

屏边三七总皂苷的抗炎作用初步评价研究

陆春美¹² 崔秀明^{2*}

(1.红河卫生职业学院 云南红河 661100; 2.云南省三七重点实验室 云南昆明 650550)

摘要: 目的 利用动物炎症模型评价屏边三七总皂苷的抗炎活性。方法 对二甲苯所致的耳肿胀模型小鼠进行给药实验, 计算模型小鼠的耳肿胀度和耳肿胀抑制率, 检测耳肿胀组织中炎症因子的含量, 分析其各小组的变化差异, 以探讨其抗炎的作用效果及机制。结果 除模型组外其余各组小鼠炎症耳肿胀度均显著降低 ($P < 0.05$); 其炎症组织中 TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂、NO 和 MDA 含量均显著降低 ($P < 0.05$)。结论: 屏边三七总皂苷具有一定的抗炎活性作用。

关键词: 屏边三七总皂苷; 抗炎活性; 作用机制

屏边三七为五加科人参属多年生阴生草本植物, 有民间调查显示其在治疗跌打损伤方面药用价值显著^[1-3]。但有关屏边三七的抗炎作用及临床研究尚未见系统报道。基于此, 本研究拟通过炎症小鼠模型做动物实验验证, 初步考察屏边三七皂苷的抗炎作用及机制, 为以后的临床研究开发提供一定的科学依据。

1. 材料:

1.1 动物

昆明小鼠, 性别各半, 年龄约为 6-8 周左右。(由湖南省长沙市天勤生物技术公司提供)

1.2 药品、试剂与仪器

1.2.1 主要的实验药品:

布洛芬、佛波酯 (TPA)、二甲苯、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、E₂ (PGE₂) ELISA 检测试剂盒、白细胞介素 1 β (IL-1 β) ELISA 检测试剂盒、丙二醛 (MDA) 检测试剂盒,

1.2.2 主要的仪器:

电子天平 CP114, 万能高速粉碎机, 超纯水器, 超声波清洗仪 BL10-250A, 旋蒸器, Epoch 型酶标仪, G 紫外可见分光光度计, 电热恒温干燥箱, 台式离心机, 血管钳, 眼科镊子。

2. 方法

2.1 屏边三七总皂苷的制备

2.1 屏边三七总皂苷的制备

屏边三七根茎洗净后阴干打粉, 称取粉末 1000g, 提取液浓度为 70% 乙醇 (10L), 超声提取 3 次, 每次提取时间 40 min。合并浓缩形成浸膏^[5]。按柱总体积的 1/5 体积比的水溶解后大孔树脂上样, 用纯净水、30% 浓度的乙醇、70% 浓度的乙醇依次进行洗脱后收集最后洗脱部位, 经旋干后的黄白色粉末即得含量约为 31.69% 的屏边三七总皂苷^[7-8]。

表 1 各试验组小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率的测定分析 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	给药剂量/mg.kg ⁻¹	耳肿胀度/mg	抑制率%
模型对照组	--	6.9 ± 0.4	--
布洛芬组	10	2.1 ± 0.2**	71.24%
屏边三七皂苷高剂量组	100	2.4 ± 0.2**	65.71%
屏边三七皂苷中剂量组	50	3.4 ± 0.6*	51.42%
屏边三七皂苷低剂量组	25	5.2 ± 0.18*	40.01%

注: 表格中 * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, 下同

分析表 1 中的数据可知, 与模型对照组比较, 布洛芬组及屏边三七皂苷高中低剂量组小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率均表现出显著差异 ($P < 0.05$), 表明屏边三七皂苷对耳肿胀小鼠模型具有抗炎作用。

表 2 各组模型小鼠耳肿胀组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 PGE₂ 的测定结果 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/mg.kg ⁻¹	TNF- α pg/mg	IL-1 β pg/mg	PGE ₂ pg/mg
模型对照组	--	197.14 ± 7.1	298.54 ± 1.1	110.34 ± 1.6
布洛芬组	10	92.23 ± 0.9**	209.34 ± 1.9**	53.34 ± 1.4**
屏边三七皂苷高剂量组	100	110.45 ± 2.5**	213.33 ± 1.8**	68.34 ± 1.7**

2.2 动物试验

2.2.1 屏边三七皂苷对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响考察

取小鼠 50 只, 适应性喂养 2 天后, 观察其生理活动为正常后, 平均分为 5 组, (模型对照组、阳性对照组、高、中、低三个剂量实验药物组。阳性对照组灌喂布洛芬 (10mg/kg), 实验药物三个剂量组分别按屏边三七皂苷 (100mg/kg)、(50mg/kg)、(25.0 mg/kg) 灌喂, 模型对照组小鼠灌喂 0.9% 生理盐水, 每天 1 次, 连续给药一周, 最后一次给药后 1 小时在小鼠右耳内、外侧各均匀涂抹 10 μ L 二甲苯, 用左耳作为对照 (涂抹生理盐水)^[9-12]。涂抹致炎药物 1.0h 后, 剪下小鼠左右耳廓, 用 7mm 打孔器在两耳相同部位处取下耳片并称重其质量, 按照以下公式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^[6];

肿胀抑制率 (%) = ([模型对照组肿胀度平均值 - 给药组肿胀度平均值] / 模型对照组平均肿胀度) × 100%^[6]。

2.2.2 屏边三七对二甲苯致炎小鼠耳肿胀组织中 TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂ 含量的影响考察:

将上述打孔取下的肿胀小鼠模型耳肿胀组织, 去皮后绞碎放入装有冰生理盐水的试管中, 匀浆处理后离心分离, 取上层清液放置 -80 °C 冰箱保存备用。室温解冻后采用 ELISA 法以酶标仪测定相关 T 炎症因子^[12-13]。

2.2.3 屏边三七总皂苷对小鼠耳耳肿胀组织中 MDA、NO 含量的影响变化试验

取上述上清液室温解冻, 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^[13-14]

2.3 数据分析方法

采用 SPSS20.0 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^[16-9]。3. 结果与分析

屏边三七皂苷中剂量组	50	124.17 ± 1.7 [*]	236.73 ± 1.4 [*]	89.34 ± 4.8 [*]
屏边三七皂苷低剂量组	25	162.67 ± 2.5	253.56 ± 1.7	96.34 ± 5.5

分析表2的数据可知, 布洛芬组和屏边三七皂苷高、中剂量组中炎症组织的炎症因子含量均显著降低 ($P < 0.05$); 低剂量组上述指标下降不明显 ($P > 0.05$)。

表3 各组模型小鼠耳肿胀组织中 NO 和 MDA 的含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/mg.kg ⁻¹	NO umol/mg	MDA nmol/mg
模型对照组	--	6.81 ± 0.9	12.97 ± 1.1
布洛芬组	10	3.77 ± 1.4 ^{**}	7.32 ± 1.7 ^{**}
屏边三七皂苷高剂量组	100	4.11 ± 3.2 ^{**}	8.03 ± 4.1 ^{**}
屏边三七皂苷中剂量组	50	4.99 ± 7.4 [*]	9.14 ± 3.9 [*]
屏边三七皂苷低剂量组	25	6.17 ± 2.9 [*]	11.01 ± 4.6

从表3的数据可以看出, 与模型对照组比较, 阳性药物组和屏边三七皂苷高、中剂量组小鼠的NO和MDA含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

4. 讨论

炎症反应的实质是机体受感染或损伤时因防御机制被激活而释放出过量自由基的过程, 机体受刺激后释放炎症因子刺激组织, 引起机体局部发生红肿和热痛^[10]。进一步引起肿瘤坏死因炎症因子释放, 造成炎症级联放大反应^[12-15], 从而导致机体各种病变的发生。

本实验中, 屏边三七总皂苷实验组与模型对照比较, 变化差异显著, 表明屏边三七总皂苷具有一定抗炎活性, 其抗炎机制与抑制TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂、NO 和 MDA 的释放有关^[13-14]。

参考文献:

[1]林三仁, 李渊.加强炎症在肿瘤发生发展中作用的研究[J].中华内科杂志.2014,53(05): 345-346.
 [2]杨崇仁, 姜志东.屏边三七根茎中的两个新的齐墩果酸皂甙[J]. 云南植物研究, 1985.7(01): 103-104.
 [3] 郑光植,杨崇仁. 三七生物学及其应用[M].北京:科学出版社, 1994: 135-136.
 [4] 孙玉琴,黄天卫.屏边三七的花粉活力和柱头可授性研究[J].特产研究 2012(04): 33-37.
 [5] 邹坤,朱妹.PLC 结合 APLIMS/MS 法研究屏边三七的皂苷成分[J].三峡大学学报, 2002,24(04): 355-357.

[6]何勤敏.屏边三七化学成分及药理活性的研究.[D]昆明理工大学. 2017.06.

[7]李文仕.分光光度法测定三七伤药胶囊中三七总皂苷的含量[J].黑龙江医药,2010(01): 5-7.

[8] 何毓敏,科明. 竹节参总皂苷的制备工艺及含量测定[J].中国中药杂志. 2008.33(22): 2607-2611.

[9]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 (03): 120-123.

[10] 马莹慧,冯波.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.

[11] 梁统,覃燕梅.侧柏总黄酮的抗炎作用[J].沈阳药科大学学报,2004(04): 301-303.

[12]薛焱,刘欣媛.蒙药阿给水提物的抗炎作用及其机制研究[J]中国药房.2020 (31) 12: 1424-1428.

[13]崔立坤,姚静,辛勤.山姜素对角叉胶诱导的小鼠急性炎症的抗炎作用及机制研究[J]中国临床药理学.2019 (35).19: 2276-2280.

基金项目:
云南省三七资源重点实验室应用基础研究计划项目青年基金 2017JH3701,

云南省教育厅科学研究基金教师类项目 2018JS91
云南省教育厅科学研究基金教师类项目 2020JS02