

Na^+ , K^+ -ATP 酶的主要功能是将细胞内的 Na^+ 泵出和将胞外的 K^+ 泵入,平衡细胞内外 Na^+ , K^+ 浓度; Ca^{2+} -ATP 酶的主要功能是将细胞内 Ca^{2+} 泵出,它同 Na^+ - Ca^{2+} 交换共同维持细胞内 Ca^{2+} 稳态。 Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降,导致细胞内 Ca^{2+} 、 Na^+ 增多。胞内 Na^+ 增多引起 Na^+ 、 Ca^{2+} 交换增加,进一步加剧细胞内 Ca^{2+} 超载。因此, Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶对维持细胞内离子浓度、维持细胞的正常结构和功能起着十分重要的作用。脑缺血再灌注时, Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降,导致 K^+ 大量流向细胞外液, Na^+ 及 Ca^{2+} 大量流入细胞内,伴随 H_2O 的进入而导致细胞急速肿胀,产生脑水肿。本研究结果表明,蛇床子素通过增强 Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性,降低脑缺血再灌注后脑组织含水量,从而保护缺血脑组织。

IL-8 是免疫性炎症反应过程中的炎性趋化细胞因子,在脑缺血和缺血再灌注损伤中起着重要作用。IL-8 主要由中性粒细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞等在缺血、缺氧、IL-1、内毒素 (LPS)、内皮素-1 (ET-1) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 等诱导下合成。IL-8 使中性粒细胞激活,促使其趋化、聚集、黏附于血管内皮和产生大量自由基及蛋白水解酶等炎症介质,损害局部血管,导致血管通透性增加,造成组织水肿坏死。脑缺血和缺血再灌注损伤后,缺血区脑组织中 IL-8 生成增加,使大量中性粒细胞激活,促进其趋化和浸润,并释放毒性氧自由基、细胞因子和一些炎症介质,导致局部脑水肿和脑组织坏死。中性粒细胞中含有 MPO,每个细胞所含的酶量是一定的,利用这一特点,可以通过测量 MPO 活性定量分析中性粒细胞的数目和组织的浸润情况^[10,11]。本研究发现,蛇床子素可抑制 IL-8 产生,阻断中性

粒细胞激活,抑制 MPO 活性,降低脑缺血再灌注后中性粒细胞在脑组织中的浸润和聚集,抑制局部脑组织炎症反应,减轻脑水肿,保护缺血脑组织。

本研究结果表明,蛇床子素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤有保护作用。通过抑制 IL-8 产生,抑制 MPO 活性,降低脑缺血再灌注后中性粒细胞在脑组织中的浸润,抑制局部脑组织炎症反应,增强 Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性,降低脑缺血再灌注后脑组织含水量,减轻脑水肿,是其治疗脑缺血损伤的机制之一。

参考文献:

- [1] 连其深,周 俐,叶和扬,等. 蛇床子素抗炎作用的实验研究 [J]. 赣南医学院学报, 1999, 19(3): 165-168.
- [2] 李 乐,庄斐尔,赵更生. 蛇床子素对家兔主动脉条的钙拮抗作用 [J]. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 227-231.
- [3] Chiou W F, Huang Y L, Chen C F, et al. Vasorelaxing effect of coumarins from *Cnidium monnieri* on rabbit corpus cavernosum [J]. *Planta Med*, 2001, 67(3): 282-284.
- [4] 沈丽霞,张丹参,张 力,等. 蛇床子素对学习记忆的影响及其机制分析 [J]. 药学报, 1999, 34(6): 405-409.
- [5] 陈 蓉,谢梅林,周 佳. 蛇床子素抑制血栓形成和血小板聚集的实验研究 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21(4): 440-443.
- [6] 周 俐,刘建新,周 青,等. 蛇床子素抗凝血作用 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3): 42-43.
- [7] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] Young W, Rappaport Z H, Chalif D J, et al. Regional brain sodium, potassium and water changes in the rat middle cerebral artery occlusion model of ischemia [J]. *Stroke*, 1987, 18(4): 751-759.
- [9] Lundy E F, Solik B S, Frank R S, et al. Morphometric evaluation of brain infarcts in rats and gerbils [J]. *J Pharmacol Methods*, 1986, 16(3): 201-214.
- [10] Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, et al. Correlation between myeloperoxidase quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat: effects of neutrophil depletion [J]. *Stroke*, 1994, 25(7): 1469-1475.
- [11] Barone F C, Schmidt D B, Hillegass L M, et al. Reperfusion increases neutrophils and leukotriene B4 receptor binding in rat focal ischemia [J]. *Stroke*, 1992, 23(9): 1337-1347.

野西瓜挥发油抑制人胃癌 SGC-7901 细胞增殖的研究

季宇彬^{1,2,3},王 巍¹,于 蕾^{1,2,3},崔荣田¹,莫 科¹,邹 翔^{1,2,3}

(1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心,黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 哈尔滨商业大学 药物研究所博士后科研工作站,黑龙江 哈尔滨 150076; 3. 抗肿瘤天然药物教育部工程研究中心,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘 要:目的 研究野西瓜挥发油的抗肿瘤作用。方法 采用 MTT 实验和 SRB 实验观察野西瓜挥发油对 SGC-

收稿日期:2008-05-22

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目 (D200610)

作者简介:季宇彬(1956—),男,博士,博士后,教授,博士生导师,研究方向为抗肿瘤药物研究。

7901 细胞的体外抗肿瘤作用;采用倒置荧光显微镜观察野西瓜挥发油作用后典型的细胞凋亡形态;采用流式细胞仪测定野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞凋亡及细胞周期的影响。结果 10~200 $\mu\text{g/mL}$ 的野西瓜挥发油作用于 SGC-7901 细胞 72 h 后均可不同程度的抑制 SGC-7901 细胞的增殖,其 IC_{50} 为 145.5 $\mu\text{g/mL}$, GI_{50} 为 121.32 $\mu\text{g/mL}$, LC_{50} 为 900.96 $\mu\text{g/mL}$, TGI 为 240.55 $\mu\text{g/mL}$;作用 24 h 后出现典型的凋亡形态;75、150、300 $\mu\text{g/mL}$ 的野西瓜挥发油作用 24 h 时出现细胞凋亡;周期分布发生改变,呈现 S 期阻滞。结论 野西瓜挥发油具有明显抑制 SGC-7901 细胞增殖作用,其 SGC-7901 机制为诱导肿瘤细胞凋亡及改变细胞周期。

关键词:野西瓜;挥发油;细胞凋亡

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)01-0089-05

Inhibition of volatile oil in *Capparis spinosa* on proliferation of human gastric carcinoma SGC-7901 cells

J I Yu-bin^{1,2,3}, WANG Wei¹, YU Lei^{1,2,3}, CUI Rong-tian¹, MO Ke¹, ZOU Xiang^{1,2,3}

(1. Center of Research and Development on Life Sciences and Environmental Sciences, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. Institute of Materia Medica and Postdoctoral Programme of Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 3. Engineering Research Center of Natural Anticancer Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, China)

Abstract : Objective To study the anti-tumor effect of the volatile oil in *Capparis spinosa*. **Methods** MTT and SRB were used to study the anti-tumor effect of the volatile oil *in vitro*. The typical morphology of apoptosis induced by the volatile oil in *C. spinosa* was observed by reversed fluorescent microscope. The effect of the volatile oil on cell apoptosis and different stages of cell cycles in human gastric carcinoma SGC-7901 cells was studied by flow cytometer. **Results** The proliferation of SGC-7901 cells was inhibited after treated with the volatile oil (10, 50, 100, 150, and 200 $\mu\text{g/mL}$) for 72 h and the IC_{50} was 145.5 $\mu\text{g/mL}$, GI_{50} was 121.32 $\mu\text{g/mL}$, LC_{50} was 900.96 $\mu\text{g/mL}$, TGI was 240.55 $\mu\text{g/mL}$. After SGC-7901 cells were treated by the volatile oil for 24 h, the typical morphological changes of apoptosis were observed. the apoptotic cells were detected after treated with the volatile oil (75, 150, and 300 $\mu\text{g/mL}$) for 24 h. Cell cycle was also analyzed, with the results showing that the volatile oil led S stage block. **Conclusion** The volatile oil has the significant inhibition on proliferation of SGC-7901 cells. Its anti-tumor mechanism could be attributed to its action of initiating the apoptosis of tumor cells.

Key words: *Capparis spinosa* L.; volatile oils; apoptosis

野西瓜 *Capparis spinosa* L. 又称老鼠瓜、刺山柑,维语称“波里克果”或“卡盘”,为山柑科山柑属藤本植物,是荒漠、半荒漠、干旱、半干旱地区极有栽培价值的抗旱植物。我国产于新疆、甘肃、内蒙古、西藏等省区。我国沙区仅产 1 属 1 种,新疆各沙区有分布,以吐鲁番盆地沙漠最多。野西瓜以其叶、果实、根皮入药,具有祛风、除湿、通鼻窍、止瘀消肿、止痛活血之功效。目前对于野西瓜多糖部位抗肿瘤作用进行初步研究表明野西瓜多糖可诱导 Hep G2 细胞凋亡^[1];对野西瓜果实挥发性化学成分也已进行了部分研究^[2],但对挥发油抗肿瘤作用的研究未见报道,为了开发抗肿瘤新药,为使刺山柑资源得到充分的利用,发挥其独特的药理活性,本实验通过体外试验来观察野西瓜挥发油的抗肿瘤作用,同时观察了野西瓜挥发油对人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡以及对其周期分布的影响,试图初步研究其抗肿瘤作用及机制。

1 材料

1.1 药品:野西瓜果实由哈尔滨商业大学药物研究所提供,由黑龙江省药品检验所王青华教授鉴定。

1.2 挥发油的提取:将野西瓜果实粉碎过 60 目筛,准确称取 100 g 置于 2 L 圆底蒸馏瓶中,加适量水后按挥发油测定法甲法^[3],采用挥发油测定器提取,至不再有油滴出现为止。静置后分出油层,用石油醚萃取水相 3 次并入油层,然后除去石油醚,得浓郁芳香气味的淡黄色油状物即为挥发油[含(2,2)-9,12-十八碳二烯酸 26.40%,棕榈酸 15.35%]。所得挥发油密封、避光、冷藏备用^[2]。

1.3 肿瘤细胞系:人胃癌细胞株 SGC-7901,由哈尔滨商业大学药物研究所提供。

1.4 主要试剂:RPMI-1640 培养基干粉、小牛血清(美国 Gibco 公司);胰蛋白酶、二甲基亚砜(DMSO)、溴化丙啶(PI),MTT (Sigma 公司);阿霉素(浙江海正药业股份有限公司);Hoechst 33258 (-20℃保存,上海华舜生物工程有限公司);碘酰罗丹明 B (sulforhodamine B, SRB) (Sigma 公司)。

1.5 主要仪器:酶标仪 EL311 (美国 BIO-TEK 公司);FACSC Ablicur 流式细胞仪 (美国 B-D 公司);LNA-111 型 CO₂ 恒温培养箱 (日本三洋);超净工作台 (苏州净化设备厂);CKX-41-32 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus)。

2 方法

2.1 细胞培养:实验所用细胞于含 5% CO₂ 的培养箱中培养传代,用含 10% 小牛血清 RPMI-1640 培养液培养;用 0.25% 胰酶消化传代,每周传代两次。

2.2 MTT 法测定肿瘤细胞的存活率:取处于对数生长期的 SGC-7901 细胞,消化后悬浮在一定量的培养液中,计数后调整细胞浓度为 5×10^4 /mL,接种于 96 孔板,每孔 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的饱和湿度条件下培养。待 24 h 细胞完全贴壁后,实验组加入野西瓜挥发油至终质量浓度为 10、50、100、150、200、300 μ g/mL (挥发油溶解在 DMSO 中,加入细胞中的 DMSO 终体积分数低于 0.1%,此体积分数对细胞生长无影响);阳性对照组阿霉素的质量浓度为 0.01、0.1、1、10 μ g/mL;对照组加相同体积的培养液,每个剂量设 6 个平行孔,继续培养 72 h 后,弃去上清液后,每孔加入 MTT 染液 100 μ L (0.5 mg/mL),继续培养 4 h,弃去上清,每孔加入 DMSO 200 μ L,震荡 5~10 min 后,使用酶标仪检测 $\lambda=570$ nm 处吸光度 (A) 值,计算抑制率并按中效方程计算 IC₅₀ [4]。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均 A 值} - \text{给药组平均 A 值}}{\text{对照组平均 A 值}} \times 100\%$$

2.3 SRB 法检测野西瓜挥发油对肿瘤细胞的抑制作用:将对数生长期的细胞用胰酶消化后调制成浓度为 3×10^4 /mL 的细胞液,每孔 100 μ L 接种于 96 孔板。培养 24 h 后加入野西瓜挥发油至终质量浓度为 10、50、100、150、200、300 μ g/mL,阳性对照组阿霉素的质量浓度为 0.01、0.1、1、10 μ g/mL;对照组加相同体积的培养液,每个剂量设 6 个平行孔,同时设立加药时对照平板并测定此时细胞的 A₅₁₅ 值 (T₀)。72 h 后弃上清,加质量分数为 50% 的冷三氯乙酸 (TCA) 液,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱中固定 1 h,倒掉固定液,用去离子水洗 5 遍,干燥后加质量浓度为 4 mg/mL SRB 染液,室温放置 30 min;倒掉染液用 1% 醋酸洗 5 遍,过夜干燥,加 10 mmol/L 的 Tris 缓冲液 150 μ L,10 min 后测定 A 值,波长为 515 nm [5]。用如下公式计算肿瘤细胞的生长率、细胞死亡率;细胞 50% 生长抑制所需的药物浓度 (GI₅₀);

细胞完全生长抑制所需的浓度 (TGI);杀死 50% 细胞所需的药物浓度 (LC₅₀)。

$$\text{生长率} = (T - T_0) / (C - T_0) \times 100\%$$

$$\text{细胞死亡率} = (T - T_0) / T_0 \times 100\%$$

C 表示,对照组细胞的 A 值;T 表示加药组细胞的 A 值;T₀ 表示加药时对照平板细胞的 A 值;GI₅₀ 即 (T - T₀) / (C - T₀) = 50% 时的药物浓度;TGI 即 T = T₀ 时的药物浓度;LC₅₀ 即 (T - T₀) / T₀ = -50% 时的药物浓度

2.4 Hoechst 33258 染色观察细胞形态:取处于对数生长期的人胃癌 SGC-7901 细胞常规消化后,调整细胞浓度后接种于 6 孔板中 (孔中事先放入盖玻片),每孔加 3×10^5 /mL 细胞液 1 mL,待 24 h 细胞完全贴壁后,加药处理,共分 5 组:对照组,阳性 (阿霉素 5 μ g/mL),野西瓜挥发油高、中、低剂量 (150、75、35.5 μ g/mL),给药 24 h 后,弃上清,用 PBS 洗涤细胞后加入固定液 (甲醇-冰醋酸 3:1),置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱固定 10 min 后,加入 5 mg/L 的荧光探针 Hoechst 33258,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育 15 min,将孔中的盖玻片取出,滴好甘油后置于荧光倒置显微镜上观察细胞形态 [5]。

2.5 流式细胞仪测定 SGC-7901 细胞周期及细胞凋亡:选择对数生长期的人胃癌 SGC-7901 细胞,常规消化后,调整细胞浓度后接种于 6 孔板,每孔加 3×10^5 /mL 细胞液 1 mL,待 24 h 细胞完全贴壁后,加药处理,共分 5 组:对照组,阳性 (阿霉素 5 μ g/mL),野西瓜挥发油高、中、低 (300、150、75 μ g/mL) 剂量组,给药 24 h 后,弃上清,消化后用 PBS 洗两遍,将 1 体积细胞悬液加 9 体积 70% 乙醇于 -20 $^{\circ}$ C 固定 12 h,离心,PBS 液洗涤除尽乙醇,离心后悬于 PI 染液中室温染色 30 min,300 目尼龙网滤过后,在流式细胞仪上测定凋亡细胞所占比例。检测细胞数为 1×10^4 个。激发波长 488 nm,发射波长 630 nm [6]。

3 结果

3.1 MTT 法检测野西瓜挥发油对 SGC-7901 的细胞毒作用:实验结果表明:质量浓度为 50~300 μ g/mL 野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞的生长具有一定的抑制作用,与对照组比较差异显著,并且随着质量浓度增加,抑制率逐渐增加,即具有剂量依赖关系,经直线回归计算出野西瓜挥发油对 SGC-7901 的 IC₅₀ 为 145.5 μ g/mL,阿霉素的 IC₅₀ 0.405 μ g/mL 见表 1。

3.2 SRB 法检测野西瓜挥发油对 SGC-7901 肿瘤细胞增殖的影响:SRB 法检测野西瓜挥发油作用

72 h 对 SGC-7901 细胞的 GI_{50} 为 $121.32 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 LC_{50} 为 $900.96 \mu\text{g}/\text{mL}$ ， TGI 为 $240.55 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。阿

表 1 野西瓜挥发油对 SGC-7901 的细胞毒作用 (n = 6)

Table 1 Cytotoxicity of volatile oil in *C. spinosa* on SGC-7901 cells (n = 6)

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	$A(\bar{x} \pm s)$	抑制率/ %
对照	0	0.796 ± 0.088	-
野西瓜挥发油	10	0.876 ± 0.086	0.228
	50	$0.641 \pm 0.093^*$	27.050
	100	$0.620 \pm 0.051^{**}$	29.442
	150	$0.609 \pm 0.039^{**}$	30.615
	200	$0.350 \pm 0.040^{**}$	60.099
	300	$0.112 \pm 0.006^{**}$	87.244
阿霉素	0.01	0.390 ± 0.049	6.288
	0.1	$0.356 \pm 0.012^*$	44.015
	1	$0.089 \pm 0.002^{**}$	80.303
	10	$0.089 \pm 0.006^{**}$	81.667

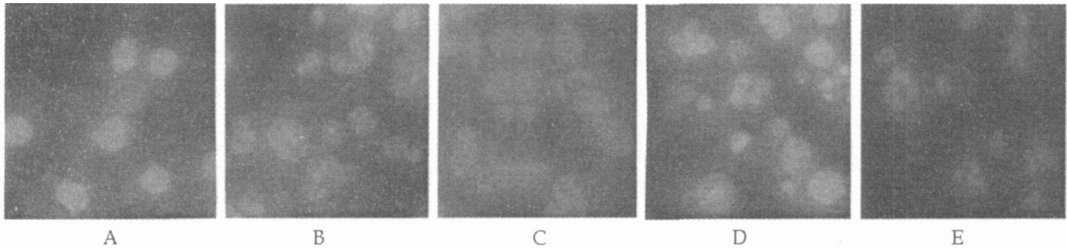
与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

霉素的 GI_{50} 为 $53.81 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 LC_{50} 为 $5.57 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 TGI 为 $16.11 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.3 Hoechst 33258 染色观察细胞形态:结果表明,野西瓜挥发油 150、75、35.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量组与对照组比较,均呈现出细胞核染色质固缩,聚集于核边缘并呈块状,细胞核碎裂成核膜包裹着的碎块,形成凋亡小体,出现明显的凋亡形态,见图 1。

3.4 流式细胞仪测定野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞周期及细胞凋亡的影响:流式细胞术 (FCM) 结果显示:不同质量浓度野西瓜挥发油作用 SGC-7901 细胞 24 h 后, G_0/G_1 期和 G_2/M 细胞比例减少,而 S 期细胞数量增加,表明野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞具有明显的 S 期阻滞作用。不同质量浓度的野西瓜挥发油作用 SGC-7901 细胞,24 h 时均出现不同程度的凋亡,且随着质量浓度的增加凋亡率增加,表明具有一定的剂量-效应关系。见表 2。



A-对照组 B~D-野西瓜挥发油 35.5、75、150 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组 E-阿霉素 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组

A-control group B-D-volatile oil in *C. spinosa* 35.5, 75, 150 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ group E-farmicetina 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ group

图 1 野西瓜挥发油作用 24 h 时 SGC-7901 细胞形态的变化

Fig. 1 Morphological changes of SGC-7901 cells induced by volatile oil in *C. spinosa*

表 2 野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞周期及细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 3)

Table 2 Effect of volatile oil in *C. spinosa* on cell cycle and cell apoptosis of SGC-7901 cells ($\bar{x} \pm s$, n = 3)

组别	剂量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}$)	细胞周期/ %			凋亡率/ %
		G_0/G_1	S	G_2/M	
对照	0	59.009 ± 0.211	37.336 ± 0.321	3.655 ± 0.102	0.021
野西瓜挥发油	75	54.594 ± 0.368	40.037 ± 1.311	5.366 ± 0.387	7.051 ± 0.732
	150	$54.049 \pm 0.842^*$	$44.724 \pm 1.591^*$	$1.228 \pm 0.109^*$	$11.628 \pm 0.817^{**}$
	300	$43.014 \pm 0.709^{**}$	$56.771 \pm 1.078^{**}$	$0.215 \pm 0.037^{**}$	$39.658 \pm 1.604^{**}$
	阿霉素	$54.757 \pm 0.298^{**}$	$26.814 \pm 0.488^{**}$	$18.429 \pm 0.194^{**}$	$53.267 \pm 1.364^{**}$

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

4 讨论

MTT 实验结果表明不同质量浓度的野西瓜挥发油作用于 SGC-7901 细胞 72 h 后对细胞增殖均有不同程度的抑制作用,且随着质量浓度增加,抑制率逐渐增加,即具有剂量依赖关系,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的挥发油对细胞的抑制率较低,50 ~ 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的挥发油具有一定的抑制作用,200 ~ 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的挥发油具有较强的抑制作用。野西瓜挥发油对 SGC-

7901 的 IC_{50} 为 $145.5 \mu\text{g}/\text{mL}$,同对照组比较差异非常显著 ($P < 0.01$)。从 SRB 结果可以看出低质量浓度的野西瓜挥发油通过抑制肿瘤细胞生长而起抗癌作用,其 GI_{50} 约为 $121.32 \mu\text{g}/\text{mL}$,当质量浓度达到 $240.55 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时细胞生长受到完全抑制,随着质量浓度继续增加至 $900.96 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时有一半数量的细胞被杀死。Hoechst 33258 荧光染色实验可观察到 37.5、75、150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的野西瓜挥发油作用

SGC-7901 细胞 24 h 后,细胞均不同程度的出现细胞核裂解,呈现出核染色质凝聚边缘化,质地致密的染色体边集,聚集于核边缘呈块状,细胞核碎裂成核膜包裹着的碎块,形成凋亡小体,出现明显的凋亡形态。并且,随着剂量的增加,所呈现的凋亡形态越加明显,进一步证实了,野西瓜挥发油对 SGC-7901 细胞的抑制作用具有剂量依赖性。

野西瓜挥发油作用 SGC-7901 细胞 24 h 后经 PI 染色,FCM 分析结果表明,与对照组比较,野西瓜挥发油改变了 SGC-7901 细胞的周期分布:150、300 $\mu\text{g/mL}$ 的野西瓜挥发油作用于 SGC-7901 细胞 24 h 后, G_0/G_1 期和 G_2/M 细胞比例减少,S 期细胞增加,而 75 $\mu\text{g/mL}$ 的野西瓜挥发油作用 SGC-7901 细胞 24 h 后,细胞周期分布变化不明显。

流式结果还表明野西瓜挥发油作用 24 h 后可诱导 SGC-7901 细胞发生凋亡,75、150、300 $\mu\text{g/mL}$

的给药组细胞凋亡率分别达到 7.272%、11.146%、32.572%,呈现出明显的剂量-效应关系。本研究表明,野西瓜挥发油抑制 SGC-7901 细胞生长,并诱导细胞凋亡,并且与细胞周期的改变有关,且这种关系与其作用剂量有关。

参考文献:

- [1] 季宇彬,东方,高世勇,等.野西瓜多糖诱导 Hep G2 细胞凋亡的实验研究[J].中草药,2008,39(9):1364-1367.
- [2] 白红进,赵小亮,刘文杰.刺山柑果实挥发油化学成分的研究[J].安徽农业科学,2007,35(9):2517-2518.
- [3] 《中国药典》[S].一部,2005.
- [4] 鄂征.组织培养和细胞技术[M].北京:北京出版社,1995.
- [5] 邹翔,郎朗,武晓丹,等.西兰花中葡萄糖异硫氰酸盐诱导人胃腺癌 SGC-7901 细胞凋亡的初步研究[J].中草药,2007,38(2):228-231.
- [6] 季宇彬,王宏亮,李燕,等. H_{13} 诱导人卵巢癌 A2780 细胞凋亡及其机制的研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2006,22(3):1-4.

痹祺胶囊全方及拆方抗炎镇痛作用研究

高晶¹,曾勇¹,于飞^{2,1},庄露凝^{2,1},杨凌³,刘昌孝¹

(1. 天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室,天津 300193; 2. 天津大学化工学院,天津 300072; 3. 中国科学院大连化学物理研究所,辽宁 大连 116023)

摘要:目的 研究痹祺胶囊全方及拆方的镇痛、抗炎作用,探讨君、臣、佐、使间的配伍规律。方法 采用小鼠热板法和扭体法观察痹祺胶囊及拆方的镇痛作用;采用大鼠佐剂关节炎(AA)模型观察痹祺胶囊及拆方的抗炎作用。结果 君药马钱子 ig 给予小鼠 50 mg/kg (相当于处方用量),大鼠 2.5 mg/kg (相当于处方用量),其镇痛、消肿作用并不明显,只有高于处方 2 倍以上的用量,方可起到一定镇痛作用;动物单独 ig 臣、佐、使药后其镇痛、消肿作用均不明显;君+臣、君+佐、君+臣+使、君+佐+使药配伍后镇痛作用不明显,对大鼠 AA 原发性和继发性肿胀有明显消肿作用;君+使药配伍的镇痛作用和对大鼠 AA 原发性肿胀的消肿作用明显,而对 AA 大鼠足趾继发性肿胀的消肿作用不明显;君+臣+佐药配伍既有明显镇痛作用,又有明显的消肿作用,痹祺胶囊全方(君+臣+佐+使)无论对小鼠的镇痛作用还是对 AA 大鼠足趾肿胀的消肿作用均非常明显。结论 痹祺胶囊具有明显的抗炎、镇痛作用,臣、佐、使药对君药马钱子有减低用量,增强疗效的作用。

关键词:痹祺胶囊;配伍规律;君臣佐使;镇痛;抗炎

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)01-0093-04

痹祺胶囊处方来源于汉代名医华佗传世验方“一粒仙丹”,由马钱子、地龙、党参、茯苓、白术、甘草、川芎、丹参、三七、牛膝等组成。中医认为痹症的发生,“皆因体虚,腠理空疏,受风寒湿气而成”,可见身体虚弱、正气不足、腠理不密、卫外不固是引起痹症的内在因素,感受风寒湿邪是其外在因素,故治疗

应以益气养血、祛风除湿、散寒通络、活血止痛为治疗原则。痹祺胶囊正是宗以上原则立论立法的。马钱子是痹祺胶囊的“君药”,其有大毒,具有散寒消肿、通络止痛作用;臣药由党参、白术、茯苓、丹参构成,党参、白术、茯苓健脾益气,丹参养血和血,四药同用益气养血,切中病机为臣药;佐药由三七、川芎、

收稿日期:2008-05-18

基金项目:国家自然科学基金重点项目“确有疗效的中药药代动力学研究”课题(30630075)

作者简介:高晶(1960—),女,天津市人,高级实验师,从事药代动力学和药效动力学研究工作。E-mail: gaojing_60@126.com

*通讯作者 刘昌孝 中国工程院院士。Tel: (022) 23006863 E-mail: liuchangxiao@163.com