

新鲜龙牙百合各萃取部位抗氧化、抗炎活性评价及化学成分分析

赵康宏^{1,2,3}, 周峰^{1,3}, 严思恩^{1,2}, 刘东波^{1,2}, 谢红旗^{1,2,3}

(1. 湖南农业大学园艺学院, 湖南长沙 410128)(2. 国家中医药管理局亚健康干预技术实验室, 湖南长沙 410128)
(3. 中兽药湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

摘要: 本文采用H₂O₂诱导的细胞氧化应激模型和脂多糖(LPS)诱导的细胞炎症模型对新鲜龙牙百合80%乙醇溶液提取物及其各萃取部位进行抗氧化、抗炎活性评价,并基于超高压液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)对具有显著活性的萃取部位进行化学成分分析。结果表明,水饱和正丁醇萃取部位(50 μg/mL)的抗氧化能力最强,可对RIN细胞中抗氧化酶活性分别提高2.78倍(SOD)、3.79倍(GSH)、6.27倍(CAT);三氯甲烷萃取部位(50 μg/mL)的抗炎活性最强,对RAW 264.7细胞内NO、TNF-α、IL-6等炎症因子的抑制率分别达55.21%、20.86%和84.95%。其中,水饱和正丁醇部位主要由12种化合物(包括1个木脂素类化合物、5个苯丙素酸和6个甾体皂苷)组成,三氯甲烷部位主要由14种化合物(包括7个苯丙素酸、1个薯蓣皂苷元和6个甾体皂苷)组成,有4个化合物为共有组分。因此,新鲜龙牙百合具抗氧化、抗炎活性的物质基础可能是苯丙素酸和甾体皂苷类化合物,且二者多集中在水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取部位。本文旨在为研究百合具生物活性的物质基础及开发利用提供理论参考。

关键词: 百合; 萃取部位; 抗氧化; 抗炎; 化学成分

文章编号: 1673-9078(2020)11-87-97

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0469

Evaluation of Antioxidant and Anti-inflammatory Activities and Analysis of Chemical Components in Different Extraction Parts of Fresh Longya

Lilium

ZHAO Kang-hong^{1,2,3}, ZHOU Feng^{1,3}, YAN Si-en^{1,2}, LIU Dong-bo^{1,2}, XIE Hong-qi^{1,2,3}

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. State Key Laboratory of Subhealth Intervention Technology, Changsha, 410128, China)

(3. Hunan Key Laboratory of Chinese Veterinary Medicine, Changsha 410128, China)

Abstract: In this paper, the oxidative stress model induced by H₂O₂ and the inflammatory model induced by lipopolysaccharide (LPS) were used to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of the extracts from 80% ethanol solution of fresh Longya *Lilium*, and the chemical components of the extraction parts with significant activities were analyzed by ultra-high pressure liquid chromatography tandem quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). The results showed that the water saturated n-butanol extract part (50 μg/mL) had the strongest antioxidant capacity, which increased the activity of antioxidant enzymes in RIN cells by 2.78 times (SOD), 3.79 times (GSH), 6.27 times (CAT); the chloroform extract part (50 μg/mL) had the strongest anti-inflammatory activity, and the inhibition rates of NO, TNF-α, IL-6 were 55.21%, 20.86% and 84.95% respectively. Among them, the water saturated n-butanol part was mainly composed of 12 compounds (including 1 lignan compound, 5 cinnamic acids and 6 steroidal saponins), and the chloroform part was mainly composed of 14 compounds (including 7 cinnamic acids, 1 diosgenin and 6 steroidal saponins), with 4 compounds as common components. Therefore, the substance basis of fresh Longya *Lilium* with antioxidant and anti-inflammatory activities may be cinnamic acids and steroidal saponins, and both are concentrated in water saturated n-butanol and chloroform extraction parts. This paper aims to provide theoretical reference for the study of the substance basis of biological activities of Longya and its utilization.

引文格式: 赵康宏,周峰,严思恩,等.新鲜龙牙百合各萃取部位抗氧化、抗炎活性评价及化学成分分析[J].现代食品科技,2020,36(11):87-97

ZHAO Kang-hong, ZHOU Feng, YAN Si-en, et al. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities and analysis of chemical components in different extraction parts of fresh Longya *Lilium* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 87-97

收稿日期: 2020-05-16

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金(2019XF5074); 湖南省现代农业产业技术体系建设专项(湘财农指[2019]0047号); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-21); 湖南省科技重大专项(2017SK1020)

作者简介: 赵康宏(1993-),男,硕士研究生,研究方向: 中药材质量分析与加工

通讯作者: 谢红旗(1974-),男,博士,教授,研究方向: 中药材质量分析与加工

IL-6 in RAW 264.7 cells were 55.21%, 20.86% and 84.95% respectively. In addition, the antioxidant activity of water saturated n-butanol extraction part was stronger than that of chloroform, and the anti-inflammatory activity of chloroform extraction part was stronger than that of water saturated n-butanol. The water saturated n-butanol part is mainly composed of 12 compounds (including 1 lignan, 5 phenylpropanoic acids and 6 steroidal saponins), the chloroform part is mainly composed of 14 compounds (including 7 phenylpropanoic acids, 1 diosgenin and 6 steroidal saponins), and 4 compounds are common components. Therefore, phenylpropanoic acid and steroidal saponins may be the material basis of fresh Longya *Lilium's* antioxidant and anti-inflammatory activities, and most of them are concentrated in the extraction parts of water saturated n-butanol and chloroform. These results provide theoretical reference for further elucidating the material basis of *Lilium's* biological activities and its development and utilization.

Key words: *Lilium*; extraction part; antioxidant; anti-inflammatory; chemical components

百合不仅是一味传统的中药材,《中国药典(2015版)》中收录了3种^[1]:卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb.、百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker、细叶百合 *Lilium pumilum* D C; 同时也是深受广大消费者青睐的食材,被卫生部列入首批药食同源中药材目录^[2]。目前研究表明^[3-5],百合中所富含的淀粉、蛋白质、氨基酸等营养成分奠定了它的食用价值,此外,百合中还富含多糖、多酚、皂苷等活性成分,使其具有显著的抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗抑郁、调节血糖等作用,赋予了百合较高的药用价值。

具药食同源属性的中药材通常表现出作为食品为人体提供营养的同时还可作为药品为人体提供保健功能的特征^[6]。当下,随着社会生活节奏的变化,越来越多的人群出现“亚健康”状态,如失眠、易烦躁、疲乏无力、精神恍惚等^[7]。通过药物改善“亚健康”的方式会使该类人群不可避免地受到药物副作用的影响,因此,通过食品干预是一种确保“亚健康”人群身体健康并有效改善其身体机能的有效途径^[8,9]。针对当下“亚健康”群体日益增加的情况,百合具有的滋阴润肺、镇静安神等功效^[10],不仅使其加入了药材行列,更赋予了其作为功能食品和常规蔬菜开发的潜力,可以使大众在享受百合鲜嫩粉糯滋味的同时,有效缓解、改善失眠多梦、虚烦惊悸、精神恍惚等亚健康状态。

目前对百合药理活性的研究表明,百合具有显著的抗炎和抗氧化活性^[11-13],但物质基础并不明确,本文将新鲜龙牙百合(百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker)采用80%乙醇溶液提取后,将其进行分级萃取,通过H₂O₂诱导的细胞氧化应激模型和脂多糖(LPS)诱导的细胞炎症模型对各萃取部位进行抗氧化和抗炎活性评价,并基于UPLC-Q-TOF-MS对具有显著活性的萃取部位进行化学成分分析,旨在为阐明百合具抗氧化、抗炎活性的物质基础及百合的进一步开发提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试剂

乙腈为色谱纯(Merck)。乙醇、石油醚(沸程60~90℃)、三氯甲烷、正丁醇、乙酸乙酯、二甲基亚砜(DMSO)均为分析纯购自国药集团(上海)化学试剂有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽酶(GSH)和生化检验试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;DMEM培养基、1640培养基、胎牛血清(FBS)、2,7-二氢二氯荧光黄(DCFH-DA)购自赛默飞世尔科技公司;0.25% EDTA-胰蛋白酶、谷氨酰胺购自北京金全生物技术有限公司;白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)购自美国Proteintech公司;脂多糖(LPS)购自美国Sigma公司;RAW264.7和RIN细胞取自湖南农业大学亚健康技术干预实验室。

1.2 材料

新鲜龙牙百合由湖南省绿远农业发展有限公司提供(2019年6月28日),并经湖南农业大学园艺学院曾建国教授鉴定为百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker。

1.3 仪器

1290超高压液相色谱串联6545四极杆飞行时间质谱(HPLC-Q-TOF-MS),Agilent Technologies Palo Alto CA USA;PW-812全自动酶标洗板机、MB-530多功能酶标分析仪,深圳市汇松科技发展有限公司;DHP-500电热恒温培养箱,北京市永光明医疗仪器有限公司;H1650R台式高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.4 方法

1.4.1 样品的制备

称取100g鲜百合,加入2L80%乙醇溶液匀浆后于40℃下超声提取30min,将残渣重复提取2次,

合并滤液并将其减压浓缩至无醇味。依次采用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、水饱和正丁醇按照 $V/V=1:2$ 逐级萃取 3~5 次, 直至有机层无色, 合并有机层, 加入适量蒸馏水, 减压浓缩至无刺激性气味, 将悬浊液制成冻干粉备用。将所得冻干粉分别标注为: 80%乙醇溶液总提取物-EtOHP, 石油醚部分-PetP, 三氯甲烷部分-TriP, 乙酸乙酯部分-EthP, 水饱和正丁醇部分-ButP。

1.4.2 各萃取部位的抗炎活性评价

1.4.2.1 供试品溶液的配制

将 2.1 中所得冻干粉样品用 DMSO 分别配制成 100 mg/mL 的储备液, 使用时用 DMEM 培养基稀释至终浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.4.2.2 细胞培养

RAW 264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养基 (完全培养基) 培养, 置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 、饱和湿度的细胞培养箱中培养。待细胞生长至对数生长期进行传代, 2~3 d 传代 1 次并取第 3 代的细胞用于实验。

1.4.2.3 各萃取部位对 RAW 264.7 细胞生长的影响

取对数生长期的 RAW 264.7 细胞使用 0.25% EDTA-胰蛋白酶消化 2 min 后, 弃胰酶, 加入 2 mL 完全培养基, 轻轻吹打成单细胞悬液, 离心弃上清, 用 DMEM 完全培养基重悬细胞并计数, 使细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 按每孔 100 μL 接种至 96 孔培养板, 至培养箱培养 24 h, 待细胞良好贴壁生长, 随机分为对照组、加入冻干粉 (50 $\mu\text{g/mL}$) 的试验组、LPS 模型组, 换入新的培养基及药物, 每组设 3 个复孔, 继续培养 24 h, 并提前 2 h 按每孔 10 μL 加入 CCK-8 试剂, 共培养 2 h 后, 使用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度值。

1.4.2.4 炎症因子检测

取对数生长期的 RAW 264.7 细胞, 胰酶消化后用完全培养基轻轻吹打成单细胞悬液, 调整细胞悬液的密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 按每孔 100 μL 接种至 96 孔培养板, 培养 24 h, 待细胞贴壁生长后随机分为对照组、LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) 组、LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) + 冻干粉 (50 $\mu\text{g/mL}$) 组, 每组设 3 个复孔, 培养 24 h, 取上清液用于 NO、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 等炎症因子的检测, 并使用胰酶消化细胞, 收集细胞沉淀用于 NO 的检测。

1.4.3 各萃取部位的抗氧化活性评价

1.4.3.1 细胞培养

将 RIN 细胞培养于 10% FBS+1% 双抗的 1640 培养基中, 2~3 d 换一次液, 细胞汇合率达 80% 左右, 胰酶消化细胞, 一分为二进行细胞传代。

1.4.3.2 抗氧化因子的检测

取对数生长期的 RIN-m5F 细胞, 胰酶消化后用完

全培养基轻轻吹打成单细胞悬液, 调整细胞悬液的密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 按每孔 100 μL 接种至 96 孔培养板, 培养 24 h。取对数生长的细胞进行如下分组的处理。

表 1 不同萃取部位抗氧化因子检测的处理方式

Table 1 The treatment method of antioxidant factor detection in different extraction parts

编号	细胞处理步骤
空白组	细胞不做任何处理, 收样进行后续检测
H_2O_2	500 μM H_2O_2 处理 6 h 后收样进行后续检测
H_2O_2 +EtOHP	
H_2O_2 +ButP	药物处理 24 h, 去除培养基, 用 PBS 洗涤, 再用 500 μM H_2O_2 处理 6 h 后收样进行后续检测
H_2O_2 +EthP	
H_2O_2 +TriP	
H_2O_2 +PetP	

每组设 3 个复孔, 取上清液用于超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽酶 (GSH) 等因子的检测。

1.4.3.3 ROS 的检测

- (1) 细胞培养如上, 分组及处理一致。
- (2) 按照 1:1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA, 使终浓度为 10 μM 。
- (3) 去除细胞培养液, 加入适当体积稀释好的 DCFH-DA。加入的体积以能充分盖住细胞为宜。
- (4) 37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱内孵育 20 min。用无血清细胞培养液洗涤细胞三次, 以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。
- (5) 用胰酶消化收集。
- (6) 在流式细胞仪观察检测。

1.4.4 UPLC-Q-TOF-MS 法分析各萃取物化学成分

1.4.4.1 供试品溶液的配制

将 2.1 中所得 5 个冻干粉用甲醇分别配制为 1.0 mg/mL 的供试品溶液。

1.4.4.2 色谱条件

采用安捷伦 1290 色谱系统, Agilent-ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm), DAD 检测器, 以 A 相 0.1% 甲酸水, B 相乙腈作为流动系统, 采用梯度洗脱: B 相 (%) 0~5 min 为 10%~10%, 5~15 min 为 10%~20%, 15~30 min 为 20%~40%, 30~35 min 为 40%~50%, 40~45 min 为 50%~95%, 45~50 min 为 95%。柱温 30 $^\circ\text{C}$, 进样量 1.0 μL , 流速 0.15 mL/min。

1.4.4.3 质谱条件

基于安捷伦 6545 Q-TOF-MS 质谱系统, 通过优化

质谱条件,采用负离子模式电喷雾电离离子源(ESI-),TOF 质量扫描范围 m/z 100~3000;载气温度 325 °C,流速 9 L/min;雾化压力 35 psig;鞘气温度 350 °C,流速 11 L/min;毛细管电压 3500 V;碰撞诱导解离电压 175 V,设置能量梯度为 15~25 V 3 个梯度。

1.4.5 数据处理

采用 Origin 2018 进行数据处理及绘图;所有的统计学方差分析(ANOVA)、差异性分析(Paired-Sample T Test)均采用 SPSS 23.0,结果均表示为:平均值±标准偏差(SD)。

2 结果与讨论

2.1 抗氧化活性评价

2.1.1 RIN-m5F 细胞 ROS 检测

DCFH-DA 是迄今最常用、最灵敏的细胞内活性氧检测探针,DCFH-DA 进入细胞后被酯酶水解为 DCFH,当活性氧存在时 DCFH 不能透过细胞膜的强绿色荧光物质 DCF 而被荧光酶标仪检测^[14]。

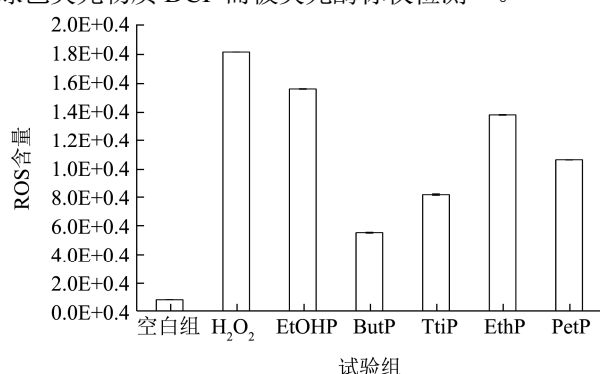


图1 ROS 荧光统计图

Fig.1 Fluorescence statistical chart of ROS

注:80%乙醇溶液总提取物-EtOHP,石油醚萃取部分-PetP,三氯甲烷萃取部分-TriP,乙酸乙酯萃取部分-EthP,水饱和正丁醇萃取部分-ButP,模型组-H₂O₂。

本文通过对 H₂O₂ 诱导的 RIN 细胞及经龙牙百合中各萃取物处理后的 ROS 含量进行检测,结果表明(图1),龙牙百合 80%乙醇溶液提取物及水饱和正丁醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚等四个萃取部位(50 μg/mL)处理可分别降低 14.05%、69.43%、54.80%、23.91%、41.45% RIN 细胞内 ROS 的含量,并且在 $p<0.01$ 水平均具有显著性差异。其中,水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取部位的效果最显著,可使 H₂O₂ 诱导的 RIN 细胞内的 ROS 含量分别降低 69.43%、54.80%,水饱和正丁醇萃取部位的抑制能力相对更显著。

2.1.2 RIN-m5F 细胞中抗氧化因子的检测

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内对抗氧自由

基的一种最重要的抗氧化酶,专门用于清除超氧阴离子自由基^[15]。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)主要存在于生物体的线粒体或细胞液中,它不仅清除 H₂O₂,同时还可以清除脂质过氧化物,是机体内重要的抗氧化酶之一,GSH 作为 GSH-PX 清除脂质过氧化物反应中的还原物质,是必不可少的,同时它也能有效清除细胞内自由基^[16]。组织细胞内定位于细胞器的 CAT 与产生 H₂O₂ 的需氧脱氢酶类(氨基酸氧化酶等)同时存在,能够有效调节体内 H₂O₂ 水平,及时消除 H₂O₂ 的有害影响。过氧化氢酶是在生物演化过程中正常细胞内清除氧自由基和生物防御系统的关键酶之一,其生物学功能是催化细胞内过氧化氢分解,防止过氧化,帮助减缓细胞衰老,从而保护细胞免受氧自由基等氧化物的损害,抑制细胞受氧化因素刺激诱导的凋亡^[17]。

根据文献报道,百合及其深加工产品均具有显著的抗氧化活性,方晟等^[18]研究了兰州百合发酵过程中有机酸对超氧自由基、羟自由基、DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力及还原力,结果表明百合发酵过程中产生的有机酸具有显著的抗氧化活性。赵康宏等^[19]通过对龙牙百合干中 80%乙醇溶液提取物对 DPPH·、ABTS⁺、FRAP 等指标进行抗氧化活性评价,并分析了其中所含的酚类化合物,结果表明,龙牙百合干 80%乙醇溶液提取物中含有 7 种具有显著抗氧化活性的酚酸类化合物。但是,上述研究均是采用体外化学抗氧化评价方式,虽然具有经济、快速的优点,但都是化学反应体系,与机体联系不紧密,往往出现体外抗氧化活性评价结果与体内试验不对应的情况,因此需要构建体外抗氧化评价细胞模型,从而相对真实地反应活性物质的抗氧化能力^[20]。

此外,He 等^[21]对 10 种枳壳乙醇提取物的抗氧化活性评价结果表明,枳壳的乙醇提取物(100 μg/mL)能显著降低 H₂O₂ 诱导的 RIN 细胞内的 ROS 含量($p<0.01$),且能有效提高 GSH、CAT、SOD 等 3 个抗氧化酶的活性($p<0.01$)。Fan 等^[22]采用水饱和正丁醇和乙酸乙酯对海棠叶的 80%乙醇溶液提取物进行萃取,通过细胞试验结果表明,各部位均能显著抑制 H₂O₂ 诱导的 HepG-2 细胞内 ROS 生成,减轻氧化应激损伤,减少细胞凋亡。本文通过评价龙牙百合 80%乙醇溶液提取物的各萃取部位对 H₂O₂ 诱导的 RIN 细胞中各抗氧化酶活性的影响,结果表明(如图 2、3、4 所示),龙牙百合 80%乙醇溶液总提取物及各萃取部位(50 μg/mL)对 RIN 细胞中抗氧化因子 SOD、GSH、CAT 均有一定的提升作用。80%乙醇溶液总提取物及水饱和正丁醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚等四个

萃取部位可使 H₂O₂ 诱导的 RIN 细胞中 SOD 浓度分别提高 1.57、2.78、2.24、1.66、1.87 倍；使 GSH 浓度提高 1.56、3.79、3.08、1.83、2.52 倍；使 CAT 浓度提高 1.90、6.27、4.58、2.19、3.37 倍。说明水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取部位对 RIN 细胞抗氧化因子指标的提升较明显，与 H₂O₂ 处理组在 $p < 0.01$ 水平具有极显著差异，其中，水泡和正丁醇处理组对三个抗氧化指标的提升最显著，分别达 2.78 倍 (SOD)、3.79 倍 (GSH)、6.27 倍 (CAT)。因此，龙牙百合能够有效的缓解细胞内的氧化应激状态。

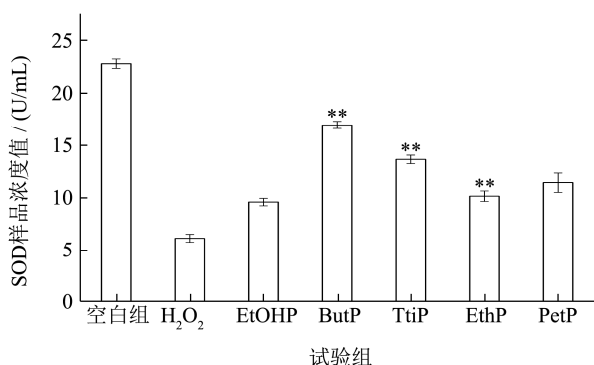


图 2 各萃取部位处理对细胞 SOD 值的影响

Fig.2 Effect of each extraction part treatment on SOD of cells

注: * $p < 0.05$, 与对照组相比; ** $p < 0.01$, 与对照组相比。

下同。

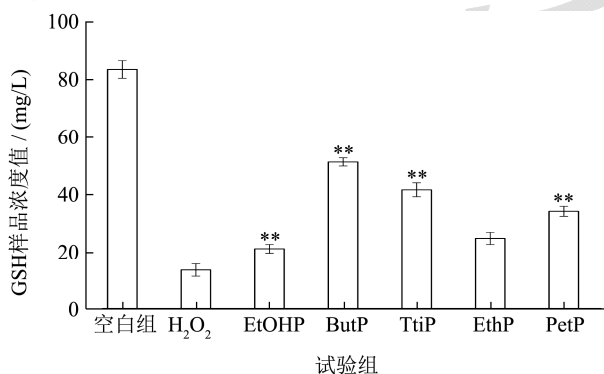


图 3 各萃取部位处理对细胞 GSH 值的影响

Fig.3 Effect of each extraction part treatment on GSH of cells

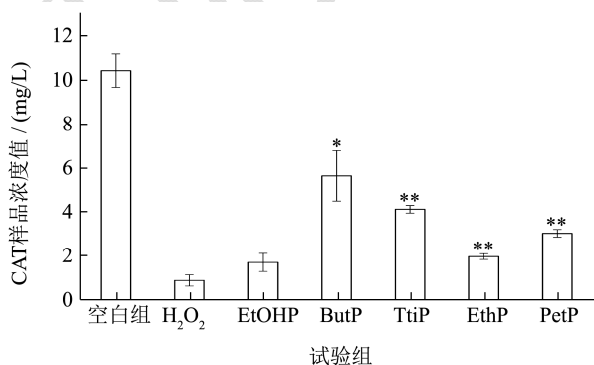


图 4 各萃取部位处理对细胞 CAT 值的影响

Fig.4 Effect of each extract site treatment on CAT of cells

2.2 抗炎活性评价

2.2.1 不同萃取部位对细胞活性的影响

通过龙牙百合 80%乙醇溶液提取物及其各萃取部位处理 24 h 的细胞活性试验里，与对照组相比，如图 5 所示，当各萃取部位的处理浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时，对 RAW 264.7 细胞株的生长无显著性差异，说明龙牙百合 80%乙醇溶液提取物及其各萃取部位 (50 $\mu\text{g/mL}$) 对 RAW 264.7 细胞无明显的毒性作用。

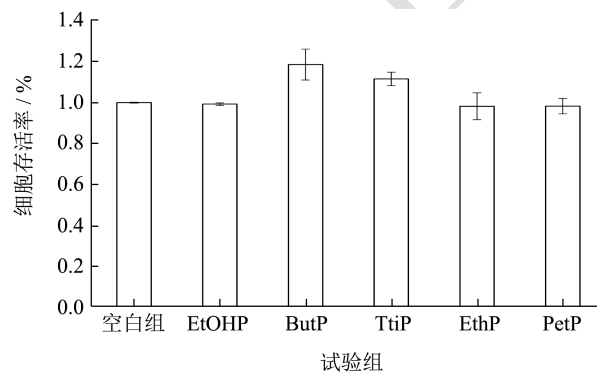


图 5 各萃取部位处理对细胞存活率的影响

Fig.5 Effect of each extraction part treatment on cell survival rate

2.2.2 抗炎活性

过量的 NO 具有细胞毒性作用，可杀死胞内细菌、寄生虫及肿瘤细胞，并且直接损伤血管内皮，导致血管通透性增高。炎症因子可以导致发热，疼痛，血管扩张，通透性升高，白细胞渗出等炎症反应^[23]。高浓度的 NO 可以直接损害 DNA，及其含有 FeS 的酶；也可以激活周围组织的鸟苷酸环化酶，使 cGMP 水平增高而产生毒性作用^[24]。IL-6 能使胰岛 β 细胞前体成为产生抗体从而诱导细胞发生炎症^[25]；肿瘤坏死因子 (TNF) $-\alpha$ 是一种在多种免疫性及炎症疾病中有重要作用的细胞因子，可以通过诱导 NO 生成促进细胞发生凋亡，也可通过对血管内皮细胞的损伤和对血小板的活化作用，造成血凝功能异常，加重微循环障碍^[26]。

Lee 等^[27]的研究表明，卷丹百合的提取物可有效降低小鼠肺部的炎症因子，从现代药理学的角度初步阐述了百合具有滋阴润肺功效的药理基础。Kwon 等^[28]通过研究卷丹百合甲醇提取物对 RAW 264.7 炎症因子的影响，结果表明，卷丹百合甲醇提取物能有效抑制 iNOS 和 COX-2 的活性。但是，卷丹百合多为药用百合，味苦，而龙牙百合无苦味，口感鲜嫩粉糯，兼具药食属性，关于其抗炎活性评价的报道相对较少，因此，本文通过评价龙牙百合 80%乙醇溶液提取物及其各萃取部位 (50 $\mu\text{g/mL}$) 对 LPS 刺激的 RAW 264.7 细胞中各抗炎因子的影响，结果表明 (如表 2 所示)，

鲜龙牙百合 80%乙醇溶液提取物及其各萃取部位对 RAW 264.7 细胞释放 NO、TNF- α 和 IL-6 具有不同程度的抑制作用,表现出较好的体外抗炎活性。从各萃取部位对 RAW 264.7 细胞炎症因子的影响来看,水饱和和正丁醇和三氯甲烷萃取部位对各炎症因子的抑制作用较显著 ($p < 0.01$),其中,水饱和和正丁醇萃取部位可

显著降低 RAW 264.7 细胞内 85.27% NO 含量、6.95% TNF- α 含量和 25.87% IL-6 含量,三氯甲烷萃取部位可显著降低 RAW 264.7 细胞内 55.21% NO 含量、20.86% TNF- α 含量和 84.95% IL-6 含量。因此,三氯甲烷萃取部位处理浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时对 RAW264.7 细胞炎症因子的抑制能力相对更强。

表 2 不同萃取部位处理对 LPS 诱导的细胞 NO/TNF- α /IL-6 含量的影响

Table 2 Effects of each extract site treatment on production of NO, TNF- α , and IL-6 in LPS-stimulated RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	质量浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	NO/ $(\mu\text{mol/mL})$	TNF- α / (pg/mL)	IL-6/ (pg/mL)
对照组	--	4.45	20.05 \pm 0.42	7.58 \pm 0.82
模型组 (LPS)	--	11.81	460.99 \pm 3.54	154.57 \pm 1.09
LPS+EtOHP	50	6.57**	427.90 \pm 3.60**	89.83 \pm 0.79**
LPS+ButP	50	1.74**	428.96 \pm 3.44**	114.59 \pm 2.74**
LPS+EthP	50	14.77	454.58 \pm 2.99	50.46 \pm 1.10**
LPS+TriP	50	5.29**	364.85 \pm 1.68**	23.26 \pm 1.37**
LPS+PetP	50	23.53	417.66 \pm 2.75**	54.83 \pm 0.97**

注: ** $p < 0.01$, 与模型组比较。

此外,根据文献报道,很多药食同源中药材均具有显著的抗炎活性,曾安琪等^[29]通过细胞试验评价金银花、山银花提取物的体外抗炎活性,结果表明,二者的提取物均可降低 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 含量以及减少 IL-1 β , IL-6, TNF- α 等细胞因子的释放,并下调细胞中环氧酶 1 (COX1)、COX-2、一氧化氮合酶 (iNOS) 以及 NF- κ B p65 的蛋白表达量。黄颖等^[30]通过蜂蜜多酚提取物对急性酒精所致大鼠肝损伤保护作用的研究结果表明,蜂蜜多酚提取物对大鼠急性酒精性肝损伤具有明显的保护作用,能显著降低炎症大鼠体内的炎症因子水平。

综上所述,龙牙百合是一种具有抗炎、抗氧化活性的药食同源中药材,其 80%乙醇溶液提取物及其不同萃取部位均表现出一定的活性,但主要集中在水饱和和正丁醇和三氯甲烷部分。其中,水饱和和正丁醇萃取部位具有更显著的抗氧化活性,三氯甲烷萃取部位具有更显著的抗炎活性。此外,由于水饱和和正丁醇和三氯甲烷萃取部位的活性均强于 80%乙醇溶液提取物,说明百合中具有抗炎和抗氧化活性的化合物的极性相对较大,更接近于水饱和和正丁醇和三氯甲烷,因此,采用三氯甲烷、水饱和和正丁醇可以对其有效富集,同时可提高后续的分离纯化效率。

2.3 LC-MS 结果与分析

活性评价结果表明,龙牙百合中具显著抗氧化、抗炎活性的化合物主要集中在水饱和和正丁醇和三氯甲烷萃取部位,但是二者的抗炎和抗氧化能力有差异。为探究百合具有活性的物质基础,本文通过 UPLC-Q-

TOF-MS 对水饱和和正丁醇和三氯甲烷萃取部位进行化学成分分析,结果表明(如图 6 所示),两个萃取部位的总离子流图(TIC)存在明显差异(即:化合物的含量和种类具有显著差别),这可能是导致这两个萃取部位具有不同活性的主要原因。

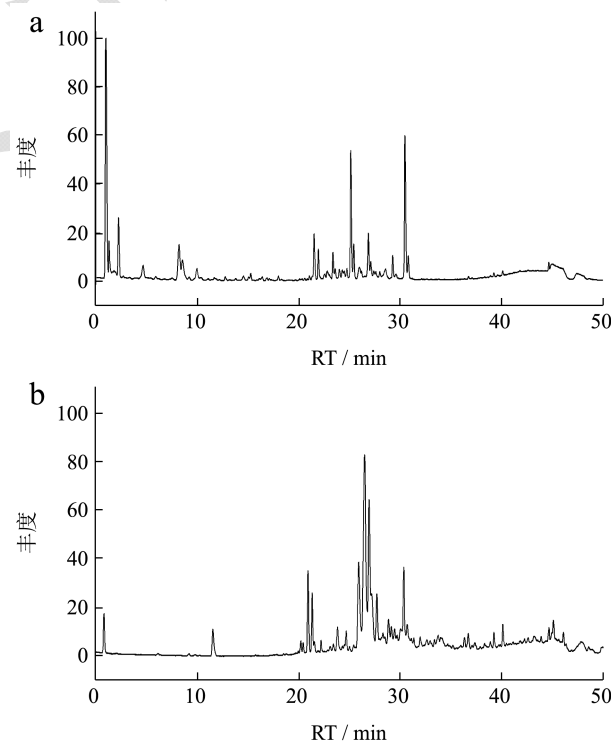


图 6 具显著活性的萃取部位的总离子流图 (TIC)

Fig.6 The total ions chromatogram (TIC) of extract parts with significant activity

注: a: 正丁醇提取部位; b: 三氯甲烷提取部位。

表3 水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取部位所含化合物的LC-MS分析(负离子模式)

Table 3 The LC-MS analysis of the compounds from the extraction parts of water saturated n-butanol and chloroform (negative ion mode)

峰号	RT/min	<i>m/z</i> [M-H] ⁻	MS/MS 离子碎片信息	分子式	名称	来源
1	2.220	232.1192	102.0573,146.0825	C ₁₄ H ₁₈ O ₃	Cyclocostunolide ^[31]	B
2	4.479	415.1248	119.1022,135.0459, 163.0423,179.0352	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	1- <i>O</i> -caffeoyl-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosylglycerol ^[32]	B
3	8.201	399.1300	119.0518,145.0305, 163.0408	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	1- <i>O</i> -caffeoyl-2- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroylglycerol ^[33]	B
4	8.533	399.1070	119.0516,145.0304, 163.0408	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	1- <i>O</i> -caffeoyl-3- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroylglycerol ^[33]	B
5	9.979	429.1174	134.0386,175.0417, 193.0517,267.0905	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₁	1- <i>O</i> -feruloyl-2- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosylglycerol ^[34]	B
6	11.640	267.0871	162.0478,193.0517	C ₁₃ H ₁₆ O ₆	6- <i>O</i> -feruloylglycerol ^[5]	T
7	20.279	414.1009	271.0414	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	Diosgenin ^[35]	T
8	20.545	882.4630	414.1005,453.5020, 576.1065	C ₄₅ H ₇₄ NO ₁₆	(22 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-spirosol-5-en-3β-yl <i>O</i> - <i>R</i> - <i>L</i> -rhamnopyranosyl- (1→2)-β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→4)- β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[36]	T
9	21.991	723.4260	175.0373,225.1622, 677.4981	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₃	(25 <i>R</i>)-5α-spirostan-3β,17α-diol 3- <i>O</i> -α- <i>L</i> -arabinopyranosyl (1→6)- β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[37]	T/B
10	22.306	924.4891		C ₄₆ H ₈₇ NO ₁₇	(22 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-spirosol-5-en-3β-yl <i>O</i> -α- <i>L</i> - rhamnopyranosyl-(1→2)-[6- <i>O</i> -acetyl-β- <i>D</i> -g- lucopyranosyl-(1→4)]-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[36]	B
11	23.353	1063.4960		C ₅₁ H ₈₄ O ₂₃	(25 <i>R</i>)-26- <i>O</i> -(β- <i>D</i> -glucopyranosyl) -furost-5-en-3β,22α,26-triol 3- <i>O</i> -α- <i>L</i> - -rhamnopyranosyl-(1→2)-β- <i>D</i> -glucopyranosyl -(1→4)-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[36]	T
12	23.918	429.1190	134.0386,175.0417, 193.0517,267.0905	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	1- <i>O</i> -feruloyl-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> - glucopyranosylglycerol ^[34]	T/B
13	25.164	899.4422		C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	(25 <i>S</i>)-27-hydroxyspirost-5-en-3β-yl <i>O</i> -α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1→2)- <i>O</i> -[β- <i>D</i> - glucopyranosyl-(1→6)]-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[38]	B
14	25.308	913.4572		C ₄₆ H ₇₄ O ₁₈	(25 <i>R</i> ,26 <i>R</i>)-26-methoxyspirost-5-en-3β-yl <i>O</i> -α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1→2)- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -glucopyranosyl -(1→6)]-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[38]	B
15	26.011	413.1247	119.0524,134.0385, 163.0414,177.0559,193.0518, 219.0665,235.0619	C ₂₂ H ₂₂ O ₈	1- <i>O</i> -feruloyl-3- <i>O</i> - <i>p</i> - coumaroylglycerol ^[39]	T
16	26.560	413.1262	119.0524,134.0385,163.0414, 177.0559,193.0518,219.0665, 235.0619	C ₂₂ H ₂₂ O ₈	1- <i>O</i> -feruloyl-2- <i>O</i> - <i>p</i> - coumaroylglycerol ^[39]	T

转下页

接上页

17	26.892	1043.5081		C ₅₁ H ₈₀ O ₂₂	27- <i>O</i> -[(3 <i>S</i>)-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl 3-methylglutaroyl]isonarthogenin 3- <i>O</i> -[α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1→2)]-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[40]	T
18	27.058	443.1362	134.0386,193.0513,249.0791,175.0404,207.0679,428.1125	C ₂₃ H ₂₄ O ₉	1,3- <i>O</i> -diferuloylglycerol ^[39]	T
19	27.739	443.1353	134.0386,193.0513,249.0791,175.0404,207.0679,428.1125	C ₂₃ H ₂₄ O ₉	1,2- <i>O</i> -diferuloylglycerol ^[39]	T
20	28.886	295.2335	162.0504,179.0352	C ₁₄ H ₁₆ O ₇	1- <i>O</i> -caffeoyl-3- <i>O</i> -acetylglycerol ^[5]	T
21	29.284	1043.5080		C ₅₁ H ₈₀ O ₂₂	26- <i>O</i> -[(3 <i>S</i>)-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl 3-methylglutaroyl] isonarthogenin 3- <i>O</i> -[α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1→6)]-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[40]	T/B
22	30.431	881.4549	143.0365,163.0626,179.0565,205.0738,247.0819,737.4117,779.4209,819.4592	C ₄₅ H ₇₁ O ₁₇	(25 <i>R</i>)-27- <i>O</i> -3-hydroxy-3-methylglutaryl-spirosol-5-en-3β-yl <i>O</i> -α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→6)-β- <i>D</i> -glucopyranoside ^[36]	T/B

注: T-三氯甲烷萃取部位; B-水饱和正丁醇萃取部位。

通过二级质谱扫描并结合文献报道及检索 Chemspider 数据库对其中所含化合物进行分析, 结果表明 (如表 3 所示), 水饱和正丁醇部位主要包含 12 种化合物, 分别是: Cyclocostunolide、1-*O*-caffeoyl-3-*O*-β-*D*-glucopyranosylglycerol、1-*O*-caffeoyl-2-*O*-*p*-coumaroylglycerol、1-*O*-caffeoyl-3-*O*-*p*-coumaroylglycerol、1-*O*-feruloyl-2-*O*-β-*D*-glucopyranosylglycerol、(25*R*)-5α-spirostan-3β,17α-diol 3-*O*-α-*L*-arabinopyranosyl (1→6)-β-*D*-glucopyranoside、(22*R*,25*R*)-spirosol-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-[6-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl-(1→4)]-β-*D*-glucopyranoside、1-*O*-feruloyl-3-*O*-β-*D*-glucopyranosylglycerol、(25*S*)-27-hydroxyspirost-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*,26*R*)-26-methoxyspirost-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranoside、26-*O*-[(3*S*)-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl 3-methylglutaroyl] isonarthogenin 3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*)-27-*O*-3-hydroxy-3-methylglutaryl-spirosol-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyl-β-*D*-glucopyranoside 等。三氯甲烷部位主要含有 14 种化合物, 分别是: 6-*O*-feruloylglycerol、Diosgenin、(22*R*,25*R*)-spirosol-5-en-3β-yl *O*-*R*-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyl-(1→4)-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*)-5α-spirostan-3β,17α-diol-3-*O*-α-*L*-arabinopyranosyl(1→6)-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*)-26-*O*-(β-*D*-glucopyranosyl)-furost-5-en-3β,22α,26

-triol 3-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyl-(1→4)-β-*D*-glucopyranoside、1-*O*-feruloyl-3-*O*-β-*D*-glucopyranosylglycerol、1-*O*-feruloyl-3-*O*-*p*-coumaroylglycerol、1-*O*-feruloyl-2-*O*-*p*-coumaroylglycerol、27-*O*-[(3*S*)-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl 3-methylglutaroyl] isonarthogenin 3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)]-β-*D*-glucopyranoside、1,3-*O*-diferuloylglycerol、1,2-*O*-diferuloylglycerol、1-*O*-caffeoyl-3-*O*-acetylglycerol、26-*O*-[(3*S*)-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl 3-methylglutaroyl] isonarthogenin 3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*)-27-*O*-3-hydroxy-3-methylglutaryl-spirosol-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyl-β-*D*-glucopyranoside 等。其中 (25*R*)-5α-spirostan-3β,17α-diol 3-*O*-α-*L*-arabinopyranosyl (1→6)-β-*D*-glucopyranoside、1-*O*-feruloyl-3-*O*-β-*D*-glucopyranosylglycerol、26-*O*-[(3*S*)-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl 3-methylglutaroyl] isonarthogenin 3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranoside、(25*R*)-27-*O*-3-hydroxy-3-methylglutaryl-spirosol-5-en-3β-yl *O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyl-β-*D*-glucopyranoside 等 4 种化合物为水饱和正丁醇和三氯甲烷中共有。

龙牙百合中在三氯甲烷和水饱和正丁醇萃取部位的化学成分主要是苯丙素酸和甾体皂苷, 这两类化合物均具有显著的抗氧化和抗炎活性, 其中, 水饱和正丁醇萃取部位所含的 12 个化合物主要包括 1 个木脂素类化合物、5 个苯丙素酸和 6 个甾体皂苷, 三氯甲烷萃取部位所含的 14 个化合物主要包括 7 个苯丙素酸、

1个薯蓣皂苷元和6个甾体皂苷。匡鑫等^[41]对棕榈花蕾中苯丙素类化合物进行分离纯化后进行抗炎活性评价,结果表明,5-*O*-caffeoylshikimic acid对LPS诱导RAW 264.7细胞NO生成具有明显抑制作用。冉玲等^[42]通过对丁香酸、香草酸、没食子酸、咖啡酸、芥子酸、阿魏酸等六种酚酸进行体外抗氧化活性评价(ABTS⁺·清除能力、DPPH·清除能力、还原力和氧自由基吸收能力等四个指标),结果表明,酚酸具有显著的抗氧化活性且均强于谷胱甘肽。Wang等^[43]将富含皂苷的百合醇提物对炎症小鼠进行处理,结果表明,百合中的皂苷类化合物对小鼠的炎症因子具有显著的抑制作用,且与抗炎作用呈现正相关。周中流^[44]等将从百合中分离纯化所得的6种甾体皂苷进行体外抗氧化活性评价,结果表明,这6种甾体皂苷均对ABTS和DPPH自由基具有不同程度的清除作用。

综上所述,苯丙素酸和甾体皂苷可能正是百合具有抗炎、抗氧化活性的物质基础,此外,由于通过水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取,可以使百合中具生物活性的苯丙素酸和甾体皂苷有效富集,因此本试验也可为提高分离制备的效率提供理论参考。

3 结论

3.1 龙牙百合自宋代以来便是一种宫廷贡品,不仅药用渊源久远,食用渊源亦然,但对其药理活性的研究相对较少。本文通过细胞模型对鲜百合中不同萃取部位进行体外抗炎和抗氧化活性评价,并基于UPLC-Q-TOF-MS对具显著活性的萃取部位进行化学成分分析。结果表明,百合中具有显著抗氧化和抗炎活性的化合物主要集中在水饱和正丁醇和三氯甲烷萃取部位,水饱和正丁醇萃取部位(50 μg/mL)的抗氧化活性最强,可对RIN细胞中抗氧化酶活性分别提高2.78倍(SOD)、3.79倍(GSH)、6.27倍(CAT);三氯甲烷萃取部位的抗炎活性最强,对RAW264.7细胞内NO、TNF-α、IL-6等炎症因子的抑制率分别达55.21%、20.86%和84.95%。其中,三氯甲烷部位含有14种化合物,该萃取部位表现出显著的抗炎活性;水饱和正丁醇部位含有12种化合物,该萃取部位具有显著的抗氧化活性。结果同时表明,百合中活性成分的极性偏大,在低极性部位含量较少,采用水饱和正丁醇和三氯甲烷可以有效富集。此外,本文可为进一步揭示百合具有抗炎、抗氧化等药理活性的物质基础提供帮助。

3.2 综上所述,百合不仅是一道美食,也是一种具有功能食品属性的药食同源中药材,其中所含的苯丙素酸和甾体皂苷类化合物更是具有作为功能食品原料或

是原料药开发的潜力。但是,本文不能阐明化合物与活性之间具体的量效关系,并且,化合物与活性指标之间的亲和力不一致,因此,关于“化合物-活性”的药理学研究,还有待进一步研究,如通过亲和超滤串联质谱技术等手段,进一步阐明化合物与活性的准确量效关系。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 132
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 132
- [2] HOU Yan, JIANG Jian-guo. Origin and concept of medicine food homology and its application in modern functional foods [J]. Food Function, 2013, 4(12): 1727-1741
- [3] 罗林明, 覃丽, 裴刚, 等. 百合属植物甾体皂苷成分及其药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1416-1426
LUO Ling-ming, QIN Li, PEI Gang, et al. Advances in studies on steroidal saponins and their pharmacological activities in genus *Lilium* [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 43(7): 1416-1426
- [4] 胡悦, 杜运鹏, 张梦, 等. 12种百合主要营养成分和活性成分的分析评价[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(2): 292-298
HU Yue, DU Yun-peng, ZHANG Meng, et al. Characters and comprehensive evaluation of nutrients and active components of 12 *Lilium* species [J]. Research and Development of Matural Products, 2019, 31(2): 292-298
- [5] 刘鹏, 林志健, 张冰. 百合的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23: 201-211
LIU Peng, LIN Zhi-jian, ZHANG Bin. Research progress on chemical constituents and pharmacological effect of *Lilium Bulbus* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23: 201-211
- [6] Chau C F, Wu S H. The development of regulations of Chinese herbal medicines for both medicinal and food uses [J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(6): 313-323
- [7] BI Jian-lu, CHEN Jing, SUN Xiao-min, et al. The development and evaluation of a sub-health self-rating scale for university students in China [J]. BMC Public Health, 2019, 19(1): 330
- [8] 文涛. 中医“治未病”及亚健康干预研究[J]. 现代养生, 2012, 14: 4-5
WEN Tao. Research on "prevention of disease" and sub-health intervention of traditional Chinese medicine [J]. Modern

- Health Preservation, 2012, 14: 4-5
- [9] Sun-Waterhouse D, Wadhwa S S. Industry-relevant approaches for minimising the bitterness of bioactive compounds in functional foods: A Review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(3): 607-627
- [10] 李玉帆,明军,王良桂,等.百合基本营养成分和活性物质研究进展[J].中国蔬菜,2012,24:7-13
LI Yu-fang, MING Jun, WANG Liang-gui, et al. Research progress on basic nutritional and bioactive substances of lily [J]. China Vegetables, 2012, 24: 7-13
- [11] JIN Lei, ZHANG Yan-long, YAN Lin-mao, et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of bulb extracts of six *Lilium* species native to China [J]. Molecules, 2012, 17(8): 9361
- [12] Jin L, Zhang Y L, Liang Z X, et al. Phenolic compounds and antioxidant properties of bulb extracts of *Lilium leucanthum* (Baker) Baker native to China [J]. Quality Assurance & Safety of Crops & Foods, 2014, 1(1): 1-11
- [13] Thi N N, Song H S, Oh E, et al. Phenylpropanoids from *Lilium* Asiatic hybrid flowers and their anti-inflammatory activities [J]. Applied Biological Chemistry, 2017, 60(5): 1-7
- [14] Fridlyand L E, Philipson L H. Oxidative reactive species in cell injury: Mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2005, 1066: 136-151
- [15] Cemek M, Kaga S, Simsek N, et al. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Journal of Natural Medicines, 2008, 62(3): 284-293
- [16] Hwang S L, Yen G C. Neuroprotective effects of the citrus flavanones against H₂O₂-induced cytotoxicity in PC12 cells [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(3): 859-864
- [17] LU Yan-hua, SU Ming-yuan, HUANG Hai-ya, et al. Protective effects of the citrus flavanones to PC12 cells against cytotoxicity induced by hydrogen peroxide [J]. Neuroscience Letters, 2010, 484(1): 6-11
- [18] 方晟,陈彝,沙如意,等.百合酵素自然发酵过程中有机酸及其体外抗氧化活性的变化[J].食品与发酵工业,2019,45(22): 39-46
FANG Sheng, CHEN Ben, SHA Ru-yi, et al. Changes in organic acids and *in vitro* antioxidant activity of *Lilium* Jiaosu during natural fermentat process [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(22): 39-46
- [19] 赵康宏,严思恩,何英杰,等.HPLC-Q-TOF-MS 法分析百合中酚类化合物[J].中成药,2019,41(6):1445-1450
ZHAO Kang-hong, YAN Si-en, HE Ying-jie, et al. Analysis of phenolic compounds in *Lilium* by HPLC-Q-TOF-MS [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2019, 41(6): 1445-1450
- [20] 张明.几种体外抗氧化检测方法的评价研究[D].西安:陕西师范大学,2010.
ZHANG Ming. Evaluation of several *in vitro* antioxidant detection methods [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2010
- [21] HE Ying-jie, ZHU Meng, ZHOU Ying, et al. Comparative investigation of phytochemicals among ten citrus herbs by ultrahigh performanceliquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight massspectrometry and evaluation of their antioxidant properties [J]. Journal of Separation Science, 2020, 31(2): 1-10
- [22] FAN Zhi-feng, WANG Yu-dan, YANG Meo-lian, et al. UHPLC-ESI-HRMS/MS analysis on phenolic compositions of different E Se tea extracts and their antioxidant and cytoprotective activities [J]. Food Chemistry, 2020, 318(15): 126512
- [23] Adedara I A, AWogbindin I O, Owwoye O, et al. Correction to: Kolaviron *via* anti-inflammatory and redox regulatory mechanisms abates multi-walled carbon nanotubes-induced neurobehavioral deficits in rats [J]. Psychopharmacology (Berl), 2020, 237(4): 1041
- [24] Cian R E, Hernandez-Chirlaque C, Gamez-Belmonte R, et al. Molecular action mechanism of anti-inflammatory hydrolysates obtained from brewers' spent grain [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(7): 2880-2888
- [25] FENG Zi-qiao, ZHANG Yun-qiao, YOU Xu, et al. Effects of risperidone on blood levels of interleukin-6 in schizophrenia: A meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(15): e19694
- [26] Alshevskaya A A, Belomestnova I, Lopatnikova J A, et al. Co-Expression of membrane-bound Tumor Necrosis Factor-Alpha receptor types 1 and 2 by tumor cell lines [J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2020, 181(4): 249-256
- [27] Lee E, Yun N, Jang Y P, et al. *Lilium lancifolium* Thunb. extract attenuates pulmonary inflammation and air space enlargement in a cigarette smoke-exposed mouse model [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 149(1): 148-156
- [28] Kwon O K, Lee M Y, Yuk J E, et al. Anti-inflammatory effects of methanol extracts of the root of *Lilium lancifolium* on LPS-stimulated RAW264.7 cells [J]. J Ethnopharmacol,

- 2010, 130(1): 28-34
- [29] 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
ZENG An-qi, HUA Hua, CHEN Chao-rong, et al. Comparative study on anti-inflammatory effect of *Lonicera japonica* flos and *Lonicera flos* [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 45(16): 3938-3944
- [30] 黄颖,谭书明,陈萍,等.蜂蜜多酚提取物对大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J/OL].食品科学:1-8[2020-07-01], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200207.1655.002.html>
HUANG Ying, TAN Shun-ming, CHEN Ping, et al. Protective effect of polyphenols extracted from honey against acute alcoholic liver injury in rats [J/OL]. Food Science: 1-8 [2020-07-01], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200207.1655.002.html>
- [31] HE Ying-jie, LI Zong-kai, WANG Wei, et al. Chemical profiles and simultaneous quantification of *Aurantii fructus* by use of HPLC-Q-TOF-MS combined with GC-MS and HPLC methods [J]. Molecules, 2018, 23(9): 1792-1810
- [32] Thi N N, Lee Y G, Seo K H, et al. New furospirostane steroidal saponins from the flowers of *Lilium Asiatic hybrids* [J]. Carbohydr Research, 2019, 481: 36-42
- [33] Munafo J J, Gianfagna T J. Quantitative analysis of phenylpropanoid glycerol glucosides in different organs of easter Lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(19): 4836-4842
- [34] Mimaki Y, Sashida Y. Steroidal saponins and alkaloids from the bulbs of *Lilium brownii* var. *colchesteri* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1990, 38(11): 3055-3059
- [35] Munafo J P, Ramanathan A, Jimenez L S, et al. Isolation and structural determination of steroidal glycosides from the bulbs of easter Lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(15): 8806-8813
- [36] Esposito D, Munafo J P, Lucibello T, et al. Steroidal glycosides from the bulbs of Easter lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) promote dermal fibroblast migration *in vitro* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 148(2): 433-440
- [37] ZHOU Li-bo, CHEN Dao-feng. Steroidal saponins from the roots of *Asparagus filicinus* [J]. Steroids, 2008, 73(1): 83-87
- [38] Mimaki Y, Satou T, Kuroda M, et al. Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium candidum* [J]. Phytochemistry, 1999, 51(4): 567-573
- [39] LUO Jian-guang, LI Lu, KONG Ling-yi. Preparative separation of phenylpropanoid glycerides from the bulbs of *Lilium lancifolium* by high-speed counter-current chromatography and evaluation of their antioxidant activities [J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 1056-1062
- [40] HONG Xiao-xiao, LUO Jian-guang, GUO Chao, et al. New steroidal saponins from the bulbs of *Lilium brownii* var. *viridulum* [J]. Carbohydrate Research, 2012, 361: 19-26
- [41] 匡鑫,杨静雨,蔡瑾,等.棕榈花蕾中苯丙素类化学成分研究[J].中药材,2019,42(11):2557-2560
KUANG Xin, YANG Jing-yu, CAI Jin, et al. Chemical constituents of phenylpropanoids from the flowers of *trachycarpus fortunei* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2019, 42(11): 2557-2560
- [42] 冉玲,黄琰,曾红棱,等.酚酸与谷胱甘肽的抗氧化活性及联合抗氧化作用[J].现代食品科技,2020,36(3):48-55
RAN Lin, HUANG Yan, ZENG Hong-ling, et al. Antioxidant activity and combined antioxidant effect of phenolic acids and glutathione [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 48-55
- [43] WANG Ting-ting, HUANG Han-han, ZHANG Yao, et al. Role of effective composition on antioxidant, anti-inflammatory, sedative-hypnotic capacities of 6 common edible *Lilium* varieties [J]. Journal of food science, 2015, 80(4): H857-H868
- [44] 周中流,石任兵,刘斌,等.卷丹甾体皂苷和酚类成分及其抗氧化活性研究[J].中草药,2011,42(1):21-24
ZHOU Zhong-liu, SHI Ren-bing, LIU Bin, et al. Steroidal saponins and phenolic constituents from *Lilium lancifolium* and their anti-oxidant activities [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(1): 21-24