

- 作用及对大鼠的利胆作用研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(12): 2998-3000.
- [3] 李磊, 罗光明, 朱继孝, 等. 栀子柏皮汤对阳黄证大鼠的治疗作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22): 182-190.
- [4] 曲长江, 王文丽, 吴谔滔, 等. 中医黄疸动物模型的建立[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(10): 1087-1088.
- [5] 黄伟, 王丛笑, 吕丽莉, 等. 酒肝平胶囊对动物酒精性及药物性肝损伤病理组织学的影响[J]. 中草药, 2009, 40(S1): 182-187.
- [6] 蒋静, 刘斌, 热依汗, 等. 慢性乙型肝炎患者血清补体 C3b 水平的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(23): 3116-3118.
- [7] Ramadass M, Ghebrehwet B, Smith RJ, et al. Generation of multiple fluid-phase C3b: plasma protein complexes during complement activation: possible implications in C3 glomerulopathies[J]. J Immunol, 2014, 192(3): 1220-1230.
- [8] Mawatari S, Uto H, Ido A, et al. Hepatitis C virus NS3/4A protease inhibits complement activation by cleaving complement component 4[J]. PLoS One, 2013, 8(12): 8209-8212.
- [9] Lin Z, Cai F, Lin N, et al. Effects of glutamine on oxidative stress and nuclear factor- κ B expression in the livers of rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(2): 365-370.
- [10] 樊荣, 卢园园, 黄晓颖, 等. 知母宁对低氧高二氧化碳肺心病大鼠心肌、肝组织丙二醛和 SOD 含量的影响[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7): 804-807.
- [11] 邓江. 含小檗碱的中药与甘草煎煮过程中的化学变化—小檗碱与甘草酸的沉淀反应机理研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [12] 龙旭阳, 郑攀. 方剂拆方研究现状[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 120-121.
- [13] 武红莉, 荆志伟, 王忠. 中药复方优化设计方法研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 224-226.
- (编辑: 宋威)

23- 乙酰泽泻醇 B 对 SGC-7901 细胞线粒体能量代谢的影响

林文津, 徐榕青, 张亚敏, 李主泉, 宋晓瑞(福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001)

摘要: **目的** 观察中药泽泻中指标成分 23- 乙酰泽泻醇 B 对细胞线粒体能量代谢的影响。**方法** 以 SGC-7901 胃癌细胞为研究对象, 绘制其生长曲线, MTT 法检测细胞增殖抑制率, 以阳离子荧光染料 JC-1 染色, 采用倒置荧光显微镜观察结合流式细胞仪检测对细胞线粒体膜电位; 多功能酶标仪检测琥珀酸脱氢酶(SDH)活性。**结果** 23-乙酰泽泻醇 B $3.125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 干预能促进细胞增殖, 23-乙酰泽泻醇 B $25 \sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 干预则不同程度的抑制细胞增殖, 并且呈浓度依赖关系。与正常对照组比较, 不同剂量组的红色荧光和绿色荧光的变化不明显。流式细胞仪检测结果显示, 正常对照组、23- 乙酰泽泻醇 B 低、中、高剂量组的单阳细胞比例分别为 3.5%, 3.6%, 3.7% 和 4.0%, 与正常对照组比较, 23- 乙酰泽泻醇 B 低剂量组单阳细胞比例增加, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 23- 乙酰泽泻醇 B 中、高剂量组单阳细胞比例增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); SDH 检测结果显示, 正常对照组、23- 乙酰泽泻醇 B 低、中、高剂量组的 SDH 活性分别为 0.045、0.058、0.080、 $0.100 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$, 与正常对照组比较, 23- 乙酰泽泻醇 B 低剂量组的 SDH 活性差异无统计学意义($P > 0.05$), 23- 乙酰泽泻醇 B 中、高剂量组的 SDH 活性差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 23-乙酰泽泻醇 B 在低剂量时能促进 SGC-7901 细胞增殖, 中剂量与高剂量则对 SGC-7901 线粒体膜电位有一定的损伤而抑制增殖, 但对 SDH 活性促进作用较显著, 提示其具有较明显促进线粒体能量代谢的作用, 为进一步探讨泽泻改善线粒体能量代谢物质基础的研究奠定了基础。

关键词: 23- 乙酰泽泻醇 B; 线粒体; 能量代谢; 膜电位; 琥珀酸脱氢酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0030-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.008

Effect of Alisol B 23-acetate on SGC-7901 Cell Mitochondrial Energy Metabolism

LIN Wenjin, XU Rongqing, ZHANG Yamin, LI Zhuquan, SONG Xiaorui(Fujian Academy of Medical Sciences,

收稿日期: 2014-07-12

作者简介: 林文津, 男, 副研究员, 研究方向: 中药资源开发利用与新药研究。Email: lwj680@139.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81102875); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项(2013R0034-3, 2014R1031-7); 福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目(2014-ZQN-JC-9)。

Fujian Key Laboratory of Medical Measurement, Fuzhou 350001 Fujian, China)

Abstract: Objective To observe the effect of alisol B 23-acetate (ABA), an effective component of *Rhizoma Alismae*, on mitochondrial energy metabolism of SGC-7901 cells. **Methods** Human gastric carcinoma SGC-7901 cells were exposed to alisol B 23-acetate at different concentrations. The inhibitive rate of cell proliferation was measured by MTT assay and the cell growth curve was set up, SGC-7901 cells were dyed by cation fluorescence carbocyanine JC-1, the mitochondrial membrane potential was determined by the inverted fluorescence microscope and flow cytometer, and the succinate dehydrogenase (SDH) activity was detected by microplate reader. **Results** Alisol B 23-acetate at 3.125 $\mu\text{g/mL}$ promoted cell proliferation, while alisol B 23-acetate at 25–100 $\mu\text{g/mL}$ inhibited the proliferation of SGC-7901 cell line in a dose-dependent manner. Compared with the normal control group (NCG), the changes of red fluorescence weakening (or green fluorescence enhancing) in alisol B 23-acetate groups were not obvious. The proportion of single positive cells was 3.5 %, 3.6 %, 3.7 % and 4.0 % in NCG, and low-dose, medium-dose, and high-dose ABA groups, respectively, and the differences of NCG with medium- and high-dose ABA groups were significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). SDH activities of NCG, and low-dose, medium-dose, and high-dose ABA groups were 0.045, 0.058, 0.080, 0.100 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$, respectively, and the differences of NCG with medium- and high-dose ABA groups were significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Low dose of alisol B 23-acetate would promote SGC-7901 cell proliferation, while medium dose and high dose of alisol B 23-acetate would inhibit SGC-7901 cells proliferation and accelerate SGC-7901 cells SDH activity. It is implied that alisol B 23-acetate could improve the mitochondrial energy metabolism, which lay the foundation for investigating the therapeutic mechanism of *Rhizoma Alismae* on improving mitochondrial energy metabolism.

Keywords: Alisol B 23-acetate; Mitochondria; Energy metabolism; Membrane potential; Succinate dehydrogenase

泽泻是泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎, 性寒, 味甘、淡, 入肾、膀胱经, 具有利水渗湿、泄热、化浊降脂的功效^[1]。23-乙酰泽泻醇 B 为 2010 版《中华人民共和国药典》规定的质控指标成分。现代研究表明, 23-乙酰泽泻醇 B 具有降尿酸^[2]、抗菌^[3]、抗疟原虫活性^[4]、抗过敏等作用^[5], 能调节 5-羟色胺受体的表达^[6], 诱导 SGC-7901 细胞凋亡^[7], 抗肿瘤^[8-9], 还有免疫抑制活性^[10]及逆转 P-糖蛋白介导的多药耐药性^[11]等功效。我们报道^[12]了泽泻不同提取物对线粒体能量代谢的影响, 发现泽泻醇提取物能提高线粒体琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性, 具有较明显的改善线粒体能量代谢的作用。关于 23-乙酰泽泻醇 B 对线粒体能量代谢的影响, 国外一些学者^[7,9,13]从线粒体膜电位降低角度探讨了其抗肿瘤活性, 国内有文献^[14]报道 23-乙酰泽泻醇 B 可能具有增强细胞的线粒体代谢活性而促进 HepG2 合成胆固醇的作用。本文结合前期研究^[12], 以人胃癌 SGC-7901 细胞为研究对象, 以线粒体膜电位和 SDH 为检测指标, 探讨 23-乙酰泽泻醇 B 对胃癌细胞线粒体活性的影响, 为深入研究泽泻影响线粒体能量代谢作用的

物质基础提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂 23-乙酰泽泻醇 B 对照品, 中国药品生物制品鉴定所 (批号: 111846-201102); 线粒体膜电位检测试剂盒 (批号: 4-3614-8), SDH 检测试剂盒 (批号: 3-41323-8), 上海杰美基因医药科技有限公司; HyClone 高糖型 DMEM (批号: NXH0686), 赛默飞世尔生物化学制品北京有限公司; 胎牛血清 (批号: 1205332), 0.25 % 胰酶 (批号: 1234954), GIBCO 公司。

1.2 细胞株 人胃癌细胞株 SGC-7901, 本院免疫研究所陈金焯博士惠赠。

1.3 仪器 倒置相差荧光数码图像系统, 日本 OLYMPUS; Vi-cell XR 型细胞存活率分析仪, FC-500 型流式细胞仪, 美国贝克曼库尔特公司; Synergy2 型多功能酶标仪, 美国 BIO-TEK 公司; HEPA Class 100 型 CO₂ 水套培养箱, 美国热电公司; 生物安全柜, 上海上净净化设备有限公司。

1.4 方法

1.4.1 细胞生长曲线测定 取生长良好 SGC-7901 细胞, 胰酶消化, 加入适量新培养液重悬后, 进行细胞计数后准确移取一定体积的细胞悬液接种到 6 孔细胞培养板中, 自接种的第 2 天开始, 每隔 1 天(24 h)用 0.25 % 胰酶消化 3 孔细胞, 分别计数, 取平均值; 根据细胞计数结果, 以细胞浓度(细胞数 $\cdot$ mL $^{-1}$)为纵坐标, 细胞培养天数为横坐标绘制不更换培养液与更换培养液条件下 SGC-7901 细胞的生长曲线。

1.4.2 23- 乙酰泽泻醇 B 抑制 SGC-7901 的细胞增殖实验

1.4.2.1 供试药液的制备 精密称量 10.0 mg 23- 乙酰泽泻醇 B 对照品, 用乙腈溶解定容至 10 mL, 精密移取 1 mL 于 10 mL 烧杯中, 60 $^{\circ}$ C 水浴上挥去乙腈, 加入 100 μ L DMSO 助溶, 用新鲜配制的含 10 % 胎牛血清的 DMEM 培养液溶解, 定容至 10 mL, 过 0.22 μ m 无菌滤膜, 得到每毫升含 100 μ g 的 23- 乙酰泽泻醇 B 供试药液储备液。再用含 10 % 胎牛血清的 DMEM 培养液稀释制备不同浓度的 23- 乙酰泽泻醇 B 供试药液。

1.4.2.2 细胞抑制率测定 取对数生长期的贴壁细胞, 胰酶消化, 用含 10 % 小牛血清的培养基配成 5000 ~ 10000 个 $\cdot$ mL $^{-1}$ 的细胞悬液, 接种在 96 孔培养板中, 每孔接种 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO $_2$ 培养 12 h 后。试验组给予不同浓度相同体积供试药液的培养液, 对照组给予等容积的培养液, 给药干预 24 h 和 48 h, 每组做 6 个平行, 吸去上清液, 每孔加入新鲜配制的培养基 100 μ L、5 mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的 MTT 试剂 10 μ L, 37 $^{\circ}$ C 继续培养 4 h。弃去上清, 加入 150 μ L DMSO, 摇床脱色 10 min 后, 在酶标仪上测定 570 nm 的 OD 值。细胞抑制率计算公式为:

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{试验组细胞数}}{\text{对照组细胞数}} \times 100 \% = \frac{\text{试验组 OD 值}}{\text{对照组 OD 值}} \times 100 \%$$

$$\text{细胞抑制率} = 1 - \text{细胞存活率}$$

1.4.3 细胞线粒体膜电位检测 设置低、中、高 3 个剂量组, 给药浓度分别为 6.25, 25, 100 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$, 根据文献^[12]报道的以阳离子荧光羰花青染料 JC-1 染色, 采用倒置荧光显微镜法结合流式细胞仪检测法检测。

1.4.4 细胞 SDH 活性检测 给药 24 h 后, 测定 SDH 活性^[12], 样品活性计算公式:

$$\text{SDH 活性} = \frac{[(\text{样品读数} - \text{背景读数}) \times \text{样品稀释倍数}]}{[0.025(\text{样品容量} / \text{mL}) \times 21(\text{毫摩尔吸光系数}) \times 5(\text{反应时间} / \text{min})]}$$

$$= \text{单位} / \text{mL} \div (\text{样品蛋白浓度}) \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1} = \text{单位} / \text{mg}$$

$$\text{单位} = \text{微摩尔 DCIP 还原} / \text{min}$$

1.5 统计学处理方法 采用 Paswstat 软件进行统计学分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 细胞生长曲线测定 图 1 显示, SGC-7901 细胞接种后前 4 d 处在潜伏期, 未见明显增殖, 第 5 天开始进入快速增殖阶段, 即对数生长期, 到第 8 天细胞增殖速度减慢, 到第 11 天细胞数量达到峰值。当 SGC-7901 细胞增殖到一定数量后, 细胞增殖受到一定的限制而进入平台期, 随着营养物质不断消耗和代谢产物的产生, 细胞逐渐衰亡。图 2 显示在每天更换培养基条件下, SGC-7901 细胞接种后前 4 d 处在潜伏期, 未见明显增殖, 第 5 天开始进入快速增殖阶段, 即对数生长期, 到第 11 天细胞数量从接种时的 3.95×10^4 增殖到了 3.65×10^6 个, 且还有继续增殖的趋势, 推测与实验时不断更新培养液后, 保证充足的营养物质并清除代谢产物有关。

2.2 抑制 SGC-7901 的细胞增殖实验 不同浓度 23- 乙酰泽泻醇 B 给药 24 h 抑制 SGC-7901 的细胞增殖

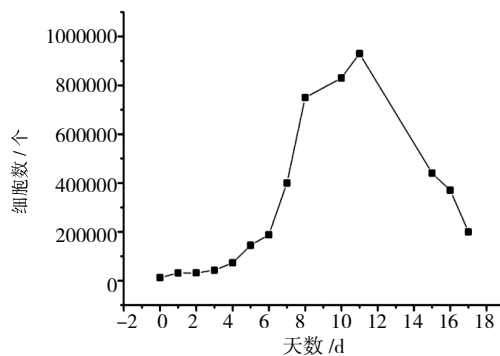


图 1 不更换培养液细胞生长曲线图($n=3$)

Table 1 SGC-7901 cell growth curve cultured in the unchanged culture solution

实验表明, 在 3.125~12.5 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 范围内随浓度的升高抑制率增强, 在 12.5~50 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 范围内随浓度升高而有所减弱, 在 50~100 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 范围内随浓度升高而抑制率增强, 呈现的是一种先升后降再升的变化趋势。给药 48 h 抑制 SGC-7901 的细胞增殖实验表明, 低浓度(3.125 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$)的 23- 乙酰泽泻醇 B 能促进细胞增殖; 当浓度大于一定值后(25~100 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$), 表现出不同程度的细胞增殖抑制, 而且浓度越高抑制

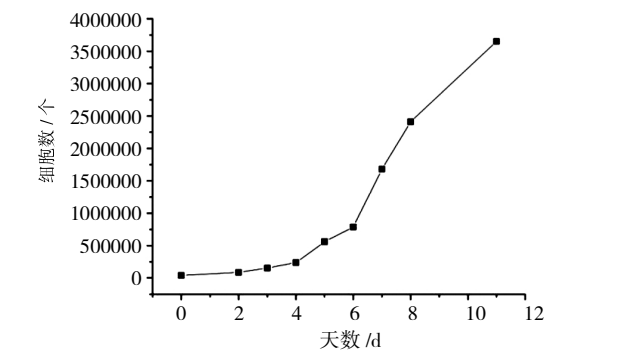


图 2 更换培养液细胞生长曲线图($n=3$)

Table 2 SGC-7901 cell growth curve cultured in the solution changed

表1 不同浓度 23-乙酰泽泻醇 B 对 SGC-7901 细胞增殖的抑制率($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Inhibition ratio of proliferation of SGC-7901 cells exposed to alisol B 23-acetate at different concentrations

组别	浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	吸光度(OD 值)		抑制率/%	
		24 h	48 h	24 h	48 h
23- 乙酰泽泻醇 B 组	3.125	2.739 ± 0.313	$3.111 \pm 0.194^{**}$	4.27	-35.88
	6.25	$2.192 \pm 0.303^{*}$	2.310 ± 0.387	23.38	-12.41
	12.5	$2.022 \pm 0.206^{**}$	1.947 ± 0.222	29.34	14.99
	25	$2.433 \pm 0.336^{*}$	$1.792 \pm 0.417^{*}$	14.96	21.75
	50	2.497 ± 0.350	$1.735 \pm 0.242^{*}$	12.71	24.26
	100	$2.372 \pm 0.432^{*}$	$1.517 \pm 0.127^{**}$	17.10	33.77
正常对照组	-	2.861 ± 0.278	2.290 ± 0.414		

注：与正常对照组比较， $^{*}P < 0.05$ ， $^{**}P < 0.01$ 。

率越大，呈浓度依赖关系，结果见表 1。

2.3 倒置荧光显微镜观察荧光强度 与正常对照组比较，低剂量组绿色荧光和红色荧光无明显变化，中、高剂量组绿色荧光和红色荧光略有变化，但不明显，高剂量组略高于中剂量组。

2.4 流式细胞仪分析及细胞 SDH 活性 流式细胞仪分析单阳细胞比例显示，与正常对照组比较，低剂量组的单阳细胞比例略有升高，但差异无统计学意义($P > 0.05$)，中剂量组的单阳细胞比例升高，差异有显著性意义($P < 0.05$)，高剂量组的单阳细胞比例明显升高，差异有统计学意义($P < 0.01$)。SDH 活性检测结果显示出同样的趋势：与正常对照组比较，低剂量组的 SDH 活性有所增强，但差异无统计学意义($P > 0.05$)，中剂量组的 SDH 活性有增强，差异有显著性($P < 0.05$)，高剂量组的 SDH 活性有明显增强，差异有显著性意义($P < 0.01$)。见表 2。

3 讨论

由于实验所用的 SGC-7901 细胞由本院其他实验

表 2 不同浓度 23-乙酰泽泻醇 B 干预后 SGC-7901 单阳细胞比例与 SDH 活性比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Single positive cells proportions and SDH activity of SGC-7901 cells exposed to alisol B 23-acetate at different concentrations

组别	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	单阳细胞比例/%	SDH 活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$
正常对照组	-	3.5 ± 0.1	0.045 ± 0.005
23- 乙酰泽泻醇 B 低剂量组	6.25	3.6 ± 0.1	0.058 ± 0.001
23- 乙酰泽泻醇 B 中剂量组	25	$3.7 \pm 0.2^{*}$	$0.080 \pm 0.006^{*}$
23- 乙酰泽泻醇 B 高剂量组	100	$4.0 \pm 0.2^{**}$	$0.100 \pm 0.008^{**}$

注：与正常对照组比较， $^{*}P < 0.05$ ， $^{**}P < 0.01$ 。

室惠赠，为考察该细胞能否正常用于本次研究，我们先进行了细胞生长曲线的测定，考察了培养液对细胞实验的影响，结果表明，该细胞生长符合正常细胞生长曲线，可用于本次研究。

抑制 SGC-7901 的细胞增殖实验 48 h 后的研究结果显示，低浓度($3.125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的 23- 乙酰泽泻醇 B 表现出促进细胞增殖的作用，其作用机理有待进一步研究。膜电位检测结果显示，低剂量组对 SGC-7901 细胞线粒体内膜功能(膜电位)基本无损伤，但中、高剂量组有一定的损伤；3 个不同剂量组对 SGC-7901 细胞 SDH 活性均有促进作用，且呈剂量依赖性。23- 乙酰泽泻醇 B 对细胞线粒体内膜功能(膜电位)和 SDH 的影响实验结果提示，23- 乙酰泽泻醇 B 具有较明显促进细胞线粒体能量代谢的作用，23- 乙酰泽泻醇 B 在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内进行细胞线粒体能量代谢实验是可行的。

研究表明^[7]，23- 乙酰泽泻醇 B 通过诱导 SGC-7901 细胞凋亡抑制细胞的增殖，其作用机制可能与线粒体半胱天冬酶及磷脂酰肌醇-3- 激酶/Akt 蛋白激酶信号通路有关。前期研究^[12]显示的泽泻提取物具有较明显改善细胞线粒体能量代谢的作用，是否与其所含有的 23- 乙酰泽泻醇 B 有关及是否有相同的作用机制，有待进一步研究。

参考文献：

[1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典[M]. 一部. 北京：中国医药科技出版社，2010：212-213.

[2] 王建平，傅旭春，白海波. 泽泻降尿酸乙醇提取物的提取工艺研究[J]. 中国中药杂志，2010，35(14)：1809-1811.

[3] Jin HG, Jin Q, Ryun KA, et al. A new triterpenoid from *Alisma orientale* and their antibacterial effect [J]. Archives of Pharmacal Research, 2012, 35(11)：1919-1926.

[4] Adams M, Gschwind S, Zimmermann S, et al. Renaissance remedies: Antiplasmodial protostane triterpenoids from *Alisma plantago-aquatica*

- L. (Alismataceae)[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 135(1): 43-47.
- [5] Lee JH, Kwon OS, Jin HG, et al. The rhizomes of *Alisma orientale* and alisol derivatives inhibit allergic response and *experimental atopic dermatitis* [J]. Biological & pharmaceutical bulletin, 2012, 35(9): 1581-1587.
- [6] Lee JH, Lee YJ, Kang SW, et al. Effects of protostane-type triterpenoids on the 5-HT_{3A} receptor-mediated ion current in *Xenopus oocytes*[J]. Brain research, 2010, 1331: 20-27.
- [7] Xu YH, Zhao LJ, Li Y. Alisol B acetate induces apoptosis of SGC7901 cells via mitochondrial and phosphatidylinositol 3-kinases/Akt signaling pathways[J]. World Journal of Gastroenterology, 2009, 15(23): 2870-2877.
- [8] Law BY, Wang M, Ma DL, et al. Alisol B, a novel inhibitor of the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump, induces autophagy, endoplasmic reticulum stress and apoptosis[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2010, 9(3): 718-730.
- [9] Huang YT, Huang DM, Chueh SC, et al. Alisol B acetate, a triterpene from *Alismatis rhizoma*, induces Bax nuclear translocation and apoptosis in human hormone-resistant prostate cancer PC-3 cells[J]. Cancer Letters, 2006, 231(2): 270-278.
- [10] 张朝凤, 周爱存, 张勉. 泽泻的化学成分及其免疫抑制活性筛选[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 994-998.
- [11] Wang C, Zhang JX, Shen XL, et al. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by Alisol B 23-acetate[J]. Biochemical pharmacology, 2004, 68(5): 843-855.
- [12] 林文津, 徐榕青, 张亚敏, 等. 泽泻不同提取物对 SGC-7901 细胞线粒体能量代谢的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 36-39.
- [13] Chen HW, Hsu MJ, Chien CT, et al. Effect of alisol B acetate, a plant triterpene, on apoptosis in vascular smooth muscle cells and lymphocytes[J]. European Journal of Pharmacology, 2001, 419(2-3): 127-138.
- [14] 吴水生, 郭改革, 施红, 等. 泽泻提取物 Alisol MonoacetateA 和 B 对 HepG2 细胞胆固醇代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(7): 475-477.
- (编辑: 宋威)

中药挥发油 / 水提物的细胞抗炎、免疫及骨细胞修复活性的比较

张立国, 马东升, 程佳佳, 倪力军(华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237)

摘要: 目的 以腰痛宁衍生方为基础比较桂枝、土鳖虫等 6 类中药挥发油 / 水提物有效部位对细胞抗炎、免疫及骨细胞修复的影响, 为风湿骨病处方候选药物筛选有效部位提供依据。方法 在马钱子、麻黄生物碱 + 甘草等 5 种药材和黄酮 + 甘草等 4 种药材皂苷混合物的基础上, 分别加入 50 % 的苍术、乳香 + 没药、独活、桂枝挥发油、50 % 的土鳖虫、全蝎 + 僵蚕水提液组成新的中药有效部位组方。测定各样品抑制小鼠巨噬细胞 (Ana-1) 中前列腺素 E₂ (PGE₂) 增殖的半数抑制浓度 (IC₅₀) 及促进白细胞介素 -1 β (IL-1 β)、白细胞介素 -6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 因子增殖和促进 IL-1 β 诱导的软骨细胞增殖的半数有效浓度 (EC₅₀)。同时采用最小二乘优化方法, 计算各样品的 EC₅₀ 或 IC₅₀ 叠加值, 根据 EC₅₀ 或 IC₅₀ 叠加值与实验值之间的差异分析各有效部位间的相互作用关系。结果 在 6 类中药挥发油 / 水提物有效部位中, 桂枝挥发油抑制 Ana-1 分泌 PGE₂ 及促进 Ana-1 分泌 IL-1 β 、IL-6 的活性最强; 土鳖虫、僵蚕 + 全蝎水提液促进 Ana-1 分泌 TNF- α 的作用最佳, 并在细胞抗炎、促进软骨细胞增殖活性和其他细胞免疫模型中表现出较好的活性。各挥发油 / 水提物有效部位促进 IL-1 β 诱导的软骨细胞增殖的活性相当。结论 桂枝挥发油具有良好的抗炎、免疫及促软骨细胞增殖等综合药理活性, 可作为风湿骨病处方的优选有效部位并用其替代腰痛宁处方中的乳香 + 没药挥发油以降低乳香 + 没药引起的不良反应。腰痛宁组方药材中虫类药材的水提物也可作为风湿骨病处方的候选有效部位。

关键词: 风湿骨病; 腰痛宁; 挥发油; 前列腺素 E₂; 细胞免疫; 软骨细胞增殖

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0034-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.009

收稿日期: 2014-08-14

作者简介: 张立国, 男, 副教授, 研究方向: 中药新药研发、中药物质基础与药效关系。Email: zlgfyt@163.com。通讯作者: 倪力军, 教授, 研究方向: 中药物质基础与药效关系的研究。Email: nljfy@sina.com。

基金项目: 上海市科技支撑项目(13401901100)。