

蒙药阿给水提物的抗炎作用及其机制研究[△]

薛焱^{1*}, 刘欣媛², 高洪波², 薛永志² (1. 内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 2. 包头医学院基础医学与法医学院, 内蒙古包头 014040)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)12-1425-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.12.04

摘要 目的: 研究蒙药阿给(即冷蒿地上部分)水提物对小鼠的抗炎作用, 并初步探讨其作用机制。方法: 取小鼠60只, 随机分为模型对照组(水)、阿司匹林组(阳性对照, 0.4 g/kg)和阿给水提物高、中、低剂量组(60.0、30.0、15.0 g/kg, 以生药量计), 每组12只。连续灌胃给药5 d后, 采用2, 4-二硝基氯苯诱导小鼠耳肿胀; 另取小鼠60只, 同法分组并给药后, 采用角叉菜胶诱导小鼠足肿胀; 计算小鼠耳肿胀度、肿胀抑制率以及足肿胀率, 评价阿给水提物的抗炎作用。取小鼠角叉菜胶致炎足跖组织, 分别采用酶联免疫吸附测定法检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β)和前列腺素 E_2 (PGE $_2$)的含量, 采用硫代巴比妥酸微量法测定丙二醛(MDA)含量, 采用硝酸还原酶法测定一氧化氮(NO)含量。结果: 与模型对照组比较, 阿司匹林组和阿给水提物高、中、低剂量组小鼠耳肿胀度均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 肿胀抑制率分别为72.3%、71.1%、52.6%、36.8%; 阿司匹林组和阿给水提物高、中剂量组小鼠在致炎后各时间点的足肿胀率以及阿给水提物低剂量组小鼠在致炎后0.5、4.0 h时的足肿胀率均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 阿司匹林组和阿给水提物高、中剂量组小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL- 1β 、PGE $_2$ 、NO和MDA含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 蒙药阿给水提物对2, 4-二硝基氯苯致耳肿胀、角叉菜胶致足肿胀模型小鼠均具有显著的抗炎作用, 其机制可能与抑制TNF- α 、IL- 1β 和PGE $_2$ 生成, 减少炎性组织中NO和MDA的过量释放有关。

关键词 蒙药阿给; 冷蒿; 水提物; 抗炎作用; 机制; 小鼠

Study on Anti-inflammatory Effects and Its Mechanism of Water Extract from Inner Mongolia Medicine Agi

XUE Yan¹, LIU Xinyuan², GAO Hongbo², XUE Yongzhi² (1. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. College of Preclinical and Forensic Medicine, Baotou Medical College, Inner Mongolia Baotou 014040, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-inflammatory effects of water extract from Inner Mongolia medicine Agi (i. e. the aerial part of *Artemisia frigida*), and to preliminarily explore its mechanism. METHODS: Totally 60 mice were randomly divided into model control group (water), aspirin group (positive control, 0.4 g/kg), Agi water extract high-dose, medium-dose and low-dose groups (60.0, 30.0, 15.0 g/kg, by crude medicine), with 12 mice in each group. After intragastric administration for consecutive 5 d, the ear swelling of mice was induced by 2, 4-dinitrochlorobenzene. Another 60 mice were grouped and administered by the same way, and the foot swelling of mice was induced by carrageenan. The ear swelling degree and inhibitory rate, paw swelling rate were calculated to evaluate the anti-inflammatory effect of Agi water extract. The contents of TNF- α , IL- 1β and PGE $_2$ in plantar inflammatory tissue induced by carrageenan in mice were determined by ELISA. The content of MDA was determined by thiobarbituric acid trace method and NO by nitrate reductase method. RESULTS: Compared with model control group, the degrees of ear swelling of mice were decreased significantly in aspirin group and Agi water extract high-dose, medium-dose, low-dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the inhibitory rates of ear swelling were 72.3%, 71.1%, 52.6%, 36.8%, respectively; the paw swelling rates of mice in aspirin group and Agi high-dose, medium-dose groups were decreased significantly, while those were decreased significantly in Agi water extract low-dose group 0.5 h and 4.0 h after inducing inflammation ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the contents of TNF- α , IL- 1β , PGE $_2$, NO and MDA in plantar inflammatory tissue of mice in aspirin group and Agi water extract high-dose, medium-dose groups were decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: Inner Mongolia medicine Agi water extract has obvious anti-inflammatory effects on ear swelling induced by 2, 4-dinitrochlorobenzene and paw swelling induced by carrageenan, and its mechanism may be related to the inhibition of TNF- α , IL- 1β and PGE $_2$ generation, the reduction of NO and MDA excessive release in inflammatory tissues.

[△]基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81641107); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(No.2015MS0857); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(No.NJZY210)

*教授, 博士。研究方向: 中蒙药植物资源与药理机制。电话: 0471-6653152。E-mail: Xyxy2172@163.com

KEYWORDS Mongolia medicine Agi; *Artemisia frigida*; Water extract; Anti-inflammatory effect; Mechanism; Mice

蒙药阿给(蒙文名)为菊科蒿属多年生植物冷蒿(*Artemisia frigida* Willd.)的地上部分,味苦、涩,性凉、燥,临床上用于各种出血、关节肿胀、肾热、月经不调、疮疥等的治疗^[1]。传统医学常以冷蒿全草入药,主要用于治疗黄疸型肝炎、胆囊炎、小便不利、皮肤瘙痒、湿疹、蛔虫病和蛲虫病等,可作为“茵陈”的代用品^[2]。此外,该植物还有食用价值,牧民常取其嫩枝,用热水烫后和玉米面,蒸煮后食用,是一种营养价值较高的食物^[3]。目前,对阿给的研究主要集中在药材质量标准^[4]、化学成分^[5-6]、含量测定^[7]、有效成分积累规律^[8]、炮制^[9]和药理药效^[10]等方面。已有文献记载,阿给有止血、消肿、消“奇哈”之功效^[1],但关于其抗炎作用及机制尚不清楚。本课题组前期通过预实验发现,阿给水提物表现出较好的抗炎活性。基于此,本研究采用2,4-二硝基氯苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶致大鼠足肿胀等急性炎症模型,考察阿给水提取物的抗炎作用并探讨其作用机制,旨在为该药材的开发和临床应用提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 仪器

NanoVue Plus型微量紫外-可见分光光度计(美国GE公司);Epoch型酶标仪(美国BioTek公司);GENIUS 6K-D型台式低速自动平衡离心机(长沙市鑫奥仪器仪表有限公司);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 药品与试剂

阿司匹林片(阳性对照,湖南新汇制药股份有限公司,批号:161009,规格:50 mg);2,4-二硝基氯苯(上海瀚思化工有限公司,批号:20161113);角叉菜胶(美国Sigma公司,批号:17H1148);肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒、一氧化氮(NO)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20150414、20150316);大鼠前列腺素E₂(PGE₂)ELISA检测试剂盒、白细胞介素1 β (IL-1 β)ELISA检测试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司,批号:2401142416、1151142416);丙二醛(MDA)检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:20170317);其余试剂均为分析纯或实验室自制,水为蒸馏水。

植物全株采自内蒙古乌兰察布市四子王旗(地理位置:41°52'39"N、111°07'25"E,海拔:1 370 m),经内蒙古医科大学药学院薛焱教授鉴定为菊科蒿属植物冷蒿(*A. frigida* Willd.)。取其地上部分(即阿给),于室外自然晒干后,在室温下贮藏,备用。

1.3 动物

健康昆明种小鼠,清洁级,雌雄各半,体质量为(18±2)g,由内蒙古大学实验动物研究中心提供,动物

生产许可证号:SCXK(蒙)2016-0001。

2 方法

2.1 阿给水提物药液制备

取阿给适量,粉碎成粗粉。称取该粗粉10.0 g,置于砂锅中,加水煎煮2次,每次加水100 mL,每次煎煮1.0 h;趁热抽滤,并用水清洗滤渣及容器2~3次;合并滤液,减压旋转蒸发浓缩至浸膏状(得率为9.98%),并在4℃下密封保存。临用时,取提取物浸膏,以水制成药液进行动物实验。

2.2 阿给水提物对2,4-二硝基氯苯致小鼠耳肿胀的影响考察

参考文献方法^[11],取小鼠60只,随机分为模型对照组、阿司匹林组(0.4 g/kg,以水制成药液;剂量参照文献方法^[11]设置)和阿给水提取物高、中、低剂量组[60.0、30.0、15.0 g/kg,以生药量计;剂量参照本课题组前期预实验结果设置],每组12只。各组小鼠按0.2 mL/10 g灌胃相应药物,模型对照组灌胃等容水,每天1次,连续5 d。于末次给药0.5 h后,于小鼠右耳内、外侧各均匀涂抹2%的2,4-二硝基氯苯乙醇溶液0.05 mL致炎,以左耳作为对照(涂抹生理盐水)。涂抹致炎药物1.0 h后,剪下小鼠左右耳廓,用8 mm打孔器在两耳相同部位处取下耳片并称定其质量,计算耳肿胀度和肿胀抑制率:耳肿胀度(mg)=致炎后右耳片质量-未致炎左耳片质量;肿胀抑制率(%)=[(模型对照组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/模型对照组平均肿胀度]×100%。

2.3 阿给水提物对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响考察

参照文献方法^[11],另取小鼠60只,按“2.2”项下方法分组并给药,每天1次,连续5 d。末次给药前测量并记录各鼠右后足跖容积。末次给药30 min后,在各鼠右后足跖皮下注射0.1%角叉菜胶溶液(以生理盐水为溶剂,临用新配)0.1 mL致炎。在末次给药前和注射角叉菜胶致炎后0.5、1.0、2.0、4.0 h时分别测量并记录小鼠右后足跖容积,并计算致炎后各时间点小鼠的足肿胀率:足肿胀率(%)=(致炎后右后足跖容积-致炎前右后足跖容积)/致炎前右后足跖容积×100%。

2.4 阿给水提物对角叉菜胶致炎小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂含量的影响考察

在“2.3”项下对小鼠注射角叉菜胶致炎后4.0 h时(测定右后足跖容积后),脱颈处死各组小鼠。自其踝关节下剪下右后足跖,剥皮剪碎后放入装有冰生理盐水的试管中,匀浆处理,以3 000 r/min离心15 min,取上清液,于-70℃冰箱保存,备测。取上述上清液,室温解冻后,采用ELISA法以酶标仪测定TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂含量,均严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.5 阿给水提物对角叉菜胶致炎小鼠足跖炎性组织中MDA、NO含量的影响考察

取“2.4”项下小鼠足跖炎性组织标本上清液,室温解冻后,采用硫代巴比妥酸微量法测定MDA含量,采用硝酸还原酶法测定NO含量,均严格按照相应试剂盒说明书操作并以酶标仪测定。

2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 阿给水提物对2,4-二硝基氯苯所致小鼠耳肿胀的影响

与模型对照组比较,阿司匹林组小鼠和阿给水提物高、中、低剂量物组小鼠耳廓肿胀度均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),耳肿胀抑制率分别为72.3%、71.1%、52.6%、36.8%。其中,阿司匹林组和阿给水提物高剂量组小鼠右耳皮肤均无红肿充血现象;阿给水提物对2,4-二硝基氯苯致小鼠耳肿胀的抑制作用有随剂量增加而增强的趋势。各组小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率的测定结果见表1。

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

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

组别	剂量, g/kg	耳肿胀度, mg	肿胀抑制率, %
模型对照组		7.6 ± 0.4	
阿司匹林组	0.4	2.1 ± 0.2**	72.3
阿给水提取物高剂量组	60.0	2.2 ± 0.3**	71.1
阿给水提取物中剂量组	30.0	3.6 ± 0.4**	52.6
阿给水提取物低剂量组	15.0	4.8 ± 0.7*	36.8

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

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

3.2 阿给水提物对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响

与模型对照组比较,阿司匹林组和阿给水提物高、中剂量组小鼠在角叉菜胶致炎后各时间点的足肿胀率以及阿给水提物低剂量组小鼠在致炎后0.5、4.0 h时的足肿胀率均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中,阿司匹林组和阿给水提物高剂量组小鼠足肿胀率较为接近;阿给水提物对角叉菜胶致小鼠足肿胀的抑制作用有随剂量增加而增强的趋势。各组小鼠足肿胀率的测定结果见表2。

3.3 阿给水提物对角叉菜胶致炎小鼠足跖组织中TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂含量的影响

与模型对照组比较,阿司匹林组和阿给水提物高、中剂量组小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂的

表2 各组小鼠足肿胀率的测定结果($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Tab 2 Determination results of paw swelling rate of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量, g/kg	足肿胀率, %			
		致炎后0.5 h	致炎后1.0 h	致炎后2.0 h	致炎后4.0 h
模型对照组		26.3 ± 2.6	32.6 ± 3.0	40.3 ± 4.4	43.6 ± 4.3
阿司匹林组	0.4	11.7 ± 1.8**	15.8 ± 3.1**	17.9 ± 2.8**	18.6 ± 4.0**
阿给水提取物高剂量组	60.0	12.1 ± 2.2**	16.1 ± 2.5**	18.2 ± 2.0**	19.9 ± 3.9**
阿给水提取物中剂量组	30.0	17.7 ± 3.0*	23.4 ± 3.4**	26.1 ± 2.0**	27.1 ± 4.1**
阿给水提取物低剂量组	15.0	19.3 ± 2.2*	27.9 ± 3.2	36.9 ± 2.2	28.3 ± 2.3**

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

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

含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);阿给水提物低剂量组小鼠足跖炎性组织中上述指标含量虽较模型对照组有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂的含量测定结果见表3。

表3 各组小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂的含量测定结果($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Tab 3 Determination results of contents of TNF- α , IL-1 β and PGE₂ in plantar inflammatory tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量, g/kg	TNF- α , pg/mg	IL-1 β , pg/mg	PGE ₂ , ng/g
模型对照组		192.2 ± 29.0	282.9 ± 27.9	101.8 ± 18.7
阿司匹林组	0.4	90.8 ± 32.9**	215.1 ± 30.7**	53.4 ± 9.6**
阿给水提取物高剂量组	60.0	99.5 ± 21.2**	227.0 ± 38.1**	78.1 ± 14.2*
阿给水提取物中剂量组	30.0	120.0 ± 26.4*	235.8 ± 33.4*	85.0 ± 12.4*
阿给水提取物低剂量组	15.0	168.8 ± 42.9	269.2 ± 45.1	98.1 ± 15.2

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

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

3.4 阿给水提物对角叉菜胶致炎小鼠足跖组织中MDA和NO含量的影响

与模型对照组比较,阿司匹林组和阿给水提物高、中剂量组小鼠足跖炎性组织中NO和MDA含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);阿给水提物低剂量组小鼠足跖炎性组织中上述指标含量虽较模型对照组有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠足跖炎性组织中NO、MDA的含量测定结果见表4。

4 讨论

抗炎药物是用于抑制组织损伤后所产生的炎症反应的药物,临床上抗炎药物是仅次于抗感染药物的第二大类药物,应用广泛,常用的有甾体抗炎药和非甾体抗炎药(即解热镇痛药)两类,但长期应用会对机体产生较大的毒副作用^[12]。蒙药因其资源丰富、副作用少的优点逐渐受到学者重视,其在抗炎方面的研究已经取得了较大的进展,如狼毒、草乌和蓝盆花等多种蒙药及其提取物均有较好的抗炎活性,广泛用于各种炎症疾病的治疗^[13]。蒙药阿给具有消肿、消“奇哈”之功效^[1],其原植物

表4 各组小鼠足跖炎性组织中NO和MDA的含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 4 Determination results of content of NO and MDA in plantar inflammatory tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	NO, $\mu\text{mol}/\text{mg}$	MDA, nmol/mg
模型对照组		6.4±1.8	12.2±0.8
阿司匹林组	0.4	3.8±1.3**	6.2±1.3**
阿给水提取物高剂量组	60.0	4.0±1.1**	6.7±1.2*
阿给水提取物中剂量组	30.0	4.8±2.4*	7.4±1.3*
阿给水提取物低剂量组	15.0	6.0±2.0	10.3±0.9

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

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

冷蒿在内蒙古广泛分布,占我国冷蒿资源的87.30%^[3],药用资源储备丰富;而且其分布区多与蒙古族世代聚集区相互重叠,在民间积累了很多成功的临床用药经验^[4]。为充分发挥蒙医药学的优势,本研究对阿给的抗炎作用及其机制进行了探索。

已有文献均未记载阿给的临床使用剂量,因此本研究按照前期预实验结果,以该药材水提取物对小鼠的半数致死量(LD₅₀)的1/10作为高剂量组,中、低剂量组则依次按50%递减;同时,以经典的解热镇痛抗炎药物阿司匹林为阳性对照,采用小鼠耳肿胀、足肿胀炎症模型考察阿给水提取物的抗炎作用。结果显示,各剂量阿给水提取物均可不同程度地降低小鼠的耳肿胀度和足肿胀率,表明其具有良好的抗炎作用。

中蒙药的抗炎机制较为复杂,主要作用途径包括影响下丘脑-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、清除氧自由基和抗血栓生成等^[15-17],与现代药理学炎症机制研究结果相一致,故其临床抗炎活性的开发价值越来越受到学者的关注。TNF- α 可介导炎症反应,也可诱导IL-1 β 、IL-6等炎症因子的产生,从而使局部炎症反应加重^[18];IL-1 β 含量在炎症急性期炎症部位明显升高,可引起细胞或组织损伤,并能引起其余细胞因子表达,进一步加重损伤^[19];PGE₂是一种炎症介质,可引起血管扩张、通透性升高及白细胞渗出等炎症反应,抑制PGE₂的合成可以减轻炎症反应^[20]。本研究结果显示,高、中剂量阿给水提取物可显著降低小鼠足跖炎性组织中TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂的含量,提示其抗炎作用机制可能与抑制促炎因子TNF- α 、IL-1 β 的产生,下调炎症介质PGE₂的表达有关。

NO有双重作用,正常情况下内皮源性NO可抑制炎症反应的发生,但在炎症过程中会诱导一氧化氮合酶合成大量的NO,从而产生细胞毒作用,并加重炎症反应;同时,NO能促进TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂等炎症因子/介质的合成和释放^[21-22]。氧自由基通过参与脂质过氧化反应,产生的脂质过氧化物可被分解生成MDA,MDA可

氧化细胞质膜,其含量可反映组织细胞结构的受损程度^[23]。本研究结果显示,高、中剂量阿给水提取物能够显著降低小鼠足跖炎性组织中NO和MDA的含量,提示抑制NO和炎症过程中脂质过氧化产物的生成可能是阿给水提取物抗炎作用的机制之一。

综上所述,蒙药阿给水提取物对2,4-二硝基氯苯致耳肿胀、角叉菜胶致足肿胀模型小鼠均具有显著的抗炎作用,其机制可能与抑制TNF- α 、IL-1 β 和PGE₂生成,减少炎症组织中NO和MDA的过量释放有关。后续研究拟更深入地探讨阿给的抗炎作用机制以及其药效物质基础,为开发蒙药新药、指导临床用药提供更多理论与实验基础。

参考文献

- [1] 布日额,阿拉腾图亚,包金泉,等.蒙药材阿给的生药学研究[J].中国民族医学杂志,1998,4(增刊):53.
- [2] 全国中草药汇编编写组.全国中草药汇编:上册[M].北京:人民卫生出版社,1978:607-608.
- [3] 刘越,王真,张宝辉,等.内蒙古地区蒙药冷蒿的植物资源调查[J].安徽农业科学,2010,38(8):4077-4079.
- [4] 内蒙古自治区食品药品监督管理局.内蒙古蒙药材质量标准:增补本[S].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2015:13-14.
- [5] 刘丹,师宁宁,吴叶红,等.冷蒿的化学成分研究[J].中草药,2017,12(24):5090-5098.
- [6] DYLENKOVA EP, ZHIGZHITZHAPOVA SV, RANDALOVA TE, et al. Composition of lipid fraction from the aerial part of *Artemisia frigida*[J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(2):339-341.
- [7] WANG QH, AO WLJ, TAI WQ. Simultaneous determination of seven flavonoids in aerial parts of *Artemisia frigida* by HPLC[J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(3):252-258.
- [8] 薛焱,王同智,薛永志,等.蒙药材阿给有效成分积累规律的研究[J].中华中医药杂志,2015,30(4):1319-1322.
- [9] 珠娜,萨茹拉,那生桑.蒙药小白蒿的炮制工艺及炮制品的药理研究[J].中国现代中药,2015,17(11):1164-1166.
- [10] 刘伟志,张纯芳,裴玲燕,等.蒙古族药阿给炭对胃溃疡大鼠溃疡组织VEGF, bFGF及其受体mRNA表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(1):108-112.
- [11] 薛焱,刘欣媛,高洪波,等.长叶红砂治疗湿疹皮炎的机理研究[J].中药药理与临床,2017,33(3):120-123.
- [12] 田文武,王心怡,刘丹,等.非甾体抗炎药致胃肠损伤机制的研究进展[J].生命的化学,2018,38(2):250-254.
- [13] 辛颖.具有抗炎作用的蒙药及其有效成分的研究综述[J].中国现代应用药学,2015,32(6):768-776.
- [14] 席溢,阿里木斯,李艳双,等.冷蒿(*Artemisia frigida* Willd.)在中国传统医药研究中的应用[C]//中国生态学会.第三届中国青年生态学工作者学术研讨会论文集,焦作,

积雪草总苷对老年消化不良模型大鼠胃肠动力及肠神经系统的保护作用量效关系及机制研究^Δ

田徐露^{1*}, 蓝程², 岑运光¹, 王太昊¹, 崔晓燕¹(1.海南省人民医院医疗保健中心,海口 570311;2.海南省人民医院消化科,海口 570311)

中图分类号 R965;R975 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)12-1429-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.12.05

摘要 目的:探究积雪草总苷对老年消化不良(FD)模型大鼠胃肠动力及肠神经系统(ENS)保护作用的量效关系及机制。方法:将16月龄老年雄性SD大鼠随机分为空白对照组、模型组和积雪草总苷低、中、高剂量组(15、30、60 mg/kg),每组8只。采用夹尾刺激联合不规则饮食法持续4周以建立老年大鼠FD模型。造模完成后隔日,给药组大鼠灌胃相应剂量积雪草总苷药液,对照组和模型组大鼠灌胃等容生理盐水,每日1次,连续15 d。采用酶联免疫吸附测定法检测大鼠血清中胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)的含量;测定大鼠胃排空率和小肠推进比;采用免疫荧光法和免疫组织化学法检测大鼠胃窦组织中ENS标志物[中枢神经特异性蛋白(S100 β)和胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)]的表达情况;采用Western blotting法检测胃窦组织中S100 β 、胶质细胞原纤维酸性蛋白(GFAP)、蛋白基因产物9.5(PGP9.5)、GDNF、磷酸化丝裂原活化蛋白激酶激酶(p-MEK)以及磷酸化细胞外信号调节激酶1/2(p-ERK1/2)蛋白的表达水平。结果:与空白对照组比较,模型组和积雪草总苷低、中剂量组大鼠胃排空率和小肠推进比以及血清中MTL含量和胃窦组织中PGP9.5蛋白表达水平显著降低,血清中VIP含量和胃窦组织中S100 β 、GFAP、GDNF、p-MEK、p-ERK1/2蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,积雪草总苷各剂量组大鼠胃排空率和小肠推进比均显著升高($P<0.05$);除积雪草总苷低剂量组GFAP蛋白表达水平变化不显著($P>0.05$)外,各剂量组大鼠血清中MTL含量和胃窦组织中PGP9.5蛋白表达水平均显著升高,血清中VIP含量和胃窦组织中S100 β 、GFAP、GDNF、p-MEK、p-ERK1/2蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。上述胃肠动力指标含量和相关因子蛋白表达水平有部分或大多数在积雪草总苷不同剂量组之间有显著差异($P<0.05$),且高剂量组各指标可恢复至与空白对照组无显著差异的水平($P>0.05$)。结论:积雪草总苷能剂量依赖性地改善老年FD模型大鼠的胃肠动力不足、ENS功能异常,且以高剂量组(60 mg/kg)的作用效果最明显;其机制可能与促进内源性MTL释放并抑制VIP分泌、抑制GDNF及下游信号通路激活并促进ENS和肠神经元修复有关。

关键词 积雪草总苷;消化不良;胃肠动力;肠神经系统;胶质细胞源性神经营养因子;机制;量效关系;老年大鼠

Study on Dose-effect Relationship and Mechanism of Protective Effects of Total Asiaticoside on Gastrointestinal Motility and Enteric Nervous System in Aged Functional Dyspepsia Model Rats

TIAN Xulu¹, LAN Cheng², CEN Yunguang¹, WANG Taihao¹, CUI Xiaoyan¹(1. Health Care Center, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China; 2. Dept. of Gastroenterology, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China)

- 2011;284-287.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 王星华,谭琰,丁海敏,等. TNF α 和IL-1 β 靶点抗炎药物筛选细胞模型的构建[J].现代生物医学进展,2015,15(6):1005-1009.
- [19] 羊菲,金若敏,范斌,等.复方透骨草溶液抑菌和抗炎作用的实验研究[J].上海中医药杂志,2017,51(5):82-85.
- [20] 马莹慧,冯波,朱鹤云,等.北五味子中总木脂素类成分的抗氧化及抗炎活性研究[J].食品研究与开发,2019,40(11):25-30.
- [21] CHOI Y, LEE MK, LIM SY, et al. Inhibition of inducible NO synthase, cyclooxygenase-2 and interleukin-1beta by torilin is mediated by mitogen-activated protein kinases in microglial BV2 cells[J]. *Brit J Pharmacol*, 2010, 156(6): 933-940.
- [22] 郭佳佳,刘海,朱燕红,等.蒙药苾芭提取物的抗炎、镇痛作用研究[J].中国药房,2017,28(1):64-67.
- [23] 柳越冬,陶弘武.加味通腑汤对溃疡性结肠炎大鼠超氧化物歧化酶和丙二醛影响的研究[J].中华中医药学刊,2017,35(4):775-778.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81860102)

* 主治医师,硕士。研究方向:老年消化系统疾病。电话:0898-68622922。E-mail:tx118289762123@163.com

(收稿日期:2019-11-05 修回日期:2020-04-01)

(编辑:段思怡)