

甘肃栽培甘草内生菌发酵液与宿主水煎液、总黄酮、总皂苷体对 LPS 致 raw264.7 分泌炎症因子的影响^{*}

董金香¹ 邓毅^{1,2**} 刘靓¹ 赵妮¹ 曼琼¹ 杨志军¹

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 研究甘肃栽培甘草内生菌有效菌株发酵液与宿主水煎液、总黄酮提取物、总皂苷提取物对脂多糖(LPS)刺激的 raw264.7 细胞炎症模型分泌炎症因子的调节作用。方法 采用 Griess 法、双抗夹心法, 检测甘肃栽培甘草内生菌有效菌株发酵液与宿主水煎液、总黄酮提取物、总皂苷提取物对脂多糖(LPS)刺激 raw264.7 细胞分泌 NO、TNF- α 、IL-6 的含量的变化。结果 经 LPS 刺激后, 与模型组相比, 栽培甘草的水煎液和栽培甘草的总黄酮、总皂苷以及其有效菌株的发酵液均能抑制 NO、TNF- α 、IL-6 的分泌($P < 0.05$)。结论 甘草内生菌 JTZB006、JTZB014、JTZB016、JTZB018、JTZB062 的发酵液有抑制 raw264.7 分泌 NO、TNF- α 、IL-6 的作用。

关键词:甘草; raw264.7; 内生菌; 总黄酮; 总皂苷; 抗炎

中图分类号: R 285

文献标识码: A

文章编号: 2096-1340(2016)04-0076-03

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2016.04.026

甘草, 功能补脾益气, 清热解毒, 祛痰止咳, 缓急止痛, 调和诸药, 由于疗效好、作用广, 是自古以来应用历史很广的一味中药, 素有“中草药之王”的美誉。植物内生菌(endophyte)是指生活在健康植物组织和器官内部的真菌或细菌, 其不会使宿主植物致病, 是与宿主植物在长期进化过程中衍生出的一类微生物, 与宿主植物相互影响能产生与其相同或相似的作用成分。又有研究发现, 甘草总黄酮^[1-3]和甘草总皂苷^[4]有不同途径的抗炎作用, 考虑其内生菌是否会能产生甘草总黄酮、甘草总皂苷或与其相似结构的物质从而取代甘草, 为解决植物甘草的大量需求, 缓解资源濒临灭绝的现状。本实验将从甘草的抗炎作用方面着手探究, 比较观察 5 株有效菌株与宿主水煎液、总黄酮、总皂苷体外抗炎的效果。

1 材料

1.1 药品 栽培乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, 产于甘肃省酒泉市金塔县。将新鲜的栽培甘草的根部泥沙清理掉, 用保鲜膜分开包装, 4℃保存。

1.2 试剂 LPS (Sigma, L6529-1MG), DMEM (High Glucose) (500 mL, Hyclone) 培养基 (Hyclone), 血清 (100 mL, Clark), 青霉素-链霉素溶液 (100 mL, Beyotime), PBS (500 mL, Hyclone), 青霉素 G 钾盐 (solarbi, size:/mu), 细胞刮刀, 程序降温盒, 乙醇, 氨水, 浓盐酸, 马铃薯葡萄糖水 (青岛高科园海博生物技术有限公司, 产品编号: HB0233-4), 马铃薯葡萄糖培养基 (PDA, 青岛高科园海博生物技术有限公司, 产品编号: HB0233) 营养琼脂 (NA, 青岛高科园海博生物技术有限公司), 营养肉汤 (青岛高科园海博生物技术有限公司, 产品编号:) 一氧化氮检测试剂盒 (beyotime, 产品编号: S0021), TNF- α 试剂盒 (欣博盛, Lot: M150828-102102a), IL-6 试剂盒 (欣博盛, Lot: M150721-004a)。小鼠单核细胞-巨噬细胞 (raw264.7, 购自基尔顿生物科技(上海)有限公司)

1.3 仪器 超净工作台 (天津市泰斯特仪器有限公司, 型号: CJ-2S), 9082-B 型电热恒温培养箱 (上海福玛实验设备有限公司), 二氧化碳培养箱 (SHEL L/JB), KQ-500DE 型数控超声清洗仪 (昆

* 基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (81360633)

** 通讯作者: 邓毅 (1964-), 男, 教授, 从事中药及复方临床应用基础研究。E-mail: dengyi@gszy.edu.cn