

# 生半夏及其炮制品对小鼠主动脉 内皮细胞炎性因子分泌的影响

周信<sup>1</sup>, 张小荣<sup>1\*</sup>, 张秋燕<sup>2</sup>, 崔翰明<sup>2\*</sup>

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

**[摘要]** 目的: 研究生半夏及其炮制品清、姜、法半夏对小鼠主动脉内皮细胞(MVecs)炎性因子分泌的影响。方法: 分别用石油醚、乙酸乙酯、95%乙醇、纯水提取半夏及其炮制品, 将其作用于脂多糖(LPS)刺激诱导的小鼠主动脉内皮细胞, 设置正常组(不给药也不加LPS刺激)、对照组(不给药, 加入 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS)和实验组(均含与对照组相同剂量的LPS, 含不同溶剂半夏提取物, 剂量分别为 $0.1, 1, 10, 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )。24 h后酶联免疫吸附试验法(ELISA)测定培养上清液中白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的含量。结果: 与对照组相比, 生半夏各提取物组分均能降低炎性因子的分泌, 各剂量均有显著性差异( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。生半夏各组分对细胞分泌TNF- $\alpha$ 的抑制作用呈一定量效关系, 在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量下IL-6, TNF- $\alpha$ 分泌量最低。不同半夏炮制品的各组分( $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量组)均能降低TNF- $\alpha$ 分泌量; 清半夏石油醚组分在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低IL-6的作用最强。生、清、姜、法半夏水提液均能降低IL-6, TNF- $\alpha$ 的分泌( $P < 0.05$ ), 其中清半夏作用最强。结论: 半夏对小鼠主动脉内皮细胞炎性因子的分泌有一定抑制作用, 作用强度与半夏的炮制和提取溶剂有关。

**[关键词]** 半夏; 主动脉内皮细胞; 脂多糖; 白介素6; 肿瘤坏死因子 $\alpha$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0261-05

**[doi]** 10.11653/syfj2013100261

## Effect of Different Compositions of Raw *Pinellia ternate* and Processed *P. ternates* on Secretion of Inflammation Cytokines of Mice Aorta Endothelial Cells

ZHOU Xin<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-rong<sup>1\*</sup>, ZHANG Qiu-yan<sup>2</sup>, CUI Han-ming<sup>2\*</sup>

(1. Life Institute, Xinan Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

2. Academy of Chinese Medical Science Guanganmen Hospital, Beijing 100053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of raw *Pinellia ternate* and processed *P. ternates* on the secretion of inflammation cytokines of mice aorta endothelial cells. **Method:** Ligroin, acetidin, 95% ethanol and water were used to extract the components in *P. ternate*, and these components were added to cells stimulated by lipopolysaccharide (LPS). Normal control groups (without drugs and LPS), model groups (without drugs, with  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS) and treatment groups (each with  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS and different extracts of *P. ternate*, the dosages are  $0.1, 1, 10, 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively) were set up. After 24 h, the concentrations of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in supernatant were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** The extracts of *P. ternate* decreased the secretion of inflammation cytokines, significant differences were found in each treatment group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), compared with control groups. The

**[收稿日期]** 20120806(001)

**[基金项目]** 国家重大新药创制专项资助项目(2011ZX09102-011-08)

**[第一作者]** 周信, 硕士研究生, 从事新药研发, Tel: 010-88001470, E-mail: 394005024@qq.com

**[通讯作者]** \* 崔翰明, 硕士, 副研究员, 从事中药药效物质和现代中药研究, Tel: 010-88001470, E-mail: cui-yaoshi@163.com

\* 张小荣, 硕士, 副教授, 从事超高压水射流研究, Tel: 15528314266, E-mail: zx1801@163.com

inhibitory effect of each composition of raw *P. ternate* on TNF- $\alpha$  was relevant to the dosage. At the highest dosage (20 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>), the secretions of IL-6 and TNF- $\alpha$  were the lowest. Different processed *P. ternates* at the dosage of 20 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> could decrease the secretion of TNF- $\alpha$ ; the ligroin composition of the prepared *P. ternate* without adjuvant decreased IL-6 most. The water extracts of raw *P. ternate* and processed *P. ternates* could decrease the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ ; the ligroin composition of the prepared *P. ternate* without adjuvant decreased the secretion of inflammation cytokines most. **Conclusion:** The secretion of inflammation cytokines of mice aorta endothelial cells are inhibited by *P. ternate* to some extent. The effects are relevant to the processing methods and extract solvent.

[ **Key words** ] *Pinellia ternate*; mice aorta endothelial cell; lipopolysaccharide; IL-6; TNF- $\alpha$

半夏为天南星科植物三叶半夏的干燥块茎,具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效,用于湿痰寒痰、咳嗽痰多、呕吐反胃、胸脘痞闷等<sup>[1]</sup>。现代药理研究发现,半夏具有抗肿瘤、抗生育、降血脂、抗炎等多种作用<sup>[2]</sup>。但有关半夏及其不同炮制品抗炎作用的比较研究较少,目前半夏抗炎作用的机制及化学成分尚不明确。

血管内皮细胞是血液、血管两者相互联系的界面和环节,是心脑血管病变的主要组织。脂多糖又称内毒素(LPS)是革兰阴性菌细胞壁的主要成分<sup>[3]</sup>,能诱导机体产生炎症和免疫反应。血管内皮细胞作为血管组织的里衬,可以直接与血液中的LPS接触,LPS引发内皮细胞炎症反应,提高白介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等的表达,进一步诱导内皮细胞的损伤和功能紊乱<sup>[4-5]</sup>。本实验利用炎症刺激因子——LPS,诱导小鼠主动脉内皮细胞的炎症模型,测定生半夏及其不同炮制品对2种炎症介质——IL-6, TNF- $\alpha$ 分泌的影响,比较其作用差异。

## 1 材料

**1.1 药材** 生半夏产地四川,批号110707,经中国中医科学院崔翰明副研究员鉴定为天南星科植物三叶半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎。清半夏、姜半夏、法半夏均由生半夏按2010年版《中国药典》相关炮制要求制备。

**1.2 动物** ICR小鼠,雄性,体重20~25g,由维通利华实验动物有限责任公司提供,动物许可证号SCXK(京)2006-0009。

**1.3 试剂** DMEM/F<sub>12</sub>培养液(美国Gibco公司,批号11330),胰蛋白酶(美国Amresco公司,批号20100611),四乙酸乙二胺(EDTA,美国Sigma公司,批号E010501),脂多糖(LPS,美国Sigma公司,批号L2880),二甲基亚砷(DMSO,美国Sigma公司,批号196055),En Vision™两步法试剂盒(上海基因科技有限公司,批号20111028),小鼠白介素-6(IL-6)和

小鼠肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫分析试剂盒(北京普利莱公司,批号69121)。

**1.4 仪器** HERAcell1501型CO<sub>2</sub>恒温孵育箱(美国Thermo Forma公司),DI-CJ-2ND型超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司),ASX-2-手术显微镜(上海安信光学仪器制造有限公司),Eclipse Ti-U型倒置相差显微镜(日本尼康公司),CF16RX-II型离心机(日本Hitachi公司),680型酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

**2.1 生半夏及其炮制品各组分的制备** 分别将生、清、姜、法半夏<sup>[1]</sup>粉碎,过40目筛,取100g药材粗粉,依次用石油醚、乙酸乙酯、95%乙醇各600mL提取4种半夏中成分,减压回收溶剂,得各组分浸膏。水提物的制备:取生、清、姜、法半夏各5g,150mL纯水加热煎煮提取1.5h,过滤,除去不溶性杂质,滤液浓缩至10mL。

**2.2 LPS 储存液的配制** LPS 10mg加入1mL PBS,配制成10g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>的LPS母液,分装后置于-20℃冰箱中保存。临用前用DMEM/F<sub>12</sub>培养液配制成终质量浓度为10mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>的LPS培养液。

**2.3 含药培养液的配制** 取生、清、姜、法半夏不同组分浸膏适量,精密称定,加入DMSO溶解使成4g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>备用。取此混合溶液加入培养液中,分别配制成含有药材提取物0.1, 1, 10, 20mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>的培养基,抽滤除菌,4℃冰箱保存,备用。根据各组分提取率换算,石油醚组分含生药1g  $\cdot$  mg<sup>-1</sup>,乙酸乙酯组分含生药0.9g  $\cdot$  mg<sup>-1</sup>,95%乙醇组分含生药0.5g  $\cdot$  mg<sup>-1</sup>。各溶液中DMSO均<0.5%。水提组分含药培养液的配制:在DMEM/F<sub>12</sub>培养液中加入半夏水提液,配制成每毫升含有半夏水提液50 $\mu$ L的培养液,抽滤除菌,4℃冰箱保存,备用。

**2.4 内皮细胞的分离和培养**<sup>[6]</sup> 小鼠颈椎脱臼处死,置入75%乙醇中浸泡消毒1min,胸腹正中切口

逐层切开,显露整个胸腹腔,于脊柱左侧找到主动脉,10倍手术显微镜下分离主动脉弓,于左锁骨下动脉远侧的主动脉壁上做一小切口,置入导引钢丝直至髂动脉处,在钢丝引导下仔细分离动脉被膜及周围脂肪组织,切断其在胸腹腔的分支血管,完整取出胸、腹主动脉,并立即放入含 DMEM/F<sub>12</sub> 培养液的培养皿中,移至超净工作台。在含有 PBS 液的无菌容器中反复冲洗血管 3~4 次,再放入另一无菌培养皿中,纵行剖开血管,用显微器械将其剪成 1 mm × 1 mm 大小的血管植块,将血管内面贴在 6 孔板上,约 1 cm<sup>2</sup> 放 1 个植块。37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中静置 30 min 后加入含 20% FBS 的 DMEM/F<sub>12</sub> 培养液 (pH 7.2), 加液量略超过血管内膜面,继续放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。60 h 左右观察细胞生长情况,将血管植块除去,换液 1 次。以后每 2 天换液 1 次,待细胞融合成单层铺满孔底后进行传代培养。小鼠主动脉内皮细胞 (MVec) 常规传代于含 10% FBS 的 DMEM/F<sub>12</sub> 培养基, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度条件孵育箱中培养。用 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化,取增殖旺盛、生长状态良好的细胞用于实验研究。

**2.5 血管内皮细胞 VIII 因子相关抗原的检测** 按照 EnVision™ 两步法试剂盒提供的方法检测血管性血友病因子 (vWF) 的表达。设置阴性对照组,即用 PBS 代替一抗。

**2.6 MVec 的加药处理** 取处于对数生长期的细胞,用 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化,离心,加入完全培养液稀释,调整细胞密度为 4 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,另加 100 μL 完全培养基,待细胞长至 80% 融合后,将培养基移出,按照实验设计分别在不同的孔中加入含不同质量浓度药物的培养液 100 μL,孵育 30 min,然后再加 LPS,使其终浓度为 10 mg · L<sup>-1</sup>。设立空白组,即不含药物和 LPS;并设立对照组,即只含 LPS。每组 6 个复孔。实验分组见表 1~3。

**2.7 半夏对 MVec 分泌炎性因子的影响** 24 h 后,取培养上清液,按照酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒说明书的操作步骤处理样品,酶标仪 450 nm 波长处测定各孔吸光度 (A)。采用标准曲线法,计算白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF-α) 的浓度。

**2.8 统计学分析** 采用 SPSS 11.5 软件,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 One-way ANOVA 方法进行统计学处理,组间比较采用 SNK *t* 检验,  $P < 0.05$  为有显著性差异。

### 3 结果

**3.1 细胞形态学观察** 倒置显微镜下观察原代小鼠主动脉内皮细胞呈扁平多角形,边界清楚,胞质丰富,核圆形或椭圆形。传代培养的细胞和原代形态相似,生长较快,4~5 d 可以融合成单层。

**3.2 vWF 检测** 对原代和传代细胞进行 vWF 染色,内皮细胞标志物 VIII 因子相关抗原表达阳性,未见杂细胞,细胞质均呈黄褐色,阳性率为 92%;而阴性对照组无特殊显色。

**3.3 对 MVec 细胞培养上清液 IL-6, TNF-α 水平的影响** 空白对照组细胞在没有任何刺激的情况下可少量分泌 IL-6 及 TNF-α,在施加了炎症刺激因子 LPS 后, IL-6 及 TNF-α 的分泌量明显增加,提示 LPS 可以刺激内皮细胞分泌 IL-6 及 TNF-α。生半夏各组分各剂量均可降低小鼠主动脉内皮细胞 IL-6 和 TNF-α 的分泌,不同半夏的不同组分均能降低 TNF-α 的分泌,差异具有显著性 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。见表 1~3。

表 1 生半夏不同提取物组分对 LPS 刺激内皮细胞炎性因子分泌的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	终质量浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	IL-6 /ng · L <sup>-1</sup>	TNF-α /μg · L <sup>-1</sup>
对照	-	18.136 ± 3.174	91.124 ± 19.27
LPS	-	27.034 ± 4.042 <sup>1)</sup>	140.989 ± 31.316 <sup>1)</sup>
石油醚提取物	20	14.500 ± 6.994 <sup>2)</sup>	23.471 ± 8.154 <sup>2)</sup>
	10	17.256 ± 3.991 <sup>2)</sup>	76.726 ± 18.217 <sup>2)</sup>
	1	17.608 ± 9.330 <sup>3)</sup>	86.785 ± 21.429 <sup>3)</sup>
	0.1	16.669 ± 5.155 <sup>2)</sup>	82.446 ± 22.425 <sup>2)</sup>
乙酸乙酯提取物	20	13.796 ± 2.101 <sup>2)</sup>	27.613 ± 2.617 <sup>2)</sup>
	10	20.235 ± 8.175 <sup>3)</sup>	77.318 ± 11.991 <sup>2)</sup>
	1	15.672 ± 5.197 <sup>2)</sup>	86.193 ± 8.0757 <sup>2)</sup>
	0.1	13.327 ± 4.998 <sup>2)</sup>	94.280 ± 14.036 <sup>2)</sup>
95% 乙醇提取物	20	12.916 ± 4.552 <sup>2)</sup>	24.260 ± 2.440 <sup>2)</sup>
	10	18.106 ± 5.560 <sup>3)</sup>	77.909 ± 10.328 <sup>2)</sup>
	1	13.356 ± 5.812 <sup>2)</sup>	88.560 ± 17.319 <sup>2)</sup>
	0.1	13.796 ± 2.101 <sup>2)</sup>	96.450 ± 15.642 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与 LPS 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.05$  (表 2~3 同)。

**3.3.1 对 MVec 细胞 IL-6 分泌的影响** 生半夏不同组分不同剂量均降低了 MVec 细胞 IL-6 分泌 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ) (表 1), 作用强度依次为: 20 mg · L<sup>-1</sup> > 0.1 mg · L<sup>-1</sup> > 1 mg · L<sup>-1</sup> > 10 mg · L<sup>-1</sup>。生半夏不同组分及清半夏石油醚组分高剂量 (20 mg · L<sup>-1</sup>) 均降低 MVec 细胞 IL-6 分泌 ( $P <$

表 2 生半夏及其炮制品不同组分对内皮细胞炎症因子分泌的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	终质量浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	IL-6 /ng·L <sup>-1</sup>	TNF-α /μg·L <sup>-1</sup>
对照	-	18.136 ± 3.174	91.124 ± 19.27
LPS	-	27.034 ± 4.042 <sup>1)</sup>	140.989 ± 31.316 <sup>1)</sup>
生半夏 石油醚提取物	20	14.500 ± 6.994 <sup>2)</sup>	23.471 ± 8.154 <sup>2)</sup>
乙酸乙酯提取物	20	13.796 ± 2.101 <sup>2)</sup>	27.613 ± 2.617 <sup>2)</sup>
95% 乙醇提取物	20	12.916 ± 4.552 <sup>2)</sup>	24.260 ± 2.440 <sup>2)</sup>
清半夏 石油醚提取物	20	12.740 ± 3.047 <sup>2)</sup>	28.205 ± 11.980 <sup>2)</sup>
乙酸乙酯提取物	20	34.439 ± 11.732 <sup>2)</sup>	25.325 ± 9.246 <sup>2)</sup>
95% 乙醇提取物	20	43.235 ± 8.691 <sup>2)</sup>	33.136 ± 18.116 <sup>2)</sup>
姜半夏 石油醚提取物	20	39.130 ± 4.884 <sup>2)</sup>	31.657 ± 10.862 <sup>2)</sup>
乙酸乙酯提取物	20	44.525 ± 12.833 <sup>2)</sup>	32.939 ± 11.462 <sup>2)</sup>
95% 乙醇	20	40.186 ± 3.795 <sup>2)</sup>	39.645 ± 25.306 <sup>2)</sup>
法半夏 石油醚提取物	20	41.065 ± 2.146 <sup>2)</sup>	46.154 ± 16.554 <sup>2)</sup>
乙酸乙酯提取物	20	44.584 ± 1.574 <sup>2)</sup>	44.970 ± 17.182 <sup>2)</sup>
95% 乙醇提取物	20	42.356 ± 4.729 <sup>2)</sup>	32.426 ± 10.279 <sup>2)</sup>

表 3 生半夏及其炮制品水提取物对 LPS 刺激内皮细胞炎症因子分泌的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	体积分数 /mL·L <sup>-1</sup>	IL-6 /ng·L <sup>-1</sup>	TNF-α /μg·L <sup>-1</sup>
对照	-	22.041 ± 2.719	97.661 ± 18.100
LPS	-	32.027 ± 5.294 <sup>1)</sup>	140.989 ± 31.317 <sup>1)</sup>
生半夏提取物	50	18.534 ± 1.374 <sup>2)</sup>	109.782 ± 14.509 <sup>3)</sup>
清半夏提取物	50	16.494 ± 3.062 <sup>2)</sup>	47.369 ± 9.567 <sup>2)</sup>
姜半夏提取物	50	20.552 ± 4.401 <sup>2)</sup>	75.386 ± 17.842 <sup>2)</sup>
法半夏提取物	50	23.449 ± 1.537 <sup>2)</sup>	52.047 ± 9.92 <sup>2)</sup>

0.01)(表 2),作用强度依次为:清半夏石油醚 > 生半夏 95% 乙醇 > 生半夏乙酸乙酯 > 生半夏石油醚。清半夏乙酸乙酯、95% 乙醇组分及姜半夏、法半夏不同组分提高了细胞 IL-6 分泌。生、清、姜、法半夏水提取物降低了 MVec 细胞 IL-6 的分泌 ( $P < 0.01$ ) (表 3),作用强度为:清半夏 > 生半夏 > 姜半夏 > 法半夏。

**3.3.2 对 MVec 细胞 TNF-α 分泌的影响** 生半夏不同组分不同剂量均降低了 MVec 细胞 TNF-α 的分泌 ( $P < 0.01$ ) (表 1),作用强度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} > 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} > 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} > 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其中石油醚组分作用较强。剂量  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的生、清、姜、法半夏不同组分均能降低细胞 TNF-α 的分泌 ( $P < 0.01$ ) (表 2),生半夏的作用较强。生、清、姜、法半夏水提取物均能降低 Mvec 细胞 TNF-α 的分泌 ( $P < 0.01$  或  $P <$

$0.05$ ) (表 3),作用强度为:清半夏 > 法半夏 > 姜半夏 > 生半夏。

#### 4 讨论

LPS 为经典的炎症刺激物,是实验中最常用的炎症刺激因子<sup>[7]</sup>。LPS 是介导系统性炎症反应综合症的主要启动因子<sup>[8]</sup>,细胞因子 IL-6, TNF-α 在炎症的发生发展过程中扮演重要的角色。本实验采用 LPS 刺激小鼠主动脉内皮细胞,作用质量浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,ELISA 方法检测细胞上清液中 IL-6, TNF-α 的分泌量, LPS 组分泌的炎症介质 IL-6, TNF-α 均高于空白组,差异显著,成功建立炎症模型,证实了 LPS 可以刺激内皮细胞分泌细胞因子 IL-6, TNF-α, 进而激活和趋化中性粒细胞,介导炎症反应的过程。

本实验采用组织植块的方法,不需要酶消化,能较容易获得高纯度小鼠原代主动脉内皮细胞,适用于细小血管内皮细胞的分离与培养。该法解决了由于小鼠等小动物血管管径细小,操作难度大,易混入杂细胞等问题。培养过程中,应尽早移走组织块,避免杂细胞污染。

本实验比较了生半夏及其炮制品不同极性溶剂的提取物对炎症因子分泌的影响。由第 1 组实验可看出:生半夏各组分在低剂量 ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下即可对 IL-6 起明显的抑制作用。半夏对 TNF-α 分泌的抑制作用有较明显的量效关系,  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  作用最强,且石油醚组分各剂量下抑制作用最强,说明半夏中可能对 TNF-α 起到抑制作用的物质极性较低。第 2 组实验比较了在相同剂量 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下半夏生品及其炮制品对小鼠内皮细胞炎症因子影响的差异。实验结果表明,半夏生品与炮制品之间作用强度存在差异,生半夏对其抑制作用强于其炮制品。半夏在炮制过程中某些化合物的含量减少了,提示这些化合物可能对炎症因子有抑制作用。生半夏各组分  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对炎症因子分泌量的降低与其他剂量组有显著性差异,为减少实验重复次数,故不同炮制品间的比较只选了最高剂量  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。石油醚、乙酸乙酯、95% 乙醇这 3 者间极性跨度较大,是植化提取化合物常用的溶剂。采用几种溶媒的提取物均能降低炎症因子的分泌,可能是由于这 3 种提取物中共有物质起着效用。

临床上多用水煎煮,因此,实验设置了第 3 组实验——水提取物组,实验结果表明,清半夏表现出对炎症因子较强的抑制作用,提示半夏矾水炙 (8% 白矾溶液浸泡) 后对炎症因子的抑制作用增强。半夏对 2 种炎症因子的抑制程度不同,这可能与 2 种炎症

# 三七皂苷 R<sub>1</sub> 对急性心肌缺血大鼠模型的保护作用

邓海英\*, 赖为国

(钦州市第二人民医院药剂科, 广西 钦州 535099)

**[摘要]** 目的:研究三七皂苷 R<sub>1</sub> 对垂体后叶素诱导急性心肌梗死(AMI)大鼠的影响。方法:SD 大鼠随机分成 5 组:正常组、模型组、地尔硫草阳性药组(5 mg·kg<sup>-1</sup>)和三七皂苷 R<sub>1</sub> 组(5, 10 mg·kg<sup>-1</sup>)。连续给药 7 d,末次给药 1 h 后,观察给药后 AMI 大鼠心电图的变化。取血,检测血浆门冬氨酸转氨酶(AST)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、乳酸脱氢酶同工酶-1(LDH1)水平。双重染色法测定心肌缺血面积。HE 染色观察心肌组织病理学变化。Western blot 法检测心脏组织 B 细胞淋巴瘤-白血病-2(Bcl-2),B-细胞白血病淋巴瘤-2-相关 X 蛋白(Bax)蛋白的表达。结果:与模型组比较,三七皂苷 R<sub>1</sub> 可降低 ST 段抬高值,有效减少血浆心肌酶的水平(P < 0.05),明显减少 AMI 大鼠心肌缺血面积(P < 0.01),并改善心肌缺血病理性损伤。同时上调心脏组织中 Bcl-2 蛋白表达,同时下调 Bax 蛋白的水平(P < 0.01)。结论:三七皂苷 R<sub>1</sub> 对 AMI 大鼠具有保护作用,其机制可能与减少心肌酶释放以及抑制心肌细胞凋亡有关。

**[关键词]** 三七皂苷 R<sub>1</sub>; 垂体后叶素; 急性心肌梗死; 蛋白质印迹法; 心肌细胞凋亡

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0265-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013100265

## Protective Effect of Notoginsenoside R<sub>1</sub> on Acute Myocardial Ischemia in Rats Model

DENG Hai-ying\*, LAI Wei-guo

(Department of Medicament the Second People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535099, China)

**[收稿日期]** 20120810(013)

**[通讯作者]** \* 邓海英,主管药师,从事心肌梗死研究工作, Tel:1397776009, E-mail:denghaiying2012@163.com

介质在炎症过程中分泌机制不同有关。炎症因子的分泌量与细胞受损程度有关,若药物对细胞有毒性,炎症因子的分泌量也相应增加,而不是降低。本实验前期采用 HepG2 细胞测定其细胞毒性,结果显示,各提取物在质量浓度不高于 20 mg·L<sup>-1</sup>时,对细胞增殖没有影响。同时,倒置显微镜下观察,各组小鼠内皮细胞生长良好,说明炎症因子分泌的降低,不是由细胞毒性引起的。上述实验结果表明半夏具有一定抗炎活性,但半夏中起到抗炎作用的物质,有待进一步研究。本研究后期将对半夏生品及其炮制品各组分进行 HPLC 分析,找出半夏抗炎活性与成分之间的关系,为找出可能的有效化合物奠定基础。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:110.
- [2] 王新胜,吴艳芳,马军营,等. 半夏化学成分和药理作

用研究[J]. 齐鲁药事,2008,27(2):101.

- [3] 桑慧,姚树桐,杨娜娜,等. HDL3 抗脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. 中国病理生理杂志,2011,27(10):1857.
- [4] Niculescu F, Rus H G. The role of endothelial cells in inflammation and immunity [J]. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol,1990, 35(3):97.
- [5] Wort S J, Evans T W. The role of the endothelium in modulating vascular control in sepsis and related conditions[J]. Br Med Bull, 1999, 55(12):30.
- [6] 周小彤,沈振亚,腾小梅,等. 小鼠动脉血管内皮细胞的原代培养和鉴定[J]. 徐州医学院学报,2007,27(5):306.
- [7] 史继静,刘朝奇. 白介素 6 与肿瘤相关性的研究进展[J]. 生命的化学,2008,1(6):106.
- [8] 李晓红,齐云,蔡润兰,等. 甘草总皂苷抗炎作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):110.

[责任编辑 李玉洁]