

霍山石斛的抗炎作用

汪蒙蒙, 季兆洁, 甘江华, 俞年军, 陈卫东, 彭代银*, 韩岚*

(安徽中医药大学药学院, 中药复方安徽省重点实验室,
安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 合肥 230012)

[摘要] **目的:** 观察霍山石斛的抗炎作用。**方法:** 60只昆明种小鼠, 随机分为正常组、模型组、石斛高、中、低剂量组(4, 2, 1 g·kg⁻¹), 醋酸地塞米松组(醋酸地塞米松, 0.01 g·kg⁻¹); 连续灌胃给药14 d; 末次给药1 h后, 于小鼠右耳的耳中部两侧滴二甲苯20 μL 建立耳肿胀模型。1 h后断头处死所有小鼠, 计算各组小鼠耳肿胀率。健康SD大鼠36只, 分别为正常组、模型组、霍山石斛高、中、低(2.8, 1.4, 0.7 g·kg⁻¹)剂量组、醋酸地塞米松组。连续灌胃给药7 d。末次灌胃给药1 h后, 于各组大鼠的右后肢足趾皮下注射10%新鲜鸡蛋清建立足肿胀模型。分别于0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 h时, 测量各大鼠的右后足周长, 计算大鼠的足肿胀度。取SD大鼠60只, 向双侧腹股沟皮下植入无菌干燥棉球, 分组同上。第2天灌胃给药, 连续14 d。末次给药后, 取出棉球, 计算肉芽肿抑制率; 检测各组大鼠血清中肿瘤坏死因子-α(TNF-α), 白细胞介素-1β(IL-1β), 白细胞介素-2(IL-2), 白细胞介素-6(IL-6), γ-干扰素(IFN-γ)含量。**结果:** 与正常组比较, 模型组耳肿胀率、足肿胀度显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 霍山石斛高、中、低剂量组均可明显降低小鼠耳肿胀率($P < 0.01$); 霍山石斛高、中剂量组足肿胀度明显降低($P < 0.05, P < 0.01$); 给药各组棉球肉芽干重显著下降($P < 0.01$), 胸腺、脾脏指数没有显著性变化; 与正常组比较, 模型组大鼠血清中炎症因子含量显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 霍山石斛高、中、低剂量组和醋酸地塞米松组炎症因子含量显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:** 霍山石斛能够有效抑制急、慢性炎症反应。

[关键词] 霍山石斛; 抗炎作用; 耳肿胀; 足肿胀; 棉球肉芽肿

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0076-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192004

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190705.1204.003.html>

[网络出版时间] 2019-07-05 16:34

Anti-inflammatory Effect of Dendrobii Huoshanense Herba

WANG Meng-meng, JI Zhao-jie, GAN Jiang-hua, YU Nian-jun, CHEN Wei-dong, PENG Dai-yin*, HAN Lan*
(School of Pharmacy of Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Province Key Laboratory of Chinese Medicinal Compounds, Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement, Hefei 230012, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the anti-inflammatory effect of Dendrobii Huoshanense Herba. **Method:** Totally 60 Kunming mice were randomly divided into normal group, model group, high, middle and low-dose Dendrobii Huoshanense Herba groups (DHS-H, DHS-M, DHS-L, 4, 2, 1 g·kg⁻¹) and dexamethasone acetate group (DXMS, 0.01 g·kg⁻¹). The rats were intragastrically administered for 14 days. After the last administration for 1 h, a total of 20 μL of xylene was added to both sides of the right ear center of the mice to establish the ear swelling model. All of the mice were decapitated 1 h later, and the ear swelling inhibition rate of

[收稿日期] 20181212(010)

[基金项目] 安徽道地中药材品质提升协同创新中心项目(皖教科[2013]2号);安徽省教育厅项目(皖教秘科[2014]44号);安徽省科技重大专项计划项目(16030801104)

[第一作者] 汪蒙蒙, 在读硕士, 从事中药药理学研究, E-mail: 1109129099@qq.com

[通信作者] * 彭代银, 教授, 博士生导师, 从事中药资源研究与开发、中药药理学研究, Tel: 0551-65169007, Email: pengdaiyin@163.com;

* 韩岚, 博士, 副教授, 从事中药药理研究, E-mail: hanlan56@ahcm.edu.cn

each group were calculated. Totally 36 healthy SD rats were divided into normal model, model group, DHS-H, DHS-M, DHS-L groups ($2.8, 1.4, 0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and DXMS acetate group. The rats were intragastrically administered for 7 days. One hour after the last intragastric administration, a foot swelling model was established through subcutaneous injection of 10% fresh egg white in the right hind limb toe of each group. The right hind paw circumference of each rat was measured at 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 h, and the paw swelling of the rats was calculated. Totally 60 SD rats were implanted subcutaneously with sterile dry cotton balls in the bilateral groin and grouped as above. All of the rats were intragastrically administered for 14 days since the next day. After the last administration, cotton balls were taken out, and the inhibition rate of granuloma was calculated. And the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), interferon- γ (IFN- γ) in the serum of each group were detected. **Result:** Compared with the normal group, the ear swelling rate, the foot swelling degree were significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the swelling rate of mouse ears in high, middle and low-dose *Dendrobii Huoshanense Herba* groups reduced significantly ($P < 0.01$). The swelling degrees of the high and middle-dose groups were significantly decreased ($P < 0.05, P < 0.01$). The dry weight of cotton buds in each group was significantly decreased ($P < 0.01$), with no significant change in thymus and spleen index. Compared with the normal group, the serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, and IFN- γ in the model group were higher than those in the normal group ($P < 0.01$). And compared with model group, the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, and IFN- γ in *Dendrobii Huoshanense Herba* group and positive drug group were decreased significantly ($P < 0.05, P < 0.01$).

Conclusion: *Dendrobii Huoshanense Herba* could effectively inhibit acute and chronic inflammatory reactions.

[Key words] *Dendrobii Huoshanense Herba*; anti-inflammatory effect; ear swelling; foot swelling; cotton ball granuloma

霍山石斛俗称米斛,名列安徽省十大皖药之一。石斛为兰科石斛属多年生草本植物,是我国常用的名贵中药材^[1],有着“中华九大仙草之最”的美誉^[2]。其药用始记载于《神农本草经》,在历代本草文献中也多有记载,称其“主伤中,除痹,下气,补五脏,虚劳羸瘦,强阴”^[3]。霍山石斛药性形状、质地与本草记载中一致,说明霍山石斛为优质石斛,一直被广泛使用^[4]。霍山石斛生成环境严苛,主要生长在山中岩石和树木之上,导致其资源稀少。由于过度开发,霍山石斛已成为濒危高价值药用植物之一。由于资源稀少等原因,霍山石斛并未被收录进入《中国药典》,因此对于霍山的石斛的综合研究有着十分迫切的需求,这对于霍山石斛后续的综合利用与开发十分重要。

文献研究表明,目前霍山石斛的研究主要集中在资源、成份鉴定等方面,主要包括霍山石斛真伪的鉴别^[5]、资源利用与开发^[6]、产品开发^[7]等。现代植物化学研究表明,霍山石斛主要成份含有多糖、生物碱、氨基酸、微量元素等,对其成份进行结构解析^[8-9]、含量测定^[10-11]等研究较多。霍山石斛具有调节免疫、抗氧化、抗肿瘤、抗白内障和保肝等药理作用,目前关于霍山石斛的药理药效研究多集中于

多糖的药效研究,霍山石斛多糖具有免疫调节作用^[12]、降低炎症因子^[13]、降低氧化应激^[14]、抑制细胞凋亡^[15]等药理作用。上述调研发现对于霍山石斛药材整体的药效研究稍有不足。因此,加强霍山石斛药材的药效研究也是当前的重要任务之一。

本研究采用 3 种经典的炎症模型研究霍山石斛抗炎作用效果,复制二甲苯致小鼠耳肿胀模型,10%新鲜鸡蛋清致大鼠足肿胀模型,棉球肉芽肿慢性炎症模型,急性炎症模型与慢性炎症模型相结合,检测霍山石斛的抗炎消肿效果,以期能够证实霍山石斛抗炎功效,扩大其药理功能认识,对于霍山石斛的开发研究具有一定的参考意义。

1 材料

1.1 药材 霍山石斛购自霍山县长冲中药材开发有限公司,经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为正品。石斛打粉,过药典 4 号筛,用蒸馏水配制成混悬液,放入 4 °C 待用。给药前加至温热,搅拌均匀。

1.2 动物 清洁级健康 SD 大鼠 96 只,体质量 180 ~ 220 g,7 周龄;SPF 级昆明种小鼠 60 只,体质量 18 ~ 22 g,购自安徽医科大学实验动物中心,生产合格证号 SCXK(皖)2017-0001。动物购买后,在室温 20 ~ 25 °C 的实验室内适应性喂养 1 周,允许大鼠

自由饮食饮水, 喂养标准饲料。

1.3 药物与试剂 注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司, 批号 F7022121); 硫酸庆大霉素注射液(芜湖康奇制药有限公司, 批号 16071973); 醋酸地塞米松(浙江仙琚制药股份有限公司, 批号 160502); 鸡蛋, 现购新鲜鸡蛋; 大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-1 β (IL-1 β), IL-6 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(江苏酶免实业有限公司, 批号均为 201903); IL-2, γ -干扰素(IFN- γ) ELISA 试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司, 批号均为 GR2019-03)。

1.4 仪器 LFP-800A 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市红太阳机电有限公司); AB135-S 型 1/10 万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 立式压力蒸汽灭菌锅(上海三申医疗器械与有限公司); 药典筛(浙江上虞市金鼎标准筛具厂); MK3 型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 二甲苯致小鼠耳肿胀实验^[16] 取昆明种小鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为正常组、模型组(灌胃蒸馏水), 霍山石斛高、中、低剂量组(4, 2, 1 g·kg⁻¹) 剂量组, 醋酸地塞米松组(0.01 g·kg⁻¹)。霍山石斛配制成质量浓度为 0.20, 0.10, 0.050 g·mL⁻¹ 的混悬液, 连续灌胃给药 14 d, 每天 1 次。末次给药 1 h 后, 用移液枪在小鼠右耳的耳中部两侧滴一共 20 μ L 二甲苯, 左耳不做处理作对照, 正常组小鼠耳中部滴等体积生理盐水。1 h 后断头处死所有小鼠, 用 7 mm 规格的打孔器将两耳重叠打孔, 用电子天平分别称取两耳片的质量。计算耳肿胀率。参考李仪奎《中药药理实验方法学》及部分参考文献中关于耳肿胀实验计算公式为, 耳肿胀率 = (右耳质量 - 左耳质量)/左耳质量 \times 100%。

2.2 10% 鸡蛋清致大鼠足肿胀实验 取 SD 大鼠 36 只, 随机分为 6 组, 每组 6 只, 分别为正常组、模型组(灌胃蒸馏水), 醋酸地塞米松组(0.5 \times 10⁻³ g·kg⁻¹) 和霍山石斛高、中、低剂量组(2.8, 1.4, 0.7 g·kg⁻¹) 剂量组。霍山石斛配制成质量浓度为 0.14, 0.07, 0.035 g·mL⁻¹ 的混悬液, 连续灌胃给药 7 d, 每天 1 次。动物自由摄食、饮水。

末次灌胃给药 1 h 后, 于大鼠的右后肢足趾皮下注射 10% 新鲜鸡蛋清生理盐水溶液 0.1 mL 以致炎^[17], 正常组大鼠注射等量生理盐水。各大鼠皮下注射 10% 新鲜鸡蛋清生理盐水溶液 0.1 mL 后, 分

别于 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 h 时, 测量各大鼠的右后足周长。测量方法: 在大鼠的右足趾处用记号笔画圈作为测量标志, 注意画圈尽量在同一水平线上以避免误差, 由同一个人用丝线依次将各鼠右后足交叉缠绕, 缠绕处以画圈处与线重合为准, 从交叉处剪断丝线, 依次测定各鼠右后足周长。然后分别测量丝线长度为大鼠足周长, 计算大鼠的足肿胀度, 足肿胀度 = 致炎后足周长 - 致炎前足周长。

2.3 棉球肉芽肿实验 取脱脂棉用 1/10 万电子天平称量 200 份, 根据李仪奎《中药药理实验方法学》中关于棉球要求在 10 ~ 50 mg 内, 本研究选择每一份棉花质量(40 \pm 2) mg, 团成圆形的硬棉球, 挑选体积和质量相似、形状较为规则的棉球, 消毒灭菌备用。

取 SD 大鼠 60 只, 雌雄各半, 以 3.5% 水合氯腹腔注射麻醉, 剪去腹部被毛, 无菌条件下剪开下腹部左右两侧皮肤, 开口长 1 cm 左右, 眼科镊扩充皮下组织, 向双侧腹股沟皮下植入无菌干燥棉球, 缝合切口。将大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分别为正常组、模型组, 霍山石斛高、中、低剂量组(2.8, 1.4, 0.7 g·kg⁻¹) 和醋酸地塞米松组。术后连续 3 d, 每天 1 次, 涂抹碘伏, 注射 0.05 mL 硫酸庆大霉素注射液。正常组大鼠只进行手术处理。术后第 2 天灌胃给药, 连续 14 d, 每天 1 次。

2.3.1 肉芽肿抑制率计算 末次给药后, 剪开大鼠下腹部左右两侧皮肤原切口, 将棉球连同周围结缔组织一起取出, 去除干净周围的脂肪组织。剖开大鼠的腹腔和胸腔, 取出胸腺和脾脏, 用电子天平称重, 计算其质量与对应大鼠自身体质量之比, 为其胸腺指数和脾脏指数。将取出的棉球肉芽肿放在烘箱中, 在 50 $^{\circ}$ C 的条件下烘 24 h, 用电子天平称干重。该干重减去对应的棉球原质量即得肉芽肿干重, 计算肉芽肿抑制率。抑制率 = (模型组肉芽肿质量 - 给药组肉芽肿质量)/模型组肉芽肿质量 \times 100%^[18-20]。

2.3.2 大鼠血清 TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ 检测 末次给药取出大鼠皮下棉球后, 腹主动脉取血, 置于离心管中, 静置至血液凝固, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清放入冰箱中备用。使用 ELISA 法检测血清中上述炎性因子含量, 实验步骤严格根据试剂盒说明书操作。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 21.0 进行统计学分析, 统计结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据采用单因素方差分析法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 与正常组比较,模型组小鼠耳朵明显肿胀,耳肿胀率为 67.26%,相比正常组显著提高;与模型组比较,霍山石斛高、中、低剂量组及醋酸地塞米松组的耳肿胀率均明显降低,具有显著性差异($P < 0.01$);霍山石斛高、中、低剂量组和醋酸地塞米松组的耳肿胀率为 11.90%,16.39%,16.54%,26.41%,给药 14 d 后,霍山石斛降低耳肿胀小鼠耳肿胀率,效果优于地塞米松组。实验结果说明,霍山石斛对小鼠耳肿胀急性炎症模型有消肿抗炎作用。见表 1。

3.2 对 10% 新鲜蛋清致大鼠足肿胀的影响 正常组大鼠注射生理盐水后,在 0.5 h 足周增长,随后不断降低至正常,与正常组比较,各个时间点下模型大鼠足肿胀度显著升高($P < 0.01$);与模

表 1 霍山石斛对小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Dendrobii Huoshanense Herba on ear swelling in mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	耳肿胀率/%
正常	-	0
模型	-	67.26 ± 24.23 ²⁾
霍山石斛	4	11.90 ± 7.50 ⁴⁾
	2	16.39 ± 11.09 ⁴⁾
	1	16.54 ± 6.68 ⁴⁾
醋酸地塞米松	0.01	26.41 ± 18.68 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

型组比较,霍山石斛高、中剂量组及醋酸地塞米松组的足肿胀度明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),霍山石斛高剂量组、醋酸地塞米松组各个时间点下抗炎效果均较好。见表 2。

表 2 霍山石斛对大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of Dendrobii Huoshanense Herba on foot swelling in rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
正常	-	0.22 ± 0.09	0.20 ± 0.10	0.15 ± 0.07	0.14 ± 0.08	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.05
模型	-	0.88 ± 0.17 ²⁾	1.30 ± 0.15 ²⁾	0.96 ± 0.12 ²⁾	0.81 ± 0.13 ²⁾	0.65 ± 0.10 ²⁾	0.48 ± 0.10 ²⁾
霍山石斛	2.8	0.53 ± 0.08 ⁴⁾	0.78 ± 0.10 ⁴⁾	0.55 ± 0.07 ⁴⁾	0.31 ± 0.12 ⁴⁾	0.18 ± 0.08 ⁴⁾	0.11 ± 0.04 ⁴⁾
	1.4	0.68 ± 0.10 ³⁾	0.96 ± 0.19 ³⁾	0.64 ± 0.14 ³⁾	0.44 ± 0.10 ³⁾	0.47 ± 0.14 ³⁾	0.31 ± 0.10 ⁴⁾
	0.7	0.75 ± 0.18	1.14 ± 0.24	0.84 ± 0.21	0.70 ± 0.18	0.54 ± 0.12	0.34 ± 0.06 ³⁾
醋酸地塞米松	0.5×10^{-3}	0.25 ± 0.10 ⁴⁾	0.51 ± 0.12 ⁴⁾	0.32 ± 0.10 ⁴⁾	0.27 ± 0.09 ⁴⁾	0.18 ± 0.07 ⁴⁾	0.10 ± 0.04 ⁴⁾

3.3 大鼠棉球肉芽肿实验

3.3.1 对棉球肉芽肿模型大鼠肉芽肿的影响 正常组仅进行手术操过,未植入棉球。与模型组比较,霍山石斛高、中、低剂量组及醋酸地塞米松组的肉芽肿干重明显降低,具有显著性差异($P < 0.01$)。霍山石斛高、中、低剂量组和醋酸地塞米松组的肉芽肿抑制率依次增高,分别为 38.20%,21.44%,11.80%,56.59%。见表 3。

3.3.2 对棉球肉芽肿模型大鼠脏器指数的影响 与模型组比较,醋酸地塞米松组的胸腺指数和脾脏指数均明显降低($P < 0.01$)。而霍山石斛高、中、低剂量组的胸腺指数和脾脏指数有所升高或降低,但均不具有统计学意义。见表 4。

3.3.3 对棉球肉芽肿大鼠血清 TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ 含量的影响 与正常组比较,棉球肉芽肿模型组大鼠血清中 TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ

表 3 霍山石斛对大鼠棉球肉芽肿的影响

Table 3 Effect of Dendrobii Huoshanense Herba on cotton granuloma in rats

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	肉芽肿干重($\bar{x} \pm s$)/g	肉芽肿抑制率/%
正常	-	-	-
模型	-	26.86 ± 2.43	-
霍山石斛	2.8	16.60 ± 1.59 ⁴⁾	38.20
	1.4	21.10 ± 1.35 ⁴⁾	21.44
	0.7	23.69 ± 3.03 ⁴⁾	11.80
醋酸地塞米松	0.5×10^{-3}	11.66 ± 1.70 ⁴⁾	56.59

含量均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,霍山石斛高、中、低剂量组均能显著降低 TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ 水平($P < 0.05, P < 0.01$),表明霍山石斛能够降低炎症因子水平,这可能是霍山石斛发挥抗炎作用的原因之一。见表 5。

表 4 霍山石斛对棉球肉芽肿模型大鼠胸腺、脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 4 Effect of *Dendrobii Huoshanense Herba* on thymus and spleen index in rats with cotton granuloma ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	胸腺指数	脾脏指数
正常	-	3.46 ± 0.59	4.45 ± 0.65
模型	-	2.16 ± 0.54 ²⁾	3.23 ± 0.51 ²⁾
霍山石斛	2.8	2.29 ± 0.46	3.50 ± 0.78
	1.4	2.21 ± 0.36	2.97 ± 0.39
	0.7	2.16 ± 0.36	2.85 ± 0.37
醋酸地塞米松	0.5 × 10 ⁻³	0.80 ± 0.15 ⁴⁾	1.32 ± 0.36 ⁴⁾

表 5 霍山石斛对大鼠棉球肉芽肿大鼠血清 TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IFN-γ 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 5 Effect of *Dendrobii Huoshanense Herba* on serum TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IFN-γ in rats with cotton ball granuloma ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF-α	IL-1β	IL-2	IL-6	IFN-γ
正常	-	257.84 ± 43.76	17.45 ± 4.25	195.26 ± 7.65	90.75 ± 8.69	187.14 ± 17.00
模型	-	372.55 ± 25.34 ²⁾	28.56 ± 4.74 ²⁾	210.41 ± 10.40 ²⁾	105.46 ± 2.62 ²⁾	237.50 ± 29.44 ²⁾
霍山石斛	2.8	262.32 ± 55.11 ⁴⁾	18.73 ± 5.91 ⁴⁾	197.39 ± 2.51 ⁴⁾	91.17 ± 6.72 ⁴⁾	191.59 ± 20.92 ⁴⁾
	1.4	314.13 ± 50.14 ³⁾	22.12 ± 2.82 ³⁾	201.52 ± 5.92 ³⁾	94.43 ± 4.46 ⁴⁾	202.35 ± 18.87 ⁴⁾
	0.7	322.92 ± 19.31 ³⁾	23.33 ± 3.62 ³⁾	202.09 ± 3.44 ³⁾	95.58 ± 5.00 ³⁾	204.25 ± 24.76 ³⁾
醋酸地塞米松	0.5 × 10 ⁻³	268.80 ± 43.80 ⁴⁾	18.98 ± 2.61 ⁴⁾	199.50 ± 3.24 ⁴⁾	92.09 ± 8.94 ⁴⁾	197.61 ± 13.47 ⁴⁾

为主的病理过程,急性炎症常伴有红、肿、热、痛等表现。因此肿胀和渗出是急性炎症早期的重要表现,也是评估抑制急性炎症反应重要的指标^[22],二甲苯涂在小鼠耳廓上面,导致毛细血管通透性增大,组织液渗透增多,产生红肿现象。新鲜鸡蛋清皮下注射易引起 5-羟色胺(5-HT)和组胺等炎症介质的释放^[23],也存在典型的急性炎症症状表现。通过测量小鼠耳朵质量计算肿胀率和大鼠耳肿胀度,反映霍山石斛对急性炎症抑制效果。棉球肉植入大鼠皮下,引发迟发性变态反应,在棉球周围有结缔组织生成即肉芽^[24],此类肉芽增生与临床患者炎症病理改变相似,选用此模型评估霍山石斛抑制慢性炎症效果。慢性炎症中,有 IL-2, IL-6, IFN-γ 等炎症因子参与,因此,检测棉球肉芽肿大鼠血清中炎症因子的变化,进一步验证霍山石斛的抗炎作用。

霍山石斛富含多糖、石斛碱、石斛胺、石斛酚氨基酸等有效成份,其中多糖类化合物是其主要活性成份。霍山石斛多糖主要由葡萄糖、甘露糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖等单糖构成,具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、降血糖等药理作用^[25]。霍山石斛多糖能够显著提高四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠肝脏和

4 讨论

《本草纲目》记载霍山石斛具有“厚肠胃,补养脏腑、清热除痹”等功效,霍山石斛能够益胃生津,滋阴清热,用于阴上津亏,口干烦渴,食少干呕,病后虚热,目暗不明。中医理论研究阴虚患者认为以体内阴液亏少、易生内热为特点,现代机理解释可能是机体免疫力下降、自由基失衡、炎症水平增高^[21]。现代药理研究也表明其能够调节免疫功能,其对炎症有待研究,因此研究霍山石斛的抗炎效果对于揭示霍山石斛功效特点有一定意义。

炎症反应是致炎因子刺激机体发生以防御反应

肾脏中的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性、提高谷胱甘肽(GSH)含量升高、降低丙二醛(MDA)水平^[26];通过 Toll 样受体 4(TLR4)信号传导途径激活核转录因子(NF)-κB,丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)和磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路,参与巨噬细胞活化^[27]。通过促进 β-防御素, sIgA 等细胞因子的分泌和免疫细胞的功能发育调节肠道免疫屏障功能,同时能够对脾脏和外周血的免疫应答也有明显的调节作用^[28]。霍山石斛茎乙醇提取物二苄基能显著抑制脂多糖(LPS)诱导的 NO, TNF-α 和 IL-1β 及其 mRNA 水平^[29]。本研究表明霍山石斛能够显著抑制耳肿胀和足肿胀发生,也能够显著抑制慢性炎症后期结缔组织的产生,并且降低棉球肉芽肿大鼠血清中 IL-2, IL-6, IFN-γ 含量,这表明霍山石斛可能通过降低相关细胞因子产生、调节机体内抗炎通路发挥抗炎作用。

[参考文献]

- [1] 丁鸽,张代臻,丁小余. 石斛资源分子水平研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(4): 208-215.
- [2] 罗傲雪,宋关斌,淳泽,等. 透鞘石斛抗肿瘤作用研究

- [J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(2): 184-187.
- [3] 淳泽. 药用石斛的资源危机与保护对策[J]. 资源开发与市场, 2005, 21(2): 139-140.
- [4] 刘守金. 霍山石斛的本草考证[J]. 中药材, 1996, 19(7): 373-375.
- [5] NIU Z, PAN J, XUE Q, et al. Plastome-wide comparison reveals new SNV resources for the authentication of and its corresponding medicinal slice (Huoshan Fengdou) [J]. Acta Pharm Sin B, 2018, 8: 466-477.
- [6] WANG H, CHEN N F, ZHENG J Y, et al. Isolation and characterization of eleven polymorphic microsatellite loci for the valuable medicinal plant *Dendrobii Huoshanense* Herba and cross-species amplification[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13: 16779-16784.
- [7] 谢冬. 蓝莓与霍山石斛复方口服液的制备方法[J]. 园艺与种苗, 2018, 38(10): 16-17.
- [8] HAO J W, CHEN N D, CHEN C W, et al. Rapid quantification of polysaccharide and the main monosaccharides in *Dendrobii Huoshanense* Herba by near-infrared attenuated total reflectance spectroscopy [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 151: 331-338.
- [9] SI H Y, CHEN N F, CHEN N D, et al. Structural characterisation of a water-soluble polysaccharide from tissue-cultured *Dendrobii Huoshanense* Herba C. Z. Tang et S. J. Cheng[J]. Nat Prod Res, 2018, 32: 252-260.
- [10] 王雅文, 梁芷韵, 谢镇山, 等. 铁皮石斛与霍山石斛中甘露糖、葡萄糖及柚皮素的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 1-8.
- [11] 郝经文, 王荣花, 徐文冬, 等. 柱前衍生化 HPLC 同时测定霍山石斛中 13 种游离氨基酸含量[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 1849-1857.
- [12] 徐海军, 方予, 汪俊涛, 等. 霍山石斛多糖对小鼠的双向免疫调节作用[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(8): 731-736.
- [13] GE J C, ZHA X Q, NIE C Y, et al. Polysaccharides from *Dendrobii Huoshanense* Herba stems alleviates lung inflammation in cigarette smoke-induced mice [J]. Carbohydr Polym, 2018, 189: 289-295.
- [14] 谷仿丽, 陈乃富, 余茂耘, 等. 霍山石斛多糖对肥胖小鼠氧化应激的影响[J]. 皖西学院学报, 2016, 32(5): 4-7.
- [15] ZHA X Q, DENG Y Y, LI X L, et al. The core structure of a *Dendrobii Huoshanense* Herba polysaccharide required for the inhibition of human lens epithelial cell apoptosis[J]. Carbohydr Polym, 2017, 155: 252-260.
- [16] 汪保英, 王星, 白明, 等. 不同产区连翘对小鼠急性炎症模型影响的研究[J]. 中医学报, 2011, 26(9): 1070-1071.
- [17] 袁岸, 罗林, 龚小红, 等. 连翘提取物对角叉菜胶和鸡蛋清所致大鼠足肿胀的影响研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2200-2203.
- [18] 蔡博文. 黑参糖浆的抗炎消肿实验研究[J]. 山西中医学院学报, 2015, 16(5): 18-19.
- [19] 苗光新, 刘沛, 毛晓霞, 等. 三黄颗粒与素代三黄颗粒对足跖肿胀和棉球肉芽肿模型的抗炎作用[J]. 承德医学院学报, 2015, 32(1): 10-12.
- [20] 坤舒. 康颗粒抗大鼠棉球肉芽肿形成及其作用机制[J]. 中国医药导报, 2017, 14(2): 12-15.
- [21] 庞莹, 魏俭铭, 穆宏, 等. 降糖方治疗糜烂型口腔扁平苔藓阴虚内热证的疗效及对患者免疫功能、炎症因子的影响[J]. 河北中医, 2018, 40(10): 1487-1490.
- [22] Hwang S Y, Kim J Y, Kim K W, et al. IL-17 induces production of IL-6 and IL-8 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via NF-kappaB and PI3-kinase/Akt-dependent pathways [J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6: R120-R128.
- [23] 袁岸, 罗林, 龚小红, 等. 连翘提取物对角叉菜胶和鸡蛋清所致大鼠足肿胀的影响研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2200-2203.
- [24] 包婷雯, 左明丽, 王敏, 等. 藏药麻花秦艽不同部位醇提物的抗炎作用研究[J]. 中国药房, 2018, 29(22): 3114-3118.
- [25] Lee C T, KUO H C, CHEN Y H, et al. Current advances in the biological activity of polysaccharides in dendrobium with intriguing therapeutic potential [J]. Curr Med Chem, 2018, 25: 1663-1681.
- [26] PAN L H, LI X F, WANG M N, et al. Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species [J]. Int J Biol Macromol, 2014, 64: 420-427.
- [27] XIE S Z, HAO R, ZHA X Q, et al. Polysaccharide of *Dendrobii Huoshanense* Herba activates macrophages via toll-like receptor 4-mediated signaling pathways [J]. Carbohydr Polym, 2016, 146: 292-300.
- [28] XIE S Z, LIU B, YE H Y, et al. *Dendrobii Huoshanense* Herba polysaccharide regionally regulates intestinal mucosal barrier function and intestinal microbiota in mice [J]. Carbohydr Polym, 2019, 206: 149-162.
- [29] LI Q M, JIANG H, ZHA X Q, et al. Anti-inflammatory bibenzyls from the stems of *Dendrobii Huoshanense* Herba via bioassay guided isolation [J]. Nat Prod Res, 2018, 16: 1-4.

[责任编辑 周冰冰]