

- 47-56.
- [11] CHEN Y, XIE M Y, YAN Y, et al, Discrimination of *Ganoderma lucidum* according to geographical origin with near infrared diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 618(2): 121-130.
- [12] BAI Y, LI S, WANG X, et al, Determination of chlorogenic acid of honeysuckle by near-infrared spectroscopy rapidly [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2011, 17(5): 66-69.
- [13] BLANCO M, BANO R G, BERTRAN E. Monitoring powder blending in pharmaceutical processes by use of near infrared spectroscopy [J]. *Talanta*, 2002, 56(1): 203-212.
- [14] XIANG D, BERRY J, BUNTZ S, et al. Robust calibration design in the pharmaceutical quantitative measurements with near-infrared (NIR) spectroscopy: avoiding the chemometric pitfalls [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(3): 1155-1166.
- [15] ROBERTO K H, MARIO C U, GLEDON E J, et al. A method for calibration and validation subset partitioning [J]. *Talanta*, 2005, 67(4): 736-740.
- [16] FEUDALE R N, WOODY N A, TAN H, et al. Transfer of multivariate calibration models: a review [J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 2002, 64(2): 181-192.
- [17] HE Y, LI X L, DENG X F. Discrimination of varieties of tea using near infrared spectroscopy by principal component analysis and BP model [J]. *J Food Eng*, 2007, 79(4): 1238-1242.
- 收稿日期: 2015-07-17

基于均匀设计法的钩吻配伍玉叶金花的毒性作用规律研究

王英豪, 吴水生*, 李德森, 王河山(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 探讨钩吻配伍玉叶金花后的毒性变化规律。方法 采用 $U_7^*(7^4)$ 均匀设计表, 按 2 因素 7 水平设计配比实验, 以小鼠死亡率为考察指标进行急性毒性评价, 并考察钩吻配伍前后的 LD_{50} 。结果 均匀设计得到的多元函数模型具有显著性统计学意义 ($P < 0.05$), 针对函数模型求偏导得最佳配比 0.54 : 14.23 (钩吻 : 玉叶金花), 三维曲面分析的低毒性的剂量配比范围 (钩吻 : 玉叶金花 = 1 : 22~36); 钩吻 LD_{50} 为 $0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而配伍后 LD_{50} 为 $0.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 毒性大幅降低。结论 钩吻配伍玉叶金花后毒性降低, 可为临床合理用药提供参考依据。

关键词: 均匀设计; 急性毒性; 玉叶金花; 钩吻

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)02-0150-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.004

Uniform Design Research on the Compatibility Toxicity of *Gelsemium Elegans* Benth. and *Mussaenda Pubescens*

WANG Yinghao, WU Shuisheng*, LI Desen, WANG Heshan (College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the toxicity variation of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*. **METHODS** The $U_7^*(7^4)$ uniform design method was used by two factors and seven levels to investigate the toxicity changes with the death of mice as index in different groups of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*. Then LD_{50} of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* were determined. **RESULTS** The multivariate function model of uniform design was statistically significant ($P < 0.05$). The best ratio of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* was 0.54 : 14.23 by partial derivative. The dose ratio range from 1 : 22 to 1 : 36 by 3D surface analysis. The LD_{50} of *Gelsemium elegans* Benth. was $0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the LD_{50} was of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* was $0.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The toxicity was greatly reduced. **CONCLUSION** The toxicity of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* reduce. The results offer scientific basis for reasonable usage.

KEY WORDS: uniform design; acute toxicity; *Mussaenda pubescens*; *Gelsemium elegans* Benth.

基金项目: 国家自然科学基金项目(81303240); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目(20133519110005)

作者简介: 王英豪, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0591)22861135 E-mail: wyhtcm@aliyun.com *通信作者: 吴水生, 男, 博士, 教授 Tel: (0591)22861322 E-mail: wsstcm@yahoo.cn

钩吻来源于马钱科胡蔓藤属植物胡蔓藤 *Gelsemium elegans* Benth. 的全株, 又名山砒霜、断肠草、野葛等, 具有祛风攻毒、散结消肿、止痛的功效^[1], 但其毒性巨大, 《新修本草》载: “野葛蔓生, 人或误食其叶者, 皆致死”、《岭南采药录》曰: “有大毒, 不入服剂, 误食之, 则唇舌腐烂而死”, 因而限制了其临床应用。其毒性成分主要为吲哚类生物碱^[2-3], 然此类生物碱也有着独特的生物活性——镇痛、抗肿瘤、影响免疫功能等作用^[4], 因而如何减毒增(存)效成为目前国内外医药研究人员探讨的热点。从目前文献报道来看, 对钩吻的研究主要集中在化学成分、生药学、药效毒理等方面^[5-6], 而减毒相关研究报道甚少。为了临床安全合理应用钩吻, 本研究借助均匀设计深入探讨钩吻配伍玉叶金花的毒性作用规律, 以期提供实验依据。

1 仪器/试剂与动物

FA20004N 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司); FY135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HH-S 型数显恒温水浴锅(上海锦屏仪器仪表有限公司); KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

钩吻(*Gelsemium elegans* Benth.) 采自福建龙岩胡蔓藤种植基地, 经福建中医药大学黄泽豪副教授鉴定为马钱科植物胡蔓藤的全株; 玉叶金花(*Mussaenda pubescens*) 采自福建福州闽侯, 经福建中医药大学黄泽豪副教授鉴定为茜草科植物玉叶金花的干燥茎叶; 乙醇等试剂均为分析纯。

KM 种小鼠, 6~8 周龄, ♀♂各半, 体质量 18~22 g, 由福建医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK(闽)2012-0001。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 钩吻药液的制备 将钩吻药材粉碎, 取适量置于圆底烧瓶中, 加入 5 倍量 90%乙醇, 浸泡 0.5 h, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 趁热过滤合并上清液, 减压回收乙醇至无醇味, 用蒸馏水定容至提取液浓度为 1 g·mL⁻¹(以钩吻生药量计), 4 ℃保存, 备用。

2.1.2 玉叶金花药液的制备 将玉叶金花药材粉碎, 取适量置于圆底烧瓶中, 加入 5 倍量 90%乙醇, 浸泡 0.5 h, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 趁热过

滤合并上清液, 减压回收乙醇至无醇味, 用蒸馏水定容至提取液浓度为 3 g·mL⁻¹(以玉叶金花生药量计), 4 ℃保存, 备用。

2.2 钩吻、玉叶金花急性毒性评价^[7]

2.2.1 钩吻半数致死量(LD₅₀)的测定 根据《药物非临床研究质量管理规范》(GLP)及《药物研究技术指导原则》(2010 年)要求, 测定钩吻 LD₅₀。

2.2.1.1 预试验 取 20 只小鼠进行预试验。将小鼠随机分成 5 组, 实验前禁食 12 h, 自由饮水。按 1.0, 0.8, 0.4, 0.2 g·kg⁻¹ 的剂量分别灌胃给药, 观察 1 d 内的死亡情况。结果剂量为 0.8 g·kg⁻¹ 时即为 100%死亡率(D_m), 剂量为 0.2 g·kg⁻¹ 时即为 0%死亡率(D_n)。

2.2.1.2 急性毒性试验 参照文献[8], 根据 D_m/D_n 比值, 查比值简表, 将小鼠按给药剂量间距比值 0.65 随机分为 4 组(0.80, 0.52, 0.34, 0.22 g·kg⁻¹), 每组 10 只, 实验前禁食 12 h, 自由饮水, 分别灌胃给药, 观察 7 d, 应用孙氏改良寇氏法计算钩吻的 LD₅₀。

2.2.2 玉叶金花最大耐受量(MTD)的测定 根据《药物非临床研究质量管理规范》(GLP)及《药物研究技术指导原则》(2010 年)要求, 测定玉叶金花的 MTD。

2.2.2.1 预试验 取 10 只小鼠, 禁食 12 h, 自由饮水。将最大浓度(3.0 g·mL⁻¹)的玉叶金花按 0.03 mL·g⁻¹ 1 次灌胃, 观察 7 d, 没有出现小鼠死亡。

2.2.2.2 MTD 的测定 取 40 只小鼠, ♀♂各半, 随机分为空白对照组、给药组, 每组 20 只。1 d 内灌胃给予最大给药量(3.0 g·mL⁻¹×0.03 mL·g⁻¹), 空白对照组给予同体积的生理盐水, 灌胃 3 次, 观察 7 d, 测定 MTD。

2.3 钩吻配伍玉叶金花的均匀设计法

2.3.1 钩吻、玉叶金花给药剂量的确定 按照急性毒性评价结果, 钩吻给药量最小值设为 LD₅₀, 最大值设为 2×LD₅₀; 玉叶金花给药量最小值设为临床应用的低剂量, 最大值设为 MTD 的 1/30。最终确定钩吻给药剂量范围: 0.36~0.72 g·kg⁻¹; 玉叶金花给药剂量范围: 0.53~9.00 g·kg⁻¹。钩吻、玉叶金花各组均按等比数列依次计算给药量。

2.3.2 因素与水平的确定 根据均匀设计 U₇^{*}(7⁴) 表, 将钩吻、玉叶金花 2 味药给药剂量分别作为考察因素 1、因素 2, 每个因素分别取 7 个水平, 考察因素、水平见表 1, 剂量配比见表 2。

表 1 均匀设计 $U_7(7^4)$ 的因素水平表

Tab. 1 Factors and levels in $U_7(7^4)$ uniform design

水平	因素 1(钩吻, G)/g·kg ⁻¹	因素 2(玉叶金花, M)/g·kg ⁻¹
1	0.36	0.53
2	0.40	0.86
3	0.45	1.37
4	0.51	2.20
5	0.57	3.52
6	0.64	5.63
7	0.72	9.00

表 2 基于均匀设计的钩吻配伍玉叶金花剂量配比表

Tab. 2 Ratio dose between *Gelsemium elegans* Benth. and *Mussaenda pubescens* in uniform design

组别	配伍组合	G/g·kg ⁻¹	M/g·kg ⁻¹	G ²	M ²
I	1+5	0.36	3.52	0.13	12.39
II	2+2	0.40	0.86	0.16	0.74
III	3+7	0.45	9.00	0.20	81.00
IV	4+4	0.51	2.20	0.26	4.84
V	5+1	0.57	0.53	0.32	0.28
VI	6+6	0.64	5.63	0.41	31.70
VII	7+3	0.72	1.37	0.52	1.88

2.3.3 均匀设计试验

2.3.3.1 药液制备 根据表 2 中配伍组合及剂量,按“2.1”项下制备条件分别配制钩吻、玉叶金花提取液。

2.3.3.2 分组与给药 将 70 只小鼠,♀♂各半,随机分成 7 组(I、II、III、IV、V、VI、VII,见表 2),每组 10 只,0.1 mL·(10 g)⁻¹灌胃给药,观察 7 d,记录小鼠死亡数。

2.3.3.4 数据分析 采用 SPSS 16.0 软件,对均匀试验结果进行多元线性方程回归分析,建立多元函数($Y=a_1+a_2G+a_3M+a_4G^2+a_5M^2$,平方项作用为便于用偏导数求解)及 F 检验。

2.4 钩吻最优配比玉叶金花的 LD₅₀ 测定

参照“2.2.1”项下方法测定钩吻最优配比玉叶金花的 LD₅₀。

3 结果

3.1 急性毒性评价结果

3.1.1 钩吻的 LD₅₀ 钩吻给药后,小鼠先出现发抖、四肢无力、运动失调;进而叩牙频繁,伴有痉挛,强度逐渐变大;继而间歇性的惊厥、跳跃,随即全身性的剧烈强直性惊厥,最后呼吸衰竭死亡。死亡时间主要集中在 0.5~2 h。不同剂量钩吻引起小鼠死亡数见表 3,根据孙氏改良寇氏法,钩吻 LD₅₀ 为 0.32 g·kg⁻¹,95%可信区间为 0.27~0.37 g·kg⁻¹。

表 3 钩吻急性毒性试验结果

Tab. 3 Results of acute toxicity test of *Gelsemium elegans* Benth.

组别	剂量/g·kg ⁻¹	动物数/只	死亡数/只	死亡率/%
1	0.80	10	10	100
2	0.52	10	9	90
3	0.34	10	8	80
4	0.22	10	0	0

3.1.2 玉叶金花的 MTD 玉叶金花给药后,小鼠活动未见异常,体质量、摄食量、尿粪便与空白对照组比无明显差异,尸检肉眼未见心肝脾肺肾有明显病变。实验结果显示玉叶金花的 MTD 为 270 g·kg⁻¹。

3.2 均匀设计试验

3.2.1 回归模型分析 $U_7(7^4)$ 均匀设计试验对小鼠毒性的结果见表 4。采用 SPSS 16.0 软件对实验结果进行多元线性方程回归分析,得到多元函数模型: $Y=319.731-882.32G-6.233M+816.565G^2+0.219M^2$ 。应用相关系数 R 来评价函数模型, $R=0.997$, $R^2=0.995$,调整 R^2 为 0.984,标准误差为 2.282。该回归方程经 F 检验,具有显著性统计学意义($P=0.011<0.05$),结果见表 5。针对函数模型求偏导,得最佳配比为 $G:M=0.54:14.23$ 。

表 4 钩吻配伍玉叶金花的均匀设计试验结果($n=10$)

Tab. 4 Results of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* by uniform design

组别	配伍组合	G/g·kg ⁻¹	M/g·kg ⁻¹	死亡数/只	死亡率/%
I	1+5	0.36	3.52	9	90
II	2+2	0.40	0.86	9	90
III	3+7	0.45	9.00	5	50
IV	4+4	0.51	2.20	7	70
V	5+1	0.57	0.53	8	80
VI	6+6	0.64	5.63	6	60
VII	7+3	0.72	1.37	10	100

表 5 方差分析

Tab. 5 Results of variance analysis

Model	离差平方和	自由度	均方	F	P
回归分析	1 932.443	4	483.111	92.776	0.011
残差	10.415	2	5.207		
总计	1 942.857	6			

3.2.2 三维曲面分析 上述多元函数模型的三维曲面分析见图 1,小鼠的死亡率越大,表明配比的毒性越强。从图 1 可知,死亡率最低的配比范围为 $G:M=(0.5\sim0.55):(12\sim18)$,即 1:22~36 之间,且死亡率随着钩吻配比的增大呈现上升趋势,说

明配伍后毒性主要以钩吻的毒性为主。故将表 4 中数据按照钩吻对玉叶金花的倍数从小到大重新排序后见表 6。

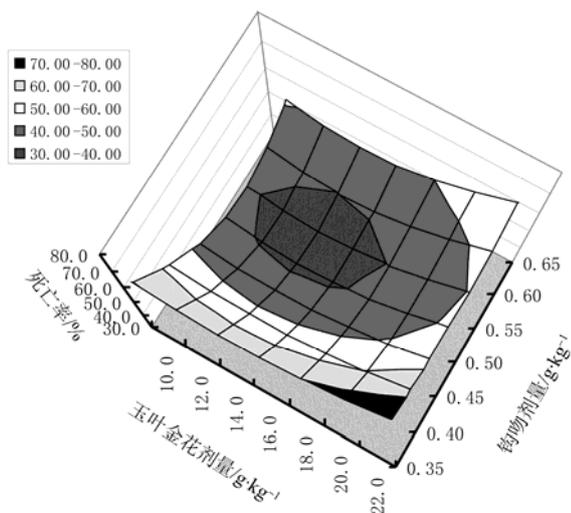


图 1 钩吻配伍玉叶金花的三维曲面毒性分析图
Fig. 1 Analysis of 3D surface of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*

表 6 钩吻配伍玉叶金花的均匀设计试验结果(n=10)
Tab. 6 Results of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* by uniform design(n=10)

组别	钩吻+玉叶金花/g·kg ⁻¹	不同配比(G:M)	倍数(G:M)	死亡数/只	死亡率/%
III	0.45+9.00	1:20.0	0.050	5	50
VI	0.64+5.63	1:8.80	0.114	6	60
IV	0.51+2.20	1:4.31	0.232	7	70
V	0.57+0.53	1:0.93	1.075	8	80
I	0.36+3.52	1:9.78	0.102	9	90
II	0.40+0.86	1:2.15	0.465	9	90
VII	0.72+1.37	1:1.90	0.526	10	100

从表 6 可知, III组为钩吻对玉叶金花倍数最低的一组, 死亡率最低, 随着钩吻对玉叶金花倍数的增大, 小鼠死亡率呈现上升趋势, 说明玉叶金花与钩吻配伍具有减毒作用。

3.3 钩吻最优配伍玉叶金花的 LD₅₀

不同剂量钩吻配伍玉叶金花引起小鼠死亡数见表 7, 根据孙氏改良寇氏法, 钩吻配玉叶金花的 LD₅₀ 为 0.68 g·kg⁻¹, 95%可信区间为 0.52~0.88 g·kg⁻¹。

表 7 钩吻配伍玉叶金花的急性毒性试验结果
Tab. 7 Results of acute toxicity test of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*

组别	剂量/g·kg ⁻¹	动物数/只	死亡数/只	死亡率/%
1	0.81	10	6	60
2	0.57	10	4	40
3	0.40	10	2	20
4	0.28	10	0	0

4 讨论

均匀设计法是我国方开泰和王元所提出, 主要用于导弹试验, 现已广泛应用于医药领域^[9]。均匀设计法在多水平、多因素的分析上优于正交设计, 其实验点数目较之大幅度减少, 且各实验点代表性良好。对于本实验中 7 水平的研究, 用正交设计法需 49 次试验, 而均匀设计法只需 7 次试验即可有初步的结果。因而, 本研究将此法引入钩吻不同配比玉叶金花的毒性研究, 不但获取了大量毒性信息, 且实验工作量大幅减少, 实验结果证实了均匀设计可作为毒性配比研究的有效方法, 用于中药的现代化研究。

钩吻为世界著名的剧毒植物, 现代研究发现其具有显著的镇痛、抗肿瘤、镇静、抗炎等活性^[4,10], 尤其在肿瘤患者镇痛方面有着独特的优势, 但因毒性巨大, 限制了临床应用。中药配伍减毒增(存)效是祖国医学的特色和优势所在, 我们从《福建药物志》、《中药大辞典》、《广西中药材标准》中发现玉叶金花可作为钩吻解毒剂的文字记载, 为此, 本研究借助均匀设计探讨钩吻配伍玉叶金花的毒性作用规律。本实验先对钩吻的急性毒性进行评价, 发现钩吻的 LD₅₀ 为 0.32 g·kg⁻¹, 进而通过均匀设计试验, 建立钩吻配比玉叶金花的多元函数模型, 结果发现随着钩吻对玉叶金花倍数的增大, 小鼠死亡率呈现上升趋势, 为此针对多元函数模型求偏导, 得钩吻配比玉叶金花最低毒性的配比(钩吻:玉叶金花=0.54:14.23), 此配比的 LD₅₀ 为 0.68 g·kg⁻¹, 较钩吻的 LD₅₀ 提高了 1 倍多。但考虑到实际应用钩吻时需同时兼顾各种药效, 若得到钩吻和玉叶金花的配比剂量范围更为适合些, 因此实验进一步对多元函数模型进行了三维曲面的分析, 最终确定剂量配比范围(钩吻:玉叶金花=1:22~36)。本实验结果说明了玉叶金花与钩吻配伍具有减毒作用, 但解毒的机制有待进一步深入探讨。

REFERENCES

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 213-217.
- [2] WANG Y H, WU S S, CHEN Z C, et al. Inhibitory effects of cytochrome P450 enzymes CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1 and CYP3A4 by extracts and alkaloids of *Gelsemium elegans* roots [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015(166): 66-73.
- [3] KITAJIMA M. Chemical studies on monoterpenoid indole alkaloids from medical plant resources *Gelsemium* and

- Ophiorrhiza [J]. *J Nat Med*, 2007(61): 759-765.
- [4] XU Y, QIU H Q, LIU H, et al. Effects of koumine, an alkaloid of *Gelsemium elegans* Benth., on inflammatory and neuropathic pain models and possible mechanism with allopregnanolone [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2012, 101(3): 504-514.
- [5] YE L X, SU Y P, CAO D X, et al. Content determination and stability of koumine by UPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2015, 32(4): 471-474.
- [6] 余淑琳,蒋超,黄璐琦,等. 基于环介导等温扩增技术快速鉴别钩吻[J]. *中药材*, 2014, 37(4): 594-596.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 112-118.
- [8] 杨樱,邱丽莉,许文,等. 闽产钩吻根总生物碱半数致死量的实验研究[J]. *海峡药学*, 2011, 23(12): 40-42.
- [9] DUAN X Y, GAO W F, ZHANG H, et al. Optimal extraction technology of indigo naturalis by uniform design [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2012, 29(4): 326-329.
- [10] XU Y K, LIAO S G, NA Z, et al. Gelsemium alkaloids, immunosuppressive agents from *Gelsemium elegans* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(6): 1120-1124.

收稿日期: 2015-10-08

白花蛇舌草乙醇提取物联合吉非替尼对 TGF- β_1 诱导的肺腺癌细胞 H358 上皮间质化的干预作用

吕昕¹, 朱渊红¹, 周林水¹, 王真¹, 刘正中²(1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 研究白花蛇舌草乙醇提取物(ethanol extract of *Hedyotis diffusa*, EEHD)联合吉非替尼对 TGF- β_1 诱导的肺腺癌细胞 H358 上皮间质化的干预作用。方法 以上皮表型人肺腺癌细胞 H358 为研究对象, TGF- β_1 诱导构建细胞上皮间质化模型, 按 EEHD、吉非替尼及两药 3 种不同顺序联合作用分为 6 组: A 组, EEHD 作用 48 h; B 组, 吉非替尼作用 48 h; A24B24 组, 先 EEHD 作用 24 h, 后吉非替尼作用 24 h; B24A24 组, 先吉非替尼作用 24 h, 后 EEHD 作用 24 h; AB48 组, 同时加入吉非替尼和 EEHD 作用 48 h; 对照组。CCK-8 法测定各组细胞死亡率, Western-blot 检测各组细胞中 E-cadherin、Vimentin、EGFR 蛋白表达情况, 流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况, 比较组间差异。结果 各组药物作用均能不同程度抑制上皮间质化肺腺癌细胞 H358 增殖, E-cadherin 表达呈上升趋势, Vimentin 表达下降。其中 EEHD 联合吉非替尼组的细胞生长抑制率和细胞凋亡率显著高于吉非替尼单用组, E-cadherin 蛋白表达率则显著高于吉非替尼单用组, 而 EGFR、Vimentin 蛋白表达率显著低于吉非替尼单用组($P < 0.05$), EEHD 与吉非替尼先后顺序作用组间差异无统计学意义。结论 EEHD 与吉非替尼对上皮间质化的 H358 细胞具有联合抑制作用, 白花蛇舌草可部分逆转 H358 细胞上皮间质化状态。

关键词: 白花蛇舌草; 吉非替尼; 上皮间质化; H358 细胞

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)02-0154-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.005

Intervention Effect of Ethanol Extract of *Hedyotis Diffusa* and Gefitinib on the Epithelial Mesenchymal Transition Process of Human Lung Adenocarcinoma Cell H358 Induced By TGF- β_1

LYU Xin¹, ZHU Yuanhong¹, ZHOU Linshui¹, WANG Zhen¹, LIU Zhengzhong²(1.The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 2.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the ethanol extract of *Hedyotis diffusa*(EEHD) and gefitinib(Gef) used on the human lung adenocarcinoma H358 cell, which has been induced to epithelial mesenchymal transition by transforming growth factor beta 1(TGF- β_1) *in vitro*. **METHODS** The H358 cells were successfully induced to the epithelial mesenchymal transformation model by 5 ng·mL⁻¹ TGF- β_1 for 24 h. After preparation of the EEHD, respectively added EEHD for 48 h(Group A), Gef for 48 h(Group B), EEHD for 24 h and then Gef for 24 h(Group A24B24), Gef for 24 h and then EEHD for 24 h(Group B24A24), EEHD combined with Gef for 48 h(Group AB) and the control group to the model cells. Then the rates of cell growth were detected by CCK-8 test, the protein expression of epithelial marker (E-cadherin) and mesenchymal cell marker (Vimentin) were detected by Western-blot. And the rates of apoptosis were tested by flow cytometry. **RESULTS** In all other groups, the

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2013KYB187); 浙江省中医药科技计划项目(2013ZQ014)

作者简介: 吕昕, 女, 硕士, 主治医师 Tel: (0571)86620305 E-mail: LX1206@163.com