

樟树抗炎活性及作用机制研究

吴磊¹,吴静^{1*},李子江²,胡居吾^{1*},熊伟¹,徐刚¹,司传领²,Bae Young-Soo^{1,3}¹江西省科学院应用化学研究所,南昌 330096;²天津科技大学天津市制浆造纸重点实验室,天津 300457;³韩国江原大学森林与环境学院森林生物物质材料工程,春川 200-701

摘要:以樟树提取香料后的残渣为研究对象,探讨其对脂多糖(LPS)刺激 RAW 264.7 细胞的体外抗炎作用及其机制。采用 95% 乙醇提取,然后进行萃取分为正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇和水 5 部分,采用噻唑蓝(MTT)法检测不同萃取相对 RAW 264.7 细胞活性的影响;采用 Griess 法检测各萃取相对 LPS 刺激 RAW 264.7 细胞的一氧化氮(NO)释放量;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测细胞上清液中 PGE₂ 和 TNF- α 的分泌量;采用反转录 PCR(RT-PCR)和实时定量 PCR(real time RT-PCR)检测环氧合酶-2(COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA 的表达。樟树乙酸乙酯萃取相能明显抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 NO、PGE₂ 和 TNF- α 的分泌而且无细胞毒性,从转录水平不同程度地抑制 COX-2、iNOS 和 TNF- α 的表达。证实了樟树乙酸乙酯萃取相具有抗炎作用,其作用机制与在转录水平上抑制 COX-2、iNOS 和 TNF- α 有关。

关键词:樟树;RAW264.7;细胞因子;抗炎作用

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.9.007

Anti-inflammatory Activity of *Cinnamomum camphora* Fractions and Its Anti-inflammatory Mechanism

WU Lei¹, WU Jing^{1*}, LI Zi-jiang², HU Ju-wu^{1*}, XIONG Wei¹,
XU Gang¹, SI Chuan-ling², BAE Young-soo^{1,3}¹Institute of Applied Chemistry, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330096, China;²Tianjin Key Laboratory of Pulp and Paper, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;³Department of Forest Biomaterials Engineering, College of Forest & Environment Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract: To observe the anti-inflammatory effect of the residue left after extracting spices from *Cinnamomum camphora* on LPS-induced RAW 264.7 macrophages. Hexane, dichloromethane (CH₂Cl₂), ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (*n*-BuOH) and water (H₂O) fractions of 95% alcohol aqueous extracts of *C. camphora* were obtained. Then, the effects of five fractions of different concentrations on RAW264.7 cell viability were determined with the MTT method. NO concentration was measured with Griess method. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the secretion of PGE₂ and TNF- α . The reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and real time RT-PCR were used to determine the expression of COX-2, iNOS and TNF- α mRNA. Pre-treatment with EtOAc fraction of *C. camphora* showed no cytotoxicity can significantly inhibited the LPS-stimulated secretion of NO, PGE₂, and TNF- α into the culture medium, as well as the mRNA levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), and TNF- α . Overall, our data suggest that EtOAc fraction of *C. camphora* possess significant anti-inflammatory properties by down-regulation of COX-2, iNOS and TNF- α expression from transcriptional levels. EtOAc fraction of *C. camphora* may exert anti-inflammatory effect on RAW264.7 cells stimulated by LPS.

Key words: *Cinnamomum camphora*; RAW 264.7; cytokine; anti-inflammatory effect樟树 (*Cinnamomum camphora* L. Presl.) 又名香樟、乌樟、樟木、芳樟等,是樟科(Lauraceae)樟属(*Cinnamomum*)常绿高大阔叶乔木。樟树是我国重要的经济树种和绿化树种,在中国南部各省份广泛分布,江西省将其命为“省树”^[1,2]。樟树性味辛温

收稿日期:2018-01-30 接受日期:2018-04-08

基金项目:江西省重点研发计划(20171BBH80017);江西省科学院

博士人才引进项目(2016-YYB-07)

*通信作者 Tel:86-791-88131372; E-mail:hjw_u@126.com

无毒,其树根、树皮、树叶、果实、枝、树干、叶均具有散寒止痛、温中健脾、补火助阳等功效,可用于治疗各种痛症、脾胃虚寒、肾阳虚衰、瘀血内阻等^[3,4]。对该属植物化学成分研究表明多含挥发油、多酚、黄酮、瑞诺烷类二萜、鞣质、芳香性化合物、生物碱、木质素、有机酸及多糖等成分^[5]。现代药理研究发现,樟树资源具有抑菌、消炎、止痛、抗癌、抗氧化及提高人体免疫力等药用价值^[6]。目前,素有中国最大的香精香料基地—“金溪县”,对樟树的开发利用中,很重要的一方面是对它的芳香资源的开发利用,而对于提取后的樟树原料直接作为柴火进行焚烧,并未开发其利用价值,造成资源的极大浪费,做主要的原因是缺乏对其生物活性系统的研究。

本研究以金溪县樟树提取香料后的残渣为研究对象,对其进行溶剂提取,萃取,探讨不同萃取段的抗炎活性以及初步作用机制。为合理开发利用樟树资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

樟树全株于2017年3月上旬由江西思派思香料化工有限公司提供,是经过蒸馏提取后的残留物。

二甲基亚砜(DMSO)、脂多糖(LPS)、甲氮甲唑蓝(MTT)均购于Sigma公司。十二烷基硫酸钠、N-1-萘乙二胺盐酸盐、对氨基苯磺酰胺、无水乙醇、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。1640培养基、胰蛋白酶和胎牛血清均购于Gibco公司。GAPDH、iNOS、TNF- α 、COX-2引物购于上海捷瑞生物工程有限公司,RIPA细胞裂解液购于碧云天生物技术研究所。

1.2 仪器与设备

PCR扩增仪:ABI公司;电泳槽:Bio-Rad公司;ALPHA 1-2LDPLUS冷冻干燥机:德国ALPHA公司;分析天平:北京赛多利斯仪器系统有限公司;伯乐凝胶成像系统(型号:Gel XP System):Bio-Rad公司;数码凝胶图像处理系统:上海天能科技有限公司;Tecan infinite M200 PRO酶标仪:瑞士Tecan公司;KQ-500B超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;二氧化碳培养箱:日本SANYO公司;台式高速冷冻离心机:Eppendorf公司;电泳槽:Bio-Rad公司;Nanopure超纯水系统:Millipore公司。

2 实验方法

2.1 樟树提取物和萃取物的制备

将阴干的樟树全株粉碎(5076.73 g),以95%乙醇超声提取3次,每次2小时,滤过,合并滤液,减压回收乙醇,得粗提取物浸膏(CC-CE)359.88 g,得率为7.09%。粗提取物加入超纯水打散后进行溶剂萃取,利用极性由小到大的顺序依次萃取,减压浓缩,冷冻干燥可得正己烷萃取相(CC-NH)12.88 g,得率为0.25%。二氯甲烷萃取相(CC-C)6.56 g,得率为0.12%。乙酸乙酯萃取相(CC-E)42.56 g,得率为0.84%。正丁醇萃取相(CC-NB)86.8 g,得率为1.71%。水相(NHF)169 g,得率为3.33%。

2.2 细胞培养和药液配制

RAW 264.7细胞从美国典型培养物保藏中心(ATCC)购得,用1640培养基(含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素)于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养至对数生长期。各萃取相溶解于DMSO中,用1640培养基稀释成供试液浓度,所配制的药液中DMSO含量不能超过0.1%。

2.3 细胞存活率

采用MTT法^[7]检测细胞存活率。选取对数生长期RAW 264.7细胞,按 1×10^6 个/mL,100 μ L/孔接种于96孔板中,置于CO₂培养箱培养过夜后,吸取旧培养基,加入待测药物的新培养基继续培养24小时,吸取旧培养基,于每孔中加入MTT工作液100 μ L,继续孵育3小时后每孔加入MTT终止液100 μ L继续培养16~20小时后,用酶标仪在550 nm处测定OD值,实验重复3次,计算细胞的相对存活率。相对细胞存活率=(实验组孔吸光值-空白组孔吸光值)/(对照组孔吸光值-空白组孔吸光值) \times 100%。

2.4 NO、TNF- α 及PGE2分泌量的检测

将密度为 1×10^5 个细胞接种于96孔板中,置于CO₂培养箱中培养过夜,洗掉旧培养基,加入含有供试药物的新培养基和不加药物的培养基培养30 min,然后加入1 μ g/mL LPS和不加LPS的培养基培养24小时,用Griess法检测细胞上清液中NO的分泌量,按ELISA检测试剂盒操作方法测定TNF- α 及PGE₂的分泌量。

2.5 反转录以及聚合酶链式反应

将 5×10^6 个细胞放入直径为40 mm的小培养皿(4 mL的培养基)培养16小时,吸去旧培养基,加

入含有不同浓度的乙酸乙酯萃取物培养 30 min 后, 然后加入 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 和不加 LPS 的培养基培养 6 小时后收集细胞。采用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 反转录为 cDNA, 然后扩增 cDNA。分别运用实时定量与半定量的方法来测定 iNOS、COX-2 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平。引物序列和 RT-PCR 条件如表 1

所示, 实时定量的扩增条件是: 94 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、GOTO2, 30 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min。产物经电压为 100 V, 时间为 30 min 的琼脂糖凝胶电泳后, 对电泳结果进行分析, 测定 iNOS、COX-2 和 TNF- α mRNA 的表达情况。

表 1 引物序列和 RT-PCR 条件

Table 1 Primer sequences and conditions for RT-PCR

基因名 Gene name	引物序列 Primer Sequence (5'-3')	扩增条件 PCR conditions	循环数 PCR cycles
GAPDH	F: CACTCACGGCAAATTC AACGGCA R: GACTCCACGACATACTCAGCAC	Denaturation-94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Annealing-60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Extension-72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s	30
iNOS	F: CCCTTCCGAAGTTTCTGGCAGCAG R: GGCTGTCTAGAGCCTCGTGGCTTTGG	Denaturation-94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Annealing-60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Extension-72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s	27
COX-2	F: CACTACATCTGACCCACTT R: ATGCTCCTGCTTGAGTATGT	Denaturation-94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Annealing-55 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Extension-72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s	30
TNF- α	F: TGCCTATGTCTCAGCCTCTTC R: GAGGCCATTTGGGAAGCTTCT	Denaturation-94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Annealing-55 $^{\circ}\text{C}$, 30 s Extension-72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s	30

2.6 统计学方法

数据结果采用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组之间的差异性采用单向方差分析通过统计软件包 SPSS 19.0 版, $P < 0.05$ 认为有显著性差异, $P > 0.05$ 则无显著性差异。

3 结果

3.1 樟树不同萃取段对 RAW 264.7 细胞毒性的影响

通过 MTT 实验来检测药物对细胞存活率的影响, 结果显示: 在给药浓度都为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 以空白对照组细胞存活率为 100% 计, 各萃取段的相对存活率如图 1 所示, 其中乙酸乙酯、正丁醇以及水三部分对细胞的存活率影响与空白组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。而粗提物、正己烷以及二氯甲烷萃取

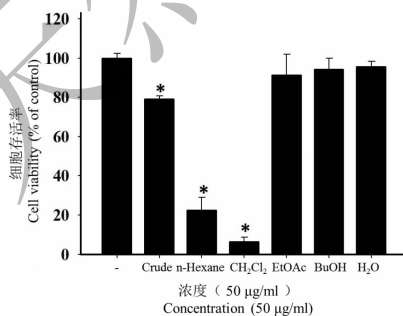


图 1 樟树不同萃取段对 RAW 264.7 细胞存活率的影响
Fig. 1 The effects of different fractions from *C. camphora* on cytotoxicity in RAW 264.7 cells

段的细胞存活率分别为 79.15%、22.53%、6.48%, 与空白组相比具有显著差异 ($P < 0.05$)。说明在给药浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 粗提物、正己烷以及二氯甲烷萃取段三部分对细胞具有毒性, 而乙酸乙酯、正丁醇以及水三部分对细胞并无毒性。

3.2 樟树不同萃取段对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞释放 NO 的抑制作用

利用 LPS 刺激 RAW 264.7 细胞为炎症模型, 分为对照组和药物组, 采用 Griess 试剂法分别检测细胞上清液中 NO 含量, 与对照组相比, 结果如图 2 所示。给药浓度都为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 粗提物、正己烷、二氯甲烷以及乙酸乙酯萃取段四部分部分与对照组的 NO 分泌量比较, 均有减少, 分别为 32.38%、14.29%、9.92% 和 47.02%, 具有显著性差异 ($P <$

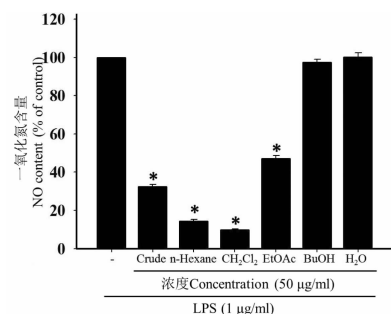


图 2 樟树不同萃取段对 RAW 264.7 细胞存活率的影响
Fig. 2 The effects of different fractions from *C. camphora* on NO in RAW 264.7 cells

0.05)。说明粗提物、正己烷、二氯甲烷以及乙酸乙酯萃取段四部分部分均有抗炎作用,结合 2.1 结果可知,粗提物、正己烷以及二氯甲烷萃取段三部分对细胞具有毒性,而乙酸乙酯对细胞并无毒性。说明乙酸乙酯萃取段为其抗炎有效部位,可进行下面实验。

3.3 不同浓度乙酸乙酯萃取段对炎症因子抑制作用的影响

根据 2.2 结论,本研究重点考察不同浓度的乙酸乙酯萃取段对 LPS 刺激 RAW 264.7 细胞上清液的炎症因子分泌的影响。首先通过 MTT 实验考察了乙酸乙酯萃取段不同浓度对细胞存活率的影响。图 3(A)所示,说明在给药浓度为 6.25 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,与空白对照组相比,无明显差异,对细胞并无毒性。采用 Griess 法检测不同浓度对 LPS 刺激

RAW264.7 细胞的一氧化氮(NO)释放量以及用酶联免疫吸附法(ELISA)检测细胞上清液中 PGE_2 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的分泌量,结果如图 3(B,C,D)所示,将空白对照组的细胞因子水平为 100%,实验组以此为对照,研究表明,随着给药浓度的增加,NO 的分泌水平分别为 92.35%、83.65%、63.45%、47.02% 和 24.35%; PGE_2 的分泌水平分别为 86.35%、63.65%、39.45%、27.02% 和 14.35%; $\text{TNF-}\alpha$ 的分泌水平分别为 95.35%、86.65%、68.45%、45.02% 和 22.36%; 炎症因子的释放水平随着给药浓度的增加而逐渐减少,并呈现出浓度依赖关系,另一方面当给药浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,炎症因子的释放水平达到最低值,与空白对照组相比,存在显著性差异 ($P < 0.05$),具有很好的抗炎作用。

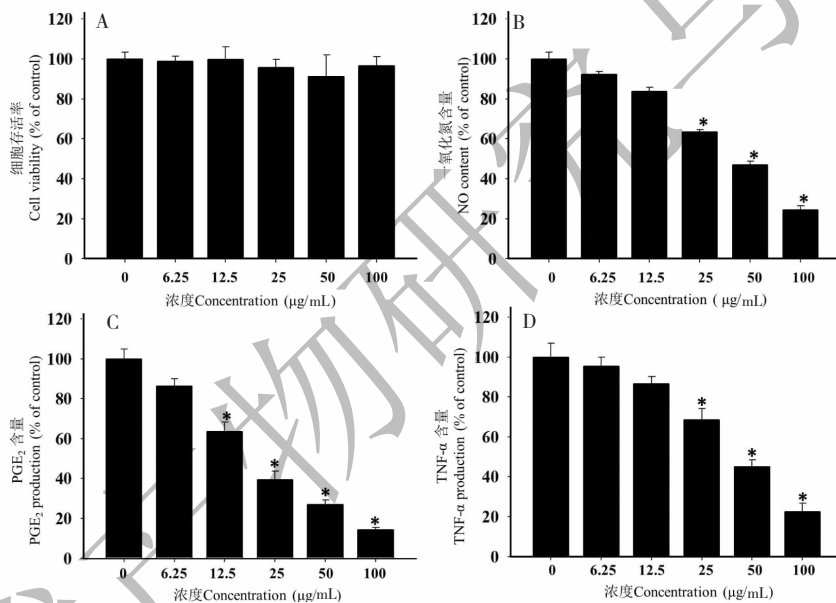


图 3 CC-E 作用于 LPS 刺激 RAW 264.7 细胞炎症因子的释放

Fig. 3 Effect of CC-E on the production of inflammatory mediators in LPS-activated RAW 264.7 cells

3.4 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞 iNOS、COX-2 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的 mRNA 表达的影响

LPS 刺激 RAW 264.7 细胞能使细胞内相关炎症因子的 mRNA 表达水平显著升高,图 4 所示。RT-PCR 和实时定量 RT-PCR 结果共同显示,与空白对照组相比,LPS 模型组在给予 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 刺激 6 h 后 iNOS、COX-2 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的 mRNA 表达水平显著升高,差异有显著意义 ($P < 0.05$),而分别加入 12.5、25、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的乙酸乙酯提取物预处理细胞 0.5 h,再加入 LPS 诱导 6 h 后,与 LPS 处理组相比较,iNOS、COX-2 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的 mRNA 的表达

明显减少,差异有显著意义 ($P < 0.05$,见图 4)。由此可知,不同浓度的乙酸乙酯萃取物对 iNOS、COX-2 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的 mRNA 的表达均有一定的抑制作用且具有浓度依赖性。

4 结论

炎症是机体对有害刺激所发生的复杂的防御反应,但过度的炎症会扰乱机体的正常功能,从而导致癌症、心血管疾病、糖尿病、皮肤病、阿尔茨海默病以及炎症性血管疾病的发生^[8]。因此,为了阻止或者治愈这些疾病必须了解与炎症反应相关的蛋白和炎

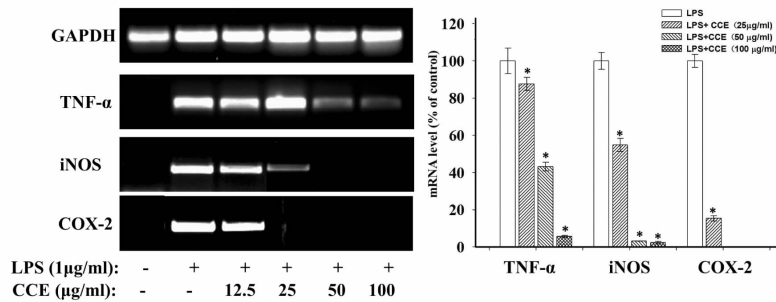


图4 樟树乙酸乙酯萃取物对LPS刺激RAW 264.7细胞iNOS、COX-2和TNF- α 的mRNA表达的影响

Fig. 4 The effect of iNOS, COX-2 and TNF- α mRNA expression after the intervention of CCE on RAW 264.7 cells stimulated by LPS

症因子的表达情况,例如NO、PGE₂和TNF- α 。这些炎症因子被认为是开发抗炎药的靶点^[9]。细胞毒性结果显示,在给药浓度为50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,正己烷、二氯甲烷萃取段对正常的巨噬细胞毒性明显,而Lee等^[10]报道正己烷萃取段在100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对细胞均无明显毒性,可作为抗炎有效成分,与本研究的结果不一致。正己烷与二氯甲烷作为弱极性溶剂,往往会溶解大量的挥发油成分,之前有大量研究报道樟树中含有芳樟醇、黄樟油素、樟脑、龙脑、橙花叔醇、异橙花叔醇、柠檬醛、香叶醇类等化合物^[11,12],高浓度这些化合物大于50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时往往对细胞具有明显的毒性作用^[13]。这可能由于Lee Hye Ja与本研究的樟树存在地区环境差异,导致其次级代谢成分发生变化而引起的。

脂多糖(LPS)是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分,刺激巨噬细胞产生炎症介质,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、前列腺素PGE₂、白细胞介素-6(IL-6)和NO,触发级联反应,从而产生炎症,已经被广泛应用于炎症模型的构建^[14]。当组织和细胞受到炎症影响时,一系列酶和信号蛋白的水平会上调。这是研究肿瘤进展的关键因素。在炎症过程中,一氧化氮合酶控制着NO的分泌,低浓度的NO有助于组织修复和消除炎症。然而,当受到脂多糖、细胞因子、白细胞介素刺激时,NO将会产生,导致各种炎症疾病的发生以及硝化应激和DNA氧化损伤,从而导致肿瘤的发生^[15]。本研究考察的另外两个炎症因子PGE₂和TNF- α 分别受到COX-2 mRNA和TNF- α mRNA的控制,环氧酶(COX),是前列腺素合成所必须的酶,通常有COX-1和COX-2两种形式,可以通过相同的催化机理发生相同的反应生成相同的产物,但是两种酶的抑制物选择性不同。COX-1是负责维持机体平衡,而COX-2由生长因子、细胞因子、

趋化因子和细菌毒素引起的瞬时诱导。肿瘤坏死因子- α 可能是最为研究的一线细胞因子,通过诱导自身免疫反应,特别是T细胞和巨噬细胞的活化,加重和延长炎症性损伤。肿瘤坏死因子- α 活性的机制是上调其他促炎细胞因子,这些炎症因子反过来又促进了白细胞募集到炎症部位^[7,9]。此外,TNF- α 能够诱导IL-1 β 和IL-6炎症因子的释放,从而提高组织巨噬细胞对该细胞因子的敏感性。因此抑制炎症因子NO、PGE₂和TNF- α 的分泌以及阻碍其对应的相关基因的转录,对于治疗炎症引起的疾病具有重要作用。本试验研究表明:LPS模型组RAW 264.7细胞的iNOS、COX-2和TNF- α mRNA表达显著增加,同时NO、PGE₂和TNF- α 的分泌也显著增加,加入樟树乙酸乙酯萃取物后,通过抑制iNOS、COX-2和TNF- α mRNA靶基因的表达,控制NO、PGE₂和TNF- α 的分泌,维持NO、PGE₂和TNF- α 的分泌和酶活性的正常生理水平。从而减轻炎症反应。

本研究中,樟树乙酸乙酯萃取物通过抑制NO/iNOS、PGE₂/COX-2和TNF- α /TNF- α 通路,以及抑制NO、PGE₂和TNF- α 等炎症细胞因子的产生,在巨噬细胞中起到抗炎作用。这些发现表明,樟树乙酸乙酯萃取段具有抗炎作用且对细胞并无毒性,可以作为开发植物源抗炎药的新原料,为合理开发樟树资源提供理论数据。

参考文献

- Luo YL(罗颖丽), Yan WD(闫文德), Tian DL(田大伦), et al. Diurnal variation of concentration of polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs) in the leaves of *Cinnamomun camphora* [J]. *Sci Silvae Sini* (林业科学), 2010, 46:161-165.
- Guo D(郭丹), Zeng JF(曾解放), Fan GR(范国荣). Re-

- search progress in chemical compositions and bioactivity of essential oil from *Cinnamomum camphora* [J]. *Bio Chem Eng* (生物质化学工程), 2015, 49(1): 53-57.
- 3 Li ZH(李振华), Wen Q(温强), Dai XY(戴小英). Resource utilization presentation and expectation in *Cinnamomum camphora* [J]. *Jiangxi Forestry Science and Technology* (江西林业科技), 2007, 49(1): 53-57.
 - 4 Zhou HX, Ren JL, Li ZH. Antibacterial activity and mechanism of pinosresinol from *Cinnamomum camphora* leaves against food-related bacteria [J]. *Food Control*, 2017, 79: 192-199.
 - 5 Yin AW(尹爱武), Tian R(田润), Li TF(李探芳). Studies on the chemical constituents of the stem of *Cinnamomum camphora* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 876-878.
 - 6 Zhang F(张峰), Bi LW(毕良武), Zhao ZD(赵振东). Review on plant resources and chemical composition of *Camphor tree* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 517-531.
 - 7 Hu WC, Wang XF, Wu L, et al. Apigenin-7-O- β -D-glucuronide inhibits LPS-induced inflammation through the inactivation of AP-1 and MAPK signaling pathways in RAW 264.7 macrophages and protects mice against endotoxin shock [J]. *Food Funct*, 2016, 7: 1002-1013.
 - 8 Hu WC, Wu L, Qiang Q, et al. The dichloromethane fraction from *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. leaves exerts an anti-inflammatory effect both *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 134-143.
 - 9 Wu L, Li XW, Wu HC, et al. 5-Methoxyl aesculetin abrogates lipopolysaccharide-induced inflammation by suppressing MAPK and AP-1 pathways in RAW 264.7 cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 315-330.
 - 10 Lee HJ, Hyun EA, Yoon WJ, et al. *In vitro* anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103: 208-216.
 - 11 Chen HM(陈红梅), Sun LF(孙凌峰). The exploitation utilization prospects of borneol *Cinnamomum camphora* resources in Ji'an, Jiangxi province [J]. *Sci Silvae Sini* (林业科学), 2006, 42(3): 94-98.
 - 12 Shi S, Wu Q, Su J, et al. Composition analysis of volatile oils from flowers, leaves and branches of *Cinnamomum camphora* chvar. Borneol in china [J]. *J Essent Oil Res*, 2013, 25: 395-401.
 - 13 Peana AT, D'Aquila PS, Papin F, et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9: 721-726.
 - 14 Chen X, Miao JS, Wang H, et al. The anti-inflammatory activities of *Ainsliaea fragrans* Champ. extract and its components in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages through inhibition of NF- κ B pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 170: 72-80.
 - 15 Ahn CB, Cho YS, Je JY. Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate [J]. *Food Chem*, 2015, 168: 151-156.
-
- (上接第 1514 页)
- 6 Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts characteristics and identification(酵母菌的特性与鉴定) [M]. Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1991: 17-31.
 - 7 Ausubel F, Brent R, Kingston RE, et al. Short protocols in molecular biology(精编分子生物学实验指南) [M]. Beijing: Science Press, 1998: 38-40.
 - 8 Zhang YY(张玉玉), Sun BG(孙宝国), Feng J(冯军), et al. Analysis of volatile composition of Pixian Bean sauces with different fermentation time [J]. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31: 166-170.