

· 药理 ·

多伞阿魏体外抗胃癌活性筛选、细胞凋亡及周期阻滞机制

杨明翰^{1,2}, 骆骄阳², 乔美玲^{1,2}, 盛萍^{1*}, 杨美华^{2*}

(1. 新疆医科大学 医学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的:**研究确定新疆特色维族药多伞阿魏体外抗胃癌活性部位及其敏感胃癌细胞系,并探讨多伞阿魏诱导胃癌细胞凋亡和细胞周期阻滞情况,为其进一步在抗胃癌方面的研究、开发与应用提供实验依据。**方法:**采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测不同质量浓度多伞阿魏不同提取物(挥发油,95%乙醇提取物,及其石油醚部位,三氯甲烷部位,乙酸乙酯部位,正丁醇部位,水部位)分别对5种胃癌细胞系(AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803, SGC-7901)的增殖抑制作用;采用Hoechst33258荧光染色法观察多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位对胃癌细胞AGS和SGC-7901的影响情况;并应用细胞流式仪检测多伞阿魏不同提取部位作用胃癌细胞AGS和SGC-7901的凋亡和周期阻滞影响情况。**结果:**与空白组比较,多伞阿魏挥发油,95%乙醇提取物,石油醚部位,三氯甲烷部位,乙酸乙酯部位对5种胃癌细胞均有不同程度的增殖抑制作用($P < 0.05$),并呈现浓度依赖关系。挥发油对胃癌细胞AGS呈现出较强的增殖抑制作用,其半数抑制浓度(IC_{50})为 $(7.98 \pm 2.62) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,三氯甲烷部位对5种胃癌细胞系均具有较好的敏感性,对胃癌细胞SGC-7901最为敏感,其 IC_{50} 为 $(8.73 \pm 0.55) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而正丁醇部位和水部位未呈现出明显的细胞增殖抑制作用;多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位作用胃癌细胞AGS和SGC-7901后,细胞核被Hoechst33258染色呈亮蓝色,且随着药物浓度的增加蓝色荧光越强;流式细胞凋亡检测结果显示,多伞阿魏不同提取部位诱导胃癌细胞AGS和SGC-7901发生不同程度的凋亡($P < 0.05$),且随着药物浓度的增加,细胞总凋亡率明显增高;流式细胞周期检测结果显示,与空白组比较,多伞阿魏挥发油使胃癌细胞AGS的周期发生明显改变,细胞休眠期/DNA复制前期(G_0/G_1 期)细胞比例增高,DNA复制期(S期)细胞比例降低,DNA复制后期/有丝分裂期(G_2/M 期)比例降低($P < 0.05$);与空白组比较,多伞阿魏三氯甲烷部位使胃癌细胞SGC-7901的周期也发生显著改变, G_0/G_1 期细胞比例降低,S期细胞比例增高, G_2/M 期比例降低($P < 0.05$)。**结论:**多伞阿魏挥发油对胃癌细胞AGS呈现出较强的细胞毒活性,三氯甲烷部位对5种胃癌细胞均具有较好的增殖抑制作用,尤其对胃癌细胞SGC-7901最为敏感;多伞阿魏各提取部位诱导胃癌细胞AGS和SGC-7901主要发生晚期凋亡,而多伞阿魏乙酸乙酯部位诱导胃癌细胞AGS主要发生细胞早期凋亡;多伞阿魏挥发油能够将胃癌细胞AGS阻滞于 G_0/G_1 期,阻止细胞进入S期及 G_2/M 期;伞阿魏三氯甲烷部位将胃癌SGC-7901细胞周期阻滞于S期。研究表明多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位具有较好的抗胃癌活性作用,具有潜在的研究价值和开发利用空间,并为多伞阿魏体内抗胃癌及其抗胃癌机制研究提供了一定的科学依据。

[关键词] 多伞阿魏; 抗胃癌; 活性筛选; 细胞凋亡; 周期阻滞

[中图分类号] R273;R22;R285.5;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)10-0112-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180924

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.1448.004.html>

[网络出版时间] 2018-02-15 14:39

Mechanism of Uyгур Medicine Root of *Ferula ferulaeoides* in Resisting Gastric Cancer Activity and Inducing Cell Apoptosis and Cell Cycle Arrest *in Vitro*

YANG Ming-han^{1,2}, LUO Jiao-yang², QIAO Mei-ling^{1,2}, SHENG Ping^{1*}, YANG Mei-hua^{2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences,

Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[收稿日期] 20171016(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560633)

[第一作者] 杨明翰,在读硕士,从事特色中维药资源质量标准研究,E-mail:minghanyang989@163.com

[通信作者] *盛萍,博士,教授,博士生导师,从事特色中维药资源质量标准研究,Tel:0991-4362253,E-mail:xjsphwy@163.com;

*杨美华,研究员,博士生导师,从事中药质量分析与安全性研究,Tel:010-57833277,E-mail:mhyangimplad@hotmail.com

[Abstract] Objective: To study and determined the active fraction of Uygur medicine *Ferula ferulaeoides* and its sensitive gastric cancer cell line *in vitro*, and explore the effect of *F. ferulaeoides* in inducing the apoptosis and cell cycle arrest of gastric cancer cells, in order to provide experimental basis for further studies. **Method:** The 3- (4, 5) -dimethylthiaziazolo (-z-yl) -3, 5-di-phenyltetrazolium bromide (MTT) method was used to detect the inhibition effects of different extracts (with volatile oil, 95% ethanol extract, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, and water fraction) from *F. ferulaeoides* on 5 kinds of gastric cancer cell lines (AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803 and SGC-7901), Hoechst33258 fluorescent staining was used to observe the effect of the volatile oil and the chloroform fraction of *F. ferulaeoides* on the gastric cancer cell lines AGS and SGC-7901, the effects of different extract parts of *F. ferulaeoides* on the apoptosis of gastric cancer cell line SGC-7901 were detected by flow cytometry, the effect of volatile oil and chloroform fraction of *F. ferulaeoides* on cell cycle arrest of gastric cancer cell lines AGS and SGC-7901 were detected by flow cytometry. **Result:** Volatile oil, 95% ethanol extract and its petroleum ether, chloroform and ethyl acetate fraction on 5 kinds of gastric cancer cells had different proliferation inhibition effects ($P < 0.05$) in a dose-dependent manner. The chloroform fraction had a good sensitivity to the five kinds of gastric cancer cell lines, with the highest sensitivity in gastric cancer cell lines SGS-7901, and the median inhibitory concentration (IC_{50}) was $(8.73 \pm 0.55) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the volatile oil had a strong inhibitory effect on gastric cancer cell AGS, and IC_{50} was $(7.98 \pm 2.62) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The *n*-butanol and water fractions did not show a significant inhibition effect on cell proliferation, the cell nucleus of gastric cancer cell lines AGS and SGC-7901 was stained by Hoechst 33258, and the blue fluorescence was stronger with the increase of drug concentration. The results of flow cytometry showed that different extract parts of *F. ferulaeoides* induced the apoptosis of gastric cancer cells AGS and SGC-7901 to varying degrees, and the total apoptotic rate was significantly increased with the increase of drug concentration. The results of flow cytometry showed that the AGS cycle of gastric cancer cells significantly changed, the proportion of G_0/G_1 -phase cells increased, while the proportion of S phase cells decreased, the proportion of G_2/M phase decreased compared with control group ($P < 0.05$). The cell cycle of SGC-7901 significantly changed too, while the proportion of G_0/G_1 phase cells was decreased, the proportion of S phase cells increased, and the ratio of G_2/M phase ($P < 0.05$), with significant differences compared with the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The volatile oil of *F. ferulaeoides* had a high inhibitory effect on the growth of gastric cancer cell SGC-7901, the chloroform fraction of *F. ferulaeoides* had a high inhibitory effect on the growth of five kinds of gastric cancer cells, especially for gastric cancer cell SGC-7901, late apoptosis of gastric cancer cells AGS and SGC-7901 was induced by different extract parts of *F. ferulaeoides*, while early apoptosis of gastric cancer cells AGS was induced by the ethyl acetate fraction of *F. ferulaeoides*. The cell cycle of gastric cancer cell line SGC-7901 was arrested in S phase and G_2/M phase. The cell cycle of gastric cancer SGC-7901 was arrested in S phase. The results show that the volatile oil and the chloroform fraction of *F. ferulaeoides* had a good anti-gastric cancer activity, and provide scientific basis for further studies on the anti-gastric cancer mechanism of *F. ferulaeoides in vivo*.

[Key words] *Ferula ferulaeoides*; anti-gastric cancer; activity screening; apoptosis; cell cycle arrest

当前世界范围内胃癌的发病率在所有癌症中位居第 4 位,同时胃癌的全球死亡率位居第 2 位,其发病率呈现逐年上升的趋势^[1-3]。胃癌的治疗多采用以手术为主、化疗药物为辅的综合治疗方案,但是治疗后 5 年内的生存率不足 20%^[4]。此外,化疗药物多具有副作用,往往给患者造成一定的痛苦。近年来中医药治疗各种癌症已被中外学者广泛关注^[5-7],从传统中医药资源中寻找出安全有效的

抗肿瘤药物已是目前最迫切的需求。

多伞阿魏为伞形科阿魏属植物,仅分布于新疆,其药用部位为根和油胶树脂,是新疆维吾尔族人民常用的传统重要药材,在新疆广泛用作中药阿魏的替代品^[8]。多伞阿魏主要含有挥发油、树脂、树胶、多糖等化学成分,其中倍半萜类、香豆素类等化学成分,可能是其主要的药理活性成分^[9-15],在维吾尔族医临床上多用于治疗心腹冷痛、慢性肠胃炎、胃溃

疡、风湿性关节炎等疾病^[8]。目前,研究表明多伞阿魏具有抑菌^[16-17],抗病毒^[18],抗肿瘤^[19-24]等药理活性。此外,国内外研究表明阿魏属植物具有广泛的杀虫^[25-26],抗肿瘤^[27-31],抗 HIV^[32]和雌激素^[33]等药理活性。

但有关多伞阿魏抗胃癌实验研究鲜有报道。本课题组前期实验研究表明多伞阿魏能够抑制胃癌细胞 SGC-7901 增殖,其半数抑制浓度(IC₅₀)为(61.45 ± 11.43) mg·L⁻¹^[34]。为了合理有效开发利用这一传统维吾尔族药材,进一步系统研究多伞阿魏体外抗胃癌活性方面的作用。本实验为提高多伞阿魏抗胃癌活性作用,优化了多伞阿魏的提取方案;并考察了多伞阿魏不同提取部位对 5 种胃癌细胞系 AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803, SGC-7901 的生长增殖抑制作用,并从中筛选出多伞阿魏抗胃癌的活性部位及其敏感胃癌细胞系;采用 Hoechst33258 荧光染色法观察多伞阿魏活性部位对胃癌细胞凋亡的影响情况;并采用细胞流式仪分析多伞阿魏活性部位诱导胃癌细胞凋亡和细胞阻滞情况,以期对多伞阿魏合理开发利用和深入研究提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 药材 多伞阿魏采自新疆沙湾县,经新疆医科大学盛萍教授鉴定为伞形科植物多伞阿魏 *Ferula ferulaeoides* 干燥根。阴干,粉碎过 10 目筛备用。

1.2 细胞株 人胃癌细胞株 MKN-45, BGC-823, MGC-803, SGC-7901 由中国医学科学院肿瘤医院细胞库提供,人胃癌细胞株 AGS 由中国医学科学院基础医学研究所细胞库提供(编号 3111C0001CCC000480)。

1.3 仪器及试剂 ME204E 型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], DL-CJ-1ND-II 型洁净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司), MCO-15AC 型二氧化碳恒温培养箱(日本 Sanyo 公司), Tecan Infinite 200 型酶标仪(奥地利 Tecan 公司), Imager. Z1 型正置全自动荧光显微镜(德国 Zeiss 光学仪器公司), Calibur 型流式细胞分析仪(美国 BD 公司)。

RPMI 1640 培养基, 0.25% 胰蛋白酶, 0.05% 胰蛋白酶, 胎牛血清(FBS), 磷酸盐缓冲液(PBS), 青霉素-链霉素溶液(美国 Corning 公司, 批号分别为 13117003, 07217004, 19417010, 35010155, 19117004, 30002283); 四甲基偶氮唑盐(MTT), 二甲基亚砜(DMSO)(美国 Amresco 公司, 批号分别为 0646C193, 0666C081); 顺铂(DDP, 中国食品药品

检定研究院, 批号 100401-201302); Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI) 细胞凋亡检测试剂盒(德国美天旎生物技术有限公司, 批号 5160412036); 细胞周期检测试剂盒(江苏凯基生物技术有限公司, 批号 KGA511); 实验所用 95% 乙醇、石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇等试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

2 方法

2.1 多伞阿魏不同提取部位的制备 称取多伞阿魏药材适量, 按照 2015 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法项下甲法采用水蒸气蒸馏法提取挥发油, 收集多伞阿魏挥发油, 加无水硫酸钠适量脱水, 即得多伞阿魏挥发油(得率为 1.67%), 储存于 4 °C 冰箱备用。

另称取多伞阿魏药材适量, 采用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并滤液, 浓缩得 95% 乙醇浸膏。将部分 95% 乙醇浸膏用水稀释混悬, 分别用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、水饱和正丁醇依次萃取至近无色, 减压回收, 低温真空干燥, 分别得到石油醚部位、三氯甲烷部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位及水部位(95% 乙醇初提物、石油醚部位、三氯甲烷部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位得率分别为 28.47%, 9.49%, 8.52%, 0.29%, 2.17%, 3.16%), 储存于 -20 °C 冰箱备用。

2.2 细胞培养 将胃癌细胞 AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803, SGC-7901 分别接种于细胞培养瓶内, 培养基为含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的 RPMI 1640 完全培养液, 放置于 37 °C 5% CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱内培养。每天观察细胞的生长状态, 隔天换液, 取对数生长期的细胞, PBS 清洗细胞 3 次, 胰蛋白酶消化细胞(胃癌细胞 AGS 采用 0.05% 胰酶消化处理, 其他细胞采用 0.25% 胰酶消化处理), 收集细胞并调整细胞密度后进行相关实验。

2.3 药物配制 分别精密称取多伞阿魏不同提取部位(挥发油, 95% 乙醇提取物, 石油醚部位, 三氯甲烷部位, 乙酸乙酯部位, 正丁醇部位, 水部位)和顺铂, 并采用 DMSO 分别将其溶解配制成质量浓度为 150 g·L⁻¹ 的母液, 于 -20 °C 保存备用, 临用前采用 RPMI 1640 培养液配制所需浓度, 不同浓度组药物所含的 DMSO 最终含量均为 0.1%, 药物现配现用。

2.4 MTT 比色法检测多伞阿魏不同提取部位对 5 种胃癌细胞的增殖影响 分别取对数生长期的胃癌

细胞株 AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803, SGC-7901, PBS 清洗细胞, 胰酶消化 2 ~ 3 min, 终止消化并收集细胞, $1\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 吸弃上清液, 用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养液调整至密度约 1×10^5 个/mL 的单细胞悬液, 接种于 96 孔细胞培养板内, 每孔 100 μL 单细胞悬液 (每块 96 孔板均设对照零孔用于调零, 不接种细胞, 仅加入培养基; 空白组接种细胞, 但不给药, 均设 6 个复孔, 96 孔板最外围孔加入等量 PBS, 以防培养液蒸发来保持湿度), 放置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 5% CO_2 饱和湿度的细胞培养箱内培养 24 h。本实验共分为调零溶剂组、空白组、顺铂组和不同受试药物组。培养 24 h 后, 吸弃每孔上清液, 调零溶剂组和空白组加入培养液 150 μL /孔 (RPMI 1640 培养液 + 0.1% DMSO), 设 6 个复孔; 顺铂组加入不同浓度顺铂药液 150 μL /孔, 每个浓度组设 6 个复孔; 不同受试药物组分别加入多伞阿魏不同提取部位不同浓度的药液 150 μL /孔, 每个浓度组设 6 个复孔。给药后, 并将其放置在细胞培养箱内继续培养 24 h。药物作用 24 h 后, 每孔中加入 $5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MTT 20 μL , 震荡均匀后, 放置于细胞培养箱内继续培养孵育 4 h。4 h 后吸弃上清液, 每孔加入 DMSO 150 μL , 并将其放置于微孔板振荡器上震荡 10 min 使其细胞内的甲臞结晶充分溶解, 最后采用酶标仪在波长 570 nm 处检测每孔的吸光度 A , 计算药物对细胞的生长抑制率。并根据药物各浓度的抑制率, 采用 SPSS 19.0 软件计算相应药物的半数抑制浓度。实验重复 3 次。

细胞增殖抑制率 = $[1 - (A_{\text{受试药物组}} - A_{\text{调零溶剂组}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{调零溶剂组}})] \times 100\%$

2.5 Hoechst 33258 染色观察多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位对细胞 AGS 和 SGC-7901 的影响 取对数生长期胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901, 分别以 1×10^5 个/mL 接种于 12 孔细胞培养板内, 继续培养。24 h 后, 空白组、药物组和顺铂组。空白组只加培养液, 药物组分别加入多伞阿魏三氯甲烷部位高、中、低 3 个质量浓度 (25.00, 12.50, 6.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液, 顺铂组分别加入顺铂高、中、低质量浓度 (细胞 AGS 顺铂分别为 40.00, 20.00, 10.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 细胞 SGC-7901 顺铂分别为 20.00, 10.00, 5.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液。继续培养 24 h, PBS 清洗细胞, 加入适量 4% 多聚甲醛室温固定 20 min, 后加入 Hoechst 33258 染色液, 室温避光染色 20 min, 在荧光显微镜下观察细胞荧光染色情况并照相记录。实验重复 3 次。

2.6 流式细胞仪检测多伞阿魏不同提取部位对细胞 AGS 和 SGC-7901 的影响 分别取对数生长期胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901, 以 1×10^5 个/mL 接种于 6 孔板, 继续培养。24 h 后, 分空白组、药物组和顺铂组, 空白组只加培养液, 药物组分别加入多伞阿魏各不同提取部位 (12.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和多伞阿魏三氯甲烷部位高、中、低质量浓度 (25.00, 12.50, 6.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液, 顺铂组分别加入顺铂高、中、低质量浓度 (细胞 AGS 顺铂分别为 40.00, 20.00, 10.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 细胞 SGC-7901 顺铂分别为 20.00, 10.00, 5.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液。24 h 后, 收集细胞, 调整细胞密度为 1×10^5 个/mL, 取细胞悬液 1 mL 加入 $1 \times$ Binding buffer 100 μL 并制备成细胞悬液, 后加入 FITC Annexin V 10 μL 并室温避光孵育 15 min, 清洗细胞, 加入 $1 \times$ Binding buffer 500 μL , 并加入 PI 5 μL , 最后应用流式细胞仪检测并分析结果。实验重复 3 次。

2.7 流式细胞仪检测多伞阿魏三氯甲烷部位、挥发油对细胞 AGS 和 SGC-7901 的周期影响 分别取对数生长期胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901, 以 1×10^5 个/mL 接种于 6 孔板, 培养 24 h 后, 分空白组和药物组, 空白组只加培养液, 药物组分别加入多伞阿魏三氯甲烷部位高、中、低质量浓度 (25.00, 12.50, 6.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液, 24 h 后, 收集细胞, 调整细胞密度为 1×10^5 个/mL, 取细胞悬液 1 mL, 加入预冷的 70% 乙醇 500 μL , 固定 2 h, $4\ ^\circ\text{C}$ 保存, PBS 清洗 2 次, 加入 RNA 酶 (RnaseA) 100 μL , 轻轻震荡管壁, $37\ ^\circ\text{C}$ 水浴 30 min, 最后加入 PI 400 μL 进行染色, $4\ ^\circ\text{C}$ 避光孵育 30 min, 应用流式细胞仪在 488 nm 处检测并分析结果。实验重复 3 次。

2.8 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计处理。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并采用单因素方差检验分析组间差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 多伞阿魏挥发油对 5 种胃癌细胞的增殖抑制作用 多伞阿魏挥发油分别作用 5 种胃癌细胞 24 h 后, 与空白组比较, 挥发油对 5 种胃癌细胞生长均具有不同程度的抑制作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。挥发油作用于胃癌 AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803 和 SGC-7901 细胞系的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 (7.98 ± 2.62), (53.4 ± 3.73), (27.26 ± 2.89), (18.72 ± 3.02), (24.89 ± 2.91) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中挥发油对胃癌细胞 AGS 最为敏感 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 多伞阿魏挥发油和 95% 乙醇提取物对 5 种胃癌细胞株的增殖抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Inhibitory effect of volatile oil and 95% ethanol extract of *F. ferulaeoides* on proliferation of five kinds of human gastric cancer cells

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	抑制率/%				
		AGS	MKN-45	BGC-823	MGC-803	SGC-7901
空白	-	0.00 ± 0.03	0.00 ± 0.05	0.00 ± 0.05	0.00 ± 0.06	0.00 ± 0.04
挥发油	150.00	95.08 ± 4.83 ²⁾	97.9 ± 1.60 ²⁾	95.82 ± 3.60 ²⁾	97.61 ± 2.99 ²⁾	97.89 ± 2.01 ²⁾
	75.00	96.49 ± 4.93 ²⁾	80.21 ± 2.66 ²⁾	95.07 ± 3.53 ²⁾	98.01 ± 2.68 ²⁾	97.59 ± 2.38 ²⁾
	37.50	94.62 ± 6.73 ²⁾	31.45 ± 2.77 ²⁾	85.13 ± 5.27 ²⁾	95.78 ± 3.46 ²⁾	83.52 ± 1.82 ²⁾
	18.75	94.77 ± 4.67 ²⁾	20.08 ± 1.19 ²⁾	26.47 ± 6.79 ²⁾	56.95 ± 3.85 ²⁾	33.88 ± 4.34 ²⁾
	9.37	59.89 ± 8.93 ²⁾	6.29 ± 4.71	16.37 ± 2.83 ²⁾	25.97 ± 5.67 ²⁾	17.45 ± 3.88 ²⁾
	4.68	38.18 ± 2.42 ²⁾	4.13 ± 3.14	9.08 ± 2.43 ¹⁾	12.00 ± 2.95 ²⁾	13.65 ± 6.42 ¹⁾
	2.34	30.67 ± 6.79 ²⁾	1.05 ± 3.35	14.48 ± 2.10 ²⁾	9.48 ± 4.54 ¹⁾	10.96 ± 4.55 ¹⁾
	1.17	21.09 ± 6.14 ²⁾	0.99 ± 1.63	13.58 ± 6.36 ¹⁾	4.79 ± 4.04	12.23 ± 5.49 ¹⁾
95% 乙醇提取物	150.00	95.04 ± 2.52 ²⁾	94.75 ± 2.84 ²⁾	94.99 ± 3.38 ²⁾	95.25 ± 2.45 ²⁾	91.50 ± 3.25 ²⁾
	75.00	98.35 ± 1.59 ²⁾	96.58 ± 3.81 ²⁾	95.81 ± 1.82 ²⁾	97.56 ± 2.20 ²⁾	96.11 ± 3.20 ²⁾
	37.50	98.37 ± 2.20 ²⁾	97.39 ± 3.51 ²⁾	95.16 ± 2.95 ²⁾	97.86 ± 2.32 ²⁾	97.00 ± 3.97 ²⁾
	18.75	98.27 ± 1.30 ²⁾	71.04 ± 7.62 ²⁾	94.92 ± 3.52 ²⁾	96.89 ± 2.16 ²⁾	96.14 ± 3.59 ²⁾
	9.37	15.84 ± 3.72 ²⁾	9.12 ± 2.09 ¹⁾	7.44 ± 8.67	8.65 ± 5.49	32.12 ± 6.02 ²⁾
	4.68	8.35 ± 2.74 ¹⁾	-0.76 ± 2.79	5.48 ± 5.31	-4.24 ± 3.70	10.88 ± 4.96 ¹⁾
	2.34	6.16 ± 1.96 ¹⁾	3.07 ± 5.02	11.21 ± 8.39	-6.47 ± 2.93	14.33 ± 4.65 ²⁾
	1.17	0.83 ± 4.45	-1.00 ± 4.86	9.64 ± 1.97 ¹⁾	-4.82 ± 3.85	8.32 ± 5.81
顺铂	150.00	71.31 ± 1.77 ²⁾	79.55 ± 1.78 ²⁾	94.88 ± 4.32 ²⁾	76.37 ± 3.88 ²⁾	77.85 ± 2.51 ²⁾
	75.00	75.97 ± 1.60 ²⁾	92.73 ± 1.85 ²⁾	95.10 ± 4.70 ²⁾	93.26 ± 4.34 ²⁾	89.72 ± 4.49 ²⁾
	37.50	78.93 ± 3.20 ²⁾	88.84 ± 1.39 ²⁾	79.26 ± 2.88 ²⁾	92.90 ± 4.58 ²⁾	90.88 ± 2.19 ²⁾
	18.75	44.71 ± 2.10 ²⁾	58.83 ± 3.17 ²⁾	38.02 ± 3.36 ²⁾	92.47 ± 3.61 ²⁾	89.87 ± 2.01 ²⁾
	9.37	26.46 ± 2.33 ²⁾	49.11 ± 2.45 ²⁾	26.34 ± 7.10 ²⁾	83.92 ± 4.14 ²⁾	78.71 ± 3.69 ²⁾
	4.68	12.66 ± 1.16 ²⁾	24.34 ± 3.23 ²⁾	19.92 ± 4.36 ²⁾	37.28 ± 2.24 ²⁾	33.98 ± 5.36 ²⁾
	2.34	6.46 ± 2.05	15.84 ± 4.13 ²⁾	25.17 ± 6.26 ²⁾	26.53 ± 4.30 ²⁾	9.63 ± 3.96 ¹⁾
	1.17	2.68 ± 1.14	14.74 ± 5.67 ²⁾	20.55 ± 6.48 ²⁾	19.96 ± 3.45 ²⁾	8.58 ± 3.58 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 7 同)。

3.2 多伞阿魏 95% 乙醇提取物对 5 种胃癌细胞的增殖抑制作用 多伞阿魏 95% 乙醇提取物作用 5 种胃癌细胞 24 h 后,与空白组比较,95% 乙醇提取物对 5 种胃癌细胞增殖均具有不同程度的抑制作用 ($P < 0.05, P < 0.01$)。95% 乙醇提取物作用 5 种胃癌细胞系 AGS, MKN-45, BGC-823, MGC-803 和 SGC-7901 的 IC_{50} 分别为 (12.55 ± 1.08), (16.81 ± 1.46), (13.41 ± 1.07), (13.54 ± 0.33), (11.84 ± 2.00) $mg \cdot L^{-1}$, 其中 95% 乙醇提取物对胃癌细胞 SGC-7901 较为敏感。见表 1。

3.3 多伞阿魏不同极性部位对 5 种胃癌细胞株的生长抑制作用 多伞阿魏 5 种不同极性部位作用 5 种胃癌细胞 24 h 后,与空白组比较,石油醚部位、三氯甲烷部位及乙酸乙酯部位对 5 种胃癌细胞均具有不同程度的抑制生长作用 ($P < 0.05, P < 0.01$)。其中三氯甲烷部位抑制作用最强,石油醚部位抑制作用次之,乙酸乙酯部位作用最弱,而正丁醇部位、水部位对 5 种胃癌细胞均没有明显的抑制生长作用。其中三氯甲烷部位对胃癌细胞 SGC-7901 最为敏感,其 IC_{50} 为 (8.73 ± 0.55) $mg \cdot L^{-1}$ 。见表 2。

表 2 多伞阿魏不同极性部位对 5 种胃癌细胞的增殖抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Inhibitory effect of different extract parts of *F. ferulaeoides* on proliferation of five kinds of human gastric cancer cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

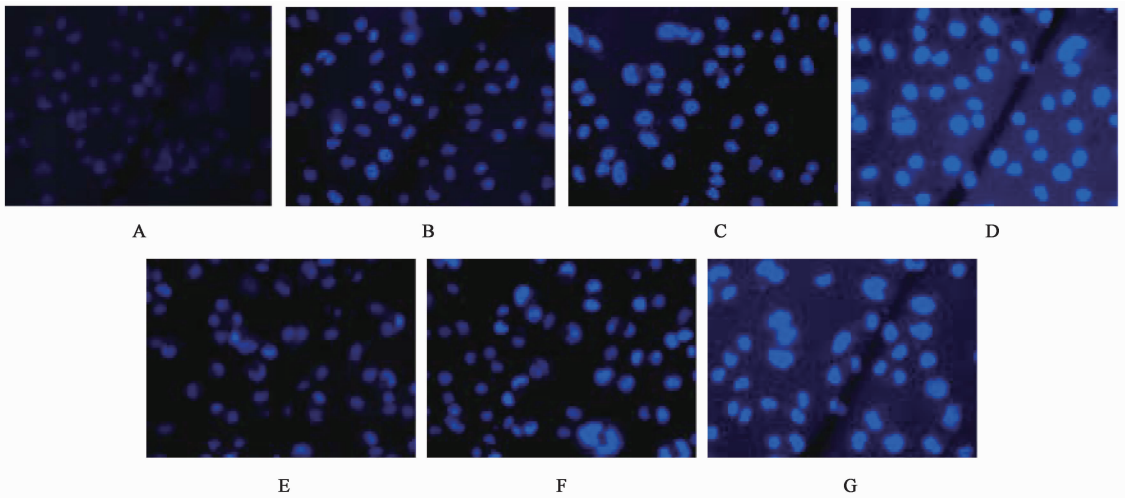
组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	抑制率/%				
		AGS	MKN-45	BGC-823	MGC-803	SGC-7901
空白	-	0.00 ± 0.03	0.00 ± 0.05	0.00 ± 0.05	0.00 ± 0.06	0.00 ± 0.04
石油醚部位	150.00	94.69 ± 2.41 ²⁾	90.55 ± 4.39 ²⁾	96.20 ± 2.52 ²⁾	98.01 ± 2.23 ²⁾	97.22 ± 2.70 ²⁾
	75.00	94.96 ± 1.87 ²⁾	97.66 ± 2.56 ²⁾	96.02 ± 0.73 ²⁾	98.32 ± 1.81 ²⁾	96.82 ± 2.48 ²⁾
	37.50	93.72 ± 1.16 ²⁾	96.15 ± 2.66 ²⁾	92.94 ± 3.14 ²⁾	97.52 ± 1.74 ²⁾	97.73 ± 1.78 ²⁾
	18.75	93.5 ± 3.69 ²⁾	55.15 ± 3.94 ²⁾	94.61 ± 5.07 ²⁾	93.30 ± 2.08 ²⁾	97.66 ± 2.11 ²⁾
	9.37	2.92 ± 5.49	10.86 ± 3.28 ¹⁾	6.66 ± 3.38	17.53 ± 4.29 ²⁾	20.43 ± 6.83 ²⁾
	4.68	3.81 ± 3.48	6.53 ± 5.15	1.30 ± 5.07	6.16 ± 3.95	10.46 ± 2.56 ¹⁾
	2.34	3.27 ± 3.53	-1.58 ± 5.24	11.66 ± 7.43 ¹⁾	13.00 ± 1.59 ²⁾	13.53 ± 3.79 ²⁾
	1.17	2.46 ± 2.91	6.03 ± 8.07	12.78 ± 4.44 ¹⁾	15.01 ± 1.08 ²⁾	14.39 ± 5.79 ¹⁾
三氯甲烷部位	150.00	93.02 ± 2.28 ²⁾	96.35 ± 2.05 ²⁾	95.57 ± 2.85 ²⁾	93.31 ± 1.26 ²⁾	91.72 ± 1.17 ²⁾
	75.00	98.45 ± 1.23 ²⁾	96.85 ± 1.46 ²⁾	95.17 ± 2.54 ²⁾	96.70 ± 1.57 ²⁾	95.11 ± 2.22 ²⁾
	37.50	98.91 ± 1.11 ²⁾	97.45 ± 1.29 ²⁾	95.39 ± 2.61 ²⁾	98.16 ± 2.53 ²⁾	95.08 ± 2.30 ²⁾
	18.75	98.07 ± 1.52 ²⁾	87.43 ± 3.57 ²⁾	93.13 ± 3.10 ²⁾	97.25 ± 2.65 ²⁾	95.10 ± 3.14 ²⁾
	9.37	19.05 ± 2.02 ²⁾	15.02 ± 3.92 ²⁾	24.24 ± 4.48 ²⁾	20.68 ± 2.87 ²⁾	54.62 ± 3.52 ²⁾
	4.68	8.33 ± 2.63 ¹⁾	5.10 ± 2.73	13.67 ± 2.48 ²⁾	9.55 ± 2.86 ¹⁾	20.13 ± 1.96 ²⁾
	2.34	3.42 ± 1.18	7.78 ± 2.98	11.81 ± 3.56 ¹⁾	3.16 ± 4.76	16.17 ± 3.59 ²⁾
	1.17	1.33 ± 1.18	8.52 ± 3.66 ¹⁾	7.51 ± 3.49	2.75 ± 4.04	14.45 ± 4.89 ²⁾
乙酸乙酯部位	150.00	93.13 ± 1.80 ²⁾	91.71 ± 2.13 ²⁾	96.19 ± 2.46 ²⁾	92.67 ± 1.57 ²⁾	91.78 ± 2.30 ²⁾
	75.00	97.63 ± 1.03 ²⁾	96.55 ± 1.95 ²⁾	95.44 ± 2.50 ²⁾	96.77 ± 3.07 ²⁾	94.21 ± 4.77 ²⁾
	37.50	94.63 ± 2.27 ²⁾	72.63 ± 6.27 ²⁾	95.36 ± 5.28 ²⁾	81.49 ± 3.87 ²⁾	76.24 ± 5.27 ²⁾
	18.75	47.87 ± 2.48 ²⁾	9.04 ± 1.86 ¹⁾	14.23 ± 5.20 ²⁾	20.46 ± 4.26 ²⁾	15.31 ± 5.48 ²⁾
	9.37	16.37 ± 2.52 ²⁾	1.38 ± 2.04	1.87 ± 2.91	1.74 ± 1.47	-0.38 ± 3.27
	4.68	9.29 ± 1.66 ¹⁾	0.43 ± 2.21	1.01 ± 2.84	-0.31 ± 1.32	1.29 ± 4.55
	2.34	1.96 ± 1.63	4.39 ± 2.17	6.66 ± 7.97	-2.32 ± 2.80	1.41 ± 4.04
	1.17	1.42 ± 1.70	4.90 ± 1.99	7.10 ± 3.73	0.66 ± 3.22	4.05 ± 5.26
正丁醇部位	150.00	-8.35 ± 2.47	1.62 ± 2.71	7.47 ± 2.52	-5.60 ± 3.75	-2.01 ± 4.17
	75.00	-4.91 ± 1.21	5.56 ± 3.37	17.79 ± 3.30	0.64 ± 4.18	-5.52 ± 2.64
	37.50	-2.92 ± 1.62	3.95 ± 2.20	17.70 ± 1.62	2.46 ± 4.46	0.20 ± 3.26
	18.75	4.40 ± 2.59	2.61 ± 1.13	19.17 ± 2.84	1.86 ± 5.84	2.04 ± 5.34
	9.37	0.39 ± 4.61	3.28 ± 5.13	11.95 ± 2.79	-0.16 ± 5.20	4.35 ± 6.77
	4.68	2.46 ± 2.29	2.95 ± 2.37	13.28 ± 4.45	3.95 ± 4.82	-0.98 ± 6.47
	2.34	1.03 ± 1.47	6.04 ± 1.89	7.47 ± 3.36	1.43 ± 4.86	3.47 ± 6.64
	1.17	0.98 ± 3.51	4.65 ± 2.81	10.07 ± 4.82	0.95 ± 7.18	-0.63 ± 7.15
水部位	150.00	-8.69 ± 1.80	1.47 ± 1.60	-3.45 ± 4.29	-1.52 ± 5.46	4.25 ± 5.41
	75.00	-1.76 ± 3.52	3.66 ± 1.74	0.80 ± 5.37	-4.79 ± 4.80	0.78 ± 5.08
	37.50	8.42 ± 1.51	-0.43 ± 4.71	10.60 ± 1.26	-6.12 ± 3.69	-0.58 ± 5.29
	18.75	5.39 ± 1.61	-1.02 ± 1.80	2.48 ± 8.74	-3.29 ± 5.26	2.53 ± 5.01
	9.37	5.50 ± 4.57	1.06 ± 1.41	8.22 ± 4.31	-5.89 ± 2.09	2.78 ± 4.77
	4.68	2.46 ± 3.81	0.75 ± 3.54	14.18 ± 1.69	-8.52 ± 4.36	-0.29 ± 4.77

续表 2

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	抑制率/%				
		AGS	MKN-45	BGC-823	MGC-803	SGC-7901
顺铂	2.34	3.51 ± 2.33	-2.32 ± 4.71	9.31 ± 1.81	-11.62 ± 3.69	1.03 ± 4.13
	1.17	2.01 ± 1.39	0.40 ± 7.55	-0.53 ± 5.53	-14.77 ± 3.65	3.23 ± 4.96
	150.00	71.31 ± 1.77 ²⁾	79.55 ± 1.78 ²⁾	94.88 ± 4.32 ²⁾	76.37 ± 3.88 ²⁾	77.85 ± 2.51 ²⁾
	75.00	75.97 ± 1.60 ²⁾	92.73 ± 1.85 ²⁾	95.10 ± 4.70 ²⁾	93.26 ± 4.34 ²⁾	89.72 ± 4.49 ²⁾
	37.50	78.93 ± 3.20 ²⁾	88.84 ± 1.39 ²⁾	79.26 ± 2.88 ²⁾	92.90 ± 4.58 ²⁾	90.88 ± 2.19 ²⁾
	18.75	44.71 ± 2.10 ²⁾	58.83 ± 3.17 ²⁾	38.02 ± 3.36 ²⁾	92.47 ± 3.61 ²⁾	89.87 ± 2.01 ²⁾
	9.37	26.46 ± 2.33 ²⁾	49.11 ± 2.45 ²⁾	26.34 ± 7.10 ²⁾	83.92 ± 4.14 ²⁾	78.71 ± 3.69 ²⁾
	4.68	12.66 ± 1.16 ²⁾	24.34 ± 3.23 ²⁾	19.92 ± 4.36 ²⁾	37.28 ± 2.24 ²⁾	33.98 ± 5.36 ²⁾
	2.34	6.46 ± 2.05	15.84 ± 4.13 ²⁾	25.17 ± 6.26 ²⁾	26.53 ± 4.30 ²⁾	9.63 ± 3.96 ¹⁾
	1.17	2.68 ± 1.14	14.74 ± 5.67 ²⁾	20.55 ± 6.48 ²⁾	19.96 ± 3.45 ²⁾	8.58 ± 3.58 ¹⁾

3.4 多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位对细胞 AGS 和 SGC-7901 的影响 空白组细胞 AGS 和 SGC-7901 细胞生长良好,贴壁较牢固,细胞间紧密相连,细胞核被 Hoechst 33258 均匀的染成蓝色,呈弥散均匀蓝色荧光。不同浓度挥发油作用细胞 AGS 后,

细胞变圆,脱落,细胞间距明显变大,被 Hoechst 33258 染色呈亮蓝色,并出现凋亡小体,且随着药物质量浓度的增加蓝色荧光越强,细胞凋亡现象越明显了,见图 1;不同浓度三氯甲烷部位作用细胞 SGC-7901 后,观察结果与挥发油相似,见图 2。



A. 空白组;B~D. 挥发油 6.25,12.50,25.00 mg·L⁻¹组;E~G. 顺铂 10.00,20.00,40.00 mg·L⁻¹组

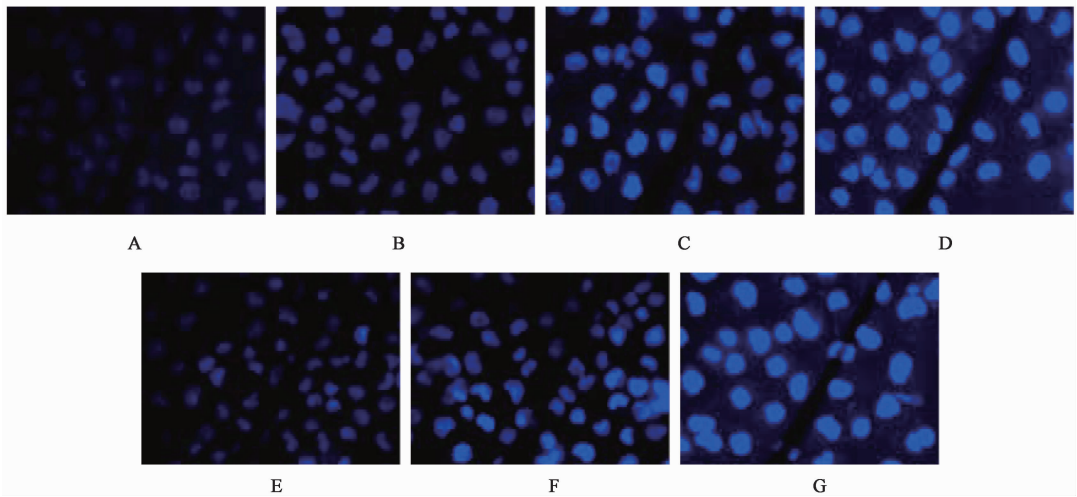
图 1 多伞阿魏挥发油部位对 AGS 细胞凋亡的影响(Hoechst 33258, ×400)

Fig.1 Effect of different doses of volatile oil of *F. ferulaeoides* on apoptosis of AGS cells(Hoechst 33258, ×400)

3.5 多伞阿魏不同提取部位对细胞 AGS 和 SGC-7901 凋亡的影响 与空白组比较,多伞阿魏不同提取部位(12.50 mg·L⁻¹)对胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901 均具有不同程度的生长抑制作用($P < 0.05$, $P < 0.01$),多伞阿魏各提取部位诱导人胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901 主要发生细胞晚期凋亡,多伞阿魏乙酸乙酯部位诱导人胃癌细胞 AGS 主要发生细胞早期凋亡。其中多伞阿魏挥发油对人胃癌细胞 AGS 的抑制生长作用最强,其总凋亡率高达

(79.90 ± 0.99)% ;多伞阿魏三氯甲烷部位对人胃癌细胞 SGC-7901 的抑制生长作用最强,其总凋亡率高达(69.81 ± 1.95)%。见表 3。

多伞阿魏挥发油诱导人胃癌细胞 AGS 的总凋亡率随其质量浓度增高而逐渐升高,其细胞凋亡率与挥发油质量浓度呈明显的量效关系,多伞阿魏挥发油 6.25 mg·L⁻¹组细胞总凋亡率高达(99.15 ± 1.41)% ;多伞阿魏三氯甲烷部位诱导人胃癌细胞 SGC-7901 的总凋亡率随多伞阿魏三氯甲烷部位



A. 空白组; B~D. 三氯甲烷部位 6.25, 12.50, 25.00 mg·L⁻¹ 组; E~G. 顺铂 5.00, 10.00, 20.00 mg·L⁻¹ 组

图 2 多伞阿魏三氯甲烷部位对 SGC-7901 细胞凋亡的影响 (Hoechst 33258, ×400)

Fig. 2 Effect of different doses of chloroform fraction of *F. ferulaeoides* on apoptosis of SGC-7901 cells (Hoechst 33258, ×400)

表 3 多伞阿魏不同提取部位 (12.50 mg·L⁻¹) 对胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901 凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of different extract parts (12.50 mg·L⁻¹) of *F. ferulaeoides* on apoptosis rate of AGS and SGC-7901 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

组别	AGS			SGC-7901		
	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
空白	0.82 ± 0.11	4.27 ± 0.98	5.09 ± 1.09	1.72 ± 0.13	4.24 ± 0.67	5.96 ± 0.80
挥发油	2.42 ± 0.34 ¹⁾	77.48 ± 0.65 ²⁾	79.90 ± 0.99 ²⁾	3.13 ± 0.33 ²⁾	9.17 ± 0.72 ²⁾	12.30 ± 1.05 ²⁾
石油醚部位	2.72 ± 0.32 ²⁾	19.33 ± 0.63 ²⁾	22.05 ± 0.95 ²⁾	3.26 ± 0.37 ²⁾	26.88 ± 1.39 ²⁾	30.14 ± 1.76 ²⁾
三氯甲烷部位	3.59 ± 0.37 ²⁾	52.27 ± 0.81 ²⁾	55.86 ± 1.18 ²⁾	1.22 ± 0.36	68.59 ± 1.59 ²⁾	69.81 ± 1.95 ²⁾
乙酸乙酯部位	27.68 ± 1.29 ²⁾	6.71 ± 0.57 ²⁾	34.39 ± 1.86 ²⁾	1.93 ± 0.25	10.61 ± 1.07 ²⁾	12.54 ± 1.32 ²⁾
正丁醇部位	4.87 ± 0.59 ²⁾	9.64 ± 0.83 ²⁾	14.51 ± 1.42 ²⁾	2.13 ± 0.41	5.63 ± 0.85	7.76 ± 1.26
水部位	4.55 ± 0.57 ²⁾	9.59 ± 0.72 ²⁾	14.14 ± 1.29 ²⁾	1.78 ± 0.39	8.17 ± 2.16 ¹⁾	9.95 ± 2.55 ¹⁾

质量浓度增高而逐渐升高,其细胞凋亡率与三氯甲烷部位质量浓度呈明显的量效关系,多伞阿魏三氯甲烷部位 6.25 mg·L⁻¹ 组细胞总凋亡率高达 (99.51 ± 1.15)%。见表 4,5。

表 4 多伞阿魏挥发油作用 24 h 对胃癌细胞 AGS 凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of treatment with volatile oil of *F. ferulaeoides* for 24 h on apoptosis rate of AGS cells ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
空白	-	0.82 ± 0.11	4.27 ± 0.98	5.09 ± 1.09
挥发油	6.25	5.86 ± 0.51 ²⁾	16.18 ± 0.62 ²⁾	22.04 ± 1.13 ²⁾
	12.50	2.42 ± 0.34	77.48 ± 0.65 ²⁾	79.90 ± 0.99 ²⁾
	25.00	4.84 ± 0.56 ²⁾	94.31 ± 0.85 ²⁾	99.15 ± 1.41 ²⁾
顺铂	10.00	3.68 ± 0.53 ²⁾	13.49 ± 0.82 ²⁾	17.17 ± 1.35 ²⁾
	20.00	9.93 ± 0.32 ²⁾	18.59 ± 0.71 ²⁾	28.52 ± 1.03 ²⁾
	40.00	15.16 ± 0.95 ²⁾	61.26 ± 0.66 ²⁾	76.42 ± 1.61 ²⁾

表 5 多伞阿魏三氯甲烷部位作用 24 h 对胃癌细胞 SGC-7901 凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率	%
空白	-	1.72 ± 0.13	4.24 ± 0.67	5.96 ± 0.80	
三氯甲烷部位	6.25	3.42 ± 0.53 ¹⁾	15.63 ± 1.03 ²⁾	19.05 ± 1.56 ²⁾	
	12.50	1.22 ± 0.36	68.59 ± 1.59 ²⁾	69.81 ± 1.95 ²⁾	
	25.00	6.90 ± 0.22 ²⁾	92.61 ± 0.93 ²⁾	99.51 ± 1.15 ²⁾	
顺铂	5.00	2.11 ± 0.12	13.44 ± 0.83 ²⁾	15.55 ± 0.95 ²⁾	
	10.00	2.70 ± 0.53 ¹⁾	33.49 ± 0.37 ²⁾	36.19 ± 0.90 ²⁾	
	20.00	1.01 ± 0.39	97.56 ± 0.43 ²⁾	98.57 ± 0.82 ²⁾	

3.6 多伞阿魏挥发油、三氯甲烷部位对人胃癌细胞 AGS,SGC-7901 的周期影响 与空白组比较,多伞阿魏挥发油作用 24 h 后对细胞 AGS 周期发生明显改变,使 G₀/G₁ 期细胞比例增高,S 期细胞比例降

低,G₂/M 期比例降低(P < 0.01),见表 6。与空白组比较,多伞阿魏三氯甲烷部位作用细胞 SGC-7901 24 h 后,使 G₀/G₁ 期细胞比例降低,S 期细胞比例增高,G₂/M 期比例降低(P < 0.05, P < 0.01),见表 7。

表 6 多伞阿魏挥发油作用 24 h 对人胃癌 AGS 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	%
空白	-	39.06 ± 0.99	26.92 ± 1.33	34.02 ± 2.31	
挥发油	6.25	46.19 ± 2.31 ²⁾	19.29 ± 0.97 ²⁾	34.52 ± 1.13	
	12.50	49.18 ± 1.09 ²⁾	17.24 ± 2.09 ²⁾	33.58 ± 1.74	
	25.00	58.21 ± 2.22 ²⁾	16.54 ± 2.31 ²⁾	13.20 ± 1.81 ²⁾	

表 7 多伞阿魏三氯甲烷部位作用 24 h 对人胃癌 SGC-7901 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	%
空白	-	67.20 ± 1.05	18.82 ± 0.97	13.98 ± 1.23	
三氯甲烷部位	6.25	61.30 ± 1.76 ¹⁾	25.23 ± 1.03 ²⁾	13.47 ± 1.11	
	12.50	51.80 ± 1.03 ²⁾	36.51 ± 2.14 ²⁾	11.77 ± 0.87 ¹⁾	
	25.00	26.77 ± 2.17 ²⁾	67.37 ± 1.09 ²⁾	5.86 ± 2.63 ²⁾	

4 讨论

目前阿魏属植物中仅有新疆阿魏 *F. sinkiangensis* 和阜康阿魏 *F. fukanensis*, 2 种植物被收录于 2015 年版《中国药典》^[35] 中作为中药阿魏的法定原植物。近年由于不合理的开发利用阿魏野生资源,导致这 2 种植物资源的储量急剧下降,其中新疆阿魏和阜康阿魏都处于极度濒危状态^[36]。为了满足临床用药,维吾尔族医用多伞阿魏的树脂和根代替阿魏用药使用。目前,新疆药材市场上见到的阿魏多为多伞阿魏药材,应当合理有效的发展利用这一传统维吾尔族药资源。

近年来,国内外学者逐渐关注传统药物抗肿瘤作用,其已成为抗肿瘤药物研发的重要渠道。多项

研究均表明多种阿魏属植物具有抗肿瘤药理活性,雷亚江等^[27]研究发现 *F. assafoetida* 的乙醇提取物具有抑制结肠癌的癌细胞扩散的活性;Kumar 等^[25]从 *F. varia* 根的甲醇提取物中分离得到 11 个倍半萜类化合物,经抗肿瘤活性筛选,表明部分倍半萜类化合物具有一定的抗乳腺癌和抗结肠癌的作用 Iranshahi 等^[29]研究发现 *F. diversivittata* 的甲醇提取物对淋巴瘤具有一定的抑制作用,其中含异戊烯基基团的萜类香豆素化合物在促进抗肿瘤中发挥着重要作用;ZHANG 等^[30]从新疆阿魏中分离出单体化合物伞形花内酯和落叶松树脂醇具有一定的体内外抗胃癌活性;张海英等^[31]研究发现新疆阿魏乙酸乙酯部、正丁醇部对人结肠癌细胞 HCT116,人结肠腺

癌细胞 Caco-2, 人肝癌细胞 HepG2 和小鼠肾癌细胞 MFC 均有不同程度的增殖抑制和诱导凋亡作用。但是有关维吾尔族药多伞阿魏抗肿瘤的实验研究鲜有报道。

本课题组前期研究表明多伞阿魏具有一定的抗胃癌活性^[19-20], 其中, 研究报道多伞阿魏能够抑制胃癌细胞 SGC-7901 增殖^[31]。本次实验研究优化了多伞阿魏提取工艺, 提高了多伞阿魏抗胃癌活性作用, 并进一步证明多伞阿魏三氯甲烷提取部位对其余 4 种人胃癌细胞系 AGS, MKN-45, BGC-823 和 MGC-803 也具有增殖抑制作用。其中, 多伞阿魏挥发油部位对胃癌细胞 AGS 的增殖抑制作用最强; 多伞阿魏的石油醚部位、三氯甲烷部位和乙酸乙酯部位对 5 种胃癌细胞也均具有不同程度的抑制生长作用, 其中三氯甲烷部位作用最强; 此外, 多伞阿魏的正丁醇部位和水部位没有表现出明显的细胞增殖抑制活性。不同浓度多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位作用细胞 AGS 和 SGC-7901 后, 细胞发生不同程度的凋亡现象, 细胞变圆, 脱落, 细胞间距明显变大, 细胞核被 Hoechst 33258 染色呈亮蓝色, 并出现凋亡小体, 且随着药物浓度的增加蓝色荧光越强, 即细胞凋亡现象越明显, 其荧光强度与药物浓度具有明显的量效关系。流式细胞凋亡检测结果显示, 多伞阿魏不同提取部位作用胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901 后发生不同程度的凋亡, 其主要诱导细胞发生晚期凋亡, 而多伞阿魏乙酸乙酯部位诱导胃癌细胞 AGS 主要发生细胞早期凋亡, 并随着药物浓度的增加细胞总凋亡率显著增高; 流式细胞周期检测结果显示, 多伞阿魏挥发油使胃癌细胞 AGS 的周期发生明显改变, 使 G₀/G₁ 期细胞比例增高, S 期细胞比例降低, G₂/M 期比例降低, 与空白组比较有显著性差异, 表明多伞阿魏挥发油能够将胃癌细胞 AGS 阻滞于 G₀/G₁ 期, 阻止细胞进入 S 期及 G₂/M 期; 多伞阿魏三氯甲烷部位作用 24 h 对胃癌细胞 SGC-7901 的周期也发生显著改变, 使 G₀/G₁ 期细胞比例降低, S 期细胞比例增高, G₂/M 期比例降低, 与空白组比较有显著性差异, 表明多伞阿魏三氯甲烷部位将人胃癌 SGC-7901 细胞周期阻滞于 S 期。

本实验对多伞阿魏抗胃癌活性进行了活性筛选、细胞凋亡和细胞周期阻滞研究, 确定了多伞阿魏体外抗胃癌活性部位及其敏感胃癌细胞系, 研究结果显示多伞阿魏挥发油部位对胃癌细胞 AGS 表现出较好的细胞增殖抑制, 多伞阿魏三氯甲烷部位对 5 种胃癌细胞均具有较好的生长增殖抑制作用, 尤

其对胃癌细胞 SGC-7901 最为敏感。研究表明多伞阿魏挥发油和三氯甲烷部位具有较好的抗胃癌活性作用, 具有潜在的研究价值和开发利用空间, 为进一步开展多伞阿魏活性部位体内抗胃癌作用和抗胃癌分子机制研究提供一定的科学依据, 并为多伞阿魏这一传统维吾尔族药的合理开发和利用奠定基础。

[参考文献]

- [1] Parkin D M. International variation [J]. *Oncogene*, 2004, 23(38):6329-6340.
- [2] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- [3] Compare D, Rocco A, Nardone G. Risk factors in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2010, 14(4):302-308.
- [4] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2007, 57(1):43-66.
- [5] LI N, FAN L L, SUN G P, et al. Paeonol inhibits tumor growth in gastric cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(35):4483-4490.
- [6] CHEN J, SHI D Y, LIU S L, et al. Tanshinone IIA induces growth inhibition and apoptosis in gastric cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(2):523-528.
- [7] Onoda C, Kuribayashi K, Nirasawa S, et al. (-) Epigallocatechin 3 gallate induces apoptosis in gastric cancer cell lines by downregulating survivin expression [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(5):1403-1408.
- [8] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆药用植物志[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社, 1977:116-117.
- [9] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社, 1992, 55(3):85-117.
- [10] 宋东伟, 赵文军, 吴雪萍, 等. 阿魏属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. *中成药*, 2005, 27(3):329-332.
- [11] 戴斌, 戴向东, 丘翠嫦. 香阿魏挥发油成分的研究[J]. *中国民族民间医药杂志*, 2004, 68(3):173-174.
- [12] 宋东伟, 赵文军, 吴雪萍, 等. 高林新疆多伞阿魏化学成分研究[J]. *中草药*, 2006, 37(11):1627-1629.
- [13] Akito N, Kimio I, Keisuke K, et al. New sesquiterpenes from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov. VI. Isolation and identification of three new dihydrofuro [2, 3-b] chromones [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(5):675-677.
- [14] MENG H, LI G Y, HUANG J, et al. Sesquiterpene coumarin and sesquiterpene chromone derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov [J]. *Fitoterapia*, 2013, 86(4):70-77.

- [15] MENG H, LI G Y, HUANG J, et al. Sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov [J]. *Phytochemistry*, 2013, 86(2):151-158.
- [16] LIU T, Osman K, Kaatz G W, et al. Antibacterial sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(8):701-706.
- [17] 高婷婷, 余风华, 谭勇, 等. 三种阿魏根提取物的体外抑菌作用研究 [J]. *北方园艺*, 2013, (24):156-158.
- [18] ZHAI L L. Inhibition effects on Hepatitis B virus replication by hydrophobic extracts from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov [J]. *J Med Plant Res*, 2012, 6(8):6581-6583.
- [19] 盛萍, 王飒, 苗莉娟, 等. 不同方法提取的多伞阿魏挥发油化学成分及其体外抗胃癌活性比较 [J]. *中成药*, 2013, 35(11):2442-2448.
- [20] 王飒, 盛萍, 姚蓝, 等. 维药多伞阿魏体外抗胃癌活性部位 GC-MS 指纹图谱的研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(19):2874-2879.
- [21] ZHANG L, TONG X, ZHANG J, et al. DAW22, a natural sesquiterpene coumarin isolated from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov. that induces C6 glioma cell apoptosis and endoplasmic reticulum (ER) stress [J]. *Fitoterapia*, 2015, doi:10.1016/j.fitote.2015.03.010.
- [22] ZHANG H, LU J, ZHOU L, et al. Antioxidant and antitumor effects of *Ferula sinkiangensis* K. M. Shen [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11):20845-20852.
- [23] Bagheri S M, Asl A A, Shams A, et al. Evaluation of cytotoxicity effects of Oleo-Gum-Resin and its essential oil of *Ferula assafoetida* and ferulic acid on 4T1 breast cancer cells [J]. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2017, 38(2):116-120.
- [24] Bagheri S M, Abdianasl A, Moghadam M T, et al. Antitumor effect of *Ferula assafoetida* oleo gum resin against breast cancer induced by 4T1 cells in BALB/c mice [J]. *J Ayurveda Integr Med*, 2017, 8(3):152-158.
- [25] Kumar P, Sigh D K. Molluscicidal activity of *Ferula asafoetida*, *Syzygium aromaticum* and *Carum carvi* and their active components against the snail *Lymnaea acuminata* [J]. *Chemosphere*, 2006, 63(9):1568-1574.
- [26] 刘敏, 谢慧琴, 孙磊, 等. 伞形科植物提取物对棉蚜的杀虫活性研究 [J]. *中国棉花*, 2013, 40(1):20-22.
- [27] 雷亚江, 刘柏里, 罗福祥, 等. 新疆阿魏乙酸乙酯提取物对人结肠腺癌 Caco-2 细胞迁移、侵袭的影响及相关机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(3):110-115.
- [28] Suzuki K, Okasaka M, Kashiwada Y, et al. Sesquiterpene lactones from the roots of *Ferula varia* and their cytotoxic activity [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(12):1915-1918.
- [29] Iranshahi M, Sahebkar A, Hosseini S T, et al. Cancer chemopreventive activity of diversin from *Ferula diversivittata* in vitro and in vivo [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(3):269-273.
- [30] ZHANG L, SI J, LI G, et al. Umbelliprenin and laricresinol isolated from a long-term-used herb medicine *Ferula sinkiangensis* induce apoptosis and G₀/G₁ arresting in gastric cancer cells [J]. *Rsc Adv*, 2015, 5(110):91006-91017.
- [31] 张海英, 李伟, 周龙龙, 等. 新疆阿魏抗肿瘤活性部位筛选 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2016, 23(2):52-56.
- [32] ZHOU P, Takaishi Y, DUAN H, et al. Coumarins and bicoumarin from *Ferula sumbul*: anti-HIV activity and inhibition of cytokine release [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(6):689-697.
- [33] Nazrullaev S S, Saidkhodzhaev A I, Akhmedkhodzhaeva K S, et al. Estrogen activity of terpenoids from plants of the genus *Ferula* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 44(5):572-577.
- [34] 姚蓝, 杜冰洁, 胡汉华, 等. 新疆多伞阿魏对胃癌细胞 SGC-7901 增殖抑制作用研究 [J]. *中医药导报*, 2014(14):26-29.
- [35] 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, 2015:190-191.
- [36] 黎耀东, 付淑媛, 何江, 等. 新疆特有药用植物新疆阿魏资源现状与分析 [J]. *中国现代中药*, 2016, 18(6):714-717.

[责任编辑 张丰丰]