

# 瑶药小钻的特征图谱及其安五脂素含量和抗炎活性研究<sup>Δ</sup>

唐炳兰<sup>1\*</sup>, 高 微<sup>2</sup>, 赵成坚<sup>1</sup>, 欧春丽<sup>1</sup>, 侯小利<sup>1</sup>, 陈 路<sup>1</sup>, 莫单丹<sup>1#</sup> (1. 广西壮族自治区药用植物园国家中医药传承创新中心/广西药用资源保护与遗传改良重点实验室/广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心, 南宁 530023; 2. 广西壮族自治区药品监督管理局, 南宁 530029)

中图分类号 R917;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)14-1727-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.14.09



**摘要** 目的 建立瑶药小钻特征图谱及其主要成分安五脂素含量测定方法,并评价安五脂素抗炎活性。方法 采用高效液相色谱法,以乙腈-0.5%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立小钻药材的特征图谱和进行相似度评价,并测定小钻中安五脂素含量。以脂多糖诱导的RAW264.7巨噬细胞为炎症细胞模型,考察安五脂素对细胞上清液中肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )、IL-6水平的影响。结果 10批小钻样品的特征图谱相似度为0.901~0.994;标定了9个共有峰,指认了3个成分,分别为长南五味子素E、南五味子内酯A、安五脂素;安五脂素的含量为(0.72 $\pm$ 0.05)~(1.21 $\pm$ 0.03)mg/g( $n=3$ )。0.125~0.5  $\mu$ g/mL的安五脂素可显著降低炎症模型细胞上清液中TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 、IL-6水平( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论 建立了小钻药材HPLC特征图谱及其安五脂素含量测定方法;安五脂素可能是小钻药材发挥抗炎作用的有效成分。

**关键词** 瑶药小钻;HPLC;特征图谱;质量控制;安五脂素;抗炎作用

## Study on characteristic chromatogram of Yao medicine *Kadsura longipedunculata* and its anwulignan content and anti-inflammatory activity

TANG Binglan<sup>1</sup>, GAO Wei<sup>2</sup>, ZHAO Chengjian<sup>1</sup>, OU Chunli<sup>1</sup>, HOU Xiaoli<sup>1</sup>, CHEN Lu<sup>1</sup>, MO Dandan<sup>1</sup> (1. National Traditional Chinese Medicine Inheritance and Innovation Center, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant/Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resource Protection and Genetic Improvement/Guangxi Zhuang Autonomous Region Traditional Chinese Medicine Resources Intelligent Creation Engineering Research Center, Nanning 530023, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region Drug Administration, Nanning 530029, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To establish characteristic chromatogram of Yao medicine *Kadsura longipedunculata* and the method for the content determination of its main component anwulignan, and evaluate the anti-inflammatory activity of anwulignan. **METHODS** HPLC method was performed with acetonitrile-0.5% phosphoric acid solution as the mobile phase for gradient elution. The characteristic chromatogram of *K. longipedunculata* was established and similarity was evaluated by *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM (2012 edition)*. The content of anwulignan in *K. longipedunculata* was determined. Lipopolysaccharide induced RAW264.7 macrophages were selected as inflammatory cell model to investigate the effects of anwulignan on the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) and IL-6. **RESULTS** The similarities of characteristic chromatogram for 10 batches of *K. longipedunculata* ranged 0.901-0.994, and 9 common peaks were determined; 3 components were identified, such as changnan schisantherin E, kadsulactone A, anwulignan. The contents of anwulignan were (0.72 $\pm$ 0.05)-(1.21 $\pm$ 0.03) mg/g( $n=3$ ). Anwulignan of 0.125-0.5  $\mu$ g/mL greatly decreased the levels of TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  and IL-6 in the supernatant of inflammatory model cells ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **CONCLUSIONS** HPLC characteristic chromatogram of *K. longipedunculata* and the method for the content determination of anwulignan are all established, and anwulignan may be the active ingredient of anti-inflammatory effect in *K. longipedunculata*.

**KEYWORDS** Yao medicine *Kadsura longipedunculata*; HPLC; characteristic chromatogram; quality control; anwulignan; anti-inflammatory action

<sup>Δ</sup> 基金项目 广西壮族自治区中医药管理局自筹经费科研课题 (No.GXZYA20220005); 广西壮族自治区药品监督管理局药品安全科研项目

\* 第一作者 副主任药师。研究方向:天然药物化学和新药研发。  
E-mail:365473227@qq.com

# 通信作者 副主任药师。研究方向:中药化学与质量评价。E-mail:280870928@qq.com

小钻系木兰科南五味子属植物长梗南五味子 *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep 的根和茎,是瑶药老班药“十八钻”之一,主要分布于云南、四川、湖北、湖南、广东、广西等地,具有理气活血、祛风通络、消肿止痛之功效,在民间常用于治疗产后浮肿、经闭腹痛、胃痛、

风湿性关节炎、跌打损伤和骨折等症<sup>[1]</sup>。现代研究表明,小钻的主要化学成分是木脂素和三萜类化合物,具有抗肿瘤、抗氧化等多种药理活性<sup>[2]</sup>。

小钻现行质量标准收载于《广西壮族自治区瑶药材质量标准(第一卷)》,包括来源、性状、检查、浸出物等项目<sup>[3]</sup>,但是缺乏对其内在质量的系统性研究,无法对该药材质量进行全面、有效的控制。本课题组前期研究发现,小钻提取物具有显著的抗炎、镇痛作用,且从小钻药材中可分离得到安五脂素<sup>[4-5]</sup>。文献报道,安五脂素具有抗炎、保肝、抗胃溃疡等药理作用<sup>[6-7]</sup>。基于此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法建立了10批广西不同产地小钻药材的特征图谱以及安五脂素的含量测定方法,并考察了安五脂素的抗炎活性,以期为广西民族药小钻药材的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 Waters E2695 型 HPLC 仪(美国 Waters 公司)、SK5200H 型超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司)、CP225 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司)、DZKW-S-6 型电热恒温水浴锅(广西科米瑞实验仪器设备有限公司)、Infinite F200 pro 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

长南五味子素 E、南五味子内酯 A 对照品(批号分别为 20220413、2021109,纯度均大于 95%)由广西药用资源保护与遗传改良重点实验室自制;安五脂素对照品(批号 M30GB143568,纯度 $\geq$ 98%)购自中国食品药品检定研究院;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自美国 Sigma 公司;MTT 试剂盒(批号 917Q051)购自北京索莱宝科技有限公司;小鼠肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 $\beta$  酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为 2411559805、1321596923、1161590923)均购自武汉博士德生物工程有限公司;乙腈、磷酸均为色谱纯,乙醇为分析纯,水为超纯水。

10 批小钻药材(编号 S1~S10)均采集于广西不同产地,经广西药用植物园赵以民副研究员鉴定为长梗南五味子 *K. longipedunculata* Finet et Gagnep 的根和茎,来源信息见表 1。

表 1 10 批小钻样品的来源信息

编号	采集地	采集时间	编号	采集地	采集时间
S1	广西龙胜县江底乡	2022年11月	S6	广西恭城县三江乡	2023年2月
S2	广西金秀县大樟乡	2022年11月	S7	广西金秀县长垌乡	2023年2月
S3	广西金秀县县城	2022年11月	S8	广西金秀县三角乡	2023年3月
S4	广西金秀县六拉村	2022年11月	S9	广西龙胜县和平乡	2023年3月
S5	广西金秀县罗香乡	2023年2月	S10	广西岑溪市波塘镇	2023年3月

### 1.3 细胞

鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自上海酶研生物科技有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 特征图谱的建立

#### 2.1.1 色谱条件

采用依利特 Hypersil ODS C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱,以乙腈(A)-0.5% 磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~15 min, 30%A $\rightarrow$ 50%A; 15~25 min, 50%A $\rightarrow$ 70%A; 25~35 min, 70%A $\rightarrow$ 95%A; 35~45 min, 95%A $\rightarrow$ 30%A; 45~50 min, 30%A);流速为 1.0 mL/min;柱温为 30  $^{\circ}$ C;检测波长为 210 nm;进样量为 10  $\mu$ L。

#### 2.1.2 混合对照品溶液的制备

精密称取长南五味子素 E、南五味子内酯 A、安五脂素对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 21.83、17.48、27.65  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液。

#### 2.1.3 供试品溶液的制备

取小钻药材粉末(过三号筛)约 2 g,精密称定,置于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 80% 乙醇溶液 20 mL,加热回流提取 2 h,放冷,再称定质量,用 80% 乙醇补足减失的质量,摇匀;重复提取 2 次,合并 3 次提取液,经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

#### 2.1.4 精密度试验

取小钻供试品溶液(编号 S3),按“2.1.1”项下色谱条件重复进样 6 次,以安五脂素峰为参照峰(该峰的分度好,峰面积较大且稳定,峰形较好,故以其为参照峰),计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1%( $n=6$ ),相对峰面积的 RSD 均小于 2%( $n=6$ ),表明方法精密度良好。

#### 2.1.5 稳定性试验

取小钻供试品溶液(编号 S3),分别于室温放置 0、4、8、12、16、20、24 h 时按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以安五脂素峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1%( $n=7$ ),相对峰面积的 RSD 均小于 3%( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 稳定性良好。

#### 2.1.6 重复性试验

取小钻药材粉末(编号 S3),按照“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,再按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以安五脂素峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果显示,各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1%( $n=6$ ),相对峰面积 RSD 均小于 3%( $n=6$ ),表明方法的重复性良好。

#### 2.1.7 特征图谱的建立及相似度评价

取 10 批不同产地的小钻药材粉末适量,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。将所得色谱图以 AIA 文件格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》进

行分析、比较,以S1样品图谱为参照图谱,经多点校正和自动匹配后,生成叠加色谱图,采用中位数法生成对照指纹图谱R,并以对照指纹图谱R为对照进行相似度评价。结果(图1)显示,10批样品中共标定9个共有峰,进一步通过与混合对照品溶液的图谱(图2)比对,指出了3个成分,分别是2号峰长南五味子素E、5号峰南五味子内酯A、6号峰安五脂素。10批样品与对照指纹图谱R的相似度分别为0.993、0.928、0.984、0.938、0.982、0.994、0.990、0.901、0.970、0.982,均大于0.9,表明10批样品的相似度良好,化学成分具有一致性。

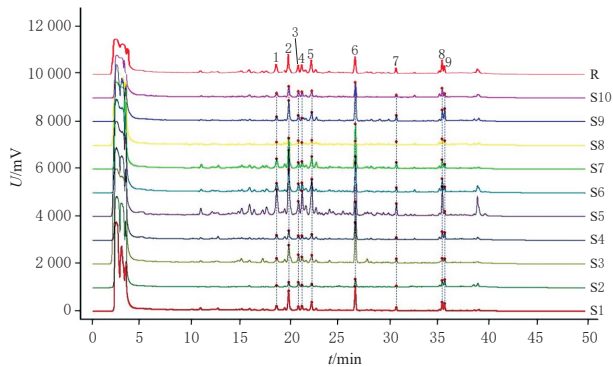
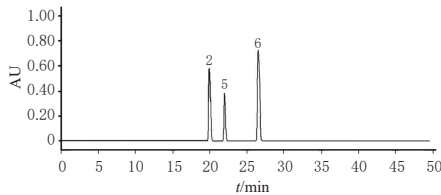


图1 10批小钻药材的叠加色谱图和对照指纹图谱



2:长南五味子素E;5:南五味子内酯A;6:安五脂素。

图2 混合对照品溶液的色谱图

## 2.2 安五脂素的含量测定

### 2.2.1 色谱条件

色谱条件同“2.1.1”项。

### 2.2.2 对照品溶液的制备

精密称取安五脂素对照品适量,置于50 mL容量瓶中,加入甲醇溶解,并定容,摇匀,制成质量浓度为40.10  $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

### 2.2.3 供试品溶液的制备

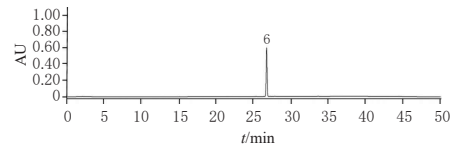
供试品溶液的制备方法同“2.1.3”项。

### 2.2.4 系统适用性试验

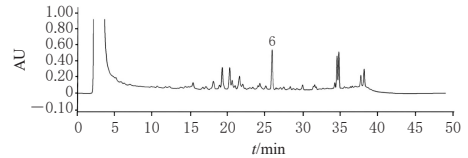
精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液和“2.2.3”项下供试品溶液各10  $\mu\text{L}$ ,按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示,安五脂素的色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于1.5,理论板数以安五脂素计不低于5 000,色谱图见图3。

### 2.2.5 线性关系考察

精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液,分别以4、6、8、10、12、14  $\mu\text{L}$ 进样,按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定,记录峰面积。以安五脂素对照品峰面积为纵坐标( $y$ )、



A. 对照品溶液



B. 供试品溶液(编号S3)

6:安五脂素。

### 图3 安五脂素对照品溶液和供试品溶液的色谱图

质量浓度为横坐标( $x$ )绘制标准曲线,得回归方程为 $y=9\ 399\ 321.41x+360\ 886.00$ ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,安五脂素对照品的质量浓度在160.40~561.40  $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

### 2.2.6 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液(编号S3),按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,安五脂素峰面积的RSD为0.32%( $n=6$ ),表明方法精密度良好。

### 2.2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液(编号S3),分别于室温下放置0、2、8、16、20、24 h时按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,安五脂素峰面积的RSD为1.16%( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定。

### 2.2.8 重复性试验

取小钻药材粉末(编号S3),按照“2.2.3”项下方法制备6份供试品溶液,再按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算安五脂素的含量。结果显示,安五脂素含量的RSD为1.28%( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

### 2.2.9 加样回收率试验

取已知含量的同一批小钻药材粉末(编号S3)1.0 g,共6份,分别按样品中待测成分含量加入对应量的对照品溶液,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算平均加样回收率。结果显示,安五脂素的平均加样回收率为98.68%,RSD为1.34%( $n=6$ ),表明该方法的准确度良好。

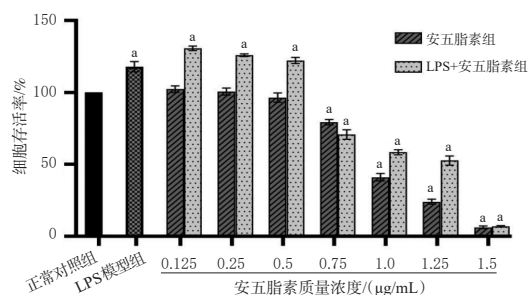
### 2.2.10 样品含量测定

取10批不同产地的小钻药材,分别按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定,平行3次,记录峰面积,并按外标法计算安五脂素含量。结果显示,编号S1~S10的样品中安五脂素的含量分别为(0.81 $\pm$ 0.01)、(0.76 $\pm$ 0.02)、(0.91 $\pm$ 0.03)、(0.85 $\pm$ 0.06)、(1.21 $\pm$ 0.03)、(0.79 $\pm$ 0.03)、(1.03 $\pm$ 0.02)、(0.72 $\pm$ 0.05)、(0.83 $\pm$ 0.04)、(0.78 $\pm$ 0.02)mg/g( $n=3$ )。

## 2.3 安五脂素的抗炎活性研究

### 2.3.1 安五脂素对LPS诱导的RAW264.7细胞生长的影响

采用MTT法检测。用含10%胎牛血清的DMEM不完全高糖培养基于5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养RAW264.7细胞至对数生长期。实验分为空白对照组、正常对照组、LPS模型组、安五脂素组、LPS+安五脂素组。除空白对照组只加入培养基外,其余各组均按8×10<sup>4</sup>个/mL将细胞接种至96孔培养板中,每孔100μL。待细胞生长至80%融合后,正常对照组不进行任何处理,LPS模型组以1μg/mL的LPS刺激1h,安五脂素组以不同质量浓度(0.125、0.5、0.75、1.0、1.25、1.5μg/mL,依据预实验设置,下同)的安五脂素处理,LPS+安五脂素组用LPS(1μg/mL)刺激1h后再以上述质量浓度的安五脂素处理。每组设5个复孔。培养24h后,各孔加入5mg/mL的MTT 20μL,避光孵育4h,弃上清液,加入二甲亚砜150μL,振荡10min,使用酶标仪在490nm波长处检测其光密度(optical density, OD),按以下公式计算细胞存活率:细胞存活率(%)=(实验组OD值-空白对照组OD值)/(正常对照组OD值-空白对照组OD值)×100%。结果见图4。



a: 与正常对照组比较,  $P < 0.01$ 。

图4 安五脂素对LPS诱导的RAW264.7细胞生长的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

如图4显示,与正常对照组比较,LPS模型组细胞存活率显著升高( $P < 0.01$ ),表明LPS对RAW264.7细胞生长具有明显的抑制作用;与正常对照组比较,当安五脂素质量浓度 $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ 时,安五脂素组细胞存活率无明显变化( $P > 0.05$ ),而LPS+安五脂素组细胞存活率均显著升高( $P < 0.01$ );但是当安五脂素质量浓度 $\geq 0.75 \mu\text{g/mL}$ 时,安五脂素组和LPS+安五脂素组细胞存活率均显著降低( $P < 0.01$ )。由此可见,在安五脂素质量浓度不高于 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 时,其单用和与LPS联用均对RAW264.7细胞无明显毒性,故本研究选择0.125、0.25、 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 的安五脂素进行后续实验。

### 2.3.2 安五脂素对LPS诱导RAW264.7细胞中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平的影响

采用ELISA法检测。将对数生长期细胞按8×10<sup>4</sup>个/mL接种于96孔板中,每孔100μL。实验分为正常对

照组、LPS模型组、LPS+安五脂素组,每组设置5个复孔。除正常对照组加入等体积培养液外,其余各组均加入1μg/mL的LPS刺激1h,LPS+安五脂素组再分别加入质量浓度为0.5、0.25、0.125μg/mL的安五脂素。培养24h后,以800r/min离心3min,收集上清液,按试剂盒说明书操作,检测上清液中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平。采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较用LSD- $t$ 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。结果见表2。

表2 各组细胞上清液中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平比较( $\bar{x} \pm s, n=5, \text{pg/mL}$ )

组别	安五脂素质量浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6
正常对照组		177.34±6.38	2.76±0.47	15.29±0.96
LPS模型组		370.35±8.71 <sup>a</sup>	7.65±0.69 <sup>a</sup>	554.79±12.42 <sup>a</sup>
LPS+安五脂素组	0.125	350.62±6.43 <sup>b</sup>	6.24±0.25 <sup>b</sup>	292.37±7.74 <sup>c</sup>
	0.25	291.21±7.69 <sup>b</sup>	5.11±0.38 <sup>b</sup>	156.12±6.59 <sup>c</sup>
	0.5	283.64±5.17 <sup>b</sup>	3.03±0.53 <sup>b</sup>	100.47±3.12 <sup>c</sup>

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与LPS模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与LPS模型组比较,  $P < 0.01$ 。

如表2结果显示,与正常对照组比较,LPS模型组细胞上清液中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均显著升高( $P < 0.01$ );与LPS模型组比较,LPS+安五脂素0.125、0.25、 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 组细胞上清液中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

### 3.1 提取方法的优化

本研究考察了浸渍法、超声法、回流法对小钻提取效果的影响,结果显示,回流法的有效成分提取较完全;其次本研究考察了石油醚、乙酸乙酯、氯仿、丙酮、正丁醇、乙醇6种提取溶剂对小钻提取效果的影响,结果显示,乙醇的提取效率最高;最后本研究还考察了乙醇体积分数(65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40, g/mL)、回流时间(1、2、3 h)和回流次数(1、2、3、4次)对小钻提取效果的影响,最终确定2g小钻用80%乙醇20mL回流提取2h,提取3次的提取方法。

### 3.2 色谱条件的选择

本研究以峰数和分离度为考察指标,分别对不同的色谱柱[依利特Hypersil ODS C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm)和Diamonsil C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm)]、流动相体系(甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.5%磷酸溶液)、检测波长(210、254、280、290nm)进行了考察。结果表明,在依利特Hypersil ODS C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm)色谱柱、乙腈-0.5%磷酸溶液流动相、210nm检测波长的色谱条件下,小钻的各色谱峰分离度良好、特征性强、峰数较多。

### 3.3 特征图谱及含量结果分析

本研究从建立的小钻药材HPLC特征图谱中标定了9个共有峰,指认了3个成分,分别为长南五味子素E、南五味子内酯A和安五脂素。10批广西不同产地小钻

药材的特征图谱的相似度较高(均大于0.9),安五脂素的含量为(0.72±0.05)~(1.21±0.03)mg/g,说明广西不同产地小钻药材的化学组成一致性较好,但安五脂素的含量有一定差异,这可能与不同产地的土壤、水分等生长环境因素有关。

### 3.4 安五脂素抗炎活性分析

LPS是革兰阴性细菌细胞壁的重要组成部分,可诱导细胞释放大量炎症细胞因子,从而加重炎症反应,常用于各种炎症模型的建立<sup>[8]</sup>。巨噬细胞是体内主要的免疫细胞,在机体中起着重要的免疫防御作用,可吞噬、清除外来病原体,保护机体免疫平衡。在病理状态下,过度活化的巨噬细胞能够放大炎症反应,引起组织损伤,在肺炎、关节炎、胰腺炎等炎症疾病的发生和发展中起到了重要的作用<sup>[9]</sup>。在LPS刺激下,巨噬细胞释放的TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6炎症因子会显著增加,引发炎症<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,经LPS诱导后RAW264.7细胞上清液中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均显著升高,用安五脂素干预后能有效地抑制LPS诱导的RAW264.7细胞释放上述炎症因子,提示安五脂素能够有效改善LPS诱导的炎症反应。安五脂素的抗炎活性研究结果表明,其可能是小钻药材发挥抗炎作用、治疗类风湿关节炎的有效成分之一,其药效后续将在动物水平进一步验证。

综上所述,本研究建立了小钻药材HPLC特征图谱及其安五脂素含量测定方法;安五脂素可能是小钻药材发挥抗炎作用的有效成分。本研究为小钻药材的质量评价提供了更加全面的参考。

### 参考文献

[1] 戴斌. 中国现代瑶药[M]. 南宁:广西科学技术出版社, 2009:70-72.  
DAI B. Modern Chinese Yao medicine[M]. Nanning: Guangxi Science and Technology Press, 2009:70-72.

[2] 郭耀杰,郭豪杰,刘久石,等. 长梗南五味子化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国现代中药, 2015, 17(12): 1350-1358.  
GUO Y J, GUO H J, LIU J S, et al. Advances in studies on chemical constituents in *Kadsura longipedunculata* and their pharmacological activities[J]. Mod Chin Med, 2015, 17(12):1350-1358.

[3] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准第一卷:2014年版[M]. 南宁:广西科学技术出版社, 2014:155.  
Guangxi Zhuang Autonomous Region Food and Drug Administration. Quality standards for Yao medicinal materials in Guangxi Zhuang Autonomous region volume 1: 2014 edition [M]. Nanning: Guangxi Science and Technology Press, 2014:155.

[4] 莫单丹,唐炳兰,周小雷,等. 小钻提取物抗炎镇痛活性研究[J]. 医药导报, 2014, 33(3):291-294.  
MO D D, TANG B L, ZHOU X L, et al. Anti-inflammation and analgesic effects of the extracts from *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep[J]. Her Med, 2014, 33(3):291-294.

[5] 覃朗,程娅,莫单丹,等. 瑶药小钻乙酸乙酯提取物抗炎风湿关节炎作用及相关机制探讨[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(8):637-642.  
QIN L, CHENG Y, MO D D, et al. Exploration into the anti-rheumatoid arthritis mechanism of ethyl acetate extract from *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep[J]. Chin Pharm J, 2017, 52(8):637-642.

[6] 林慧娇,张馨芸,刘嘉玮,等. 安五脂素对大鼠肠缺血再灌注致肝损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7):330-336.  
LIN H J, ZHANG X Y, LIU J W, et al. Effects of anwulignan on the hepatic injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats[J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(7):330-336.

[7] LIU J W, LIN H J, YUAN L W, et al. Protective effects of anwulignan against HCl/ethanol-induced acute gastric ulcer in mice[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:9998982.

[8] 潘翠柳,莫文坤,潘真真,等. 红鱼眼不同提取物含药血清对脂多糖诱导RAW264.7细胞炎症的影响[J]. 广西中医药大学学报, 2023, 26(6):46-50.  
PAN C L, MO W K, PAN Z Z, et al. Drug serum from different extracts of *Phyllanthus reticulatus* Poir. on inflammatory factors in LPS-induced macrophage RAW264.7 [J]. J Guangxi Univ Chin Med, 2023, 26(6):46-50.

[9] 颜丽珊,邱新宇,康建英,等. 天山雪莲总酚酸对脂多糖刺激的RAW264.7细胞炎症因子释放的影响及其机制研究[J]. 中国现代中药, 2023, 25(10):2109-2118.  
YAN L S, QIU X Y, KANG J Y, et al. Study on effects of total phenolic acids from *Saussureae involucreatae* herba on release of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages and its mechanism[J]. Mod Chin Med, 2023, 25(10):2109-2118.

[10] 覃朗,莫单丹,程娅,等. 小钻木脂素类化合物戈米辛R的体外抗炎机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2022, 57(18):1543-1548.  
QIN L, MO D D, CHENG Y, et al. Research on *in vitro* anti-inflammatory mechanism of gomisin R, the lignans of *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep[J]. Chin Pharm J, 2022, 57(18):1543-1548.

(收稿日期:2024-02-21 修回日期:2024-07-04)

(编辑:邹丽娟)