

3 讨论

槲皮素在体外实验中可抑制乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、肝癌、胃癌、白血病等多种恶性肿瘤的生长。机制可能与下列因素有关: 阻滞细胞周期、抑制肿瘤细胞信号传导、调节生长因子等导致细胞增殖抑制; 诱导肿瘤细胞发生凋亡及分化等^[6,7]。

本研究 MTT 实验显示: 槲皮素对 ER 阳性 MCF-7 细胞的增殖有明显的抑制作用, 并呈时间及浓度依赖性。实验测得槲皮素对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 为 15.54 $\mu\text{mol/L}$ 。PCNA 是反映细胞增殖的指标, S 期合成最多, 免疫细胞化学检测结果表明用药组 PCNA 指数明显低于对照组, 提示槲皮素可通过降低 PCNA 蛋白质表达抑制癌细胞 DNA 生长, 从而抑制细胞增殖。槲皮素 25 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 作用 48 h 后, G₀/G₁ 期细胞较对照组明显增高, 故认为槲皮素可引起 MCF-7 乳腺癌细胞 G₀/G₁ 期阻滞。槲皮素具有诱导乳腺癌细胞凋亡的作用。倒置显微镜下动态观察槲皮素诱导凋亡的作用, 25 $\mu\text{mol/L}$ 作用 48 h, 可见到典型的凋亡细胞, 随作用时间延长, 凋亡细胞数量明显增多。100 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素作用 24 h 后可见大量的凋亡细胞及悬浮不透亮的死细胞, 随作用时间延长, 悬浮死细胞明显增多。在光镜下, HE 染色显示同样的结果。提示随着槲皮素浓度增加或作用时间延长, 可见凋亡细胞发生继发性坏死, 表明

凋亡在一定的条件下可转化为坏死。

通过流式细胞仪观察到: 槲皮素作用 48 h 后诱导凋亡, 随药物浓度增加, 凋亡率也随之增加, 而对照组均未检测到凋亡细胞。槲皮素可抑制乳腺癌细胞增殖, 引起 G₀/G₁ 周期阻滞, S 期细胞数目下降, 并诱导其凋亡, 这为其应用于临床提供了依据。

References

- [1] Holman P C, Kata M B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability [J]. *Food Chem Toxicol*, 1999, 37 (9-10): 937-942.
- [2] Luo L, Wu K L. Study improvements on cancer chemopreventive effects of quercetin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(4): 378-379.
- [3] SoFv, Guthrie N, Chambers A F, et al. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juice [J]. *Nutr Cancer*, 1996, 26(2): 167-181.
- [4] Kong L Q, Wu K L, Lin H. Study on inhibitory effect of quercetin on neovascularization of experimental mammary carcinoma [J]. *Chin J Clin Oncology* (中国肿瘤临床), 2001, 28(4): 295-299.
- [5] Lin H, Kong L Q, Wu K L. Study on the inhibitory effects of quercetin on occurrence and proliferation of experimental mammary carcinoma [J]. *Chin J Basis Clin Gen Surg* (中国普外基础与临床杂志), 2001, 8(5): 288-291.
- [6] Shen F, Herenyibra M, Weber G. Synergistic down-regulation of signal transduction and cytotoxicity by tiazofurin and quercetin in human ovarian carcinoma cells [J]. *Life Sci*, 1999, 64(21): 1869-1872.
- [7] Balabhadrapathruni S, Thomas T J, Yurkow E J, et al. Effects of genistein and structurally related phytoestrogens on cell cycle kinetics and apoptosis in MDA-MB-468 human breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2000, 7(1): 3-12.

六味地黄颗粒剂与丸剂的药效学研究

高瑞峰¹, 于永芳², 李沈明^{3*}

(1. 承德医学院附属医院, 河北 承德 067000; 2. 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000; 3. 承德中药厂, 河北 承德 067000)

六味地黄丸 (简称丸剂) 是传统的中成药, 由熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮 6 味中药材经粉碎后用蜂蜜配制而成。在临床上曾发挥了卓越的效能, 但随着医药科技的进步, 发现其有作用慢, 含糖不利于糖尿病患者服用, 水分高易于霉变, 不利于贮存等缺点。六味地黄颗粒剂 (简称颗粒剂) 取代了传统剂型, 既保留了原药成分含量高的优点, 又有用量小、口感好、起效快、疗效高等特点。本实验就两种剂型在药效学上的差异进行了研究。

1 材料

地黄、山药 (购于河南省温县医药公司), 山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮 (购于河北省承德市医药公司), 均由承德医学院中药研究所于永芳副主任药师鉴定。山茱萸、牡丹皮用 95% 乙醇提取 2 次, 浓缩到 300 mL 备用, 提取过的山茱萸、牡丹皮与其他 4 味中药用水煎煮 2 次, 浓缩到 150 mL 后, 加 2 倍量 95% 乙醇搅拌, 放置 24 h, 滤过。回收乙醇, 浓缩, 加甜蜜素 1.0 g、糊精 300 g 混匀, 烘干, 粉碎成 80~

* 收稿日期: 2003-04-25

作者简介: 高瑞峰 (1953—), 男, 河北省承德市人, 副主任药师, 执业药师, 副主任, 学科带头人, 研究方向为临床药学及中药药理。

100 目细粉。加 176 g 糊精,用山茱萸、牡丹皮提取的浓缩液制成软材,制粒,70℃ 烘干,整粒,即得到颗粒剂(每克颗粒剂相当于原药材 2 g)。丸剂,购于焦作市第二中药厂,批号 951012。

2 方法与结果

2.1 对小鼠游泳耐力的影响:取昆明种小鼠(购自北京实验动物中心),体重(20±2)g,雌雄兼用,随机分为:颗粒剂大、小剂量组(20, 10 g/kg),丸剂大、小剂量组(20, 10 g/kg),对照组(等体积生理盐水),每组 20 只。各组每天 ig 给药 2 次,连续 7 d,实验前 1 h 再 ig 1 次。实验开始在小鼠尾根部负荷(10% 体重),依次从各组取 2 只小鼠一同放入 28

水中,观察小鼠游泳耐力,以沉下不能浮起到水面时,为游泳时间,结果用 t 检验统计(下同)。实验结果表明,颗粒剂和丸剂大、小剂量组与对照组比较,均增加了游泳时间,增强了耐力,且颗粒剂比丸剂作用强。

表 1 六味地黄颗粒剂与丸剂对小鼠游泳耐力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 1 Effect of granula and pill of L_{iu}wei_{di}huang on swimming endurance capacity of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	游泳时间/min
对照	-	52.30 ± 6.85 [*]
颗粒剂	20	79.30 ± 12.26 ^{***}
	10	68.75 ± 8.19 ^{***}
丸剂	20	71.05 ± 9.13 ^{***}
	10	59.80 ± 8.70

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$

^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ vs control group

2.2 对小鼠自主活动的影响:实验分组及给药方法同 2.1 项。实验前给药 1 次后,以 GL—1 光电记数仪测定小鼠 5 min 的自主活动次数,每组小鼠均于给药前 7 d 以同样方法测定药前的自主活动次数。结果表明,颗粒剂与丸剂有抑制小鼠自主活动的中枢镇静作用。颗粒剂比丸剂作用显著,丸剂小剂量组作用不明显。见表 2。

2.3 对小鼠碳粒廓清率的影响:取昆明种小鼠随机分为:颗粒剂大、小剂量组,丸剂大剂量组,对照组。每组 15 只小鼠。给药方法同 2.1 项,于实验前 1 h 给药 1 次,各组小鼠分别由尾 iv 生理盐水稀释的印

表 2 六味地黄颗粒剂与丸剂对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 2 Effect of granula and pill of L_{iu}wei_{di}huang on autonomic activity of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	活动次数/(次·5 min ⁻¹)		减少次数
		药前	药后	
对照	-	217.2 ± 37.2	200.8 ± 30.7	16.5 ± 10.0
颗粒剂	20	201.3 ± 27.1	141.3 ± 15.6	60.0 ± 34.3 ^{***}
	10	208.0 ± 25.1	172.4 ± 34.4	34.4 ± 17.4 [*]
丸剂	20	210.9 ± 19.6	168.6 ± 17.3	40.3 ± 19.6 ^{**}
	10	219.9 ± 21.8	190.5 ± 16.8	29.7 ± 17.7

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs control group

度墨汁 0.1 mL/10 g,分别于 iv 后 2, 20 min 由眼眶取血 0.2 mL,用 0.1% 碳酸钠溶液稀释至 2.0 mL 摇匀后,用 753 分光光度计测定吸光度(A)值,按公式计算吞噬指数 K 值。结果见表 3。颗粒剂与丸剂均能提高小鼠碳粒廓清率,提示均能增强小鼠网状内皮系统的吞噬能力,且颗粒剂比丸剂作用显著。

$$K = (\lg A_1 - \lg A_2) / (t_1 - t_2)$$

式中 A_1 为 2 min 时血样的吸光度; A_2 为 20 min 时血样的吸光度; t_1 为 2 min; t_2 为 20 min。

表 3 六味地黄颗粒剂与丸剂对小鼠碳粒廓清率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 3 Effect of granula and pill of L_{iu}wei_{di}huang on carbon clearance rate of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	吞噬指数/K
对照	-	0.00254 ± 0.00140
颗粒剂	20	0.00921 ± 0.00330 ^{***}
	10	0.00703 ± 0.00198 ^{***}
丸剂	20	0.00594 ± 0.00253 ^{***}

与对照组比较: ^{***} $P < 0.001$

^{***} $P < 0.001$ vs control group

3 讨论

本实验结果表明,颗粒剂与丸剂均增强了小鼠游泳耐力,且颗粒剂比丸剂作用效果显著,两者均有抑制小鼠自主活动的中枢镇静作用,颗粒剂大剂量组与丸剂大剂量组比较差异显著($P < 0.05$),表明颗粒剂比丸剂作用显著,丸剂小剂量组作用不明显。颗粒剂与丸剂均能提高小鼠碳粒廓清率,提示两者均能增强小鼠网状内皮系统的吞噬能力,而颗粒剂比丸剂作用显著。实验结果表明颗粒剂比丸剂效果好。