

整体调节的作用特色。

参考文献:

- [1] Miwa H, Watari J, Fukui H, et al. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(Suppl 3): 53-60.
- [2] Ming LH, Rayner C, Seng KC, et al. Effect of ginger on gastric motility and symptoms of functional dyspepsia [J]. World Journal of Gastroenterology, 2011, 17(1): 105-110.
- [3] 于大海, 李奎栋. 丁桂儿脐贴与匹维溴铵联用治疗青少年腹泻型肠易激综合征 52 例疗效观察[J]. 光明中医, 2006, 21(4): 65-66.
- [4] 钱宝美, 周泉良, 王艳玲, 等. 丁桂儿脐贴外敷神阙穴防治红霉素胃肠道反应的临床观察[J]. 中国当代医药, 2011, 18(15): 95-96.
- [5] 张勇, 王振华. 大鼠胃电节律失常模型的建立[J]. 中国实验动物学杂志, 1996, 6(1): 15-17.
- [6] Miwa H, Nakajima K, Yamaguchi K, et al. Generation of dyspeptic symptoms by direct acid infusion into the stomach of healthy Japanese

- subjects[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2007, 26(2): 257-264.
- [7] Lee KJ, Vos R, Janssens J, et al. Influence of duodenal acidification on the sensorimotor function of the proximal stomach in humans[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 286(2): G278-G284.
- [8] 李易, 韩盛玺. 胃力康颗粒治疗功能性消化不良疗效观察[J]. 中国医药, 2009, 4(2): 111-112.
- [9] 李紫红, 徐宏飞. 多潘立酮治疗功能性消化不良的疗效观察[J]. 内蒙古中医药, 2010, 34(12): 472-473.
- [10] Gilja OH, Lunding J, Hausken T, et al. Gastric accommodation assessed by ultrasonography [J]. World Journal of Gastroenterology, 2006, 12(18): 2825-2829.
- [11] Rosch W, Vinson B, Sassini I. A randomised clinical trial comparing the efficacy of a herbal preparation STW 5 with the prokinetic drug cisapride in patients with dysmotility type of functional dyspepsia[J]. Z Gastroenterol, 2002, 40(6): 401-408.

(编辑: 邓响潮)

沉香挥发油对 H₂O₂ 致 PC12 细胞氧化损伤的保护作用

熊礼燕¹, 李丽月¹, 林 励¹, 陈地灵², 吴俊生¹, 郑 敏¹, 廖丰蕴¹ (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 华南师范大学, 广东 广州 510631)

摘要: **目的** 研究沉香挥发油对 H₂O₂ 所致鼠肾上腺嗜铬细胞瘤单克隆细胞系 (PC12 细胞) 氧化损伤的保护作用。**方法** 体外培养 PC12 细胞, 采用 H₂O₂ 制备细胞损伤模型, 运用乳酸脱氢酶(LDH)和四唑盐(MTT)法检测细胞活力; 应用荧光分光光度法测定细胞膜电位(MMP)和细胞内活性氧含量; 应用试剂盒-酶标仪法测定细胞内丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽还原酶(GSH-Px)的活力。**结果** 不同浓度 H₂O₂ 对 PC12 细胞生长均有明显的抑制作用, 当浓度达到 200 μmol·L⁻¹ 后, 对细胞的抑制作用明显减缓; 与正常对照组比较, 模型组的细胞存活率较低, ROS、MDA 含量较高 ($P < 0.01$), 但 SOD 和 GSH-Px 含量明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 沉香挥发油各剂量组的 ROS、MDA 含量明显降低 ($P < 0.01$), 而细胞存活率、SOD 和 GSH-Px 酶活力则显著增强 ($P < 0.01$)。**结论** 沉香挥发油在一定剂量范围内, 对 H₂O₂ 致 PC12 细胞氧化损伤具有保护作用。

关键词: 沉香; 挥发油; PC12 细胞; 氧化损伤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0028-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.008

Protective Effects of Lignum Aquilariae Resinatum Essential Oil on H₂O₂-induced Oxidative Damage of PC12 Cells

XIONG Liyan¹, LI Liyue¹, LIN Li¹, CHEN Diling², WU Junsheng¹, ZHENG Min¹, LIAO Fengyun¹ (1. Guangzhou university of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. South China Normal University,

收稿日期: 2013-10-04

作者简介: 熊礼燕, 男, 博士研究生, 研究方向: 中药资源开发利用与新药研究。Email: xlyiverson@126.com。通讯作者: 林励, 研究员, 研究方向: 中药资源开发利用与新药研究。Email: LL76611@126.com。

基金项目: 国家发改委高新技术产业化项目(国发办 2011-51); 惠州市科技计划项目(2010B020010005)。

Guangzhou 510631 Guangdong, China)

Abstract: Objective To study the protective effects of Lignum Aquilariae Resinatum essential oil on the H_2O_2 -induced oxidative damage of pheochromocytoma monocloned cell line (PC12 cells). **Methods** PC12 cells was cultured *in vitro*, and oxidative damage of PC12 cells was induced by H_2O_2 . MTT method was performed for the detection of cells viability, fluorospectrophotometry was used to determinate mitochondrial membrane potential (MMP) and the content of intracellular reactive oxygen species(ROS), and the kit-microplate reader methods were used to determinate malondialdehyde(MDA) content and the activities of superoxide dismutase(SOD) and glutathione reductase(GSH-Px). **Results** Each concentration of H_2O_2 had significant inhibition on PC12 cells, and $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ was the maximum inhibitory concentration. The cell viability of the model group was lower, while the contents of ROS and MDA were higher than those of the blank control group($P < 0.01$), and the activities of SOD and GSH-Px were sharply reduced in the model group ($P < 0.01$). After being treated with Lignum Aquilariae Resinatum essential oil, ROS and MDA were decreased, and the cell viability and the activities of SOD and GSH-Px were increased($P < 0.01$ compared with the model group). **Conclusion** Lignum Aquilariae Resinatum essential oil has protective effect on oxidative damage of PC12 cells in its effective dose range.

Keywords: Lignum Aquilariae Resinatum; Essential oil; PC12 cells; Oxidative damage

沉香为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材, 又名土沉香、女儿香、莞香、海南沉香等, 主产于广东、广西、海南、台湾等地。沉香具有行气止痛, 温中止呕, 纳气平喘的功能。临床用于治疗胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急、寒性胃痛、老年性梗阻、便秘、哮喘等^[1-3], 是中国、日本、印度以及其他东南亚国家的传统天然香料和名贵中药材。前期研究表明, 沉香具有与氯丙嗪类似的神经药理活性, 对中枢神经系统有抑制作用^[4]。但沉香对中枢神经系统作用的有效部位至今尚不明了。为此, 作者通过对沉香挥发油的相关研究, 以期发现沉香对中枢神经作用的有效部位, 并揭示其对中枢神经系统的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 沉香药材由广东君元药业提供, 经广州中医药大学中药学院林励研究员鉴定, 其基源为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis*。澳洲胎牛血清, 批号: 210130K, 美国 Gibco 公司; 低糖 1640 培养基, 批号: 8113266, 美国 Gibco 公司; 二甲基亚砜(DMSO), 批号: 54186, 上海生工生物工程有限公司; 噻唑蓝 (MTT), 批号: 1313BI1, 北京拜耳迪生物公司(分装); 台盼蓝, 批号: 20120811, 美国 Biotium 公司; 胰蛋白酶, 批号: 1211605, 美国 Gibco 公司。

1.2 细胞系 鼠肾上腺嗜铬细胞瘤单克隆细胞系(PC12 细胞系), 为高分化型, 购于广州吉妮欧公司。

1.3 仪器 F2500 荧光分光光度计, 日本日立公司; CO-150 二氧化碳培养箱, 北京五洲东方科技发展有限公司; Anke TDL-5 离心机、TGL-16G 高速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; OLYMPUS IX2-SP 倒置显微镜, 日本奥林巴斯公司; FC500 流式细胞仪, 美国贝克曼库尔特公司; XW-80A 微型漩涡混合仪, 上海沪西分析仪器厂; CU600 型电热恒温水箱, 海恒一科学仪器公司; 全波长读数仪-酶标仪, 赛默飞(中国)公司。

1.3 方法

1.3.1 沉香挥发油的制备 称取沉香碎末(过 20 目筛)约 20 g, 精密称定, 置于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入无水乙醚约 100 mL, 摇匀后室温下浸渍 24 h, 滤纸过滤, 残渣用 60 mL 乙醚继续在室温下浸渍 12 h, 合并 2 次浸渍液; 浸渍液室温下于通风橱自然挥干至 10 mL, 装入具塞三角瓶中, 加入无水硫酸钠 1.5 g, 室温下脱水 2~3 d; 滤纸过滤, 洗涤 1 次后滤液置通风橱自然挥干至约 1 mL, 得淡黄色油状物, 转入小瓶, 即为沉香挥发油样品, 备用。

1.3.2 沉香挥发油溶液的制备 称取沉香挥发油样品适量, 加 DMSO 适量溶解, 超声助溶, 配成 $17.7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 样品溶液, 用时用培养基稀释至所需浓度。

1.3.3 H_2O_2 对 PC12 细胞活性的影响^[5] 取对数生长的

PC12 细胞, 经 0.25 % 胰蛋白酶消化, 吹打分散成单细胞悬液, 调节细胞数至 $1.5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 每孔 100 μL 加入到 96 孔细胞培养板中, 放入 37 $^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 培养箱中 24 h, 使之完全贴壁; 移去上层培养液, 将不同浓度 H_2O_2 溶液加入到不同细胞孔中, 使总体积为 100 μL 。细胞于 5 % CO_2 , 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养分别在加 H_2O_2 作用 2, 6, 12, 24 h 后收集各孔细胞培养液进行细胞活性检测; 弃去培养液后加 20 μL MTT 染色液, 放入 37 $^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 培养箱中孵育 4 h; 弃 MTT 液, 每孔加入 DMSO 100 μL , 适当振荡, 使结晶充分溶解; 在 570 nm 波长下, 测定各孔光密度值 (OD)。计算 H_2O_2 对 PC12 细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值。

1.3.4 沉香挥发油对正常 PC12 细胞的毒性研究 实验组加入不同浓度沉香油溶液, 第 1 孔样品浓度为 34.571 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 以下各孔递次进行 2 倍稀释, 每个梯度设 3 个平行孔。设阴性对照 (加等体积细胞悬液)、溶剂空白对照 (最大浓度 DMSO 溶剂对照) 和空白对照 (只含培养基)。同 1.3.3 项下方法, 在 570 nm 波长下, 测定各处理孔和对照孔光密度值 (OD)。计算沉香油溶液作用 PC12 细胞后的存活率。

1.3.5 乳酸脱氢酶 (LDH) 和四唑盐 (MTT) 法测定细胞活力 取对数生长的 PC12 细胞, 经胰蛋白酶消化, 吹打分散成单细胞悬液, 每孔 100 μL 加入到 96 孔细胞培养板中, 调节每孔细胞数至 1.5×10^4 个, 放入 37 $^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 培养箱中 24 h, 使之完全贴壁。实验分为 5 组: 空白对照组 (正常 PC12 细胞), 模型组 (200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 诱导 PC12 细胞氧化损伤), 沉香挥发油溶液低、中、高浓度组 (加 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 与 PC12 细胞共同孵育)。各实验组细胞于培养箱中继续培养 24 h; 收集各实验组培养液, 按照南京建成 LDH 试剂盒方法测定 LDH 活性; 弃去培养液后各孔加 20 μL MTT 染色液, 置于培养箱中继续孵育 4 h, 终止培养, 小心吸弃孔内上清培养液, 每孔加入 100 μL DMSO, 置于酶标仪中适当振荡至结晶物成分溶解, 在 570 nm 波长下测定各处理孔 OD 值。

1.3.6 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 测定 实验分为: 空白对照组, 模型组, 沉香挥发油低剂量组 (2.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中剂量组 (8.64 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 及高剂量组 (17.29 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。以 $1.5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度将细胞接种于 96 孔板中, 培养 24 h 待细胞贴壁后, 吸去旧培养液, 各实验组分

别加入空白培养液, 终浓度为 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 , 沉香挥发油低、中、高剂量溶液同时加入 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 , 每组 3 复孔, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h。收集各实验组细胞培养液及细胞, 分别按 SOD、MDA 和 GSH Px 检测试剂盒说明书操作, 测定其相应的酶活力或含量。

1.3.7 细胞线粒体膜电位 (MMP) 的测定 实验分为: 空白对照组, 模型组, 沉香挥发油低剂量组 (2.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中剂量组 (8.64 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和高剂量组 (17.29 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。调整细胞浓度为 $10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, 加入罗丹明 123, 使其终浓度为 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 置 37 $^{\circ}\text{C}$, 50 % CO_2 细胞培养箱孵育 30 min; PBS 洗涤 2 次后重悬, 荧光分光光度计检测各实验组荧光强度。检测条件: 激发波长 488~505 nm, 发射波长 515~575 nm。

1.3.8 细胞内活性氧 (ROS) 检测 离体培养的 PC12 细胞分为 5 组: 空白对照组, 模型组, 沉香挥发油低剂量组 (2.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中剂量组 (8.64 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和高剂量组 (17.29 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。各组细胞处理 24 h 后, 弃去细胞培养液, PBS 冲洗 2 次, 加入适当体积的 DCFH-DA, 使终浓度为 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱中孵育 30 min, 以 PBS 冲洗 3 次, 以充分去除未进入细胞的探针; 以 PBS 充分吹散, 制成细胞混悬液, 调整细胞密度为 $10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 采用荧光分光光度计检测各组荧光值。检测条件: 激发波长 350~500 nm, 发射波长 480~575 nm。

1.4 统计学处理方法 采用 SPSS17.0 统计软件, 用单因素方差分析进行统计分析, 组间比较采用 Dunnett's 检验。

2 结果

2.1 H_2O_2 对 PC12 细胞活性的影响 各浓度 H_2O_2 对 PC12 细胞生长均具有明显抑制作用, 且随着时间的延长变强, 但超过一定时限, 其抑制作用会维持到一定水平; 随着 H_2O_2 浓度的增大, 细胞的活力受到抑制的作用也逐渐增大; 当浓度达到 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, 对细胞的抑制作用明显减缓, 其抑制效应曲线增强幅度也显著变缓。经 Softmax pro 软件计算出 H_2O_2 抑制 PC12 细胞生长的 IC_{50} 为 200.04 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 沉香挥发油对正常 PC12 细胞生长的影响 见图 1。低剂量的沉香挥发油对 PC12 细胞增殖有一定的促进作用, 且存在量效关系。沉香挥发油在 34.57 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内, 随着浓度的增加, 细胞增殖加快, 超过此浓度细胞生长开始逐渐被抑制, 说明沉香挥发油具有一定的细胞毒性。

2.3 沉香挥发油对 H_2O_2 诱导的 PC12 细胞氧化损伤

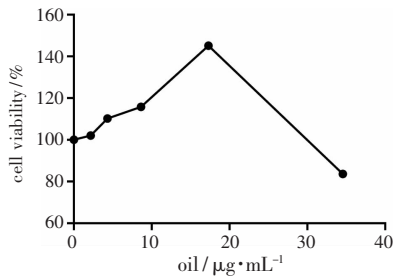


图 1 沉香挥发油对正常 PC12 细胞生长的影响

Figure 1 Effect of Lignum Aquilariae Resinatum essential oil on PC12 cell

的影响 见表 1。与空白对照组比较,模型组(给予 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$ 处理 24 h 后),细胞存活率下降至 57.59 %、LDH 上升至 185.10 %,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,沉香挥发油各剂量组细胞存活率明显上升、LDH 明显下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$),表明沉香挥发油具有明显减轻 H_2O_2 对 PC12 细胞的损伤,且与剂量正相关。

表 1 沉香挥发油对 H_2O_2 诱导 PC12 细胞氧化损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Effect of Lignum Aquilariae Resinatum essential oil on H_2O_2 -induced oxidative damage of PC12 cells

组别	剂量 / $\mu\text{g mL}^{-1}$	存活率 /%	LDH/%
空白对照组	-	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
模型组	-	$57.59 \pm 3.88^{\#}$	$185.10 \pm 2.16^{\#}$
沉香挥发油低剂量组	2.16	$63.02 \pm 2.07^{**}$	$150.54 \pm 3.68^{**}$
沉香挥发油中剂量组	8.64	$82.99 \pm 4.87^{**}$	$121.97 \pm 3.13^{**}$
沉香挥发油高剂量组	17.29	$95.43 \pm 1.47^{**}$	$56.37 \pm 3.22^{**}$

注:与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.01$;与模型组比较, $^{**}P < 0.01$ 。

2.4 沉香挥发油对 PC12 细胞氧化损伤模型氧化应激的影响 见表 2。与空白对照组比较,模型组 SOD 和 GSH-Px 含量明显降低、MDA 含量明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$),提示 H_2O_2 对 PC12 细胞具有氧化损伤作用。与模型组比较,沉香挥发油 3 个不同剂量组 SOD 和 GSH-Px 含量明显升高、MDA 含量明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),提示沉香挥发油具有抑制 H_2O_2 对 PC12 细胞的氧化损伤作用。

2.5 沉香挥发油对细胞 MMP 和 ROS 的影响 见表 3。模型组(经 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$ 作用 24 h 后),细胞荧光强度显著变小, MMP 及 ROS 含量均明显增高,与空白对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),说明沉香挥发油可以抑制 H_2O_2 诱导 PC12 细胞线粒体膜电位降低,且提供能量。与模型组比较,沉香挥

表 2 沉香挥发油对细胞 SOD、MDA 和 GSH-Px 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 2 Effect of Lignum Aquilariae Resinatum on SOD, MDA and GSH-Px in PC12 cell

组别	浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$	GSH-Px/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白对照组	0	23.06 ± 1.06	0.42 ± 2.27	123.04 ± 3.55
模型组	0	$13.50 \pm 1.95^{\#}$	$3.73 \pm 1.75^{\#}$	$27.57 \pm 1.03^{\#}$
沉香挥发油低剂量组	2.16	$19.62 \pm 3.35^{**}$	$0.65 \pm 1.73^{**}$	$44.85 \pm 2.11^{**}$
沉香挥发油中剂量组	8.64	$20.52 \pm 1.06^{**}$	$0.59 \pm 2.73^{**}$	$69.11 \pm 2.48^{**}$
沉香挥发油高剂量组	17.29	$22.32 \pm 1.99^{**}$	$0.46 \pm 3.18^{**}$	$153.93 \pm 2.06^{**}$

注:与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.01$;与模型组比较, $^{**}P < 0.01$ 。

发油中、高剂量组 MMP、ROS 含量均明显减少,差异有统计学意义($P < 0.01$),其中高剂量组抑制作用最强,说明沉香挥发油可以抑制 H_2O_2 诱导 PC12 细胞产生 ROS,且呈剂量依赖关系。

表 3 沉香挥发油对细胞 MMP 和 ROS 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 3 Effect of Lignum Aquilariae Resinatum on MMP and ROS in PC12 cell

组别	剂量 / $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	MMP/%	ROS/%
空白对照组	-	100 ± 1.83	100 ± 2.47
模型组	-	$66.34 \pm 4.51^{\#}$	$126.57 \pm 4.50^{\#}$
沉香挥发油低剂量组	2.16	63.51 ± 4.57	113.59 ± 3.86
沉香挥发油中剂量组	8.64	$123.76 \pm 4.56^{**}$	$75.54 \pm 4.46^{**}$
沉香挥发油高剂量组	17.29	$185.86 \pm 4.83^{**}$	$67.56 \pm 4.37^{**}$

注:与空白对照组比较, $^{\#}P < 0.01$;与模型组比较, $^{**}P < 0.01$ 。

3 讨论

氧化应激在阿尔茨海默病(AD)的形成过程中起着非常重要的作用,自由基生成与清除之间的不平衡是诱发 AD 神经病理改变的主要原因之一。 H_2O_2 是氧化应激反应密切相关的活性氧之一,其主要产物 $\text{OH}\cdot$ 可自由进入细胞,使抗氧化酶如 SOD、GSH-Px 等活性下降,同时会损伤体内脂质、蛋白质和 DNA 等生物大分子,造成细胞内酶活力变化、代谢紊乱、DNA 损伤和细胞凋亡^[6]。外源性 H_2O_2 极易通过细胞膜进入细胞,在细胞内有过度金属存在时,容易形成高活性的自由基如单态氧、羟自由基等,进一步造成细胞损伤^[7-10]。MDA、SOD 和 GSH-Px 活性不仅可反映细胞损伤的原因,还可以判断细胞损伤的程度。本研究发现,经 H_2O_2 处理的 PC12 细胞活力显著下降,细胞内有明显的活性氧堆积,并且细胞内抗氧化酶活力受损;脂质过氧化标志物 MDA 增加;使用沉香挥发油预处理能减少细胞内活性氧水平,显著增强细胞内抗氧化酶 SOD、GSH-Px 活力,减少 MDA 生成,提示沉香挥发油能提高 PC12 细胞的抗氧化能力。

沉香是传统天然香料和名贵中药材,具有与氯丙嗪类似的神经药理活性,对中枢神经系统起着抑制作用。本文通过对沉香挥发油进行抗氧化损伤作用的研究,证实了沉香挥发油能通过增强细胞内抗氧化酶活力,起到保护细胞对抗氧化损伤的作用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 92.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 药物研究技术指导原则(中药、天然药物刺激性和溶血性研究的技术指导原则)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 230.
- [3] 刘军民, 徐鸿华. 国产沉香研究进展[J]. 中药材, 2005, 28(7): 627-632.
- [4] Kanako S, Fumikon, Itsu k. Inhibition of H^+ , K^+ -ATPase by

hinesol, a major component of Sojut-su, by interaction with enzyme in the E₁ state[J]. Biochemical Pharmacology, 2000, 59(7): 881-886.

- [5] 黄宜生, 贾钰华. 酸枣仁总皂苷对过氧化氢损伤心肌细胞的保护作用及机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(2): 135-139.
- [6] 徐先祥, 夏伦祝, 高家荣. 中药皂苷类物质抗氧化作用研究进展[J]. 中国中医药科技, 2004, 11(2): 126-128.
- [7] 程吟梅, 葛炜, 张曙云, 等. 老年痴呆患者血中氧自由基反应的相关指标[J]. 科技通报, 1999, 15(12): 68-69.
- [8] 吴军, 周春详, 赵凤鸣, 等. 麻黄连翘赤小豆汤三方对 H_2O_2 诱导损伤的 L-02 人肝细胞的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(4): 367-370.
- [9] 夏新, 钟振国, 冯丹霞. 三七总皂苷保护 PC12 细胞对抗过氧化氢损伤的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 216-219.
- [10] 江湧, 方永奇, 何玉萍. 石菖蒲有效成分配伍对 $A\beta$ 损伤 PC12 细胞的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(5): 335-338.

(编辑: 邓响潮)

琼玉膏对 D- 半乳糖所致衰老大鼠差异蛋白质表达的影响

刘焕兰, 武夏林, 曲卫玲(广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 采用蛋白质组学方法, 在下丘脑中探索琼玉膏对衰老大鼠产生调节作用的相关蛋白质, 从而在分子水平上解释抗衰老方剂琼玉膏的作用机理。 **方法** 将 2~3 月龄 42 只 SD 大鼠, 随机分为正常对照组、模型组、琼玉膏组, 每组 14 只。给药结束后, 抽提下丘脑全蛋白。利用荧光双向差异凝胶电泳、图像分析、胶内酶切、质谱鉴定等蛋白质组学技术, 分离、分析、鉴定大鼠下丘脑差异蛋白质; 通过数据库检索和生物信息学方法, 分析差异蛋白的功能及属性。 **结果** 1. 成功复制亚急性衰老大鼠动物模型; 2. 获得了正常对照组、模型组和琼玉膏组下丘脑组织的全蛋白表达荧光双向差异凝胶电泳图谱; 3. 运用蛋白质组学技术, 比较正常对照组、模型组及琼玉膏组的下丘脑组织, 确认了 15 种表达量发生了变化的蛋白质。 **结论** 鉴定出差异蛋白主要涉及有突触形成相关蛋白、线粒体相关蛋白、能量代谢相关蛋白、抗氧化、细胞骨架蛋白、细胞分化、增殖和凋亡蛋白等, 为进一步筛选特异相关蛋白和药物靶位治疗奠定基础。

关键词: 琼玉膏; 延缓衰老; 蛋白质组学; 荧光双向差异凝胶电泳; 下丘脑

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0032-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.009

Effect of *Qiongyu* Extract on Differential Protein Expression in D-galactose-induced Senile Rats

LIU Huanlan, WU Xialin, QU Weiling(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective Proteomics technique was used to investigate the regulatory effect of *Qiongyu* Extract on the

收稿日期: 2013-09-11

作者简介: 刘焕兰, 男, 博士生导师, 教授, 研究方向: 中医养生学理论与方法的创新研究。Email: 630178083@qq.com。

基金项目: 广东省自然科学基金(10151040701000058); 国家自然科学基金(81173318)。