

# 苦橙叶精油化学成分及抗炎作用研究

叶一丹<sup>1</sup>, 张楠<sup>1</sup>, 李玉红<sup>2</sup>, 姚雷<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 上海交通大学农业与生物学院; <sup>2</sup> 上海交通大学设计学院, 上海 200240

**摘要:**为探究苦橙叶精油的抗炎作用。实验采用气相-质谱联用法(GC-MS)分析精油成分,并建立脂多糖(LPS)诱导RAW 264.7细胞炎症模型,用Griess法检测一氧化氮(NO)含量评价其体外抗炎作用,随后进一步通过巴豆油致小鼠耳肿胀模型和鸡蛋清致小鼠足肿胀模型评价其体内抗炎作用。结果表明苦橙叶精油成分以酯类、醇类物质为主;25 μg/mL浓度能显著抑制RAW 264.7细胞NO的释放;中浓度苦橙叶精油能明显减轻小鼠耳肿胀程度;低、中、高浓度苦橙叶精油均对小鼠足肿胀模型有炎症缓解作用,并于肿胀前期呈浓度依赖性。以上实验证明苦橙叶精油在体外和体内具有一定抗炎作用。

**关键词:**苦橙叶精油;抗炎;RAW 264.7细胞;耳肿胀;足肿胀。

中图分类号:R285.5; R965

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)5-0760-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.5.004

## Chemical composition and anti-inflammatory effect of essential oil from leaves of *Citrus aurantium L. subspecies amara L.*

YE Yi-dan<sup>1</sup>, ZHANG Nan<sup>1</sup>, LI Yu-hong<sup>2\*</sup>, YAO Lei<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Shanghai Jiao Tong University, School of Agriculture and Biology;

<sup>2</sup> Shanghai Jiao Tong University, School of Design, Shanghai 200240, China

**Abstract:** This study is aimed to observe the anti-inflammatory effect of essential oil from leaves of *Citrus aurantium L. subspecies amara L.*. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) results showed that linalyl acetate (54.72%) and linalool (22.98%) were the main constituents of this essential oil. The essential oil at concentrations of 25 μg/mL significantly inhibited the release of nitric oxide (NO) on the lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation model in RAW 264.7 macrophages measured by Griess method. Additionally, in animal experiments, essential oil from leaves of *C. aurantium L. subspecies amara L.* significantly relieved the croton oil induced mouse ear edema at the middle concentration. It also reduced the fresh egg white induced mouse paw edema and presented in a dose-dependent manner in the early stage of swelling. It indicated that essential oil from leaves of *C. aurantium L. subspecies amara L.* showed anti-inflammatory potential.

**Key words:** essential oil from leaves of *Citrus aurantium L. subspecies amara L.*; anti-inflammatory; RAW 264.7; ear edema; paw edema

苦橙(*Citrus aurantium L. subspecies amara L.*),芸香科柑橘属,近20年来被广泛用于保健食品中,南美民间也常将其用于治疗失眠、焦虑和癫痫。中医临床中主要将其制备成枳壳或枳实,治疗消化不良、腹泻和痢疾等<sup>[1]</sup>。其提取物具有抗氧化、抗肥胖及抗癌等作用<sup>[2-4]</sup>,相关研究表明苦橙果实中的黄

酮类化合物也具有一定的抗炎能力<sup>[5]</sup>,苦橙皮中提取的川陈皮素抗炎作用体现在调节NF-κB信号通路中环氧合酶-2(COX-2),诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)以及促炎因子等的表达<sup>[6]</sup>。

苦橙的果实、花、果皮被广泛用于提取精油,有文献报道来源于这三个部位的精油具有抗菌、抗焦虑、抗炎等功效<sup>[7-9]</sup>。但是目前对于苦橙叶的开发利用较少,鲜见对其精油的功效报道。本文对苦橙叶精油进行了化学成分分析,通过细胞及动物模型评价了其抗炎活性以期为苦橙叶的抗炎研究及开发利用提供参考依据。

收稿日期:2018-11-20 接受日期:2019-03-27

基金项目:科技创新专项-重大项目培育(千万级项目培育)基金(AF1500006)

\*通信作者 Tel:86-15900498806; E-mail:gracelily@sjtu.edu.cn,yao-lei@sjtu.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

HF151 二氧化碳培养箱,上海力申科学仪器有限公司;SHJ 系列洁净工作台,上海上净净化设备有限公司;L550 湘仪离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;Multiskan Go 全波长酶标仪,上海赛默飞仪器有限公司;TE1502S 电子天平,北京赛多利斯科学仪器有限公司;CU-600 电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司;7890B-5977A 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),美国安捷伦公司。

### 1.2 试剂与材料

小鼠腹腔巨噬细胞(RAW 264.7),购自中科院上海细胞库;ICR 小鼠,由上海交通大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYXK(沪)2013-0050,4~6 周鼠龄,实验前适应性饲养 1 周,自由饮水进食;苦橙叶精油、薰衣草(*Lavandula angustifolia*)精油、荷荷巴(*Sismondia chinensis*)油由上海交通大学芳香植物研究中心提供;复方醋酸地塞米松乳膏,来源于浙江仙琚制药股份有限公司;RPMI 1640 培养基,来源于美国 HyClone 公司;胎牛血清,来源于 Gibco 公司;脂多糖(LPS)、二甲基亚砜(DMSO),来源于美国 Sigma 公司;CCK-8 试剂盒,购自东仁化学科技有限公司;一氧化氮(NO)试剂盒,购自碧云天生物公司。

## 2 实验方法

### 2.1 苦橙叶精油成分分析

采用 GC-MS 对苦橙叶精油进行成分分析。气相条件:色谱柱:HP-5 ms (28.76 m × 250 m × 0.25 μm),进样温度:270 °C,柱温 50 °C 保持 3 min,以 4 °C/min 升至 180 °C,保持 2 min,再以 8 °C/min 升至 240 °C 保持 5 min,共运行 60 min,载气 He,流速 1.0 mL/min,进样量 1 μL,分流比 30:1。质谱条件:电离方式:EI +,70 eV;检测器电压:2 047 V;溶剂延迟:3 min;质量扫描范围 *m/z*:33~500 全扫描。

### 2.2 RAW 264.7 细胞培养

用 RPMI-1640 培养基(含 10% 胎牛血清,100 U/mL 青霉素,100 U/mL 链霉素)培养细胞,并置于 37 °C,5% CO<sub>2</sub> 二氧化碳培养箱中,待细胞密度达到 80%~90%,用不含 EDTA 胰酶进行细胞消化,以 1:3 传代,取对数生长期细胞进行实验。

### 2.3 RAW 264.7 细胞活性的测定

采用 CCK-8 法检测苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞活性的影响。调节细胞密度至 3 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL,待细胞贴壁后,加入

不同浓度的苦橙叶精油(0.1、1、10、50、100、200、500 μg/mL)为实验孔,并设调零孔(仅培养基)和空白对照组(培养基+细胞),每组 6 个复孔,培养 24 h 后吸上清,加入 CCK-8 试剂继续培养 1 h,于 450 nm 处测定各孔 OD 值。

$$\text{细胞存活率} (\%) = (\text{实验孔} - \text{调零孔}) / (\text{对照孔} - \text{调零孔}) \times 100\%$$

### 2.4 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞及致炎浓度确定

取对数生长期的 RAW 264.7 细胞,调节细胞密度为 3 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL,待细胞贴壁后加入 LPS 刺激,刺激浓度为 0.01、0.1、0.5、1、5 μg/mL,并设调零孔、空白对照组,每组设置 4 个复孔。24 h 后用 Griess 试剂检测细胞上清液,根据 NaNO<sub>2</sub> 的标准曲线计算 NO 含量。

### 2.5 苦橙叶精油作用下 RAW 264.7 细胞分泌 NO 含量的测定

取对数生长期的 RAW 264.7 细胞,调节细胞密度为 3 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μL,培养 24 h 后,加入不同浓度的苦橙叶精油使终浓度为 1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100 μg/mL,1 h 后加入 1 μg/mL 的 LPS 进行刺激,继续培养 24 h 后,检测各孔吸光度值,根据标准曲线计算各组 NO 浓度。

### 2.6 苦橙叶精油抗炎作用动物模型检测

#### 2.6.1 实验分组

本实验中拟采用两种阳性药物。阳性对照一为复方醋酸地塞米松乳膏,此为常见的抗炎涂抹药物。阳性对照二为薰衣草精油,有文献报道薰衣草精油具有良好的抗炎活性<sup>[10]</sup>。本实验所用精油均采用荷荷巴油作为基础油进行配制,故设置对照荷荷巴油组,并设立空白组、模型组、苦橙叶精油低浓度(1%,v/v)组、苦橙叶精油中浓度(5%,v/v)组、苦橙叶精油高浓度(10%,v/v)组,共 8 组。

#### 2.6.2 巴豆油致小鼠耳肿胀实验

选取 48 只雄性 ICR 小鼠(体重 20 ± 2 g),按照上述分组方式随机分为 8 组,地塞米松组按照 0.05 mg/ear 涂抹,根据文献选择阳性对照薰衣草精油组浓度为 5%(v/v),苦橙叶精油按 1%、5%、10% 的浓度分为低、中、高浓度组,各组分别于小鼠右耳正反面均匀涂抹对应药物 20 μL,连续给药 7 天,每天一次,空白组不做任何处理。末次给药后 1 h,将致炎剂 20 μL(巴豆油:无水乙醚:无水乙醇:蒸馏水 = 2:73:20:5)均匀涂抹于各组小鼠右耳廓内外两侧致炎,左耳对照不做任何处理。2 h 后处死小鼠,

剪下小鼠双耳,用直径 6 mm 打孔器在左右耳对称部分打下耳片,称重计算其肿胀度和肿胀率,肿胀率(%) = (右耳重量 - 左耳重量)/左耳重量 × 100%,并将部分耳片制作组织切片,在光镜下观察各组耳片组织变化。

### 2.6.3 鸡蛋清致小鼠足肿胀实验

选取 48 只雄性 ICR 小鼠(体重  $20 \pm 2$  g),按照上述分组方式随机分为 8 组,地塞米松按浓度 0.1 mg/只,薰衣草组浓度为 5% (v/v),苦橙叶精油低、中、高浓度组浓度为 1%、5%、10%,各组分别于小鼠右足跖正反面均匀涂抹对应药物 30  $\mu$ L,连续给药 7 天,每天一次,空白组不做任何处理。末次给药后 1 h,将自制 10% 蛋清 25  $\mu$ L 注射于小鼠足跖皮下致炎,分别在 0.5、1.5、3、4 h 后用游标卡尺测量小鼠左右足跖厚度,计算小鼠足跖肿胀率,肿胀率(%) = (右足跖厚度 - 左足跖厚度)/左足跖厚度 × 100%。

### 2.7 HE 染色切片观察

将小鼠耳片用 10% (v/v) 的福尔马林溶液固

定,脱水后石蜡包埋、切片,进行 HE 染色,光学显微镜下拍片,观察小鼠耳肿胀程度和炎症细胞浸润情况。

## 2.8 统计学分析

实验数据均采用 SPSS 20.0 统计软件分析,用单因素方差齐性检验,Duncan 检验多重比较显著性, $P < 0.05$  时差异具有统计学意义。

## 3 结果与分析

### 3.1 苦橙叶精油化学成分分析

采用 GC-MS 方法共检测到苦橙叶精油 20 种主要成分,如表 1 所示,分别为  $\alpha$ -蒎烯、桧烯、 $\beta$ -蒎烯、月桂烯、对伞花烃、柠檬烯、(E)- $\beta$ -罗勒烯、罗勒烯、萜品油烯、芳樟醇氧化物、芳樟醇、松油醇、橙花醇、乙酸芳樟酯、柠檬醛、乙酸松油酯、乙酸橙花酯、乙酸香叶酯、 $\beta$ -石竹烯和  $\alpha$ -葎草烯,其中酯类化合物占 62.75%,醇类化合物占 30.94%。含量最多的酯类和醇类化合物为乙酸芳樟酯和芳樟醇,两者相对含量分别为 54.72% 和 22.98%。

表 1 苦橙叶精油主要化学成分

Table 1 The chemical component of essential oil from leaves of *Citrus aurantium* L. subspecies *amara* L.

序号 Serial number	保留时间 Retention time( min )	化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content( % )
1	7.277	$\alpha$ -蒎烯, alpha-Pinene	$C_{10}H_{16}$	0.084
2	8.630	桧烯, Sabinene	$C_{10}H_{16}$	0.338
3	8.713	$\beta$ -蒎烯, beta-Pinene	$C_{10}H_{16}$	0.730
4	9.307	月桂烯, Myrcene	$C_{10}H_{16}$	1.057
5	10.466	对伞花烃, <i>p</i> -Cymene	$C_{10}H_{16}$	0.084
6	10.575	柠檬烯, Limonene	$C_{10}H_{16}$	0.987
7	11.040	(E)- $\beta$ -罗勒烯, (E)-beta-Ocimene	$C_{10}H_{16}$	0.307
8	11.4207	罗勒烯, Ocimene	$C_{10}H_{16}$	0.740
9	12.883	萜品油烯, Terpinolene	$C_{10}H_{16}$	0.197
10	12.277	芳樟醇氧化物, Linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	0.112
11	13.469	芳樟醇, Linalool	$C_{10}H_{18}O$	22.979
12	16.766	松油醇, Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	6.934
13	18.174	橙花醇, Nerol	$C_{10}H_{18}O$	1.030
14	19.346	乙酸芳樟酯, Linalyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	54.716
15	19.670	柠檬醛, Citral	$C_{12}H_{20}O_2$	0.116
16	22.455	乙酸松油酯, Terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	0.129
17	22.997	乙酸橙花酯, Neryl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	3.007
18	23.660	乙酸香叶酯, Geranyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	4.898
19	24.852	$\beta$ -石竹烯, beta-Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	0.575
20	25.967	$\alpha$ -葎草烯, $\alpha$ -Humulene	$C_{15}H_{24}$	0.055

### 3.2 苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞活性的影响

通过 CCK-8 实验来检测苦橙叶精油对细胞活性的影响。结果表明,与空白对照组相比,浓度为 0.1、10、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的苦橙叶精油对细胞活性无显著影响,浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的苦橙叶精油可以提高巨噬细胞活性,浓度为 200、500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的苦橙叶精油与空白组相比显著降低了细胞活性( $P < 0.05$ )。以上结果表明苦橙叶精油在 0 ~ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度范围内不会显著抑制细胞活性。

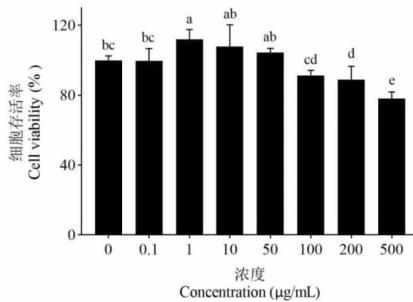


图 1 苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞活性的影响

Fig. 1 The effects of essential oil from leaves of *Citrus aurantium* L. subspecies *amara* L. on cell proliferation rate of RAW 264.7 macrophages cells

注:图中不同字母表示各浓度苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞活性具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicated significant difference between each group ( $P < 0.05$ ).

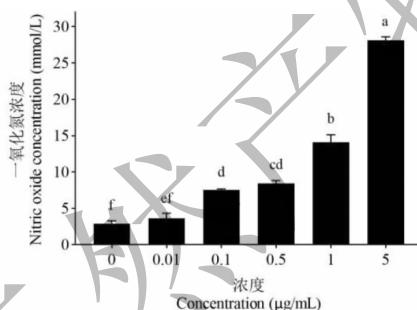


图 2 不同浓度 LPS 对 RAW 264.7 细胞释放 NO 的影响

Fig. 2 Effect of LPS on RAW 264.7 macrophages cells release NO

注:图中不同字母表示各浓度 LPS 作用下对 RAW 264.7 细胞 NO 释放量具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicated significant difference between each group ( $P < 0.05$ ).

### 3.3 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞致炎及致炎浓度的确定

与空白对照组相比,不同浓度 LPS 处理细胞后,其 NO 释放量显著增多,并且呈浓度依赖性(图

2)。 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 LPS 刺激细胞产生 14.1  $\text{mmol}/\text{L}$  的 NO,为空白组 4.9 倍( $P < 0.05$ )。基于对细胞状态的考虑,后续实验选用浓度为  $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 LPS 浓度进行细胞刺激。

### 3.4 苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞分泌 NO 的影响

采用 Griess 法检测不同浓度苦橙叶精油对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞 NO 释放量的影响。结果表明  $25$ 、 $50$ 、 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  苦橙叶精油均能显著降低 RAW 264.7 细胞 NO 释放量( $P < 0.05$ )(图 3),其中  $25 \mu\text{g}/\text{mL}$  精油浓度处理下 NO 释放量最少,表明该浓度苦橙叶精油具有较好的抗炎效果。

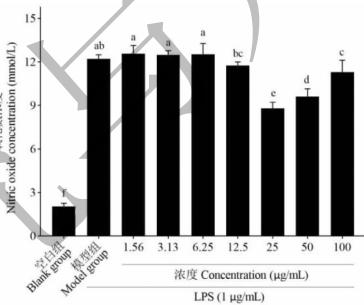


图 3 苦橙叶精油对 RAW 264.7 细胞释放 NO 的影响

Fig. 3 Effect of essential oil from leaves of *Citrus aurantium* L. subspecies *amara* L. on RAW 264.7 macrophages cells release NO

注:图中不同字母表示各浓度苦橙叶精油对 LPS 刺激 RAW 264.7 细胞 NO 释放量具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicated significant difference between each group ( $P < 0.05$ ).

### 3.5 苦橙叶精油对巴豆油致小鼠耳肿胀模型影响及组织形态学分析

巴豆油诱导小鼠耳肿胀模型中,在巴豆油诱导后 20 min 内小鼠耳朵出现红肿现象,并在 2 ~ 3 h 内达到最大肿胀度。实验结果表明,对照处理与模型组相比不会影响小鼠的耳肿胀程度。与空白组相比,各组耳肿胀明显( $P < 0.05$ ),与模型组相比,地塞米松和薰衣草精油这两种阳性药物及中(5%)、高浓度(10%)苦橙叶精油对于巴豆油所致小鼠耳肿胀均有显著抑制作用( $P < 0.05$ ),其中中浓度苦橙叶精油肿胀抑制率最高。

从图 5 HE 染色结果可以看出,与空白对照组小鼠耳组织相比,涂抹了巴豆油的模型组及对照组小鼠耳组织有明显的水肿和淋巴细胞浸润现象,造模成功。并且地塞米松组、薰衣草油组及苦橙叶中、

高浓度组能明显地减轻巴豆油诱导的小鼠耳水肿和淋巴细胞浸润现象。

### 3.6 苦橙叶精油对鸡蛋清致小鼠足肿胀模型的影响

如图 6 所示,模型组小鼠在造模后足跖肿胀明显,于造模后 1.5 h 左右肿胀度达到高峰,并于 4 h 后缓慢恢复,各浓度苦橙叶精油均对小鼠足肿胀有一定抑制作用,并于肿胀前期呈浓度依赖性。总体上,高浓度苦橙叶精油前 2 h 抗炎效果最佳,且效果较阳性对照薰衣草组好,但其作用尚不及地塞米松组的作用强,且起效不及地塞米松快。造模 3 h 后,中浓度苦橙叶精油药效较低、高浓度苦橙叶精油组组好。

### 4 讨论

许多研究表明芳香植物精油的药用价值很高,具有抑菌、抗炎镇痛、抗病毒等生物活性<sup>[11-13]</sup>。但

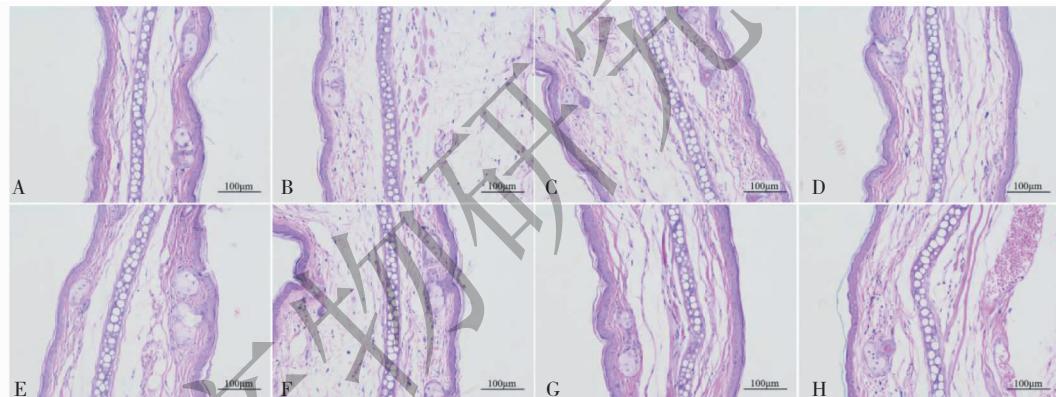


图 5 巴豆油诱导的小鼠耳片(HE,  $\times 200$ )

Fig. 5 Histological sections of ear from croton oil treated mouse(HE,  $\times 200$ )

注: A) 空白对照组; B) 模型组; C) 对照组; D) 地塞米松组; E) 薰衣草油组;  
F) 苦橙叶油低浓度组; G) 苦橙叶油中浓度组; H) 苦橙叶油高浓度组。

Note: A) Blank group; B) Model group; C) Control group; D) Dexamethasone group; E) Lavender oil group;  
F) Low concentration group; G) Middle concentration group; H) High concentration group.

我国对精油植物资源的开发利用多限于香精香料及化妆品领域,仅少数用于医药等其他行业。

炎症是多种疾病的基本病理过程,但过度的炎症会对机体产生不同程度的危害<sup>[14]</sup>,NO 是动物体内极强的自由基,起到神经递质作用,并调节免疫系统<sup>[15]</sup>,细胞实验中常用此指标评价药物抗炎效果。本文通过对 LPS 致炎 RAW 264.7 细胞,研究苦橙叶精油作用下细胞活性和 NO 释放量,发现苦橙叶精油具有一定的体外抗炎活性,其体外抗炎作用可能与抑制 NO 等炎症介质的产生有关。

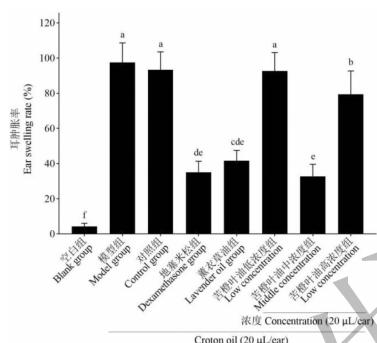


图 4 苦橙叶精油对巴豆油致小鼠耳肿胀的影响

Fig. 4 Effect of essential oil from leaves of *Citrus aurantium* L. *subspecies amara* L. on edema of mouse ear induced by croton oil

注: 图中不同字母表示各浓度苦橙叶精油对小鼠耳肿胀率具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicated significant difference between each group ( $P < 0.05$ ).

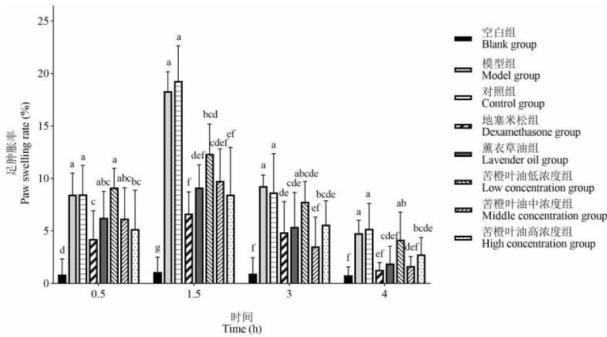


图 6 苦橙叶精油对鸡蛋清致小鼠足肿胀的影响

Fig. 6 Effect of essential oil from leaves of *Citrus aurantium* L. subspecies *amara* L. on edema of mouse paw induced by egg-white

注:图中在同一时间点中不同字母表示各浓度苦橙叶精油对小鼠足肿胀率具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicated significant difference between each group ( $P < 0.05$ ).

抑制作用并可改善组织水肿,但高浓度精油效果不及中浓度,可能由于中浓度比高浓度苦橙叶精油更温和地发挥抗炎作用。低、中、高浓度组对小鼠足肿胀均有不同程度抑制作用,在致炎后1~3 h之间作用明显,说明苦橙叶精油具有一定的抗急性炎症作用,并且实验结果与两种阳性药物有相同的作用趋势,且GC-MS结果表明,苦橙叶精油中含有的乙酸芳樟酯和芳樟醇占总相对含量的77.69%,薰衣草精油也含有大量乙酸芳樟酯和芳樟醇,由此推测其主要的抗炎的作用机制可能与薰衣草精油类似。

苦橙叶精油开发成本低,本研究证明苦橙叶精油具有一定体外和体内抗炎作用,为之后进一步深入探究苦橙叶精油抗炎作用机制提供了科学理论依据,为合理且有效地开发苦橙精油提供了研究基础。

## 参考文献

- Shara M, Stohs SJ, Smadi MM. Safety evaluation of p-synephrine following 15 days of oral administration to healthy subjects: A clinical study [J]. Phytother Res, 2017, 32: 125-131.
- Xie ZJ, Jiao SR, Tang PC. Anti-oxidation *in vitro* of flavonoids from *Frutus aurantii immatures* [J]. Chem Ind Forest Prod (林产化学与工业), 2009, 29: 33-36.
- Arbo MD, Schmitt GC, Limberger MF, et al. Subchronic toxicity of *Citrus aurantium* L. (Rutaceae) extract and p-synephrine in mice [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2009, 54: 114-117.
- Kwang IP, Hyeon SP, Arulkumar N, et al. Induction of the cell cycle arrest and apoptosis by flavonoids isolated from Korean *Citrus aurantium* L. in non-small-cell lung cancer cells [J]. Food Chem, 2012, 135: 2728-2735.
- Manthey JA, Grohmann K, Guthrie N. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation [J]. Curr Med Chem, 2001, 8: 135-153.
- Choi SY, Hwang JH, Ko HC, et al. Nobiletin from citrus fruit peel inhibits the DNA-binding activity of NF-κB and ROS production in LPS-activated RAW 264.7 cells [J]. J. Ethnopharmacol, 2007, 113: 149-155.
- Liao FX, Xin LT, Chen H, et al. Analysis of the constituents of volatile oil from *Fructus aurantii immaturus* and *Fructus aurantii* as traditional Chinese medicine [J]. J Chongqing Univ:Nat Sci(重庆大学学报:自然科学版), 2004, 27: 38-40.
- Moraes TM, Kushima H, Moleiro FC, et al. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucus: role of prostaglandins and gastric mucus secretion [J]. Chem Biol Interact, 2009, 180: 499-505.
- Khodabakhsh P, Shafaroodi H, Asgarpanah J. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrus aurantium* L. blossoms essential oil (neroli): Involvement of the nitric oxide/cyclic-guanosine monophosphate pathway [J]. J Nat Med, 2015, 69: 324-331.
- Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils [J]. Phytomed, 2002, 9: 721-726.
- Benbelaïd F, Khadir A, Bendahou M, et al. Composition and antimicrobial activity of *Cistus munbyi* essential oil: An endemic plant from Algeria [J]. J Forestry Res, 2017, 28: 1129-1134.
- Chen T, Su SL, Hua YQ, et al. Advances in studies on constituents with anti-inflammatory and analgesia activity in aromatic medicinal plants and their mechanisms [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2011, 42: 1221-1228.
- Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, et al. *Melissa officinalis* L. oil affects infectivity of enveloped herpesviruses [J]. Phytomed, 2008, 15: 734-740.
- Sun BC. Pathology(病理学) [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2013: 59-82.
- 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.
- Wilmer JL, Burleson FG, Kayama F, et al. Cytokine induction in human epidermal keratinocytes exposed to contact irritants and its relation to chemical-induced inflammation in mouse skin [J]. J Invest Dermatol, 1994, 102: 915-922.

(下转第 802 页)