

鹿筋的常温浸提工艺与化学成分分析及提取物抗炎镇痛活性研究

陈永柱¹, 周希志², 郭亚明¹, 潘季红², 徐彩铢¹, 王洋¹, 郭蕊⁴, 黄瑞卿¹, 李巍^{1*}, 赵余庆^{1,3*}

1. 沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 贵州茅台集团健康产业有限公司, 辽宁 铁岭 112420

3. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133002

4. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 优化鹿筋的提取工艺, 深入分析鹿筋提取物的化学成分, 同时考察鹿筋提取物的抗炎镇痛活性, 以期为其实际应用提供科学依据。**方法** 以鹿筋浸膏得率为指标, 料液比、提取时间、鹿筋大小为优化因素, 利用单因素实验获得鹿筋提取的最佳工艺; 利用超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 分析鹿筋提取物各萃取层的化学成分; 利用脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的 RAW264.7 炎症模型研究鹿筋提取物的体外抗炎活性, 利用醋酸致小鼠扭体实验、二甲苯致小鼠耳肿胀实验研究鹿筋提取物的体内抗炎镇痛活性。**结果** 鹿筋提取最佳工艺为料液比 1:40、提取时间 6d、鹿筋大小 60 目, 该条件下浸膏得率为 12.05%; 通过数据库对比, 推测鹿筋各萃取层中包含异香兰素、 α -亚麻酸、胞嘧啶等 38 种化学成分, 结合网络药理学结果, 推测其中石斛碱、异阿魏酸、姜黄醇、辣椒素、金丝桃苷、山楂酸等具有抗炎镇痛作用; 鹿筋提取物可以显著抑制 LPS 诱导的小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW264.7 细胞中炎症因子一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的分泌, 可以显著抑制醋酸引起的小鼠扭体和二甲苯引起的小鼠耳肿胀。**结论** 优化的鹿筋提取工艺、利用 UPLC-MS/MS 测得的鹿筋化学成分及相关抗炎镇痛实验为鹿筋抗炎镇痛等保健方面的进一步应用提供了重要的数据支持, 为我国东北等地丰富的鹿筋资源提供了新的发展路线。

关键词: 鹿筋; 提取工艺; UPLC-MS/MS; 抗炎镇痛活性; 异香兰素; 紫胶桐酸; 6-姜酚; α -亚麻酸; 棕榈酸甲酯; 维生素 D₃; 胞嘧啶

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)18-6186-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.18.009

Study on extraction process of deer sinew at room temperature, chemical composition analysis, and anti-inflammatory and analgesic activities of extract

CHEN Yongzhu¹, ZHOU Xizhi², GUO Yaming¹, PAN Jihong², XU Caizhu¹, WANG Yang¹, GUO Rui⁴, HUANG Ruiqing¹, LI Wei¹, ZHAO Yuqing^{1,3}

1. Faculty of Functional Food and Wine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Kweichow Moutai Group Health Industry Co., Ltd., Tieling 112420, China

3. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China

4. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective Optimizing the extraction process of deer sinew, conducting a thorough analysis of the chemical composition of the extract, and evaluating its anti-inflammatory and analgesic activities, in order to provide scientific basis for practical applications.

Methods Taking the yield of deer sinew extract as index, the ratio of material to liquid, extraction time and the size of deer sinew as optimization factors, the best extraction process of deer sinew was obtained by single factor experiment. The chemical components of each extraction layer of deer sinew extract were analyzed using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The *in vitro* anti-inflammatory activity of deer sinew extract was studied using a lipopolysaccharides

收稿日期: 2024-03-20

基金项目: 辽宁省自然科学基金面上项目 (2022-MS-243); 沈阳药科大学优青托举计划 (YQ202118); 辽宁省教育厅 2024 年度战略性产业化项目

作者简介: 陈永柱 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为药食同源品的研究与开发。

*通信作者: 李巍 (1981—), 女, 副教授, 研究方向为活性天然产物的研究与开发。Tel: 13840356156 E-mail: wei_li1981@163.com

赵余庆 (1957—), 男, 教授, 从事药食同源品功效物质发现与功效评价研究。E-mail: zyzq4885@126.com

(LPS)-induced RAW264.7 inflammatory model, while the *in vivo* anti-inflammatory and analgesic activities were investigated using acetic acid-induced writhing experiments in mice and xylene-induced ear edema experiments in mice. **Results** The optimal extraction process for deer sinew involves a material-to-liquid ratio of 1:40, an extraction time of 6 d, and a deer sinew size of 60 mesh, resulting in an extract yield of 12.05%. Through database comparison, it is speculated that the extracts of deer sinew contain 38 chemical components such as isovanillin, α -linolenic acid, cytosine, etc. Combined with the results of network pharmacology, it is speculated that dendrobine, isoferulic acid, curcumol, capsaicin, hyperoside, maslinic acid have anti-inflammatory and analgesic effects. Deer sinew extract significantly inhibits the secretion of inflammatory factors nitric oxide (NO) and interleukin-6 (IL-6) in LPS-induced RAW264.7 cells, as well as significantly suppressing acetic acid-induced writhing and xylene-induced ear edema in mice. **Conclusion** The optimized extraction process for deer sinew, the chemical components identified through UPLC-MS/MS analysis, and the related anti-inflammatory and analgesic experiments conducted in this study provide important data support for the further application of deer sinew in health care aspects such as anti-inflammatory and analgesic effects. This research offers a new development path for the abundant deer sinew resources in Northeast China and other regions.

Key words: deer sinew; extraction process; UPLC-MS/MS; anti-inflammatory and analgesic activity; isovanillin; aleuritic acid; 6-gingerol; α -linolenic acid; methyl hexadecanoate; vitamin D₃; cytosine

鹿筋为鹿科鹿属动物梅花鹿 *Gervus nippon* Temminck 或马鹿 *G. elaphus* Linnaeus 的四肢干燥筋。杀鹿后,取四肢的筋,保留悬蹄及蹄骨,用水浸泡 2~5 d,经常换水,至色素全部脱出为止,除净残肉及筋膜,整形后晒干或低温烘干^[1]。鹿筋多为段状或片状,凹凸不平,呈发泡状鼓起;质地坚韧;色泽偏黄色;略微带有香味、腥味。鹿筋性温,味淡,归肝、肾经。目前,关于梅花鹿或马鹿的研究主要集中在鹿茸和鹿血 2 部分,包括对鹿茸和鹿血的化学成分^[2-3]、药理活性^[4-8]及保健产品的研究与开发^[9]。而鹿筋的相关研究则非常少,主要集中在对鹿筋胶原蛋白方面的研究,尚未有对鹿筋化学成分的全面分析及总结。仅有的关于鹿筋化学成分的研究涉及鹿筋中营养成分氨基酸^[10]及矿物元素的测定,利用放射免疫法测定鹿筋中睾酮、雌二醇 2 种激素的含量^[11]等。因此,对于鹿筋中其他功效成分的研究是很有必要的。本实验利用超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 手段分析鹿筋提取物中的化学成分,能够填补这一方面的知识空白,更能为我国东北等地丰富的鹿筋资源提供新的发展路线。

有关鹿筋提取工艺研究多集中在对于其中胶原蛋白的提取方法进行考察和优化^[12-14],而对鹿筋药材多组分功效成分提取工艺的研究甚少。此外鹿筋甚坚韧,有文献表明经炮制后便于粉碎和浸出,且鹿筋目前的深加工,主要应用于保健酒的生产^[15-17]。因此,结合保健酒生产工艺,本实验采用常温浸提的方法,以 53%乙醇溶液为提取溶剂,利用单因素实验,考察料液比、浸泡时间、鹿筋大小 3 因素对

鹿筋浸膏提取率的影响,以期鹿筋酒的开发利用提供理论支持。尽管目前市场上有鹿筋酒的产品,其主要宣称的功效为祛风湿、抗炎镇痛等,但针对鹿筋进行相关活性研究的文献较少,且文献多集中在鹿筋中胶原蛋白的抗炎活性研究^[18-19]。由于鹿筋中除胶原蛋白外,仍含有多种未知成分,因此对鹿筋进行系统的抗炎镇痛活性研究具有重要的理论意义和应用价值。本实验利用脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的 RAW264.7 炎症模型、醋酸致小鼠扭体实验、二甲苯致小鼠耳肿胀实验验证鹿筋提取物的抗炎镇痛活性,为鹿筋抗炎镇痛等保健方面的应用提供重要的数据支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器与设备

DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海东麓仪器设备有限公司; FLB-A1000 型高速多功能摇摆粉碎机,上海菲力博实业公司; BS124S 型赛多利斯电子分析天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司; SHB-III 型台式循环水式多用真空泵、R-1001VN 型旋转蒸发仪、SHB-III 型台式循环水式多用真空泵、R-1001VN 型旋转蒸发仪,郑州长城科工贸有限公司; XY500-2C 型电子天平,常州市幸运电子设备有限公司; LC3000 型高效液相色谱仪,北京创新通恒科技有限公司; Q Exactive™ 型组合型四极杆 Orbitrap™ 质谱仪,美国赛默飞公司; ZDHW 型调温电热套,北京中兴伟业仪器有限公司; 6 mm 打孔器,河北工旺科技有限公司; KH3200B 型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司; -80 °C 超低温冰箱,海尔股份有限公司; Bio Tek 800 TS 吸收光检测仪,安捷伦科技有限公司; SW-CJ-1FD 型超净工

作台, 苏州安泰空气技术有限公司; HF151 型二氧化碳培养箱, 上海力申科学仪器有限公司。

1.2 材料与试剂

鹿筋, 购自西丰民和鹿产品加工有限公司, 产品批号 Y230601, 1 批样品, 经贵州茅台集团健康产业有限公司周希志工程师鉴定为鹿筋, 确认其基原为鹿科鹿属动物梅花鹿 *G. nippon* Temminck 四肢的肌腱, 留样于沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院 504-1, 留样编号 No.0005。无水乙醇, 批号 20230718, 质量分数 $\geq 99.7\%$, 购自天津市永大化学试剂有限公司; 色谱甲醇(批号 20240116026, 质量分数 $\geq 99.9\%$)、冰醋酸(产品批号 20230515, 质量分数 $\geq 99.5\%$), 购自天津市永大化学试剂有限公司; 石油醚(批号 20230912, 分析纯)、醋酸乙酯(批号 20231223, 质量分数 $\geq 99.7\%$)、正丁醇(批号 20230719, 质量分数 $\geq 99.7\%$), 购自天津市富宇精细化工有限公司; 二甲苯, 批号 202305011, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 购自沈阳化学试剂厂; 阿司匹林肠溶片, 批号 ZFA2201, 购自云南白药集团股份有限公司; 4%多聚甲醛, 批号 20230525, 购自沈阳奥典生物科技有限公司; 96 孔细胞培养板, 批号 60470576, 购自赛默飞世尔科技有限公司; LPS, 批号 J0105E, 购自大连美仑生物技术有限公司; 青-链霉素双抗(批号 2441848)、PBS 缓冲液(批号 6123123)、DMEM 高糖培养基(批号 6123152), 购自美国 Gibco 公司; NO 检测试剂盒, 批号 120922230727, 上海碧云天生物技术股份有限公司; 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 检测试剂盒, 批号 202312, 购自上海酶联生物科技有限公司; HE 染色试剂盒, 批号 G1003, 购自武汉塞维尔生物科技有限公司。小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW264.7 细胞, 购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 实验动物

ICR 小鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 (20 \pm 2) g, 许可证号 SCXK (辽) 2020-0001, 质量合格证号 210726231102342812、210726231102673038, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司; 伦理审查编号 SYPUIACUC-S20231108-102、SYPUIACUC-S2023-1206-107; 实验单位沈阳药科大学使用许可证编号为 SCXK (辽) 2020-0009; 实验小鼠分笼饲养于空调室内, 湿度 (65 \pm 5) %, 室温 (23 \pm 2) $^{\circ}$ C, 自由进食和饮水。

2 方法与结果

2.1 鹿筋常温浸提工艺

2.1.1 鹿筋前处理 取块状鹿筋 150 g 置于已预热至 195 $^{\circ}$ C 的烘箱内, 约 30 min, 烘至黄色并鼓起时取出, 粉碎机粉碎, 分别过 10、20、40、60 目筛。

2.1.2 单因素实验 称取处理后鹿筋置于 1 000 mL 锥形瓶中, 加入 53%乙醇, 常温浸泡提取, 一定时间后, 滤过, 取上清液, 旋蒸浓缩, 蒸干后得鹿筋浸膏。提取溶剂为 53%乙醇, 以浸膏得率为指标, 分别考察料液比、提取时间、鹿筋大小对浸膏得率的影响。实验设计如表 1 所示。不同料液比、提取时间、鹿筋大小对鹿筋浸膏得率的影响如表 1 所示。其中料液比和提取时间对浸膏得率的影响不大, 综合考虑, 确定 1:40 为最佳料液比, 6 d 为最佳提取时间; 鹿筋大小在未过筛至 60 目时, 粉碎粒度越细, 鹿筋浸膏得率越大, 在鹿筋粒度为 60 目时, 提取效果最好, 预计进一步减小鹿筋大小, 鹿筋浸膏得率将继续增大, 但工艺成本也会增加, 综合考虑, 确定 60 目为最佳鹿筋大小。最终确定鹿筋提取物最佳常温浸提提取工艺为料液比 1:40, 提取时间 6 d, 鹿筋大小 60 目; 在该工艺条件下进行 3 次重复验证实验, 取平均值, 鹿筋浸膏得率为 12.05%。

2.2 UPLC-MS/MS 分析鹿筋提取物各萃取层化学成分

2.2.1 待测物制备 按上述最佳工艺, 称取鹿筋

表 1 鹿筋提取工艺单因素实验设计与结果

Table 1 Single factor experiment design and results on deer sinew extraction process

编号	鹿筋大小/目	料液比	样品/g	溶剂/mL	提取时间/d	浸膏得率/%
1	60	1:60	10	600	6	12.12 \pm 0.39
2	60	1:50	10	500	6	11.52 \pm 0.64
3	60	1:40	10	400	6	12.05 \pm 0.86
4	60	1:30	10	300	6	9.86 \pm 0.61
5	60	1:20	10	200	6	10.28 \pm 0.48
6	60	1:40	10	400	2	10.25 \pm 0.83
7	60	1:40	10	400	4	10.42 \pm 0.44
8	60	1:40	10	400	6	12.05 \pm 0.86
9	60	1:40	10	400	8	11.17 \pm 1.47
10	60	1:40	10	400	10	11.84 \pm 2.07
11	60	1:40	10	400	6	12.05 \pm 0.86
12	40	1:40	10	400	6	5.87 \pm 0.13
13	20	1:40	10	400	6	3.82 \pm 0.80
14	10	1:40	10	400	6	3.29 \pm 0.20
15	未过筛	1:40	10	400	6	3.16 \pm 0.19

100 g, 按料液比 1:40 加入 53%乙醇溶液 4 000 mL, 常温浸提 6 d, 收集滤液, 旋蒸浓缩至 500 mL, 确保完全除去乙醇, 分别用等体积石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 各 3 次, 将各萃取层旋蒸浓缩、真空干燥, 得萃取层产物。针对各萃取层利用液质联用分析测定其成分。

2.2.2 色谱条件 液相系统为 Thermo Scientific Ultimate 3000 RSLC (HPG); 色谱柱为 Thermo Scientific Hypersil Gold aQ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相为 0.1%甲酸乙腈溶液 (A)-0.1%甲酸

水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~2.0 min, 5% A; 2.0~42.0 min, 5%~95% A; 42.0~46.9 min, 95% A; 46.9~47.0 min, 95%~5% A; 47.0~50.0 min, 5% A; 体积流量为 0.4 mL/min; 柱温为 40 °C。离子源为 ESI 源; 扫描方式为正/负离子模式; 质量扫描范围为 m/z 90~1 350。

2.2.3 基于 UPLC-MS/MS 鹿筋提取物各萃取层化学成分分析 通过查阅文献, 目前尚无对鹿筋提取物及萃取层液质联用分析。石油醚萃取层、醋酸乙酯萃取层、正丁醇萃取层的总离子流图见图 1。

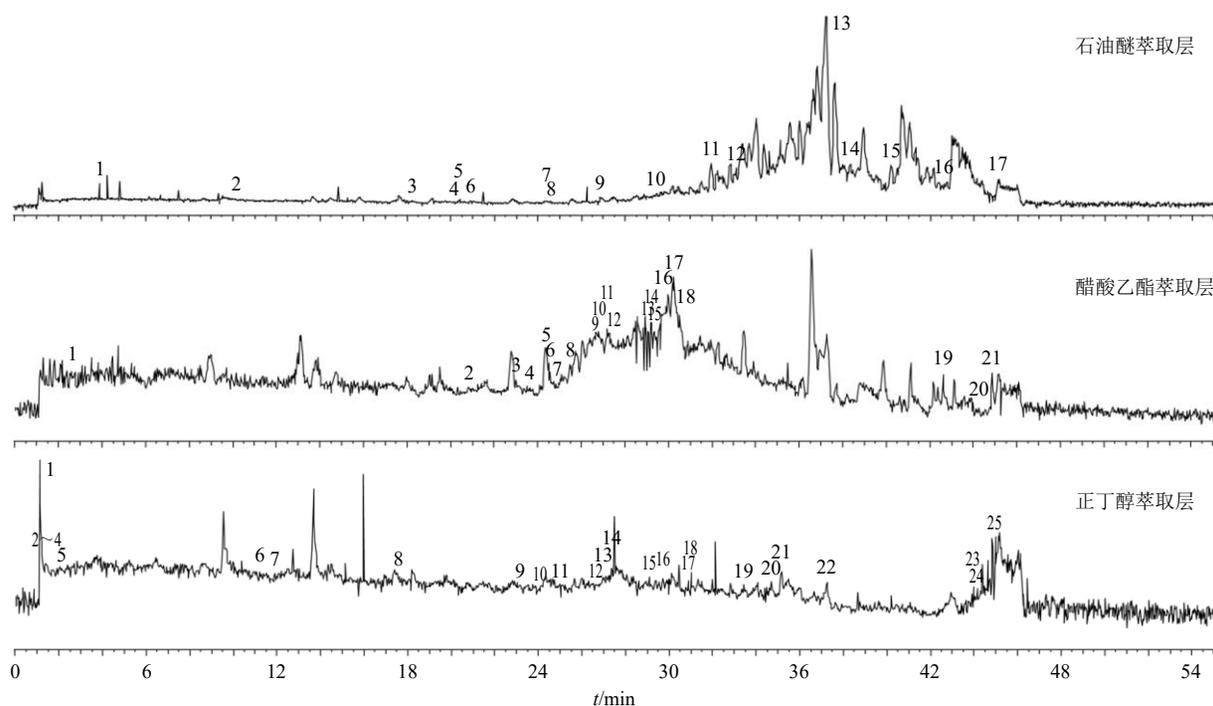


图 1 石油醚萃取层、醋酸乙酯萃取层、正丁醇萃取层的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of petroleum ether layer, ethyl acetate layer, *n*-butanol layer

本实验通过数据库匹配, 从鹿筋提取物的石油醚萃取层中推测出 17 种化学成分 (表 2), 分别为异香兰素 (峰 1)、茴香醛 (峰 2)、石斛碱 (峰 3)、异阿魏酸 (峰 4)、7-羟基香豆素 (峰 5)、 α -细辛脑 (峰 6)、乙酸异丁香酚酯 (峰 7)、广藿香酮 (峰 8)、紫胶桐酸 (峰 9)、6-姜酚 (峰 10)、马兜铃酮 (峰 11)、棕榈酸甲酯 (峰 12)、 α -亚麻酸 (峰 13)、薯蓣皂素 (峰 14)、亚油酸甲酯 (峰 15)、维生素 D₃ (峰 16)、胞嘧啶 (峰 17)。

从鹿筋提取物的醋酸乙酯层中推测出 21 种化学成分 (表 3), 分别为异香兰素 (峰 1)、 α -细辛脑 (峰 2)、紫苏烯 (峰 3)、广藿香酮 (峰 4)、樟脑 (峰 5)、白术内酯 I (峰 6)、小白菊内酯 (峰 7)、*L*-亮氨酸 (峰 8)、大麦芽碱 (峰 9)、紫胶桐酸 (峰 10)、

姜黄醇 (峰 11)、香紫苏内酯 (峰 12)、胆汁酸 (峰 13)、洋川芎内酯 A (峰 14)、6-姜酚 (峰 15)、 α -亚麻酸 (峰 16)、辣椒素 (峰 17)、棕榈酸甲酯 (峰 18)、维生素 D₃ (峰 19)、银杏酸 (峰 20)、胞嘧啶 (峰 21)。

从鹿筋提取物的正丁醇萃取层中推测出 25 种化学成分 (表 4), 分别为左卡尼汀 (峰 1)、*L*-亮氨酸 (峰 2)、烟酸 (峰 3)、尿苷 (峰 4)、异香兰素 (峰 5)、芦丁 (峰 6)、金丝桃苷 (峰 7)、丁基苯酚 (峰 8)、紫苏烯 (峰 9)、樟脑 (峰 10)、小白菊内酯 (峰 11)、大麦芽碱 (峰 12)、紫胶桐酸 (峰 13)、姜黄醇 (峰 14)、胆汁酸 (峰 15)、6-姜酚 (峰 16)、18 β -甘草次酸 (峰 17)、积雪草酸 (峰 18)、棕榈酸甲酯 (峰 19)、辣椒素 (峰 20)、山楂酸 (峰 21)、

表2 基于 UPLC-MS/MS 鹿筋提取物石油醚萃取层化学成分分析结果

Table 2 Chemical composition analysis results of petroleum ether extraction layer of deer sinew extract based on UPLC-MS/MS

编号	t_R / min	相对分子质量 (m/z)		误差 ($\times 10^{-6}$)	主要特征碎片	分子式	名称	
		理论值	实测值				中文名	英文名
1	3.87	153.054 62	153.054 76	0.939 49	93.034 16, 125.060 21	C ₈ H ₈ O ₃	异香兰素	isovanillin
2	10.02	137.059 71	137.059 86	1.096 09	109.065 32	C ₈ H ₈ O ₂	茴香醛	anisic aldehyde
3	18.08	264.195 81	264.195 80	-0.034 89	218.190 64	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	石斛碱	dendrobine
4	20.20	195.065 19	195.065 41	1.150 53	163.039 15	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	异阿魏酸	isoferulic acid
5	20.23	163.038 97	163.039 05	0.473 76	107.049 45	C ₉ H ₆ O ₃	7-羟基香豆素	7-hydroxycoumarin
6	21.00	209.117 22	209.117 46	1.158 00	121.065 23	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	α -细辛脑	α -asarone
7	24.47	207.101 57	207.101 78	0.995 28	189.091 29	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	乙酸异丁香酚酯	isoeugenol acetate
8	24.50	225.112 14	225.112 23	0.392 66	225.112 59	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	广藿香酮	pogostone
9	26.70	303.217 70	303.217 65	-0.160 39	171.101 47, 267.196 41	C ₁₆ H ₃₂ O ₅	紫胶桐酸	aleuritic acid
10	29.51	293.175 83	293.175 63	-0.686 75	177.090 67, 236.104 68	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	6-姜酚	6-gingerol
11	31.96	219.174 34	219.174 39	0.240 45	121.065 22, 177.127 72	C ₁₅ H ₂₂ O	马兜铃酮	aristolone
12	33.38	315.254 08	315.253 60	-1.519 17	297.242 98	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯	methyl hexadecanoate
13	37.22	279.231 86	279.231 90	0.154 27	95.086 17	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α -亚麻酸	α -linolenic acid
14	38.21	415.320 67	415.320 62	-0.125 99	211.149 19	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	薯蓣皂素	diosgenin
15	40.26	295.263 16	295.263 49	1.113 48	95.086 18, 263.237 70	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	亚油酸甲酯	methyl linoleate
16	42.56	385.346 49	385.346 53	0.096 28	107.086 10	C ₂₇ H ₄₄ O	维生素 D ₃	vitamin D ₃
17	45.14	112.050 54	112.050 94	3.582 91	95.024 63	C ₄ H ₅ N ₃ O	胞嘧啶	cytosine

表3 基于 UPLC-MS/MS 鹿筋提取物醋酸乙酯萃取层化学成分分析结果

Table 3 Chemical composition analysis results of ethyl acetate extraction layer of deer sinew extract based on UPLC-MS/MS

编号	t_R / min	相对分子质量 (m/z)		误差 ($\times 10^{-6}$)	主要特征碎片	分子式	名称	
		理论值	实测值				中文名	英文名
1	2.55	153.054 62	153.054 84	1.437 97	93.034 19, 125.060 10	C ₈ H ₈ O ₃	异香兰素	isovanillin
2	20.88	209.117 22	209.117 52	1.449 87	121.065 12	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	α -细辛脑	α -asarone
3	23.12	151.111 74	151.111 97	1.515 40	105.070 50, 133.101 53	C ₁₀ H ₁₄ O	紫苏烯	perillene
4	23.69	225.112 14	225.112 55	1.816 11	225.111 08	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	广藿香酮	pogostone
5	24.33	153.127 39	153.127 61	1.431 83	97.065 36, 109.101 82	C ₁₀ H ₁₆ O	樟脑	camphor
6	24.60	231.137 96	231.138 17	0.901 34	157.101 04, 185.132 84	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	白术内酯 I	atractylenolide I
7	25.00	249.148 52	249.148 74	0.893 75	145.101 73, 231.138 20	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	小白菊内酯	parthenolide
8	25.79	132.101 91	132.102 20	2.220 78	86.097 21	C ₆ H ₁₃ NO ₂	L-亮氨酸	L-leucine
9	26.61	166.122 64	166.122 77	0.795 90	93.070 57	C ₁₀ H ₁₅ NO	大麦芽碱	hordenine
10	26.77	305.232 25	305.232 39	0.463 11	215.180 51, 251.200 24	C ₁₆ H ₃₂ O ₅	紫胶桐酸	aleuritic acid
11	27.10	237.184 91	237.185 07	0.690 82	135.116 87	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	姜黄醇	curcumol
12	27.16	251.200 56	251.200 64	0.309 78	191.180 04, 215.179 72	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	香紫苏内酯	clareolide
13	29.05	426.321 40	426.321 72	0.741 95	273.185 91, 355.263 73	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	胆汁酸	cholic acid
14	29.41	193.122 31	193.122 60	1.524 27	91.054 95, 137.060 10	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	洋川芎内酯 A	senkyunolide A
15	29.55	293.175 83	293.175 60	-0.790 84	177.090 82, 236.104 87	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	6-姜酚	6-gingerol
16	30.25	279.231 86	279.232 12	0.919 30	95.086 20	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α -亚麻酸	α -linolenic acid
17	32.77	306.206 37	306.206 79	1.362 18	137.060 47	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃	辣椒素	capsaicin
18	33.45	315.254 08	315.253 69	-1.228 76	297.243 71	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯	methyl hexadecanoate
19	42.58	385.346 49	385.346 77	0.729 84	107.086 03	C ₂₇ H ₄₄ O	维生素 D ₃	vitamin D ₃
20	44.32	345.243 52	345.242 92	-1.738 13	301.253 14	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	银杏酸	ginkgolic acid C15:1
21	45.10	112.050 54	112.050 97	3.855 27	95.024 66	C ₄ H ₅ N ₃ O	胞嘧啶	cytosine

表4 基于UPLC-MS/MS鹿筋提取物正丁醇萃取层化学成分分析结果

Table 4 Chemical composition analysis results of *n*-butanol extraction layer of deer sinew extract based on UPLC-MS/MS

编号	<i>t_R</i> / min	相对分子质量 (<i>m/z</i>)		误差 ($\times 10^{-6}$)	主要特征碎片	分子式	名称	
		理论值	实测值				中文名	英文名
1	1.09	162.112 47	162.112 55	0.486 26	85.029 14, 103.039 54	C ₇ H ₁₅ NO ₃	左卡尼汀	<i>L</i> (-)-carnitine
2	1.15	132.101 91	132.102 04	0.950 19	86.097 12	C ₆ H ₁₃ NO ₂	<i>L</i> -亮氨酸	<i>L</i> -leucine
3	1.39	124.039 30	124.039 56	2.083 30	80.050 25, 96.045 04	C ₆ H ₅ NO ₂	烟酸	nicotinic acid
4	1.40	243.062 26	243.061 69	-2.339 79	200.055 25	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	尿苷	uridine
5	2.07	153.054 62	153.054 78	1.039 19	93.034 10, 125.060 01	C ₈ H ₈ O ₃	异香兰素	isovanillin
6	11.23	609.146 11	609.146 00	-0.186 99	300.027 50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁	rutin
7	11.72	463.088 20	463.088 13	-0.140 87	255.163 91, 301.053 10	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	金丝桃苷	hyperoside
8	17.54	191.106 66	191.107 01	1.830 85	91.054 84, 145.101 41	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	丁基苯酞	3- <i>n</i> -butylphthalide
9	23.08	151.111 74	151.111 94	1.313 44	105.070 46, 133.101 49	C ₁₀ H ₁₄ O	紫苏烯	perillene
10	24.26	153.127 39	153.127 58	1.232 54	97.065 53, 109.101 68	C ₁₀ H ₁₆ O	樟脑	camphor
11	24.88	249.148 52	249.148 80	1.138 72	231.137 45	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	小白菊内酯	parthenolide
12	26.53	166.122 64	166.122 88	1.438 87	93.070 59	C ₁₀ H ₁₅ NO	大麦芽碱	hordenine
13	26.77	305.232 25	305.232 12	-0.436 72	251.200 68	C ₁₆ H ₃₂ O ₅	紫胶桐酸	aleuritic acid
14	27.08	237.184 91	237.184 91	-0.016 84	135.117 08	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	姜黄醇	curcumol
15	28.96	407.280 30	407.279 75	-1.339 03	289.216 89, 343.265 08	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	胆汁酸	cholic acid
16	29.53	293.175 83	293.175 72	-0.374 47	177.090 56, 236.104 77	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	6-姜酚	6-gingerol
17	30.83	471.346 89	471.347 56	1.431 42	407.331 27	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	18β-甘草次酸	18β-glycyrrhetinic acid
18	30.87	489.357 45	489.357 70	0.503 79	205.159 06, 407.331 12	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	积雪草酸	asiatic acid
19	33.38	315.254 08	315.253 63	-1.422 37	297.243 59	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯	methyl hexadecanoate
20	34.92	294.206 37	294.206 57	0.691 64	137.060 00	C ₁₇ H ₂₇ NO ₃	辣椒素	nonivamide
21	35.30	473.362 54	473.363 01	0.985 70	203.179 84, 409.347 90	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	山楂酸	maslinic acid
22	37.24	279.231 86	279.232 18	1.137 89	95.086 28	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α-亚麻酸	α-linolenic acid
23	44.10	385.346 49	385.346 53	0.096 28	107.086 14	C ₂₇ H ₄₄ O	维生素 D ₃	vitamin D ₃
24	44.29	345.243 52	345.243 53	0.029 76	301.253 05	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	银杏酸	ginkgolic acid C15:1
25	45.10	112.050 54	112.050 93	3.514 82	95.024 70	C ₄ H ₅ N ₃ O	胞嘧啶	cytosine

α-亚麻酸(峰22)、维生素D₃(峰23)、银杏酸(峰24)、胞嘧啶(峰25)。

其中异香兰素、紫胶桐酸、6-姜酚、α-亚麻酸、棕榈酸甲酯、维生素D₃、胞嘧啶在3个萃取层均有分布,推测这7种成分在鹿筋中含量较高。

2.2.4 基于网络药理学构建抗炎作用靶点-鹿筋各萃取层活性成分的相互作用网络 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)数据库进行统计筛选,获得鹿筋各萃取层中的全部化学成分对应的相关靶点;通过UniProt数据库筛选出所有相关靶点的对应基因名;以“anti-inflammatory”为关键词,在GeneCards数据库中筛选出所有抗炎基因靶点;通过Cytoscape 3.10.1软件针对数据构建可视化网络图。结果见图2。图中绿色菱形为91个靶点基因;黄色方形为鹿筋各萃取层中25个化学成分;橙色椭圆形为鹿筋

的各萃取层,“石”代表石油醚层,“乙”代表醋酸乙酯层,“正”代表正丁醇层,“石乙”代表石油醚层和醋酸乙酯层的交集,“乙正”代表醋酸乙酯层和正丁醇层的交集,“石乙正”代表石油醚层、醋酸乙酯层和正丁醇层的交集;红色五边形代表研究对象鹿筋。本研究中度值前10的化学成分分别为辣椒素、6-姜酚、芦丁、α-细辛脑、乙酸异丁香酚酯、α-亚麻酸、棕榈酸甲酯、异阿魏酸、烟酸、*L*-亮氨酸。故推测以上化合物为抗炎活性较强的化学成分。

2.3 鹿筋提取物抗炎镇痛实验研究

2.3.1 LPS 诱导的小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW 264.7 细胞炎症模型建立及鹿筋提取物对其中 NO 和 IL-6 含量的影响 取对数生长期的 RAW264.7 细胞,以 1×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中,用含有 10% 胎牛血清(FBS)、1% 抗生素(10 000 U/mL 青霉素、10 000 μg/mL 链霉素)的 DMEM(dulbecco's

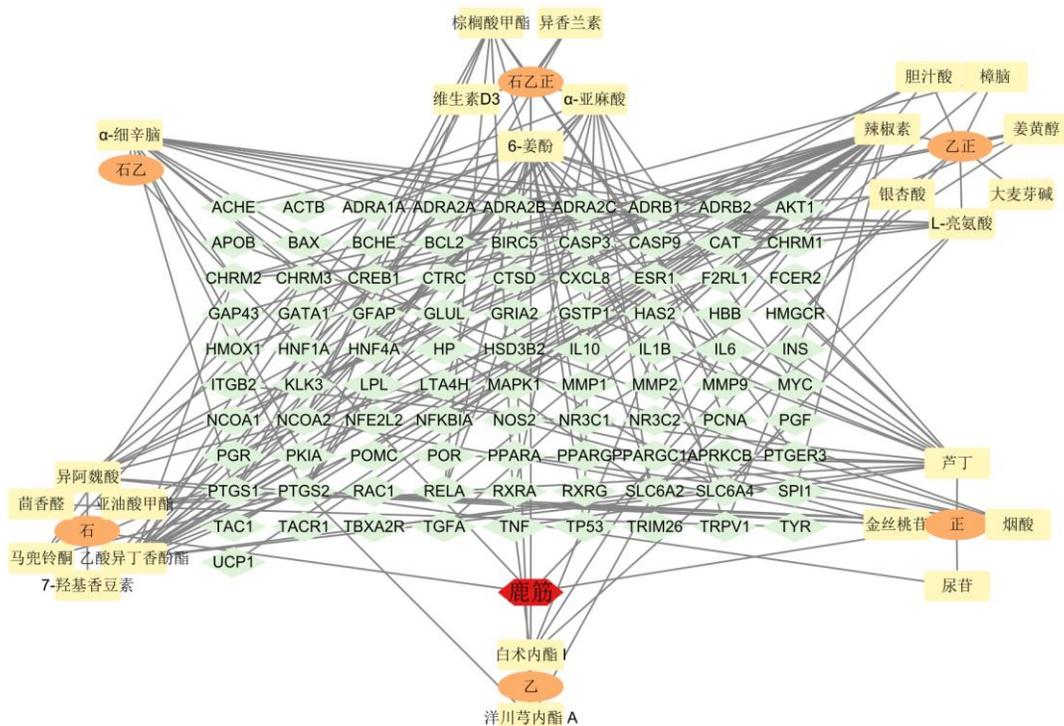


图 2 抗炎作用靶点-鹿筋各萃取层化学成分网络图

Fig. 2 Network diagram of anti-inflammatory effect targets-chemical components from various extraction layers of deer sinew

modified eagle medium) 完全培养基进行培养。控制温度为 37 °C、CO₂ 浓度为 5%。24 h 后分组给药, 分别为空白组 (完全培养基+细胞)、模型组 (LPS+完全培养基+细胞)、给药组 (药物+LPS+完全培养基+细胞)、阳性对照组 (阿司匹林+LPS+完全培养基+细胞), 每组 3 个复孔。LPS 质量浓度设置为 1 μg/mL; 给药组质量浓度分别设置为高、中、低 (25.00、12.50、6.25 mg/mL); 阳性药阿司匹林肠溶片质量浓度为 25.00 mg/mL。药物为“2.1”项下最佳提取工艺下所得产物 (鹿筋提取物)。

给药 24 h 后, 取细胞培养液上清, 通过一氧化氮检测试剂盒检测 NO 含量; 通过 IL-6 ELISA 检测试剂盒检测 IL-6 含量。结果如表 5 所示。与空白组相比, 模型组细胞的 NO 分泌量明显增加, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 鹿筋提取物高、中、低各剂量组及阳性药组细胞的 NO 分泌量明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。结果表明 LPS 可显著促进细胞 NO 分泌量的增加; 鹿筋提取物和阳性药阿司匹林可显著抑制细胞 NO 分泌, 且鹿筋提取物抑制作用呈现剂量依赖性。

与空白组相比, 模型组细胞的 IL-6 分泌量明显增加, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 鹿筋提取物高、中、低各剂量组及阳性药组

表 5 鹿筋提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型中 NO 和 IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effect of deer sinew extract on contents of NO and IL-6 in LPS-induced RAW264.7 cells inflammation model ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	NO/(μmol·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
空白	-	20.39 ± 0.56	3.34 ± 0.14
模型	-	58.24 ± 3.12 ^{***}	14.65 ± 0.49 ^{***}
阳性药	200	18.76 ± 0.44 ^{###}	9.34 ± 0.91 ^{###}
鹿筋提取物	200	14.97 ± 0.08 ^{###}	6.87 ± 0.40 ^{###}
	100	17.70 ± 0.16 ^{###}	9.63 ± 0.77 ^{###}
	50	22.79 ± 0.40 ^{###}	10.56 ± 0.22 ^{###}

与空白组比较: ^{***} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{###} $P < 0.001$ 。

^{***} $P < 0.001$ vs blank group; ^{###} $P < 0.001$ vs model group.

细胞的 IL-6 分泌量明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。结果表明, LPS 可显著促进细胞 IL-6 分泌量的增加; 鹿筋提取物和阳性药阿司匹林可显著抑制细胞 NO 分泌, 且鹿筋提取物抑制作用呈现剂量依赖性。

2.3.2 二甲苯致小鼠耳肿胀模型建立及鹿筋提取物对小鼠耳肿胀度、耳病理损伤及其中抗炎因子 IL-6、IL-1β、TNF-α 含量的影响

(1) 方法: 取 30 只 ICR 雄性小鼠^[20-21]进行为期 1 周的适应性喂养后, 将小鼠随机分为 5 组, 空

白组、阳性药组（阿司匹林）及鹿筋提取物高、中、低剂量组，每组 6 只。鹿筋提取物高、中、低剂量组的给药剂量分别为 200、100、50 mg/kg^[22]；阳性药组给予阿司匹林 200 mg/kg^[23-24]；空白对照组给予等量的生理盐水；ig 给药，10 mL/kg，连续 7 d。末次给药 1 h 后，用移液枪吸取二甲苯 50 μ L 缓慢均匀地涂于各组小鼠左耳两侧，右耳不涂作为对照。造模 30 min 后，采用颈椎脱位法处死小鼠^[25-26]。

(2)耳肿胀度和耳肿胀抑制率：用直径 6 mm 圆形打孔器在耳片对称部位打下完整的圆形耳片，称取耳片质量以计算耳肿胀度和耳肿胀抑制率。

耳肿胀度 = 左耳质量 - 右耳质量

耳肿胀抑制率 = (空白对照组耳肿胀度 - 给药各组耳肿胀度) / 空白对照组耳肿胀度^[27]

结果如表 6 所示。与模型组相比，阳性药组和鹿筋提取物高、中、低剂量组小鼠耳肿胀度明显减少，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)；鹿筋提取物高剂量组耳肿胀抑制率 (52.68%) 优于阳性药组 (45.14%)，中剂量组耳肿胀抑制率为 26.78%，低剂量组耳肿胀抑制率为 18.58%，鹿筋提取物各剂量组耳肿胀抑制率呈现剂量相关性。结果表明，在一定剂量下，阿司匹林和鹿筋提取物对二甲苯引起的小鼠耳肿胀均具有明显的抑制作用。

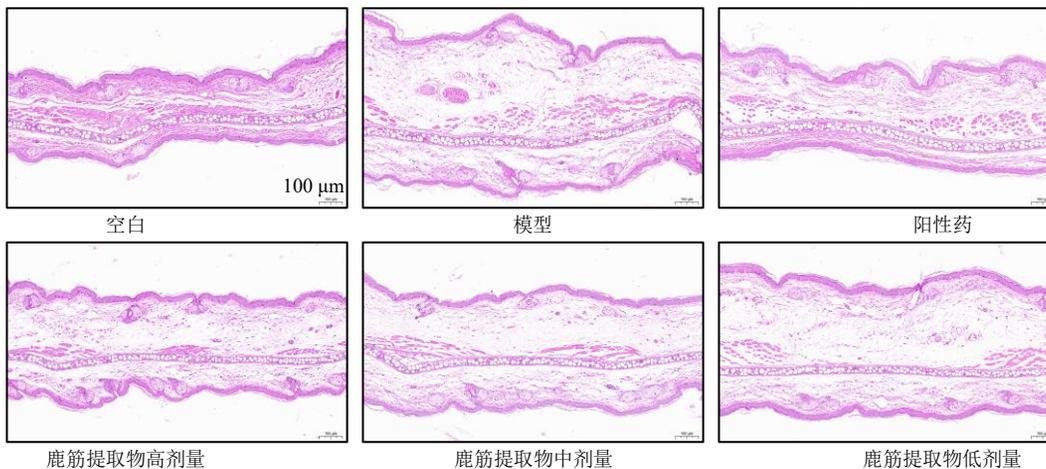


图 3 各组小鼠耳组织的病理切片图 (HE, $\times 20$)

Fig. 3 Pathological section images of ear tissues from various groups of mice (HE, $\times 20$)

血管充血、扩张，有明显炎性细胞浸润；对于阳性药组小鼠耳组织，水肿现象、血管扩张不明显、只有微量的炎性细胞的浸润；鹿筋提取物高、中、低剂量组小鼠耳组织中水肿和炎性细胞浸润现象都有不同程度的减弱，说明鹿筋提取物具有一定的抗炎作用。

(4) ELISA 法检测小鼠耳组织中 IL-6、IL-1 β 、

表 6 鹿筋提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 6 Effect of deer sinew extract on ear swelling induced by xylene in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg	耳肿胀抑制率/%
空白	-	1.05 \pm 0.90	-
模型	-	9.15 \pm 1.46 ^{###}	-
阳性药	200	5.02 \pm 1.12 ^{***}	45.14
鹿筋提取物	200	4.33 \pm 1.06 ^{***}	52.68
	100	6.70 \pm 1.16 ^{**}	26.78
	50	7.45 \pm 1.14 [*]	18.58

与空白组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs blank group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

(3) HE 染色法观察小鼠耳肿胀病理损伤：随机取各组 1 只小鼠左耳圆形耳片，使用 4% 多聚甲醛固定小鼠耳组织用于病理染色，随后将固定的耳组织进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明和浸蜡，对耳组织进行石蜡包埋、切片，厚度 5 μ m。依据 HE 染色试剂盒进行实验操作，观察和记录各组耳组织细胞形态的变化，包括小鼠皮肤炎性细胞浸润程度、毛囊扩张程度、角化程度、角质层厚度等。结果如图 3 所示。空白组小鼠耳组织有完整的连成一片的纤细的横纹肌纤维组织，而模型组小鼠有明显的水肿、

TNF- α 含量变化：各组取 3 只小鼠左耳组织称定质量，剪碎，按质量-体积 1 : 9 的比例加入生理盐水，充分研磨，制成 10% 组织混悬液，之后以 3 000 r/min 离心（离心半径 10 cm）10 min，收集上清液，按试剂盒说明书方法分别测定其中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量。结果如表 7 所示。与空白组相比，模型组小鼠耳组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量均明显增加，

差异具有统计学意义 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 鹿筋提取物高、中、低各剂量组及阳性药组小鼠耳组织中 IL-6 含量明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.001); 与模型组相比, 鹿筋提取物高剂量组、中剂量组及阳性药组小鼠耳组织中 IL-1 β 含量明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 0.001), 低剂量组无显著性差异; 与模型组相比, 鹿筋提取物高、中、低各剂量组及阳性药组小鼠耳组织中 TNF- α 含量明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 0.001); 结果表明鹿筋提取物及阳性药阿司匹林可明显抑制小鼠耳组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的分泌, 且鹿筋提取物抑制作用呈现剂量相关性。

表 7 各组小鼠耳组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Contents of IL-6, IL-1 β , and TNF- α in ear tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	IL-1 β / (pg·mL ⁻¹)	TNF- α / (pg·mL ⁻¹)
空白	-	28.06 \pm 2.02	78.34 \pm 5.27	491.53 \pm 10.12
模型	-	78.20 \pm 3.30 ^{***}	109.00 \pm 1.82 ^{***}	860.93 \pm 77.35 ^{***}
阳性药	200	30.52 \pm 3.36 ^{###}	89.24 \pm 0.51 ^{###}	525.14 \pm 22.60 ^{###}
鹿筋提取物	200	30.24 \pm 5.29 ^{###}	84.10 \pm 4.34 ^{###}	511.20 \pm 28.33 ^{###}
	100	44.69 \pm 5.29 ^{###}	96.32 \pm 3.77 [#]	621.86 \pm 18.22 ^{###}
	50	67.57 \pm 5.52 [#]	108.53 \pm 3.63	760.38 \pm 41.87 ^{##}

与空白组比较: ^{***} $P < 0.001$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ 。

^{***} $P < 0.001$ vs blank group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs model group.

2.3.3 醋酸致小鼠扭体模型建立及鹿筋提取物的镇痛效果研究 分组、给药同“2.3.2”项。末次给药 1 h 后, 将配制好的 0.7%冰醋酸溶液按顺序对每组小鼠进行 ip, 观察各组小鼠 20 min 内出现扭体反应(表现为腹前壁紧贴笼底、臀部歪扭、腹部收内凹和后肢伸张的状态)的次数, 并计算小鼠扭体反应抑制率。结果如表 8 所示。与模型组相比, 阳性药组和鹿筋提取物高、中、低剂量组小鼠醋酸扭体次数明显减少, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.001); 鹿筋提取物高剂量组镇痛率(44.53%)略优于阳性药组(43.25%), 中剂量组镇痛率为 29.33%, 低剂量组镇痛率为 16.48%, 鹿筋提取物各剂量组镇痛率呈现剂量相关性。结果表明, 在一定剂量下, 阿司匹林和鹿筋提取物对醋酸引起的小鼠扭体反应均具有明显的抑制作用。

小鼠扭体反应抑制率=(模型组扭体反应次数-给药各
组扭体反应次数)/模型组扭体反应次数

表 8 鹿筋提取物对醋酸致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 Effects of deer sinew extract on writhing response in acetic acid-induced mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	扭体次数/次	镇痛率/%
模型	-	77.83 \pm 8.38	-
阳性药	200	44.17 \pm 8.09 ^{***}	43.25
鹿筋提取物	200	43.17 \pm 6.80 ^{***}	44.53
	100	55.00 \pm 9.47 ^{***}	29.33
	50	65.00 \pm 9.59 [*]	16.48

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ 。

^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

2.4 数据统计

提取工艺部分, 每组实验重复 3 次, 结果取平均值; 抗炎镇痛活性部分, 动物实验各组样本数量 $n = 6$, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 均采用 Graph Pad Prism 8.0.2 软件绘图, 采用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析。

3 讨论

本实验采用 UPLC-MS/MS 方法从鹿筋提取物的石油醚层、醋酸乙酯层、正丁醇层中推测出异香兰素、 α -亚麻酸、胞嘧啶等 38 种化学成分, 其中异香兰素、紫胶桐酸、6-姜酚、 α -亚麻酸、棕榈酸甲酯、维生素 D₃、胞嘧啶在 3 个萃取层均有分布, 推测这 7 种成分在鹿筋中含量较高; 结合网络药理学结果与相关文献, 石油醚层的石斛碱、异阿魏酸, 乙酸乙酯层的姜黄醇、辣椒素, 正丁醇层的金丝桃苷、山楂酸等具有抗炎镇痛作用^[28-29]。但是从鹿筋提取物各萃取层的总离子流图结果来看, 其基线并不理想, 对成分分析影响较大, 推测原因为鹿筋属于动物类药材, 其蛋白质含量较高。因此, 在后续的实验中, 应进一步考虑在提取阶段采用一些手段先行除掉鹿筋中的蛋白质, 再进行化学成分的分析。

活性实验结果显示, 与模型组比较, 鹿筋提取物高(25 mg/mL)、中(12.5 mg/mL)、低(6.25 mg/mL)剂量组均能显著抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型中 NO 和 IL-6 的分泌, 且呈剂量相关性。进一步的体内实验结果显示, 不同给药剂量鹿筋提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀、醋酸致小鼠扭体均有显著抑制作用, 提示鹿筋提取物具有较强的抗炎镇痛效果, 其中高剂量组抗炎镇痛能力优于阳性药组(阿司匹林); ELISA 实验结果表明, 鹿筋提取物可降低致炎后耳组织中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量, 证明其具有良好的抗炎效果。

鹿作为东北地区具有大量养殖规模的动物药材,仅有鹿茸得到了充分的研究与利用,而同样在鹿中存在的大量鹿筋,由于对其研究甚少,未能得到充分的深加工与开发利用。因此,对于鹿筋中的化学成分进行深入系统的研究,具有非常重要的理论意义和应用价值,其可为鹿筋的进一步开发应用奠定重要的理论基础和依据,更能为我国东北等地丰富的鹿筋资源提供新的发展路线。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李长春,孙少鹏.鹿副产品的加工[J].畜牧兽医科技信息,2008(4):107.
- [2] Bartoš L, Esattore B, Kotrba R, et al. The effects of challenge or social buffering on cortisol, testosterone, and antler growth in captive red Deer (*Cervus elaphus*) males [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 21856.
- [3] Esattore B, Buczek M, Dušek A, et al. Ivermectin decreases parasite load, testosterone, and potentially antler length in a group of captive red Deer males (*Cervus elaphus*) [J]. *Res Vet Sci*, 2024, 166: 105095.
- [4] Zhang G K, Shi L Y, Li J P, et al. Antler stem cell exosomes alleviate pulmonary fibrosis via inhibiting recruitment of monocyte macrophage, rather than polarization of M2 macrophages in mice [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 359.
- [5] Wang G C, Meng Y B, Ouyang W S, et al. Effect of pilose antler polypeptide on the mechanism of bone homeostasis in osteoporosis [J]. *Front Med*, 2023, 10: 1289843.
- [6] Zhang G K, Wang D X, Ren J, et al. Antler stem cell-derived exosomes promote regenerative wound healing via fibroblast-to-myofibroblast transition inhibition [J]. *J Biol Eng*, 2023, 17(1): 67.
- [7] Ma S, Ding Q T, Xia G F, et al. Multifunctional biomaterial hydrogel loaded with antler blood peptide effectively promotes wound repair [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2024, 170: 116076.
- [8] Dong Y, Lu Z H, Gao T T, et al. A polypeptide derived from pilose antler ameliorates CUMS-induced depression-like behavior by SENP2-PLCβ4 signaling axis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 963: 176247.
- [9] Sunwoo H H, Sim J S. Potential uses of velvet antler as nutraceuticals, functional and medical foods in the west [J]. *J Nutraceuticals Funct Med Foods*, 2000, 2(3): 5-23.
- [10] 应茵,刘静,张立实,等.马鹿鹿产品营养成分分析[J].卫生研究,2013,42(2):290-294.
- [11] 邓鸿,杨洗尘,曹德林.鹿筋及其炮制品化学成分的初步研究[J].中药材,1991,14(8):36-38.
- [12] 张鹏程,么宝金,冷向阳.鹿筋胶原蛋白提取条件优化[J].延边大学农学学报,2020,42(1):69-75.
- [13] 邹慧,兰梦,李晶峰,等.响应面法优化鹿筋蛋白提取工艺及体外抗类风湿性关节炎活性[J].食品工业科技,2020,41(22):178-184.
- [14] 邹慧,杨小倩,张辉,等.响应面法优化鹿筋胶原蛋白酶解工艺及其氨基酸含量[J].食品工业,2021,42(6):204-208.
- [15] 汪敬超.类风湿性关节炎中医证治规律研究[D].南京:南京中医药大学,2009.
- [16] 刘慧敏,刘雪梅,江雨柔,等.酒在中药制药与用药过程中的古今研究进展[J].中草药,2022,53(11):3538-3549.
- [17] 何鑫.抗疲劳保健食品人参红景天鹿茸保健酒的研究[D].长春:长春工业大学,2020.
- [18] 张鹏程.基于“筋骨平衡”理论探讨鹿筋健骨功效的生物学机制[D].长春:长春中医药大学,2020.
- [19] 邹慧,兰梦,尹馨雪,等.酶解前后鹿筋体外抗炎活性与其氨基酸组成的相关性[J].食品工业科技,2021,42(17):8-15.
- [20] 李曼.白花蛇舌草干品和鲜品抗炎效应及其物质基础的比较研究[D].南京:南京中医药大学,2022.
- [21] 王泊宁.天南星-生姜药对抗炎性疼痛作用的探究[D].北京:北京中医药大学,2022.
- [22] 赵磊,张雅莉,张晓蕾,等.鹿茸蛋白水解肽的抗炎及肠吸收机制[J].中国食品学报,2018,18(10):45-51.
- [23] 倪力军,赵雯雯,马骏,等.基于腰痛宁胶囊的中药有效部位组方抗炎镇痛活性评价与筛选[J].中草药,2016,47(18):3255-3262.
- [24] 睦颖玲.薏苡仁镇痛抗炎和降尿酸活性成分研究[D].无锡:江南大学,2023.
- [25] 李千,李莎莎,张慧,等.雄黄水飞炮制机制研究[J].中草药,2023,54(23):7751-7758.
- [26] Said K, Hamayun M, Rauf M, et al. Simultaneous study of analysis of anti-inflammatory potential of *Dryopteris ramosa* (C. Hope) C. Chr. using GC-mass and computational modeling on the xylene-induced ear oedema in mouse model [J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29(41): 3324-3339.
- [27] 刘玉雯.壮药扁担藤抗炎谱效关系研究[D].南宁:广西中医药大学,2020.
- [28] 李新,卜睿臻,王玉丽,等.痹祺胶囊治疗类风湿性关节炎的药效研究及网络机制预测[J].中草药,2023,54(23):7618-7629.
- [29] 曹丽,孙虹,李展,等.不同品种的升麻蜜制前后药理活性的比较[J].中药材,2007,30(12):1561-1563.

[责任编辑 郑礼胜]