

二氢槲皮素与二氢杨梅素抗炎活性对比研究

王佳奇,陈 凯,王月亮,李 莹,刘一桐,高铭彤,

李靖毓,丁传波,宋明铭,刘文丛*

(吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

[收稿日期] 2016-05-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 07-0046-07 [中图分类号] S859.796

[摘 要] 构建巨噬细胞验证模型,比较研究二氢槲皮素(Dihydroquercetin, taxifolin, TF)和二氢杨梅素(Dihydromyricetin, DMY)体外抗炎活性。以1 mg/L的脂多糖(LPS)诱导RAW264.7巨噬细胞建立了体外炎症模型;通过细胞毒性试验(MTT)法检测细胞存活率;Griess试剂法测定细胞上清液中NO(一氧化氮)释放量;ELISA法检测上清液中细胞因子IL-1 β (白细胞介素-1 β)、IL-6(白细胞介素-6)、TNF- α (肿瘤坏死因子 α)和PGE₂(前列腺素E₂)的含量变化;通过RT-PCR法检测IL-1 β 、IL-6、TNF- α 基因表达情况。MTT试验结果表明,二氢槲皮素和二氢杨梅素各剂量组没有表现出对巨噬细胞RAW264.7的细胞毒性。同时,二氢槲皮素高中低剂量组和二氢杨梅素高中低剂量组均能显著抑制脂多糖诱导细胞对NO、PGE₂的释放($P<0.01$),且均表现出剂量依赖性;二氢槲皮素高中低剂量组和二氢杨梅素高中低剂量组均能有效降低IL-1 β 、IL-6、TNF- α 基因的表达,同时能够降低脂多糖诱导细胞产生细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量。二氢槲皮素和二氢杨梅素均具有良好的体外抗炎作用,且二氢槲皮素的抗炎作用较好。

[关键词] 二氢槲皮素;二氢杨梅素;RAW264.7细胞;炎症

Comparison of Anti-inflammatory Activity of Dihydroquercetin and Dihydromyricetin

WANG Jia-qi, CHEN Kai, WANG Yue-liang, LI Ying, LIU Yi-tong, GAO Ming-tong,

LI Jing-yu, DING Chuan-bo, SONG Ming-ming, LIU Wen-cong*

(College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Construction of macrophages to validate the model, comparative study dihydroquercetin(also known as taxifolin, TF) and dihydromyricetin(DMY) *in vitro* anti-inflammatory activity was made. To 1 mg/L lip polysaccharide(LPS)-induced RAW264.7 macrophages *in vitro* model of inflammation was established; Cell viability was detected by the cytotoxicity test(MTT) method; Griess reagent method was used to determine the amount of NO released from cell supernatant; The content of cytokine IL-1 β , IL-6, TNF- α and PGE₂ in supernatant was detected by ELISA assay; Gene expression were detected with the methods of RT-PCR. TF and

基金项目:科技型中小企业创新创业基金项目(20160308002YY)

作者简介:王佳奇,硕士研究生,从事中药新药研究与开发。

通讯作者:刘文丛。E-mail:jw1w6803@126.com

DMY 2.5 ~ 20 $\mu\text{g/mL}$ showed no cytotoxicity on macrophages of RAW264.7. Meanwhile, TF high, medium and low dose group and DMY high, medium and low dose group significantly inhibited LPS - induced cells to release of NO and PGE2 ($P < 0.01$), and showed a dose - dependent manner; TF high, medium and low dose group and DMY high, medium and low dose group could effectively reduce IL - 1 β , IL - 6, TNF - α gene expression, while reducing LPS - induced cells to produce cytokines levels. Dihydroquercetin and DMY have good anti - inflammatory effects *in vitro* and anti - inflammatory effect of TF was better.

Key words: dihydroquercetin; dihydromyricetin; RAW264.7 cells; inflammation

二氢槲皮素和二氢杨梅素是两种典型的类黄酮化合物,它们有相似的母体结构,其差别仅为 B 环 5' 位上是否存在酚羟基。它们的结构如图 1 所示。目前,体外抗炎作用一般多以脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 为模型,然后通过测定用药前后炎症因子含量的变化以及相关基因的表达量研究药物的抗炎活性。有研究表明^[1-3],二氢

槲皮素(taxifolin, TF)和二氢杨梅素(Dihydromyricetin, DMY)均具有抗炎活性,对一些炎症模型均体现出良好的抗炎效果。但目前就市场价格,二氢槲皮素非常昂贵,是二氢杨梅素的 10 倍,本实验以二氢槲皮素和二氢杨梅素作为研究对象,将两种类黄酮化合物的抗炎活性进行对比研究,旨在为抗炎药物的开发利用提供依据。

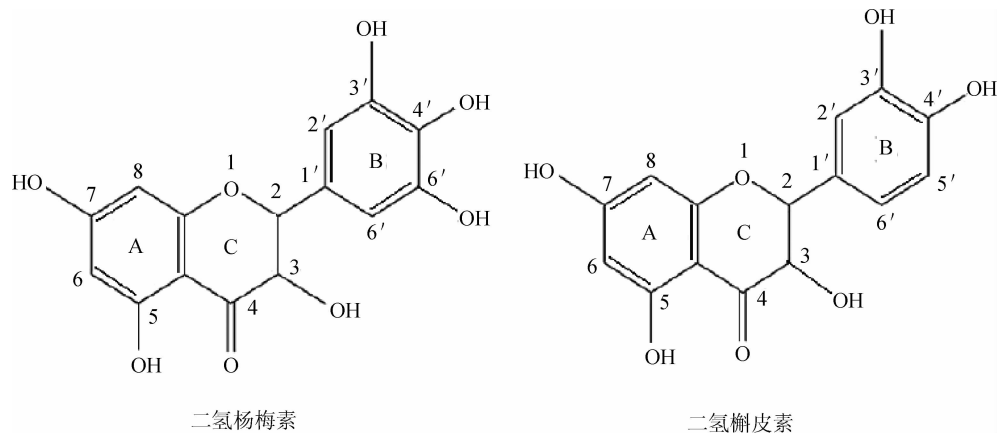


图 1 二氢杨梅素和二氢槲皮素化学结构图

1 材料与方法

1.1 材料 二氢槲皮素(TF) HPLC > 97%, 实验室自制;二氢杨梅素(DMY), HPLC > 98%, 批号: K140511, 西安开来生物工程有限公司。小鼠巨噬细胞 RAW264.7 购自中科院上海生命科学研究院细胞库。

1.2 试剂及仪器 地塞米松(Dexamethasone, DXM)、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), Sigma; 二甲基噻唑(MTT), Amresco; 二甲基亚砷(DMSO), Sigma; 青链双抗, Gibco; DMEM 高糖培养基, hyclone; 小牛血清, hyclone; 小鼠肿瘤坏死因子 - α

(TNF - α) 酶联免疫分析试剂盒, 小鼠白介素 - 6 (IL - 6) 酶联免疫分析试剂盒, 小鼠白介素 - 1 β (IL - 1 β) 酶联免疫分析试剂盒, 小鼠前列腺素 E2 (PGE₂) 酶联免疫试剂盒均购自 R&D 公司; 蒸馏水 (吉林农业大学)。

美国 Costar 6 孔和 24 孔细胞培养板; 美国 Forma Scientific CO₂ 细胞培养箱; 倒置显微镜 (Olympas); 北京六一电泳仪; 美国 BIORAD 凝胶成像仪; 美国 SBP PCR 仪; Haier - 70 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱; 美国 Thermo Electron MK3 型酶标仪。

1.3 细胞培养 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 培养于

DMEM 培养基中,内含 10% 灭活新生小牛血清及 100 U/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5.0% CO_2 饱和湿度的培养箱中培养。

1.4 MTT 法测定二氢槲皮素和二氢杨梅素毒性

取对数生长期的 RAW264.7 细胞至离心管内,调整细胞浓度为 1×10^5 个细胞/mL,以 100 μL /孔的量铺至 96 孔板中,于 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中继续培养 24 h。根据实验要求,加入含不同浓度的 TF (2.5, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/mL}$) 和 DMY (2.5, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/mL}$) DEME 高糖培养液,每孔 100 μL ,空白组加入等体积的 DMEM 高糖培养液,培养 24 h,每孔各做三个平行孔。在终止细胞培养前 4 h,加入 20 μL /孔 MTT (5 mg/mL)。终止细胞培养后,轻轻吸去上清,每孔加入 150 μL DMSO 溶液,震荡 5 min,待甲瓚充分溶解,用酶标仪测定 570 nm 处的各孔吸光度,相对于空白组计算细胞存活率。

1.5 ELISA 法检测 RAW264.7 细胞培养上清液中细胞因子(TNF- α , IL-6 和 IL-1 β)和 PGE₂ 的水平 取对数生长期的 RAW264.7 细胞至离心管内,调整细胞浓度为 1×10^5 个细胞/mL,以 500 μL /孔的量铺至 24 孔板中,于 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中继续培养 24 h。实验分为 9 组,即空白对照组, LPS 模型组,阳性对照组, TF 高、中、低剂量组和 DMY 高、中、低剂量组,每组设三个平行组。弃上清,空白对照组和 LPS 对照组加入 DMEM 培养液,阳性对照组加入含 DXM 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,给药组分别加入含不同浓度的 TF 和 DMY 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,干预 2 h,向空白对照组加入 DMEM 高糖培养基,其余组加入含 1 mg/L LPS 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,培养 24 h。培养结束时,吸取细胞上清液,上清液按照 TNF- α , IL-6, IL-1 β 和 PGE₂ 酶联免疫检测试剂盒说明书测定其中 TNF- α , IL-6, IL-1 β 和 PGE₂ 的水平。

1.6 NO 的检测 取对数生长期的 RAW264.7 细胞至离心管内,调整细胞浓度为 1×10^5 个细胞/mL,以 500 μL /孔的量铺至 24 孔板中,于 5% CO_2 、

37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中继续培养 24 h。实验分为 9 组,即空白对照组, LPS 模型组,阳性对照组, TF 高、中、低剂量组和 DMY 高、中、低剂量组。弃上清,空白对照组和 LPS 对照组加入 DMEM 培养液,阳性对照组加入含 DXM 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,给药组分别加入含不同浓度的 TF 和 DMY 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,干预 2 h,向空白对照组加入 DMEM 高糖培养基,其余组加入含 1 mg/L LPS 的 DEME 高糖培养液 250 μL ,培养 24 h。培养结束时,吸取培养液 100 μL 于另一 96 孔细胞培养板,每孔各加入 100 μL Griess reagent 试剂(1% sulfanilamide 和 0.1% N-[1-naphthyl]-ethylenediamine dihydrochloride in 5% phosphoric acid),室温避光放置 10 min,于 540 nm 处测定 OD 值。

1.7 RT-PCR 检测 TNF- α , IL-6, IL-1 β mRNA 的表达 取对数生长期的 RAW264.7 细胞至离心管内,调整细胞浓度为 4×10^5 个细胞/mL,将细胞以 2 mL/孔的量接种于 6 孔板中,在 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h 后弃除培养液,空白对照组和 LPS 对照组加入 DMEM 培养液,阳性对照组加入含 DXM 的 DEME 高糖培养液 2 mL,给药组分别加入含不同浓度的 TF 和 DMY 的 DEME 高糖培养液 2 mL,干预 2 h,向空白对照组加入 DMEM 高糖培养基,其余组加入含 1 mg/L LPS 的 DEME 高糖培养液 2 mL,培养 24 h。去除细胞上清液,用 PBS 洗涤细胞两次,然后利用高纯总 RNA 快速提取试剂盒提取细胞中 RNA,取 1 μg 总 RNA 配置逆转录反应体系,逆转录合成 cDNA,并以此为模板利用 Bio Teke super RT Kit 试剂盒进行扩增。PCR 反应中使用的引物序列如表 1 所示。PCR 扩增产物 10 μL 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,运用数码凝胶成像分析系统拍照,成像观察。

1.8 统计分析 实验数据均采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据做方差齐性检验和正态性检验,满足条件者用方差分析做多组间比较, $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

表 1 引物序列

基因	引物序列	退火温度/℃
TNF-α (NM_001278601.1)	5'-GGCGGTGCCTATGTCTC-3'	55.3
	5'-GCAGCCTTGTCTCTTGA-3'	
IL-1β (NM_008361.4)	5'-CTCGTGTCTGCGACCCAT-3'	54.7
	5'-CAGGCTTGTGCTCTGCTTGTG-3'	
IL-6 (NM_001314054.1)	5'-GGGACTGATGCTGCTGA-3'	51.2
	5'-AAGCCTCCGACTTGTGA-3'	
β-actin (NM_007393.4) (β-肌动蛋白)	5'-CAGCCTTCTCTTGGGTAT-3'	58
	5'-GGTCTTTACGGATGTCAACG-3'	

2 结果与分析

2.1 二氢槲皮素及二氢杨梅素的细胞毒性评价
选取药物浓度为 2.5~40 μg/mL 的二氢槲皮素和二氢杨梅素分别作用于 RAW264.7 细胞 24 h,采用 MTT 法测得不同浓度的 TF 和 DMY 对小鼠 RAW264.7 细胞是否具有毒性作用,从而确

定使用剂量。如图 2 所示,药物浓度在 2.5~20 μg/mL 内的 TF 组和 DMY 组与空白组相比,细胞活力没有显著差异($P>0.05$),结果表明 TF 在 2.5~20 μg/mL,DMY 在 2.5~20 μg/mL 范围内对小鼠 RAW264.7 细胞没有细胞毒性作用。

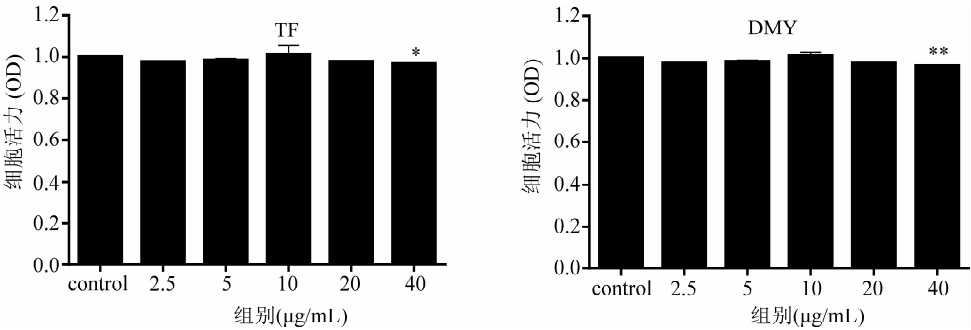


图 2 TF 和 DMY 对小鼠 RAW264.8 细胞活力的影响(* $P<0.05$,** $P<0.01$ 与空白对照组比较)

2.2 TF 和 DMY 对 LPS 刺激的小鼠 RAW264.7 细胞释放炎症介质 NO、PGE₂ 的影响
由表 2 可知,LPS 模型组 NO、PGE₂ 含量与空白组相比均显著升高。TF 和 DMY 各剂量组对 LPS 刺激的小鼠

RAW264.7 细胞释放 NO、PGE₂ 均具有不同程度的抑制作用,且呈剂量依赖性关系。TF 高剂量组的 NO 含量与阳性对照组相比无显著性差异。

表 2 TF 和 DMY 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放炎症介质 NO、PGE₂ 的影响

	剂量 (mg/L)	NO	PGE ₂
空白	—	3.43±0.36	81.71±2.29
LPS	1	16.93±0.51 ^{##}	356.49±5.93 ^{##}
DXM	2	6.71±0.44 ^{**}	111.71±4.72 ^{**}
TF	5	12.43±0.31 ^{**△△}	236.92±6.57 ^{**△△}
	10	11.01±0.83 ^{**△△}	201.82±4.33 ^{**△△}
	20	7.15±0.25 ^{**}	153.38±4.68 ^{**△△}
DMY	5	13.45±0.41 ^{**△△}	250.97±3.87 ^{**△△}
	10	11.61±0.84 ^{**△△}	218.28±9.82 ^{**△△}
	20	8.38±0.31 ^{**△△}	176.40±5.24 ^{**△△}

注:^{##} $P<0.01$ 与空白对照组比较;^{**} $P<0.01$ 与 LPS 组比较;^{△△} $P<0.01$ 与阳性对照组比较

2.3 TF 和 DMY 对 LPS 刺激的小鼠 RAW264.7 细胞分泌细胞因子(TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β)的影响 与空白对照组相比,LPS 模型组细胞因子含量均显著升高。与 LPS 模型组相比,TF 和 DMY 各剂量组对炎症模型细胞 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的

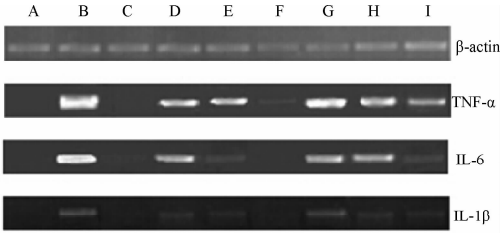
分泌量均显著性降低,并且随着药物浓度的升高,分泌的水平逐渐降低,呈剂量依赖性关系。TF 高剂量组的细胞因子 IL-6 含量,与阳性对照组相比无显著性差异(表3)。

表3 TF 和 DMY 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 分泌的影响

剂量(mg/L)		IL-1 β	IL-6	TNF- α
空白	—	4.97 $\pm$ 0.17	24.55 $\pm$ 1.30	82.98 $\pm$ 4.72
LPS	1	17.24 $\pm$ 0.40 ^{##}	52.34 $\pm$ 1.35 ^{##}	183.5 $\pm$ 2.38 ^{##}
DXM	2	7.76 $\pm$ 0.15 ^{**}	30.62 $\pm$ 1.66 ^{**}	96.83 $\pm$ 2.35 ^{**}
TF	5	12.79 $\pm$ 0.48 ^{**$\Delta\Delta$}	44.26 $\pm$ 1.03 ^{**$\Delta\Delta$}	144.83 $\pm$ 3.07 ^{**$\Delta\Delta$}
	10	11.19 $\pm$ 0.16 ^{**$\Delta\Delta$}	39.21 $\pm$ 1.16 ^{**$\Delta\Delta$}	132.27 $\pm$ 3.24 ^{**$\Delta\Delta$}
	20	8.27 $\pm$ 0.20 ^{**Δ}	31.14 $\pm$ 0.97 ^{**}	112.75 $\pm$ 4.6 ^{**$\Delta\Delta$}
DMY	5	13.67 $\pm$ 0.22 ^{**$\Delta\Delta$}	45.64 $\pm$ 0.76 ^{**$\Delta\Delta$}	147.87 $\pm$ 3.48 ^{**$\Delta\Delta$}
	10	12.11 $\pm$ 0.17 ^{**$\Delta\Delta$}	42.79 $\pm$ 1.25 ^{**$\Delta\Delta$}	135.79 $\pm$ 2.52 ^{**$\Delta\Delta$}
	20	9.29 $\pm$ 0.44 ^{**$\Delta\Delta$}	36.74 $\pm$ 1.27 ^{**$\Delta\Delta$}	116.98 $\pm$ 2.10 ^{**$\Delta\Delta$}

^{##}*P*<0.01 与空白对照组比较; ^{**}*P*<0.01 与 LPS 组比较; ^{Δ} *P*<0.05、 ^{$\Delta\Delta$} *P*<0.01 与阳性对照组比较

2.4 TF 和 DMY 对 LPS 刺激的小鼠 RAW264.7 细胞基因 TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β mRNA 表达的影响 试验结果表明(图3),LPS 构建巨噬细胞验证模型导致细胞中 TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β mRNA 表达量提高,由于这三种细胞因子是炎症反应中的关键标志物,因此通过 PCR 鉴定验证成功构建了炎症模型。地塞米松通过抑制细胞因子 TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β 基因的表达而表现出了对炎症反应的抑制作用。相比之下,二氢槲皮素高中低剂量组和二氢杨梅素高中低剂量组对 TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β 基因表达也分别表现出了不同的抑制作用,其中二氢槲皮素高剂量组对三种细胞因子的基因表达量的抑制作用最为明显。



A:空白对照组 B:LPS 模型组 C:阳性对照组 D~E:二氢槲皮素低剂量组(5mg/L)、中剂量组(10 mg/L)、高剂量组(20 mg/L)
G~I:二氢杨梅素低剂量组(5 mg/L)、中剂量组(10 mg/L)、高剂量组(20 mg/L)

3 讨论与小结

炎症是指机体受到了自身及外界损害或者处于应激状态时,呈现的以快速动力循环、快速代谢反应为特征的生理及病理过程。在数多的细胞和动物实验中常用脂多糖诱导炎症发生^[4-7]。巨噬细胞会在炎症启动的过程中通过激活机体自身的免疫系统,释放具有生物活性的酯类介质、细胞因子及活性氧等炎症介质起着至关重要的作用^[8-9]。

3.1 二氢槲皮素及二氢杨梅素的细胞毒性评价 本实验以脂多糖(LPS)诱导小鼠 RAW264.7 巨噬细胞为模型,将二氢槲皮素和二氢杨梅素的体外抗炎活性进行对比。首先采用 MTT 法检测了二氢槲皮素和二氢杨梅素对小鼠 RAW264.7 巨噬细胞的细胞毒性影响。结果显示,药物浓度在 2.5~20 μ g/mL 内的二氢槲皮素组和二氢杨梅素组与空白组相比,细胞活力没有显著差异(*P*>0.05),结果表明二氢槲皮素在 2.5~20 μ g/mL,二氢杨梅素在 2.5~20 μ g/mL 范围内对小鼠 RAW264.7 细胞没有细胞毒性作用。有研究证实,医学上将选择性调节细胞因子表达水平的方法用于炎症疾病治疗^[10-11],因而只要可以增加抗炎细胞因子分泌或抑制促炎细胞因子表达的药物均可用于治疗炎症性疾病。

3.2 二氢槲皮素及二氢杨梅素对炎症介质的影响 在炎症发生的过程中,参与介导炎症反应,具有

图3 TF 和 DMY 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞基因 TNF- α ,IL-6 和 IL-1 β mRNA 表达的影响

调节作用的内源性化学因子称为炎症介质。在这些炎症介质中,有两种主要的炎症介质共同参与了机体的抗炎反应,即 NO 和 PGE_2 。一氧化氮(NO)主要是由诱生性一氧化氮合酶(iNOS)催化生成的,当机体受到某些因素(TNF、LPS 等)刺激时,iNOS 蛋白大量合成,导致大量 NO 释放,从而对机体产生影响。有研究发现,脓毒血症和急慢性炎症的发生都与 NO 有关^[12-13],而极微量的 PGE_2 就可以对机体引发炎症反应^[14-16]。本实验通过对细胞培养液中 NO 和 PGE_2 的含量检测发现:与空白对照组相比,LPS 对照组 NO 和 PGE_2 分泌量显著增加;与 LPS 对照组相比,二氢槲皮素和二氢杨梅素各剂量组对 LPS 刺激的小鼠 RAW264.7 细胞释放 NO 和 PGE_2 均具有不同程度的抑制作用,且呈剂量依赖性关系。因此可推想二氢槲皮素和二氢杨梅素的抗炎作用大概与其抑制 PGE_2 和 NO 的合成相关。

3.3 二氢槲皮素及二氢杨梅素对炎症因子的影响

当机体被 LPS 刺激后,体内巨噬细胞会分泌出大量细胞因子。其中抗炎因子 $\text{TNF}-\alpha$ 在整个炎症反应进程中起到最为关键的作用。 $\text{TNF}-\alpha$ 可以诱导 IL-6、IL-1 β 等细胞因子的产生和释放^[17-18],从而启动细胞因子级联反应^[19],增强血管通透性。白细胞介素-1 β (IL-1 β)作为 IL-1 基因家族的一员,可由 LPS 刺激直接产生,也可以通过 $\text{TNF}-\alpha$ 诱导产生,是一种具有广泛调节作用的促炎因子,诱导 TNF 、IL-6 及其自身分泌,并同 TNF 互相促进彼此释放。此外,LPS 诱导产生的发热反应与炎症的主要诱发者 IL-6 有密切关系。当机体因炎症感染初期,血液中 IL-6 表达量一般会相对较高,然而当血液中 IL-6 的表达量持续增高,便会对机体形成重大的损害,如烧伤、器官衰竭等^[20]。因此阻断炎症反应持续发展的核心就是通过约束这些细胞因子的过度表达,恢复细胞因子网络的平衡状态。通过对细胞上清液中细胞因子含量的检测结果显示,当小鼠 RAW264.7 细胞被 LPS 刺激后,LPS 组的 $\text{TNF}-\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 β 的含量与空白对照组相比显著升高,说明体外炎症模型造模成功。与 LPS 模型组相比,TF 和 DMY 各剂量组对炎症模型细胞 IL-1 β 、IL-6 和 $\text{TNF}-\alpha$ 的分泌量均显著性降低,并且随着药物浓度的升高,分泌的水平逐渐降低,呈剂量依赖性关系。TF 高剂量组

的细胞因子 IL-6 含量,与阳性对照组相比无显著性差异。结果表明,二氢槲皮素和二氢杨梅素可以通过抑制炎症细胞因子的释放起到抗炎作用。

综上所述,二氢槲皮素和二氢杨梅素均可呈剂量依赖性的抑制 LPS 刺激的小鼠 RAW264.7 细胞释放炎症介质 NO、 PGE_2 ,并且降低 IL-1 β 、IL-6、 $\text{TNF}-\alpha$ 基因的表达,阻碍分泌细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 $\text{TNF}-\alpha$,起到抗炎作用。通过对比发现,二氢槲皮素比二氢杨梅素抗炎活性更好,但对它们的抗炎的作用机理需要进行更加深入的研究,从而为抗炎药物的开发利用提供依据。

参考文献:

- [1] Zhu Hong, Tang Sheng-an, Qin Nan, *et al.* Anti-inflammatory constituents from *Inula japonica* [J]. *China Journal of Chinese Materia*, 2014, 39(1):83-88.
- [2] 梁 婷.二氢杨梅素抗炎及抗过敏作用的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2007.
- [3] 陈立峰,董倩倩,张 琼.二氢杨梅素对大鼠免疫性慢性胃炎胃粘膜的保护作用及其机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2009,23(5):381-387.
- [4] 李 景,吴阳阳,周海松,等.青藤碱对细菌内毒素刺激的小鼠及巨噬细胞嘌呤受体 A2A、P2X7 表达的影响[J]. *广州中医药大学学报*,2016,33(1):97-102.
- [5] 平 舜,王 凯,张江临,等.茶蜂花粉提取物 BPE 对 LPS 诱导的 Raw264.7 细胞的体外抗炎症作用[J]. *食品与生物技术学报*,2015,34(12):1302-1307.
- [6] 戴 艺,徐明生,上官新晨,等.绿原酸对小鼠腹腔巨噬细胞免疫调节作用的研究[J]. *天然产物研究与开发*,2015(27):2128-2133.
- [7] 谢 斌,吴 蓓,欧阳辉,等.杏香兔耳风中 5 种单体对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞内 NO 生成的影响[J]. 2015,46(12):60-62.
- [8] Kim M M, Kim S K. Effect of phloroglucinol on oxidative stress and inflammation [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010,48(10):2925-2933.
- [9] Kim S, Jung E, Kim J H, *et al.* Inhibitory effects of (-)- α -bisabolol on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages[J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(10):2580-2585.
- [10] Takeuchi O, Sato S, Horiuchi T, *et al.* Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins [J]. *J Immunol*, 2002, 169(1):10-14.
- [11] Su H, Bidere N, Zheng L, *et al.* Requirement for caspase-8 in NF-kappaB activation by antigen receptor[J]. *Science*, 2005, 307(5714):1465-1468.
- [12] Cerny O, Kamanova J, Masin J, *et al.* Bordetella pertussis Adenylate Cyclase Toxin Blocks Induction of Bactericidal Nitric Oxide in Macrophages through cAMP-Dependent Activation of the SHP-1 Phosphatase [J]. *J Immunol*, 2015, 195(10):4901-4913.

黄秋葵醇提物对顺铂致急性肾损伤的保护作用

李莹¹,高铭彤¹,李婧毓¹,刘一桐¹,曾露露¹,丁传波^{1,2},刘文丛^{1*},郑毅男^{1*}

(1. 吉林农业大学中药材学院,吉林省长春市,130118;2. 珲春华瑞参业生物工程股份有限公司,吉林省珲春市,133300)

[收稿日期] 2016-05-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 07-0052-05 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为了探讨黄秋葵嫩果醇提物对顺铂致小鼠急性肾损伤是否具有保护作用,将 50 只 SPF 级 ICR 雄性小鼠随机均分为空白对照组(0.9%生理盐水)、模型组(0.9%生理盐水)、黄秋葵醇提物(HQK)高中低剂量组(400、200、100 mg/kg),分别灌胃给药 7 d,除空白对照组,于第 7 天给药 1 h 后灌胃给顺铂 20 mg/kg。再灌胃给药 3 d 后,眼球取血,测定血清中尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)的含量;测定肾脏匀浆中 SOD、GSH 和 MDA 含量;并观察苏木精-伊红(HE)病理切片组织病理学变化。结果表明:与模型组比较,HQK 高、中剂量组中 BUN、CRE 含量均降低,肾组织 GSH、SOD 含量均升高($P < 0.01$, $P < 0.05$),HE 染色观察 HQK 高剂量组可显著保护顺铂致肾组织病理损害。黄秋葵醇提取物对 CDDP 诱导的小鼠急性肾损伤均有一定的保护作用。

[关键词] 顺铂;黄秋葵醇提取物;肾毒性;血尿素氮;肌酐

基金项目: 吉林省自然科学基金(20160101017JC);吉林省大学生创业资金项目(20160521011HJ)

作者简介: 李莹,硕士研究生,从事天然产物化学研究。

通讯作者: 刘文丛, E-mail: jwlw6803@126.com; 郑毅男, E-mail: zhengyinan@tom.com

- [13] Lee K J, Yeo M G. Homeopathic Rhus toxicodendron has dual effects on the inflammatory response in the mouse preosteoblastic cell line MC3T3-e1 [J]. Homeopathy, 2016, 105(1):42-47.
- [14] Shi R, Wang Q, Ouyang Y, et al. Picfeltaerin IA inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine production by the nuclear factor- κ B pathway in human pulmonary epithelial A549 cells [J]. Oncol Lett, 2016, 11(2):1195-1200.
- [15] Tursun X, Zhao Y, Alat Z, et al. Anti-Inflammatory Effect of Rose rugosa Flower Extract in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Macrophages [J]. Biomol Ther (Seoul), 2016, 24(2):184-190.
- [16] Jung Y Y, Hong J T, Han S B, et al. Effect of Ixeris dentata Nakai Extract on Nitric Oxide Production and Prostaglandin E2 Generation in LPS-stimulated RAW264.7 Cells [J]. Immune Netw, 2015, 15(6):325-330.
- [17] Alizan A, Khalil J. Tumour Necrosis Factor: Implications for surgical patients [J]. ANZ J Surg, 2006, 76(11):1010-1016.
- [18] Tom L, Christian T. Intracellular survival pathways in the liver [J]. Liver International, 2006, 26(10):1163-1174.
- [19] Wouter M, Kooloos D J. Potential role of pharmacogenetics in anti-TNF treatment of rheumatoid arthritis and crohn's disease [J]. Drug Discovery Today, 2007, 12(3/4):125-131.
- [20] Park W Y, Goodman R B, Steinberg K P, et al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(10):1896-1903.

(编辑:侯向辉)