

体的生理过程不能够维持自身的特定水平或者不能维持预定的劳动强度而出现的身体及精神状态不佳的反应,评价机体抗运动性疲劳的一个重要指标就是游泳实验<sup>[7-8]</sup>。在本实验中,高剂量和中剂量的克白颗粒(9.04, 4.52 g·kg<sup>-1</sup>)能够延长小鼠游泳时间,并且高剂量的克白颗粒(9.04 g·kg<sup>-1</sup>)还能够延长小鼠的耐缺氧时间,具有一定的抗疲劳作用。本实验研究了克白颗粒对小鼠一般行为学的影响,并评价了克白颗粒的镇静抗疲劳作用,为临床用药提供了一定的数据基础。

## REFERENCES

- [1] WANG W, KANG S D, WANG Y X, et al. Anti-vitiligo effects of Kebai particles on leucoderma *in vitro* and *in vivo* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(9): 1046-1050.
- [2] ZHAI J Y, CHEN H C, ZHANG G P, et al. Study on general pharmacology of Marigold lutein [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中药信息杂志), 2014, 21(2): 59-61.
- [3] 刘鸿伟, 李振鲁. 高能中波紫外线联合他克莫司软膏治疗白癜风疗效观察 [J]. 中华皮肤科杂志, 2011, 44(6): 445-446.
- [4] WANG J, XIE Y, SHENG G R. Clinical study on NB-UVB combined with Tuibai decoction in the treatment of vitiligo [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2013, 29(2): 187-189.
- [5] TURKCU U O, TEKINB N S, EDGUNLUA T G, et al. The association of FOXO3A gene polymorphisms with serum FOXO3A levels and oxidative stress markers in vitiligo patients [J]. Gene, 2014, 536(1): 129-134.
- [6] XU W A, WU X G, HONG W S, et al. Transplantation of cultured autologous pure melanocytes combined with narrowband-ultraviolet B irradiation in treatment of vitiligo [J]. Chin J Dermatovenereol Integr Tradit Wset Med(中国中西医结合皮肤性病学杂志), 2011, 10(3): 162-164.
- [7] LI Y Y, SHI L. Study on anti-fatigue effects of Zhiling Liumiao oral solutions [J]. Chin Pharm(中国药师), 2013, 16(9): 1304-1307.
- [8] CHENG B, LIU Q. Study on the anti-fatigue effects of *Eurycoma longifolia* [J]. Pharm Clin Res(药学与临床研究), 2015, 23(4): 358-360.

收稿日期: 2015-08-16

## 葛根素对人骨肿瘤细胞株 MG63 的增殖抑制和诱导凋亡作用

刘建军, 黄亮, 刘辉(三峡大学仁和医院, 湖北 宜昌 443001)

**摘要:** 目的 探讨葛根素对人骨肉瘤细胞株 MG63 的作用及其机制。方法 取对数生长期的 MG63 细胞分别用不同浓度的葛根素处理(0, 25, 50, 100 μmol·L<sup>-1</sup>)。细胞培养 48 h 后, 利用 MTT 检测 MG63 细胞增殖水平; 流式细胞术检测细胞凋亡水平, RT-PCR 检测 PI3K、AKT、Bax、Bcl-2、p53 和 p21 mRNA 水平。Western blotting 检测 PI3K、AKT、Bax、Bcl-2、p53 和 p21 表达水平。结果 葛根素浓度依赖性的诱导 MG63 细胞增殖抑制、凋亡和 Bax 表达, 减少 PI3K、AKT、Bcl-2、p53 和 p21 表达。结论 葛根素可通过抑制 PI3K/AKT/p53 信号通路而诱导 MG63 细胞增殖抑制和凋亡。

**关键词:** 葛根素; MG63; 增殖; 凋亡; PI3K/AKT/p53

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)03-0300-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.03.010

## Effect of Puerarin on Proliferation Inhibition and Apoptosis of Human Osteosarcoma Cell Lines MG63

LIU Jianjun, HUANG Liang, LIU Hui(Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effect and mechanisms of puerarin on the human osteosarcoma cell lines MG63. **METHODS** MTT method was used to evaluate the proliferation, and the percentage of apoptotic cells were determined by flow cytometric analysis. The mRNA level of PI3K, AKT, Bax, Bcl-2, p53 and p21 were detected by RT-PCR. The expression of PI3K, AKT, Bax, Bcl-2, p53 and p21 were examined by Western blotting. **RESULTS** The results showed that puerarin treatment could induce the proliferation inhibition and apoptosis of MG63 cell in a concentration-dependent manner with the up-regulating the expression of Bax and down-regulating the expression of PI3K, AKT, Bcl-2, p53 and p21 in MG63 cell. **CONCLUSION** Puerarin can induce apoptosis and growth inhibition of human osteosarcoma cell lines MG63 and the

作者简介: 刘建军, 男, 硕士, 主治医师 Tel: (0717)6555530 E-mail: 7550521@qq.com

mechanism is associated with suppressing PI3K/AKT/p53 signal pathway.

**KEY WORDS:** puerarin; MG63; proliferation; apoptosis; PI3K/AKT/p53

骨肉瘤是临床上常见的恶性骨性肿瘤,在我国,其发病率高居原发恶性骨肿瘤之首<sup>[1-2]</sup>。目前骨肉瘤治疗方式为手术治疗为主,辅以放疗和化疗。放疗容易导致放射性脑损伤,而化疗长期使用容易导致机体不良反应,以及肿瘤细胞耐药性,故极大地限制了骨肉瘤的治疗<sup>[1-2]</sup>。因此,寻找新的高效、低毒、不易耐药的药物用于骨肉瘤的治疗成为一个紧迫的问题。葛根素是一种从中药豆科植物甘葛藤、野葛根中提取的异黄酮类活性物质,研究发现其具有抗肿瘤活性<sup>[3-5]</sup>。本研究以人骨肉瘤细胞株 MG63 为靶细胞,探讨葛根素对人骨肉瘤细胞株 MG63 作用及机制。

## 1 仪器和材料

### 1.1 药品与试剂

人骨肉瘤细胞株 MG63(ATCC,批号:29328);葛根素(美国 Sigma,批号:90068,经 HPLC 鉴定纯度>99%);四氮甲基偶氮唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司);Annexin V-FITC 凋亡试剂盒(美国 Abcam,批号:ab14085);RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司);小牛血清(杭州四季青公司);12 孔培养板(美国 Falcon 公司); $\beta$ -actin 抗体(Abmart);Bcl-2 抗体(Santa Cruz);Bax 抗体(Santa Cruz);p53 抗体、p21、PI3K 抗体和 AKT 抗体均购自美国 CST;RIPA 蛋白裂解液;蛋白酶抑制剂 cocktail、Western blot 凝胶制备试剂盒(武汉谷歌生物公司);BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天,批号:AR0146);实时定量聚合酶链式反应引物(擎科生物技术有限公司);ECL 试剂盒(Bi-pecch,批号:F3-7-6-058)。

### 1.2 细胞培养

MG63 细胞置于含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中,加入青霉素( $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ )和链霉素( $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱中培养。

### 1.3 仪器

3111 型  $\text{CO}_2$  细胞培养箱(美国 Forma scientific 公司);倒置显微镜、激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司);AE2000 型酶标仪(德国 Thermo Fisher)。PVDF 膜(Roche);胶片及化学发光仪(Kodak);PCNJ-752 紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher)。

### 1.4 细胞增殖的 MTT 法检测

取对数生长期 MG63 细胞,接种于 12 孔板内,调整密度为  $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,每孔  $100 \mu\text{L}$ ,将实验分为正常对照组、加入不同浓度葛根素组(25, 50,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),每组均设 3 个复孔。12 孔板置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 48 h 后,每孔加入  $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 MTT 溶液  $20 \mu\text{L}$ ,继续培养 4 h,然后每孔加入三联裂解液[10%SDS+5%异丁醇+1%HCl( $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )] $100 \mu\text{L}$ , $37^\circ\text{C}$  放置过夜后,用酶标仪于 570 nm 处读取吸光度(OD)值,根据 OD 值计算细胞增殖抑制率:细胞增殖抑制率(%)=(对照孔 OD 值-实验孔 OD 值)/(对照孔 OD 值-空白孔 OD 值) $\times 100\%$ 。

### 1.5 Annexin-V/PI 双染法检测细胞凋亡

取对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,调整密度为  $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。细胞培养 48 h 后,收集各组所有悬浮细胞,调整细胞密度为  $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,每孔  $100 \mu\text{L}$ ,将实验分为正常对照组、加入不同浓度葛根素组(25, 50,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),取 1 mL 细胞悬液, $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,去培养基,加 RNA 酶, $37^\circ\text{C}$  水浴 1 h,放入冰浴,加入  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  碘化丙啶(PI)及 Annexin V,流式细胞仪检测。采用 CELIQUEST 软件分析细胞凋亡率。

### 1.6 RT-PCR 检测 PI3K、AKT、Bax、Bcl-2、p53 和 p21 mRNA 水平

按照总 RNA 提取试剂盒(Takara)说明提取各组细胞总 RNA,紫外分光光度计测定浓度,逆转录以及扩增反应按试剂盒说明书进行,方法参考文献[6]。引物均由 Invitrogen 公司合成,引物序列见表 1。管家基因  $\beta$ -actin 作为内参对照基因,用得到的各样本的 Ct 值按公式  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算相对表达量。

### 1.7 Western blotting 检测各组细胞 PI3K、AKT、Bax、Bcl-2、p53 和 p21 表达

将各剂量组收集的细胞用预冷的 PBS 清洗后,按照蛋白裂解液 RIPA 操作说明提取蛋白,BCA 法进行蛋白定量,将各组蛋白剂量调成一致,沸水煮 5 min,待用。取各组细胞总蛋白样品  $80 \mu\text{g}$ ,以样品中的  $\beta$ -actin 为内参,经 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,然后用含 5%脱脂奶粉的 PBS 封闭 2 h,

表1 实时定量 PCR 检测的引物序列

Tab. 1 Primer sequences for real-time PCR detection

| 基因             | 种属 | 正向序列                      | 反向序列                      |
|----------------|----|---------------------------|---------------------------|
| Bax            | 人  | CTGAGTTGACTCCTACTGTGGA    | TCTTCCCAGGGTCGATAAAGT     |
| BCL-2          | 人  | AGTGGTATAGACAGGTCTGTTG    | CTGCAAGAGACTTCCATCCAG     |
| PI3K           | 人  | CAATGACCCCTTCATTGACC      | TGGAAGATGGTGATGGGATT      |
| AKT            | 人  | TCCAAGAGTACTGTGTCTTC      | TATTGAACCTTGCTCAGCATC     |
| p53            | 人  | GAGTTTCACCCTGACCATCACTGTG | GCCCATCACTGGTCTTGAAGGTTGT |
| p21            | 人  | ACCTTCATCGGAAACTCCAAAG    | CTGTTAGGCTGGGAAAAGTTAGG   |
| $\beta$ -actin | 人  | AATGCCTCGTCATCTAAT        | TTCGCTGGATAGTAGGTA        |

分别加入适量含 2%脱脂奶粉的 PBS 稀释 PI3K 抗体(1 : 1 000)、AKT(1 : 500)、Bax(1 : 500)、Bcl-2(1 : 500)、p53(1 : 500)、p21(1 : 1 000)和  $\beta$ -actin(1 : 3 000)抗体, 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。PBS 洗膜 3 次, 每次 10 min, 根据一抗的来源, 再分别加入适量含 2%脱脂奶粉的 PBS 稀释的 HRP 标记羊抗兔 IgG(1 : 500)、HRP 标记羊抗鼠 IgG(1 : 5 000)室温下作用 2 h, PBS 洗膜 3 次, 每次 10 min, ECL 化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存。用 Ge-I Pro Analyzer(Ver. 3. 0)软件测定蛋白条带灰度值, PI3K、AKT、Bax、Bcl-2、p53 和 p21 与  $\beta$ -actin 内参条带灰度值的比值分别将上述蛋白表达量化。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件包进行资料分析, 实验结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 资料采用单因素方差分析 (ANOVA),  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 葛根素抑制 MG63 细胞增殖

MTT 检测葛根素对 MG63 细胞增殖的影响, 结果表明, 在 0, 25, 50, 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的葛根素

作用下, MG63 细胞的增殖率分别为(100 $\pm$ 6)%, (65 $\pm$ 61)%, (45 $\pm$ 31)%, (29 $\pm$ 21)%。可见, 葛根素可显著抑制骨肉瘤细胞增殖, 并具浓度依赖性, 其最佳浓度为 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.2 葛根素促进 MG63 细胞凋亡

流式细胞术检测显示, 经 0, 25, 50, 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的葛根素处理 48 h 后, 细胞凋亡率分别为(7 $\pm$ 2)%, (18 $\pm$ 2)%, (40 $\pm$ 4)%, (65 $\pm$ 5)%。结果显示葛根素可以浓度依赖性地促进 MG63 细胞凋亡。结果见图 1。

### 2.3 葛根素抑制 MG63 细胞 PI3K/AKT/p53 信号通路的激活

RT-PCR 和 Western blotting 检测葛根素对 MG63 细胞 PI3K/AKT/p53 信号通路的影响, 不同浓度葛根素干预 MG63 细胞 48 h 后, mRNA 表达水平和蛋白表达见表 2~3 和图 2。结果表明, 与对照组(0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  葛根素组)相比, 经不同浓度葛根素干预后, PI3K、AKT、p53 和 p21 的表达明显降低( $P < 0.05$ )。可见, 葛根素可浓度依赖性地抑制 PI3K/AKT/p5 信号通路。

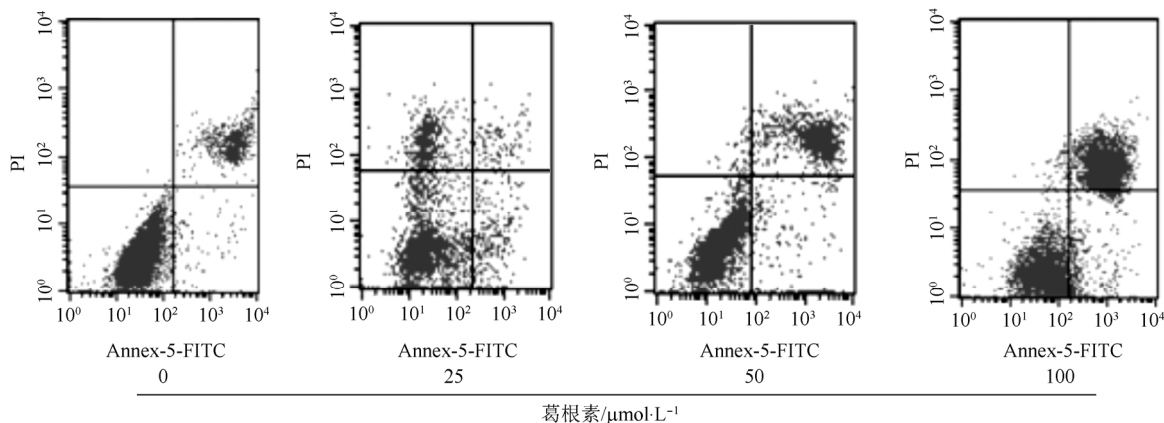


图1 流式细胞术检测葛根素对 MG63 细胞凋亡的影响

Fig. 1 The effect of apoptosis of puerarin on MG63 cells detected by flow cytometry

表 2 RT-PCR 检测葛根素对骨肉瘤细胞 MG63 的 PI3K、AKT、p53 和 p21 表达影响

Tab. 2 Effect of puerarin on expression of PI3K, AKT, p53 and p21 of MG63 cells detected by PT-PCR

| 浓度/<br>$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | PI3K(mRNA)              | AKT(mRNA)               | p53(mRNA)               | p21(mRNA)               |
|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0                                        | 1.00±0.10               | 1.10±0.14               | 0.95±0.06               | 1.06±0.08               |
| 25                                       | 0.75±0.06 <sup>1)</sup> | 0.85±0.04 <sup>1)</sup> | 0.72±0.06 <sup>1)</sup> | 0.79±0.05 <sup>1)</sup> |
| 50                                       | 0.56±0.04 <sup>1)</sup> | 0.51±0.03 <sup>1)</sup> | 0.47±0.05 <sup>1)</sup> | 0.54±0.06 <sup>1)</sup> |
| 100                                      | 0.21±0.02 <sup>1)</sup> | 0.11±0.02 <sup>1)</sup> | 0.24±0.04 <sup>1)</sup> | 0.31±0.03 <sup>1)</sup> |

注: 与对照组( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  葛根素组)相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ 。  
Note: Compared with control group( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  puerarin group), <sup>1)</sup> $P<0.05$ .

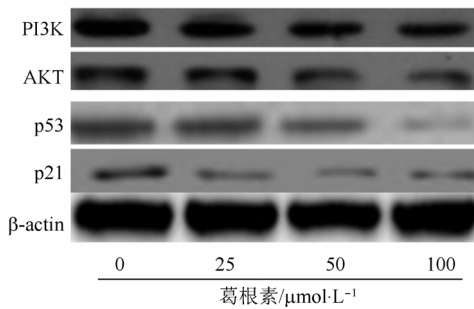


图 2 Western blotting 检测葛根素对各组骨肉瘤细胞 MG63 的 PI3K、AKT、p53 和 p21 的表达的影响

Fig. 2 Effect of puerarin on expression of PI3K, AKT, p53 and p21 of MG63 cells detected by Western blotting

表 3 葛根素对骨肉瘤细胞 MG63 的 PI3K、AKT、p53 和 p21 蛋白表达影响

Tab. 3 Effect of puerarin on protein expression of PI3K, AKT, p53 and p21 of MG63 cells

| 浓度/<br>$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | PI3K/ $\beta$ -actin    | AKT/ $\beta$ -actin     | p53/ $\beta$ -actin     | p21/ $\beta$ -actin     |
|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0                                        | 0.55±0.04               | 0.46±0.04               | 0.31±0.03               | 0.29±0.02               |
| 25                                       | 0.43±0.03 <sup>1)</sup> | 0.31±0.02 <sup>1)</sup> | 0.22±0.02 <sup>1)</sup> | 0.21±0.02 <sup>1)</sup> |
| 50                                       | 0.32±0.03 <sup>1)</sup> | 0.21±0.02 <sup>1)</sup> | 0.11±0.02 <sup>1)</sup> | 0.11±0.01 <sup>1)</sup> |
| 100                                      | 0.21±0.02 <sup>1)</sup> | 0.11±0.01 <sup>1)</sup> | 0.04±0.01 <sup>1)</sup> | 0.03±0.01 <sup>1)</sup> |

注: 与对照组( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  葛根素组)相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ 。  
Note: Compared with control group( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  puerarin group), <sup>1)</sup> $P<0.05$ .

## 2.4 葛根素对 MG63 细胞 Bax 和 BCL-2 的影响

RT-PCR 和 Western blotting 检测葛根素对 Bax 和 BCL-2 信号通路的影响, 不同浓度葛根素干预 MG63 细胞 48 h 后, Bax 和 BCL-2 mRNA 表达水平和蛋白表达见表 4 和图 3。与对照组( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  葛根素组)相比, 经不同浓度葛根素干预后 Bax 表达明显增高, 而 BCL-2 表达明显减少( $P<0.05$ )。结果表明葛根素可浓度依赖性地促进凋亡信号通路的激活。

表 4 葛根素对骨肉瘤细胞 MG63 的 Bax 和 BCL-2 表达的影响

Tab. 4 Effect of puerarin on expression of Bax and BCL-2 of MG63 cells

| 浓度/<br>$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | Bax(mRNA)               | BCL-2(mRNA)             | BCL-2/ $\beta$ -actin   | Bax/ $\beta$ -actin     |
|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0                                        | 1.00±0.09               | 1.00±0.12               | 0.75±0.05               | 0.16±0.02               |
| 25                                       | 1.51±0.11 <sup>1)</sup> | 0.75±0.05 <sup>1)</sup> | 0.55±0.04 <sup>1)</sup> | 0.27±0.03 <sup>1)</sup> |
| 50                                       | 2.45±0.31 <sup>1)</sup> | 0.51±0.04 <sup>1)</sup> | 0.37±0.03 <sup>1)</sup> | 0.39±0.03 <sup>1)</sup> |
| 100                                      | 4.75±0.43 <sup>1)</sup> | 0.24±0.03 <sup>1)</sup> | 0.22±0.2 <sup>1)</sup>  | 0.48±0.04 <sup>1)</sup> |

注: 与对照组( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  葛根素组)相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ 。  
Note: Compared with control group( $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  puerarin group), <sup>1)</sup> $P<0.05$ .

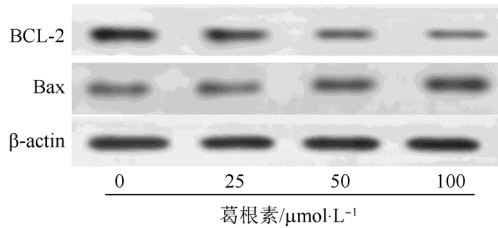


图 3 Western blotting 检测葛根素对各组骨肉瘤细胞 MG63 的 Bax 和 BCL-2 的表达的影响

Fig. 3 Effect of puerarin on expression of Bax and BCL-2 of MG63 cells detected by Western blotting

## 3 讨论

细胞恶性增殖是肿瘤的生物特性之一, 其主要机制是生物周期的紊乱导致增殖过多及凋亡过少, 导致肿瘤细胞始终处于增殖期而无法进入静止期<sup>[7-8]</sup>。本研究以人骨肉瘤细胞株 MG63 为靶细胞, 利用 MTT 检测不同浓度葛根素对 MG63 细胞增殖的影响。实验结果显示葛根素可以成浓度依赖性抑制 MG63 细胞增殖。细胞凋亡受阻是肿瘤的另一生物学特性, 流式细胞分析显示葛根素可以诱导 MG63 细胞凋亡, 随着葛根素浓度的增加, 其抑制效果也明显增加。

细胞凋亡是由多种基因控制的细胞程序性死亡, 涉及如 BCL-2 家族、凋亡蛋白抑制家族等一系列基因激活、调控及表达等<sup>[9-10]</sup>。p53 为一重要的肿瘤凋亡抑制蛋白, 与 DNA 修复、细胞周期调控及细胞凋亡有关。p53 可通过调控下游的 Bax/BCL-2 蛋白发挥其促凋亡的活性, 并通过促进 p21 和 Bax 调控细胞周期和细胞凋亡<sup>[11-14]</sup>。结果显示, 葛根素可成浓度依赖性减少 p53、p21 和 BCL-2 的表达, 而增加 Bax 的表达。因此, 推测葛根素可通过抑制 p53, 而上调 Bax/BCL-2 的比例, 从而减低 MG63 细胞凋亡抵抗, 发挥诱导 MG63 细胞凋亡的作用。这可能是葛根素抗骨肉瘤的活性机

制之一。对葛根素如何抑制 p53 凋亡抑制蛋白的研究发现, 葛根素可成浓度依赖性减少 PI3K 和 AKT 的表达。因此推测葛根素可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路而下调 p53 凋亡抑制蛋白的表达。

综上所述, 葛根素可通过抑制 PI3K/AKT/p53 信号通路而诱导 MG63 细胞增殖抑制和凋亡。但是葛根素是直接作用于 PI3K 信号分子还是通过调节其上游激酶和/或信号分子而间接发挥作用仍不清楚; 除 PI3K 信号通路外, 是否还有其他信号通路涉及葛根素诱导 MG63 细胞增殖抑制和凋亡尚需进一步更深入的研究。

## REFERENCES

- [1] VAN DE LUIJTGAARDEN A C, KAPUSTA L, BELLERSEN L, et al. High prevalence of late adverse events in malignant bone tumour survivors diagnosed at adult age [J]. *Neth J Med*, 2014, 72(10): 516-522
- [2] PU F, CHEN F, CHEN S, et al. Association between GSTP1 polymorphisms and prognosis of osteosarcoma in patients treated with chemotherapy: a meta-analysis [J]. *Onco Targets Ther*, 2015, 23(8): 1835-1842.
- [3] WEI S Y, CHEN Y, XU X Y. Progress on the pharmacological research of puerarin: a review [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(6): 407-414
- [4] MAJI A K, PANDIT S, BANERJI P, et al. Pueraria tuberosa: a review on its phytochemical and therapeutic potential [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(23): 2111-2127.
- [5] WANG J, YANG ZR, GUO X F, et al. Synergistic effects of puerarin combined with 5-fluorouracil on esophageal cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2535-2541.
- [6] RUAN J. Effect of rutin on oxidative stress of acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2015, 32 (9): 1059-1062.
- [7] ZHOU Y X, ZHANG H, PENG C. Puerarin: a review of pharmacological effects [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 961-975.
- [8] WANG Y, MA Y, ZHENG Y, et al. *In vitro* and *in vivo* anticancer activity of a novel puerarin nanosuspension against colon cancer, with high efficacy and low toxicity [J]. *Int J Pharm*, 2013, 441(1/2): 728-735.
- [9] DELBRIDGE A R, STRASSER A. The BCL-2 protein family, BH3-mimetics and cancer therapy [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(7): 1071-1080.
- [10] CORREIA C, LEE S H, MENG X W, et al. Emerging understanding of Bcl-2 biology: Implications for neoplastic progression and treatment [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(7): 1658-1671
- [11] XIAO M, WANG X, CHEN W. The clinical translational potential of p53-related alterations as cancer biomarkers [J]. *Histol Histopathol*, 2015, 12(7): 11637-11639.
- [12] AMELIO I, MELINO G. The p53 family and the hypoxia-inducible factors (HIFs): determinants of cancer progression [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(8): 425-434
- [13] LIN H Y, GLINSKY G V, MOUSA S A. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17): 14735-14743.
- [14] DE OLIVEIRA G A, RANGEL L P, COSTA D C, et al. Misfolding, aggregation, and disordered segments in c-Abl and p53 in human cancer [J]. *Front Oncol*, 2015(5): 97. Doi: 10.3389/fonc.2015.00097.

收稿日期: 2015-08-06

## 以连翘苷为内参物的一测多评法用于山西连翘药材品质评价研究

张淑蓉, 吴婷, 魏珊, 李敏(山西中医学院, 山西 晋中 030619)

**摘要:** 目的 建立山西连翘药材 6 种主要成分(松脂醇- $\beta$ -D-葡萄糖苷、连翘酯苷 A、连翘酯苷 B、芦丁、连翘苷及连翘酯素)含量测定的一测多评法, 用于山西连翘药材的品质评价。方法 Hypersil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m), 水-甲醇进行梯度洗脱。以连翘苷为内参物, 建立其余成分(松脂醇- $\beta$ -D-葡萄糖苷、连翘酯苷 A、连翘酯苷 B、芦丁、连翘酯素)的相对校正因子, 并计算其含量, 实现一测多评法。比较一测多评法计算值与外标法实测值的差异, 以验证一测多评法的准确性和可行性。结果 采用一测多评法计算值与外标法实测值的相对误差<5%, 2 种方法计算结果之间无显著差异。结论 本实验建立的相对校正因子重复性良好, 建立的一测多评法用于山西连翘药材品质评价准确、可行。

**关键词:** 连翘; 连翘苷; 一测多评法; 品质评价

中图分类号: R917

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)03-0304-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.03.011

基金项目: 山西省科技攻关项目(20120313015-4)

作者简介: 张淑蓉, 女, 教授 Tel: 13935110348 E-mail: zhangsr62@163.com