

- NSAID use [R]. American Documents Circulation, 2008, 118(18): 1894-1909.
- [2] FAN H W, ZOU J J, LIN S, et al. Simultaneous determination of clopidogrel and its carboxylic acid metabolite in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2008, 27(11): 811-815.
- [3] SINGH S S, SHARMA K, BAROT D, et al. Estimation of carboxylic acid metabolite of clopidogrel in Wistar rat plasma by HPLC and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 821(2): 173-180.
- [4] LAGORCE P, PEREZ P, ORTIZ J, et al. Assay method for the carboxylic acid metabolite of clopidogrel in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 720(1/2):107-117.
- [5] JI H, ZHOU X H, DU S H. Determination of clopidogrel concentration in human plasma by LC-MS/MS and study on its pharmacokinetics [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2009, 29(9): 731-734.
- [6] SINGH S S, SHARMA K, BAROT D, et al. Estimation of carboxylic acid metabolite of clopidogrel in Wistar rat plasma by HPLC and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 821(2): 173-180.

收稿日期: 2012-08-13

黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞毒性研究

陈莹蓉¹, 王翔¹, 闵丽珊¹, 戴利成¹, 杨水新^{2*} (1.湖州市中心医院中心实验室, 湖州市分子医学重点实验室, 浙江 湖州 313000; 2.湖州市中心医院临床药理科, 浙江 湖州 313000)

摘要: 目的 研究黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞的毒性。方法 75%乙醇回流提取得黄药子提取物, 高、中、低剂量作用于 Caco-2 细胞, 以黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用于 HL-7702 和 HepG2 细胞, 进行细胞活性实验, 测定生化指标 ALT、AST、GSH-PX 和 MDA 值。结果 与对照组比, 高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用后, HL-7702 和 HepG2 细胞的存活率显著降低($P<0.01$); 高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 72 h 后, HL-7702 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高($P<0.01$); 高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 和 72 h 后, HepG2 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高($P<0.01$)。高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 和 72 h 后, HL-7702 和 HepG2 细胞上清液中 MDA 显著升高, GSH-PX 显著降低($P<0.01$)。结论 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞有毒性。

关键词: 黄药子; Caco-2 细胞; 肝细胞; 毒性

中图分类号: R991

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0368-05

Toxicity Study of the Uptaking Compositions of *Dioscorea Bulbifera* L Alcohol Extract on HL-7702 and HepG2 Cell

CHEN Yingrong¹, WANG Xiang¹, MIN Lishan¹, DAI Licheng¹, YANG Shuixin^{2*} (1.Laboratory, Huzhou Central Hospital, Huzhou Key Laboratory of Molecular Medicine, Huzhou 313000, China; 2.Department of Clinical Pharmacology, Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the toxicity of the uptaking compositions of *Dioscorea bulbifera* L alcohol extract on HL-7702 and HepG2 cell. **METHODS** After reflux extraction with 75% alcohol, the alcohol extracts of *Dioscorea bulbifera* L at high, middle and low doses were added to Caco-2 cell model. Then the uptaking compositions were added to HL-7702 and HepG2 cell for the determination of the cytoactive and the biochemical indicator of ALT, AST, GSH-PX and MDA. **RESULTS** Compared with the control group, the high and middle dose groups decreased the survival rate of HL-7702 and HepG2 cell ($P<0.01$). The high dose group increased ALT and AST of HL-7702 cell supernatant after 72 h ($P<0.01$). The high dose group increased ALT and AST of HepG2 cell supernatant after 48 h and 72 h ($P<0.01$). MDA were significant increased and GSH-PX were significant decreased in the supernatant of HL-7702 and HepG2 cell at high and middle doses after 48 h and 72 h ($P<0.01$). **CONCLUSION** The result showed that the uptaking compositions of *Dioscorea bulbifera* L alcohol extract had toxic effect in HL-7702 and HepG2 cell.

基金项目: 2011 年湖州市科技局一般科研计划项目(2011YS02)

作者简介: 陈莹蓉, 女, 硕士, 研究实习生 Tel: (0572)2023301-3146 E-mail: chenyingrong2006@163.com *通信作者: 杨水新, 男, 主任药师 Tel: (0572)2023301 E-mail: hz_adr@126.com

KEY WORDS: *Dioscorea bulbifera* L; Caco-2 cell; hepatocyte; toxicity

黄药子为薯蓣科植物黄独 (*Dioscorea bulbifera* L.)的块茎, 含有黄独素 A、B、C 等二萜内酯类成分, 还含有薯蓣皂苷、薯蓣毒皂苷、鞣质等成分, 具有清热解毒、凉血清瘀的功效, 可治疗甲状腺肿大、咽喉肿痛、吐血、百日咳、癌肿、疮疡肿毒等疾病^[1]。但历代研究证明多服、久服黄药子可引起呕吐、腹泻、腹痛等消化道反应, 并对肝脏有一定损害。现认为其有小毒, 临床使用不当可引起肝功能异常^[2]。

Caco-2 细胞模型是目前最好的体外吸收模型之一, 因其肿瘤细胞特性, 在有药中药诱导肿瘤细胞凋亡及考察某些中药及复方的致突变毒性研究中有个案报道^[3]。以 Caco-2 细胞作为载体, 研究其对中药的摄取成分进行药理或毒理研究则未见公开报道。

本研究制备黄药子提取物作用于 Caco-2 细胞, 以黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液代替原始中药作用于肝细胞, 研究黄药子摄取成分对肝细胞的毒性作用, 为阐明黄药子肝毒性的物质基础提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与药品

胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基(高糖)、HBSS、非必需氨基酸、青-链霉素、胰酶均购自 Gibco 公司; 丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒均购自南京建成生物研究所; 甲醇为分析纯, 水为超纯水。黄药子饮片(杭州华东中药饮片有限公司, 批号: 100906)经湖州市食品药品检验所顾琳娜主任中药师鉴定为正品药材。

1.2 细胞

Caco-2 细胞、HL-7702 细胞和 HepG2 细胞均购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.3 仪器

超净工作台(苏净安泰空气技术有限公司); 倒置显微镜(美国 Leica); CO₂ 恒温恒湿培养箱(美国 Thermo Scientific); 7600-120 全自动生化分析仪(日本 HITACHI); MRX II 酶标仪(美国 Dynex); SmartSpec plus 核酸蛋白测定仪(美国 Bio-Rad); 细胞培养皿(美国 Corning)。

1.4 黄药子醇提物细胞用液的制备

取黄药子饮片 40 g, 粉碎, 过 40 目筛, 粗

粉加 8 倍量 75%乙醇浸泡 30 min, 回流提取 3 次, 每次 1 h, 趁热过滤, 合并 3 次滤液, 5 000 r·min⁻¹, 4 ℃离心 10 min, 去沉淀取上清液。回收乙醇至无醇味, 加无血清的 DMEM 溶液(含 1%DMSO)配成含生药 0.5 g·mL⁻¹的溶液, 在超净台内, 用 0.22 μm 滤膜过滤除菌, 冷藏备用。

1.5 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取模型的建立

1.5.1 细胞培养条件 将 Caco-2 细胞培养于高糖 DMEM 培养液(含 10%FBS、1%L-谷氨酰胺、1%非必需氨基酸、100 U·mL⁻¹青霉素、100 μg·mL⁻¹链霉素)中, 接种于 100 mm 培养皿, 置于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养。隔日换液 1 次, 当细胞融合达到 90%后, 用 37 ℃预热 0.25%胰蛋白酶 1 mmol·L⁻¹, EDTA 消化液按 1:3 的比例传代。

1.5.2 细胞活性实验 取对数生长期 Caco-2 细胞, 调整细胞密度至 1×10⁵ mL⁻¹, 于 96 孔板中每孔加入 200 μL 细胞悬液, 置于 37 ℃, 5%CO₂ 培养箱中培养 24 h 后加黄药子醇提物溶液 50 μL, 浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50, 60 mg·mL⁻¹, 每个实验组设 3 个复孔, 并设空白组(不加药无细胞)和阴性组(不加药只含细胞)。37 ℃, 5%CO₂ 培养箱中培养 48 h 后, 每孔加入 MTT(5 mg·mL⁻¹)20 μL。再培养 4 h 后吸弃孔内培养液, 加入溶解液 DMSO 150 μL, 37 ℃放置 10 min, 振摇 30 s, 用酶标仪于 490 nm 处测定吸光度值, 计算细胞存活率。存活率=(实验组吸光度值-空白组吸光度值)/(阴性组吸光度值-空白组吸光度值)×100%。

1.5.3 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取模型 取对数生长期 Caco-2 细胞, 调整细胞密度至 1×10⁵ mL⁻¹, 接种于 4 块 6 孔板中, 置于 37 ℃, 5%CO₂ 培养箱中培养, 接种后 2 d 换液一次, 摄取实验前一天换液。培养 7 d 后吸去旧培养液, 加入预热的 HBSS 溶液 2.5 mL 冲洗细胞 3 次, 最后一次于 37 ℃, 5%CO₂ 培养箱中培养 0.5 h, 吸去溶液。黄药子高、中、低剂量组加入 30, 10, 3 mg·mL⁻¹黄药子醇提物溶液 0.5 mL, HBSS 2.0 mL; 正常组加入 HBSS 2.5 mL, 置于 37 ℃, 5%CO₂ 培养箱中培养 2 h 后吸弃药液, 加入 4 ℃的 HBSS 冲洗 3 次, 最后加入 2.5 mL 超纯水, -80 ℃反复冻融 3 次以破碎细胞, 加 12.5 mL 甲醇沉淀蛋白, 10 000 r·min⁻¹离心 10 min, 取上清液减压挥干, 加 0.5 mL 无血清的

培养液(RPMI1640/DMEM)复溶,得黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液。另取 2.5 mL 超纯水,加 12.5 mL 甲醇沉淀蛋白,以下操作同前,得对照组样品液。

1.6 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞的毒性实验

1.6.1 细胞培养条件 将 HL-7702 和 HepG2 细胞分别培养于 RPMI 1640 和 DMEM 培养液中,接种于 100 mm 培养皿,放置于 37 °C、5%CO₂ 的培养箱,4 d 传代 1 次。

1.6.2 细胞活性实验 取对数生长期 HL-7702 细胞和 HepG2 细胞,分别调整细胞密度至 $2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,于 96 孔板中每孔加入 100 μL 细胞悬液,置于 37 °C,5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后加黄药子醇提物高、中、低剂量组 Caco-2 细胞摄取液 100 μL ,每个实验组设 3 个复孔,并设空白组(不加药无细胞)、对照组(含细胞加对照组样品液)和阴性组(不加药只含细胞)。37 °C,5%CO₂ 培养箱中培养 72 h 后,每孔加入 MTT($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)20 μL 。再培养 4 h 后吸弃孔内培养液,加入溶解液 DMSO150 μL ,37 °C 放置 10 min,振摇 30 s,用酶标仪于 490 nm 处测定吸光度值,计算细胞存活率。存活率=(实验组吸光度值-空白组吸光度值)/(阴性组吸光度值-空白组吸光度值)×100%。

1.6.3 生化指标的测定 取对数生长期 HL-7702 细胞和 HepG2 细胞,分别调整细胞密度至 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,于 12 孔培养板加入 1.5 mL 细胞悬液,置于 37 °C,5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,待细胞完全贴壁后,实验孔加入黄药子醇提物高、中、低剂量组 Caco-2 细胞摄取液和 Caco-2 细胞对照组摄取液 0.5 mL,另设阴性组(不加药只含细胞),每组设 3 个复孔。在药物作用的 48,72 h 后,各取培养液的上清液 1 mL 用 7600-120 全自动生化分析仪测定 ALT 和 AST 值,按 MDA 和 GSH-PX 试剂盒中所述方法进行 MDA 和 GSH-PX 的测定。

1.7 数据处理

数据分析使用 SPSS16.0 统计软件处理,采用单因素方差分析并用 LSD 法进行多重比较。

2 结果

2.1 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取模型的建立

黄药子醇提物溶液对 Caco-2 细胞的细胞毒性结果见图 1。结果表明随着黄药子醇提物溶液浓度的增加,细胞存活率逐渐下降,细胞增殖被明显抑制。黄药子醇提物溶液浓度 $<30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,细

胞存活率均在 95%以上,故以 30,10,3 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为摄取实验中黄药子醇提物给药的高、中、低剂量组的浓度。

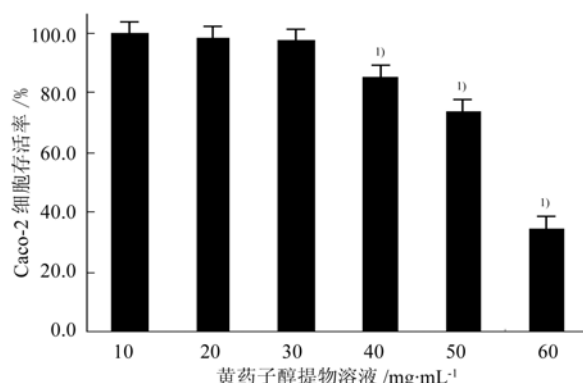


图 1 黄药子醇提物溶液对 Caco-2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

与黄药子醇提物溶液 30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 比较, ¹⁾ $P<0.01$

Fig 1 Effect of alcohol extracts of *Dioscorea bulbifera* L on survival rate of Caco-2 cell ($\bar{x} \pm S$, $n=5$)

Compared with extracts of *Dioscorea bulbifera* L 30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ group, ¹⁾ $P<0.01$

2.2 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞的毒性试验

2.2.1 细胞活性实验 黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞活力的影响结果见图 2。结果表明,与对照组比较,高剂量组(30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)和中剂量组(10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用后,HL-7702 细胞和 HepG2 细胞的存活率显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),证明黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 细胞和 HepG2 细胞的活力有影响。

2.2.2 生化指标测定 HL-7702 和 HepG2 细胞上清液中 ALT、AST、MDA 和 GSH-PX 的测定结果见表 1 和表 2。结果表明与对照组比,高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 72 h 后,HL-7702 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 后,HepG2 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);高剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 72 h 后,HepG2 细胞上清液中 ALT、AST 显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。高剂量组和中剂量组黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液作用 48 h 和 72 h 后,HL-7702 细胞和 HepG2 细胞上清液中 MDA 显著升高,GSH-PX 显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。

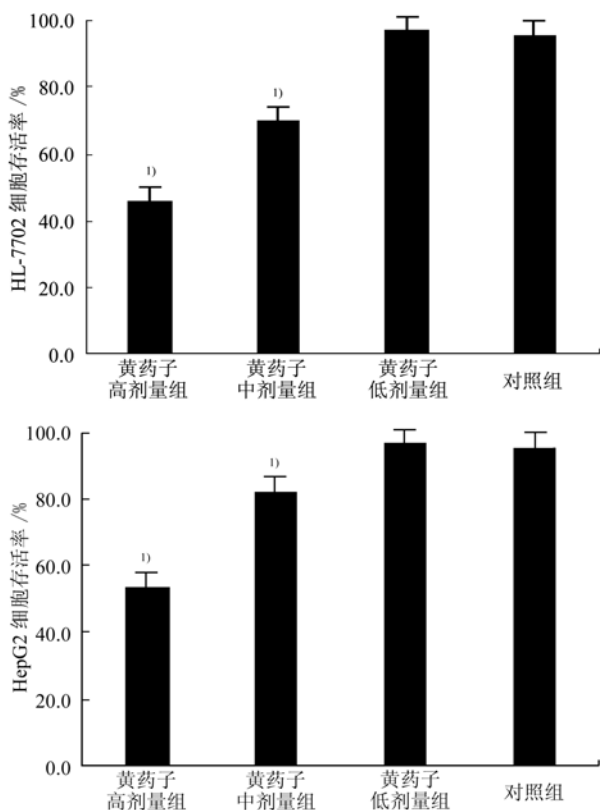


图 2 黄药子醇提取物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
与对照组比较, $^{1)}P<0.01$

Fig 2 Effect of the uptaking compositions of alcohol extracts of *Dioscorea bulbifera* L on survival rate of HL-7702 cell and HepG2 cell ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
Compared with the control group, $^{1)}P<0.01$

表 1 黄药子醇提取物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 细胞上清液 ALT、AST、MDA 和 GSH-PX 活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Tab 1 Effect of the uptaking compositions of extracts of *Dioscorea bulbifera* L by Caco-2 cell on ALT, AST, MDA and GSH-PX in HL-7702 cell supernatant ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

时间	组别	ALT/ U·L ⁻¹	AST/ U·L ⁻¹	MDA/ nmol·mL ⁻¹	GSH-PX/ U
48 h	黄药子高剂量组	5.7±1.9	2.7±0.3	3.5±0.4 ¹⁾	26.4±2.5 ¹⁾
	黄药子中剂量组	3.8±0.1	2.2±0.4	2.7±0.4 ¹⁾	30.3±2.5 ¹⁾
	黄药子低剂量组	4.0±0.3	2.1±0.1	2.1±0.2	55.7±3.2
	对照组	4.0±0.4	2.3±0.4	2.1±0.1	60.3±6.2
	阴性组	4.5±0.3	2.3±0.1	2.0±0.2	67.6±5.0
	阳性组	4.5±0.3	2.3±0.1	2.0±0.2	67.6±5.0
72 h	黄药子高剂量组	7.8±0.3 ¹⁾	5.4±0.3 ¹⁾	4.9±0.4 ¹⁾	20.8±2.0 ¹⁾
	黄药子中剂量组	4.9±0.6	3.3±0.3	4.1±0.1 ¹⁾	21.1±1.5 ¹⁾
	黄药子低剂量组	5.5±0.4	4.0±0.4	2.6±0.2	52.4±5.4
	对照组	5.5±0.3	3.5±0.2	2.2±0.1	70.2±6.2
	阴性组	3.3±0.4	3.8±0.2	2.1±0.2	77.5±5.0
	阳性组	3.3±0.4	3.8±0.2	2.1±0.2	77.5±5.0

注: 与对照组比较: $^{1)}P<0.01$

Note: Compared with the control group: $^{1)}P<0.01$

表 2 黄药子醇提取物 Caco-2 细胞摄取液对 HepG2 细胞上清液 ALT、AST、MDA 和 GSH-PX 活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 2 Effect of the uptaking compositions of extracts of *Dioscorea bulbifera* L by Caco-2 cell on ALT, AST, MDA and GSH-PX in HepG2 cell supernatant ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

时间	组别	ALT/ U·L ⁻¹	AST/ U·L ⁻¹	MDA/ nmol·mL ⁻¹	GSH-PX/ U
48 h	黄药子高剂量组	16.4±0.8 ¹⁾	8.2±0.1 ¹⁾	3.1±0.2 ¹⁾	29.3±3.2 ¹⁾
	黄药子中剂量组	14.7±0.4 ¹⁾	5.3±0.2 ¹⁾	2.7±0.2 ¹⁾	34.3±2.3 ¹⁾
	黄药子低剂量组	12.5±0.8	4.7±0.3	2.0±0.1	61.0±4.0
	对照组	11.8±0.6	4.5±0.3	1.8±0.2	65.9±2.5
	阴性组	12.4±0.4	4.4±0.5	1.7±0.1	65.9±1.1
	阳性组	12.4±0.4	4.4±0.5	1.7±0.1	65.9±1.1
72 h	黄药子高剂量组	25.5±0.3 ¹⁾	36.8±1.4 ¹⁾	4.4±0.2 ¹⁾	22.4±1.1 ¹⁾
	黄药子中剂量组	13.4±1.4	13.9±1.9	4.0±0.2 ¹⁾	25.7±2.6 ¹⁾
	黄药子低剂量组	12.0±0.9	11.1±0.5	2.5±0.1	73.2±4.3
	对照组	12.9±0.7	11.4±1.1	2.2±0.1	75.8±2.5
	阴性组	12.8±0.1	11.5±0.4	12.3±0.2	76.8±5.6
	阳性组	12.8±0.1	11.5±0.4	12.3±0.2	76.8±5.6

注: 与对照组比较, $^{1)}P<0.01$

Note: Compared with the control group, $^{1)}P<0.01$

3 讨论

黄药子临床上主要用于治疗各种原因引起的甲状腺疾病、各型癌症、血液系统疾病、妇科疾病和皮肤疾病等。现代研究表明黄药子醇提有效部位有很强的抗肿瘤活性^[4],但其肝毒性一定程度上制约了黄药子在多种疾病中疗效的发挥。现代学者采用整体动物实验法研究了黄药子对肝脏的毒害作用,研究证明黄药子的肝毒性是对肝细胞的直接毒性作用^[5]。整体动物实验法是中药安全性评价的经典方法,但是来源于动物实验的数据,由于种属差异的存在,依此外推至人,还需谨慎。例如,某含黄药子制剂以人临床剂量533倍量灌胃小鼠7 d,未见任何异常,但在II期临床试验中,有18.9%(7/37)出现了严重肝功能损害^[6]。由于种属差异的存在,整体动物研究法存在一定的局限性。本研究尝试建立一种新型的快速评价中药毒性的技术方法,研究黄药子摄取成分对肝脏的毒性作用。

Caco-2 细胞模型作为目前最好的体外吸收模型之一,广泛应用于中药有效成分及毒性成分的吸收特征研究^[7]。本研究以经 Caco-2 细胞的摄取物代替原始中药作用于肝细胞,研究黄药子摄取成分对肝细胞的毒性作用。大量研究证明黄药子的肝毒性是对肝细胞的直接毒性作用,特别与氧化损伤有关^[5]。ALT 和 AST 是评价肝细胞膜完整性的指标,中药致肝毒性损伤时,肝细胞膜通透性增加,ALT 和 AST 逸出细胞进入血浆使酶活性

增高^[8]。ALT 和 AST 是临床上判断肝损害进展的较好指标^[9]。MDA 是过氧化脂质(LPO)主要成分之一,通过测定其在血与肝组织含量,可反应机体和肝脏脂质过氧化损伤程度,间接反映出肝细胞毒性损伤程度。GSH-PX 为机体抗氧化系统中有机组成部分,观察血、肝组织 GSH-PX 活性变化一定程度上可反映氧化损伤的程度^[10]。故本研究选取以上 4 种指标作为反应,应用 Caco-2 细胞模型评估黄药子肝毒性的评价指标。实验结果表明,黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对正常人肝细胞 HL-7702 和肝癌细胞 HepG2 细胞的活力均有影响,细胞上清液中 ALT、AST 和 MDA 含量增加,GSH-PX 含量减少,与文献报道的结果基本一致^[5,11]。证明应用 Caco-2 细胞模型评估黄药子的肝细胞损伤有一定的可行性。黄药子醇提物 Caco-2 细胞摄取液对 HL-7702 和 HepG2 细胞有毒性,以上结果为阐明黄药子肝毒性的物质基础提供了依据。

REFERENCES

- [1] WANG J Z, LIU S M, ZHAO Y, et al. Experimental studies on liver cell injury induced by diterpene lactones extracted from *Dioscorea bulbifera* [J]. *Adv Drug React J*(药物不良反应杂志), 2009, 11(1): 13-16.
- [2] LIANG Z W, CUI L X. Experience on the intoxication and rescue of *Dioscorea bulbifera* L. [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2001, 18(7): 23-24.
- [3] SUN H D, CHOW E C Y, LIU S J, et al. The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations [J]. *Expert Opin Drug Met*, 2008, 4(4): 395-411.
- [4] WANG J M, JI L L, BRANFORD-WHITE C J, et al. Antitumor activity of *Dioscorea bulbifera* L. rhizome *in vivo* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(2): 388-394.
- [5] WANG J M, JI L L, LIU H, et al. Study of the hepatotoxicity induced by *Dioscorea bulbifera* L. rhizome in mice [J]. *BioSci Trends*, 2010, 4(2): 79-85.
- [6] JIANG M, XIONG N N, LIU S L, et al. Adverse drug reaction of compound prescription of Huangyaozi (*Dioscorea Bulbifera* L.) in clinical trial and its management [J]. *Chin J Evid Base Med*(中国循证医学杂志), 2004, 4(4): 255-257.
- [7] FU D H, LI Y, WANG E L, et al. Transepithelial transport of centaureidin across Caco-2 cell monolayers [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2011, 28(12): 1076-1080.
- [8] NIEMELA O, ALATALO P. Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2010, 70(5): 305-312.
- [9] NYBLOM H, BJORNSSON E, SIMREN M, et al. The AST/ALT ratio as an indicator of cirrhosis in patients with PBC [J]. *Liver Int*, 2006, 26(7): 840-845.
- [10] ROMERO F J, BOSCH-MORELL F, ROMERO M J, et al. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease [J]. *Environ Health Perspect*, 1998(106): 1229-1234.
- [11] WANG J, LIANG Q, JI L, et al. Gender-related difference in liver injury induced by *Dioscorea bulbifera* L. rhizome in mice [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, 30(9): 1333-1341.

收稿日期: 2012-06-26

山楂叶总黄酮对家兔动脉粥样硬化作用的机理研究

匡荣^{1,2}, 陈男¹, 康桦², 邓祖跃², 王丹², 张劲松², 朱社敏²(1.浙江工业大学药学院, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要: 目的 研究山楂叶总黄酮(total flavones of crataegus leaves, TFCL)对家兔动脉粥样硬化(AS)形成抑制作用的机理。方法 用复方高脂饲料复制家兔 AS 模型并同时给予 TFCL 80 d, 取主动脉进行病理切片和大体观察, 常规检测血脂和血清中两种抗氧化酶 SOD、GSH-P_x 的活性和 NO 水平, ELISA 法测定 C 反应蛋白(CRP)、IL-6 及 TNF- α 的量, RT-PCR 法检测 COX-Ⅱ mRNA 表达。结果 复方高脂饲料饲喂家兔 80 d 可以形成明显的 AS, TFCL 在减轻 AS 的同时能够降低血清中 NO、CRP、IL-6 及 TNF- α 的水平, 升高 SOD 和 GSH-P_x 的活性, 下调 COX-Ⅱ mRNA 的表达。结论 TFCL 对复方高脂饲料形成的家兔 AS 具有一定的拮抗作用, 提高抗氧化酶的活性、抑制炎症因子的生成可能是 TFCL 抗家兔 AS 的作用机理。

关键词: 动脉粥样硬化; 山楂叶总黄酮; C 反应蛋白; IL-6; TNF- α ; COX-Ⅱ mRNA

中图分类号: R285.5

文献标志码:

文章编号: 1007-7693(2013)04-0372-04

Mechanisms of Total Flavones of Crataegus Leaves on Experimental Atherosclerosis in Rabbits

KUANG Rong^{1,2}, CHEN Nan², KANG Hua², DENG Zuyue², WANG Dan², ZHANG Jinsong², ZHU

基金项目: 浙江省实验动物科技计划项目(2007F80018)

作者简介: 匡荣, 男, 博士, 副主任药师, 硕士 Tel: 13989899796 E-mail: kuangrong@zjy.org.cn