

意大利牛舌草提取物抗炎镇咳与体外抑菌作用*

徐晓琴¹, 陈良², 张娟¹, 孙宇¹, 卿德刚¹, 倪慧¹

(1.新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 乌鲁木齐 830002; 2.新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000)

摘要 **目的** 研究意大利牛舌草提取物抗炎镇咳及体外抑菌作用, 为临床应用提供科学依据。**方法** 采用角叉菜胶致大鼠足趾肿胀实验, 观察意大利牛舌草不同提取物的抗炎作用; 采用浓氨水诱导小鼠止咳实验, 观察不同提取物的镇咳作用; 采用试管稀释法, 评价不同提取物对 5 种菌株(金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白念珠菌)的体外抑菌作用。**结果** 意大利牛舌草 $0.63 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 乙醇提取部位、 $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 乙酸乙酯与正丁醇部位在致炎后的不同时间段内抑制大鼠足趾肿胀程度显著($P < 0.01$), $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 乙醇提取部位抑制炎症效果与地塞米松组作用相当, 正丁醇部位与乙醇部位的抑制炎症效果差异无统计学意义; 小鼠镇咳实验中, $0.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 乙醇提取部位与 $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 正丁醇部位的延长小鼠咳嗽潜伏期作用与急支糖浆差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且上述部位的 $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组小鼠咳嗽次数明显减少($P < 0.05$); 4 种意大利牛舌草提取物分别对枯草芽孢杆菌具有抑菌活性, 其中乙酸乙酯部位与水溶部位的抑制作用较强。**结论** 意大利牛舌草乙醇提取部位及正丁醇部位具有抗炎、镇咳的药理活性, 而乙酸乙酯部位对枯草芽孢杆菌具有体外抑制活性。



关键词 意大利牛舌草; 抗炎作用; 镇咳作用; 抑菌作用

中图分类号 R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)06-0726-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.06.008

开放科学(资源服务)标识码(OSID)

Effects of Extracts of *Anchusa italica* Retz. on Anti-inflammatory, Cough-relieving and Bacteriostasis *in Vitro*

XU Xiaojin¹, CHEN Liang², ZHANG Juan¹, SUN Yu¹, QING Degang¹, NI Hui¹ (1. Xinjiang Institute of Chinese Traditional Medical and Ethical Materia Medica, Urumqi 830002, China; 2. Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT Objective To investigate the anti-inflammatory, antitussive and *in vitro* bacteriostatic effects of the extract of *Anchusa italica* Retz., so as to provide scientific basis for clinical application. **Methods** The anti-inflammatory effect of different extracts was observed by inflammation model induced by carrageen glue toes swelling of rats; Antitussive effect was observed by ammonia-induced cough model; The *in vitro* bacteriostasis effects of different extracts on 5 strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*) was evaluated by the tube dilution method.

Results The swelling of rat toes was significantly inhibited at different time after inflammation by $0.63 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of ethanol extracts from *Anchusa italica* Retz., $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of ethyl acetate and n-butanol parts ($P < 0.01$), and The inhibitory effect of $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ethanol extracts on inflammation was similar to that of dexamethasone group, but there was no statistically significant difference between n-butanol parts and ethanol parts; In the antitussive experiment in mice, $0.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ethanol extracts, and $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of the n-butanol extracts had better effect than the *jizhi* syrup in prolonging the incubation period of cough in mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the parts of the $3.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ dose group could significantly reduced the frequency of cough ($P < 0.05$); All extracts had antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, and the inhibition levels of ethyl acetate and water soluble parts were stronger. **Conclusion** The ethanol extracts and n-butyl alcohol parts has anti-inflammatory and antitussive pharmacological activities, and ethyl acetate parts has inhibitory activity against *Bacillus subtilis in vitro*.

KEY WORDS *Anchusa italica* Retz.; Anti-inflammatory activity; Antitussive effects; Bacteriostatic action

意大利牛舌草(*Anchusa italica* Retz.)又名牛舌草^[1]“高孜万”^[2], 源于紫草科牛舌草属植物, 主要分布于地中海和热带地区^[3], 为维吾尔医临床常用药, 收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》维药分册中, 全草入药, 具有生湿生热、润燥消炎、止咳平喘等功效, 广泛用于心血管疾病与呼吸系统疾病的治疗, 如肺炎、高血压、结核病、寒性咳嗽、感冒等^[4], 是维吾尔医

经典复方不可缺少的主药之一^[5]。意大利牛舌草含有挥发油、黄酮类、三萜类、酚类和生物碱类等多种成分^[6], 现代药理学研究证实其具有抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、中枢神经系统作用、内分泌作用以及保护心血管等药理活性^[5], 但是, 在抗炎、镇咳、体外抑菌等方面的研究较少, 本课题组基于意大利牛舌草的临床应用, 对不同提取物展开活性评价, 筛选其有效部位, 为阐明

意大利牛舌草抗炎、镇咳的药理作用及发挥药效的物质基础提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠,无特定病原体(SPF)级,体质量 150~180 g,110 只,雄性;昆明种小鼠,SPF 级,18~22 g,100 只,雌雄各半,购自新疆实验动物研究中心。实验动物生产许可证号:SYXK(新)2016-0007。在温度为 20~24 ℃、相对湿度为 40%~60%、12 h 光照交替的环境中饲养,自由摄食饮水。

1.2 仪器 Mettler Toledo AB265-S 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司,感量:0.1 mg);UPT-I-5T 优普超纯水仪(成都纯化科技有限公司);YLS-8A 多功能诱咳引喘仪(济南益延科技有限公司);BSC-1300II A/B3 生物安全柜(上海博讯实业有限公司);SPX-250B-Z 生化培养箱(上海博讯实业有限公司);KXQ-SG46.280 高压灭菌锅(上海佳腾实验设备有限公司);JM300/0.1 电子天平(余姚纪铭称重校验设备有限公司,感量:0.1 mg)。

1.3 材料 意大利牛舌草(批号:15120405,新疆奇康哈博中维药饮片有限公司,经新疆医科大学李永和教授鉴定,符合维吾尔药地方标准要求);意大利牛舌草提取物(实验室自制,含芦丁 0.52%);角叉菜胶(Sigma 公司,25 g,批号:SLBR0530V);醋酸地塞米松片(天津药业集团新郑股份有限公司,批号:141014,规格:每片 0.75 mg);急支糖浆(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,规格:200 mL);左氧氟沙星(武汉精细化工,批号:1502102);营养肉汤培养基(青岛日水生物有限责任公司,批号:20150204);营养琼脂培养基(青岛日水生物有限责任公司,批号:20160601);二甲亚砜(SIGMA-VETEC 公司,批号:WXDB2507V)。

菌株:大肠埃希菌(ATCC25922);铜绿假单胞菌(ATCC27853);金黄色葡萄球菌(ATCC25923);白念珠菌[CMCC(F)98001];枯草芽孢杆菌(CMCC63501),

收稿日期 2018-02-06 修回日期 2018-11-06

基金项目 * 新疆维吾尔自治区公益性科研项目(KYGY2016173);新疆维吾尔自治区中医民族医药科技人才培养项目(2016-03-07)

作者简介 徐晓琴(1984-),女,新疆乌鲁木齐人,副研究员,硕士,从事中药质量控制与新制剂开发与研究工作。ORCID: 0000-0002-0668-6627。电话:0991-8855334, E-mail: xjxuxq@163.com。

通信作者 倪慧(1964-),女,新疆乌鲁木齐人,研究员,硕士,从事中药民族药研究与开发工作。电话:0991-8855334, E-mail: xjnihui@163.net。

以上菌株购自新疆维吾尔自治区药品检验所。

1.4 意大利牛舌草提取物的制备 取干燥的意大利牛舌草 8.0 kg,粉碎成粗粉,以 25 倍量体积分数为 70%乙醇溶液加热回流提取 1.5 h,提取 2 次,滤过,收合并提取液,低温浓缩至完全无醇味,取适量浓缩干燥得到乙醇粗提物(提取率 17.37%);剩余药液分批提取适量,依次以石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇溶剂萃取(其提取率分别为 0.50%, 0.48%, 0.74%, 3.88%),收集各部位萃取液及水溶液减压回收溶剂,干燥得到不同萃取部位浸膏,其中乙酸乙酯、正丁醇、水溶物中芦丁含量分别为 0.32%, 1.57%, 0.17%。

1.5 不同提取物抗炎实验 采用大鼠足趾肿胀急性炎症模型^[7-8],将 SD 大鼠按照随机数字表分为 11 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型对照组、地塞米松组(醋酸地塞米松 5 mg·kg⁻¹),以及乙醇粗提物、乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、水溶物的大、小剂量组(按生药量计为 2.52, 0.63 g·kg⁻¹),按 10 mL·kg⁻¹容积每日灌胃 1 次,空白对照组给予等量 0.9%氯化钠溶液,连续给药 7 d,末次给药 1 h 后用千分尺测定每只大鼠右后足趾厚度,然后在右后脚跖皮下注射 1%角叉菜胶溶液 0.1 mL,空白对照组注射等容积 0.9%氯化钠溶液,分别于注射后 0.5, 1, 2, 4, 6 h 测量大鼠右后足趾厚度,按下式计算足趾肿胀度(mm)。

肿胀度(mm) = 致炎后足趾厚度 - 致炎前足趾厚度。

1.6 不同提取物镇咳实验 取咳嗽敏感小鼠按照随机数字表分成 10 组^[9-10],每组 10 只,分别为空白对照组(0.9%氯化钠溶液,30 mL·kg⁻¹),急支糖浆组(急支糖浆,13 g·kg⁻¹),以及乙醇粗提物、乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、水溶物大、小剂量组(按生药量计为 3.04, 0.90 g·kg⁻¹),每天灌胃给药 1 次,连续 5 d,灌胃体积均为 0.2 mL·(10 g)⁻¹,第 5 天给药 1 h 后,将小鼠逐一放入诱咳引喘仪的密闭干燥笼具内,恒压喷入体积分数为 25%浓氨水气雾,喷雾 4 s 引咳,观察记录咳嗽潜伏期及 2 min 内咳嗽次数,比较不同提取物的镇咳作用。咳嗽标准:腹肌收缩,同时张大嘴,有时有咳声,若潜伏期<1 min,且在 1 min 内出现 3 次以上典型咳嗽者为敏感动物,否则淘汰。

1.7 不同提取物体外抑菌实验

1.7.1 菌悬液的配置 取检测菌冻存液,37 ℃复苏,取冻存液 10 μL 加入营养肉汤培养基 5 mL 中,37 ℃摇床扩大培养 12 h,经平板分离后用无菌接种环挑选单菌落,加入营养肉汤培养基 50 mL,培养 16 h,麦氏比浊法确定菌液浓度至 0.5 麦氏标准液。

1.7.2 药物配置 称取 4 种提取物干粉各 2.56 g, 分别溶于营养肉汤 10 mL 中, 乙酸乙酯提取物溶于含 4%二甲亚砜的营养肉汤培养基 10 mL 中, 搅拌混匀, 115 ℃, 30 min 灭菌。按两倍梯度稀释后并按 1 : 1 与含菌液培养基混合, 配置左氧氟沙星浓度为 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 和 0.5 mg · mL⁻¹ 的溶液。

1.7.3 左氧氟沙星 (阳性药) 配置 按两倍梯度稀释法, 配置左氧氟沙星浓度为 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 和 0.5 μg · mL⁻¹ 的溶液。

1.7.4 体外抑菌实验 采用试管稀释法, 取配制好的浓度药液加入试管每管 3 mL, 每管加待测菌液 3 mL, 37 ℃ 培养箱培养 24 h。结果判定以肉眼观察, 以试管中无细菌生长者药物最低浓度为该实验菌最小抑菌浓度 (MIC), 如药物高浓度组颜色较深无法观测时, 取药物前 3 个稀释度做涂布观测; 吸取未长菌试管培养液, 每皿 100 μL 涂布于营养琼脂平板, 续培养 48 h 后观察菌的生长情况, 无菌生长平板所含的最低药物浓度即为最低杀菌浓度值 (MBC)。

1.8 统计学方法 采用 SPSS17.0 版软件统计, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 多组间均数比较采用 One-way ANOVA 处理, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗炎实验结果 与空白对照组比较, 模型对照组大鼠足趾肿胀度显著增加 ($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 0.63, 2.52 g · kg⁻¹ 意大利牛舌草乙醇提取物组在致炎后 2 h 内各时间段抑制大鼠足趾肿胀程度显著 ($P < 0.01$); 2.52 g · kg⁻¹ 乙酸乙酯与正丁醇组在致炎后的 4 h 各时间段内抑制大鼠足趾肿胀程度显著 ($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 镇咳实验结果 在延长咳嗽潜伏期方面, 与模型对照组比较, 急支糖浆组、乙酸乙酯大剂量组, 正丁醇大、小剂量组实验小鼠的咳嗽潜伏期均延长 ($P < 0.05$); 乙醇提取物大、小剂量组及正丁醇大剂量组的延长潜伏期作用与急支糖浆组差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在减少咳嗽次数方面, 急支糖浆组, 乙醇提取物大剂量组, 乙酸乙酯及正丁醇大、小剂量组, 水溶物大剂量组实验小鼠的咳嗽次数均减少, 其中乙酸乙酯大剂量组与正丁醇大剂量组咳嗽次数较急支糖浆组明显减少 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 体外抑菌实验结果 由平板计数验证的菌落数均在范围内, 则工作液浓度约为 10⁶ cfu · mL⁻¹, 符合营养肉汤稀释法前提条件, 见表 3。意大利牛舌草 4 种不同提取物对 5 种菌株的抑制能力不同。见表 4。

表 1 不同极性提取物对大鼠足趾肿胀度的影响
Tab.1 Effect of extracts with different polar on toe swelling of rats mm, $\bar{x} \pm s$, $n = 10$

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	足趾肿胀度				
		0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
空白对照组	—	1.68±0.38 ^{*1}	1.26±0.6 ^{*1}	1.01±0.30 ^{*1*2}	0.32±0.32 ^{*1}	0.09±0.17 ^{*1}
模型对照组	—	2.55±0.25 ^{*3}	2.40±0.34 ^{*3}	2.37±0.31 ^{*3}	1.35±0.27 ^{*3}	0.47±0.29 ^{*2}
地塞米松组	5	1.27±0.41 ^{*1}	1.52±0.41 ^{*1}	1.30±0.12 ^{*1}	0.46±0.20 ^{*1}	0.12±0.22 ^{*4}
乙醇						
小剂量组	0.63	1.57±0.59 ^{*1}	1.89±0.71 ^{*4}	1.91±0.42 ^{*4*3}	1.05±0.64 ^{*3}	0.46±0.59 ^{*2}
大剂量组	2.52	1.36±0.32 ^{*1}	1.76±0.40 ^{*1}	1.68±0.56 ^{*1}	0.86±0.53 ^{*4*2}	0.32±0.34
乙酸乙酯						
小剂量组	0.63	2.14±0.40 ^{*3}	1.95±0.61 ^{*4*2}	1.91±0.64 ^{*4*3}	1.22±0.55 ^{*3}	0.31±0.28
大剂量组	2.52	1.80±0.79 ^{*1*2}	1.53±0.13 ^{*1}	1.68±0.42 ^{*1}	0.94±0.60 ^{*1*2}	0.18±0.20 ^{*4}
正丁醇						
小剂量组	0.63	1.96±0.64 ^{*1*3}	2.15±0.57 ^{*3}	2.03±0.71 ^{*3}	1.14±0.46 ^{*3}	0.18±0.24 ^{*4}
大剂量组	2.52	1.68±0.43 ^{*1}	1.74±0.27 ^{*1}	1.68±0.25 ^{*1*2}	0.95±0.31 ^{*1*2}	0.14±0.19 ^{*4}
水溶物						
小剂量组	0.63	1.70±0.33 ^{*1}	2.10±0.44 ^{*3}	2.13±0.27 ^{*3}	1.50±0.51 ^{*3}	0.52±0.34 ^{*3}
大剂量组	2.52	1.85±0.54 ^{*1*3}	2.07±0.35 ^{*2}	1.98±0.41 ^{*4*3}	1.24±0.43 ^{*1*2}	0.24±0.21

与模型对照组同一时间点比较, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*4} $P < 0.05$; 与地塞米松组同一时间点比较, ^{*2} $P < 0.05$, ^{*3} $P < 0.01$
Compared with model control group at the same time point, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*4} $P < 0.05$; Compared with dexamethasone group at the same time point, ^{*2} $P < 0.05$, ^{*3} $P < 0.01$

表 2 各组小鼠对浓氨水致咳嗽反应

Tab.2 Ammonia-induced cough in different groups of mice

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期/ s	$\bar{x}\pm s, n=10$ 2 min 咳嗽 次数
模型对照组	-	30.87±6.44 ^{*1}	45.35±10.04 ^{*1}
急支糖浆组	13	40.47±2.29 ^{*2}	36.77±9.60 ^{*2}
乙醇			
小剂量组	0.90	27.33±7.49 ^{*3}	37.15±8.92
大剂量组	3.04	29.83±3.61 ^{*1}	37.03±9.35 ^{*2}
乙酸乙酯			
小剂量组	0.90	32.97±12.94	30.87±6.67 ^{*4}
大剂量组	3.04	41.74±9.15 ^{*2}	21.93±5.46 ^{*3*4}
正丁醇			
小剂量组	0.90	41.42±14.23 ^{*2}	32.37±10.15 ^{*4}
大剂量组	3.04	51.95±12.62 ^{*1*4}	24.22±7.02 ^{*3*4}
水溶物			
小剂量组	0.90	32.90±11.48	39.00±10.43
大剂量组	3.04	39.47±10.53	36.4±6.69 ^{*2}

与急支糖浆组比较, ^{*1}*P*<0.05, ^{*3}*P*<0.01; 与模型对照组比较, ^{*2}*P*<0.05, ^{*4}*P*<0.01

Compared with *jizhi* syrup group, ^{*1}*P* < 0. 05, ^{*3}*P* < 0. 01; Compared with model control group, ^{*2}*P*<0.05, ^{*4}*P*<0.01

3 讨论

本实验采用经典的角叉菜胶致大鼠足趾肿胀模型评价意大利牛舌草各提取部位的抗炎药理活性。在模

型建立过程中,模型对照组大鼠足趾肿胀度较空白对照组显著增加,表明大鼠足趾肿胀模型造模成功,致炎后大鼠足趾发生炎症,肿胀度随时间发生相应的变化。致炎 0.5 h 后,空白对照组与模型对照组肿胀度值达到高峰,0.5~2 h 内,肿胀度值变化较小,而在 4 h 后两组的肿胀度值均开始回落,空白对照组在 6 h 后肿胀逐渐恢复正常,模型对照组值在 6 h 后回落明显,考虑与角叉菜胶所致机体的急性炎症反应有关,此结果与国内相关报道接近^[12]。

本研究显示,意大利牛舌草乙醇提取部位(0.63, 2.52 g·kg⁻¹)在致炎后 2 h 抑制大鼠足趾肿胀程度显著(*P*<0.01),2.52 g·kg⁻¹剂量组在致炎 4 h 内抑制炎症作用与醋酸地塞米松组作用相当,正丁醇部位与乙醇部位的抑制炎症效果差异无统计学意义,提示乙醇粗提取部位及正丁醇部位具有抗炎活性;小鼠镇咳实验反应,乙醇提取物组(3.04,0.90 g·kg⁻¹)与正丁醇部位组(3.04 g·kg⁻¹)延长小鼠咳嗽潜伏期作用与急支糖浆组作用相当(*P*<0.05或*P*<0.01),并且乙醇提取部位、正丁醇部位 3.04 g·kg⁻¹剂量组咳嗽次数明显减少(*P*<0.05),此结果提示意大利牛舌草乙醇提取部位、正丁醇部位均具有镇咳作用;二倍试管稀释法筛选不同提取物的抑菌活性实验显示,4 种意大利牛舌草提取物分别对枯草芽孢杆菌具有抑菌活性,其中乙酸乙酯部位与水溶部位的抑制水平较其他部位明显。

表 3 菌液稀释液浓度验证结果

Tab.3 Verification results of diluent concentration of bacteria liquid

菌株	菌落数							
	1×10 ¹ cfu·mL ⁻¹				1×10 ² cfu·mL ⁻¹			
	皿 1	皿 2	皿 3	均值	皿 1	皿 2	皿 3	均值
大肠埃希菌	27	32	29	29.33	127	188	92	135.67
金黄色葡萄球菌	6	2	1	3.00	103	96	80	93.00
枯草芽孢杆菌	1	19	17	12.33	129	207	211	182.33
铜绿假单胞菌	8	10	13	10.33	130	133	143	135.33
白念珠菌	31	21	22	24.67	191	182	228	200.33

表 4 牛舌草提取物对 5 种菌株 MIC 和 MBC 结果

Tab.4 MIC and MBC of extracts of *Anchusa italica* Retz. on five strains

组别	大肠埃希菌		金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌		铜绿假单胞菌		白念珠菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
左氧氟沙星组	0.5×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	1×10 ⁻³	1×10 ⁻³	4×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	2×10 ⁻³
乙醇提取物组	>128	>128	64	>128	32	128	>128	>128	>128	>128
乙酸乙酯提取物组	>128	>128	>128	>128	4	32	64	>128	>128	>128
正丁醇提取物组	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	64	>128
水溶物组	>128	>128	>128	>128	4	64	64	>128	128	>128

本研究表明,意大利牛舌草乙醇粗提物具有抗炎、镇咳的药理活性,其正丁醇部位的活性较其他部位明显,并且与乙醇粗提取物的作用相当,在有效物质提取富集方面,正丁醇部位的提取率均高于其他极性部位,提示意大利牛舌草提取物在抗炎、镇咳方面显现出药理活性,值得深入研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(维吾尔药分册)[S]. 1998:14.
- [2] 阿布热依木·卡地尔. 中华本草·维吾尔药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005:99.
- [3] KETABCJI S, MOATARI A, SHADRAM M, et al. The antiinfluenzavirus activity of *Anchusa italic*[J]. Asian J Exp Biol Sci, 2011, 2(4): 558-561.
- [4] KAZEMI M. Essential oil composition of *Anchusa itedica* from irma[J]. Chem Nat Compounds, 2013, 49(2): 369-370.
- [5] 何媛媛, 王金凤, 郭丽娜, 等. 意大利牛舌草化学成分及药

- 理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2017, 10(1): 114-116.
- [6] 常文, 代已果, 马桂芝. 意大利牛舌草化学成分的初步研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(10): 85-86.
- [7] 肖威, 斯拉甫·艾白, 李治建. 新疆一枝蒿抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12): 2836-2837.
- [8] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1147-1148.
- [9] 麦合苏木·艾克木, 努尔江·肉孜, 于洋, 等. 维药神香草乙酸乙酯部位的抗炎、止咳、祛痰及平喘作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2014, 20(4): 39-42.
- [10] 马迪, 向阳, 王丹, 等. 天山花椒果实和枝叶提取物的药效比较研究[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(1): 43-46.
- [11] 戴卫波, 吴凤荣, 肖文娟, 等. 叶下珠甲醇提取物抗炎镇痛及体外抑菌作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(4): 978-980.
- [12] 肖百全, 朱少璇, 杨威, 等. 角叉菜胶致大鼠足肿胀模型探讨及其机制研究[J]. 中国实用医药, 2008, 23(3): 63-65.

7-甲氧基-4'-羟基异黄酮促进大鼠成骨细胞成骨性分化的作用机制*

宋明甲¹, 文益民¹, 吴晓燕¹, 柴晓亮¹, 周建²

(中国人民解放军联勤保障部队九四〇医院 1. 脊柱外科; 2. 骨科研究所, 兰州 730050)

摘要 目的 探讨 7-甲氧基-4'-羟基异黄酮(MHIF)促进成骨细胞成熟矿化是否与 NO/cGMP/sGC 信号通路相关。方法 检测成骨细胞经不同浓度(0, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ mol·L⁻¹) MHIF 处理后骨钙素和碱性磷酸酶确定最适药物浓度。使用一氧化合成酶阻断剂 *N*-单甲基-*L*-精氨酸(L-NMA)处理成骨细胞, 观察 MHIF 对骨钙素和碱性磷酸酶影响, 一氧化氮(NO)和 3'-5'-环鸟苷-磷酸(cGMP)的含量; 应用蛋白质印迹检测细胞中蛋白可溶性的鸟氨酸环化酶和蛋白激酶 G 的表达水平。结果 经 10⁻⁶ mol·L⁻¹ MHIF 处理后成骨细胞中碱性磷酸酶活性和骨钙素的含量升高, 预先使用 L-NMA 处理成骨细胞后, MHIF 提高成骨细胞中碱性磷酸酶活性和骨钙素含量的作用受到抑制, MHIF 提高一氧化氮合酶(NOS)、NO、cGMP、sGC 和 PKG 表达均受到抑制。结论 MHIF 可通过 NO/cGMP/sGC 信号通路促进体外培养成骨细胞成熟与矿化。

关键词 7-甲氧基-4'-羟基异黄酮; 成骨细胞; 骨钙素; *N*-单甲基-*L*-精氨酸

中图分类号 R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)06-0730-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.06.009

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Mechanism of 7-Methoxy-4'-hydroxyisoflavone on the Promotion of Osteogenesis Is Differentiation of Rat Osteoblast Cultured

SONG Mingjia¹, WEN Yiming¹, WU Xiaoyan¹, CHAI Xiaoliang¹, ZHOU Jian² (1. Spinal Surgery; 2. Institute of Orthopaedics, Joint Logistics Support Force 940 Hospital, CPLA, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT Objective To determine whether 7-methoxy-4'-hydroxyisoflavone promote maturation of osteoblasts. **Methods** Osteoblasts was treated by different concentrations (0, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ mol·L⁻¹) of 7-methoxy-4'-hydroxyisoflavone. The concentration of osteocalcin (OC) and alkaline phosphatase (ALP) were determined. The expression levels of protein sGC and PKG-1 in cells were detected by Western blotting. **Results** The group of 10⁻⁶ mol·L⁻¹ significantly increased ALP activity and OC content in osteoblasts. The effect of L-NMA on ALP activity and OC content in osteoblasts was