

小叶三点金提取物的抗炎作用及其机制研究[△]

苏华珍^{1*}, 唐秀能¹, 魏江存¹, 马家宝^{2#}, 陈勇¹, 梁丽清¹, 江先再², 韩倩¹ (1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学第一附属医院药学部, 南宁 530023)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)18-2532-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.18.15

摘要 目的: 研究小叶三点金提取物的抗炎作用及其机制, 为该药用植物的进一步开发应用提供实验依据。方法: 采用二甲苯、冰醋酸、角叉菜胶建立小鼠急性炎症模型, 以地塞米松为阳性对照(0.005 g/kg), 考察灌胃不同剂量小叶三点金提取物(50、30、15 g/kg)对二甲苯致正常小鼠和肾上腺摘除小鼠耳肿胀、冰醋酸致正常小鼠腹腔毛细血管通透性增加、角叉菜胶致正常小鼠和肾上腺摘除小鼠足肿胀的抑制作用, 并对角叉菜胶致炎模型肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中的丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)水平进行检测; 另设空白组小鼠为对照(灌胃等体积水)。结果: 与空白组比较, 小叶三点金提取物高、中剂量组正常小鼠和肾上腺摘除小鼠耳肿胀度均显著降低, 而耳肿胀抑制率显著升高; 小叶三点金提取物各剂量组正常小鼠腹腔毛细血管通透性均显著降低; 小叶三点金提取物高、中剂量组正常小鼠和肾上腺摘除小鼠足肿胀度均显著降低, 而足肿胀抑制率显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中MDA、NO水平均显著降低, SOD水平均显著升高($P < 0.05$)。结论: 小叶三点金提取物对小鼠急性炎症有明显抑制作用; 其抗炎作用机制与降低MDA、NO水平并提高SOD水平有关, 且该抗炎作用的发挥不依赖于下丘脑-垂体-肾上腺轴系统。

关键词 小叶三点金; 提取物; 抗炎; 作用机制; 下丘脑-垂体-肾上腺轴系统; 小鼠

Study on Anti-inflammatory Effect and Its Mechanism of the Extract of *Dcsmodium microphyllum*

SU Huazhen¹, TANG Xiuneng¹, WEI Jiangcun¹, MA Jiabao², CHEN Yong¹, LIANG Liqing¹, JIANG Xianzai², HAN Qian¹ (1. College of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530200, China; 2. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530023, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-inflammatory effect and its mechanism of the extract of *Dcsmodium microphyllum*, so as to provide experiment reference for further study of *D. microphyllum*. METHODS: Acute inflammatory model was established by xylene, glacial acetic acid and carrageenan. Using dexamethasone as positive control (0.005 g/kg), inhibitory effects of intragastric different doses of the extract of *D. microphyllum* (50, 30, 15 g/kg) on xylene-induced ear swelling in normal mice and adrenalectomized mice, glacial acetic acid-induced permeability increasing of abdominal capillaries in normal mice, carrageenan-induced paw swelling in normal mice and adrenalectomized mice were investigated. The levels of MDA, SOD and NO in the inflammatory tissue of toes of adrenalectomized mice were detected in carrageenan-induced inflammation model. Blank group was set for control (ig. equal volumn of water). RESULTS: Compared with blank group, ear swelling degree of normal mice and adrenalectomized mice were decreased significantly in *D. microphyllum* extract high-dose and medium-dose groups while inhibitory rate of ear swelling was increased significantly; the permeability of abdominal capillaries of normal mice was significantly decreased in *D. microphyllum* extract groups; the swelling degree of toes in normal mice of *D. microphyllum* extract high-dose and middle-dose groups and adrenalectomized mice were significantly decreased while inhibitory rate of toe swelling was increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The levels of MDA and NO in the toe inflammatory site of adrenalectomized mice were decreased significantly in *D. microphyllum* extract high-dose and medium-dose groups, while the level of SOD was increased significantly ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: *D. microphyllum* extract can inhibit acute inflammation in mice significantly. Its anti-inflammatory mechanism is associated with decreasing MDA and NO while increasing SOD levels, and the anti-inflammatory effect does not depend on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis system.

KEYWORDS *Dcsmodium microphyllum*; Extract; Anti-inflammation; Mechanism; Hypothalamus-pituitary-adrenal axis system; Mice

[△] 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81660701); 广西自然科学基金资助项目(No.2016GXNSFAA380148); 国家中医药管理局中医药科研实验室(三级)-中(壮)药化学与质量分析实验室(No. 国中医药发[2009]21号-TCM-2009-299); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(No.2019KY0341)

* 主管药师。研究方向: 中药药效机制。E-mail: su20503@126.com

通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 中药质量分析及药效机制。E-mail: 18776728630@163.com

小叶三点金为豆科山蚂蝗属植物小叶三点金草 [*Dcsmodium microphyllum* (Thunb.) DC.], 别名“斑鸠窝”“爬地香”“哮灵草”“小叶山绿豆”“辫子草”“碎米柴”等, 以其根及全草入药^[1-2]。小叶三点金在民间常用于治疗尿路感染、糖尿病、泌尿系结石、慢性胃炎、慢性气管炎等病症, 具有清热解毒、健脾利湿、消炎止血、止咳平喘、

活血化瘀等功效,也被广泛用于治疗毒蛇咬伤、痈疮溃烂、漆疮、痔疮等^[1-5]。已有研究表明,蚂蝗属植物具有良好的抗炎、镇痛、抗氧化和保护血管等作用^[2]。关于小叶三点金中的主要成分黄酮类^[6-7]、酚酸类^[2]、生物碱类^[2]、萜类和甾醇类^[8]等有较多研究,然而关于其相关药理作用及机制的研究鲜有报道。仅有 Govindarajan R 等^[9]研究报告,小叶三点金具有良好的镇痛、抗炎、抗氧化、保护血管等作用。本课题组通过对小叶三点金的前期预实验发现,其具有较好的抗炎活性。考虑到该植物抗炎作用及机制的研究报道较少,因此本课题组在前期研究基础上,考察小叶三点金 70%乙醇提取物的抗炎活性并初步探讨其作用机制,为该药用植物的进一步开发应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

GL124-1SCN 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];UV-1780 型紫外-可见分光光度计[岛津仪器(苏州)有限公司];TGL-16GB 型离心机(上海安亭科学仪器厂);全波长型酶标仪[帝肯(上海)贸易有限公司];BXM-30R 型立式压力蒸汽灭菌器(上海迅博实业有限公司医疗设备厂);RE-1002 型旋转蒸发器(常州市国旺仪器制造有限公司)。

1.2 药品与试剂

醋酸地塞米松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:180119,规格:0.70 mg);头孢克肟分散片(浙江莎普爱思药业股份有限公司,批号:180162E,规格:50 mg);二甲苯、冰醋酸、伊文思蓝(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 F20180618、T20180912、20180725);角叉菜胶(上海源叶生物科技有限公司,批号:YY18704);水合氯醛(成都市科龙化工试剂厂,批号:2018020102);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(批号分别为 20180308、20180305、20180316)均购自南京建成生物工程研究所;其余试剂均为分析纯或由实验室自行配制;生理盐水为 0.9%氯化钠注射液,水为纯化水。

1.3 药材

小叶三点金药材采自广西南宁市上林县,经广西中医药大学药学院陈勇教授鉴定为豆科山蚂蝗属植物小叶三点金草 [*Desmodium microphyllum* (Thunb.) DC.] 全草。

1.4 动物

清洁级昆明种小鼠,雄性,体质量 18~22 g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK 桂 2014-0001。小鼠在实验前于清洁级动物房适应性喂养 3 d,环境温度为(25±1)℃、湿度约为 65%、人造光周

期为 12 h 明暗交替。小鼠自由摄食饮水,饲料为标准啮齿类动物饲料,饮水为纯化水。动物饲料、垫料均由广西医科大学实验动物中心提供。

2 方法

参考文献方法^[10-11]进行小叶三点金提取物的抗炎活性作用考察。

2.1 小叶三点金提取物的制备

取小叶三点金药材 5 kg,打成粗粉,以 70%乙醇在约 82℃条件下回流提取 3 次,每次溶剂倍量分别为 12、8、6 倍(L/kg),提取时间分别为 2、1.5、1 h;滤过,合并滤液,用旋转蒸发器在水浴条件下减压浓缩,然后于 55℃水浴中挥干溶剂,称定质量,得率为 12.85%。

2.2 二甲苯致小鼠耳肿胀实验

取小鼠 60 只,按体质量随机分为空白组、阳性对照组(地塞米松,0.005 g/kg;剂量根据人给药剂量换算并结合预实验结果制定)和小叶三点金提取物高、中、低剂量组(50、30、15 g/kg,以所含原生药量计算,下同;剂量根据急性毒性实验与预实验结果制定),每组 12 只。各给药组小鼠分别灌胃给药(分别将地塞米松片和小叶三点金提取物以水配制成相应药液),给药体积均为 20 mL/kg, qd,连续给药 7 d;空白组小鼠同法灌胃等体积水。末次给药 1 h 后,于小鼠右耳正反两面各涂抹二甲苯 10 μL 致炎(剂量根据预实验结果设定);15 min 后脱颈椎处死小鼠,沿耳根部剪下两耳,用 6 mm 打孔器在两耳相同部位打下等面积圆耳片,称定质量,计算耳肿胀度及肿胀抑制率。耳肿胀度(mg)=右耳片质量-左耳片质量;耳肿胀抑制率(%)=[(空白组平均耳肿胀度-实验组平均耳肿胀度)/空白组平均耳肿胀度]×100%。

2.3 冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加实验

取小鼠 60 只,按“2.2”项下方法分组、给药。末次给药 1 h 后,对各组小鼠尾静脉注射 0.3%伊文思蓝溶液 10 mL/kg、腹腔注射 0.6%冰醋酸溶液 10 mL/kg 致炎(剂量根据预实验结果设定);15 min 后脱颈椎处死小鼠,腹腔注射生理盐水 6 mL 冲洗腹腔,轻揉其腹部 1 min 后,剪开腹腔收集腹腔液;腹腔液以 3 000 r/min 离心 12 min,取上清液,采用紫外-可见分光光度计于 590 nm 波长处测定光密度(OD)。以 OD 值表示毛细血管通透性,OD 值越高则毛细血管通透性越大。

2.4 角叉菜胶致小鼠足肿胀实验

取小鼠 60 只,按“2.2”项下方法分组、给药。末次给药 1 h 后,在各组小鼠右后足趾部皮下注射 1%角叉菜胶溶液 0.02 mL 致炎(剂量根据文献[11]设定);15 min 后脱颈椎处死小鼠,剪取其右后足趾部,称定质量,计算小鼠足肿胀度及肿胀抑制率。足肿胀度(mg)=小鼠右后足趾质量-小鼠左后足趾质量;足肿胀抑制率

(%)=[(空白组平均足肿胀度-实验组平均足肿胀度)/空白组平均足肿胀度]×100%。

2.5 二甲苯致肾上腺摘除小鼠耳肿胀实验

取小鼠60只,于术前1天灌胃头孢克肟60 mg/kg(以水配制,下同)给药预防感染。以5%水合氯醛10 mL/kg腹腔注射麻醉小鼠,剃去背部毛,以70%乙醇消毒皮肤后,在其胸腰椎交界处,沿背部正中线、背肋后缘切一约0.5 cm长的切口,以小镊子扩大切口并轻轻推开腹腔脏器和组织,轻轻摘除左右两侧肾上腺腺体(肾上腺在脊柱下方肾脏前内侧可见,呈淡黄色,与周围不规则的脂肪组织有明显区别)。切口以棉球稍止血后缝合肌肉和皮肤,然后涂以碘伏消毒,术后第2天对小鼠灌胃头孢克肟60 mg/kg,术后3 d内以5%葡萄糖生理盐水溶液代替水饲养。术后第3天时,按“2.2”项下方法分组、给药,并进行二甲苯致耳肿胀实验,计算耳肿胀度及肿胀抑制率。

2.6 角叉菜胶致肾上腺摘除小鼠足肿胀实验

取小鼠60只,按“2.5”项下方法进行双侧肾上腺摘除手术。术后第3天时,按“2.4”项下方法分组、给药,并进行角叉菜胶致足肿胀实验,计算足肿胀抑制率。同时,取其右足足趾炎性部位,剪碎,以生理盐水4 mL浸泡,冰上匀浆后,以3 000 r/min离心10 min,取上清液于-20 ℃保存。参照相应试剂盒说明书操作,采用ELISA法以酶标仪测定组织中MDA、NO、SOD的水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,如果方差齐则采用LSD法进行组间比较,方差不齐则用Dunnett's T3法进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小叶三点金提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

与空白组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物高、中剂量组小鼠耳肿胀度均显著降低,耳肿胀抑制率均显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物低剂量组小鼠耳肿胀度显著增高,耳肿胀抑制率显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而小叶三点金提取物高、中剂量组小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率差异均无统计学意义($P > 0.05$),详见表1。

3.2 小叶三点金提取物对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加的影响

与空白组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物各剂量组小鼠腹腔毛细血管通透性均显著增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物各剂量组小鼠腹腔毛细血管通透性

差异无统计学意义($P > 0.05$),详见表2。

表1 各组小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 1 Ear swelling degree and swelling inhibition rate of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	耳肿胀度,mg	耳肿胀抑制率,%
空白组		2.35±1.06	0
阳性对照组	0.005	1.09±0.62**	53.62**
小叶三点金提取物高剂量组	50	1.26±1.08*	46.38*
小叶三点金提取物中剂量组	30	1.39±0.92*	40.85*
小叶三点金提取物低剂量组	15	1.89±1.12 ^Δ	19.57 ^Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性对照组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. positive control group, ^Δ $P < 0.05$

表2 各组小鼠腹腔毛细血管通透性($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 2 Abdominal capillary permeability of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	腹腔液OD值
空白组		0.303 2±0.108 5
阳性对照组	0.005	0.130 5±0.086 5**
小叶三点金提取物高剂量组	50	0.164 1±0.069 7*
小叶三点金提取物中剂量组	30	0.187 3±0.091 2*
小叶三点金提取物低剂量组	15	0.200 3±0.084 1 ^Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.3 小叶三点金提取物对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响

与空白组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物高、中剂量组小鼠足肿胀度均显著降低,足肿胀抑制率显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物低剂量组小鼠足肿胀度显著升高,足肿胀抑制率显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而小叶三点金高、中、低剂量组小鼠足肿胀度及肿胀抑制率差异均无统计学意义($P > 0.05$),详见表3。

表3 各组小鼠足肿胀度及肿胀抑制率($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 3 Toe swelling degree and swelling inhibition rate of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	足肿胀度,mg	足肿胀抑制率,%
空白组		46.21±8.19	0
阳性对照组	0.005	20.16±7.08**	56.37**
小叶三点金提取物高剂量组	50	22.21±4.12**	51.91**
小叶三点金提取物中剂量组	30	25.98±3.96*	43.78*
小叶三点金提取物低剂量组	15	39.85±6.17 ^Δ	13.76 ^Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性对照组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. positive control group, ^Δ $P < 0.05$

3.4 小叶三点金提取物对二甲苯致肾上腺摘除小鼠耳肿胀的影响

与空白组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物

高、中剂量组肾上腺摘除小鼠耳肿胀度均显著降低,耳肿胀抑制率显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物低剂量组肾上腺摘除小鼠耳肿胀度显著增高,耳肿胀抑制率显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),而小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表4。

表4 各组肾上腺摘除小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 4 Ear swelling degree and swelling inhibition rate of adrenalectomized mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	耳肿胀度,mg	耳肿胀抑制率,%
空白组		7.98±2.09	0
阳性对照组	0.005	3.42±0.63**	57.14**
小叶三点金提取物高剂量组	50	4.17±1.02**	47.74**
小叶三点金提取物中剂量组	30	5.35±1.18*	32.96*
小叶三点金提取物低剂量组	15	7.26±1.21 ^Δ	9.02 ^Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与阳性对照组比较,^Δ $P<0.05$

Note: vs. blank group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. positive control group, ^Δ $P<0.05$

3.5 小叶三点金提取物对角叉菜胶致肾上腺摘除小鼠足肿胀的影响

3.5.1 肿胀度 与空白组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠足肿胀度均显著降低,足肿胀抑制率显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物低剂量组肾上腺摘除小鼠足肿胀度显著增高,足肿胀抑制率显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),而小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠足肿胀度及肿胀抑制率差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表5。

表5 各组肾上腺摘除小鼠足肿胀度及肿胀抑制率($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 5 Toe swelling degree and swelling inhibition rate of adrenalectomized mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	足肿胀度,mg	足肿胀抑制率,%
空白组		25.31±4.59	0
阳性对照组	0.005	10.38±3.21**	58.97**
小叶三点金提取物高剂量组	50	13.95±3.07**	44.88**
小叶三点金提取物中剂量组	30	16.88±4.12*	33.31*
小叶三点金提取物低剂量组	15	21.18±2.79 ^Δ	16.33 ^Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与阳性对照组比较,^Δ $P<0.05$

Note: vs. blank group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. positive control group, ^Δ $P<0.05$

3.5.2 足趾炎性部位中MDA、SOD、NO水平 与空白

组比较,阳性对照组和小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中MDA、NO水平均显著降低,SOD水平均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与阳性对照组比较,小叶三点金提取物低剂量组肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中MDA、NO水平均显著降低,SOD水平显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),而小叶三点金提取物高、中剂量组肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中MDA、SOD、NO水平差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表6。

表6 各组肾上腺摘除小鼠足趾炎性部位中MDA、SOD、NO水平($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 6 The levels of MDA, SOD and NO in inflammatory site of toes in adrenalectomized mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	MDA,nmol/L	SOD,pg/mL	NO, μ mol/L
空白组		2.65±0.19	12.18±2.02	21.31±1.92
阳性对照组	0.005	1.82±0.16*	23.42±2.31*	13.62±1.02*
小叶三点金提取物高剂量组	50	2.04±0.20*	16.21±1.15*	14.15±0.59*
小叶三点金提取物中剂量组	30	2.19±0.12*	15.47±1.09*	16.05±1.19*
小叶三点金提取物低剂量组	15	2.41±0.25 ^Δ	14.06±0.86 ^Δ	19.72±1.46 ^Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与阳性对照组比较,^Δ $P<0.05$

Note: vs. blank group, * $P<0.05$; vs. positive control group, ^Δ $P<0.05$

4 讨论

中药以其种类繁多、成分复杂多样、药理作用广泛、毒副作用少等特点成为抗炎药物研究的首选对象。炎症通常会改变机体的正常生理指标,诱发多种急、慢性炎症疾病^[12],并使含血管系统的生物机体产生复制的防御反应^[13-14]。目前,临床治疗抗炎药物是仅次于抗感染药物的第二大类药物,除肾上腺皮质激素类与非甾体类抗炎药物以外,还涉及部分中药,应用较为广泛^[15]。许多清热解毒及抗凝血化瘀中药具有抗炎、改善血液循环功能,其在防治急慢性炎症、腹腔感染性疾病等方面具有明显疗效^[16-17]。实验研究证实,中药的抗炎作用机制具多途径作用的特点,主要包括影响下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPAA)系统功能、抑制花生四烯酸代谢、干扰炎症细胞、抗血栓生成、清除氧自由基等方面,与现代药理学炎症机制研究相对应,其研究和开发价值越来越受到学者的重视^[18-19]。

本研究采用二甲苯、醋酸、角叉菜胶等分别建立小鼠炎症模型,并考察了不同剂量的小叶三点金提取物的抗炎作用。结果显示,高、中剂量的小叶三点金提取物对二甲苯致正常小鼠和肾上腺摘除小鼠的耳肿胀均有明显的抑制作用;不同剂量小叶三点金提取物对冰醋酸致正常小鼠腹腔毛细血管通透性增加均具有明显的抑制作用;不同剂量小叶三点金提取物对角叉菜胶致正常小鼠足肿胀有明显抑制作用,高、中剂量小叶三点金提

取物对角叉菜胶致肾上腺摘除小鼠足肿胀有明显的抑制作用。

进一步对角叉菜胶致炎模型肾上腺摘除小鼠足趾炎症部位中MDA、SOD、NO水平进行考察后发现,高、中剂量小叶三点金提取物能显著降低小鼠炎症部位中MDA、NO水平,升高SOD水平。MDA是脂质氧化终产物,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有细胞毒性;SOD是生物体内重要的抗氧化酶,具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质^[20];NO是一种重要的炎症介质,能够诱导促炎症因子,如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β)等的产生^[21]。本研究表明,小叶三点金提取物可通过降低大鼠足趾炎症部位中MDA、NO水平和提高SOD水平来发挥抗炎作用。

在炎症过程中,体内的抗炎机制对于机体稳态的维持至关重要。HPAA系统是机体神经-内分泌-免疫调节网络中一条重要的体液免疫调节通路,该系统分泌的激素不仅来源于内分泌腺,亦可来自外周淋巴细胞,其与炎症免疫关系密切^[22]。为此,本研究在正常小鼠的基础上,还以肾上腺摘除小鼠为对象,考察了小叶三点金提取物的抗炎作用。结果显示,小叶三点金提取物对摘除或不摘除肾上腺的小鼠均具有明显的抗炎活性,提示其抗炎作用机制可能与HPAA系统功能无关。

综上所述,小叶三点金提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加、角叉菜胶致小鼠足肿胀等急性炎症均有明显抑制作用,显示出良好的抗炎活性;其抗炎作用机制与降低MDA、NO水平并提高SOD水平有关,且该抗炎作用的发挥不依赖HPAA系统。

参考文献

- [1] 吴征镒.新华本草纲要:第3册[M].上海:上海科学技术出版社,1991:130.
- [2] 吴瑶,傅本重,杨永进,等.药用山蚂蝗属植物的化学成分和药理活性研究进展[J].现代生物医学进展,2016,16(26):5191-5195.
- [3] 刘小辉,华燕.小叶三点金的苯丙素类成分分析[J].西南林学院学报,2009,29(2):92-93.
- [4] 熊艳,李恒,余晓东,等.小叶三点金不同萃取相对尖吻蝮蛇毒主要酶类的抑制作用[J].重庆师范大学学报(自然科学版),2018,35(6):105-111.
- [5] 邱泉.小叶三点金的化学成分研究及其在蛇伤救治中的应用进展[J].蛇志,2013,25(2):213-214.
- [6] 刘艳娥,刘迎梅,史俊友.小叶三点金黄酮含量及其抗氧化活性测定[J].山东化工,2015,44(24):59-60.
- [7] 刘小辉,王长虹,翁桂新,等.小叶三点金的黄酮类成分研究[J].天然产物研究与开发,2010,22(6):976-978,1008.
- [8] 毛绍春,李竹英,李聪.小叶三点金化学成分研究[J].中草药,2007,38(8):1157-1159.
- [9] GOVINDARAJAN R, VIJAYAKUMAR M, RAO CHV, et al. Antiinflammatory and antioxidant activities of *Desmodium gangeticum* fractions in carrageenan-induced inflamed rats[J]. *Phytother Res*, 2007, 21(10):975-979.
- [10] 唐云丽,刘君君,潘翠柳,等.颠桐根4个极性部位抗炎活性的比较[J].中成药,2019,41(3):663-668.
- [11] 包婷雯,左明丽,王敏,等.藏药麻花秦艽不同部位醇提物的抗炎作用研究[J].中国药房,2018,29(22):3114-3118.
- [12] 姚茹,张锐虎,王璐,等.莲心碱对佛波酯所致耳肿胀炎症模型小鼠的抗炎作用及机制研究[J].中国药房,2018,29(17):2364-2368.
- [13] 孙士平,张成玉,李和平,等. γ -氨基丁酸对LPS介导的机体炎症反应影响的研究进展[J].中国畜牧兽医,2018,45(8):2128-2134.
- [14] 闫安,谢云亮.当归多糖对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激水平及炎症因子表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(2):123-127.
- [15] 张鹏,杨彩霞,张泽辉,等.中药抗炎作用及机制研究概况[J].动物医学进展,2016,37(8):108-111.
- [16] 周悦芳,范培红.中药免疫调节作用研究进展[J].时珍国医国药,2017,28(1):204-207.
- [17] 刘强,牟洪波,刘元禄.中药车前子对小鼠气囊滑膜炎细胞因子TNF- α 及IL-12影响的实验研究[J].中华中医药学刊,2007(4):816-818.
- [18] 黄滨,雷小勇.中药抗炎作用发挥途径及作用机制研究进展[J].临床合理用药杂志,2015,8(33):177-179.
- [19] 曹志方.牛大力多糖和总黄酮抗炎作用及机制的研究[D].海口:海南大学,2016.
- [20] 刘洋.不同运动训练强度对小鼠血清MDA含量和SOD活性的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2016(12上):231-233.
- [21] 张芳,沈绍清,杨卫丽.二烯丙基三硫醚对脂多糖诱导小鼠肺炎的改善作用[J].现代药物与临床,2019,34(6):1610-1614.
- [22] 韩鹤,戴泽平.生物钟系统与下丘脑-垂体-肾上腺轴相互作用的研究进展[J].医学综述,2015,21(12):2123-2126.

(收稿日期:2019-03-30 修回日期:2019-08-08)

(编辑:段思怡)