

地枫皮入血成分抗类风湿性关节炎作用研究

李连春, 符毓夏, 谭兰芳, 宁德生, 潘争红*

(广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006)

摘要: 为发现地枫皮中具有抗类风湿性关节炎(RA)功效的化合物, 该研究利用液相色谱-串联质谱法鉴定地枫皮的入血成分; 通过检测入血成分对胶原诱导的关节炎小鼠表观病症, 关节炎指数, 膝关节病理, 以及血清中 MCP-1、IL-6 和 TNF- α 含量的影响, 评价入血成分的抗 RA 活性; 利用分子对接的方法, 探究抗 RA 活性化合物与 TLR4/NF- κ B 通路的相互作用。结果表明: (1) 地枫皮中的异红花八角醇、厚朴酚能够进入血浆。(2) 异红花八角醇能够缓解胶原诱导关节炎小鼠的四肢充血、发红、肿胀等症状, 减小关节炎指数, 阻碍膝关节组织病理进程, 降低血清中 MCP-1、IL-6 和 TNF- α 含量。(3) 异红花八角醇能够与 TLR4/NF- κ B 通路中的关键蛋白质 TLR4、I κ B α 和 NF- κ B p65 结合。总之, 异红花八角醇被吸收后, 通过血液循环到达关节组织, 可能影响 TLR4/NF- κ B 通路而缓解 RA 病症, 是地枫皮抗 RA 的活性成分之一。

关键词: 地枫皮, 异红花八角醇, 类风湿性关节炎, 入血, 液相色谱-串联质谱法, TLR4/NF- κ B 通路

Study on the anti-rheumatoid arthritis effect of entering bloodstream components from *Illicium difengpi*

LI Lianchun, FU Yuxia, TAN Lanfang, NING Desheng, PAN Zhenghong*

(Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: To search the compounds that can relieve rheumatoid arthritis from *Illicium difengpi*, the components that can enter bloodstream were identified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and then their anti-rheumatoid arthritis activities were evaluated

基金项目: 国家自然科学基金(31960091); 桂林市创新平台和人才计划(20210102-3)。

第一作者: 李连春(1986-), 副研究员, 博士, 研究方向为天然药物化学, (E-mail)llc@gxib.cn。

***通信作者:** 潘争红, 研究员, 博士, 研究方向为药物化学, (E-mail)pan7260@126.com。

by testing their effects on symptoms, arthritis indexes, pathological changes of knee joints, and contents of MCP-1, IL-6 and TNF- α in serum of collagen-induced arthritis mice. The potential interactions between the anti-rheumatoid arthritis compounds and TLR4/NF- κ B pathway were studied by molecular docking. The results were as follows: (1) After absorbance, isodunnianol and magnolol could enter bloodstream. (2) Isodunnianol could alleviate symptoms including limb congestion, redness and swelling, reduce arthritis index score of limbs, improve histopathology of knee joints, and decrease contents of MCP-1, IL-6 and TNF- α in serum of collagen-induced arthritis mice. (3) Isodunnianol could bind to key proteins of TLR4/NF- κ B pathway, including TLR4, I κ B α and NF- κ B p65. In conclusion, isodunnianol could enter bloodstream after absorbance and alleviate the pathology of rheumatoid arthritis, possibly through regulating TLR4/NF- κ B pathway. Therefore, isodunnianol is one of anti-rheumatoid arthritis active components of *Illicium difengpi*.

Key words: *Illicium difengpi*, isodunnianol, rheumatoid arthritis, enter the bloodstream, LC-MS/MS, TLR4/NF- κ B pathway

地枫皮 (*Illicium difengpi*) 为木兰科八角属植物, 灌木, 主要分布于广西壮族自治区西南部的喀斯特地区, 常生长于石灰岩山顶、石缝或石山的疏林下。其皮可以入药, 具有祛风除湿、行气止痛的功效, 主要用于治疗风湿性关节痛、腰肌劳损等症(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1996; 国家药典委员会, 2020)。

地枫皮药材中的化学成分丰富, 含有木脂素、苯丙素、三萜、糖苷、倍半木脂素等类型的化合物。其中, 一些三萜、倍半木脂素化合物在细胞实验中显示出良好的抗炎活性 (Fang et al., 2010; Li et al., 2013, 2015; Pan et al., 2019)。前期, 本课题组对地枫皮的石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇等不同极性部位进行了抗炎活性评价, 发现二氯甲烷提取物抗炎活性最强, 可能是地枫皮主要的药效部位 (宁德生等, 2016)。但是, 药物的体内活性与吸收、分布、代谢、排泄和药物-受体相互作用等多种因素紧密相关。因此, 要阐明地枫皮抗类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的物质基础, 还必需开展体内的药效学研究。中药具有化学成分复杂的特点, 其发挥药效的物质通常是经过吸收、代谢等生理过程, 能够进入血液的原型成分或代谢产物 (闫广利等, 2015)。为发现地枫皮中具有抗 RA 作用的化合物, 本研究拟探讨以下问题: (1) 在大鼠模型中, 鉴定地枫皮二氯甲烷提取物中的入血成分; (2) 在胶原诱导的小鼠关节炎模型中, 评价入血成分的抗 RA 活性; (3) 利用分子对接的方法, 探究抗 RA 活性化合物与 TLR4/NF- κ B 炎症调控通路中关键蛋白质的相互作用。最终, 为阐明地枫皮的抗 RA 物质基础和作用机制提供参考, 为地枫皮的合理开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量 230~270 g，购买自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（湘）2019-0004。SPF 级雄性 DBA/1 小鼠，体质量 18~22 g，购买自常州卡文斯实验动物有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（苏）2021-0013。动物实验经广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所实验动物管理与伦理委员会批准（批准号：GXZW-20210928-1），实验动物使用许可证号：SYXK（桂）2020-0002。

1.1.2 药物与试剂 不完全弗氏佐剂、完全弗氏佐剂和牛 II 型胶原均购自美国 Chondrex 公司；小鼠单核细胞趋化蛋白 1（MCP-1）、白细胞介素 6（IL-6）和肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）酶联免疫吸附法试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；各种有机试剂均购自西陇化工股份有限公司。

1.1.3 主要仪器 Spark 多功能酶标仪（瑞士 Tecan 公司）；高速冷冻离心机（珠海海马公司）；200~300 目硅胶（青岛海洋化工厂）；Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶（美国 GE 公司）；MCI 凝聚（日本三菱公司）；ODS C₁₈ 柱（100 mm×2.1 mm，3.5 μ m，日本岛津公司）；LC/MS-IT-TOF 液相质谱联用仪（日本岛津公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 二氯甲烷提取物、化合物的分离制备 植物材料采集于广西都安县，经唐辉研究员（广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所）鉴定为地枫皮的干燥树皮。将 15 kg 地枫皮药材粗粉，用 20 L 的 95%乙醇于室温中浸泡 24 h。过滤，收集滤液，药材重复浸提 3 次。滤液于 50 °C减压浓缩成浸膏，浸膏用蒸馏水超声分散后，依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取，减压去除溶剂后得到石油醚提取物、二氯甲烷提取物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物。根据本课题组前期建立的方法（宁德生等，2017；Pan et al., 2019），从二氯甲烷提取物中制备 2 个主要成分厚朴酚、异红花八角醇，经液相鉴定纯度均 > 95%，它们的 NMR 数据与文献报道基本一致。

1.2.2 大鼠给药及取血 雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后，随机分为空白对照组和给药组，每组 5 只。将二氯甲烷提取物混悬于助悬剂（45%聚氧乙烯蓖麻油，45%无水乙醇，10%水），60 °C加热助溶成 0.25 g·mL⁻¹ 的混悬液。给药组大鼠灌胃上述混悬液，剂量为 2.5 g·kg⁻¹，空白对照组大鼠灌胃等剂量的助悬剂。灌胃处理 30、60、90、120、180 min 后，从腹主动脉取血，置于含肝素钠的采血管。4 000 r·min⁻¹，离心 10 min，收集血浆。每个时间点取 1 mL 血浆进行混合，放-80 °C备用。

1.2.3 血浆处理 取 800 μL 混合时间点的血浆，加入 1 600 μL 丙酮，涡旋混匀 5 min。于 4 $^{\circ}\text{C}$ ，13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 20 min。收集上清液，用氮气吹干，再用 100 μL 70%的甲醇水溶液复溶。于 4 $^{\circ}\text{C}$ ，13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 20 min。收集上清液，置于内存管中，待测。

1.2.4 液相色谱-串联质谱法检测入血成分 液相色谱参数设置如下：ODS C_{18} 色谱柱 (100 $\text{mm}\times 2.1\text{ mm}$ ，3.5 μm)；柱温设为 30 $^{\circ}\text{C}$ ；流动相为 0.1%甲酸 (A) -乙腈 (B)；流速设为 0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；进样体积为 20 μL ；梯度洗脱条件如下：0~10 min，40%~70% B；10~40 min，70%~95% B；40~45 min，95% B；45~50 min，95%~40% B。质谱参数参照赵振东等 (2013) 的方法设定：ESI 设为负离子模式；电压设为 -3.5 kV；氮气做为雾化气，流量为 1.5 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ；碰撞气为氩气；干燥气压设为 100 kPa；检测器电压设为 1.7 kV；加热模块温度和 CDL 温度均设为 200 $^{\circ}\text{C}$ ；一级质谱的扫描范围为 m/z 300~700；母离子的扫描范围为 m/z 315~650；离子累积时间为 10 ms；CID 碰撞能量设为 100%；碰撞气能量设为 100%。

1.2.5 胶原诱导关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 小鼠模型建立及给药 雄性 DBA/1 小鼠适应性饲养 1 周后，随机分为空白对照组、CIA 模型组、异红花八角醇低剂量组 (40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、异红花八角醇高剂量组 (80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 和甲氨蝶呤组 (1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ，作为阳性对照)，每组 6 只。CIA 小鼠模型根据 Miyoshi 和 Liu (2018) 报道的方法建立：每只小鼠于尾巴根部，注射 100 μL 由完全弗氏佐剂和牛 II 型胶原配制的乳剂 (含 100 μg 牛 II 型胶原)，进行初次免疫；21 d 后，每只小鼠于尾巴根部，注射 100 μL 由不完全弗氏佐剂和牛 II 型胶原配制的乳剂 (含 100 μg 牛 II 型胶原)，进行加强免疫。于加强免疫后，异红花八角醇组和甲氨蝶呤组小鼠灌胃给予指定剂量的化合物，空白对照组和 CIA 模型组小鼠给与等剂量的生理盐水。每天一次，连续处理 3 周。

1.2.6 异红花八角醇抗 RA 活性检测 加强免疫后，每 3 d 对小鼠进行 1 次关节炎指数打分。关节炎指数为表征关节炎严重程度的指标，为四肢打分相加之和。每条肢体的打分规则如下：0 分，正常；1 分，单个关节肿胀；2 分，1 个以上关节肿胀；3 分，所有关节肿胀；4 分，皮肤爆裂或关节扭曲 (Li et al., 2022)。最后 1 次给药 4 h 后，利用 CO_2 窒息法处死小鼠，立即通过眼眶取血，制备血清，根据厂家说明书测定各组小鼠血清中的 MCP-1、IL-6 和 TNF- α 含量。取左后肢膝关节材料，修剪整齐，经固定、脱水、透明、包埋、切片、摊片、烤片后，进行常规的苏木精-伊红染色 (H&E)，于显微镜下观察小鼠的关节病理情况。

1.2.7 分子对接 首先，在 Pubchem 数据库里查找异红花八角醇的 2D 结构，利用 chem3D

软件对异红花八角醇的 2D 结构进行优化并转换成 3D 结构。其次，在 Uniport 网站搜索 TLR4、I κ B α 和 NF- κ B p65 等蛋白质，下载蛋白质 3D 结构文件。然后，利用 AutodockTools 软件对蛋白质加氢，得到相应的 pdbqt 文件和 grid 文件，将 Spacing 值设置为 1，以 Vina 命令执行分子对接，获得异红花八角醇-蛋白质结合能。最后，通过 Pymol 软件去除水分子和小分子配体，然后得到成分-靶点分子对接虚拟图。

1.2.8 统计分析 在 GraphPad Prism 5.0 软件中，数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，两组间差异用非配对 t 检验进行分析， $P<0.05$ 认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 入血成分鉴定

给药组大鼠血浆、空白对照大鼠血浆、厚朴酚和异红花八角醇对照溶液在相同条件下进行液相色谱-串联质谱分析，得到的总离子流色谱图如图 1 所示。结合对照品的液相色谱保留时间，空白对照血浆和给药血浆样品的谱图差异（图 2）和样品中的质谱碎片信息（图 3），鉴定出地枫皮二氯甲烷提取物进入血浆中的 2 个成分，即异红花八角醇和厚朴酚。鉴于异红花八角醇等倍半木脂素类化合物为八角属植物的特征性成分（Kouno et al., 2014），且本课题组前期发现异红花八角醇具有良好的抗炎活性（Pan et al., 2019），因此本研究着重对异红花八角醇进行了体内抗 RA 活性及分子对接评价。

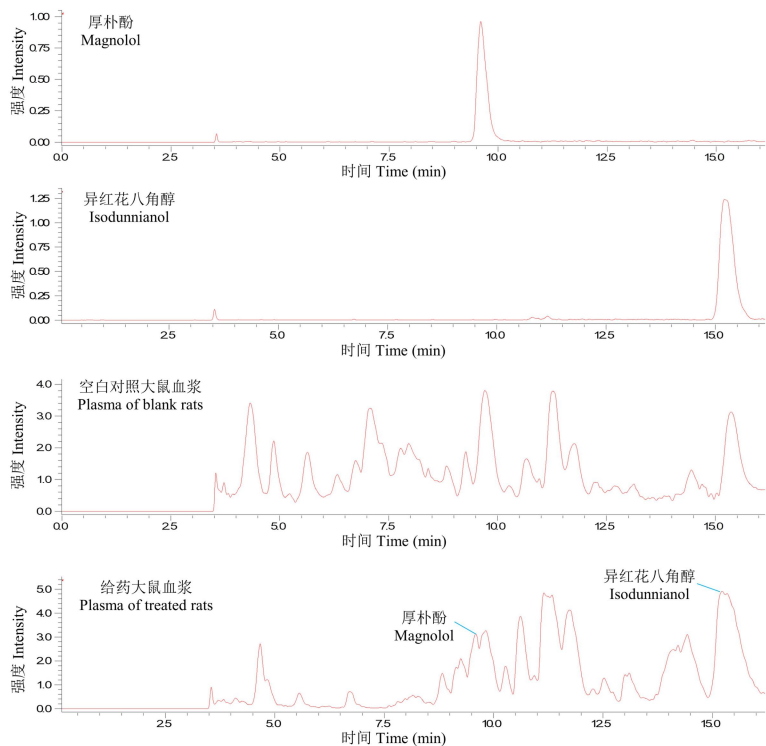


图 1 总离子流色谱图

Fig.1 Chromatograms of total ion flow

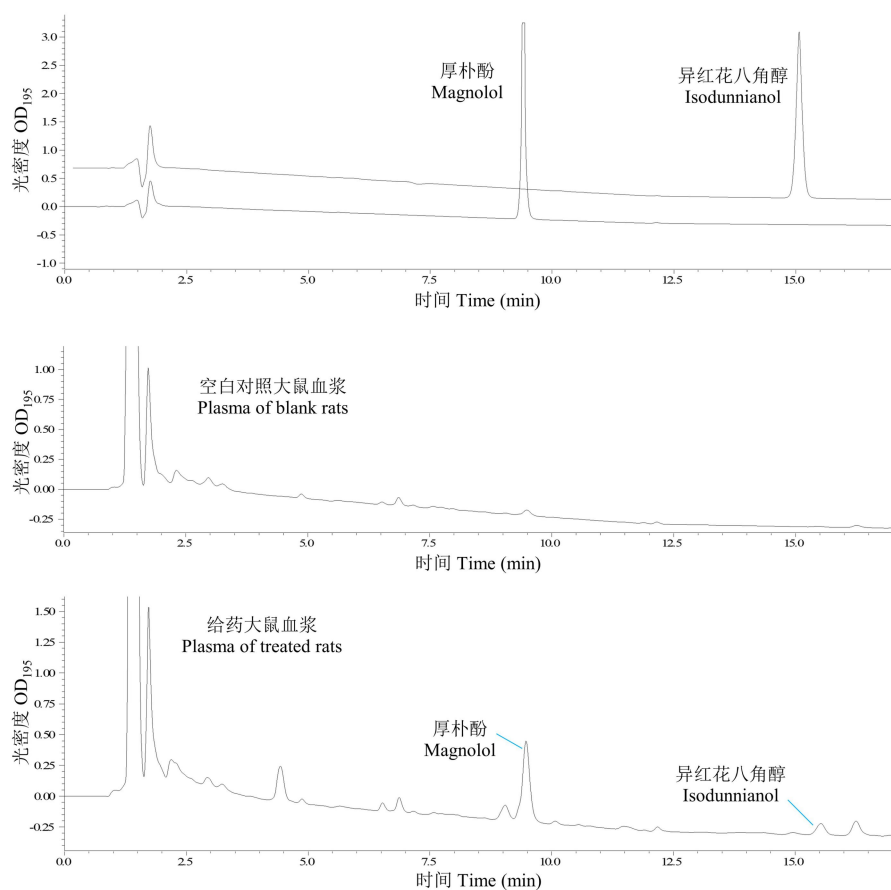
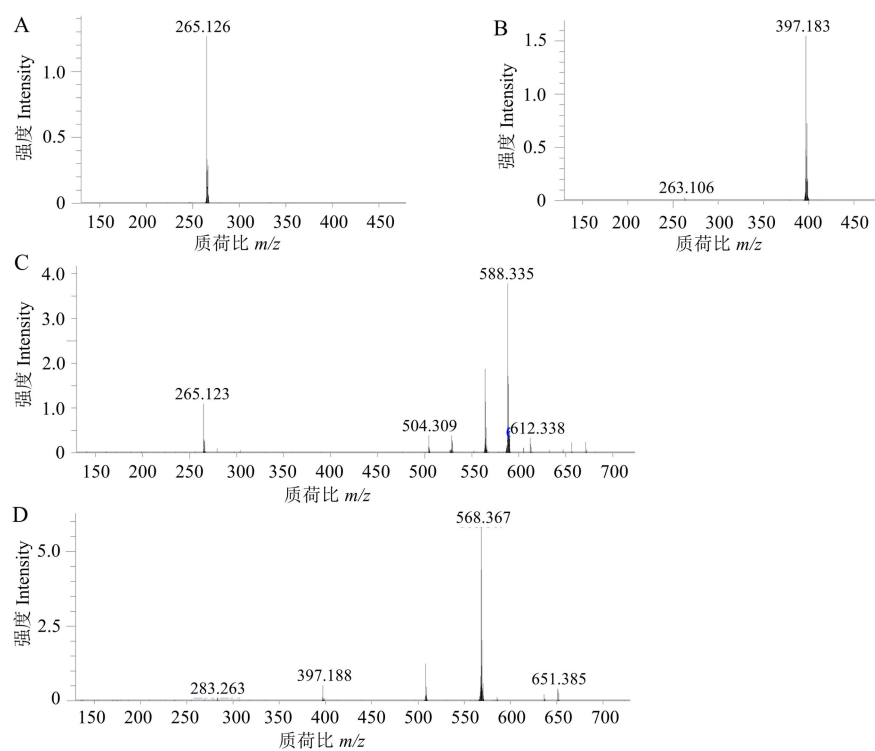


图 2 液相色谱图

Fig.2 Chromatograms of liquid chromatography



A. 厚朴酚质谱图；B. 异红花八角醇质谱图；C. 给药组大鼠血浆厚朴酚质谱图；D. 给药组大鼠血浆异红花八角醇质谱图。

A. Mass spectrogram of magnolol; B. Mass spectrogram of isodunnianol; C. Mass spectrogram of magnolol from plasma of treated rats; D. Mass spectrogram of isodunnianol from plasma of treated rats.

图 3 质谱图

Fig.3 Mass spectrograms

2.2 异红花八角醇缓解 CIA 小鼠病症

CIA 动物模型在临床症状、免疫病理反应、病理损伤等方面都与人类 RA 极为相似，是体内研究 RA 公认的动物模型。因此，本研究建立了 DBA/1 小鼠 CIA 模型，其典型症状包括四肢充血、发红、肿胀、关节变形等（图 4）。相比 CIA 模型小鼠，用 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的异红花八角醇处理 21 d，四肢充血发红、肿胀和关节变形程度减轻； $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的异红花八角醇，效果更加明显，表明异红花八角醇能够缓解 CIA 小鼠的关节炎症状。

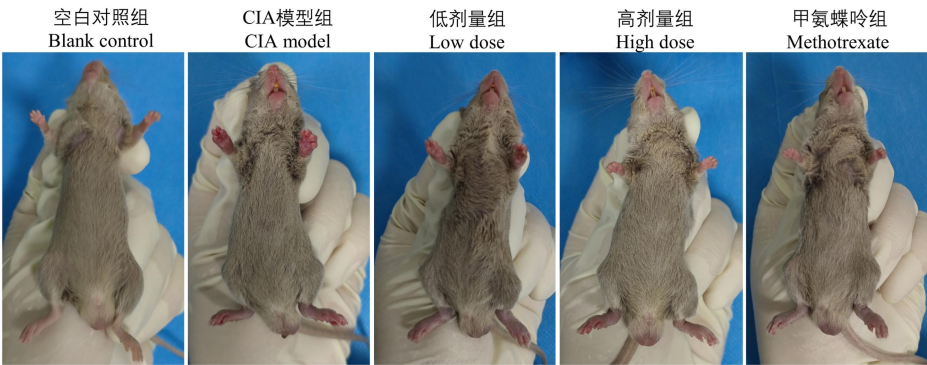


图 4 异红花八角醇缓解 CIA 小鼠病症（给药 21 d）

Fig. 4 Isodunnianol alleviates symptoms of CIA mice (on treated day 21)

2.3 异红花八角醇减小 CIA 小鼠关节炎指数

为定量评价异红花八角醇的抗 RA 活性，本研究测定了其对 CIA 小鼠关节炎指数的影响。如图 5 所示，从给药 3 d 开始，异红花八角醇低、高剂量组小鼠的关节炎指数打分都低于 CIA 模型组小鼠，且降低程度与异红花八角醇的给药剂量成正相关性。此外，随着给药天数的增加，CIA 模型组小鼠与异红花八角醇低、高剂量组小鼠间的关节炎指数差距越来越大，表明异红花八角醇能够剂量依赖性地延缓 RA 病理进程。

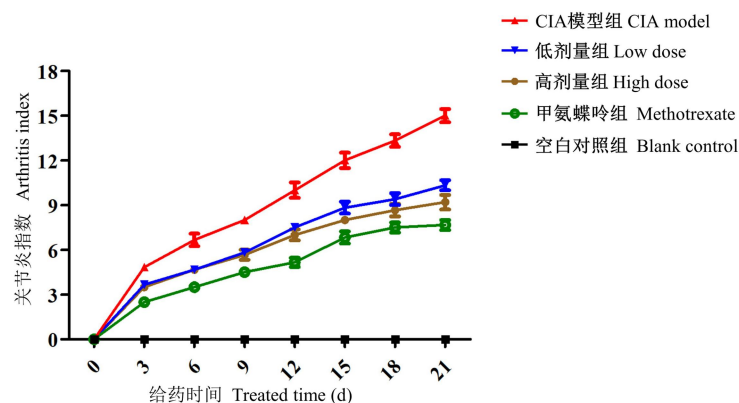


图 5 异红花八角醇减小 CIA 小鼠的关节炎指数打分

Fig. 5 Isodunnianol reduces the arthritis index scores of CIA mice

2.4 异红花八角醇保护 CIA 小鼠关节组织

为研究异红花八角醇对关节组织的保护作用，本研究对各组小鼠的膝关节组织进行了苏木精-伊红染色。如图 6 所示，空白对照组小鼠膝关节结构完整，关节腔清晰可见，关节面平滑、规则，无骨的侵蚀、损伤，软骨和滑膜包围正常。CIA 模型小鼠膝关节病变明显，关节面不平滑、不规则，滑膜组织异常增生导致关节腔被填充，软骨出现不同程度的纤维化而被破坏。异红花八角醇低、高剂量组小鼠，滑膜增生、关节腔填充程度都有所减轻，关节面相对更平滑、规则，表明异红花八角醇能够减轻膝关节的病变，对关节组织有保护作用。

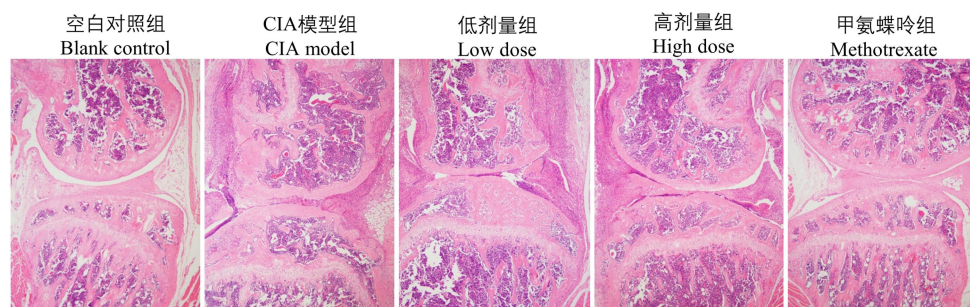
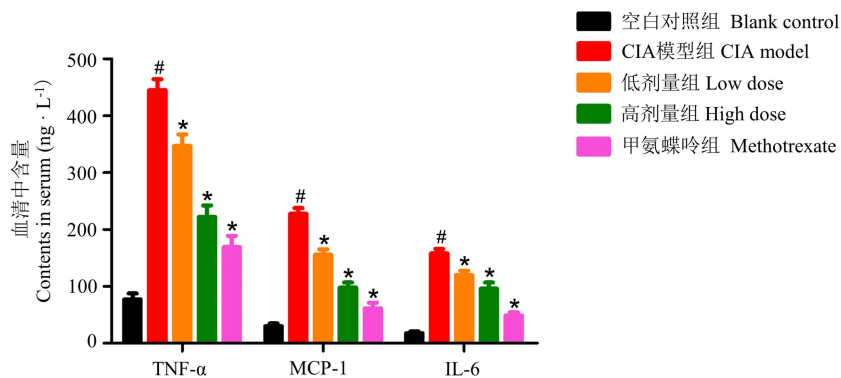


图 6 异红花八角醇保护 CIA 小鼠膝关节组织 (200 ×)

Fig. 6 Isodunnianol protects the knee joints of CIA mice (200 ×)

2.5 异红花八角醇降低血清炎症因子含量

为检测异红花八角醇的体内抗炎活性，本研究测定了其对 CIA 小鼠血清中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 含量的影响。如图 7 所示，CIA 模型组小鼠血清中的 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 等炎症因子的含量，显著高于空白对照组小鼠，表明其体内炎症反应异常活化。相比 CIA 模型组小鼠，异红花八角醇低、高剂量组小鼠血清中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 的含量显著降低，且有明显的剂量依赖关系，表明异红花八角醇有效地抑制了 CIA 小鼠中的炎症反应。



与空白对照组比较，# 表示 $P < 0.05$ ；与 CIA 模型组比较，* 表示 $P < 0.05$ 。

Compared to the blank control mice, # indicates $P < 0.05$; Compared to the CIA mice, * indicates $P < 0.05$.

图 7 异红花八角醇降低血清中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 含量

Fig. 7 Isodunnianol decreases the contents of TNF- α 、MCP-1 and IL-6 in serums of CIA mice

2.6 异红花八角醇与 TLR4/NF- κ B 通路相互作用

通过分子对接发现：异红花八角醇与 TLR4、I κ B α 和 p65 的结合能分别是-7.4、-7.9 和-6.9 kcal·mol⁻¹，表明异红花八角醇能与 TLR4、I κ B α 和 p65 稳定结合。其中，异红花八角醇与 TLR4 的 Tyr30、Lys31、Tyr33 和 Phe34 残基通过疏水相互作用形成稳定的构象；异红花八角醇与 I κ B α 的 Glu20、Ala23、Ala24、Phe25、Lys27、Val51 和 Val95 残基通过疏水相互作用，并与 Tyr48 通过疏水相互作用和氢键形成稳定的构象；异红花八角醇与 p65 的 Ile212、Leu214、Trp230、Val233、Thr243 和 Val245 残基通过疏水相互作用形成稳定的构象（图 8），表明异红花八角醇可能通过与 TLR4、I κ B α 和 p65 相互作用，调控 TLR4/NF- κ B 通路。

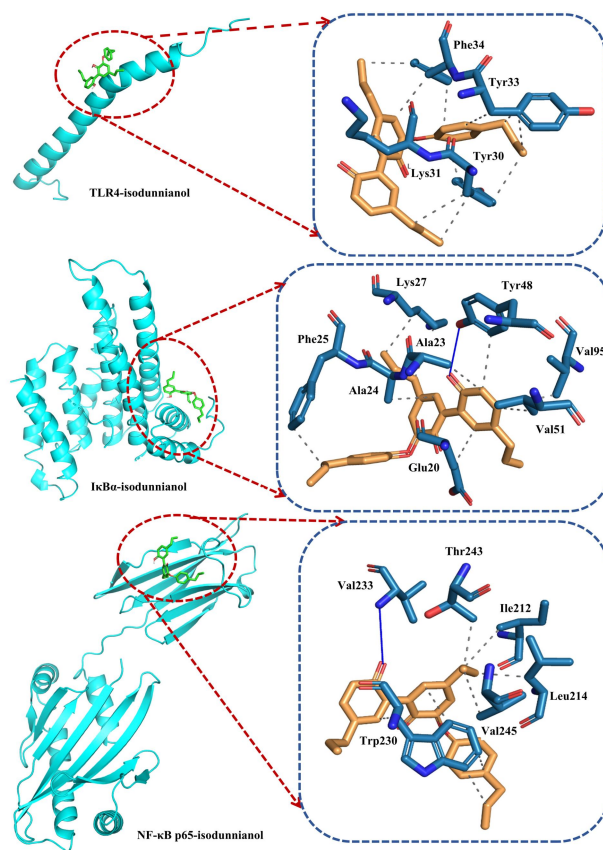


图 8 异红花八角醇与 TLR4、IκBα和 p65 相互作用

Fig. 8 Interaction between isodunnianol and TLR4, IκBα, p65

3 讨论与结论

RA 是一种渐进性的慢性自身免疫性疾病，其病理特征包括产生自身免疫抗体和持续的关节滑膜炎，伴有关节肿胀、僵硬和疼痛，会引起软骨和骨的损伤，导致关节功能减弱甚至丧失。目前，RA 还难以治愈，通常以减轻疼痛、阻止病理进程和防止关节损伤为治疗目标（Scott et al., 2010）。研究发现，TLR4/NF-κB 通路 with RA 的发生发展紧密相关，其调控的 MCP-1、IL-6 和 TNF-α等多种炎症因子在 RA 患者中表达升高（Andreakos et al., 2005）。MCP-1 能招募巨噬细胞至关节部位，分泌促炎症因子，引发炎症反应（Singh et al., 2021）。IL-6 和 TNF-α是重要的促炎症细胞因子，它们能促发炎症级联反应，诱导滑膜细胞增殖，促进基质金属蛋白酶的表达，诱导破骨细胞分化，引起软骨和骨的损伤（Mateen et al., 2016）。因此，通过调控 TLR4/NF-κB 通路，降低 MCP-1、IL-6 和 TNF-α等炎症因子的表达，抑制炎症反应是治疗 RA 的有效策略。

地枫皮为壮族同胞用于治疗 RA 的传统药物，也是追风舒经活血片、风寒双离拐片等治疗 RA 中成药组方药材，但其药效基础尚未阐明，不利于质量标准的控制，限制了进一

步开发利用。因此，阐明地枫皮的药效物质具有重要的科学意义和应用价值。

基于地枫皮化学组成复杂的生物特征，以及药物需要经过吸收、代谢等过程进入血液，随血液循环到达靶组织才能产生药效作用的特点，本研究 LC-MS/MS 的方法，初步鉴定出地枫皮中的异红花八角醇和厚朴酚能够进入血液，筛选出潜在的生物活性成分。本研究首次在体内评价了异红花八角醇的抗 RA 作用，药效实验表明：异红花八角醇能够缓解 CIA 小鼠的四肢充血、发红、肿胀等症状，减小关节炎指数打分，延缓 RA 病理进程，并改善膝关节的组织病理。此外，异红花八角醇显著降低血清中 MCP-1、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子含量，且与 TLR4、I κ B α 和 p65 相互作用，表明其可能通过调控 TLR4/NF- κ B 通路，进而抑制炎症反应而发挥抗 RA 功效，是地枫皮抗 RA 的活性成分之一。鉴于红花八角醇、地枫皮醇 A、地枫皮醇 B 与异红花八角醇结构相似、体外抗炎活性相当（Pan et al., 2019），这些倍半萜脂素可能也是地枫皮抗 RA 的活性组分。

Hu 等（2019）发现，厚朴酚显示出良好的体外抗炎活性和体内抗骨关节炎作用；Kim 等（2010）证实厚朴酚的类似物和厚朴酚具有抗 RA 作用。由此可以推测，厚朴酚具有的抗 RA 潜力，很可能是地枫皮抗 RA 的活性组分。

综上所述，本研究鉴定出了地枫皮药材中的入血成分异红花八角醇和厚朴酚，推测它们是地枫皮抗 RA 的活性组分，并在 CIA 小鼠模型中证实异红花八角醇具有抗 RA 活性，其抗 RA 作用可能通过影响 TLR4/NF- κ B 通路实现，从而为地枫皮的质量控制和开发利用提供了线索，为八角属植物抗 RA 活性成分发现和作用机制研究提供了借鉴。

参考文献：

- ANDREAKOS E, SACRE S, FOXWELL BM, et al., 2005. The toll-like receptor-nuclear factor κ B pathway in rheumatoid arthritis[J]. *Front Biosci*, 10(3): 2478–2488.
- Editorial Committee of Chinese Pharmacopoeia, 2020. Chinese Pharmacopoeia: Part 1[M]. Beijing: China Medical Science Press: 127–128.[国家药典委员会，2020. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：中国医药科技出版社：127–128.]
- Editorial Commission of China Flora of Chinese Academy of Sciences, 1996. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*: 30(1)[M]. Beijing: Science Press: 131.[中国科学院中国植物志编辑委员会，1996. 中国植物志：30（1）[M]. 北京：科学出版社：131.]
- FANG L, DU D, DING GZ, et al., 2010. Neolignans and glycosides from the stem bark of *Illicium difengpi*[J]. *J Nat Prod*, 73(5): 818–824.
- HU ZC, LUO ZC, JIANG BJ, et al., 2019. The protective effect of magnolol in osteoarthritis: in vitro and in vivo studies[J]. *Front Pharmacol*, 10: 393.
- KIM KR, PARK KK, CHUN KS, et al., 2010. Honokiol inhibits the progression of collagen-induced arthritis by reducing levels of pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases and blocking oxidative tissue damage[J]. *J Pharmacol Sci*, 114(1): 69–78.

- KOUNO I, IWAMOTO C, KAMEDA Y, et al., 1994. A new triphenyl-type neolignan and a biphenylneolignan from the bark of *Illicium simonsii*[J]. Chem Pharm Bull, 42: 112–114.
- LI CT, WU ZJ, CHEN WS, 2015. A new aromatic glucoside from stem bark of *Illicium difengpi* K.I.B. et K.I.M[J]. Nat Prod Res, 29(19): 1793–1797.
- LI CT, XI FM, MI JL, et al., 2013. Two new 3,4;9,10-seco-cycloartane type triterpenoids from *Illicium difengpi* and their anti-inflammatory activities[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013: 942541.
- MATEEN S, ZAFAR A, MOIN S, et al., 2016. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Clin Chim Acta, 455:161–171.
- MIYOSHI M, LIU S, 2018. Collagen-induced arthritis models[J]. Methods Mol Biol, 1868: 3–7.
- NING DS, FU YX, CHENG L, et al., 2016. Study on the anti-inflammatory active constituents of *Illicium difengpi*, a Zhuang-medicine [C]//The Symposium Documents of the 8th National Symposium on Ethnobotany and the 7th Asia-Pacific Forum on Ethnobotany. Hohhot: Botanical Society of China: 133–134.[宁德生, 符毓夏, 程玲, 等, 2016. 壮药地枫皮抗炎活性成分研究[C]//第八届中国民族植物学学术研讨会暨第七届亚太民族植物学论坛会议文集. 呼和浩特: 中国植物学会: 133–134.]
- NING DS, FU YX, CHENG L, et al., 2017. Research on chemical constituents of chloroform extract from *Illicii Cortex*[J]. J Chin Med Mat, 40(9): 2093–2097.[宁德生, 符毓夏, 程玲, 等, 2017. 地枫皮氯仿部位的化学成分研究[J]. 中药材, 40 (9) : 2093–2097.]
- PAN ZH, CHENG L, NING DS, et al., 2019. Difengpienols A and B, two new sesqui-neolignans with anti-inflammatory activity from the bark of *Illicium difengpi*[J]. Phytochem Lett, 30: 210–214.
- SCOTT DL, WOLFE F, HUIZINGA TW, 2010. Rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 376(9746): 1094–1108.
- SINGH S, ANSHITA D, RAVICHANDIRAN V, 2021. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease[J]. Int Immunopharmacol, 101(Pt B): 107598.
- YAN GJ, SUN H, ZHANG AH, et al., 2015. Progress of serum pharmacochimistry of traditional Chinese medicine and further development of its theory and method[J]. Chin J Chin Mat Med, 40(17): 3406–3412.[闫广利, 孙晖, 张爱华, 等. 中药血清药物化学研究概况及其理论和方法拓展[J]. 中国中药杂志, 40 (17) : 3406–3412.]
- ZHAO ZD, LI JC, FENG YH, et al., 2013. Separation and identification of glucosinolates in the Cruciferae crops by UPLC–MS/MS[J]. Chem Anal Meterage, 22(2): 12–15.[赵振东, 李嘉诚, 冯玉红, 等, 2013. 超高效液相色谱-串联质谱法鉴别十字花科植物中硫代葡萄糖苷[J]. 化学分析计量, 22 (2) : 12–15.]