

# 广藿香醇对人雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 生长的抑制作用及机制

蔡剑<sup>1,2</sup>, 彭成<sup>1\*</sup>, 朱晓燕<sup>1</sup>, 张程<sup>1</sup>, 万峰<sup>1</sup>, 曾文彤<sup>2</sup>, 张蜀武<sup>2</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院泌尿外科, 成都 610072)

**[摘要]** 目的: 观察广藿香醇(pachouli alcohol, PA)对人雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 的凋亡诱导效应及增殖抑制作用, 探讨其发生机制。方法: 广藿香醇 10, 20, 40, 80, 160 mg·L<sup>-1</sup> 作用在密度为 6 × 10<sup>7</sup>/L DU145 细胞 24, 48, 72 h 后, 采用四甲基偶氮唑盐法(MTT)检测广藿香醇对细胞的生长抑制作用; 透射电镜观察药物诱导细胞凋亡形态变化; Annexin V-FITC, PI 双标记法流式细胞仪检测药物诱发细胞凋亡的改变; Western blot 检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白(Bcl-2)、Bcl-2 关联 X 蛋白(Bax)、凋亡抑制蛋白 Livin 的表达。结果: MTT 法检测提示广藿香醇处理组细胞增殖抑制作用明显, 10, 20, 40, 80, 160 mg·L<sup>-1</sup> 广藿香醇对 DU145 的 24, 48, 72 h 抑制率分别为 5.73%, 16.67%, 22.61%; 13.42%, 25.03%, 39.68%; 25.92%, 31.46%, 52.76%; 39.61%, 54.68%, 73.52%; 56.42%, 77.35%, 91.58%, 呈剂量-时间依赖性(P < 0.05)。透射电镜显示药物作用后细胞出现凋亡形态改变。流式细胞仪检测提示广藿香醇作用使细胞凋亡率明显升高, 与对照组比较有统计学意义(P < 0.05)。Western blot 检测提示广藿香醇可增强细胞 Caspase-3, Bax 的表达, 下调 Livin, Bcl-2 蛋白的表达。结论: 广藿香醇能抑制 DU145 细胞增殖, 其作用机制可能与诱导细胞凋亡效应有关。

**[关键词]** 广藿香醇; 人前列腺癌细胞 DU145; 增殖; 细胞色素 C 途径; 凋亡

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0165-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100165

## Mechanism of Pachouli Alcohol Inhibiting Growth of Human Androgen-independent Prostate Cancer Cell Line DU145

CAI Jian<sup>1,2</sup>, PENG Cheng<sup>1\*</sup>, ZHU Xiao-yan<sup>1</sup>, ZHANG Cheng<sup>1</sup>,

WAN Feng<sup>1</sup>, ZENG Wen-tong<sup>2</sup>, ZHANG Shu-wu<sup>2</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;

2. Department of Urology, Affiliated Hospital, Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the apoptosis inducing effect and inhibitory effect of pachouli alcohol on the proliferation of human androgen independent prostate cancer cell line DU145, and its mechanisms. **Method:** After prostate cancer DU145 cells were treated with pachouli alcohol for 24, 48, 72 h, the apoptosis morphology was observed by transmission electron microscope; cell viability was estimated using MTT assay; cell apoptosis rate was measured by flow cytometry. Western blot was used to test Caspase-3, Bcl-2, Bax and Livin protein expression. **Result:** Apoptosis of DU145 cells was detected by transmission electron microscopy after using pachouli alcohol. *In vitro*, pachouli alcohol significantly inhibited the proliferation of DU145 cells in dose and time-dependent manners which was detected by MTT method. The apoptosis rate was increased significantly which compare with the control group. Pachouli alcohol could enhance Caspase-3, Bax protein expression, and reduce

**[收稿日期]** 20140109(014)

**[基金项目]** 四川省教育厅科学研究项目(13ZB0324)

**[第一作者]** 蔡剑, 博士, 讲师, 从事中药药理及泌尿系统肿瘤疾病中西医结合治疗研究, Tel: 18980969597, E-mail: circleface1978@163.com

**[通讯作者]** \* 彭成, 教授, 博士生导师, 从事疾病动物模型与中药复方药理毒理研究和中药新药开发, Tel: 13708001778, E-mail: pengchengchengdu@126.com

Livin, Bcl-2 protein expression in DU145 cells. **Conclusion:** Pachouli alcohol can inhibit the proliferation of DU145 *in vitro*, which may be correlated with inducing the cell apoptosis.

**[Key words]** pachouli alcohol; human prostate cancer cell line DU145; proliferation; cytochrome C pathway; apoptosis

广藿香醇(pachouli alcohol, PA)是中药广藿香挥发油中主要成分。目前研究显示广藿香醇有多种生物活性作用,具有广泛的生物学及药理学作用,但在抑制前列腺癌生长方面尚无报道<sup>[1-4]</sup>。前列腺癌是男性常见恶性肿瘤,雄激素非依赖性前列腺癌(androgen-independent prostate cancer)是临床晚期前列腺癌常见类型,中位生存时间仅 12~20 个月,治疗效果欠佳<sup>[5]</sup>。本研究以人激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 为对象,观察广藿香醇诱导 DU145 细胞凋亡效应及对细胞增殖的影响,初步探究其作用机制。

## 1 材料

**1.1 药物** 广藿香醇由成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室提供。制作过程:取广藿香原药材浸泡 2 h,之后水蒸气回流提取 8 h,获得棕黄色油状液体广藿香油。将广藿香油用乙醚溶解,转移至分液漏斗中,加入等体积 2% 的 NaOH 溶液,振荡萃取 4~5 次,每次静置 30 min,取上层乙醚液,减压回收溶剂,加入 1.5 倍量的柱层析硅胶(100~200 目)拌匀,采用硅胶柱(200~300 目,1.8 kg)进行色谱分离,用石油醚-乙酸乙酯(30:1)洗脱,薄层色谱跟踪目标产物,收集含有广藿香醇的馏分,减压回收溶剂,得淡黄色油状物粗品;随后采用中压反相色谱分离,得纯度较高的广藿香醇;室温下静置 24 h,析出白色块状结晶,进一步重结晶 1~2 次,即得高纯度的广藿香醇单体。

**1.2 细胞株** 人雄激素非依赖性前列腺癌细胞株 DU145,购自中国科学院上海细胞库。

**1.3 试剂及仪器** 广藿香醇 400 mg,先用 2 mL 大豆油溶解,再加入 6 mL 0.5% 聚山梨醇-80 混合助溶,超声震荡 4 h,充分混匀溶液,过滤除菌制备成 50 g·L<sup>-1</sup> 的储备液备用,临用前用无血清培养液稀释至所需浓度,胰蛋白酶、细胞培养基 F-12(美国 Gibco 公司产品),青霉素、链霉素(华北制药公司),四甲基偶氮唑盐(MTT, Amersco 产品),胎牛血清(兰州民海提供),Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(美国 Invitrogen 公司),兔抗人 Bcl-2 抗体,兔抗人 caspase-3 抗体,兔抗人 Bax 抗体,兔抗人 Livin 抗体(均购自北京博奥森生物技术有限公司),鼠抗

人  $\beta$ -actin(美国 Sigma 公司)。3111 型 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(美国 Thermo scientific 公司),Thermo scientific varioskans flash 型酶标仪(美国),H-600IV 型透射电镜(日本日立),COULTER Epics elite-Esp 型流式细胞仪(美国 Beckman Counter 公司),UV Transilluminator 型化学发光凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司),垂直电泳槽及 DYY-6C 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** DU145 细胞培养置于含 10% 灭活胎牛血清、 $1 \times 10^5$  U·L<sup>-1</sup> 青霉素和  $1 \times 10^5$  U·L<sup>-1</sup> 链霉素的 F-12 培养液中,37 °C 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度培养箱中培养,每 48 h 换液 1 次,0.25% 胰蛋白酶消化传代。细胞呈单层贴壁生长,选对数生长期细胞进行实验。

**2.2 检测细胞增殖能力** 调整 DU145 细胞密度为  $6 \times 10^7$ /L 接种于 96 孔培养板,每孔体积 100  $\mu$ L。置 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h,移除培养液后分别加用含 10, 20, 40, 80, 160 mg·L<sup>-1</sup> 广藿香醇的培养液,每孔反应体积 100  $\mu$ L,继续培养 24, 48, 72 h,每个浓度设 5 复孔,同时设不含药物含溶剂的阴性对照组、不含细胞和药物的空白对照组。终止培养前加 MTT(5 g·L<sup>-1</sup>),每孔 20  $\mu$ L,37 °C 再培养 4 h,吸上清,加 DMSO 150  $\mu$ L/孔,于摇床低速振荡 3 min,然后在酶标仪上 490 nm 处测定吸光度(A)。按下式计算细胞增殖抑制率:

$$\text{细胞增殖抑制率} = [1 - (\text{实验组 } A - \text{空白对照孔 } A) / (\text{阴性对照组 } A - \text{空白对照孔 } A)] \times 100\%$$

**2.3 凋亡细胞形态变化** 将 DU145 细胞接种于细胞培养瓶中,细胞密度为  $0.5 \times 10^9$ /L,培养体积为 6 mL。置 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h,移除培养液后加用含 40 mg·L<sup>-1</sup> 广藿香醇的培养液,培养体积为 6 mL,设不含药物含溶剂的阴性对照组。继续培养 48 h 后,0.25% 胰蛋白酶消化、离心收集细胞,用 PBS 洗涤后,3% 戊二醛 4 °C 固定,1% 四氧化钼固定,丙酮逐级脱水、Epon812 包埋、半薄切片光学定位后超薄切片、醋酸铀及枸橼酸铅双重染色后置透射电镜下观察细胞超微结构。

**2.4 细胞凋亡率检测** 调整 DU145 细胞悬液密度为  $5 \times 10^8/L$  接种于 6 孔培养板,每孔反应体积 2 mL。置  $37^\circ\text{C}$   $5\% \text{CO}_2$  培养箱中培养 12 h 至贴壁。移除培养液后,实验组以广藿香醇 10, 20, 40, 80, 160  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理细胞,同时用不含药物含溶剂培养液作对照组,每孔反应体积 2 mL,培养 48 h 后终止实验,0.25% 胰酶(不含 EDTA)消化收集细胞,冷 PBS 洗涤两次,Binding Buffer 悬浮细胞,加入  $5 \mu\text{L}$  Annexin V-FITC,PI 混匀,避光 10 min 后上机检测。

**2.5 检测 DU145 细胞 Caspase-3, Bcl-2, Bax 和 Livin 蛋白表达** 调整 DU145 细胞密度为  $5 \times 10^8/L$  接种于 6 孔培养板,每孔反应体积 2 mL。置  $37^\circ\text{C}$   $5\% \text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h,实验组以广藿香醇 10, 20, 40, 80, 160  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理细胞,同时用不含药物含溶剂培养液作对照组,每孔反应体积 2 mL,培养 24 h 后终止实验。收集各组细胞,细胞裂解液裂解细胞后提取细胞总蛋白,BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度。总蛋白经 SDS-PAGE 分离后,转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,在  $4^\circ\text{C}$  分别与特异性的一抗(1:1 000)孵育过夜,再与相应二抗(1:5 000)温室孵育 2 h。将 PVDF 膜用发光试剂 ECL 显色,用 Bio-Rad 凝胶成像系统获取图像。结果以目的蛋白相对表达量表示:目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白积分吸光度(IA)/内参 IA。

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 软件分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 One-Way ANOVA 检验分析。统计结果以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 广藿香醇对 DU145 细胞增殖的抑制作用** 广藿香醇能抑制 DU145 细胞生长,药物的抑制作用呈剂量和时间依赖性 ( $P < 0.05$ ),见图 1。

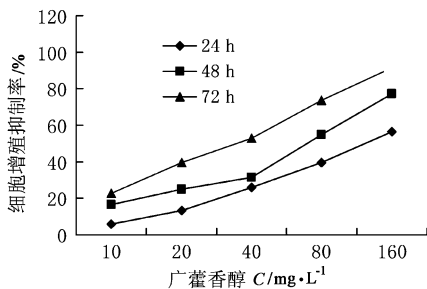
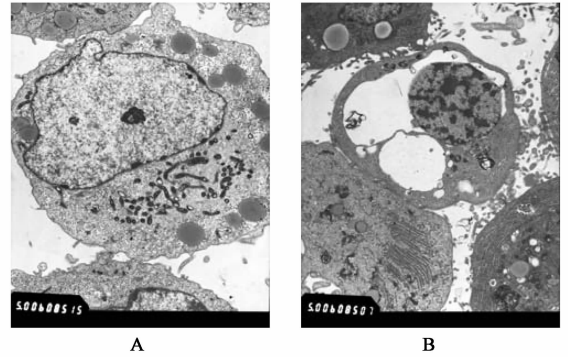


图1 广藿香醇对 DU145 细胞增殖的影响

**3.2 广藿香醇作用 DU145 细胞后形态变化** 电镜下观察对照组 DU145 细胞膜完整,细胞质分布均匀,细胞核内染色质分布均匀,胞浆内线粒体,粗面内质网,核糖体,脂滴等结构清晰;药物处理过的实

验组细胞出现凋亡细胞的特征:细胞核、染色质显示致密浓染的高亮荧光,核固缩,胞浆内出现大量空泡,见图 2。



A. 对照组;B. 广藿香醇作用后细胞( $40 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 48 h)

图2 DU145 细胞凋亡形态变化(透射电镜,  $\times 5000$ )

**3.3 广藿香醇对 DU145 细胞凋亡的影响** Annexin V-FITC,PI 双标记法流式细胞仪检测显示,不同浓度广藿香醇作用后能明显诱导 DU145 细胞发生凋亡。其中对照组,10, 20, 40, 80, 160  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  药物组细胞凋亡率分别为  $(11.7 \pm 0.37)\%$ ,  $(13.2 \pm 0.43)\%$ ,  $(16.4 \pm 0.32)\%$ ,  $(19.4 \pm 0.35)\%$ ,  $(22.3 \pm 0.50)\%$ ,  $(24.5 \pm 0.28)\%$  ( $P < 0.05$ ),广藿香醇的作用成剂量依赖性,对照组与药物实验组比较差异有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

**3.4 广藿香醇对 DU145 细胞 Caspase-3, Bcl-2, Bax, Livin 蛋白表达的影响** 人前列腺癌细胞 DU145 给予不同浓度广藿香醇作用 24 h 后,Western blot 检测显示:与对照组比较,广藿香醇可诱导 Bax 表达增加 ( $P < 0.05$ ),Bcl-2 表达下调 ( $P < 0.05$ ),Bax 与 Bcl-2 的比值增加。活化 Caspase-3 蛋白表达水平明显增加 ( $P < 0.05$ ),凋亡抑制蛋白 Livin 表达明显减少 ( $P < 0.05$ )。且上述蛋白变化趋势与药物呈剂量依赖性,见表 1。

### 4 讨论

如何有效控制雄激素非依赖性前列腺癌进展是目前临床治疗中迫切需要解决的难题,二线内分泌治疗和化疗是常用方法,但在实际治疗中容易出现抗肿瘤药物耐受,因此最佳药物治疗方案仍有待解决<sup>[6-8]</sup>,寻找安全有效抑制雄激素非依赖性前列腺癌药物值得进一步探索。广藿香醇是中药广藿香挥发油中主要成分,具有抗炎、抗流感病毒、抗真菌和神经保护等多种药理作用和生物学活性<sup>[1-4]</sup>。近来有研究显示其具有抑制结肠癌细胞生长作用<sup>[9]</sup>,但对前列腺癌的抑制作用尚未见文献报道。本实验通

表 1 广藿香醇对 DU145 细胞中 Bcl-2, Bax, Caspase-3 和 Livin 相对表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

分组	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	Bcl-2/ $\beta$ -actin	Bax/ $\beta$ -actin	Caspase-3/ $\beta$ -actin	Livin/ $\beta$ -actin
对照	-	1.96 $\pm$ 0.23	0.48 $\pm$ 0.17	0.33 $\pm$ 0.12	1.92 $\pm$ 0.23
广藿香醇	10	1.62 $\pm$ 0.24 <sup>1)</sup>	0.62 $\pm$ 0.24 <sup>1)</sup>	0.39 $\pm$ 0.21 <sup>1)</sup>	1.67 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>
	20	1.45 $\pm$ 0.17 <sup>1)</sup>	0.71 $\pm$ 0.17 <sup>1)</sup>	0.45 $\pm$ 0.17 <sup>1)</sup>	1.58 $\pm$ 0.17 <sup>1)</sup>
	40	1.29 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>	0.79 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>	0.52 $\pm$ 0.18 <sup>2)</sup>	1.46 $\pm$ 0.16 <sup>2)</sup>
	80	1.08 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	0.88 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	0.61 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	1.28 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>
	160	0.85 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>	0.95 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>	0.76 $\pm$ 0.14 <sup>2)</sup>	1.06 $\pm$ 0.19 <sup>2)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

过 MTT 法检测发现广藿香醇可以抑制体外 DU145 肿瘤细胞生长,且抑制作用呈现剂量、时间依赖性。

肿瘤细胞增殖和凋亡失衡是肿瘤发生的重要原因,因此诱导肿瘤细胞凋亡是抗肿瘤药物作用的重要途径之一。细胞核浓缩、碎裂是凋亡细胞的主要形态学特征<sup>[10]</sup>,本研究应用透射电镜检查发现药物作用 DU145 细胞后发生细胞核固缩等明显凋亡的形态改变,证明广藿香醇可以诱导 DU145 细胞发生凋亡。此外,本实验通过 Annexin V-FITC、PI 双标记法流式细胞术检测结果显示,不同浓度广藿香醇作用后,与对照组比较 DU145 细胞发生凋亡明显增加,凋亡率随药物浓度升高而增加,对照组与药物实验组比较,凋亡率有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。进一步证实广藿香醇可以诱导前列腺癌 DU145 细胞凋亡,凋亡率与药物浓度具有相关性。

在肿瘤细胞凋亡过程中,细胞色素 C 调控的线粒体通路是重要的路径之一,而 Bcl-2 家族成员对其释放介导的细胞凋亡起重要作用。如 Bax 与 Bcl-2 的比值增加能导致线粒体细胞色素 C 的释放,进而活化 Caspase-3,导致凋亡的发生<sup>[11]</sup>。值得注意的是,本实验采用 Western blot 检测显示广藿香醇在诱发 DU145 细胞凋亡的同时伴有 Bax, Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的改变,说明广藿香醇诱导肿瘤细胞凋亡的作用与线粒体通路中细胞色素 C 凋亡途径激活有密切关系。

近年来,凋亡抑制蛋白 Livin 与肿瘤发生的关系日益得到关注。有研究显示, Livin 与多种肿瘤密切相关<sup>[12]</sup>。Livin 可与介导细胞凋亡的下游效应 Caspase,如激活形式的 Caspase-3 结合,抑制其活性,达到抑制细胞凋亡的作用<sup>[13]</sup>。为了进一步探讨实验药物诱导凋亡的机制,本研究观察了广藿香醇作用 DU145 细胞后 Livin 蛋白的表达情况。结果表明,广藿香醇可降低 DU145 肿瘤细胞 Livin 蛋白的表达,为开发以 Livin 为靶点的肿瘤治疗药物提供了

新的实验依据。

综上所述,本研究证实广藿香醇可抑制人雄激素非依赖性前列腺癌 DU145 细胞的生长,其作用途径与诱导肿瘤细胞发生凋亡相关。同时通过实验显示,线粒体细胞色素 C 凋亡途径激活在广藿香醇诱导人前列腺癌 DU145 细胞凋亡中起到重要作用,具体机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

[ 1 ] Jeong J B, Shin Y K, Lee S H. Anti-inflammatory activity of patchouli alcohol in RAW264.7 and HT-29 cells[J]. Food Chem Toxicol, 2013(55):229.

[ 2 ] Wu X L, Ju D H, Chen J, et al. Immunologic mechanism of patchouli alcohol anti-H1N1 influenza virus may through regulation of the RLH signal pathway *in vitro*[J]. Curr Microbiol, 2013, 67(4):431.

[ 3 ] Kocevski D, Du M, Kan J, et al. Antifungal effect of Allium tuberosum, Cinnamomum cassia, and Pogostemon cablin essential oils and their components against population of Aspergillus species [J]. J Food Sci, 2013, 78(5):731.

[ 4 ] Sah S P, Mathela C S, Chopra K. Antidepressant effect of valeriana wallichii patchouli alcohol chemotype in mice; Behavioural and biochemical evidence [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(1):197.

[ 5 ] Crawford E D. Epidemiology of prostate cancer [J]. Urology, 2003, 62:3.

[ 6 ] Noguchi M, Kakuma T, Uemura H, et al. A randomized phase II trial of personalized peptide vaccine plus low dose estramustine phosphate (EMP) versus standard dose EMP in patients with castration resistant prostate cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2010, 59(7):1001.

[ 7 ] Thomas C, Hadaschik B A, Thuroff J W, et al. Patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer second-line chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone[J]. Urologe A, 2009, 48(9):1070.

# 金花茶体外抗肿瘤活性及物质基础的初步研究

韦锦斌<sup>1</sup>, 农彩丽<sup>2</sup>, 苏志恒<sup>1</sup>, 陈永欣<sup>1</sup>, 吕淑娟<sup>1</sup>, 潘宇政<sup>3\*</sup>

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 南宁市第二人民医院, 南宁 530031;  
3. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

**[摘要]** 目的: 观察金花茶3种不同萃取部位对5种不同人肿瘤细胞株体外增殖的作用, 寻找其活性部位及物质基础。方法: 采用噻唑蓝染色法(MTT法), 检测金花茶不同萃取部位体外对人胃腺癌细胞株(SGC-7901)、人大细胞肺癌细胞株(H460)、人肝癌细胞株(SMMC-7721和BEL-7404)、人高分化鼻咽癌细胞株(CNE-1)作用48 h后的增殖抑制率, 并计算相应的半数生长抑制浓度(IC<sub>50</sub>), 其中, 细胞密度分别为: SGC-7901(7 × 10<sup>4</sup>/mL), H460(4 × 10<sup>4</sup>/mL), SMMC-7721(6 × 10<sup>4</sup>/mL), BEL-7404(6 × 10<sup>4</sup>/mL), CNE-1(4 × 10<sup>4</sup>/mL), 不同提取部位的浓度分别为: 正丁醇层(50, 100, 150, 200 mg·L<sup>-1</sup>)、乙酸乙酯层(50, 100, 200, 300 mg·L<sup>-1</sup>)、水层(25, 50, 75, 100, 150 mg·L<sup>-1</sup>); 采用液质联用方法初步分析水层萃取部分的可能活性成分。结果: 金花茶正丁醇、乙酸乙酯、水层部位对5种肿瘤均有抑制作用(P < 0.05 或 P < 0.01), 且呈现一定的浓度依赖性, 各部分对5种肿瘤细胞的抑制作用强弱为: 水层 > 正丁醇层 > 乙酸乙酯层, 水层部位对上述5种细胞株的IC<sub>50</sub>分别为: 81.72, 73.47, 95.98, 73.41, 61.25 mg·L<sup>-1</sup>; 水层萃取部分检测到的物质有24个, 初步鉴定了其中的11个成分[分别为: (1R, 3R, 4R, 5R)-1, 3, 4, 5-tetrahydrocyclohexanecarboxylic acid; daucic acid; 二羟基-6-甲氧基-四氢-2H-吡喃-3-氧基-四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三醇; coumaroylquinic acid; 1, 3, 4-tri-O-acetyl-α-D-fructofuranosyl, 3, 6-tri-O-acetyl-α-D-glucopyranoside; 2S, 3aR, 4'S, 5'S, 6R, 6'R, 7R, 7aS)-6, 6'-bis[(acetyloxy)methyl]tetrahydro-4H, 4'H-spiro[1, 3-dioxolo[4, 5-c]pyran-2, 3'-pyran]-3a, 4', 5', 7(6H)-tetrayl tetraacetate; (2S, 3R, 4R, 5R, 6S)-2-(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-4, 5-二羟基-2-(5-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4-羰基-4H-色烯-6-基)-6-(羟甲基)-四氢-2H-吡喃-3-氧基-4, 5-二羟基-6-甲基-四氢-2H-吡喃-3-基乙酸酯; vitexin-7-glucoside; luteolin-7-diglucoside; 7-O-β-D-glucopyranosyl-kaempferol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside; ilexside II], 同时表征了另外13个未鉴定成分的质谱信息。结论: 金花茶不同萃取部位体外实验有抗肿瘤活性, 水层部分可能是金花茶抗肿瘤作用的主要活性部位; 需要进一步对水层部分的这些可能活性物质进行分离纯化鉴定以及定量分析。

**[关键词]** 金花茶; 体外抗肿瘤作用; 液质联用; 物质基础

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0169-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100169

**[收稿日期]** 20130904(020)

**[基金项目]** 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(GZKZ10-102); 广西科技基础条件平台建设项目(10-108-19); 广西医科大学博士启动基金资助(02305207004)

**[第一作者]** 韦锦斌, 博士, 副教授, 研究生导师, 从事肿瘤药理学研究, Tel: 13907860983, E-mail: jbw@ sina. cn

**[通讯作者]** \* 潘宇政, 硕士, 副主任医师, 研究生导师, 从事中西医结合免疫学研究, Tel: 13517712291 E-mail: pyz79298@ sina. com

[8] Nakagami Y, Ohori M, Sakamoto N, et al. Safety and efficacy of docetaxel, estramustine phosphate and hydrocortisone in hormone-refractory prostate cancer patients[J]. Int J Urol, 2010, 17(7):629.

[9] Jeong J B, Choi J, Lou Z, et al. Patchouli alcohol, an essential oil of Pogostemon cablin, exhibits anti-tumorigenic activity in human colorectal cancer cells [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2):184.

[10] Kim S H, Bommareddy A, Singh S V, et al. Garlic constituent diallyl trisulfide suppresses x-linked inhibitor of apoptosis protein in prostate cancer cells in culture and *in vivo*[J]. Cancer Prev Res, 2011, 4(6):897.

[11] Eminel S, Klettner A, Roemer L, et al. JNK2 translocates to the mitochondria and mediates cytochrome C release in PC12 cells in response to 6-hydroxydopamine [J]. J Biol Chem, 2004, 279(53):55385.

[12] Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, et al. Detection of anti-livin antibody in gastrointestinal cancer patients [J]. Clin Chem, 2003, 49(7):1206.

[13] Kasof G M, Gomes B C. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member [J]. J Biol Chem, 2001, 276(5):3238.

[责任编辑] 聂淑琴