

表4 各组大鼠股骨材料力学性能的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 4 Changes of material mechanics characteristics of femur in every rat groups ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	弹性模量/(N·mm ²)	极限强度/(N·mm ²)	破坏强度/(N·mm ²)	破坏应变/(N·mm ²)
假手术	—	5 564.73±854.23	137.63±9.20	138.80±9.81	3.71±0.84
模型	—	5 497.69±832.91	119.63±9.97 ^{△△}	123.50±15.70 ^{△△}	3.35±0.96
升麻提取物	60	5 511.56±795.69	121.85±10.13	125.70±10.81	3.32±0.98
	30	5 538.99±810.31	131.82±10.09*	136.51±12.05*	3.69±1.81
	15	5 486.37±786.41	128.64±11.16	131.69±19.81	3.53±0.09
龙牡壮骨颗粒	5 000	5 610.39±910.36	133.81±19.10*	133.60±12.43*	3.61±0.69

与假手术组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs model group

摘除卵巢3个月,其结构力学性能参数和部分材料力学性能参数明显下降,表明雌性大鼠摘除卵巢后不仅使整体骨拮抗变形和破坏的能力下降,而且能够影响骨矿盐和骨胶原质量,使骨的硬度和韧性发生改变,这个结果与以往的研究报道一致。升麻提取物和龙牡壮骨颗粒在骨密度及最大荷载、挠度、破坏荷载、能量吸收极限强度和破坏强度指标上均表现有良好的骨保护效应,可以有效地拮抗去卵巢后雌激素降低引起的骨质量下降。同时还可显著提高去卵巢大鼠的骨密度和骨矿物质的量,增强骨质。但升麻提取物的抗骨质疏松作用不存在剂量-效应关系,中剂量效果最好,高剂量反而无效,其原因有待于进一步研究。

本研究还发现,升麻提取物治疗去卵巢所致大鼠骨质疏松症的机制与龙牡壮骨颗粒不同,龙牡壮骨颗粒能够显著提高大鼠去卵巢后降低的血清 E_2 水平,使子宫指数显著升高。但升麻提取物对大鼠去卵巢后血清 E_2 水平和子宫指数无影响,这与文献报道一致^[6],推测升麻提取物中可能含有大鼠器官特

异性雌激素受体调节剂,能够对靶器官雌激素受体进行特异性选择,特异地在骨中发挥雌激素样作用,尤其是成骨细胞,而对子宫无作用。如果这一观点在人体内被证实,升麻提取物将是激素代替疗法的一个很好的选择。

References:

- [1] Zhang Q W, Ye W C, Zhao S X. Studies on chemical constituents of *Cimicifuga dahurica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(8): 683-685.
- [2] Qi T J, Xu X, Wang J S. The experiment of Rong Gu Granules therapeutic mechanism to ovariectomy osteoporotic rat [J]. *Chin J Osteoporosis* (中国骨质疏松杂志), 2004, 10(3): 349-351.
- [3] Wronski T J, Lowry R L, Walsh C C, et al. Skeletal alterations in ovariectomized rats [J]. *Calcified Tissue Int*, 1985, 37: 324-330.
- [4] Frost H M. The mechanostat: a proposed pathogenic mechanism of osteoporosis and the bone mass effects of mechanical agents [J]. *Bone*, 1997, 2: 73-85.
- [5] Kalu D N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss [J]. *Bone Mineral*, 1991, 15: 175-192.
- [6] Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Becker T, et al. Pharmacology of *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055 in rats: bone, fat and uterus [J]. *Maturitas*, 2003, 44(1): 39-50.

新健胃片的药效学研究

张金晓,田义红,郭传敏,王建君,程晓翔,张宗鹏

(天津药物研究院 新药评价中心,天津 300193)

新健胃片为苍术、陈皮、黄芩、大黄、碳酸氢钠组成的中西药复方制剂,主要有清热燥湿、制酸和胃之功效,用于肝胃郁热之反酸吐酸、胃脘痞闷、消化不良等症。临床资料表明,新健胃片对消化道溃疡有显著的治疗保护作用。本实验根据药物的治疗特点,对新健胃片的主要药效学进行研究,并初步探讨其可

能机制,为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物:Wistar 大鼠,体重 150~180 g;昆明种小鼠,体重 18~22 g,均由天津药物研究院实验动物室提供。

1.2 药物及试剂:新健胃片由承德颈复康药业集团

收稿日期:2005-03-11

作者简介:张金晓(1978—),女,河南洛阳人,研究实习员,主要从事药理毒理学工作。

Tel: (022) 23006905 E-mail: zjxx12002@sohu.com

有限公司提供,每片 0.5 g,批号 20030121,将新健胃片研磨成粉末后用 1% CMC 配制混悬药液。 NaHCO_3 ,AR 试剂,北京化工厂生产。斯达舒胶囊,吉林修正药业集团股份有限公司生产,每粒 250 mg,批号 011127。利血平,上海复旦复华药业有限公司生产,1 mg/mL,批号 030104。甲基橙,北京化学试剂公司生产,批号 951008。

2 方法

2.1 对大鼠胃酸分泌及胃蛋白酶活性的影响^[1,2]:取 Wistar 大鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,分别为对照组 (1% CMC)、 NaHCO_3 (0.35 g/kg,相当于 0.50 g/kg 新健胃片中含 NaHCO_3 的量) 组和新健胃片低、中、高剂量 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 组。大鼠禁食 22 h,乙醚麻醉,打开腹腔,结扎幽门,缝合腹壁,5 min 后 ig 给予相应的药物,给药体积均为 2 mL/kg。禁食、禁水 5 h 后处死动物,打开腹腔,结扎贲门,取胃,测胃液体积。取 5 mL 胃液,2 500 r/min 离心 5 min,取上清液 1 mL,加入酚酞指示剂 2 滴,混匀,用 0.01 mol/L NaOH 溶液进行滴定,至出现红色为止,记下所用 NaOH 溶液体积。计算胃液总酸度、胃酸总量和胃液 pH 值 (pH 值 = -lg 胃液总酸度)。取离心后胃液上清液 0.5 mL,加入 0.05 mol/L HCl 溶液 7.5 mL,摇匀,将两根 2 cm 长的蛋白管放入此溶液中,37 °C 恒温箱中孵育 22 h,测量每根蛋白管两端透明部分的长度,以 4 端的长度平均值计算胃蛋白酶活性 [胃蛋白酶活力 (U) = 长度平均值² × 16]。

2.2 对大鼠胃酸的体外中和作用:Wistar 大鼠 20 只,雌雄各半。禁食 22 h,乙醚麻醉,打开腹腔,结扎幽门,缝合腹壁。禁食、禁水 5 h 后处死动物,打开腹腔,结扎贲门,取胃,测胃液的体积。将所取全部胃液混合后 2 500 r/min 离心 10 min,取上清液备用。新健胃片用蒸馏水分别配制成 18.8、37.5、75 mg/mL 混悬液,充分混匀,精确量取 1 mL 放入三角瓶中,加入甲基红-溴甲酚绿指示剂 2 滴,混匀,药液呈绿色,用上述胃液上清液滴定,至药液由绿色变为红色,记录用去胃液的体积。每个质量浓度的药液重复滴定 4 次。

2.3 对利血平所致大鼠胃溃疡的保护作用:Wistar 大鼠,48 只,随机分为 6 组,每组 8 只,雌雄各半,分别为模型对照组、斯达舒胶囊 (0.3 g/kg,阳性对照) 组、 NaHCO_3 (0.35 g/kg) 组和新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 组。大鼠禁食 24 h,ip 利血平 5 mg/kg 后禁食、禁水,1 和 6 h 后分别 ig 给予相应

药物总剂量的 1/2,第 2 次给药后动物自由进食、饮水。次日相同时间 ig 给予相同剂量的药物,第 2 次给药后禁食。第 3 天 (动物已禁食 18 h) 大鼠乙醚麻醉,结扎幽门,缝合腹壁,5 min 后 ig 给予相应的药物。禁食、禁水 4 h 后处死动物,结扎贲门,取胃,测胃液体积。按 2.1 项方法进行滴定,计算胃酸总量和胃液 pH 值。将胃浸入 1% 甲醛固定,20 min 后沿胃大弯剪开,以溃疡指数为指标评价胃黏膜损伤程度。溃疡指数评分标准如下:0 分为无溃疡;1 分为 1~3 个小溃疡 (3 mm 以下);2 分为 3 个以上小溃疡或 1 个大溃疡;3 分为 1 个大溃疡和几个小溃疡;4 分为几个大溃疡;5 分为穿孔。

2.4 对小鼠肠推进的影响:昆明种小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,分别为正常对照组、 NaHCO_3 (0.35 g/kg) 组和新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 组。实验前禁食 16 h,按体重 ig 给予相应的药物,给药体积均为 0.2 mL/10 g。给药后 30 min ig 给予印度墨汁,每只 0.2 mL,20 min 后脱颈椎处死。打开腹腔,取全肠 (从贲门到直肠),小心分离肠系膜,不加牵引轻轻放于托盘上,测量肠全长及墨汁推进长度,计算墨汁推进率 (墨汁推进率 = 墨汁推进长度 / 肠全长 × 100%)。

2.5 对小鼠胃排空的影响:昆明种小鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半,分别为正常对照组、斯达舒胶囊 (0.3 g/kg) 组、 NaHCO_3 (0.35 g/kg) 组和新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 组。小鼠禁食 16 h,ig 给予相应的药物,给药体积均为 0.2 mL/mg。30 min 后 ig 给予 0.1% 甲基橙水溶液,每只 0.2 mL,20 min 后脱颈椎处死。打开腹腔,取胃置小烧杯中,加 10 mL 蒸馏水将胃内容物充分洗涤,用 0.1 mol/L NaHCO_3 溶液调 pH 值至 6.2~6.5,离心 10 min (2 000 r/min),取上清液用 42 型生化仪 (波长 420 nm) 测溶液吸光度 (A) 值 (蒸馏水调零)。取 0.1% 甲基橙溶液 0.2 mL 加入 10 mL 蒸馏水中,摇匀,测其 A 值作为基数,即标准甲基橙 A 值,计算胃甲基橙残留率 (胃甲基橙残留率 = 胃甲基橙 A 值 / 标准甲基橙 A 值 × 100%)。胃甲基橙残留率的高低反映胃排空的快慢,残留率减少,说明胃排空加快。

2.6 统计方法:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用组间 t 检验进行差异性比较。

3 结果

3.1 对大鼠胃酸分泌及胃蛋白酶活性的影响:与对照组比较, NaHCO_3 (0.35 g/kg) 可明显升高胃液

pH 值,降低胃酸总分泌量;新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 可剂量相关性升高胃液 pH 值,新健胃片 (1.00 g/kg) 亦可明显降低胃酸总分泌量。新健

胃片 (1.00 g/kg) 对胃液 pH 值及胃酸总分泌量的影响程度较 NaHCO_3 组显著。各组胃蛋白酶活力差异不显著,见表 1。

表 1 新健胃片对大鼠胃酸分泌及胃蛋白酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Xinjianwei Tablet on gastric acid secretion and pepsin activity of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃液量/mL	胃酸总分泌量/mmol	胃液 pH 值	胃蛋白酶活力/U
对照	—	9.5±1.7	1.21±0.30	0.9±0.1	280.5±85.0
NaHCO_3	0.35	10.8±2.4	0.85±0.32*	1.1±0.1**	242.2±93.3
新健胃片	0.25	12.0±4.0	1.16±0.45	1.0±0.1**	241.4±85.6
	0.50	11.0±2.5	0.97±0.30	1.1±0.1**	217.4±89.6
	1.00	11.0±2.3	0.54±0.18**△	1.3±0.2**△△	217.9±32.3

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 NaHCO_3 组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ vs NaHCO_3 group

3.2 对大鼠胃酸的体外中和作用:每只大鼠每小时胃液量约为 2 mL,18.8、37.5、75 mg/mL 新健胃片药液 1 mL 分别可中和胃液 (1.90±0.08)、(3.78±0.17)、(7.63±0.26) mL,相当于 1 mg 新健胃片平均可中和胃液约 0.1 mL,即 1 只大鼠 3 min 平均胃液分泌量。

3.3 对利血平所致大鼠胃溃疡的保护作用:ip 5

mg/kg 利血平可致大鼠胃溃疡。新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 均可明显升高胃液 pH 值,对利血平诱导的胃溃疡有明显的保护作用,且有明显的剂量相关性。斯达舒胶囊 (0.3 g/kg) 和 NaHCO_3 (0.35 g/kg) 有对抗利血平所致大鼠胃溃疡的作用。新健胃片 (0.50、1.00 g/kg) 还可使胃酸总量明显减少,见表 2。

表 2 新健胃片对利血平诱导的大鼠胃溃疡的保护作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Protective effect of Xinjianwei Tablet on gastric ulcer of rats induced by Reserpine ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃液量/mL	胃酸总分泌量/mmol	胃液 pH 值	溃疡指数
模型对照	—	6.3±3.0	1.00±0.50	0.9±0.2	3.3±1.4
斯达舒胶囊	0.30	4.1±1.6	0.51±0.17	1.0±0.1	1.5±1.1*
NaHCO_3	0.35	6.7±2.6	0.53±0.25	1.2±0.1*	0.9±0.4**
新健胃片	0.25	5.9±2.3	0.48±0.25	1.1±0.1*	0.8±0.5**
	0.50	6.4±1.6	0.37±0.14*	1.3±0.1**	0.9±0.6**
	1.00	8.9±3.9	0.45±0.29*	1.4±0.2**△	0.5±0.5**

与模型对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 NaHCO_3 组比较: △ $P<0.05$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model control group; △ $P<0.05$ vs NaHCO_3 group

3.4 对小鼠肠推进的影响: NaHCO_3 组和新健胃片 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 组 ig 给药对小鼠肠推进均无明显影响,见表 3。

表 3 新健胃片对小鼠肠推进的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of Xinjianwei Tablet on intestinal motility of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	墨汁推进率/%
对照	—	64.9±8.8
NaHCO_3	0.35	64.4±9.3
新健胃片	0.25	64.5±12.8
	0.50	61.3±9.1
	1.00	63.2±8.3

3.5 对小鼠胃排空的影响:新健胃片 (0.50、1.00 g/kg) 可明显加快小鼠胃排空速度,且有明显的剂量相关性。 NaHCO_3 (0.35 g/kg) 对小鼠胃排空无明显影响,见表 4。

4 讨论

新健胃片 ig 给药可剂量相关性地降低大鼠胃

表 4 新健胃片对小鼠胃排空的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of Xinjianwei Tablet on gastric emptying of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	甲基橙胃残留率/%
对照	—	36.0±12.1
斯达舒胶囊	0.30	31.5±13.2
NaHCO_3	0.35	27.1±11.3
新健胃片	0.25	28.8±11.8
	0.50	24.7±5.9*
	1.00	15.4±5.1**△

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

与 NaHCO_3 组比较: △ $P<0.05$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

△ $P<0.05$ vs NaHCO_3 group

酸总量,升高胃液 pH 值,加快小鼠胃排空速度,对利血平诱导的大鼠胃溃疡有明显的保护作用,但对大鼠胃液总量、胃蛋白酶活性及小鼠肠推进速度无明显影响。新健胃片 0.50 g/kg 与 NaHCO_3 0.35 g/kg 相比,二者均可升高胃液 pH 值,对利血平诱导

的大鼠胃溃疡均有明显的保护作用,不同之处在于新健胃片 0.50 g/kg 可加快小鼠胃排空,这对改善胃胀明显有益。新健胃片的促进胃排空作用可能与其中的多种中药成分密切相关。

体外实验表明,新健胃片具有明显的中和胃酸作用,且有明显的剂量相关性,1 mg 新健胃片可中和胃液约 0.1 mL,其中和作用成分为 NaHCO_3 ,新健胃片对胃酸的中和作用可快速升高胃液 pH 值,改善由于胃酸过多或胃酸刺激引起的胃部不适。本

实验中所观察到的新健胃片减少胃酸总量的作用实质为对胃酸的中和作用,而非抑制胃酸的分泌,这与传统的胃酸抑制剂明显不同。

References:

- [1] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.
- [2] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982.

小白菊内酯诱导人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡的实验研究

宋晓凯,张 雯

(天津理工大学生物与化学工程学院,天津 300191)

小白菊内酯属于倍半萜内酯,是墨西哥、印度药用植物的活性成分,也是欧洲小白菊这一常用草药的活性成分^[1],主要用于治疗偏头痛、炎症和各种肿瘤。20 世纪 90 年代末,中国学者从中国特有药用植物观光木树皮中分离得到这一抗肿瘤活性物质,并且经过体外抑瘤实验证实,小白菊内酯 (10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 对人肝癌细胞的体外抑制率为 67.17%,可见其对入肝癌细胞抑制作用比较明显^[2]。近年来,随着医学技术和分子生物学技术的发展及各种检测手段的出现,发现小白菊内酯可抑制 NF- κB 的激活^[3,4],诱导细胞凋亡^[1],产生细胞毒作用^[5,6]。但有关从分子生物学水平研究小白菊内酯对人肝癌细胞的作用机制还未见报道。本研究旨在探讨小白菊内酯对体外培养的人肝癌 BEL-7402 细胞生长的影响及作用机制,为其应用于肝癌的化学预防和治疗提供实验和理论依据。

1 材料与方法

1.1 药物、主要试剂和设备:小白菊内酯(质量分数>99%,HPLC)购自上海康成生物工程有限公司,用三蒸水配制成 10.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 储存液。MTT,每瓶 250 mg,由 Sigma 公司分装;RPMI-1640 培养基购自 Gibco 公司;胎牛血清购自中国科学院血液病研究所;二甲基亚砜(DMSO)购自上海光铎科技有限公司(上海新华化工厂);PBS(磷酸盐缓冲液)购自北京中山生物公司;溴化乙锭(EB)由 Sigma

公司分装;TE 缓冲液购自上海基康生物技术有限公司;RNase 购自上海贝塔生物制品有限公司;蛋白酶 K 购自北京拜尔迪生物技术有限公司;琼脂糖购自北京邦定生物医学公司;Giemsa 染料购自 Fluka 公司;氯仿、异戊醇、饱和酚、无水乙醇、甲醇均为分析纯。环磷酸腺苷购自恒瑞医药股份有限公司。倒置式生物显微镜(Nikon ECLIPSE TE 300);5% 二氧化碳培养箱(Thermo Forma MODEL 3111);自动酶标读数仪(TACAN SPECTRA I);三恒电泳仪 DYY-II B 型(BGXP- $\Phi 5 \times 20$);凝胶成像系统。

1.2 细胞株及培养:人肝癌 BEL-7402 细胞株由北京医科大学实验中心细胞库提供。用 RPMI-1640 培养液(含 10% 胎牛血清),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中常规培养。取对数生长期的细胞用于实验。

1.3 细胞增殖抑制作用的测定:采用 MTT 比色法,将对数生长期的肝癌细胞制备成浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 细胞悬液,接种于 96 孔培养板内,每孔 200 μL ,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中培养,待细胞生长一定浓度后换上含有不同质量浓度药物的培养液,各设 6 个复孔,对照组不加药,继续培养 48 h,加入 0.5% MTT (5.0 mg/mL),每孔 20 μL ,孵育 4 h,再加入 DMSO 100.0 μL ,轻微振荡使紫蓝色沉淀溶解,用酶标仪测定 492 nm 波长处的吸光度(A)值,计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (1 - A_{\text{药物}}/A_{\text{对照}}) \times 100\%$$

收稿日期:2005-04-05

基金项目:天津市自然科学基金资助项目(033607611);天津市高校科技发展基金项目(2001YY15)

作者简介:宋晓凯,男,教授,药理学博士,硕士生导师。Tel: (022) 23679245 Fax: (022) 23679249 E-mail: sxk581214@eyou.com