

DOI:10.12174/j.issn.2096-9600.2026.03.03

两种细叶勾儿茶单体化合物的 抗炎活性相关研究*

刘军洋¹,滕红丽^{2△},赵金妹²,洪 精²

1 广西中医药大学,广西南宁 530001; 2 广西中医药大学附属国际壮医医院,广西南宁 530201

[摘要]目的:对细叶勾儿茶分离提取的01号茶鞣α-吡喃酮类单体化合物和02号色原酮类单体化合物进行抗炎活性筛选,并探究其抗炎机制。方法:向小鼠RAW264.7巨噬细胞中加入0.5 μg/mL脂多糖(lipopolysaccharide,LPS),经LPS胞外刺激12 h,激活细胞产生炎症反应;CCK-8法检测浓度为50、75 μM时01、02号单体化合物对RAW264.7细胞存活率的影响;对01、02号单体化合物设置浓度梯度(0、6、25、12.5、25、50、75 μM),通过Griess法检测各组RAW264.7细胞上清液中NO的含量并计算NO抑制率,对01、02号单体化合物进行抗炎活性梯度检测;通过ELISA法检测01号单体化合物与LPS共孵育12 h对肿瘤坏死因子α(tumor ne-

[9] 张越,刘光珍.刘光珍教授从“邪实为本”论治慢性肾脏病[J].中国中西医结合肾病杂志,2020,21(3):249-251.

[10] 闫梦苗,刘光珍.复方蛇龙胶囊的拆方研究[J].时珍国医国药,2017,28(10):2383-2385.

[11] BORDER W A,WARD H J,KAMIL E S,et al. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen[J]. J Clin Invest,1982,69(2):451-461.

[12] 薛丕良,牛雯颖,李丽琦,等.雷公藤多苷联合小剂量激素治疗特发性膜性肾病的前瞻性对照研究[J].世界中医药,2019,14(3):666-669.

[13] LANG R,WANG X,LIANG Y,et al. Research progress in the treatment of idiopathic membranous nephropathy using traditional Chinese medicine[J]. J Transl Int Med,2020,8(1):3-8.

[14] WANG X H,LANG R,ZENG Q,et al. Jianpi Qushi Heluo Formula alleviates renal damages in passive hemann nephritis in rats by upregulating parkin-mediated mitochondrial autophagy[J]. Sci Rep,2021,11(1):18338.

[15] TIAN R,WANG L,CHEN A,et al. Sanqi oral solution ameliorates renal damage and restores podocyte injury in experimental membranous nephropathy via suppression of NF-κB[J]. Biomed Pharmacother,2019,115:108904.

[16] ROVIN B H,CASTER D J,CATTRAN D C,et al. Management and treatment of glomerular diseases (part 2): conclusions from a Kidney Disease: improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference[J]. Kidney Int,2019,95(2):281-295.

[17] 高飞,王泽泽,杨冰,等.加味升降散对膜性肾病大鼠Notch信号通路及足细胞凋亡的影响[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(4):30-36.

[18] 赵亚云,方敬,陈静洁,等.三焦祛湿方对C-BSA诱导膜性肾病小鼠肾脏保护作用及其对Nrf2/HO-1信号通路的影响[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(18):58-65.

[19] RONCO P,DEBIEC H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care[J]. Lancet,2015,385(9981):1983-1992.

[20] MOTAVALLI R,ETEMADI J,KAHROBA H,et al. Immune system-mediated cellular and molecular mechanisms in idiopathic membranous nephropathy pathogenesis and possible therapeutic targets[J]. Life Sci,2019,238:116923.

[21] SALEEM M A,O'HARE M J,REISER J,et al. A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression[J]. J Am Soc Nephrol,2002,13(3):630-638.

[22] AKANKWASA G,LIU J,CHENG G,et al. Urine markers of podocyte dysfunction: a review of podocalyxin and nephrin in selected glomerular diseases[J]. Biomark Med,2018,12(8):927-935.

[23] 张欣欣,宋瑞婧,高飞,等.基于内质网应激GRP78/PERK/CHOP信号通路探讨益肾通络方对膜性肾病大鼠足细胞凋亡的影响[J].中药药理与临床,2021,37(5):102-109.

[24] 高子涵,王红伟,吕行直,等.柴胡皂苷b2通过抑制线粒体凋亡通路减轻过氧化氢诱导的L-02细胞损伤[J].中国药理学与毒理学杂志,2018,32(7):543-549.

[25] 程新燕,符翠莉.芹菜素对大鼠骨肉瘤细胞凋亡及相关蛋白Bax,Bcl-2,Caspase-3,Caspase-9,细胞色素C的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(15):139-142.

[26] OBENG E. Apoptosis(programmed cell death) and its signals-A review[J]. Braz J Biol,2021,81(4):1133-1143.

[27] LU H,LUO Y,SU B,et al. Wenyang Lishui Decoction ameliorates podocyte injury in membranous nephropathy rat and cell models by regulating p53 and bcl-2[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2020,2020:6813760.

收稿日期:2025-12-22

*基金项目:山西省重点研发计划重点项目(201603D3113023,201703D421024);山西省科技攻关项目(2016ZD0307);山西省晋药综合开发利用协同创新中心项目(2017-JYXT-32)。

作者简介:贾世艳(1994—),女,硕士学位。研究方向:实验方剂学及方剂药理学研究。

△通讯作者:刘光珍(1964—),男,博士研究生导师,主任医师。研究方向:中西医结合肾病防治研究。Email:gzh4668933@126.com。

crisis factor α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的影响;通过ELISA法检测02号单体化合物与LPS共孵育12 h对IL-6、TNF- α 、NF- κ B、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)的影响;通过PCR法检测01号单体化合物与LPS共孵育12 h对RAW264.7细胞IL-1 β 、IL-6以及iNOS mRNA表达的影响;通过PCR法检测02号色原酮类化合物对LPS诱导的RAW264.7细胞TNF- α 、COX-2、iNOS mRNA的表达的影响。结果:从细叶勾儿茶中分离所得的两种化合物,在50、75 μ M下对RAW264.7存活率无明显影响;对细胞上清液的NO含量检测结果显示,随着化合物浓度的增加,细胞上清液中NO含量明显减少;01号化合物可降低LPS诱导的RAW264.7细胞的细胞上清液中IL-6、TNF- α 、NF- κ B的表达水平,02号化合物可降低TNF- α 、IL-6、NF- κ B、iNOS、COX-2的表达水平。01号化合物可抑制LPS诱导的RAW264.7细胞IL-6、IL-1 β 、iNOS的mRNA表达水平;02号化合物可抑制TNF- α 、iNOS、COX-2的mRNA表达水平。结论:从细叶勾儿茶中提取的两种化合物均无明显的药物毒性,具有一定的抗炎活性,并且随着化合物浓度增加,抗炎活性明显增加。两种单体化合物可能通过调控NF- κ B信号通路发挥抗炎作用。

[关键词] 细叶勾儿茶;单体化合物;抗炎

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 2096-9600(2026)03-0012-06

Studies on Anti-inflammatory Activities of Two Kinds of Monomer Compounds of Berchemia Lineata

LIU Junyang¹, TENG Hongli^{2△}, ZHAO Jinmei², HONG Jing²

1 Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2 Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning 530201, China

Abstract Objective: To screen anti-inflammation of No 1 naphthyl- α -pyranone monomer compounds and No 2 chromenone monomer compounds separated and extracted from berchemia lineata, and to investigate its anti-inflammatory mechanism. Methods: 0.5 μ g/mL lipopolysaccharide (LPS) was added to mouse macrophages RAW264.7 to active the cells and trigger the inflammatory response after LPS extracellular stimulus for 12 h; CCK-8 method was applied to detect the effects of monomer compounds No 1 and 2 on the survival rates of RAW264.7 cells when the concentrations were 50 and 75 μ M; when concentration gradient (0, 6.25, 12.5, 25, 50 and 75 μ M) was set for monomer compounds No 1 and 2, the contents of NO contained in RAW264.7 cellular supernatant were detected by Griess method, and NO inhibition rate was calculated, so as to measure anti-inflammatory activity gradient; ELISA method was adopted to measure the influence of monomer compounds No 1 after co-incubating with LPS for 12 on the levels of TNF- α , IL-6 and NF- κ B; and to measure the effects of monomer compounds No 2 after co-incubating with LPS for 12 on the levels of IL-6, TNF- α , and NF- κ B, iNOS and COX-2; PCR was used to detect the influence of monomer compounds No 1 after co-incubating with LPS for 12 on the expressions of IL-1 β , IL-6 and iNOS mRNA in RAW264.7 cells; the effects of monomer compounds No 2 on the expressions of TNF- α , COX-2 and iNOS mRNA in LPS - induced RAW264.7 cells were measured via PCR method. Results: Two compounds separated from the herb showed no significant impacts on the survival rate of RAW264.7 cells at the concentrations of 50 and 75 μ M; the detection results of the contents of NO contained in cellular supernatant displayed that the concentration of NO was reduced markedly as the concentrations of the compounds increased; monomer compounds No 1 could lower the levels of IL-6, TNF- α , and NF- κ B in cellular supernatant of LPS - induced RAW264.7 cells, monomer compounds No 2 could reduce the expressions of TNF- α , IL-6, and NF- κ B, iNOS and COX-2. Monomer compounds No 1 could inhibit the expressions of IL-6, IL-1 β and iNOS mRNA in LPS - induced RAW264.7 cells; monomer compounds No 2 could restrain the expressions of TNF- α , iNOS and COX-2 mRNA. Conclusion: Two compounds extracted from the herb have no obvious drug toxicity, and certain anti-inflammatory activity, the anti-inflammatory activity was increased evidently with the increase of compound concentration. Two compounds could exert anti-inflammatory effects possibly through regulating NF- κ B signaling pathway.

Keywords berchemia lineata; monomeric compound; anti-inflammation

壮药铁包金是一味具有镇痛抗炎作用且广泛应用于类风湿关节炎治疗中的广西壮族地区民间医生常用药材^[1-2]。以铁包金为君药的按摩膏单独涂抹使用或借助刮法等辅助手法均在类风湿关节炎的治疗方面取得良好疗效。研究发现,铁包

金提取物在小鼠耳廓肿胀实验及醋酸引发的扭体次数实验中,均展现出良好的镇痛和抗炎效果^[3-4]。铁包金提取物主要化学成分包括苯丙素类、黄酮类、萜类、苷类、醌类及有机酸类等^[5]。目前,关于铁包金的研究报道绝大多数属于临床文

献,且年代较为久远,涉及基础研究的部分相对较少。在分子水平上,对铁包金抗炎机制的认识仍十分有限,这极大地制约了铁包金药材的推广与应用。鼠李科勾儿茶属植物细叶勾儿茶 *Berchemia lineata*(L.)DC. 在药典中被核定为铁包金基源植物之一,且药用价值日益受到认可^[6]。课题组前期成功分离并提取了两种化合物,分别是此前仅在海洋生物中发现且在天然产物中较为罕见的萘啶- α -吡喃酮类化合物,以及首次从该植物中分离提取的简单酚类化合物。随后,对这些化合物进行了抗炎活性及药物毒性的检测,并对其抗炎机制进行了初步探究,旨在为后续研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株 RAW264.7(Procell CL0190)由武汉普诺赛生命科技有限公司提供。

1.2 试剂及仪器 高糖培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)(Gibco公司,批号:2212677P)、胎牛血清(青木生物科技有限公司,批号:F230401A)、青霉素链霉素(Gibco公司)、二甲基亚砜(Biosharp公司)、脂多糖(Sigma公司)、地塞米松(上海源叶科技有限公司)、CCK-8(ABClonal公司)、NO检测试剂(上海碧云天生物技术有限公司)、ELISA试剂盒(北京四正柏生物科技有限公司;睿信生物科技有限公司)、酶标仪(美国Thermo Scientific公司)、CO₂培养箱(美国Thermo Scientific公司)、引物(北京擎科生物科技有限公司)。

1.3 单体化合物 化合物由课题组从细叶勾儿茶地上部分中分离提取^[7]。分类:萘啶- α -吡喃酮类(分子式:C₁₇H₁₄O₄)和简单的酚类(分子式:C₁₁H₁₀O₃)。具体分子式见图1—2。

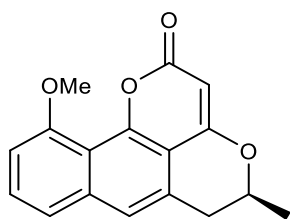


图1 01号化合物

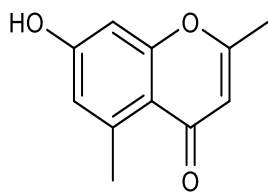


图2 02号化合物

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养 RAW264.7细胞培养采用DMEM高糖培养液。在操作前,需向培养液中添加占完全培养液总体积10%的胎牛血清及1%的青霉素链霉素(未使用时需密封并置于冰箱恒温保存)。RAW264.7细胞复苏后,需密切观察细胞是否出现漂浮、培养基颜色变化及细胞形态等状

况。根据细胞状态、培养基颜色变化及RAW264.7细胞在25T培养瓶中的占比,决定进行传代(传代时需使用细胞刮刀,不可用胰酶消化)或换液。利用复苏后各项指标均调整至最佳状态的细胞(通常需传代2~3次),进行各项实验操作。

1.4.2 造模 向小鼠巨噬细胞(RAW264.7)中加入0.5 μ g/mL脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),经LPS胞外刺激12 h,激活细胞产生炎症反应。

1.4.3 CCK-8法检测细胞存活率 设置两个组别:空白对照组和药物组。具体操作步骤如下:将对数生长期的细胞均匀点种于96孔板上(96孔板最外侧孔均加入磷酸盐缓冲液, PBS, 以避免边缘效应)。待细胞贴壁后,使用移液枪小心吸出细胞上清液(注意避免触碰贴附在96孔板底部的细胞)。细胞贴壁后,空白对照组和药物组均使用不含胎牛血清的DMEM高糖培养基,各组药物浓度分别为:空白对照组(0 μ M)、药物组(50、75 μ M)。将96孔板置于CO₂恒温培养箱中培养24 h后,按照CCK-8检测试剂盒说明书进行操作,利用OD值计算RAW264.7细胞的细胞存活率。

1.4.4 Griess法测细胞上清液中NO含量 采用地塞米松作为阳性药物,设置空白对照组(Control)、地塞米松阳性对照组(DXM)、LPS模型组(LPS)和样品组(6.25、12.5、25、50、75 μ M)。使用100 μ M的枪头将RAW264.7细胞均匀点种于96T板中除四种孔以外的孔中,待细胞贴壁后,用排枪小心吸除细胞上清液(注意避免触碰铺在96T板底部的细胞)。空白对照组加入DMEM培养液,其余各组均加入等量1 μ g/mL的LPS。阳性药物组加入等体积20 μ M的地塞米松,药物组分别加入等体积12.5、25、50、100、150 μ M的药物,并与LPS共孵育。空白对照组和LPS炎症模型组均加入等体积的DMEM培养液。各组药物终浓度如下:阳性药物组地塞米松终浓度为10 μ M,药物组药物终浓度分别为6.25、12.5、25、50、75 μ M,阳性药物组、模型组和药物组的LPS终浓度均为0.5 μ g/mL。

1.4.5 细胞上清液中相关炎症因子表达水平检测 对各组细胞上清液中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)的含量进行检测,根据CCK-8及细胞上清液中NO含量的检测结

果,选择01号和02号药物的最佳浓度进行后续实验。RAW264.7细胞实验分组如下:空白对照组(Control)、LPS炎症模型组(LPS)、地塞米松阳性对照组(DXM)、样品组(01号和02号化合物分别设置25、50、75 μM三个浓度)。将RAW264.7细胞均匀铺于6孔板中,造模及给药方法参照“1.4.4”步骤。按照ELISA检测试剂盒说明书进行细胞上清液的处理及后续操作。

1.4.6 细胞上清液中相关炎症因子mRNA表达水平检测 对各组细胞上清液中IL-1β、IL-6、TNF-α、iNOS和COX-2 mRNA的含量进行检测,该检测共设置四个组别,包括空白对照组(Control)、LPS炎症模型组(LPS)、地塞米松阳性对照组(DXM)以及样品组。样品组中,01号化合物的浓度分别为25 μM和75 μM,02号化合物的浓度分别为50 μM和75 μM。将RAW264.7细胞用移液枪均匀点种于6孔板中,造模及给药方法参照“1.4.5”节所述。采用Trizol法提取RNA并检测其浓度,通过琼脂糖凝胶电泳检测RNA纯度,随后按照逆转录试剂盒说明书操作得到cDNA,并进行扩增。引物序列见表1。

表1 目的基因引物序列

基因	引物序列
Actin(F)	GTACTCTGTGGATCGGTGG
Actin(R)	AAACGCAGCTCAGTAACAGTCC
IL-1β(F)	GCCACCTTTTGACAGTGATGAG
IL-1β(R)	CTGCCTGAAGCTCTTGTGATG
IL-6(F)	TCCATCCAGTTGCCTTCTTGG
IL-6(R)	CCACGATTTCCCAGAGAACATG
TNF-α(F)	CAGAAAGCATGATCCGCGAC
TNF-α(R)	GGGAACTTCTCATCCCTTTGG
COX-2(F)	TATGCCACCATCTGGCTTCG
COX-2(R)	CAATGTTGAAGGTGTCGGGC
iNOS(F)	GGGCAGCCTGTGAGACCTT
iNOS(R)	TGAGGGCTCTGTTGAGGTCTA

1.5 统计学方法 使用GraphPad Prism 9.0处理实验数据,部分实验数据结果通过柱状图展现,

表3 不同组别NO释放量和NO抑制率比较(̄x±s)

组别	01号化合物NO释放量/μM	02号化合物NO释放量/μM	01号化合物NO抑制率/%	02号化合物NO抑制率/%
Control	2.19 ± 0.06	2.51 ± 0.12	-	-
LPS	17.45 ± 1.12 ^{##}	19.01 ± 0.48 ^{##}	-	-
DXM	3.02 ± 0.15 ^{**}	3.43 ± 0.01 ^{**}	92.24 ± 1.51	92.75 ± 0.05
样品组(6.25 μM)	16.79 ± 0.11	15.36 ± 0.83 ^{**}	5.07 ± 0.72	18.42 ± 5.19
样品组(12.5 μM)	16.10 ± 0.50 ^{**}	14.29 ± 0.71 ^{**}	9.57 ± 3.27	25.06 ± 4.43
样品组(25 μM)	14.74 ± 0.21 ^{**}	13.97 ± 0.81 ^{**}	18.56 ± 1.36	27.08 ± 5.09
样品组(50 μM)	12.56 ± 0.60 ^{**}	10.36 ± 0.09 ^{**}	32.84 ± 3.95	49.60 ± 0.60
样品组(75 μM)	10.66 ± 0.35 ^{**}	8.91 ± 0.26 ^{**}	45.37 ± 3.65	58.61 ± 1.62
F	389.8	371.7	422.8	186.9
P	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

注:##表示与LPS组相比,P<0.01;**表示与Control组相比,P<0.01;-表示无数据。

部分实验结果以̄x±s展示。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞存活率 浓度为50 μM和75 μM的01号和02号化合物对RAW264.7细胞作用24 h后,RAW264.7细胞的存活率未见显著变化,表明该浓度的01号和02号化合物均无明显细胞毒性,因此可以设定该浓度进行后续实验研究。见表2。

表2 不同化合物作用后的细胞存活率(̄x±s) %

化合物浓度	01号化合物	02号化合物
50 μM	98 ± 4.3	108 ± 1.5
75 μM	117 ± 22.9	109 ± 7.4

2.2 NO含量 通过对细胞上清液中NO浓度的检测发现,经0.5 μg/mL的LPS刺激12 h后,RAW264.7细胞上清液中的NO含量明显升高(空白对照组NO含量约为2~3 μM,而LPS炎症模型组NO含量则达到20 μM左右),这表明炎症模型构建成功。与LPS模型组相比,药物组中浓度为6.25、12.5、25、50、75 μM的01号和02号化合物均能在不同程度上抑制RAW264.7细胞释放NO。随着化合物浓度的增加,RAW264.7细胞释放的NO逐渐减少,显示出这两种化合物的抗炎活性具有剂量依赖性。见表3。

2.3 相关炎症因子表达水平 对各组细胞上清液中TNF-α、IL-6、NF-κB、iNOS、COX-2的含量进行检测的结果显示,RAW264.7细胞在0.5 μg/mL的LPS刺激12 h后,LPS模型组中上述因子在细胞上清液中的含量均出现不同程度的升高(P<0.01)。LPS与01号化合物共孵育RAW264.7细胞12 h后,炎症因子IL-6、TNF-α及NF-κB在细胞上清液中的含量较LPS炎症模型组均减少(P<0.01)。LPS与02号化合物共孵育RAW264.7细胞12 h后,炎症因子IL-6、TNF-α、NF-κB、COX-2及iNOS在细胞上清液中的含量较LPS炎症模型组均减少(P<0.01)。见表4。

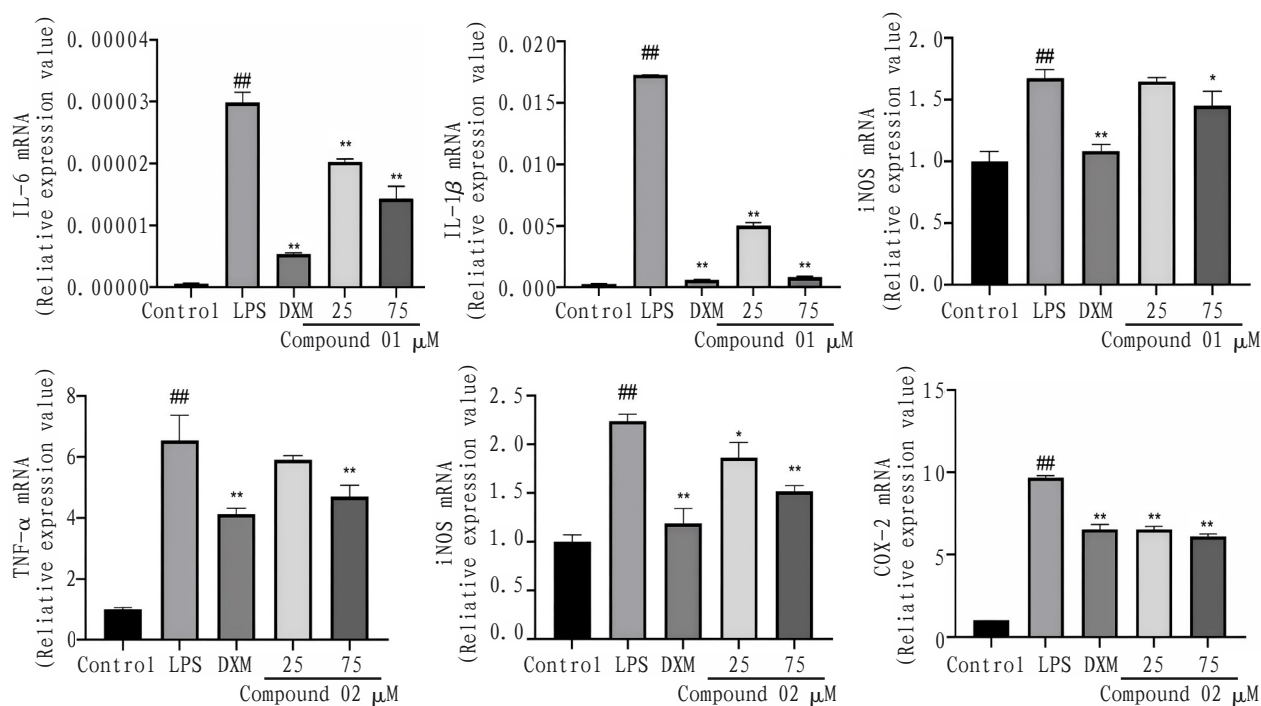
表4 不同组别细胞上清液中相关炎症因子表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	01号化合物			02号化合物				
	TNF- α (pg·m ⁻¹)	IL-6(pg·m ⁻¹)	NF- κ B(pg·m ⁻¹)	TNF- α (pg·m ⁻¹)	IL-6/(pg·m ⁻¹)	NF- κ B/(pg·m ⁻¹)	iNOS/(ng·m ⁻¹)	COX-2/(ng·m ⁻¹)
Control	119.7 ± 5.51	5.8 ± 0.04	11.32 ± 1.00	79.80 ± 3.20	6.84 ± 0.07	36.96 ± 3.65	0.15 ± 0.01	4.10 ± 0.04
LPS	10500 ± 264.6 ^{##}	17.72 ± 0.29 ^{##}	157.6 ± 4.86 ^{##}	40388 ± 1443 ^{##}	109.1 ± 1.04 ^{##}	170.8 ± 4.04 ^{##}	6.28 ± 0.40 ^{##}	18.90 ± 0.11 ^{##}
DXM	3770 ± 149.9 ^{**}	6.74 ± 0.04 ^{**}	10.32 ± 0.59 ^{**}	5283 ± 133.6 ^{**}	18.28 ± 0.20 ^{**}	41.24 ± 2.63 ^{**}	2.51 ± 0.06 ^{**}	8.89 ± 0.14 ^{**}
样品组(25 μ M)	6860 ± 337.6 ^{**}	11.10 ± 0.31 ^{**}	131.4 ± 4.30 ^{**}	37744 ± 488 ^{**}	101.7 ± 1.08 ^{**}	121.4 ± 5.84 ^{**}	3.70 ± 0.13 ^{**}	11.55 ± 0.92 ^{**}
样品组(50 μ M)	4363 ± 147.5 ^{**}	8.54 ± 0.16 ^{**}	108.4 ± 5.08 ^{**}	17502 ± 229.8 ^{**}	35.86 ± 0.38 ^{**}	91.58 ± 7.86 ^{**}	3.58 ± 0.16 ^{**}	9.28 ± 0.20 ^{**}
样品组(75 μ M)	3779 ± 5.51 ^{**}	7.32 ± 0.09 ^{**}	76.66 ± 2.64 ^{**}	5323 ± 54.47	9.53 ± 0.16 ^{**}	85.33 ± 4.60 ^{**}	1.70 ± 0.10 ^{**}	8.25 ± 0.45 ^{**}
F	960	1606	897	2308	15797	298	432	390
P	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

注:##表示与LPS组相比, P < 0.01; **表示与Control组相比, P < 0.01。

2.4 相关炎症因子mRNA表达水平 RT-qPCR结果显示,LPS诱导RAW264.7细胞后,LPS炎症模型组IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、iNOS和COX-2 mRNA的含量明显升高。给药后,在01号化合物作用下,IL-1 β 、

IL-6和iNOS mRNA的含量较LPS模型组明显降低;在02号化合物作用下,TNF- α 、COX-2和iNOS mRNA的含量较LPS模型组明显降低。见图3。



注:##表示与Control组相比, P < 0.01;与LPS组相比,*表示 P < 0.05,**表示 P < 0.01。

图3 01号化合物对TNF- α 、IL-1 β 、iNOS、COX-2 mRNA及02号化合物对TNF- α 、COX-2、iNOS mRNA表达的影响

3 讨论

相关研究发现,从铁包金中提取的总黄酮具有良好抗炎作用,但具体何种单体化合物发挥抗炎活性及其作用机制尚未明确^[3]。因此,本实验选取了首次分离到的天然产物中的01号萘啶 α -吡喃酮类化合物和02号简单的酚类化合物进行抗炎作用的初步探究,以期对铁包金抗炎成分进行更深入的挖掘。

炎症反应是为了应对外界刺激(物理、化学、生化刺激)所做出的反应,属于机体的防御反应,但过度炎症反应则会诱发机体产生一系列疾病,对机体造成严重损伤^[8-10]。如类风湿关节炎最终

可对患者关节造成不可逆损害,从而对患者生活质量造成严重影响。研究表明,通过利用胞外刺激(如前炎症细胞因子、细胞毒性产物、物理化学因子等)对小鼠巨噬细胞进行刺激,可激活NF- κ B信号通路,进而引发炎症反应,其中LPS的使用较为普遍^[11-12]。细胞在受到胞外LPS刺激后,与炎症反应密切相关的NF- κ B信号通路被激活,进而大量释放炎症因子TNF- α 、IL-6、IL-1 β 以及NO,引发炎症反应。这些因子还会反过来进一步激活该炎症通路^[13-14]。

NO是与炎症反应密切相关的重要生物活性气体分子^[15]。本实验通过检测RAW264.7细胞上

清液中NO的含量,对从细叶勾儿茶中分离所得的单体化合物进行抗炎活性评估。iNOS作为炎症反应的活性酶,其在LPS的诱导下合成NO,同时,大量的NO促进了炎症因子TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的释放^[16-17]。另外,COX作为炎症的主要介质,包含COX-1和COX-2两种类型。其中,COX-2不仅参与炎症过程,还能促进炎症因子TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的释放,进一步加剧炎症反应的发生^[18-20]。

本实验研究结果显示,01、02号化合物浓度为50 μ M和75 μ M时,对RAW264.7细胞的存活率无明显影响,表明在该浓度范围内,这两种化合物对RAW264.7细胞无显著药物毒性,因此可以在这一浓度范围内进行抗炎活性筛选实验。抗炎活性梯度实验结果显示,01号和02号化合物对RAW264.7细胞释放NO具有剂量依赖性抑制作用。此外,CCK-8实验结果也证实,该化合物在此浓度范围内无明显药物毒性,从而可以排除因化合物浓度增加导致细胞存活率降低,进而引起细胞释放NO总量下降的可能性。因此,可以初步得出结论,其抑制NO并非通过抑制RAW264.7细胞活性实现的,01、02号化合物抗炎活性的发挥具有一定剂量依赖性。RAW264.7细胞在LPS的诱导下,细胞上清液中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、COX-2、iNOS的表达水平明显升高,在01号化合物作用下,IL-1 β 、TNF- α 、NF- κ B的表达水平明显减少;02号化合物作用下,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、iNOS、COX-2的表达水平明显减少。在LPS的诱导下RAW264.7细胞中IL-1 β 、TNF- α 、COX-2、iNOS的mRNA表达水平明显升高,在01号化合物作用下,IL-1 β 、TNF- α 、COX-2、iNOS的mRNA表达水平降低;在02号化合物作用下,IL-1 β 、TNF- α 、iNOS的mRNA水平降低。

综上所述,细叶勾儿茶提取的01、02号化合物可剂量依赖性抑制NO的释放,具有一定抗炎活性。该化合物可不同程度抑制抗炎因子表达,其抗炎机制可能与NF- κ B信号通路相关。

参考文献

- [1] 滕红丽. 壮药铁包金的资源与品质研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2011.
- [2] 滕红丽. 壮药铁包金的药学及临床应用研究进展[J]. 中国药师,2010,13(6):876-878.
- [3] 吴玉强,杨兴,邓家刚,等. 铁包金提取物镇痛抗炎作用的研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(4):825-826.
- [4] 荆英珊,谢国勇,顾卫卫,等. 铁包金的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2017,36(1):49-53.
- [5] 韦丽富,周婷婷,梁建丽,等. 壮药铁包金的研究进展[J]. 中国民族民间医药,2015,24(23):30-31.
- [6] 滕红丽,陈科力,陈士林. 壮药铁包金及其药材商品的物种基础[J]. 中药材,2010,33(5):674-677.
- [7] LI Y, CHEN Y, XIE W, et al. Phenolic compounds from the stems and leaves of *Berberis lineata*(L.)DC[J]. Front Chem,2022,10:889441.
- [8] 徐霄龙,郭玉红,赵京霞,等. 参附黄方对斑马鱼炎症、巨噬细胞吞噬功能的影响[J]. 中医杂志,2020,6(23):2092-2097.
- [9] 魏伟. 炎症免疫反应软调节[J]. 中国药理学通报,2016,32(3):297-303.
- [10] YE L, MAO S, FANG S, et al. Increased serum romo1 was correlated with lung function, inflammation, and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Inflammation,2019,42(5):1555-1560.
- [11] 张锐,马继海,柴喜平,等. 独活济生汤对膝骨关节炎模型大鼠NF- κ B通路关键分子表达的影响[J]. 西部中医药,2023,36(8):15-19.
- [12] REN J, SU D, LI L, et al. Anti-inflammatory effects of Aureusidin in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via suppressing NF- κ B and activating ROS-and MAPKs-dependent Nrf2/HO-1 signaling pathways[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2020,387:114846.
- [13] CHEN K Y, WANG L C. Stimulation of IL-1 β and IL-6 through NF- κ B and sonic hedgehog-dependent pathways in mouse astrocytes by excretory/secretory products of fifth-stage larval *Angiostrongylus cantonensis*[J]. Parasit Vectors,2017,10(1):445.
- [14] 乔江,王叶,吴肖男,等. 丹荔疏通汤对慢性输卵管炎性阻塞模型大鼠TLR4/NF- κ B信号通路的影响[J]. 西部中医药,2024,37(10):1-5.
- [15] 马丽,冯程程,徐利娟,等. 温通活血乳膏对LPS诱导的RAW_{264.7}巨噬细胞TNF- α 、IL-6、NF- κ B表达的影响[J]. 中成药,2018,40(9):2058-2062.
- [16] ZHAO W R, SHI W T, ZHANG J, et al. *Tribulus terrestris* L. extract protects against lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage and zebrafish via inhibition of Akt/MAPKs and NF- κ B/iNOS-NO signaling pathways[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2021,2021:6628561.
- [17] 泽仁拉姆,袁瑞琪,李鑫宇,等. 藏荆芥乙醇提取物抗炎作用及机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2021,32(11):1632-1639.
- [18] 王慧哲,胡晓龙,汪豪. 环氧合酶-2抑制剂的研究进展[J]. 西北药学杂志,2021,36(6):1019-1026.
- [19] FERRER M D, BUSQUETS-CORTÉS C, CAPÓ X, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. Curr Med Chem,2019,26(18):3225-3241.
- [20] 王绍杰,张莹,梁晗业,等. 五味子甲素对炎性肠病小鼠结肠NF- κ B/COX-2信号通路的影响[J]. 西部中医药,2023,9(7):35-39.

收稿日期:2025-08-11

*基金项目:国家自然科学基金(U25A20151);国家重点研发计划项目(2022YFC3502201)。

作者简介:刘军洋(1994—),女,硕士学位。研究方向:民族医学理论及诊疗体系的研究。

△通讯作者:滕红丽(1964—),女,博士学位,主任医师。研究方向:民族医药。Email:13317806333@163.com。