DOI:10.12441/spyswjs.20260309001 [文章编号] 1673-1689(2026)07-0068-13

连翘叶总黄酮的提取及其抗氧化与抗炎活性研究

王 璐[1] 王志斌[1] 赵梦杰[1] 李长正[1,2*]

(1. 豫北医学院药学院,河南 新乡 453003; 2. 河南医药大学药学院,河南 新乡 453003)

摘要:【目的】探究连翘叶总黄酮(*Forsythia suspensa* leaf total flavonoids, FLTF)的抗氧化活性及其对RAW264.7巨噬细胞炎症反应的调控机制。**【方法】**采用响应面法优化乙醇-硫酸铵双水相体系提取FLTF的工艺参数,使用UHPLC-Q-TOF-MS/MS技术鉴定FLTF的活性成分;进一步检测FLTF的抗氧化活性及其对RAW264.7巨噬细胞炎症反应的调控作用。**【结果】**FLTF的最优提取工艺为:提取时间108 min、料液比1 g∶88 mL、乙醇体积分数29.50%、硫酸铵质量浓度0.25 g/mL,在此条件下FLTF质量分数达99.52 mg/g。从FLTF中共鉴定出35种化合物,其中黄酮类7种,芦丁为其最主要的单体特征成分。体外抗氧化活性结果表明,FLTF质量浓度为9.6 mg/mL时,Cu^{2+}螯合能力最高,为85.25%;FLTF质量浓度为1.2 mg/mL时,DPPH自由基清除率高达97.70%。细胞试验结果表明,FLTF呈剂量依赖性抑制NO的释放,IC_{50}值为14.08 μg/mL;同时可显著下调*iNOS*与*COX-2*基因的mRNA相对表达水平及iNOS与COX-2的蛋白质表达水平。**【结论】**FLTF富含芦丁等黄酮类物质,具有较强的体外抗氧化活性,可通过抑制iNOS/COX-2信号通路降低巨噬细胞炎症反应。该研究为实现连翘采收废弃物的资源化利用、构建连翘全株利用的循环经济模式提供了数据支撑。

关键词:连翘叶;总黄酮;乙醇-硫酸铵双水相体系;抗氧化;抗炎

Extraction of Total Flavonoids from *Forsythia suspensa* Leaves and Evaluation of Their Antioxidant and Anti-inflammatory Activities

WANG Lu[1] *WANG Zhibin*[1] *ZHAO Mengjie*[1] *LI Changzheng*[1,2*]

(1. School of Pharmacy, North Henan Medical University, Xinxiang 453003, China; 2. School of Pharmacy, Henan Medical University, Xinxiang 453003, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to investigate the antioxidant activity of total flavonoids from *Forsythia suspensa* leaves (FLTF) and their regulatory effects on the inflammatory response in RAW264.7 macrophages. [**Method**] The response surface method was adopted to optimize the extraction parameters of FLTF *via* an ethanol-ammonium sulfate aqueous biphasic system. The active components in FLTF were identified by UHPLC-Q-TOF-MS/MS. Furthermore, the antioxidant activity of FLTF and the regulatory effects of FLTF on the inflammation of RAW264.7 macrophages were measured. [**Result**] The mass fraction of FLTF reached 99.52 mg/g under the optimal conditions: extraction time of 108 min, a solid-to-liquid ratio of 1 g∶88 mL, an ethanol volume fraction of 29.50%, and ammonium sulfate mass concentration of 0.25 g/mL. A total of 35 compounds were identified from FLTF, including 7 flavonoids. Rutin was the most abundant monomeric marker. The *in vitro* antioxidant assay results showed that FLTF achieved the maximum Cu^{2+}-chelating capacity and DPPH radical

基金项目:河南省科技攻关计划项目(242102310390,232102310337);河南省生物医药重点学科项目(ZDXKXM010);新乡医学院三全学院科学研究培育基金项目(XJKT201919)。

通信作者:李长正(1957—),男,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:wl19921913@163.com

收稿日期:2026-03-09 **修回日期:**2026-04-29

scavenging rate of 85.25% at the mass concentration of 9.6 mg/mL and 97.70% at the mass concentration of 1.2 mg/mL, respectively. The results of cell experiments showed that FLTF dose-dependently inhibited nitric oxide (NO) release, with an IC_{50} value of 14.08 μg/mL. Moreover, FLTF downregulated the relative mRNA levels of *iNOS* and *COX-2* genes and the protein levels of iNOS and COX-2. [**Conclusion**] FLTF is rich in flavonoids, primarily rutin. FLTF possesses potent antioxidant activity *in vitro* and reduces the inflammation of RAW264.7 macrophages *via* suppression of the iNOS/COX-2 pathway. This study provides data support for the utilization of the harvesting waste and establishment of a circular economy pattern characterized by whole-plant utilization of *Forsythia suspensa*.

Keywords: *Forsythia suspensa* leaf; total flavonoid; ethanol-ammonium sulfate aqueous biphasic system; antioxidant; anti-inflammatory

连翘叶为连翘属灌木植物连翘（*Forsythia suspensa*（Thunb.）Vahl）的叶片，其野生资源主要分布在我国河南、山西、陕西等省份[1]。我国北方地区有以连翘叶制作保健茶饮的传统，但该应用形式未在全国范围内推广[2]。连翘含有黄酮、挥发油等多种活性成分[3]，其提取物具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗炎、调节肠道菌群等多种生物活性[4-5]。目前连翘的药用及食用部位主要是果实，叶片多被直接弃用[6]。连翘叶同样富含黄酮、挥发油、多糖等生物活性成分，具备较高的资源化开发与利用潜力[7]。

连翘叶黄酮具有热敏性强、极性分布范围广、提取体系杂质多等特点。传统水提、醇提工艺普遍存在提取率低、杂质多、高温易降解等问题[8]。双水相提取是一种绿色分离技术，可在室温条件下实现目标成分的选择性富集与初步纯化。其中，乙醇-硫酸铵双水相体系因具有条件温和、乙醇无毒可回收、硫酸铵成本低、成相效果好、不易引起目标成分失活等优势，已广泛应用于多种植物总黄酮的提取。徐源等[9]采用乙醇-硫酸铵双水相体系提取紫苏叶总黄酮，得率达15.497%；高慧娟等[10]采用乙醇-硫酸铵双水相体系提取香椿籽总黄酮，得率达93.430%；张达目等[11]采用超声波辅助双水相法提取罗布麻叶黄酮化合物，产率达16.276 mg/g。该体系成相时间短、两相极性差异适中，相较于传统单一溶剂体系，更适用于连翘叶中多种黄酮苷的同步提取，但目前将其应用于连翘叶黄酮的提取研究鲜见报道。

氧化应激与炎症反应是诱导并推进多种慢性疾病发生和发展的重要机制[12]。天然黄酮类物质具有良好的抗氧化、抗炎活性，可通过抑制炎症因子释放，有效降低炎症疾病的发病风险[13-14]。已有研究表明，天然类黄酮木犀草素可通过调控线粒体动力学、抑制JAK2/STAT3信号通路改善牙周炎症反应[15]。连翘提取物可提高机体抗氧化水平、改善炎症状态、调节肠道菌群结构，对机体健康具有积极调控作用[16]。基于此，废弃物连翘叶是否具有抗氧化、抗炎活性，已成为连翘资源开发应用领域的研究热点。作者首先采用乙醇-硫酸铵双水相体系优化连翘叶中总黄酮的提取工艺，并系统探究其体外抗氧化、抗炎活性，旨在为实现连翘采收废弃物的资源化利用、构建连翘全株利用的循环经济模式提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

连翘叶：采自河南省新乡市辉县万仙山；芦丁（纯度≥98%）：阿拉丁试剂有限公司；DPPH、亚硝酸钠、硫酸铵、无水乙醇、VC：均为分析纯，国药集团化学试剂有限公司；RAW264.7巨噬细胞：武汉普诺赛生命科技有限公司；胎牛血清：杭州四季青生物有限公司；高糖DMEM培养基：美国Thermo Fisher Scientific公司；RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、qPCR试剂盒：法国Transgene S.A.公司；iNOS抗体、COX-2抗体、GAPDH抗体：美国Cell Signaling Technology公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

高分辨质谱仪：5600 QTOF型，美国AB SCIEX公司；超高压液相色谱仪：ACQUITY H-Class型，美国Waters公司；色谱柱（2.1 mm×100 mm×1.8 μm）：ACQUITY UPLC HSS T3型，美国Waters公司；高速离心机：Allegra V-15R型，美国Beckman公司；酶标仪：Multiskan SkyHigh型，美国Thermo Fisher

Scientific 公司；PCR 仪：7500 fast 型，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；细胞培养箱：CellXpert C170 型，德国 Eppendorf 公司；电泳装置：Mini-PROTEAN Tetra 型，美国 Bio-Rad 公司；倒置荧光显微镜：Eclipse Ts2 型，日本 Nikon 公司。

1.3 方法

1.3.1 连翘叶总黄酮的提取工艺

称取 0.5 g 连翘叶粉末，加入乙醇-硫酸铵双水相溶液，离心取上清液，冷冻干燥后得到 FLTF，保存备用。

1.3.2 芦丁标准曲线绘制

使用无水乙醇配制芦丁标准品溶液（480 μg/mL），分别稀释至 240、120、60、30、15 μg/mL。取芦丁标准品溶液 40 μL，加 16 μL $NaNO_2$，混匀后加入 16 μL $Al(NO_3)_3$ 反应 6 min，加入 160 μL NaOH 和 16 μL 蒸馏水，反应 15 min 后于 510 nm 测定吸光度。

1.3.3 单因素试验及响应面优化设计

连翘叶中黄酮类化合物的极性分布广泛，且与多糖在常规溶剂中的溶解度相近，给其高效、高纯度提取带来了较大难度。乙醇-硫酸铵双水相体系可利用黄酮类目标成分在乙醇相与水相中的分配系数差异，实现黄酮的选择性富集与初步纯化，同时去除糖类、蛋白质等生物大分子杂质。该提取体系条件温和，能够最大程度地保留黄酮类成分的天然结构与活性，为后续成分鉴定与活性分析奠定了基础。作者采用乙醇-硫酸铵双水相体系对 FLTF 进行提取，在料液比 1 g∶90 mL、乙醇体积分数 28%、提取时间 75 min、硫酸铵质量浓度 0.25 g/mL 的基础上进行单因素试验。分别探究提取时间（45、60、75、90、105、120 min）、料液比（1 g∶60 mL、1 g∶70 mL、1 g∶80 mL、1 g∶90 mL、1 g∶100 mL、1 g∶110 mL）、乙醇体积分数（24%、26%、28%、30%、32%、34%）、硫酸铵质量浓度（0.21、0.23、0.25、0.27、0.29、0.31 g/mL）对总黄酮质量分数的影响。在单因素试验的基础上，利用 Design-Expert 13.0.1.0 软件设计四因素三水平响应面优化试验。

1.3.4 色谱及质谱条件

用体积分数 75% 的甲醇溶解 FLTF，过 0.22 μm 滤膜。选择 ACQUITY UPLC HSS T3 C18 色谱柱（2.1 mm×100 mm×1.8 μm），柱温 40 ℃，进样量 4 μL，流量 400 μL/min。流动相 A 为体积分数 0.1% 的甲酸-水溶液，流动相 B 为体积分数 0.1% 的甲酸-乙腈溶液。梯度洗脱程序为：0~1.5 min，流动相 B 体积分数为 5%；1.5~2.5 min，流动相 B 体积分数升至 10%；2.5~14.0 min，流动相 B 体积分数升至 40%；14.0~24.0 min，流动相 B 体积分数升至 95%；24.0~27.0 min，流动相 B 体积分数为 95%；27.0~27.1 min，流动相 B 体积分数降至 5%；27.1~30.0 min，流动相 B 体积分数为 5%。采用 AB 5600 Triple TOF 质谱仪，ESI 离子源雾化温度 550 ℃，喷雾电压 5 500 V（正离子模式）或-4 500 V（负离子模式）。一级质谱扫描范围 50~1 200，选取强度大于 100 的离子进行二级质谱采集，轰击能量 30 eV，每个循环采集 15 张二级图谱。

1.3.5 Cu^{2+} 螯合能力测定

Cu^{2+} 螯合能力测定参照王璐等[17]的方法并稍加修改，配制质量浓度分别为 9.6、4.8、2.4、1.2、0.6、0.3 mg/mL 的 FLTF 溶液，Cu^{2+} 螯合能力按式（1）计算。

$$C_A=(1-\frac{A_1-A_2}{A_0})\times 100\% \quad (1)$$

式中：

C_A——Cu^{2+} 螯合能力，%；

A_1——样品组吸光度；

A_2——对照组吸光度；

A_0——空白组吸光度。

1.3.6 DPPH 自由基清除率测定

参照张雅男等[18]的方法进行 DPPH 自由基清除率测定。配制质量浓度分别为 9.6、4.8、2.4、1.2、0.6、0.3 mg/mL 的 FLTF 溶液，DPPH 自由基清除率按式（2）计算。

$$C_D=(1-\frac{A_s-A_b}{A_c})\times 100\% \quad (2)$$

式中：

C_D——DPPH 自由基清除率，%；

A_s——样品组吸光度；

A_b——对照组吸光度；

A_c——空白组吸光度。

1.3.7 细胞存活率测定

模型组加入 1 μg/mL 的脂多糖（LPS），给药组加入 1 μg/mL LPS 和 5、10、15、20、25 μg/mL 的 FLTF，空白组仅含培养基。给药后继续培养 16 h，

采用MTT法测定细胞存活率[19]。

1.3.8　NO浓度测定

试验分组同1.3.7，药物处理16 h后，采用Griess法测定细胞NO浓度，并计算FLTF抑制NO释放的IC_{50}值[20]。

1.3.9　*iNOS*与*COX-2*基因的mRNA相对表达水平测定

取对数生长期的RAW264.7巨噬细胞接种于6孔板。模型组加入1 μg/mL的LPS，阳性对照组加入1 μg/mL的LPS和14 μg/mL槲皮素（PC），给药组加入1 μg/mL的LPS和7、14、21 μg/mL的FLTF，空白组仅含培养基。使用TRI REAGENT™提取总RNA，引物序列见表1。qRT-PCR条件为：95 ℃预变性5 min；95 ℃变性15 s，61 ℃退火30 s，61 ℃延伸30 s，40个循环；最后61 ℃延伸30 s。以*GAPDH*为内参基因，采用$2^{-\Delta\Delta C_t}$法计算*iNOS*、*COX-2*基因的mRNA相对表达水平。

表1　qRT-PCR引物序列

Table 1　Primer sequences for qRT-PCR

基因		序列（5′—3′）	长度/bp
iNOS	F	ACCATGGAGCATCCCAAGTA	20
	R	CCATGTACCAACCATTGAAGG	21
COX-2	F	AGCATTCATTCCTCTACATAAGC	23
	R	GTAACAACACTCACATATTCATACAT	26
GAPDH	F	TTGTCTCCTGCGACTTCAACA	21
	R	GCTGTAGCCGTATTCATTGTCATA	24

1.3.10　iNOS与COX-2蛋白质表达水平测定

试验分组同1.3.9，给药后孵育16 h，提取总蛋白质并进行定量分析。沸水浴高温变性后进行凝胶电泳分析，并采用ImageJ软件分析目的蛋白质和内参蛋白质的灰度值。

1.3.11　数据处理与分析

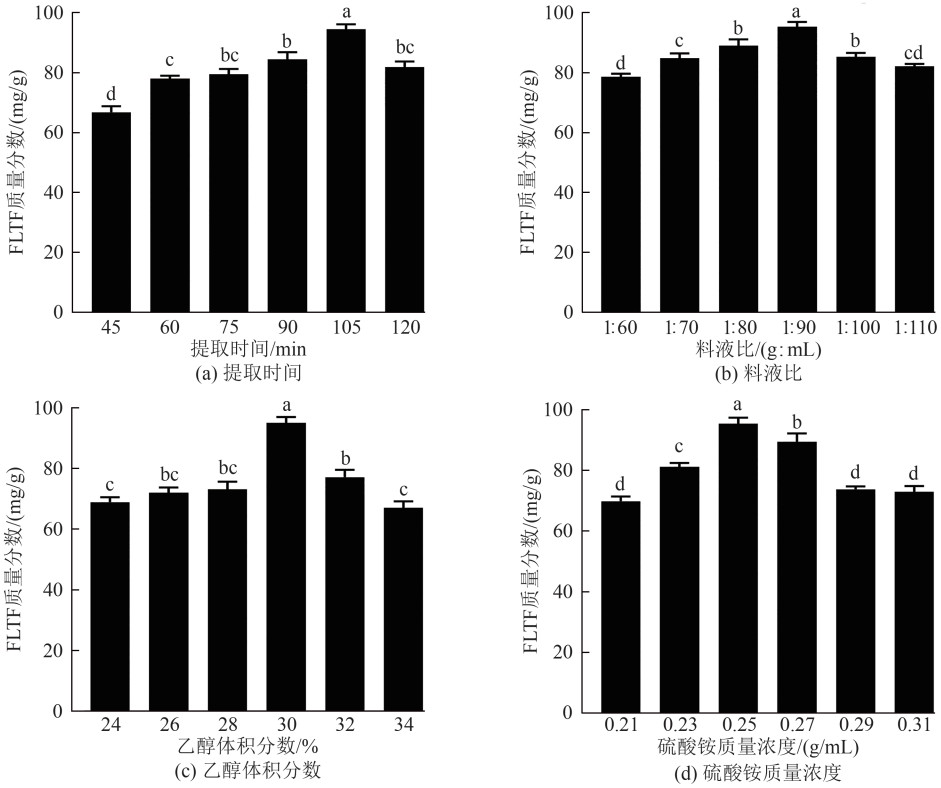
数据采用GraphPad Prism 8.0.2和Design Expert 13.0.5.0软件进行统计、处理与作图。

2　结果与讨论

2.1　单因素试验结果

目前，连翘叶中有效成分的提取方法主要有回流提取法、超声提取法等。其中，回流提取法溶剂用量少、提取效率高，但整体能耗较高，且易造成热敏性活性成分降解[21]；超声提取法利用超声空化效应实现活性成分的低温快速溶出，但设备成本高、工业化放大难度较大，制约了其广泛应用[22]。双水相提取技术依据活性成分在不相溶的两相溶液中溶解度不同实现选择性分离提取，具有试剂安全、提取率高、操作简便、试剂可回收等优势，符合绿色提取工艺理念[23]。因此，作者选择乙醇-硫酸铵双水相体系对连翘采收加工废弃物连翘叶中的总黄酮进行提取。

由图1（a）可以看出，当提取时间为45~105 min时，随着提取时间的延长，FLTF质量分数显著升高，并在105 min时达到峰值，为94.57 mg/g；当提取时间超过105 min时，FLTF质量分数呈下降趋势。这可能是由于提取时间过长导致黄酮稳定性下降，引发黄酮降解。因此，确定105 min为最适提取时间。由图1（b）可以看出，当料液比由1 g∶60 mL变为1 g∶90 mL时，FLTF质量分数逐渐升高，并在料液比为1 g∶90 mL时达到最大值，为95.24 mg/g；当料液比为1 g∶100 mL、1 g∶110 mL时，FLTF质量分数降低。这是由于溶剂较多会促使连翘叶中黄酮类物质溶出增多，提高了FLTF质量分数；但当溶剂过多时，连翘叶中其他成分溶出过多，与黄酮类物质形成络合物，反而降低了FLTF质量分数；另外，溶剂量过大，操作时部分乙醇溶液挥发也会引起FLTF质量分数降低[24]。因此，最佳料液比为1 g∶90 mL。由图1（c）可以看出，当乙醇体积分数为24%~30%时，FLTF质量分数逐渐增大。在乙醇-硫酸铵双水相体系中，乙醇可与黄酮分子形成氢键，促进黄酮溶解。作者在试验过程中发现，当乙醇体积分数>32%时，在配制好的双水相体系中加入连翘叶粉后，下相出现了硫酸铵沉淀。因此，双水相体系的极性降低，可能导致连翘叶中脂溶性杂质析出，使黄酮类物质溶出量减少[25]。当乙醇体积分数为30%时，FLTF质量分数最高，为95.32 mg/g。因此，最佳乙醇体积分数为30%。由图1（d）可以看出，当硫酸铵质量浓度为0.21~0.25 g/mL时，FLTF质量分数显著升高，且在0.25 g/mL时最高，为95.54 mg/g。当硫酸铵质量浓度>0.25 g/mL时，FLTF质量分数呈降低趋势。这可能是由于黄酮类物质易溶于乙醇，硫酸铵与乙醇互不相溶，硫酸铵质量浓度增加会导致乙醇体积分数减小，影响黄酮类物质的提取，而过多的硫酸铵会影响双水相的形成且会析出结晶，结晶会吸附体系中的黄酮类物质，最终导致总黄



不同字母表示组间差异显著（P<0.05）。

图 1　各因素对 FLTF 质量分数的影响

Fig. 1　Effects of various factors on the mass fraction of FLTF

酮得率降低[26]。因此，最佳硫酸铵质量浓度为 0.25 g/mL。

2.2　响应面试验及方差分析结果

2.2.1　响应面试验结果

在单因素试验的基础上，选择提取时间（A）、料液比（B）、乙醇体积分数（C）、硫酸铵质量浓度（D）为关键因素，以 FLTF 质量分数（y）为评价指标，对 FLTF 的提取工艺进行优化。各因素水平设置见表 2。

表 2　因素水平表

Table 2　Response surface level and factor

水平	提取时间/min	料液比/（g∶mL）	乙醇体积分数/%	硫酸铵质量浓度/（g/mL）
−1	90	1∶80	28	0.23
0	105	1∶90	30	0.25
1	120	1∶100	32	0.27

响应面试验设计与结果见表 3。采用 Design-Expert13.0.1.0x64 软件进行二次多元回归模型拟合，得到回归方程为：y=97.81+5.49A−2.97B−3.57C−1.22D+1.50AB+5.51AC+0.988 5AD−2.46BC+0.596BD+0.922 2CD−9.22A^2−5.64B^2−4.34C^2−10.6D^2。

由表 4 可以看出，回归模型的 P<0.000 1，说明该模型具有高度显著性。失拟项 P=0.570 9（P>0.05），说明该模型能够较好地拟合试验数据。该模型的 R^2=0.97，R^2_{adj}=0.95，两者接近且均在 90% 以上，CV=2.26%，显示该模型与实际数据契合度良好，可选择该模型进行 FLTF 最优提取条件的预测。通过 F 值判断 FLTF 质量分数受各因素影响的排序为：A>C>B>D。一次项 D、交互项 BC 显示差异显著（P<0.05）；一次项 A、B、C、交互项 AC、二次项 A^2、B^2、C^2、D^2 显示差异极显著（P<0.01）。

作者对各因素交互作用进行响应面分析，见图 2。响应面越陡，表示影响越显著；响应面越平缓，影响越小。结果表明，AC 和 BC 具有显著的交互作用，AB、AD、BD、CD 无显著交互作用，与表 4 所得回归模型的方差分析结果一致。

2.2.2　FLTF 提取条件的确定及验证

作者采用 Design-Expert13.0.1.0x64 软件对乙醇−硫酸铵双水相体系提取 FLTF 的工艺进行优

表3　响应面试验设计与结果

Table 3　Response surface design and experimental results

试验号	提取时间/min	料液比/（g∶mL）	乙醇体积分数/%	硫酸铵质量浓度/（g/mL）	FLTF质量分数/（mg/g）
1	105	1∶100	30	0.27	76.52
2	105	1∶100	30	0.23	77.35
3	120	1∶90	30	0.23	84.47
4	90	1∶90	32	0.25	69.67
5	120	1∶90	28	0.25	87.76
6	105	1∶90	30	0.25	98.28
7	105	1∶80	32	0.25	90.16
8	120	1∶90	30	0.27	81.73
9	120	1∶80	30	0.25	88.62
10	105	1∶100	28	0.25	91.13
11	120	1∶100	30	0.25	88.24
12	105	1∶80	28	0.25	91.44
13	105	1∶80	30	0.23	87.76
14	120	1∶90	32	0.25	92.48
15	90	1∶100	30	0.25	73.59
16	90	1∶90	28	0.25	86.99
17	90	1∶90	30	0.27	70.24
18	90	1∶90	30	0.23	76.94
19	105	1∶100	32	0.25	79.99
20	105	1∶90	28	0.23	88.21
21	90	1∶80	30	0.25	79.96
22	105	1∶90	30	0.25	98.69
23	105	1∶90	28	0.27	85.78
24	105	1∶80	30	0.27	84.55
25	105	1∶90	30	0.25	96.57
26	105	1∶90	32	0.27	78.70
27	105	1∶90	30	0.25	97.12
28	105	1∶90	32	0.23	77.44
29	105	1∶90	30	0.25	100.37

化，预测的最优提取条件为：提取时间108.15 min、料液比1 g∶88.12 mL、乙醇体积分数29.54%、硫酸铵质量浓度0.25 g/mL。为便于实际操作，确定最优工艺为：提取时间108 min、料液比1 g∶88 mL、乙醇体积分数29.50%、硫酸铵质量浓度0.25 g/mL。基于上述条件开展3次平行试验，结果显示FLTF平均得率为99.52 mg/g，与预测值接近。吕允珂等[27]采用体积分数70%的乙醇回流提取2 h，所得冻干提取物中总黄酮质量分数为91.86 mg/g，与其相比，本研究工艺的提取效果更优。表明乙醇-硫酸铵双水相体系在FLTF提取与资源化利用方面具有显著优势。该提取工艺可在室温条件下完成萃取，有效避免了高温导致的连翘叶中黄酮苷类成分的热降解问题，同时实现目标黄酮的富集与杂质初步分离，为FLTF的绿色、高效提取提供了新途径。

表4　回归模型方差分析

Table 4　Analysis of variance of the regression model

来源	离均差平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值
模型	1 929.24	14	137.80	37.03	<0.000 1
A	361.91	1	361.91	97.26	<0.000 1
B	106.04	1	106.04	28.50	0.000 1
C	153.20	1	153.20	41.17	<0.000 1
D	17.92	1	17.92	4.82	0.045 5
AB	9.01	1	9.01	2.42	0.142 0
AC	121.49	1	121.49	32.65	<0.000 1
AD	3.91	1	3.91	1.05	0.322 8
BC	24.26	1	24.26	6.52	0.023 0
BD	1.42	1	1.42	0.38	0.546 5
CD	3.40	1	3.40	0.91	0.355 2
A^2	551.60	1	551.60	148.24	<0.000 1
B^2	206.61	1	206.61	55.53	<0.000 1
C^2	122.11	1	122.11	32.82	<0.000 1
D^2	728.49	1	728.49	195.78	<0.000 1
残差	52.09	14	3.72		
失拟项	36.68	10	3.67	0.95	0.570 9
纯误差	15.41	4	3.85		
总和	1 981.34	28			

2.3　FLTF中化学成分分析结果

FLTF的正负离子流图见图3。使用MSDIAL ver 4.6软件进行峰处理，结合一级、二级图谱与Metlin、MassBank、MoNA和HMDB数据库对化合物进行鉴别，各化合物色谱峰保留时间见表5。结果显示，从FLTF中共鉴定出34种化合物，其中黄酮类化合物7种，为FLTF中占比最高的活性成分类别。苯乙醇苷类主要包括连翘酯苷A（16.58%）和毛蕊花糖苷（3.94%）。本研究鉴定出的7种黄酮类化合物，按相对峰面积由高到低依次为：芦丁、忍冬苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、橙皮素-7-*O*-芸香糖苷、异槲皮苷、柳穿鱼苷、3，7，8，2-四羟基黄酮。其中，芦丁占黄酮类化合物总量的43.90%；芦丁、忍冬苷和山柰酚-3-*O*-芸香糖苷是主要的黄酮单体，三者累计占黄酮类化合物总量的84.68%。从苷元结构类型分析，槲皮素的糖苷衍生物（芦丁、异槲皮苷、忍冬苷）占黄酮类化合物总量的74.68%，山柰酚糖苷衍生物（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）占比为14.42%。结果表明，FLTF以黄酮醇苷类成分为主，特别是槲皮素和山柰酚的糖苷衍生物。此外，有机酸类、酚酸类及木脂素类成分丰富了

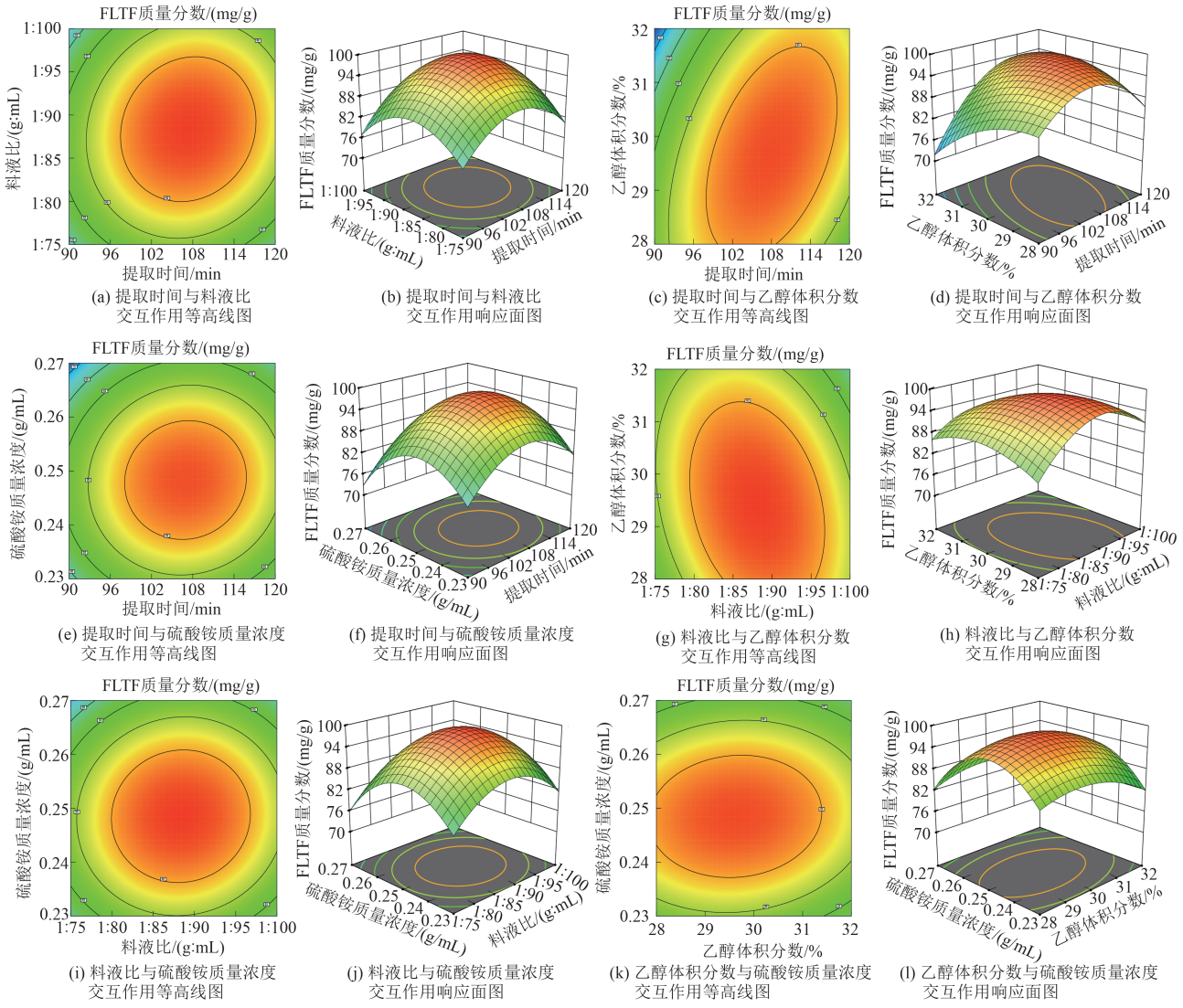


图 2　各因素交互作用响应面图和等高线图

Fig. 2　Response surface and contour plots of interactions between factors

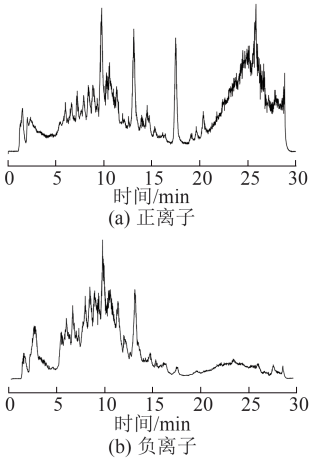


图 3　FLTF 的正负离子流图

Fig. 3　Total ion chromatograms of FLTF in positive and negative ion modes

FLTF 的组成多样性。综上，连翘酯苷 A 和芦丁是 FLTF 中最具代表性的特征标志物，提示这 2 类成分可能是连翘叶发挥生物活性的关键物质基础。

2.4　体外抗氧化活性结果

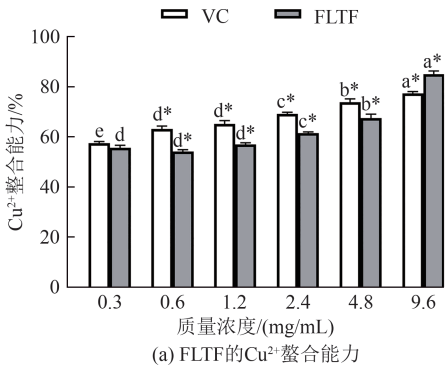
已有研究表明，连翘叶具有抗氧化、抗衰老等生物活性[28]。由图 4(a)可以看出，FLTF 与 VC 的 Cu^{2+} 螯合能力变化趋势一致，均随样品质量浓度的升高逐渐增强。当 FLTF 质量浓度为 0.3~4.8 mg/mL 时，其 Cu^{2+} 螯合能力低于同质量浓度的 VC；当 FLTF 质量浓度达到 9.6 mg/mL 时，其 Cu^{2+} 螯合能力为 85.25%，是 VC 的 1.1 倍。由图 4(b)可以看出，当 FLTF 质量浓度为 0.3~1.2 mg/mL 时，其

表5　FLTF的UPLC-Q-TOF-MS/MS鉴定结果

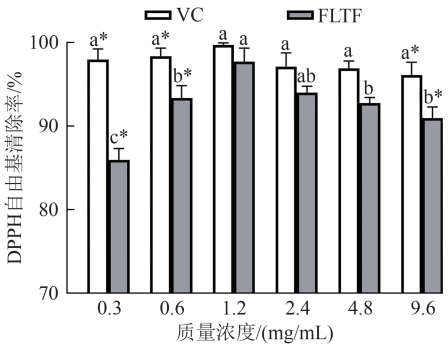
Table 5　Identification results of chemical components in FLTF by UPLC-Q-TOF-MS/MS

编号	化合物	保留时间/min	母离子 *m/z*	质量分数误差/（mg/kg）	离子模式	分子式	类别	峰面积占比/%
1	奎尼酸	1.46	191.06	4.78	−	$C_7H_{12}O_6$	有机酸类	0.25
2	半乳糖酸	1.46	195.05	0.15	−	$C_6H_{12}O_7$	有机酸类	0.24
3	苹果酸	1.57	133.01	4.88	−	$C_4H_6O_5$	有机酸类	0.05
4	2-糠酸	2.02	111.01	4.22	−	$C_5H_4O_3$	有机酸类	0.04
5	3-异丙基戊二酸	2.13	173.08	0.96	−	$C_8H_{14}O_4$	有机酸类	0.04
6	2-（2-羟基乙氧基）苯酚	4.80	153.06	1.43	−	$C_8H_{10}O_3$	酚类	0.05
7	犬尿喹啉酸	6.47	190.05	4.84	−	$C_{10}H_7NO_3$	有机酸类	0.04
8	香豆酰奎尼酸	6.59	337.09	1.80	−	$C_{16}H_{18}O_8$	酚酸类	0.10
9	绿原酸	6.95	353.09	2.86	−	$C_{16}H_{18}O_9$	酚酸类	0.39
		6.97	355.10	2.99	+			0.14
10	5-羧基苯酞	7.57	177.02	3.58	−	$C_9H_6O_4$	苯酞类	0.03
11	1-*O*-对香豆酰奎尼酸	8.21	339.11	0.16	+	$C_{16}H_{18}O_8$	酚酸类	0.17
		8.23	337.09	1.50	−			0.56
12	橙皮素-7-*O*-芸香糖苷	9.35	609.19	4.24	−	$C_{28}H_{34}O_{15}$	黄酮类	1.31
13	对香豆酸	9.49	163.04	2.64	−	$C_9H_8O_3$	酚酸类	0.02
14	芦丁	9.69	609.15	0.52	−	$C_{27}H_{30}O_{16}$	黄酮类	5.59
		9.73	611.16	1.74	+			10.14
15	异槲皮苷	9.74	465.10	1.84	+	$C_{21}H_{20}O_{12}$	黄酮类	1.02
16	连翘酯苷A	9.84	623.20	3.29	−	$C_{29}H_{36}O_{15}$	苯乙醇苷类	16.58
17	草木犀苷	10.19	325.09	3.86	−	$C_{15}H_{18}O_8$	香豆素类	0.02
18	3,7,8,2-四羟基黄酮	10.27	287.05	1.45	+	$C_{15}H_{10}O_6$	黄酮类	0.30
19	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	10.27	595.16	3.11	+	$C_{27}H_{30}O_{15}$	黄酮类	3.33
		10.33	593.15	0.68	−			2.49
20	毛蕊花糖苷	10.46	623.20	1.36	−	$C_{29}H_{36}O_{15}$	苯乙醇苷类	3.94
		9.77	625.21	4.32	+			0.72
21	柳穿鱼苷	10.48	621.18	1.77	−	$C_{29}H_{34}O_{15}$	黄酮类	0.91
		8.40	623.20	0.40	+			0.18
22	忍冬苷	10.59	595.16	1.93	+	$C_{27}H_{30}O_{15}$	黄酮类	6.09
23	罗汉松脂素苷	10.83	519.19	2.14	−	$C_{26}H_{32}O_{11}$	木脂素类	1.24
24	罗汉松脂素	10.85	357.14	5.14	−	$C_{20}H_{22}O_6$	木脂素类	0.04
25	苯甲醛	11.37	107.05	5.40	+	C_7H_6O	醛类	0.02
26	壬二酸	11.75	187.10	0.98	−	$C_9H_{16}O_4$	有机酸类	0.05
27	毡牛儿基*β*-樱草糖苷	14.22	447.22	1.62	−	$C_{21}H_{36}O_{10}$	萜类	0.04
28	植物鞘氨醇	19.11	318.30	1.48	+	$C_{18}H_{39}NO_3$	脂类	0.91
29	1-硬脂酰-2-花生四烯酰磷脂酰胆碱	19.67	810.60	3.62	+	$C_{46}H_{84}NO_8$	磷脂类	0.17
30	*D*-赤型-鞘氨醇	21.02	302.30	3.16	+	$C_{18}H_{39}NO_2$	脂类	0.09
31	11-氧代熊果酸乙酸酯	24.90	513.36	3.97	+	$C_{32}H_{48}O_5$	三萜类	0.03
32	脱镁叶绿酸a	26.69	593.27	1.93	+	$C_{35}H_{36}N_4O_5$	脂类	2.01
33	单硬脂酸甘油酯	27.79	359.32	0.04	+	$C_{21}H_{42}O_4$	脂类	0.20
34	1-棕榈酰-2-油酰磷脂酰胆碱	28.84	760.58	3.76	+	$C_{42}H_{82}NO_8$	磷脂类	0.10

DPPH自由基清除率随质量浓度的增加逐渐升高，并于1.2 mg/mL时达到最大值，为97.70%，接近VC。综上，FLTF具有较好的Cu^{2+}螯合能力与DPPH自由基清除能力。本研究结果与Wang等[29]的研究结论一致，该研究证实连翘果实与连翘叶醇提物的乙酸乙酯萃取部分可通过提升机体抗氧化酶活性、减少氧化损伤产物来发挥抗衰老作用。



(a) FLTF的Cu^{2+}螯合能力



(b) FLTF的DPPH自由基清除率

不同字母表示相同物质不同质量浓度间差异显著(P<0.05)；
*—相同质量浓度不同物质间差异显著(P<0.05)。

图4 FLTF的抗氧化活性

Fig. 4 Antioxidant activity of FLTF

2.5 体外抗炎活性结果

2.5.1 FLTF对RAW264.7巨噬细胞存活率的影响

FLTF对RAW264.7巨噬细胞存活率的影响见表6。与空白组相比，模型组的细胞存活率为(112.07±1.60)%，表明LPS激活了炎症应答和代谢活性，未引起明显的细胞毒性，与其他研究结果一致[20]。经FLTF处理后，细胞存活率均有所提升，且在25 μg/mL时达到最大值，为(125.04±2.36)%，说明FLTF对RAW264.7巨噬细胞的活性具有促进作用。

表6 FLTF对RAW264.7巨噬细胞存活率的影响

Table 6 Effect of FLTF on the survival rate of RAW264.7 macrophages

组别	FLTF质量浓度/(μg/mL)	细胞存活率/%
空白组	0	100.00±0.00
模型组	0	112.07±1.60
给药组	5	112.78±1.43
	10	123.05±2.75
	15	115.72±1.53
	20	116.80±2.19
	25	125.04±2.36

2.5.2 FLTF对RAW264.7巨噬细胞NO释放的影响

LPS是革兰氏阴性菌外膜的核心成分，同时也是巨噬细胞炎症反应的典型诱导剂，LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症模型是体外抗炎活性研究的经典模型之一。LPS可上调巨噬细胞中iNOS蛋白质的表达，促进NO生成，进而介导并加剧炎症反应。因此，调控LPS介导的iNOS/NO信号通路、抑制NO过度释放，可有效缓解机体炎症损伤，发挥组织保护作用。FLTF对RAW264.7巨噬细胞NO释放的影响见表7。模型组NO浓度为(37.80±1.39) μmol/L，极显著高于空白组(P<0.01)，表明LPS成功激活了RAW264.7巨噬细胞的炎症反应，模型成功建立。当FLTF质量浓度为5 μg/mL时，细胞中NO浓度为(34.60±1.05) μmol/L，较模型组略有下降，但差异不显著；当FLTF质量浓度为10~25 μg/mL时，NO浓度呈剂量依赖性降低。FLTF抑制NO释放的IC_{50}值为14.08 μg/mL。

表7 FLTF对RAW264.7细胞NO释放的影响

Table 7 Effect of FLTF on the NO release from RAW264.7 macrophages

组别	FLTF质量浓度/(μg/mL)	NO浓度/(μmol/L)
空白组	0	2.37±0.31
模型组	0	37.80±1.39##
给药组	5	34.60±1.05
	10	27.82±0.92**
	15	20.75±0.44**
	20	10.35±0.28**
	25	3.84±0.10**

注："##"表示与空白组相比差异极显著，P<0.01；"**"表示与模型组相比差异极显著，P<0.01。

2.5.3　FLTF对*iNOS*和*COX-2*基因mRNA表达的影响

巨噬细胞是调控炎症与免疫反应的关键细胞，主要分为促炎M1型和抗炎M2型。iNOS蛋白质是M1型的特征标志物，可促进炎症反应，抑制*iNOS*基因有利于促进巨噬细胞向M2型转变，从而发挥抗炎效果[30-31]。COX-2蛋白质是炎症发展过程中的关键调控分子，抑制其活性可减少PGE_2分泌，从而抑制肿瘤生长[32]。*iNOS*和*COX-2*基因已成为多种疾病治疗中的调控靶点。由表8可以看出，与空白组相比，模型组*iNOS*和*COX-2*基因的mRNA表达水平均极显著提高，分别为6 659.77±150.69、1 953.24±74.34（P<0.01），表明LPS上调了细胞中*iNOS*、*COX-2*基因的mRNA表达水平。与模型组相比，14 μg/mL的槲皮素使*iNOS*基因的mRNA相对表达水平降至4 419.58±166.89，为模型组的66.36%，极显著下调了*iNOS*基因的mRNA相对表达水平（P<0.01）。但*COX-2*基因的mRNA相对表达水平为3 580.70±124.50，差异不显著（P>0.05）。这可能是由于槲皮素吸收率低、排泄快，导致其生物利用度较低，且本研究使用的槲皮素质量浓度较低，因此无法有效调控*COX-2*基因的表达[33]。与模型组相比，FLTF呈剂量依赖性方式降低了*iNOS*、*COX-2*基因的mRNA相对表达水平。当FLTF质量浓度为7 μg/mL时，*iNOS*基因的mRNA相对表达水平为模型组的80.32%，*COX-2*基因的mRNA相对表达水平为模型组的65.71%；当FLTF质量浓度为14 μg/mL时，*iNOS*基因的mRNA相对表达水平下调至模型组的64.77%，*COX-2*基因的mRNA相对表达水平下调至模型组的43.35%；当FLTF质量浓度为21 μg/mL时，分别降低至模型组的40.46%和36.32%。与槲皮素相比，FLTF在抑制*iNOS*基因mRNA表达的同时，还能显著下调*COX-2*基因的mRNA表达，显示出双重抑制效应。表明FLTF可能通过协同下调*iNOS*和*COX-2*基因的mRNA表达水平抑制NO等促炎因子的产生，从而发挥抗炎作用。该结果与金粟兰中倍半萜二聚体化合物的作用机制一致，通过降低LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症模型中促炎因子NO的分泌，抑制*iNOS*和*COX-2*基因的mRNA表达，从而发挥抗炎活性[34]。

表8　FLTF对*iNOS*和*COX-2*基因mRNA相对表达水平的影响

Table 8　Effects of FLTF on the relative mRNA levels of *iNOS* and *COX-2* genes

组别	FLTF质量浓度/（μg/mL）	*iNOS*基因的mRNA相对表达水平	*COX-2*基因的mRNA相对表达水平
空白组	0	1.00	1.00
模型组	0	6 659.77±150.69$^{\#\#}$	1 953.24±74.34$^{\#\#}$
阳性对照组	14	4 419.58±166.89**	3 580.70±124.50
给药组	7	5 349.21±175.20**	1 283.51±138.90**
	14	4 313.37±126.72**	846.82±174.84**
	21	2 694.47±137.74**	709.51±165.21**

注：“##”表示与空白组相比差异极显著，P<0.01；“**”表示与模型组相比差异极显著，P<0.01。

2.5.4　FLTF对iNOS和COX-2蛋白质表达的影响

由表9可以看出，与空白组相比，模型组细胞中iNOS和COX-2蛋白质表达水平均极显著升高（P<0.01），分别由空白组的0.19±0.09、0.16±0.06上调至1.16±0.08、1.41±0.15，表明LPS成功诱导了细胞炎症状态。与模型组相比，14 μg/mL的槲皮素使iNOS蛋白质表达水平降至模型组的30.17%，但COX-2蛋白质的表达未受抑制，这与mRNA表达结果一致。与模型组相比，FLTF给药组呈剂量依赖性下调iNOS和COX-2蛋白质的表达水平。当FLTF质量浓度为7 μg/mL时，iNOS和COX-2蛋白质表达水平分别降至模型组的60.34%和68.09%；当FLTF质量浓度为14 μg/mL时，两者表达水平分别为模型组的52.59%和32.62%；当FLTF质量浓度为21 μg/mL时，抑制效果最为显著，两者表达水平分别为模型组的48.28%和14.89%。结果表明，FLTF可呈剂量依赖性抑制LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症模型中iNOS和COX-2蛋白质的表达，与其对mRNA表达的抑制作用一致，该结果与桔梗甘草汤抗炎作用结果类似[35]。从基因转录到

蛋白质合成的双重抑制作用，共同导致下游NO等炎症因子生成减少，在分子层面证实了FLTF的抗炎作用，进一步验证了天然黄酮类化合物可通过抑制炎症因子释放，降低炎症疾病的发生风险[36]。

表9 FLTF对iNOS和COX-2蛋白质表达的影响

Table 9 Effects of FLTF on the protein levels of iNOS and COX-2

组别	FLTF质量浓度/（μg/mL）	iNOS/*β*-actin	COX-2/*β*-actin
空白组	0	0.19±0.09	0.16±0.06
模型组	0	1.16±0.08$^{\#\#}$	1.41±0.15$^{\#\#}$
阳性对照组	14	0.35±0.09**	1.73±0.20
给药组	7	0.70±0.02**	0.96±0.15**
	14	0.61±0.09**	0.46±0.11**
	21	0.56±0.01**	0.21±0.13**

注：“##”表示与空白组相比差异极显著，$P<0.01$；“**”表示与模型组相比差异极显著，$P<0.01$。

3 结论

FLTF的最佳提取工艺参数为：提取时间108 min、料液比1 g∶88 mL、乙醇体积分数29.50%、硫酸铵质量浓度0.25 g/mL，在此条件下FLTF质量分数达99.52 mg/g。从FLTF中共鉴定出34种化合物，其中黄酮类7种、苯乙醇苷类2种，连翘酯苷A和芦丁为其最主要的单体标志物。FLTF具有较强的Cu^{2+}螯合能力和DPPH自由基清除能力，表现出良好的抗氧化效果；FLTF能够呈剂量依赖性抑制RAW264.7巨噬细胞分泌NO，IC_{50}值为14.08 μg/mL。FLTF可显著抑制LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症模型中*iNOS*、*COX-2*基因的mRNA表达及iNOS和COX-2的蛋白质表达。综上，FLTF富含苯乙醇苷类与黄酮类活性成分，具有良好的体外抗氧化及抗炎活性，表明连翘叶具备开发为植物源食品添加剂的潜力，为实现连翘采收废弃物的资源化利用、构建连翘全株利用的循环经济模式提供理论支撑。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部：2020年版[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：177-178.

[2] Zuo X L，Pan X Z，Wang Y，et al. Prediction of potential active ingredients and mechanism of *Forsythia suspense* leaf green tea extract in treating COPD mice based on UPLC-MS and network pharmacology[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture，2025，105（8）：4191-4208.

[3] Yang X N，Qin B，Li H M，et al. Chemical composition and anti-inflammatory activity of flower essential oil from *Forsythia koreana* Nakai[J]. Natural Product Research，2024，38（18）：3207-3213.

[4] Gao B Y，Zhu H S，Liu Z H，et al. Chemical compositions of Lianqiao（*Forsythia suspensa*）extracts and their potential health benefits[J]. Pharmaceuticals，2024，17（6）：740.

[5] Xiao X Y，Zhang Y，Sun K D，et al. Enzymatic and ultrasound assisted *β*-cyclodextrin extraction of active ingredients from *Forsythia suspensa* and their antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Ultrasonics Sonochemistry，2024，108：106944.

[6] Wang Z Y，Xia Q，Liu X，et al. Phytochemistry，pharmacology，quality control and future research of *Forsythia suspensa*（Thunb.）Vahl：a review[J]. Journal of Ethnopharmacology，2018，210：318-339.

[7] Mu Y，Liu B，Zhang X，et al. Analysis of constituents in different parts of *Forsythia suspensa* by UPLC-Q-TOF-MS and evaluation of their anti-inflammatory activity[J]. China Journal of Chinese Materia Medica，2024，49（4）：968-980.

[8] Li L J，zhao Y T，Ding Y X，et al. *Forsythia suspensa* leaf fermented tea extracts attenuated oxidative stress in mice *via* the Ref-1/HIF-1α signal pathway and modulation of gut microbiota[J]. Scientific Reports，2025，15：4106.

[9] 徐源，杨立军，李冰洁，等. 超声辅助双水相提取紫苏叶总黄酮工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 粮食与油脂，2025，38（2）：158-162.
Xu Y，Yang L J，Li B J，et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Perilla frutescens* L. leaves by ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction and analysis of its antioxidant activity[J]. Cereals & Oils，2025，38（2）：158-162.（in Chinese）

[10] 高慧娟，张佳奇，张乐乐，等. 乙醇-硫酸铵双水相体系萃取香椿籽总黄酮工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中成药，2023，45（12）：3879-3883.
Gao H J，Zhang J Q，Zhang L L，et al. Optimization of ethanol-ammonium sulfate aqueous two-phase extraction process for total flavonoids from *Toona sinensis* seeds and their anti-oxidant activity[J]. Chinese Traditional Patent Medicine，2023，45（12）：3879-3883.（in Chinese）

[11] 张达目，李永贵，麻文效，等. 罗布麻叶黄酮化合物超声

波辅助双水相提取工艺优化及其抗氧化性能[J]. 食品科技，2025，50(5)：254-262.
Zhang D M，Li Y G，Ma W X，et al. Research on the extraction of flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves by ultrasonic-assisted aqueous two-phase method and their antioxidant properties[J]. Food Science and Technology，2025，50(5)：254-262.(in Chinese)

[12] Zhang X，Yang H，He Y，et al. Yeast-inspired orally-administered nanocomposite scavenges oxidative stress and restores gut immune homeostasis for inflammatory bowel disease treatment[J]. ACS Nano，2025，19(7)：7350-7369.

[13] Jomova K，Alomar S Y，Valko R，et al. Flavonoids and their role in oxidative stress，inflammation，and human diseases[J]. Chemico-Biological Interactions，2025，413：111489.

[14] Guo J，Liu W，Li H H，et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of crude flavonoids from Moutai distillers grains and evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Foods，2025，14(13)：2316.

[15] Ma S J，He H B，Ren X B，et al. Luteolin ameliorates periodontitis by modulating mitochondrial dynamics and macrophage polarization *via* the JAK2/STAT3 pathway[J]. International Immunopharmacology，2025，144：113612.

[16] Long S F，He T F，Wu D，et al. *Forsythia suspensa* extract enhances performance *via* the improvement of nutrient digestibility，antioxidant status，anti-inflammatory function，and gut morphology in broilers[J]. Poultry Science，2020，99(9)：4217-4226.

[17] 王璐，郜玉钢，郭阳，等. 培养液匀浆人参发根抗氧化、抗黑色素瘤作用[J]. 食品科学，2018，39(17)：152-158.
Wang L，Gao Y G，Guo Y，et al. Antioxidant and antimelanoma capability of ginseng hairy root culture[J]. Food Science，2018，39(17)：152-158.(in Chinese)

[18] 张雅男，包怡红，王金玲. 东北9种浆果生物活性物质及抗氧化、抗炎活性比较[J]. 现代食品科技，2025，41(3)：44-53.
Zhang Y N，Bao Y H，Wang J L. Comparison on the bioactive substances，antioxidant capacities and anti-inflammatory activities of 9 kinds of berries in Northeast China[J]. Modern Food Science & Technology，2025，41(3)：44-53.(in Chinese)

[19] 吴凤玲，李秋香，李清，等. 欧前胡素对乳腺癌他莫昔芬的多药耐药逆转作用及机制研究[J]. 中草药，2025，56(1)：165-176.
Wu F L，Li Q X，Li Q，et al. Reversal effect and mechanism of multidrug resistance of imperatorin in breast cancer tamoxifen[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs，2025，56(1)：165-176.(in Chinese)

[20] 刘员，王欢欢，吕洁丽，等. 当归苯酞 riligustilide 抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症反应及机制研究[J]. 中华中医药学刊，2024，42(7)：140-146.
Liu Y，Wang H H，Lyu J L，et al. Inhibitory effect and mechanism of riligustilide from Danggui (*Angelica sinensis*) on LPS-induced inflammatory response in RAW 264.7 cells[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine，2024，42(7)：140-146.(in Chinese)

[21] 马红. 连翘叶水提物抗AD症初步研究[D]. 太原：山西大学，2021：8-11.

[22] 刘瑞莹，刘路路，任晓红，等. 霜后连翘叶醇提物减轻阿尔茨海默病模型线虫Aβ毒性的作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志，2024，39(1)：393-397.
Liu R Y，Liu L L，Ren X H，et al. Effect and mechanism of alcohol extract from *Forsythia suspensa* leaves after frost on attenuating Aβ toxicity of model nematode of Alzheimer's disease[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy，2024，39(1)：393-397.(in Chinese)

[23] Sholichah E，Purwono B，Murdiati A，et al. A novel method for extracting glucomannan using an aqueous two-phase system[J]. Food Technology and Biotechnology，2025，63(1)：14-25.

[24] Arbianti R，Ningsih H，Putri N F，et al. A comparative study of sequential and simultaneous enzymatic and ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction for anticholesterol compounds from *Strobilanthes crispus* leaves[J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences，2024，37(2)：265-274.

[25] Wang D Q，Cui H P，Zong K L，et al. Extraction of functional natural products employing microwave-assisted aqueous two-phase system：application to anthocyanins extraction from mulberry fruits[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology，2024，54(1)：115-125.

[26] 李孟杰，蔺康森，李周钰，等. 超声辅助双水相艾叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 饲料工业，2024，45(18)：93-99.
Li M J，Lin K S，Li Z Y，et al. Ptimization of extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from folium artemisiae argyi by ultrasonic-assisted[J]. Feed Industry，2024，45(18)：93-99.(in Chinese)

[27] 吕允珂，郑萱，张菊，等. 连翘叶总黄酮对斑马鱼溃疡性

结肠炎的作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2024,36(8):1279-1287.

Lyu Y K, Zheng X, Zhang J, et al. Effect of total flavonoids from *Forsythia suspensa* leaf on zebrafish ulcerative colitis [J]. Natural Product Research and Development,2024,36(8):1279-1287.(in Chinese)

[28] Zhang J H, Jiang T, Zhang Y X, et al. Phillygenin prevents osteoclast differentiation and bone loss by targeting RhoA [J]. Phytotherapy Research, 2024, 38(4):1863-1881.

[29] Wang X M, Jia Q W, Yao X Y, et al. Analysis of *Forsythia suspensa* fruit and leaf extracts using UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap/MS: *in vivo* antioxidant activity on *D*-galactose-induced aging mice [J]. Food Chemistry,2025,462:141002.

[30] Kang J H, Kim J H, Gim J A, et al. iNOS in macrophage polarization: pharmacological and regulatory insights[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(24):12056.

[31] Ryszkiewicz P, Schlicker E, Malinowska B. Is inducible nitric oxide synthase (iNOS) promising as a new target against pulmonary hypertension? [J]. Antioxidants, 2025,14(4):377.

[32] Huang R P, Yu J, Zhang B Y, et al. Emerging COX-2 inhibitors-based nanotherapeutics for cancer diagnosis and treatment[J]. Biomaterials,2025,315:122954.

[33] Kang S G, Lee G B, Vinayagam R, et al. Anti-inflammatory, antioxidative, and nitric oxide-scavenging activities of a quercetin nanosuspension with polyethylene glycol in LPS-induced RAW264.7 macrophages [J]. Molecules,2022,27(21):7432.

[34] 胡蕴然,庄鹏宇,柳航,等. 湖北金粟兰中倍半萜二聚体化合物(+)-chlorahupetenes B对脂多糖诱导的RAW264.7细胞的抗炎作用[J]. 药物评价研究,2024,47(3):505-512.

Hu Y R, Zhuang P Y, Liu H, et al. Anti-inflammatory effect of a sesquiterpene dimer compound(+)-chlorahupetenes B from *Chloranthus henryi* var. *hupehensis*(Pamp.)K. F. Wu on lipopolysaccharides-stimulated RAW264.7 cells [J]. Drug Evaluation Research, 2024, 47(3):505-512.(in Chinese)

[35] 汪思齐,黄春华,夏铭,等. 桔梗甘草汤对LPS诱导RAW264.7细胞炎症模型的抗炎作用及机制研究[J]. 中药材,2025,48(3):764-767.

Wang S Q, Huang C H, Xia M, et al. Anti-inflammatory effect and mechanism of Jiegeng Gancao decoction on LPS-induced inflammatory model in RAW264.7 cells[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2025,48(3):764-767.(in Chinese)

[36] 虞世帅,郝怡宁,彭勃,等. 茶树花提取物的体外抗氧化、抗炎活性及其对细胞衰老的抑制作用[J]. 食品与生物技术学报,2025,44(7):74-84.

YU S S, HAO Y N, PENG B, et al. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of tea flower extract and its inhibitory effect on cell aging[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2025,44(7):74-84.