石胡荽醇提物制备工艺优化及其不同萃取部位抗炎活性研究Δ

杨　柳[1,2*]，杨　艳[2]，高　奇[2]，文　雯[1,2]，王　丽[2]，杨小生[2]，杨　娟[2#]（1.贵州中医药大学药学院，贵阳　550025；2.贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室，贵阳　550014）

中图分类号　R917；R284.2　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）03-0321-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.03.13

摘　要　目的　优化石胡荽醇提物制备工艺，并考察其不同萃取部位的抗炎活性。**方法**　采用单因素实验和响应面法，以石胡荽总三萜提取率为评价指标，考察乙醇体积分数、提取时间、料液比、提取次数4个因素对总三萜醇提物加热回流提取工艺的影响，优化最佳工艺，并进行验证实验。以地塞米松为阳性对照药物，比较石胡荽不同萃取部位（石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位）对脂多糖诱导小鼠单核巨噬细胞RAW 264.7一氧化氮（NO）生成的影响并计算其半数抑制浓度（IC_{50}）。**结果**　石胡荽总三萜醇提物的最优提取工艺为乙醇体积分数70%、料液比1∶40（g/mL）、提取时间2.0 h、提取次数3次。3次验证实验表明，石胡荽总三萜的平均提取率为1.134%，与预测值的相对误差为0.02%。石胡荽的石油醚部位、乙酸乙酯部位可不同程度地降低由脂多糖诱导的RAW 264.7细胞的NO生成，其对NO生成的IC_{50}分别为2.44、2.22 μg/mL，均低于阳性对照药物地塞米松（7.65 μg/mL）。**结论**　优化后的石胡荽醇提物的制备工艺稳定可行，其石油醚部位、乙酸乙酯部位具有较好的抗炎活性。

关键词　石胡荽；总三萜；响应面法；制备工艺；抗炎活性

Optimization of the preparation process of ethanol extracts from *Centipeda minima* and study on its anti-inflammatory activity of different extraction sites

YANG Liu[1,2], YANG Yan[2], GAO Qi[2], WEN Wen[1,2], WANG Li[2], YANG Xiaosheng[2], YANG Juan[2]（1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To optimize the preparation technology of ethanol extracts from *Centipeda minima*, and investigate the anti-inflammatory activities of different extraction sites. **METHODS** Single factor test and response surface methodology were adopted to investigate the effects of ethanol volume fraction, extraction time, solid-liquid ratio and extraction times on the heating reflux extraction technology of total triterpenoids ethanol extract using the extraction rate of total triterpenoids of *C. minima* as indexes, optimize the extraction technology and carry out validation. Using dexamethasone as positive control drug, the effects of different extraction sites of *C. minima* (petroleum ether part, ethyl acetate part, *n*-butanol part, water part) on nitric oxide (NO) production in mononuclear macrophage RAW 264.7 cells of mice induced by lipopolysaccharide (LPS) were compared; the half inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated. **RESULTS** The optimal extraction technology of total triterpenoids ethanol extracts of *C. minima* was as follows: ethanol volume fraction of 70%, solid-liquid ratio of 1∶40 (g/mL), extraction time of 2.0 h and extraction times of 3 times. The 3 times of validation tests showed that average extraction rate of total triterpenoids of *C. minima* was 1.134%, relative error of which with the predicted value was 0.02%. The petroleum ether part and ethyl acetate part of *C. minima* could inhibit the generation of NO in RAW 264.7 cells induced by lipopolysaccharide to different degrees. IC_{50} values of NO production were 2.44 μg/mL and 2.22 μg/mL, respectively, and both of them were lower than those of positive control drug dexamethasone (7.65 μg/mL). **CONCLUSIONS** The optimized preparation process of ethanol extracts from *C. minima* is stability and feasibility. The petroleum ether part and ethyl acetate part have obvious anti-inflammatory effects.

KEYWORDS　*Centipeda minima*; total triterpenoids; response surface methodology; preparation technology; anti-inflammatory activity

Δ**基金项目** 贵州省科技计划项目（No.黔科合服企〔2020〕4013）；贵州省高等学校特色重点实验室建设项目（No.黔教合KY字〔2020〕018）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：天然药物化学及活性成分。E-mail：1274144267@qq.com

＃**通信作者** 研究员，硕士生导师，博士。研究方向：天然活性成分。E-mail：yangxz2002@126.com

石胡荽为菊科石胡荽属石胡荽*Centipeda minima*（L.）A. Braun et Aschers.的全草，又名鹅不食草，主要分布于我国广西、湖北、浙江等地[1]。其味辛、性温，归肺、肝经，具有发散风寒、通鼻窍、镇痛消炎、止咳、解毒等功

效，用于治疗百日咳、鼻炎和鼻窦炎、疟疾、关节扭伤、风湿疼痛等症[2]。石胡荽中已报道的化学成分主要为倍半萜类、三萜及其苷类、黄酮及其苷类、挥发油类等[3]。研究发现，三萜类化合物具有溶血、抗癌、抗炎、抗菌、抗病毒、降低胆固醇等多种生物活性[4－5]。近年来，关于石胡荽三萜类化合物的化学成分组成[6－8]、药理作用[9－12]、临床应用及质量控制[13－14]等方面的研究已有较多报道。成光宇等[15]曾利用加热回流提取法和正交实验优化石胡荽总三萜皂苷的提取工艺，但正交实验存在实验次数多、未考虑因素之间的相互影响等不足。响应面法目前被广泛应用于中药提取工艺研究中[16－18]，该法可通过将实验结果进行方差分析、回归分析来寻求最佳工艺参数，实现实验设计、回归分析、预测优化的功能，可弥补正交实验的缺陷。本研究拟在单因素实验的基础上，采用响应面法进一步综合分析影响热回流提取石胡荽醇提物的关键因素，确定最佳工艺参数；在此基础上，采用系统溶剂萃取法得到石胡荽醇提物的不同萃取部位，并初步考察不同萃取部位的抗炎活性，以期为该植物资源的合理开发利用提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器有：UV-1800型紫外-可见分光光度计（日本Shimadzu公司），OSB-2200型旋转蒸发仪（日本EYELA株式会社），BT25S型电子分析天平（德国Sartorius公司），DK-98-Ⅱ型恒温水浴锅（美国Trisite公司），CCL-170B-8型CO_2细胞培养箱（新加坡ESCO公司），TS2 FL型倒置荧光显微镜（日本Nikon公司），EPOCH型多功能酶标仪（美国Bio-Tek公司）。

1.2　主要药品与试剂

石胡荽药材购自云南中药市场，经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为石胡荽 *C. minima*（L.）A. Braun et Aschers.的干燥全草；药材标本存放于贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室（标本号为CM202106）。齐墩果酸对照品（批号PS0236-0100，纯度≥99.0%）购自成都普思生物科技股份有限公司；地塞米松对照品（批号D4902-25MG，纯度≥97.0%）、脂多糖、胎牛血清、DMEM培养基、胰蛋白酶均购自美国Sigma公司；一氧化氮（NO）检测试剂盒（批号PS0236-0100）购自上海碧云天生物技术有限公司；MTT试剂购自北京索莱宝科技有限公司；无水乙醇、香草醛、冰醋酸、高氯酸、二甲基亚砜均为国产分析纯，水为纯化水。

1.3　细胞

小鼠单核巨噬细胞RAW264.7购自上海中乔新舟生物科技有限公司，冻存于贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室。

2　方法与结果

2.1　石胡荽总三萜含量测定方法的确定

根据2020年版《中国药典》（一部）中三萜含量的测定方法[19]，并结合中华人民共和国农业行业标准《灵芝总三萜含量的测定分光光度法：NY/T 3676-2020》[20]，确定本研究以齐墩果酸为对照品，采用紫外分光光度法（波长550 nm）测定石胡荽总三萜的含量。

2.2　溶液的制备

2.2.1　对照品贮备液的制备　精密称取齐墩果酸对照品5.00 mg，置于25 mL容量瓶中，用乙醇溶解并定容，得到质量浓度为0.20 mg/mL的齐墩果酸对照品贮备液，备用。

2.2.2　供试品溶液的制备　精密称取石胡荽粗粉1.00 g，置于150 mL锥形瓶中，加70%乙醇40 mL，称定质量后加热回流提取2.0 h。提取完毕后将提取液静置，冷却后再次称质量并补足减失的质量，过滤除杂；滤液减压浓缩干燥后用乙醇转移至25 mL容量瓶中并定容，得到供试品溶液。

2.3　方法学考察

2.3.1　标准曲线的绘制　准确移取齐墩果酸对照品贮备液0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60 mL于10 mL试管中。将试管置于90 ℃的水浴锅中挥干溶剂，加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.10 mL、高氯酸0.80 mL，混匀后于60 ℃水浴中保温显色20 min，取出后迅速置于冰水浴中冷却5 min，终止显色反应。然后加入5.00 mL冰醋酸，混匀，室温放置10 min。以相应试剂为空白对照，于550 nm波长处测定吸光度。以齐墩果酸质量浓度为横坐标（x）、吸光度为纵坐标（y）进行线性回归，得回归方程为y=61.899 0x－0.046 59（R^2=0.999 4）。结果表明，齐墩果酸在0.003 1～0.019 0 mg/mL范围内与吸光度呈良好的线性关系。

2.3.2　精密度试验　精密吸取对照品贮备液适量，按“2.3.1”项下方法操作，连续测定6次吸光度。结果显示，吸光度的RSD为0.76%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.3.3　稳定性试验　精密吸取供试品溶液适量，按“2.3.1”项下方法操作，分别在显色后0、10、20、40、60、80 min时测定吸光度。结果显示，吸光度的RSD为0.78%（n=6），表明供试品溶液显色后在80 min内稳定。

2.3.4　重复性试验　精密称取6份同一批石胡荽粗粉1.00 g，按照最优制备工艺制备供试品溶液，然后按“2.3.1”项下方法操作，测定吸光度，按照标准曲线法计算含量。结果显示，含量的RSD为1.29%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.4　石胡荽总三萜提取率的测定

在最佳工艺条件下，精密吸取供试品溶液适量，按“2.3.1”项下方法操作，作为待测溶液，以相应试剂为空白对照，在550 nm波长处测定其吸光度，将吸光度代入“2.3.1”项下回归方程计算出石胡荽总三萜的质量浓度，并按照下列公式计算石胡荽总三萜的提取率（y）：y（%）=（xv_1f/1 000v_2m）×100%。式中，x为从标准曲线上查得的样品反应液的总三萜质量浓度（mg/mL），v_1为样品定容时加入的乙醇体积（mL），f为样品溶液稀释倍数，v_2为比色测定时移取的样品提取液体积（mL），m为样品的质量（g）。

2.5　单因素实验筛选石胡荽醇提物的制备工艺因素

因乙醇体积分数、提取时间、料液比、提取次数4个因素对总三萜提取率影响较大[21－23]，故本研究以石胡荽总三萜提取率为指标，以乙醇体积分数（50%、60%、70%、80%、90%）、提取时间（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h）、料液比（1∶10、1∶20、1∶30、1∶40、1∶50，g/mL）、提取次数（1、2、3、4、5次）为因素，在固定其余3个因素不变的条件下进行单因素实验，平行3次，以确定各因素的优化区间，详见图1。

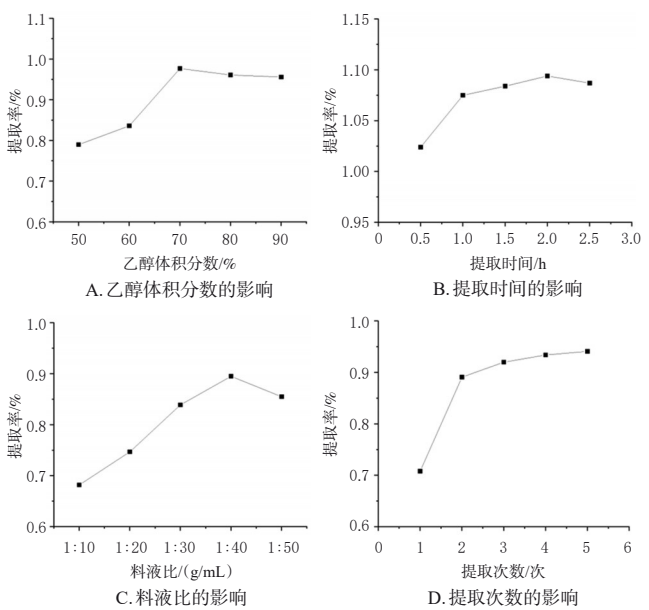


图1　各因素对石胡荽总三萜提取率的影响（n=3）

2.5.1　乙醇体积分数的影响　由图1A可知，随着乙醇体积分数的增加，石胡荽总三萜提取率呈先上升后下降的趋势。在乙醇体积分数为70%时，石胡荽总三萜提取率达到最高，故本研究选择乙醇体积分数60%～80%进行后续实验。

2.5.2　提取时间的影响　由图1B可知，随着提取时间的延长，石胡荽总三萜提取率呈先上升后下降的趋势。当提取时间为2.0 h时，总三萜的提取率最高；继续延长提取时间，石胡荽总三萜提取率开始降低。因此，本研究选择提取时间1.5～2.5 h进行后续实验。

2.5.3　料液比的影响　由图1C可知，随着料液比的增加，石胡荽总三萜提取率呈先上升后下降的趋势，当料液比为1∶40时，总三萜的提取率最高，故本研究选择料液比1∶30～1∶50（g/mL）进行后续实验。

2.5.4　提取次数的影响　由图1D可知，随着提取次数的增加，石胡荽总三萜提取率呈上升趋势，但当提取次数达3次时上升趋于平缓。这说明药材中的总三萜已基本提取完全，再增加提取次数也难以使石胡荽总三萜提取率有较大改变，考虑到提取成本问题，故本研究将提取次数固定为3次进行后续实验。

2.6　响应面法优化石胡荽醇提物的制备工艺

以石胡荽总三萜提取率（Y）为响应值，以乙醇体积分数（A）、提取时间（B）、料液比（C）为响应因素，利用Design Expert 8.0.6软件设计3因素3水平的响应面实验以优化石胡荽醇提物的提取工艺。响应面实验设计的因素与水平见表1，实验方案和结果见表2，方差分析结果见表3。

表1　响应面实验设计的因素与水平

水平	A/%	B/h	C/（g/mL）
−1	60	1.5	1∶30
0	70	2.0	1∶40
1	80	2.5	1∶50

表2　响应面实验设计方案和实验结果

试验号	A	B	C	Y/%
1	−1	−1	0	0.873
2	1	−1	0	0.985
3	−1	1	0	0.942
4	1	1	0	1.106
5	−1	0	−1	0.779
6	1	0	−1	0.930
7	−1	0	1	0.912
8	1	0	1	1.103
9	0	−1	−1	0.986
10	0	1	−1	1.076
11	0	−1	1	1.102
12	0	1	1	0.997
13	0	0	0	1.133
14	0	0	0	1.170
15	0	0	0	1.185
16	0	0	0	1.105
17	0	0	0	1.214

表3　响应面实验方差分析结果

因素	平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.210	9	0.024	7.48	<0.01
A	0.048	1	0.048	15.03	<0.01
B	3.828×10^{-3}	1	3.828×10^{-3}	1.21	0.308 5
C	0.015	1	0.015	4.63	0.068 4
AB	6.760×10^{-4}	1	6.760×10^{-4}	0.21	0.658 5
AC	4.000×10^{-4}	1	4.000×10^{-4}	0.13	0.733 1
BC	9.506×10^{-3}	1	9.506×10^{-3}	2.99	0.127 2
A^2	0.091	1	0.091	28.68	<0.01
B^2	6.024×10^{-3}	1	6.024×10^{-3}	1.90	0.210 8
C^2	0.029	1	0.029	9.21	0.0190
残差	0.022	7	3.175×10^{-3}		
失拟项	0.015	3	4.948×10^{-3}	2.68	0.182 4
纯误差	7.385×10^{-3}	4	1.846×10^{-3}		
总和	0.240	16			

利用Design Expert 8.0.6软件对实验结果进行回归拟合分析，得到回归方程为 $Y=1.160+0.077A+0.022B+0.043C+0.013AB+0.01AC-0.049BC-0.15A^2-0.038B^2-0.083C^2$。由表3可知，失拟项 $P=0.182\ 4>0.05$，表明失拟不显著，即该模型对本实验拟合程度良好；$R^2=0.905\ 8$，说明石胡荽总三萜提取率的变化有90.58%来自所选的因素。因此，因素 A、B、C 对石胡荽总三萜提取率影响主次顺序为：$A>C>B$，即乙醇体积分数＞料液比＞提取时间。

在其他因素不变的情况下，选取2个交互因素对石胡荽总三萜提取率进行响应面分析，利用Design Expert 8.0.6软件绘制响应面图和等高线图（图2）。结果显示，A 与 C 的交互作用显著，即这2个因素的交互作用对石胡荽总三萜提取率的影响显著。

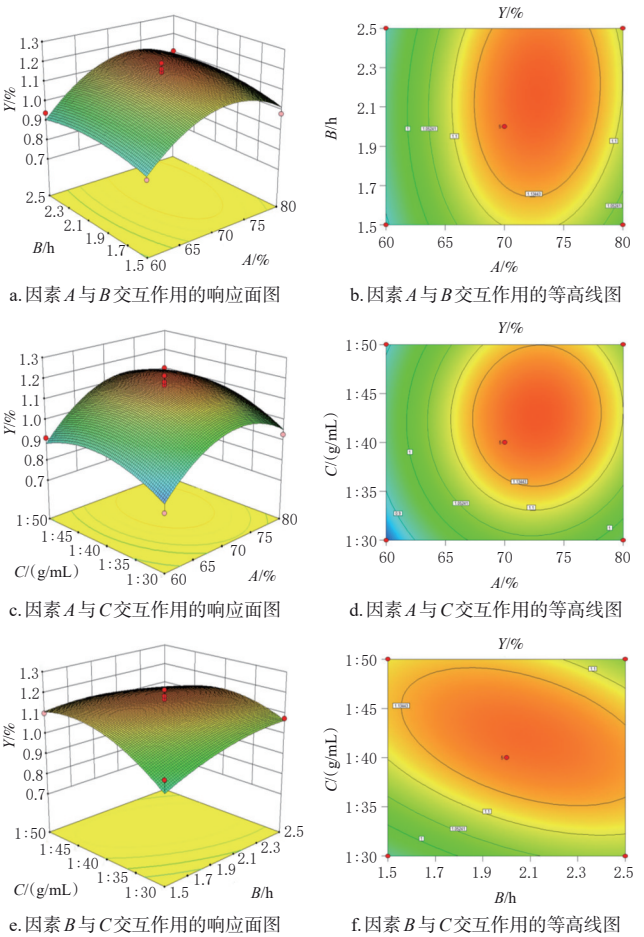
2.7　最佳制备工艺的确定与验证

利用Design Expert 8.0.6软件进行计算，得出石胡荽醇提物的实际最优制备工艺为：乙醇体积分数69.93%，提取时间2.09 h，料液比1∶39.50（g/mL），同时预测出石胡荽总三萜提取率为1.161%。结合实际操作的方便性，选择乙醇体积分数70%、提取时间2.0 h、料液比1∶40（g/mL）为石胡荽总三萜醇提物的最佳制备工艺。

取石胡荽粗粉1.00 g，按照该工艺条件平行操作3次进行验证，所得石胡荽总三萜的提取率分别为1.092%、1.165%、1.127%，平均提取率为1.134%（RSD=0.03%），与预测值的相对误差为0.02%。这说明该方法稳定、可靠，可用于石胡荽总三萜醇提物的制备。

2.8　石胡荽醇提物不同萃取部位的抗炎活性测定

2.8.1　样品的制备　按照最佳工艺制备石胡荽醇提物，得率为11.42%。浓缩后，用水分散，依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取得到不同萃取部位及萃取后剩下的水部位，石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位的总三萜含量分别为0.410%、0.455%、0.182%、0.109%。各部位干燥后分别称取1.0 mg样品，用二甲基



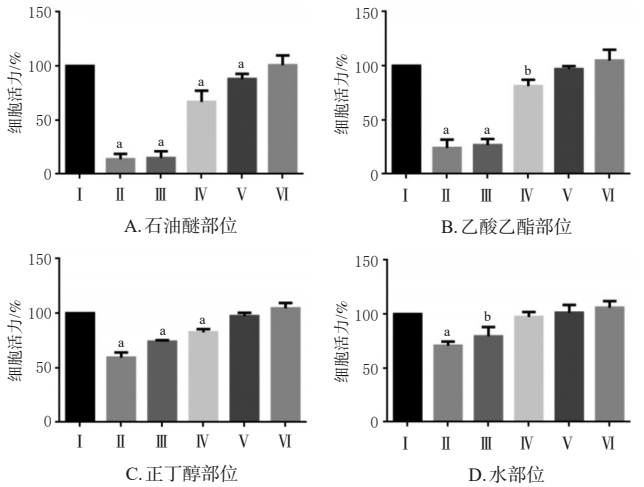
a. 因素 A 与 B 交互作用的响应面图　b. 因素 A 与 B 交互作用的等高线图
c. 因素 A 与 C 交互作用的响应面图　d. 因素 A 与 C 交互作用的等高线图
e. 因素 B 与 C 交互作用的响应面图　f. 因素 B 与 C 交互作用的等高线图

图2　各因素交互作用对石胡荽总三萜提取率影响的响应面图和等高线图

亚砜溶解，备用。

2.8.2　不同萃取部位对RAW264.7细胞活力的影响　采用MTT法进行检测。通过前期预实验，本研究设置空白组和以萃取物浓度计的5个不同浓度（50、25、12.5、9.375、6.25 μg/mL）的药物组，于490 nm波长处测定各组吸光度，具体方法参考文献[24]。计算细胞活力：细胞活力（%）=（药物组吸光度/空白组吸光度）×100%。当细胞活力＞90%时，认为药物是在安全浓度范围内[25]。结果显示，石油醚部位质量浓度为6.25 μg/mL、乙酸乙酯部位质量浓度为9.375 μg/mL、正丁醇部位质量浓度为12.5 μg/mL及水部位质量浓度为25 μg/mL时，RAW 264.7细胞的活力均大于90%，且差异无统计学意义（$P>0.05$），故本研究选择以上浓度进行后续实验。结果见图3。

2.8.3　不同萃取部位对RAW264.7细胞NO生成的影响　利用脂多糖诱导RAW264.7细胞建立细胞炎症模型[26]，设置空白组、加1 μg/mL脂多糖致炎的模型组和不同给药浓度的药物组，采用Griess试剂法于540 nm波长处测定不同组别的吸光度，以NO生成抑制率评价石胡荽总三萜醇提物不同萃取部位的抗炎活性，具体方法参



a：与空白组比较，$P<0.01$，b：与空白组比较，$P<0.05$；Ⅰ：空白组；Ⅱ：50 μg/mL药物组；Ⅲ：25 μg/mL药物组；Ⅳ：12.5 μg/mL药物组；Ⅴ：9.375 μg/mL药物组；Ⅵ：6.25 μg/mL药物组

图3　不同提取部位对RAW264.7细胞活力的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

考文献[27]。NO生成抑制率（%）=（模型组吸光度－药物组吸光度）/（模型组吸光度－空白组吸光度）×100%。实验重复3次。数据以$\bar{x}\pm s$表示，并通过Graphpad Prism 5.0软件计算各药物组的半数抑制浓度（IC_{50}）。结果显示，在实验质量浓度范围内，各部位的抗炎活性强弱排序依次为乙酸乙酯部位＞石油醚部位＞正丁醇部位＞水部位，其对NO生成的IC_{50}分别为2.22、2.44、＞100、＞100 μg/mL。石油醚部位、乙酸乙酯部位可不同程度地抑制NO生成，且其IC_{50}均低于阳性对照药物地塞米松（7.65 μg/mL）。正丁醇部位和水部位各个浓度对NO的生成无抑制作用，计算其IC_{50}＞100 μg/mL，判断这2个部位均无抗炎活性。结果见表4。

表4　各萃取部位对RAW264.7细胞NO生成的影响及IC_{50}测定结果（$n=3$）

组别	质量浓度/（μg/mL）	NO生成抑制率（$\bar{x}\pm s$）/%	IC_{50}/（μg/mL）
石油醚部位	6.250	83.443±2.896	2.44
	3.125	60.947±1.153	
	1.563	35.593±1.759	
	0.781	20.913±1.286	
	0.391	17.730±1.284	
乙酸乙酯部位	9.375	85.577±1.454	2.22
	4.687	66.430±1.559	
	2.347	46.480±2.700	
	1.172	28.687±2.759	
	0.586	3.263±1.086	
正丁醇部位	－	－	＞100
水部位	－	－	＞100
地塞米松	40	81.830±0.934	7.65
	20	61.223±1.367	
	10	51.835±2.647	
	5	43.221±1.065	
	2.5	34.617±1.389	

－：表示这2个部位均无抗炎活性

3　讨论

在前期研究中，笔者先是采用超声辅助提取法对甲醇、乙醇进行考察，结果显示，乙醇对石胡荽总三萜提取率较高。随后，笔者以乙醇为溶剂，对回流提取法、超声辅助提取法和冷浸渍法的提取效果进行考察，结果发现，3种提取方法中回流提取法提取率较后两者高，故本研究采用乙醇回流提取法作为提取方法。经单因素实验和响应面法分析发现，乙醇体积分数和料液比是影响石胡荽总三萜提取率的主要因素。通过响应面法确定乙醇体积分数70%、提取时间2.0 h、料液比1∶40（g/mL）、提取次数3次为最佳工艺，该工艺操作简单、提取率高、可行性强，具有较强的实际应用价值。

NO是十分重要的炎症介质，脂多糖在刺激RAW 264.7细胞产生急性炎症反应的过程中会释放大量的NO[28]。文献报道，石胡荽粗提物[29－31]和部分三萜类化合物具有抗炎作用[32]。本研究采用地塞米松作为阳性对照药物，比较了石胡荽醇提物不同萃取部位（石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位及水部位）的体外抗炎活性。结果显示，抗炎活性强弱排序依次为乙酸乙酯部位＞石油醚部位＞正丁醇部位＞水部位。其中，石油醚部位、乙酸乙酯部位均能较好地抑制脂多糖诱导小鼠RAW264.7细胞生成炎症介质NO，且其IC_{50}均低于阳性对照药物地塞米松。

综上所述，优化后的石胡荽醇提物制备工艺稳定可行，其石油醚部位、乙酸乙酯部位具有一定的抗炎活性。但本文结论仍需设计更为严密的药理实验加以验证。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志：第七十六卷：第一分册[M]. 北京：科学出版社，1983：132.

[2] 何顺志，徐文芬. 贵州中草药资源研究[M]. 贵阳：贵州科技出版社，2007：670.

[3] LINH N T T，HA N T T，TRA N T，et al. Medicinal plant *Centipeda minima*：a resource of bioactive compounds[J]. Mini Rev Med Chem，2021，21(3)：273-287.

[4] 李兆坤，王凤寰，陈彬，等. 大型真菌萜类化合物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发，2017，29(2)：357-369.

[5] ZHANG J L，AI L S，LV T T，et al. Asiatic acid，a triterpene，inhibits cell proliferation through regulating the expression of focal adhesion kinase in multiple myeloma cells[J]. Oncol Lett，2013，6(6)：1762-1766.

[6] 王嘉欣. 鹅不食草正丁醇部位化学成分研究[D]. 天津：天津中医药大学，2020.

[7] 刘玉艳. 鹅不食草乙酸乙酯部位抗肿瘤活性成分的研究[D]. 武汉：湖北中医药大学，2010.

[8] XUE P H, ZHANG N, LIU D, et al. Cytotoxic and anti-inflammatory sesquiterpenes from the whole plants of *Centipeda minima*[J]. J Nat Prod, 2021, 84(2): 247-258.
[9] 胡倩. 中药鹅不食草单体化合物及中药猪牙皂的抗肺癌作用研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
[10] LEE M M, CHAN B D, WONG W Y, et al. Anti-cancer activity of *Centipeda minima* extract in triple negative breast cancer via inhibition of AKT, NF-κB, and STAT3 signaling pathways[J]. Front Oncol, 2020, 10: 491.
[11] SARKAR A, VD T, RK S. Anti-inflammatory and anti-arthritis activity of flavonoids fractions isolated from *Centipeda minima* leaves extracts in rats[J]. Clin Exp Pharmacol, 2017, 7(2): 1-8.
[12] ZHANG X L, HE J, HUANG W H, et al. Antiviral activity of the sesquiterpene lactones from *Centipeda minima* against influenza a virus *in vitro*[J]. Nat Prod Commun, 2018, 13(2): 115-119.
[13] CHAN C O, XIE X J, WAN S W, et al. Qualitative and quantitative analysis of sesquiterpene lactones in *Centipeda minima* by UPLC-Orbitrap-MS & UPLC-QQQ-MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 174: 360-366.
[14] CHAN C O, JIN D P, DONG N P, et al. Qualitative and quantitative analysis of chemical constituents of *Centipeda minima* by HPLC-QTOF-MS & HPLC-DAD[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 125: 400-407.
[15] 成光宇, 王尚. 鹅不食草总皂苷提取工艺研究[J]. 中国医药指南, 2010, 8(25): 6-8.
[16] 高剑, 孙焕然, 国洪宾, 等. 响应面法优化紫叶李皮中总多酚的提取工艺及其抗炎活性[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2020, 40(2): 161-170.
[17] 孙宏莱, 时得友, 李丽丽, 等. 响应面法优化软枣猕猴桃枝条总三萜提取工艺及其体外抗炎活性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 189-197.
[18] 黄文静, 孙晓春, 周瑞, 等. 响应面法优化黄芪茎叶总黄酮提取工艺及其抗炎活性研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(7): 871-877.
[19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 196, 361.
[20] 中华人民共和国农业农村部. 灵芝总三萜含量的测定分光光度法: NY/T 3676-2020[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
[21] 朱登辉, 张靖柯, 李孟, 等. Box-Behnken设计-响应面法优化山茱萸叶总三萜提取工艺[J]. 中国药房, 2021, 32(1): 46-50.
[22] 景炳年, 魏磊, 周雍, 等. 山银花总三萜超声辅助提取工艺优化及其抗菌抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 174-181.
[23] 段丽萍, 孙炜炜, 苗丽坤, 等. 艾叶总三萜的提取工艺优化及其抑菌活性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 88-95.
[24] HAN C, YANG J K, SONG P Y, et al. Effects of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides on lipopolysaccharide-induced inflammatory factor release in RAW264.7 cells[J]. J Interferon Cytokine Res, 2018, 38(1): 29-37.
[25] 梁勇, 李良群, 王丽, 等. 民族药刺梨根茎化学成分及其抗炎活性研究[J]. 广西植物, 2022, 42(9): 1531-1541.
[26] 郑胜眉, 周兴, 黄文涛, 等. 岩白菜素对LPS诱导RAW264.7细胞炎症因子产生及细胞形态变化的影响[J]. 中药材, 2020, 43(1): 206-210.
[27] KWAK D H, SEO Y N, LEE J H, et al. GM1 Induced the inflammatory response related to the Raf-1/MEK1/2/ERK1/2 pathway in co-culture of pig mesenchymal stem cells with RAW264.7[J]. Anim Cells Syst (Seoul), 2018, 22(3): 157-164.
[28] LAROUX F S, LEFER D J, KAWACHI S, et al. Role of nitric oxide in the regulation of acute and chronic inflammation[J]. Antioxid Redox Signal, 2000, 2(3): 391-396.
[29] JIA Y Z, ZOU J B, WANG Y, et al. Mechanism of allergic rhinitis treated by *Centipeda minima* from different geographic areas[J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 606-618.
[30] HUANG S S, CHIU C S, LIN T H, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of aqueous extract of *Centipeda minima*[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 147(2): 395-405.
[31] 覃仁安, 梅璇, 陈敏, 等. 鹅不食草挥发油抗炎作用及机制研究[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(4): 369-371.
[32] 薛鹏辉, 李金妍, 刘达, 等. 鹅不食草中三萜类化学成分及其抗炎活性研究[J]. 中草药, 2020, 51(19): 4907-4915.

(收稿日期: 2022-07-05 修回日期: 2022-11-15)
(编辑: 舒安琴)