

的研究结果表明,肿瘤组织相对于正常组织整体呈现低甲基化状态,这种特征可以通过检测基因组中DNA甲基化胞嘧啶的丰度或者寻找带有甲基化敏感性酶的重复序列来观察。

本实验主要探讨甜菜碱促人肝癌细胞HepG2基因组范围为DNA甲基化高表达作用。根据文献报道,采用了高效毛细管电泳法(HPCE)法来检测甜菜碱作用的HepG2人肝癌细胞基因组范围的DNA甲基化水平变化。实验结果表明,HPCE处理DNA水解产物,用紫外光测定吸收峰值,以确定5mdC水平,再通过公式计算面积比,发现基因组整体的甲基化水平是随着给药浓度的增加而增加,而在肿瘤细胞DNA中5mdC的量也跟着上升,有一定的剂量依赖性,说明甜菜碱可促进HepG2细胞基因组范围DNA甲基化水平的升高。当肿瘤细胞DNA甲基化水平提高时,有可能恢复因为去甲基化而失活原癌基因,或平衡细胞染色体不稳定的易感因素,或导致细胞周期调控失常,信号传导等来达到抑制肿瘤的作用。

研究提示,甜菜碱可能通过促使肿瘤细胞DNA甲基化的升高,使得DNA甲基化模式随着细胞分裂稳定的复制,而甲基化的异常更易于被逆转,

如细胞周期调控基因发生甲基化异常或其启动子区域的CpG岛甲基化异常时,都可使细胞失去正常的G₁期调控,而使信号转导通路功能障碍、凋亡信号缺失等,从而达到抗肿瘤的活性。但是有关甜菜碱对肿瘤细胞DNA甲基化水平的改变是具体通过那种途径而改变细胞周期来达到抑制肿瘤细胞的生长,还有待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 李红,聂泽民. 甜菜碱的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2005(2): 33-36.
- [2] Slow S, Lever M, Lee M B, et al. Betaine analogues alter homocysteine metabolism in rats[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(5): 870-880.
- [3] Ueland P M, Holm P I, Hustad S. Betaine: a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2005, 43(10): 1069-1075.
- [4] Schwahn B C, Wendel U, Lussier-Cacan S, et al. Effects of betaine in a murine model of mild cystathionine-beta-synthase deficiency[J]. *Metabolism*, 2004, 53(5): 594-599.
- [5] 傅冬和. 高效液相色谱法测定葡萄叶中甘氨酸甜菜碱、脯氨酸及葫芦巴碱[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 313-315.
- [6] 季宇彬, 高世勇, 杨红丹, 等. 甜菜碱对HepG₂人肝癌细胞周期及凋亡的影响[J]. 中草药, 2008, 39(6): 884-886.
- [7] Fraga M F, Uriol E, Borja D L, et al. High-performance capillary electrophoretic method for the quantification of 5-methyl 2-deoxycytidine in genomic DNA: application to plant, animal and human cancer tissues[J]. *Electrophoresis*, 2002, 23: 1677-1681.

二苯乙烯苷大鼠在体胃肠吸收动力学研究

王春英, 李敏, 袁志芳, 杨维, 解凤立, 张兰桐*

(河北医科大学药学院 药物分析教研室, 河北石家庄 050017)

摘要:目的 建立同时测定胃灌注液及肠循环液中二苯乙烯苷及酚红质量浓度的HPLC/DAD法,并研究二苯乙烯苷在大鼠胃、肠的吸收特性。方法 采用大鼠在体胃、肠吸收模型,以HPLC/DAD法测定胃灌注液及肠循环液中药物的量,色谱条件为Dikma Diamonsil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温30℃;流动相为乙腈-甲醇-0.2%磷酸(35:15:50),体积流量1 mL/min;检测波长320 nm(二苯乙烯苷)和430 nm(酚红);进样量20 μL。结果 二苯乙烯苷及酚红的线性关系良好,线性范围分别为3.5~140 μg/mL和1~40 μg/mL,日内、日间精密度(RSD)均小于3.1%,方法回收率均在99.48%~102.2%。不同质量浓度(2.5、5、10 mg/mL)的二苯乙烯苷在大鼠胃部的每小时吸收率分别为72.7%、67.7%和56.6%;不同质量浓度(30、60、120 μg/mL)的二苯乙烯苷在肠道内的吸收速率常数(K_a)分别为0.047 7、0.051 4、0.056 3 h⁻¹,三者之间无显著性差异(P>0.05)。结论 本实验首次建立了HPLC/DAD法同时测定胃灌注液及肠循环液中二苯乙烯苷及酚红的质量浓度,该法操作简便、结果准确、灵敏度高。二苯乙烯苷在肠道内吸收较差,主要吸收部位是胃,为延长药物在胃内的停留时间,改善生物利用度,适合制成胃漂浮片。

关键词:二苯乙烯苷; HPLC/DAD; 在体胃肠吸收

中图分类号:R285.61

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1215-05

收稿日期:2008-01-11

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2006000791)

作者简介:王春英(1972—),女,讲师,在读博士,研究方向为中药有效成分的提取分离与药效物质基础研究。

Tel: (0311) 86265625 E-mail: wangcy730301@163.com

*通讯作者 张兰桐 Tel: (0311) 86266419 E-mail: zhanglantong@263.net

2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(简称二苯乙烯苷)为何首乌的主要水溶性成分,具有多种药理活性,如抗衰老^[1,2]、神经保护^[3~5]、调血脂及抗动脉粥样硬化^[6,7]等。二苯乙烯苷吸收迅速,主要以葡萄糖醛酸结合物的形式由胆汁排泄,但其血药浓度-时间曲线未出现双峰现象^[8]。因此,为了更深入的探讨二苯乙烯苷在大鼠体内的吸收部位及吸收特征,本实验旨在建立一种同时测定胃、肠循环液中二苯乙烯苷和酚红的高效液相色谱法,并研究二苯乙烯苷在胃及肠道内的吸收特征,对提高其生物利用度和开发口服制剂提供理论依据。

1 材料

Agilent Technologies 1200 series 高效液相色谱仪(配有可见-紫外二极管阵列检测器,四元泵,自动进样器,柱温箱);SCQ-200 超声波清洗器(上海声谱超声波设备厂);SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂);HL-1S 恒流泵(上海沪西分析仪器厂)。二苯乙烯苷由本研究室从何首乌中分离提取,经测定质量分数为98.3%;二苯乙烯苷对照品购自中国药品生物制品检定所,批号0844-200003;乙腈和甲醇为色谱纯;水为自制重蒸水;其他试剂均为分析纯。大鼠,雄性,体质量(250 $\pm$ 20)g,河北医科大学实验动物中心提供。

2 方法

2.1 色谱条件:Dikma Diamonsil C₁₈色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);柱温 30 $^{\circ}$ C;流动相为乙腈-甲醇-0.2% 磷酸(35:15:50),体积流量 1 mL/min;检测波长 320 nm(二苯乙烯苷)和 430 nm(酚红);进样量:20 μ L。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品贮备液的配制:精密称取二苯乙烯苷对照品和酚红适量,置同一量瓶中,加甲醇溶解,配制成含二苯乙烯苷和酚红质量浓度分别为 0.70、0.21 mg/mL 的混合液,即得。

2.2.2 Krebs-Ringer 试液(pH 7.4,简称 K-R 试液)的配制:称取 NaCl 7.8 g、KCl 0.35 g、CaCl₂ 0.37 g、NaHCO₃ 1.37 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、MgCl₂ 0.02 g、葡萄糖 1.4 g,加水定容至 1 000 mL,即得。

2.2.3 空白肠循环液的配制:精密称取酚红适量,用 K-R 试液溶解并稀释成含酚红质量浓度为 20 μ g/mL 的溶液,即得。

2.2.4 肠循环液的配制:精密称定二苯乙烯苷适量,用空白肠循环液溶解并稀释成含二苯乙烯苷质量浓度分别为 30、60、120 μ g/mL 的溶液,即得。

2.2.5 胃灌注液的配制:精密称定二苯乙烯苷适量,用 0.1 mol/L HCl 溶解并稀释成含二苯乙烯苷质量浓度分别为 2.5、5、10 mg/mL 的溶液,即得。

2.3 胃内容物中二苯乙烯苷的测定:取实验完成后的胃,将胃内容物转移至 50 mL 量瓶,用 0.1 mol/L HCl 溶液少量多次洗涤胃内部,洗涤液一并转入上述量瓶,最后用 0.1 mol/L HCl 溶液定容,摇匀,于 12 000 r/min 高速离心 10 min 后过 0.45 μ m 滤膜,取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录 320 nm 处二苯乙烯苷的峰面积,以随行的标准曲线计算质量浓度。

2.4 肠循环液中二苯乙烯苷和酚红的测定:在不同时间点取大鼠在体肠循环液样品,于 12 000 r/min 高速离心 10 min 后过 0.45 μ m 滤膜,取 20 μ L 注入液相色谱仪,分别在 320 nm 和 430 nm 处记录二苯乙烯苷和酚红的峰面积,以随行的标准曲线计算质量浓度。

2.5 方法学验证

2.5.1 专属性考察:分别取二苯乙烯苷和酚红的混合对照品贮备液、空白肠循环液、肠循环后样品溶液和胃灌注后样品溶液进样,在上述色谱条件下测定,记录色谱图。在各自最大吸收波长处供试品中其他成分不干扰测定,见图1。

2.5.2 标准曲线的制备:精密量取上述对照品贮备液 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,进样 20 μ L,在上述色谱条件下分离测定,记录色谱图,分别在 320 nm 和 430 nm 处计算二苯乙烯苷和酚红的峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归。

2.5.3 精密度和准确度:分别制备含二苯乙烯苷质量浓度为 140、35、3.5 μ g/mL 的胃灌注液及肠循环液质控样品,其中肠循环液中含酚红质量浓度分别为 40、10、1 μ g/mL。精密量取 2.0 mL 胃灌注液质控样品,按 2.3 项下操作,测定二苯乙烯苷的质量浓度;取肠循环液质控样品,按 2.4 项下操作,测定二苯乙烯苷和酚红的质量浓度。每个质量浓度 5 个样本,于 1 d 内测定,计算回收率及日内精密性;每个质量浓度 5 个样本,于 3 d 内测定,计算日间精密性。

2.5.4 稳定性考察:取二苯乙烯苷质量浓度为 2.5、5、10 mg/mL 的胃灌注液,置 37 $^{\circ}$ C 水浴中,分别于 0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h 取样 2.0 mL,按 2.3 项下操作,测定二苯乙烯苷在胃灌注液中的质量浓度变化;另取二苯乙烯苷质量浓度为 30、60、120 μ g/mL 肠循环液,置 37 $^{\circ}$ C 水浴中,分别于 0、0.5、

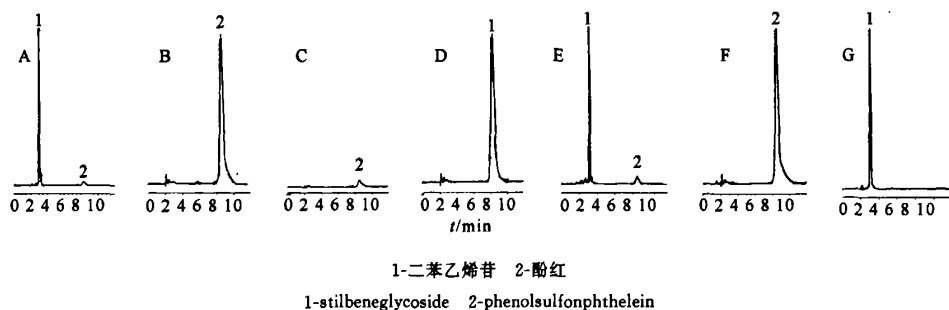


图 1 二苯乙烯苷和酚红的混合对照品溶液在 320 nm 处 (A) 及 430 nm 处 (B)、空白肠循环液在 320 nm 处 (C) 及 430 nm 处 (D)、肠循环后样品溶液在 320 nm 处 (E) 及 430 nm 处 (F)、胃灌注后样品溶液在 320 nm 处 (G) 的 HPLC/DAD 色谱图

Fig. 1 HPLC/DAD Chromatograms of mixed solution of stilbene glycoside and phenolsulfonphthalein in methanol at 320 nm (A) and 430 nm (B), blank intestinal circulation solution at 320 nm (C) and 430 nm (D), sample of intestinal absorption at 320 nm (E) and 430 nm (F), and sample of stomachal absorption at 320 nm (G)

1. 0、1.5、2.0、2.5 h 取样,按 2.4 项下操作,测定二苯乙烯苷和酚红在肠循环液中的质量浓度变化。

2.6 大鼠在体胃吸收实验^[8,9]

2.6.1 胃吸收实验方法:将实验前禁食 12 h (自由饮水),体质量 (250±20) g 的 SD 大鼠,按 6 mL/kg 剂量 ip 25% 乌拉坦溶液,麻醉后固定,切开腹部,暴露胃,在贲门、幽门两处各切一小口,分别插入塑料管并结扎,用生理盐水将胃腔冲洗干净,取下塑料插管并重新结扎贲门,并将胃内溶液吸干。吸取胃灌注液 2.0 mL 注射到胃内,结扎幽门。将胃放回腹腔,用红外灯保持体温 37℃ 左右。胃灌注液中药物质量浓度为初始质量浓度。1 h 后取出胃,将胃内容物按 2.3 项下操作,测定二苯乙烯苷的质量浓度,量瓶中药物质量浓度作为终质量浓度,根据药物初始药量和终末药量之差 (初始质量浓度×初始体积-终质量浓度×终体积) 与时间的比值计算药物吸收率。

2.6.2 药物质量浓度对胃吸收的影响:分别将药物质量浓度为 2.5、5、10 mg/mL 的胃灌注液进行胃吸收实验,考察药物质量浓度对吸收的影响。

2.7 大鼠在体肠吸收实验^[10,11]

2.7.1 肠吸收实验方法:将实验前禁食 12 h (自由饮水),体质量 (250±20) g 的 SD 大鼠,按 6 mL/kg 剂量 ip 25% 乌拉坦溶液,麻醉后固定,沿腹中线切开腹部,自十二指肠上部及结肠下部各插入直径约 0.3 cm 的塑料管,扎紧,用 37℃ 生理盐水冲净肠内容物,再用空气排净残留液体,然后装好回流装置。取预热至 37℃ 的肠循环液,以 5 mL/min 的体积流量预循环 10 min 后,将体积流量调为 2.5 mL/min,立即自盛肠循环液的三颈瓶中取样 1.0 mL,同时向三颈瓶中补加空白肠循环液 1.0 mL,此时计

为 0 时,其后每隔 15 min 亦按同法取样并补加空白肠循环液,循环 2 h 后,中止试验。按 2.4 项下操作,测定各时间点样品中二苯乙烯苷和酚红的质量浓度。根据 Fick 方程原理,以肠循环液中剩余药量的对数 (lnX) 对取样时间 (t) 作图,得到一条直线 (方程为 $\ln X = \ln X_0 - K_d t$),从直线斜率可求吸收速率常数 K_d ,计算吸收半衰期 ($t_{1/2}$), $t_{1/2} = 0.693/K_d$; 单位时间吸收百分率 (P), $P = (C_0 \times V_0 - C_t \times V_t) / (C_0 \times V_0 \times t) \times 100\%$ (C_0 :肠循环液 0 时刻药物质量浓度; V_0 :肠循环液 0 时刻药物体积; C_t :肠循环液 t 时刻药物质量浓度; V_t :肠循环液 t 时刻药物体积; t:肠循环液循环时间)。

2.7.2 药物质量浓度对肠吸收的影响:分别将药物质量浓度为 30、60、120 μg/mL 的肠循环液进行肠吸收实验,考察药物质量浓度对肠吸收的影响。

3 结果

3.1 酚红测定方法的考察结果:酚红的标准曲线为 $A = 72.92 C - 55.01$, $r = 0.9994$,线性范围 1~40 μg/mL; 酚红在肠循环液中的精密度和准确度考察结果见表 1,表明此方法可用于肠循环液中酚红的定量测定。稳定性考察结果表明,在含二苯乙烯苷不同质量浓度 (30、60、120 μg/mL) 的肠循环液中,酚红在 2.5 h 内峰面积的 RSD 为 0.1%,表明酚红在肠循环液中非常稳定。

3.2 二苯乙烯苷测定方法的考察结果:二苯乙烯苷的标准曲线为 $A = 62.11 C - 145.7$, $r = 0.9996$,线性范围 3.5~140 μg/mL。二苯乙烯苷在肠循环液及胃灌注液中的精密度和准确度考察结果见表 1,表明此方法可用于胃灌注液及肠循环液中二苯乙烯苷的定量测定。稳定性考察结果表明,在不同质量浓度

(2.5、5、10 mg/mL) 的胃灌注液中,二苯乙烯苷在 6 h 内峰面积的 RSD 均小于 0.5%,表明二苯乙烯苷在胃灌注液中稳定性良好;在不同质量浓度(0.03、0.06、0.12 mg/mL)的肠循环液中,二苯乙烯苷在 2.5 h 内峰面积的 RSD 在 5.0~1.5%,表明二苯乙烯苷在肠循环液中稳定性较差,肠吸收实验样品需立即测定,并且测定结果需进行校正,即:取不同质量浓度(0.03、0.06、0.12 mg/mL)的肠循环液,置 37℃ 水浴中,每隔 15 min 取样 1.0 mL,依法测定,并计算每一时间点的降解率 [D_t , $D_t = (1 - C_t/C_0) \times 100\%$, C_0 :水浴 0 时刻药物质量浓度; C_t :水浴 t 时刻药物质量浓度]。肠吸收实验样品测定结果按下式进行校正:实验剩余药量 = 测定剩余药量 + 初始药量 $\times D_t$ 。

表 1 二苯乙烯苷及酚红在胃灌注液及肠循环液中的精密度和准确度结果 ($n=5$)

Table 1 Precision and accuracy of stilbene glycoside and phenolsulfonphthalein in blank stomachal perfusate and blank intestinal circulation solution ($n=5$)

药 物	加入量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	回收率 $(\bar{x} \pm s)/\%$	日内 RSD/ $\%$	日间 RSD/ $\%$
胃灌注液中	3.5	100.10 $\pm$ 1.26	1.25	1.93
二苯乙烯苷	35	100.40 $\pm$ 0.89	0.89	1.49
	140	99.82 $\pm$ 2.12	2.12	2.21
肠循环液中	3.5	99.69 $\pm$ 2.75	2.76	2.43
二苯乙烯苷	35	99.62 $\pm$ 2.14	2.15	1.54
	140	99.48 $\pm$ 3.00	3.02	2.82
肠循环液中	1	102.50 $\pm$ 1.43	1.39	1.59
酚红	10	99.81 $\pm$ 0.92	0.92	1.02
	40	99.49 $\pm$ 1.71	1.72	0.98

3.3 胃吸收实验结果:大鼠在体胃吸收实验 1 h 后,二苯乙烯苷在胃内的吸收百分率见表 2。可见二苯乙烯苷在大鼠胃中吸收较好,对不同质量浓度的二苯乙烯苷在胃内的每小时吸收率进行方差分析,结果表明,低质量浓度与中质量浓度,中质量浓度与高质量浓度之间无显著性差异 ($P>0.05$),而低质量浓度与高质量浓度之间则有显著性差异 ($P<0.05$),说明二苯乙烯苷在胃内吸收不完全是被动吸收,还可能存在其他的转运机制,如主动转运等,还有待于进一步研究。

表 2 二苯乙烯苷大鼠在体胃吸收实验结果

Table 2 Absorption of stilbene glycoside in stomach in rats

质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	吸收率/ $\%$	RSD/ $\%$
2.5	72.7 $\pm$ 5.6	7.8
5.0	67.7 $\pm$ 6.0	8.9
10.0	56.6 $\pm$ 7.7	13.6

3.4 肠吸收实验结果:大鼠在体肠回流 2 h 后,不同质量浓度的二苯乙烯苷在肠内吸收的 K_a 、 $t_{1/2}$ 、 P

见表 3。可见,各回归直线的 r 值均大于 0.9,表明在肠道内药物质量浓度的下降与循环时间呈线性关系,故吸收动力学为一级吸收。对不同药量时的 K_a 进行方差分析,结果表明,不同药物质量浓度下的 K_a 间差异无显著性 ($P>0.05$)。可知在 30~120 $\mu\text{g/mL}$ 时,质量浓度对二苯乙烯苷在肠道内的吸收速率没有影响,提示其在肠道内的吸收是被动扩散的结果。二苯乙烯苷在肠道内吸收率约为 5%,表明吸收较差,故未对肠道吸收进行进一步的分段研究。

表 3 不同质量浓度二苯乙烯苷在大鼠在体肠的吸收参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 3 Absorption parameters of stilbene glycoside at various concentration in intestine in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/\text{h}$	$P/\%$	r
30	0.047 7 $\pm$ 0.003 2	14.512 2 $\pm$ 1.498 3	5.38 $\pm$ 0.092	0.903 2
60	0.051 4 $\pm$ 0.007 5	13.213 5 $\pm$ 1.443 7	5.53 $\pm$ 0.102	0.921 8
120	0.056 3 $\pm$ 0.005 7	12.425 3 $\pm$ 1.347 9	6.73 $\pm$ 0.131	0.973 7

4 讨论

由于酚红不被肠道吸收,所以在肠吸收实验中用于测定对水分的吸收,以计算肠循环液中药物浓度的变化。通常采用紫外分光光度计另行测定肠循环液中酚红浓度,专属性差,且操作繁琐。本实验采用高效液相色谱法同时测定肠循环液中二苯乙烯苷及酚红,既减少实验步骤,又增加数据的准确性。

稳定性考察结果表明,二苯乙烯苷在胃酸的酸性条件下稳定,而在肠循环液的碱性条件下稳定性较差,因此为了消除药物降解对肠循环实验结果的影响,首先考察了不同质量浓度二苯乙烯苷的肠循环液在 37℃ 水浴中不同时间点的降解率,然后对肠吸收实验样品测定结果进行了校正,实验结果令人满意。此方法简便快速,结果准确,便于推广。

二苯乙烯苷为弱酸性药物,在胃内酸性条件下大部分以分子形式存在,有利于药物的吸收,而在肠道碱性条件下则以解离状态存在,导致吸收较差。因此二苯乙烯苷主要在胃内被吸收,实验结果表明,在胃内二苯乙烯苷的吸收量随药物剂量的增加而增加,但吸收率却有所降低,说明其在胃部的吸收可能不止是被动扩散的结果,具体机制有待进一步研究。

大鼠直接 ig 给予二苯乙烯苷后,其吸收速度快,但生物利用率低,二苯乙烯苷主要以葡萄糖醛酸结合物的形式经胆汁排泄^[12]。通常药物的 I 相代谢产物经胆汁排入十二指肠后能在肠道菌及酶的作用下转化为原型药物被重吸收入血,导致血药浓度出现双峰现象。二苯乙烯苷的胃肠吸收研究结果表明,

二苯乙烯苷主要吸收部位是胃,在肠道内吸收较差。这可能是二苯乙烯苷在进行药动学研究时吸收速度快,生物利用率低以及未出现双峰现象的主要原因。并且在进行肠吸收研究时在肠循环液中未发现代谢物,这亦可能是由于二苯乙烯苷在肠道内吸收较差,且组织分布较广,导致经胆汁排泄的代谢物量甚微,故可忽略胆汁排泄对测定结果的影响。

鉴于二苯乙烯苷在胃肠道内的吸收特点,在对二苯乙烯苷进行新药开发时,可以考虑通过选择合适的剂型,如制成胃悬浮片等,来延长药物在胃内停留的时间,从而改善二苯乙烯苷的吸收,提高生物利用度,减少给药剂量。

参考文献:

- [1] Ryu G, Ju J H, Park Y J, *et al.* The radical scavenging effects of stilbene glucosides from *Polygonum multiflorum* [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(5): 636-639.
- [2] Lv L S, Gu X H, Tang J, *et al.* Antioxidant activity of stilbene glycoside from *Polygonum multiflorum* Thunb. *in vivo* [J]. *Food Chem*, 2007, 104(4): 1678-1681.
- [3] 楚晋,叶翠飞,李林,等. 二苯乙烯苷对D-半乳糖致脑老化小鼠学习记忆及神经营养因子的影响[J]. 中国药房, 2005, 16(1): 13-16.
- [4] 谢文杰,李林,魏海峰,等. 二苯乙烯苷对D-半乳糖拟痴呆小鼠海马基因表达的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2005, 19(1): 24-28.
- [5] 张兰,邢颖,赵玲,等. 不同时期APP转基因小鼠学习记忆改变及参乌胶囊、二苯乙烯苷的干预作用[J]. 中国行为医学科学, 2006, 15(3): 193-196.
- [6] 高璋,胡英杰,符林春. 何首乌二苯乙烯苷的调节血脂作用[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 323-326.
- [7] Yang P Y, Almofti M R, Lu L, *et al.* Reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits and decrease of expressions of intracellular adhesion molecule-1 and vascular endothelial growth factor in foam cells by a water-solution fraction of *Polygonum multiflorum* [J]. *J Pharmacol Sci*, 2005, 99(3): 294-300.
- [8] Passamonti S, Vrhovsek U, Vanzo A, *et al.* The stomach as a site for anthocyanins absorption from food [J]. *FEBS Lett*, 2003, 544(1-3): 210-213.
- [9] Zhao Z, Egashira Y, Sanada H, *et al.* Ferulic acid is quickly absorbed from rat stomach as the free form and then conjugated mainly in liver [J]. *J Nutr*, 2004, 134(11): 3083-3088.
- [10] 刘宏飞,苏显英,彭博,等. 阿昔洛韦在大鼠胃肠道吸收的研究[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(18): 1561-1564.
- [11] 刘大明,蒋学华. 黄芩苷和黄芩素大鼠在胃、肠的吸收动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(12): 999-1001.
- [12] 孙江浩,袁志芳,王春英,等. 何首乌中二苯乙烯苷在大鼠体内的药动学[J]. 中草药, 2005, 36(3): 405-408.

冬凌草甲素诱导膀胱癌 MB49 细胞凋亡及机制研究

车宪平¹,韩瑞发²,周晶³,肖劲逐¹,张国庆¹,陈道虎¹

(1. 海南省农垦总局医院 泌尿外科,海南海口 570311; 2. 天津医科大学第二医院 泌尿外科
天津市泌尿外科研究所,天津 300211; 3. 天津医科大学药学院,天津 300070)

摘要:目的 研究冬凌草甲素对膀胱癌 MB49 细胞株的生长抑制及诱导凋亡作用及其机制。方法 MTT 法检测冬凌草甲素对 MB49 细胞的生长抑制作用;Hoechst 33258 染色法观察细胞的形态学变化;流式细胞仪检查 Annexin V-FITC-PI 双染色法检测细胞凋亡率;分光光度法检测 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 活性变化;Western blotting 检测 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的变化。结果 冬凌草甲素对 MB49 细胞有明显的生长抑制作用,呈明显的时间-效应关系和浓度-效应关系。随着冬凌草甲素作用浓度增加,凋亡细胞数和坏死细胞数均增加,浓度越高,坏死细胞的比率增加越多。随着冬凌草甲素作用时间延长,MB49 细胞的 Caspase-3 和 Caspase-9 活性均升高;Bcl-2 蛋白的表达逐渐减弱,Bax 蛋白的表达逐渐增强,但 Caspase-8 未见明显变化。结论 冬凌草甲素对膀胱癌 MB49 有明显的抗肿瘤作用。冬凌草甲素可能主要通过 Fas/FasL-线粒体途径上调 Bax、下调 Bcl-2,导致 MB49 细胞凋亡的发生。

关键词:冬凌草甲素;凋亡;膀胱癌;Caspases

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1219-04

冬凌草甲素是从冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 中提取的一种贝壳杉烯二萜类化合物。实验证明,冬凌草甲素对多种肿瘤细胞有明显的抗肿瘤作用^[1-5]。临床研究发现,冬凌草有明显的预

防膀胱肿瘤复发的作用^[3];但其预防与治疗浅表性膀胱肿瘤的作用机制尚不清楚。本实验以膀胱癌 MB49 细胞株为研究对象,探讨冬凌草甲素对 MB49 细胞的生长抑制作用及机制,为冬凌草甲素

收稿日期:2008-03-28

作者简介:车宪平(1967—),男,河南省焦作市人,医学博士,副主任医师,研究方向为泌尿系肿瘤。

Tel: (0898) 66808281 E-mail: chexianping@126.com

二苯乙烯苷大鼠在体胃肠吸收动力学研究

作者: 王春英, 李敏, 袁志芳, 杨维, 解凤立, 张兰桐
作者单位: 河北医科大学药学院药物分析教研室, 河北石家庄, 050017
刊名: 中草药 ISTIC PKU
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39(8)
被引用次数: 6次

参考文献(12条)

1. Ryu G;Ju J H;Park Y J The radical scavenging effects of stibene glucosides from Poygonum muhiflorum 2002(05)

2. Lv L S;Gu X H;Tang J Antioxidant activity of stilbene glycoside from Poygonum multiflorum Thunb.in vivo[外文期刊] 2007(04)

3. 楚晋;叶翠飞;李林 二苯乙烯苷对D-半乳糖致脑老化小鼠学习记忆及神经营养因子的影响[期刊论文]-中国药房 2005(01)

4. 谢文杰;李林;魏海峰 二苯乙烯苷对D-半乳糖拟痴呆小鼠海马基因表达的影响[期刊论文]-中国药理学与毒理学杂志 2005(01)

5. 张兰;邢颖;赵玲 不同时期APP转基因小鼠学习记忆改变及参乌胶囊、二苯乙烯苷的干预作用[期刊论文]-中国行为医学科学 2006(03)

6. 高瑄;胡英杰;符林春 何首乌二苯乙烯苷的调节血脂作用[期刊论文]-中国中药杂志 2007(04)

7. Yang P Y;Almofiti M R;Lu L Reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits and decrease of expressions of intraeellular adhesion molecule-1 and vascular endothelial growth factor in foam cells by a water-solution fraetion of Polygonum multiflorum 2005(03)

8. Passamonti S;Vrhovsek U;Vanzo A The stomach as a site for anthocyanins absorption from food[外文期刊] 2003(1-3)

9. Zhao Z;Egashira Y;Sanada H Ferulic acid is quickly absorbed from rat stomach as the free form and then conjugated mainly in liver[外文期刊] 2004(11)

10. 刘宏飞;苏显英;彭博 阿昔洛韦在大鼠胃肠道吸收的研究[期刊论文]-中国新药杂志 2006(18)

11. 刘太明;蒋学华 黄芩苷和黄芩素大鼠在体胃、肠的吸收动力学研究[期刊论文]-中国中药杂志 2006(12)

12. 孙江浩;袁志芳;王春英 何首乌中二苯乙烯苷在大鼠体内的药动学[期刊论文]-中草药 2005(03)

本文读者也读过(10条)

1. 陈束叶. 李铜铃. 张洁. 张婷婷. 贾毅敏. CHEN Shu-ye. LI Tong-ling. ZHANG Jie. ZHANG Ting-ting. JIA Yi-min 盐酸帕罗西汀大鼠在体肠吸收动力学研究[期刊论文]-中国药学杂志2007, 42(8)

2. 孙江浩. 袁志芳. 王春英. 许慧君. 张兰桐. SUN Jiang-hao. YUAN Zhi-fang. WANG Chun-ying. XU Hui-jun. ZHANG Lan-tong 何首乌中二苯乙烯苷在大鼠体内的药动学[期刊论文]-中草药2005, 36(3)

3. 王春英. 张兰桐. 袁志芳. 金一宝. 张峥. WANG Chun-ying. ZHANG Lan-tong. YUAN Zhi-fang. JIN Yi-bao. ZHANG Zheng 何首乌醋酸乙酯提取部位与二苯乙烯苷的调血脂作用[期刊论文]-中草药2008, 39(1)

4. 张英丰. 李玉洁. 杨庆. 翁小刚. 董宇. 朱晓新. ZHANG Ying-feng. LI Yu-jie. YANG Qing. WENG Xiao-gang. DONG Yu. ZHU Xiao-xin 大鼠在体单向肠灌注法进行丹参素、丹酚酸B的肠吸收研究[期刊论文]-中国实验方剂学杂志 2010, 16(11)

王春英 张兰桐 袁志芳 刘伟娜 孙江浩 何首乌有效成分二苯乙烯苷的药代动力学研究[期刊论文]-药学报

6. 张新勇, 张兴德, 高运军, 刘幸平, ZHANG Xin-yong, ZHANG Xing-de, GAO Yun-jun, LIU Xing-ping 灯盏花素自微乳在大鼠肠道吸收动力学研究[期刊论文]-医药导报2009, 28(5)
7. 赵玲, 李雅莉, 张丽, 靳洪涛, 李林 二苯乙炔苷对高胆固醇血症致 β -淀粉样肽增高大鼠模型的影响[期刊论文]-中国药理学通报2005, 21(1)
8. 单进军, 邓云天, 吴皓, 狄留庆 祖师麻香豆素类成分的大鼠小肠吸收研究[期刊论文]-南京中医药大学学报 2009, 25(3)
9. 刘太明, 蒋学华, LIU Tai-ming, JIANG Xue-hua HPLC同时测定肠循环液中黄芩苷、黄芩素和酚红的浓度[期刊论文]-华西药理学杂志2005, 20(5)
10. 刘莉萍, 杨耀防, 何明, 李卫东, 邵立健, 陈和平, 李青, 刘丹, Liu Li-ping, Yang Yao-fang, He Ming, Li Wei-dong, Shao Li-jian, Chen He-ping, Li Qing, Liu Dan 二苯乙炔苷对人脐静脉血管内皮细胞缺氧复氧损伤的影响[期刊论文]-中国组织工程研究与临床康复2009, 13(7)

引证文献(6条)

1. 王春英, 张子建, 刘西哲, 张小幸, 张兰桐 二苯乙炔苷正辛醇-水分配系数的测定[期刊论文]-河北医科大学学报 2010(8)
2. 耿婷, 朱慧, 张丽, 单鸣秋, 丁安伟 荆芥内酯大鼠在体胃肠吸收动力学研究[期刊论文]-中草药 2011(7)
3. 王春英, 杨维, 谷建敏, 张兰桐 七宝美髯颗粒中二苯乙炔苷在大鼠体内的药代动力学研究[期刊论文]-中成药 2010(2)
4. 曹颖, 李永吉, 吕邵娃 大鼠在体肠灌流模型在中药研究中的应用[期刊论文]-中医药学报 2010(3)
5. 王健鲲, 朱萱萱, 孙建国 何首乌中二苯乙炔苷的药效学和药动学研究进展[期刊论文]-中国临床药理学与治疗学 2011(12)
6. 谢岚 何首乌及二苯乙炔苷的研究进展[期刊论文]-天津药学 2010(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808033.aspx