10 s,密塞,置 50 ℃中水浴加热 10 min,取 200 μL 溶液置 96 孔板中,于 760 nm 处检测吸光度。绘制没食子酸标准溶液吸光度与其质量浓度的标准曲线,拟合得线性回归方程为 $Y=3.0278X+0.0099$, $R^2=0.9946$ 。

精密称取各设定条件下提取的山银花茎叶与花提取物适量(相当 0.2 g 生药量),加入 10 mL 甲醇,充分溶解后,0.22 μm 微孔滤膜滤过,得样品溶液。精密移取样品溶液 0.2 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按“2.2.1”项下方法制备待测溶液,根据没食子酸

标准曲线求出总酚酸浓度,并计算各处理的总酚酸含量和总酚酸得率。

2.2.2 总三萜含量测定方法 以熊果酸为对照品,采用香草醛-冰醋酸-高氯酸法进行测定。精密称取熊果酸标准品 4.6 mg 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得熊果酸标准储备液质量浓度为 0.46 mg·mL⁻¹。分别吸取熊果酸标准储备液 0、125、250、375、500、625、750、875、1 000 μL 置于 1 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制成熊果酸系列标准溶液。分别精密移取 0.2 mL 熊果酸系列标准溶液于 10 mL 具塞试管中,各试管加入新制的 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,振摇 10 s,再向各试管中加入高氯酸 1.8 mL,振摇 10 s,密塞,置 65 ℃水浴加热 25 min 后,室温冷却 5 min,再向各试管加入冰醋酸 2.5 mL,振摇 10 s,取 200 μL 溶液置 96 孔板中,于 547 nm 处检测吸光度。绘制熊果酸标准溶液吸光度与其质量浓度的标准曲线,拟合得线性回归方程为 $Y=1.0894X+0.149$, $R^2=0.9903$ 。

精密称取各设定条件下提取的山银花茎叶与花提取物适量(相当 0.2 g 生药量),加入 10 mL 甲醇,充分溶解后,0.22 μm 微孔滤膜滤过,得样品溶液。精密移取样品溶液 0.2 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按“2.2.2”项下方法制备待测溶液,根据熊果酸标准曲线求出总三萜浓度和总三萜得率。

2.3 HPLC 法测定山银花茎叶与花中 6 种酚酸和 3 种三萜的含量

2.3.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为 0.4%磷酸溶液(A)和乙腈(B),梯度洗脱程序:0~5 min,8%~10% B;5~25 min,10%~12% B;25~37 min,12%~17% B;37~57 min,17%~20% B;57~70 min,20%~30% B;70~80 min,30%~35% B,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm,柱温 25 ℃,进样体积 10 μL。所得的色谱图见图 1。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称定绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、新绿原酸、隐绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、灰毡毛忍冬皂苷甲、川续断皂苷乙、咖啡酸标准品适量,分别用 85%乙醇配制成对照品储备液,绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、新绿原酸、隐绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷

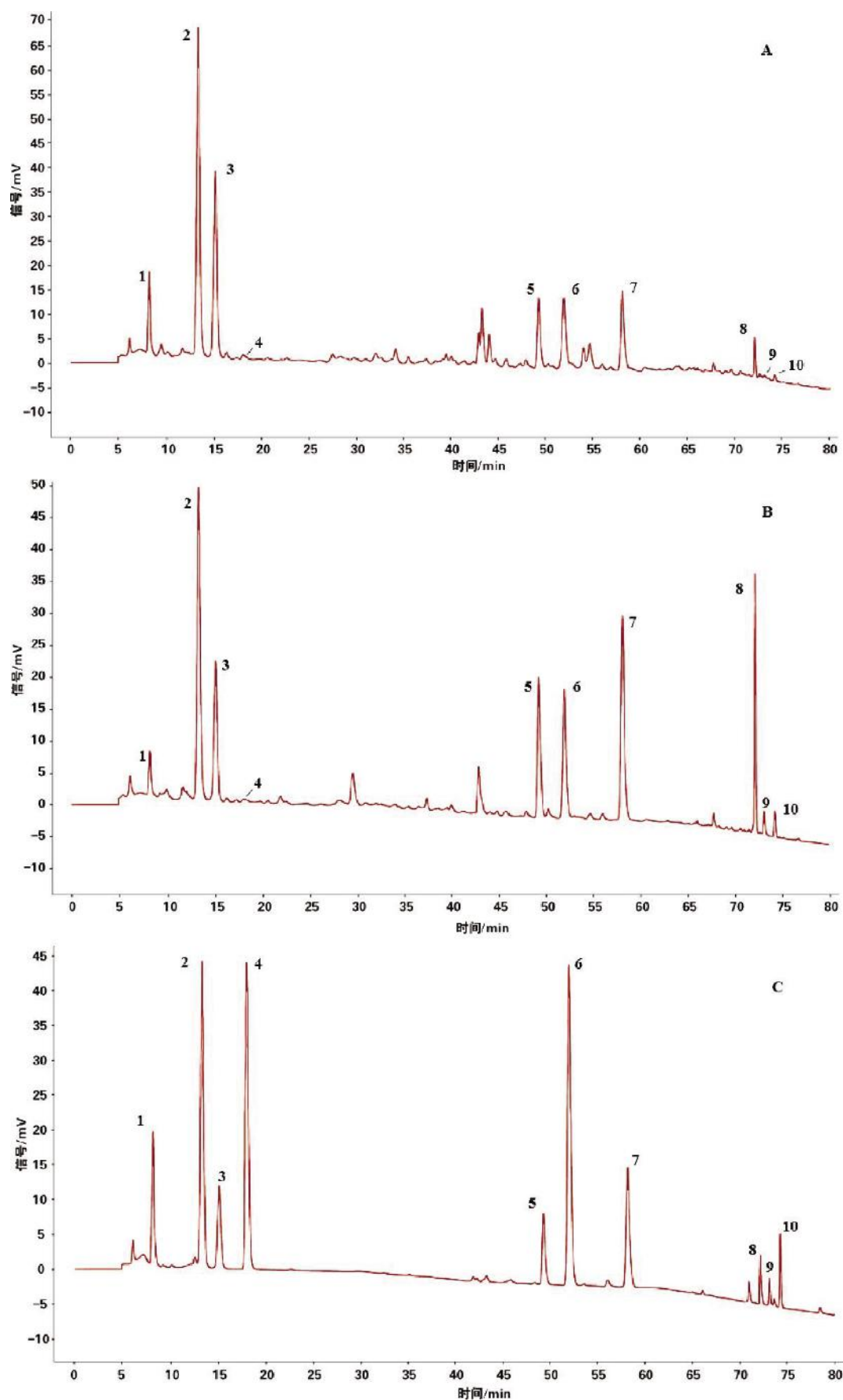


图1 山银花茎叶与花 HPLC 色谱图

注:A.山银花茎叶;B.山银花;C.混合对照品;1.新绿原酸;2.绿原酸;3.隐绿原酸;4.咖啡酸;5.异绿原酸 B;6.异绿原酸 A;7.异绿原酸 C;8.灰毡毛忍冬皂苷乙;9.灰毡毛忍冬皂苷甲;10.川续断皂苷乙。

乙、灰毡毛忍冬皂苷甲、川续断皂苷乙、咖啡酸浓度分别为 0.537、0.644、0.538、0.508、0.513、0.564、0.538、0.520、0.461、0.551 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。取 5 支 10 mL 容量瓶,分别精密吸取各对照品储备液适量,用 85%乙醇配制成 5 个混合对照品溶液,其中绿原酸浓度为 0.026 85、0.042 96、0.053 70、0.107 40、0.161 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,异绿原酸 A 浓度为 0.006 44、0.019 32、0.064 40、0.051 52、0.128 80 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,异绿原酸 B 浓度为 0.005 38、0.010 76、0.026 90、0.043 04、0.053 80 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,异绿原酸 C 浓度为 0.005 08、0.015 24、0.025 40、0.076 20、0.050 80 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,新绿原酸浓度为 0.005 13、0.041 04、0.025 65、0.051 30、0.010 26 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,隐绿原酸浓度为 0.005 64、0.056 40、0.028 20、0.112 80、0.016 92 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,灰毡毛忍冬皂苷乙浓度为 0.107 60、0.161 40、0.053 80、0.026 90、0.043 04 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,灰毡毛忍冬皂苷甲浓度为 0.041 60、0.052 00、0.026 00、0.005 20、0.010 40 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,川续断皂苷乙浓度为 0.069 15、0.036 88、0.046 10、0.004 61、0.013 83 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,咖啡酸浓度为 0.044 08、0.011 02、0.027 55、0.002 75、0.005 51 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取山银花茎叶与花提取物,加 85%乙醇充分溶解并定容后,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,进行 HPLC 分析。

2.3.4 方法学考察

(1)精密度、稳定性、重复性考察 分别取混合对照品溶液和山银花茎叶供试品溶液,按“2.3.1”项下条件进行精密度、稳定性、重复性考察,结果显示,每种成分的 RSD 值均小于 3%,符合要求。

(2)线性关系考察 取绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、新绿原酸、隐绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、灰毡毛忍冬皂苷甲、川续断皂苷乙的对照品储备液制备的各混标溶液,按相应色谱条件分析,进样量为 10 μL ,记录峰面积。以溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行标准曲线回归,标准曲线方程和线性范围如表 1 所示,各成分在各自范围内线性关系良好。

(3)加样回收率考察 已知含量的供试品溶液共 6 份,精密量取,加入含一定量的绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、新绿原酸、隐绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙、灰毡毛忍冬皂苷甲、川续断

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	线性范围/ μg	R^2
绿原酸	$Y=17\ 920.0X-105\ 959.0$	10.7~161.1	0.996 9
异绿原酸 A	$Y=17\ 921.0X-73\ 182.0$	3.2~128.8	0.997 2
异绿原酸 B	$Y=10\ 683.0X-55\ 557.0$	2.7~53.8	0.974 7
异绿原酸 C	$Y=17\ 452.0X-59\ 569.0$	2.5~76.2	0.997 3
新绿原酸	$Y=11\ 539.0X-19\ 289.0$	2.6~51.3	0.954 3
隐绿原酸	$Y=9\ 805.5X-34\ 248.0$	2.8~112.8	0.986 7
灰毡毛忍冬皂苷乙	$Y=1\ 225.9X+17\ 512.0$	10.4~156.0	0.969 6
灰毡毛忍冬皂苷甲	$Y=1\ 778.7X-1\ 594.1$	2.3~46.1	0.986 5
川续断皂苷乙	$Y=1\ 887.9X+436.3$	2.8~82.7	0.991 7

皂苷乙的对照品溶液,混匀。按“2.3.1”项下条件,计算各组平均回收率及 RSD 值,结果见表 2,10 个对照品的回收率为 99.30%~105.22%,RSD 值均小于 3% (1.04%~2.80%),说明该方法回收率好。

2.4 体外抗炎活性研究

2.4.1 供试品配制 地塞米松用 DMEM 培养基(无血清)配制成 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品药液;山银花茎叶提取物用 DMEM 培养基(无血清)配制成 25、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液,山银花提取物用 DMEM 培养基(无血清)配制成 29.5、59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液;经 0.22 μm 微孔膜过滤后使用。

2.4.2 细胞分组及细胞存活率检测 取生长状态良好的 RAW264.7 细胞,用含 10%胎牛血清的培养液配成单细胞悬液,离心弃上清液,用完全培养基重悬细胞并计数,调整细胞悬液至 $5\times 10^6/\text{mL}$,按每孔 100 μL 接种至 96 孔板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养过夜。接种 12 h 后,在洁净工作台中用无血清 DMEM 培养基将山银花茎叶与花提取物稀释成 62.5、125、250、500、1 000、2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品药液,弃去孔板中的培养基,每孔加入 100 μL 对应浓度供试品药液,并设空白对照组(无血清 DMEM 培养基+细胞),每组 6 个复孔,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中继续培养 24 h 后,按每孔 10 μL 加入 CCK-8 试剂溶液,继续置于培养箱中培养 2 h,随后用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度。

2.4.3 细胞上清液中 NO 释放量的检测 根据细胞存活率检测结果,在对细胞无毒性作用的安全浓度范围内设置各药物的浓度。实验共设置空白对照组、模型组(LPS 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、地塞米松组(32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、山银花茎叶组(25、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、山银花组

表 2 各成分加样回收率试验结果($n=6$)

成分	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD 值/%
绿原酸	42.5	46.0	90.1	103	102.62	2.54
	42.5	46.0	89.9	103		
	42.5	36.8	81.5	106		
	42.5	36.8	80.9	104		
	42.5	55.2	97.0	99		
	42.5	55.2	98.1	101		
异绿原酸 A	11.9	14.5	27.0	104	104.50	1.07
	11.9	14.5	27.2	106		
	11.9	11.6	23.9	104		
	11.9	11.6	23.8	103		
	11.9	17.4	30.2	105		
	11.9	17.4	30.3	106		
异绿原酸 B	15.8	22.5	38.9	103	103.49	2.73
	15.8	22.5	39.8	107		
	15.8	18.0	33.8	100		
	15.8	18.0	33.9	101		
	15.8	27.0	44.2	105		
	15.8	27.0	44.4	106		
异绿原酸 C	12.2	15.0	27.8	104	104.56	1.04
	12.2	15.0	27.9	104		
	12.2	12.0	24.7	105		
	12.2	12.0	24.6	103		
	12.2	18.0	31.4	107		
	12.2	18.0	31.0	105		
新绿原酸	8.5	10.0	18.5	100	100.28	1.50
	8.5	10.0	18.5	100		
	8.5	8.0	16.5	100		
	8.5	8.0	16.4	98		
	8.5	12.0	20.8	103		
	8.5	12.0	20.7	101		
隐绿原酸	44.9	50.0	97.5	105	104.98	1.22
	44.9	50.0	96.8	104		
	44.9	40.0	86.8	105		
	44.9	40.0	86.7	105		
	44.9	60.0	107.3	104		
	44.9	60.0	109.3	107		
灰毡毛忍冬皂苷乙	27.8	29.5	57.7	101	99.66	2.38
	27.8	29.5	58.4	104		
	27.8	23.6	51.0	98		
	27.8	23.6	51.1	99		
	27.8	35.4	62.1	97		
	27.8	35.4	62.9	99		
灰毡毛忍冬皂苷甲	1.5	1.3	2.9	107	105.22	2.80
	1.5	1.3	2.9	104		
	1.5	1.0	2.6	106		
	1.5	1.0	2.6	109		
	1.5	1.6	3.1	101		
	1.5	1.6	3.1	103		
川续断皂苷乙	4.0	4.0	7.8	94	99.30	2.71
	4.0	4.0	8.0	100		
	4.0	3.2	7.2	99		
	4.0	3.2	7.3	102		
	4.0	4.8	8.8	99		
	4.0	4.8	8.8	101		

(29.5、59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

取对数生长期的 RAW264.7 细胞进行消化,调整细胞悬液的密度为 $1\times 10^5/\text{mL}$,按每孔 1 mL 接种至 12 孔板,于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h,待细胞长至 80% 密度时,以含各药物的无血清培养基替换原培养基,空白对照组和模型组给予等量的无血清培养基,预处理 2 h 后加入浓度为 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS,空白对照组给予等量的无血清培养基。继续培养 24 h,随后收集各孔细胞上清,按照试剂盒说明采用 Griess 法测定 NO 含量。

2.5 体内抗炎活性研究

2.5.1 动物分组及耳郭肿胀度和肿胀抑制率检测

KM 小鼠 90 只,雄性,适应性喂养 1 周,按体质量随机分为 9 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型组、地塞米松组 ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、山银花茎叶组 (1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和山银花组 (1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。灌胃给药,给药体积为 $0.01\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,每天 1 次,连续给药 7 d。空白对照组、模型组给予等体积蒸馏水。

末次给药 30 min 后,于小鼠右耳正反两面均匀涂布巴豆油混合物(巴豆油:无水乙醚:无水乙醇:蒸馏水=2:73:20:5,临用前配制) $40\text{ }\mu\text{L}/\text{只}$,左耳不做任何处理,4 h 后,处死小鼠,剪下双耳,用 8 mm 直径打孔器在小鼠耳朵相同的位置打下圆耳片,称重。计算肿胀度(两耳差值)和肿胀抑制率。肿胀抑制率=(模型组平均肿胀度-实验组平均肿胀度)/模型组平均肿胀度 $\times 100\%$ 。

2.5.2 足趾肿胀度和肿胀抑制率检测

分组与给药同“2.5.1”。末次给药后 30 min,在小鼠左侧足趾皮下注射 1% 角叉菜胶 $30\text{ }\mu\text{L}$,右侧足趾不做任何处理,4 h 后处死小鼠,沿踝关节剪下左右两足,称重,计算肿胀度(两足差值)和肿胀抑制率。取小鼠左后足组织,匀浆后用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、PGE2 含量。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 26 软件对数据进行统计分析。实验数据均以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,数据符合正态分布者用独立样本 Student's *t*-test 检验,数据不符合正态分布用 Mann-Whitney *U* test 进行统计分析。组间比较时方差齐者采用 Tukey 检验,方差不齐者用 Dunnett-*t* 检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 山银花茎叶与花中主要成分的含量

经计算得到山银花茎叶提取物中总酚酸、总三萜含量分别为 26.68%、13.48%,山银花提取物中总酚酸、总三萜含量分别为 16.14%、18.65%。山银花茎叶中总酚酸含量高于山银花 ($P<0.01$),而山银花中总三萜含量高于茎叶 ($P<0.01$)。山银花茎叶与花提取物中主要成分含量存在差异,山银花茎叶中隐绿原酸含量高于山银花 ($P<0.05$),灰毡毛忍冬皂苷乙 ($P<0.01$)、灰毡毛忍冬皂苷甲 ($P<0.05$) 含量低于山银花。详见图 2。

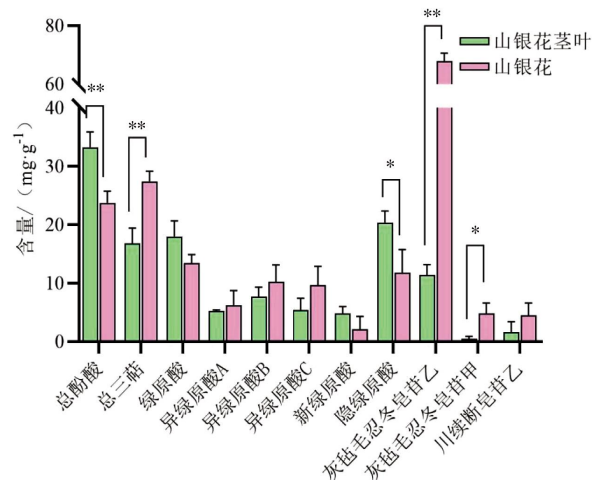


图 2 山银花茎叶与花中主要成分的含量测定结果($n=3$)
注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

3.2 体外抗炎活性分析评价

3.2.1 山银花茎叶与花对 RAW264.7 细胞活性的影响

与空白对照组相比,山银花茎叶提取物浓度大于 $500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时表现出对 RAW264.7 细胞的显著毒性 ($P<0.05$),山银花提取物浓度大于 $1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时表现出对 RAW264.7 细胞的显著毒性 ($P<0.05$)。山银花茎叶提取物在 $250\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时 RAW264.7 细胞的存活率仅为 79.86%,故后续实验山银花茎叶提取物质量浓度调整为 25、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,对应的山银花提取物质量浓度为 29.5、59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。详见图 3。

3.2.2 山银花茎叶与花提取物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 NO 释放量的影响

采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞,与空白对照组比较,模型组 NO 释放量显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较,山银花茎叶组 (50、

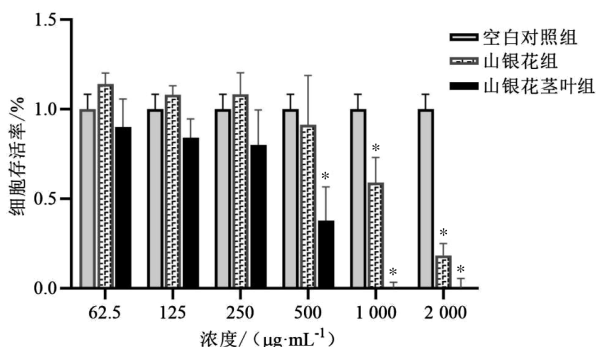


图3 山银花茎叶与花提取物对 RAW264.7 细胞存活率的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$ 。

100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、山银花组(59、118、236 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)均对 LPS 诱导的 NO 分泌有明显抑制作用($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 4。

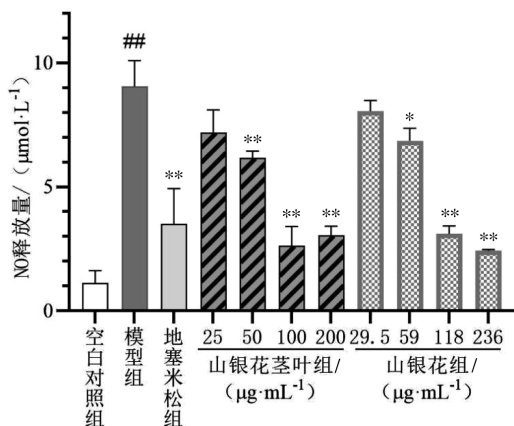


图4 山银花茎叶与花对细胞中 NO 的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与空白对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.3 体内抗炎活性研究

3.3.1 山银花茎叶与花对巴豆油混合物致小鼠耳郭肿胀的影响 与空白对照组比较,模型组小鼠耳郭肿胀度明显升高($P<0.01$);与模型组比较,地塞米松组、山银花茎叶组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠耳郭肿胀度降低($P<0.01$),耳肿胀抑制率升高($P<0.01$);相同浓度下的山银花茎叶与花提取物对巴豆油致小鼠耳郭肿胀的影响差异无统计学意义($P<0.05$)。详见表 3。

3.3.2 山银花茎叶与花提取物对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀度的影响 与空白对照组比较,模型组小鼠足趾肿胀度明显升高($P<0.01$);与模型组比较,地塞米松组、山银花茎叶组(1.25、2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠足趾肿胀度降低($P<0.01$),山银花茎叶组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

表3 山银花茎叶及花中提取物对巴豆油致小鼠耳郭肿胀度的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	耳郭肿胀度/mg	耳肿胀抑制率/%
空白对照组	—	0	100
模型组	—	21.0±4.0 [#]	0 [#]
山银花茎叶组	5	9.0±3.0 ^{**}	57.14 ^{**}
	2.5	10.4±4.6 ^{**}	50.48 ^{**}
	1.25	14.2±4.2 ^{**}	32.38 ^{**}
山银花组	5	9.6±2.6 ^{**}	54.29 ^{**}
	2.5	10.9±3.1 ^{**}	48.10 ^{**}
	1.25	14.5±3.5 ^{**}	30.95 ^{**}
地塞米松组	0.005	3.8±2.8 ^{**}	81.90 ^{**}

注:与空白对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

足肿胀抑制率升高($P<0.01$)。此外,与山银花组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)比较,山银花茎叶组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠足趾肿胀度降低($P<0.01$),足肿胀抑制率升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见表 4。

表4 山银花茎叶及花中提取物对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀度的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	足趾肿胀度/mg	足趾肿胀抑制率/%
空白对照组	—	0	100
模型组	—	53.4±2.4 [#]	0 [#]
山银花茎叶组	5	27.1±2.1 ^{**$\Delta$$\Delta$}	49.2 ^{**$\Delta$$\Delta$}
	2.5	31.4±2.4 ^{**$\Delta$$\Delta$}	41.2 ^{**$\Delta$$\Delta$}
	1.25	50.5±2.5 ^{**}	5.4
山银花组	5	34.0±2.0 ^{**}	36.3 ^{**}
	2.5	35.2±2.2 ^{**}	34.1 ^{**}
	1.25	52.1±3.9	2.4
地塞米松组	0.005	20.7±2.3 ^{**}	61.2 ^{**}

注:与空白对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$;与山银花组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

3.3.3 山银花茎叶与花提取物对小鼠足趾肿胀组织中炎症细胞因子的影响 与空白对照组相比,模型组小鼠足趾肿胀组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 PGE2 含量均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,地塞米松组及山银花茎叶组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和山银花组(2.5、5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠足趾肿胀组织中 IL-6、PGE2、IL-1 β 、TNF- α 含量均减少($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 5。

4 讨论

山银花已在中医药中使用数千年。迄今为止,已从山银花中分离和鉴定出 200 多种化合物,主要成分为有机酸、三萜和黄酮等。山银花的干燥花蕾或带初开的花是山银花的入药部位^[1]。不同的植物部

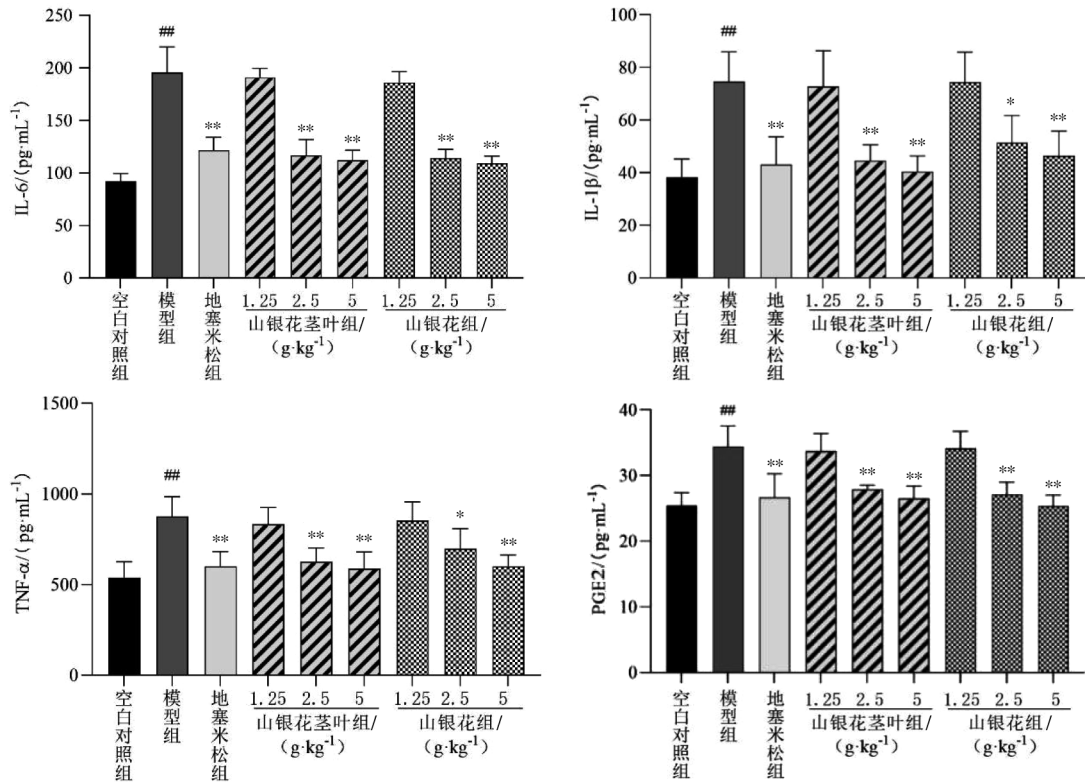


图5 小鼠足组织中炎症因子的含量比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与空白对照组比较,## $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

分,包括花、花蕾、叶和整个植物,因含有不同的成分而具有不同的活性。本研究通过 HPLC 检测并比较了山银花茎叶与花中主要酚酸和三萜类成分的差异。

本研究结果表明,山银花中总三萜含量高于茎叶,而总酚酸含量低于茎叶。山银花茎叶和花中酚酸和三萜成分种类相似,其中酚酸类成分以绿原酸和隐绿原酸为主,三萜类成分以灰毡毛忍冬皂苷乙为主,但各成分含量存在差异,如山银花茎叶中隐绿原酸含量高于花,而3种三萜成分的含量均低于花。除了绿原酸,灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙也是2020版《中华人民共和国药典》^[1]中规定的山银花质量控制的指标成分。在本研究中,山银花中灰毡毛忍冬皂苷乙和灰毡毛忍冬皂苷甲含量均显著高于茎叶,这与已有文献报道结果一致^[16]。

炎症是免疫系统对有害刺激(如病原体、受损细胞、有毒化合物或辐射)的反应,通过去除有害刺激并启动愈合过程^[17]。因此,炎症是一种对健康至关重要的防御机制^[18]。炎症可以在局部引起红肿、热、痛,激活巨噬细胞在炎症部位分泌多种促炎细胞因子,

如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6,以及促炎介质 NO 和 PGE2^[19]。本实验采用巴豆油致小鼠耳郭肿胀模型和角叉菜胶致小鼠足趾肿胀模型,考察山银花茎叶和花提取物对小鼠的耳郭肿胀和足趾肿胀的影响及肿胀足组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE2 含量变化,结果显示,巴豆油致小鼠耳郭肿胀度增加,角叉菜胶致小鼠足趾肿胀度增加,而山银花茎叶和花均可降低小鼠耳郭肿胀度和足趾肿胀度,升高耳肿胀抑制率和足肿胀抑制率,足肿胀组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE2 含量也明显降低,其机制可能与抑制 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE2 的合成与释放有关。山银花茎叶组的小鼠足趾肿胀度低于山银花组,但山银花茎叶和山银花对各细胞因子的调控作用差异无统计学意义,提示山银花茎叶和花的抗炎作用还可能与其他机制有关。炎症部位损伤程度与炎症因子水平非正相关情况,也存在于赧桐根^[20]、蒙药阿给水^[21]等的抗炎作用机制研究中。

本研究初步阐明了山银花茎叶与花中的酚酸和三萜类成分及其含量的差异。体内外抗炎实验结果表明,山银花茎叶与花的提取物均具有显著的抗炎

活性,且二者抗炎活性相当,证实了山银花茎叶与药用部位花的等效一致性。本研究结果可为山银花茎叶用于治疗相关炎症性疾病以及进一步的研究利用提供科学参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 32.
- [2] 李重莹, 王定韦, 刘宏伟, 等. 山银花及其提取物的生物学功能和在畜禽养殖中的应用[J]. 中国畜牧杂志, 2023, 59(4): 7-11.
- [3] 王志辉, 周新茹, 成惠珍, 等. 基于多元统计分析的山银花抗氧化与抑菌质量标志物预测[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(7): 1105-1111.
- [4] 曾安琪, 华 桦, 陈朝荣, 等. 金银花、山银花抗炎药理作用研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16): 3938-3944.
- [5] 黄玉娟, 舒一崧, 孔 静, 等. 基于特征图谱的金银花与山银花(灰毡毛忍冬)质量表征比较研究[J]. 环球中医药, 2020, 13(4): 600-610.
- [6] 史颖珠, 侯建波, 谢 文, 等. 液相色谱-串联质谱法测定山银花中有机酸和黄酮类化合物的含量[J]. 现代食品科技, 2021, 37(3): 275-285.
- [7] 罗 艳, 杨 柳, 涂晓琴, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射法同时测定山银花提取物中5种皂苷的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1914-1919.
- [8] 周 峰, 颜扬礼, 黄 凯, 等. 山银花不同萃取部位抗炎、抗氧化体外活性评价及化学成分分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(8): 81-87.
- [9] 朱香梅, 李 晴, 石雨荷, 等. 山银花的研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 世界中医药, 2022, 17(13): 1860-1868.
- [10] LI H Y, XIAO M F, PAN X, et al. Comparative polypharmacokinetics of nine anti-inflammatory components of Jinyinhua (*Lonicerae Japonicae Flos*) and Shanyinhua (*Lonicerae flos*) in mice with p-xylene-induced ear edema[J]. Digital Chinese Medicine, 2023, 6(1): 73-85.
- [11] 马 懿, 熊 蓉, 肖雄峻, 等. 金银花叶乳酸杆菌发酵凉茶的研制及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 254-261.
- [12] 许晓路, 戴国庆, 韦涵峰, 等. 双水相提取金银花叶总黄酮工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 242-248.
- [13] CAI Z C, LIAO H Y, WANG C C, et al. A comprehensive study of the aerial parts of *Lonicera japonica* Thunb. based on metabolite profiling coupled with PLS-DA[J]. Phytochemical Analysis, 2020, 31(6): 786-800.
- [14] LI R J, KUANG X P, WANG W J, et al. Comparison of chemical constitution and bioactivity among different parts of *Lonicera japonica* Thunb[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(2): 614-622.
- [15] LI Y K, LI W, FU C M, et al. *Lonicerae japonicae flos* and *Lonicerae flos*: a systematic review of ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology[J]. Phytochemistry Reviews, 2020, 19(1): 1-61.
- [16] WANG Y D, HE Y, DAI Z, et al. Simultaneous determination of five triterpenoid saponins in different parts of *Lonicera macranthoides* by RRLC-MS/MS method[J]. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016, 71(6): 306-310.
- [17] MEDZHITOV R. Inflammation 2010: New adventures of an old flame[J]. Cell, 2010, 140(6): 771-776.
- [18] NATHAN C, DING A. Nonresolving inflammation[J]. Cell, 2010, 140(6): 871-882.
- [19] HUNG Y L, FANG S H, WANG S C, et al. Corylin protects LPS-induced sepsis and attenuates LPS-induced inflammatory response[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 46299.
- [20] 唐云丽, 刘君君, 谢海玉, 等. 赧桐根3种提物部位对炎症组织及血清中主要炎症因子表达的影响[J]. 中华中医药杂志(原中国医药学报), 2020, 35(8): 4135-4139.
- [21] 薛 焱, 刘欣媛, 高洪波, 等. 蒙药阿给水提物的抗炎作用及其机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(12): 1425-1429.

(本文编辑 周 旦)