

网络出版时间:2026-06-10 14:32:10 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1086.R.20260610.1100.006

◇研究简报◇

罗布麻叶醇提物对脂多糖诱导的RAW264.7细胞的保护作用及机制

司丽君^{1,2,3}, 陈 丽¹, 康金森⁴, 阿吉艾克拜尔·艾萨^{1,4}

(1. 中国科学院新疆理化技术研究所 干旱区植物资源化学重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 中国科学院大学化学科学学院, 北京 100039; 3. 新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830004;

4. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

The protective effect of ethanol extract from *Apocynum venetum* L. leaves on lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cells and its mechanismSI Li-jun^{1,2,3}, CHEN Li¹, KANG Jin-sen⁴, AISA Haji-akbar^{1,4}

(1. Key Laboratory of Plant Resources and Chemistry of Arid Zone, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. School of Chemical Sciences University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China; 4. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

关键词: 罗布麻叶; RAW264.7 细胞; MAPK 信号通路; Nrf2 信号通路; 抗炎; 作用机制**Key words:** *Apocynum venetum* L. leaves; RAW264.7 cells; MAPK signaling pathway; Nrf2 signaling pathway; anti-inflammation; action mechanism

doi:10.12360/CPB202601049

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2026)05-0999-02

中图分类号: R-332; R284.1; R329.24; R343.9; R345.57; R364.5

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



罗布麻(*Apocynum venetum* L.)为夹竹桃科罗布麻属植物,其干燥叶是维吾尔族习用药材,兼具药用与茶饮价值,现代药理证实其具有降压、抗氧化、抗炎等多种活性^[1-2]。此

前,对其抗炎活性的研究大多聚焦于多糖、三萜类成分^[3-4],而罗布麻叶醇提物(the extract of *Apocynum venetum* leaves, AVLE)主要活性成分为黄酮、酚酸类,与上述成分存在本质差异^[5]。目前,针对AVLE抗炎分子机制的研究少见报道。因此,本研究以脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导RAW264.7巨噬细胞的体外炎症模型,探究AVLE的抗炎活性及分子机制,为罗布麻叶在抗炎领域的研究与开发提供科学依据。

1 材料与方法**1.1 细胞株** RAW264.7小鼠单核巨噬细胞系,由新疆医科大学惠赠。**1.2 药品与试剂、仪器** 罗布麻叶,阿勒泰戈宝茶股份有限公司;穿心莲内酯(andrographolide, AG)购自MCE公司;COX-2抗体(12282S),p-JNK抗体(4668S),JNK抗体(9252S),p-ERK1/2抗体(9106S),ERK1/2抗体(4696S),p-p38 MAPK抗体(4511S),p38 MAPK抗体(9212S),Nrf2抗体(12721S)均购自CST公司;HO-1抗体(Abcam, ab68477);iNOS抗体(Affinity Biosciences, AF0199);多功能酶标仪(Molecular Devices, SpectraMax M5)。**1.3 方法****1.3.1 AVLE的制备** 罗布麻叶经50%乙醇回流提取2次,每次1 h,经HPD300树脂纯化,50%乙醇洗脱后浓缩干燥,制得备用。**1.3.2 细胞活力检测** 实验分为Control组、AG组(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和AVLE组(31.25、62.5、100、125、200、250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),CCK-8法检测细胞存活率,确定无毒给药浓度。**1.3.3 AVLE对LPS诱导RAW264.7细胞中NO、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 分泌的影响** 实验分为Control组、LPS组、AG组(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、AVLE组(31.25、62.5、100、125、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。细胞孵育24 h后,AVLE预处理1 h,除Control组外各组均加入1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS培养16 h; Griess法检测NO含量,ELISA试剂盒检测TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量。**1.3.4 AVLE对LPS诱导RAW264.7细胞中ROS含量的影响** 细胞内ROS检测采用DCFH-DA方法。**1.3.5 AVLE对炎症相关蛋白表达的影响** Western blot法检测iNOS、COX-2、MAPK信号通路及Nrf2信号通路相关蛋白表达。**1.3.6 免疫荧光法检测Nrf2核转位情况** 免疫荧光法观察Nrf2核转位,ImageJ 1.48软件半定量分析。

收稿日期:2026-02-13,修回日期:2026-04-22

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(No 2022B02055-2);天山英才计划(No 2022TSYCLJ0064);新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(No 2022B02055-3)

作者简介:司丽君(1987-),女,博士生,研究方向:抗炎免疫药理学, E-mail: laurel1024@sina.com;

阿吉艾克拜尔·艾萨(1965-),男,博士,博士生导师,研究方向:天然产物的研究与开发,通信作者, E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn

Tab 1 Effect of AVLE on expression of inflammation-related signaling pathway proteins in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Group	iNOS/ β -actin	COX-2/ β -actin	p-ERK/ERK	p-p38/p38	p-JNK/JNK	Nrf2/ β -actin	HO-1/ β -actin
Control	0.05 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.01	0.35 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.00
LPS	0.54 $\pm$ 0.03 ^{##}	0.98 $\pm$ 0.37 ^{##}	0.58 $\pm$ 0.01 ^{##}	0.84 $\pm$ 0.04 ^{##}	1.24 $\pm$ 0.08 ^{##}	0.46 $\pm$ 0.02 ^{##}	0.16 $\pm$ 0.01 ^{##}
AVLE 100 mg·L ⁻¹	0.22 $\pm$ 0.01 ^{**}	0.22 $\pm$ 0.01 ^{**}	0.45 $\pm$ 0.02 [*]	0.59 $\pm$ 0.03 ^{**}	1.28 $\pm$ 0.09	0.68 $\pm$ 0.02 ^{**}	0.23 $\pm$ 0.15 [*]
AVLE 200 mg·L ⁻¹	0.04 $\pm$ 0.01 ^{**}	0.13 $\pm$ 0.01 ^{**}	0.44 $\pm$ 0.03 [*]	0.53 $\pm$ 0.04 ^{**}	1.07 $\pm$ 0.08	0.70 $\pm$ 0.03 ^{**}	0.23 $\pm$ 0.15 [*]

^{##} $P<0.01$ vs control; ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ vs LPS.

1.3.7 统计学方法 SPSS 17.0 软件进行统计分析。数据以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 AVLE 对 RAW264.7 细胞活力的影响 与 Control 组比较, AVLE $\leq 200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对细胞活力无明显影响($P>0.05$),后续实验选取 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及以下无毒浓度。

2.2 AVLE 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞中 NO、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 ROS 含量的影响 与 Control 组比较, LPS 组细胞中 NO、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 ROS 的含量明显升高($P<0.01$); 与 LPS 组比较, AVLE 可明显降低细胞中 NO、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 ROS 的含量($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

2.3 AVLE 抑制 iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平 与 Control 组比较, LPS 组 iNOS、COX-2 蛋白表达明显上调($P<0.01$); 与 LPS 组比较, AVLE 各剂量组 iNOS、COX-2 蛋白表达均明显下调($P<0.01$)。

2.4 AVLE 对 MAPK 信号通路的影响 与 Control 组相比, LPS 组的 p-ERK/ERK、p-p38/p38 比值明显上调($P<0.01$); 与 LPS 组比较, AVLE 各剂量组 p-ERK/ERK、p-p38/p38 的比值均明显下调($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

2.5 AVLE 对 Nrf2 信号通路的影响 与 Control 组比较, LPS 组 Nrf2、HO-1 蛋白表达明显上调($P<0.01$); 与 LPS 组比较, AVLE 各剂量组 Nrf2、HO-1 蛋白表达均明显上调($P<0.01$)。

2.6 AVLE 对 Nrf2 表达及核转位的影响 与 LPS 组相比, AVLE 各剂量组对 Nrf2 核转位具有明显的促进作用($P<0.01$),提示 AVLE 可诱导细胞中 Nrf2 发生核转位,进而增强细胞的抗氧化抗炎能力。

3 讨论

MAPK 由 ERK、p38 和 JNK 三种蛋白激酶分子构成,在炎症研究领域扮演着极其重要的角色^[6]。本研究结果表明, AVLE 可通过降低 p-p38 和 p-ERK 蛋白的表达来抑制炎症反应,然而对 p-JNK 蛋白表达的影响不显著。这种通路选择性可能与 AVLE 所含多成分协同作用密切相关,且不同活性成分对 MAPK 通路各亚型的调控效应本身存在明显差异^[7-8]。Nrf2 是氧化应激核心转录因子,能启动抗氧化基因表达,清除 ROS 并阻断炎症级联反应。本研究中, AVLE 能够降低细胞内 ROS 含量,激活 Nrf2 通路并促进 Nrf2 核转位,实现抗氧化与抗炎协同作用。综上, AVLE 在体外细胞水平具有明显抗炎活性,其机制与抑制炎症介质释放、调控 MAPK 及 Nrf2

信号通路密切相关。后续应进一步开展体内炎症模型实验研究,深入验证其抗炎作用,为其临床应用提供更充分的实验依据。

参考文献:

- [1] Chen C, Chen F, Gu L, et al. Discovery and validation of COX2 as a target of flavonoids in *Apocyni Veneti Folium*: implications for the treatment of liver injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, **326**:117919.
- [2] 李 芝,王超云,张树平,等. 罗布麻叶总黄酮对高脂高盐大鼠高血压的影响及其分子机制[J]. *中草药*, 2012, **43**(3): 540-5.
- [2] Li Z, Wang C Y, Zhang S P, et al. Effect of total flavonoids in *Apocynum venetum* leaves on rat hypertension induced by high fat and high salt and its molecular mechanism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2012, **43**(3):540-5.
- [3] Du S Y, Huang H F, Li X Q, et al. Anti-inflammatory properties of uvaol on DSS-induced colitis and LPS-stimulated macrophages [J]. *Chin Med*, 2020, **15**:43.
- [4] Abubakar A S, Ahmad B, Ahmad N, et al. Physicochemical evaluation, structural characterization, *in vitro* and *in vivo* bioactivities of water-soluble polysaccharides from Luobuma (*Apocynum L.*) tea [J]. *Food Chem*, 2024, **460**:140453.
- [5] Si L, Chen L, Abdulla R, et al. Anti-hyperlipidemic effects of *Apocynum venetum* L. leaves extract on high-fat diet-induced hyperlipidemia: Modulation of lipid metabolism and oxidative stress [J]. *Food Res Int*, 2025, **221**:117326.
- [6] 乌里盼·托乎达阿里,孙 媛,丁宛婷,等. 基于 miRNA155-5p 介导的 MAPK/NF- κ B 通路探讨尿毒素 A 的抗炎机制[J]. *中国药理学通报*, 2024, **40**(6):1066-74.
- [6] TUOHUDAALI W L, Sun Y, Ding W T, et al. Exploring anti-inflammatory mechanism of urolithin A based on miRNA155-5p-mediated MAPK/NF- κ B pathway [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2024, **40**(6):1066-74.
- [7] Hai J J, Liang W, Sun D, et al. Rutin attenuates distraction spinal cord injury by inhibiting microglial inflammation through downregulation of P38 MAPK/NF- κ B/STAT3 pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2025, **62**(5):6027-40.
- [8] Li Y, Ma Y, Yao Y, et al. Protective effect of isoquercitrin on UVB-induced injury in HaCaT cells and mice skin through anti-inflammatory, antioxidant, and regulation of MAPK and JAK2-STAT3 pathways [J]. *Photochem Photobiol*, 2024, **100**(5): 1507-18.