

作用的角度,研究苦参素对胃癌细胞侵袭和转移作用的影响。肿瘤转移扩散起始于肿瘤细胞降解并穿过基底膜向其邻近组织的侵袭浸润。肿瘤细胞侵袭转移能力与其产生降解细胞外基质的蛋白酶能力密切相关。抑制癌细胞产生蛋白水解酶,降低癌细胞对基底膜的侵袭性是抑制肿瘤细胞转移的重要措施。肿瘤细胞分泌产生包括肝素酶、组织蛋白酶 B、弹性蛋白酶及金属蛋白酶等多种蛋白水解酶,参与降解细胞外基质。在中性 pH 环境中,金属蛋白酶几乎能分解所有的大分子蛋白,是影响肿瘤细胞侵袭转移的限速酶。在正常生理条件下,IV型胶原酶在其合成、分泌及降解活性上受到严格控制和调节。在肿瘤细胞侵袭转移过程中IV型胶原酶活性增强,促进癌细胞侵袭和转移。高转移性的癌细胞比低转移性的癌细胞有更强的降解IV型胶原能力。在转移性癌细胞所侵袭的基底膜部位,IV型胶原缺失^[6]。

实验结果表明,苦参素能剂量依赖性的降低胃癌细胞 MKN-45 产生 MMP-2、MMP-9 的蛋白分泌量,同时对分泌 MMPs 的蛋白酶活性有较好的抑制作用。胃癌是危害人民健康的主要恶性肿瘤之一,它的转移及复发是导致治疗失败及死亡的主要原因。目前在临床上对于已经有转移的患者主要应用以药物治疗为主的综合治疗,虽然胃癌对药物治疗较为敏感,但联合化疗方案疗效仅为 40% 左右,且药物副作用较大。手术、放射和化学治疗等方法对肿瘤治疗的效果已进入平台期,开发针对转移过程和微小转移灶的抗恶性肿瘤药,是提高肿瘤治愈

率、降低复发和死亡率、延长患者生命的重要途径。本研究为苦参素用于抗胃癌的转移治疗提供了进一步依据。

参考文献:

- [1] Anlavoorian S, Stetler - Stevemom WG, Liotta LA. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis[J]. *Cancer*,1993,71(4):1368.
- [2] Stetler - Stevemom WG, Liotta LA, Kleiner DE, *et al.* Role of matrix metalloproteinase in tumor invasion and metastasis [J]. *FASEB J*, 1993, 7; 1434.
- [3] Eriguchi M, Osada I, Fujii Y, *et al.* Pilot study for preoperative administration of matrine to patients with advanced scirrhus type gastric cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 1997. 51(5): 217.
- [4] 罗艳君,林万隆. 苦参素对胃癌细胞株 MKN-45 凋亡的影响[J]. *世界肿瘤杂志*. 2004,3(1): 61.
- [5] Fadwa AA, Patricia MF, Ashani TW, *et al.* Inhibitors of staggland in synthesis inhibit human prostate tumor cell invasiveness and reduce the release of matrix metalloproteinases [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 4629.
- [6] Davis B, Miles DW, Happerfield LC, *et al.* Activity of type IV collagenase in benign and malignant breast disease [J]. *Br J Cancer*, 1993, 67: 1126.
- [7] 田晓华,丛建波,孙存普,等. 氧化苦参碱清除·OH 自由基作用及对胸腺嘧啶核苷酸辐射防护作用的 ESR 研究[J]. *解放军预防医学杂志*,1996, 6(3): 412.
- [8] 胡雅妮,王四旺,谢艳华,等. 苦参素抗肿瘤作用研究[J]. *辽宁中医学院学报*, 2003, 5(1): 3.

收稿日期:2006-01-15

不同产地楮实子提取物体外抗氧化作用及其质量比较

庞素秋^{1,2},黄宝康¹,张巧艳¹,秦路平^{1*} (1.第二军医大学药学院生药学教研室,上海 200433;2.中国人民解放军第180医院药械科,福建 泉州 362000)

摘要 目的:对10个不同产地楮实子的乙醇、水提物进行体外抗氧化作用研究,并按中国药典部分质量标准对不同产地的楮实子进行质量比较。方法:采用不同产地的楮实子醇、水提取物对大鼠肝组织匀浆脂质过氧化作用的抑制,评价其体外抗氧化作用,并对不同产地的楮实子的灰分及提取物含量进行比较。结果:不同产地楮实子的抗氧化能力差别较大,其中安徽、山西和广西产的楮实子抗氧化能力最强,灰分含量以山东、浙江和广东三产地的较好。结论:不同产地楮实子的质量有很大差异,其提取物有较明显的体外抗氧化活性,并建议中国药典再版时收载楮实子提取物含量标准。

关键词 楮实子;灰分;体外抗氧化;丙二醛

中图分类号:R931.7

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2006)03-0149-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO.30400595)。

作者简介:庞素秋(1972-),女,汉族,硕士研究生,主管药师。

通讯作者:秦路平,Tel:(021)25070394,E-mail:lpqin@smmu.edu.cn

Antioxidation effect *in vitro* and quality comparison of *Broussonetia papyrifera* fruits from different habitats

PANG Su-qiu^{1,2}, HUANG Bao-kang¹, ZHANG Qiao-yan¹, QIN Lu-ping^{1*} (1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacy, No. 180 Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China)

ABSTRACT Objective: To study antioxidation effect of ethanol and aqueous extracts of *Broussonetia papyrifera* fruits from 10 different habitats and assess their qualities by standards of China Pharmacopeia. **Methods:** MDA production in rats liver homogenate induced by auto-oxidation was measured by MDA kits method and the contents of ashes, ethanol and aqueous extracts were detected. **Results:** Antioxidation potential of *Broussonetia papyrifera* fruits from Anhui, Shanxi and Guangxi were significant and contents of ashes were lower from Shandong, Zhejiang and Guangdong than other places. **Conclusion:** Extracts of *Broussonetia papyrifera* fruits have antioxidation effect *in vitro*, and we suggest that contents of extracts of *Broussonetia papyrifera* fruits be included in next CHP.

KEY WORDS *Broussonetia papyrifera* fruits; ash content; antioxidation effect *in vitro*; malonaldehyde

中药楮实子又名穀实、穀子、楮桃、楮实、谷实、谷桑、野杨梅等,为桑科植物构树 *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. 的干燥成熟果实。以补肾入药应用有几千年的历史,《神农本草经》、《名医别录》俱列为上品^[1]。性甘、味寒,无毒。《抱朴子》:“服之,老者成少,令人彻视见鬼神,道者染须年七十,眼之更少壮,到百四十岁,能行及走马”。刘汉基《药性通考》载“楮实子,能充肌肤,助腰膝,益气力,补虚劳,悦颜色,壮筋骨,明目。补阴妙品,益髓神膏”^[2]。我国在中医临床上楮实子已用于治疗老年痴呆症并有较好效果,其水溶性粗提取物能显著改善衰老模型小鼠的学习记忆能力^[3,4]。衰老问题一直是人类关注的焦点,经过许多科学家的研究证实,老化与细胞氧化作用息息相关,抗氧化在某种意义上等同于抗衰老^[5]。笔者研究了不同产地的楮实子水浸出物对大鼠肝组织匀浆脂质过氧化作用的抑制程度。

楮实子原植物在中国分布较广,药材主产于河南、湖北、湖南、山西、甘肃等省地,为考查不同产地楮实子药材的质量,采集了10个不同地区的样本进行抗氧化作用比较并对其部分药典质量指标进行考查,为确立优质药材产地提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 样品来源 样品为2004年7~11月采于不同产地的构树成熟果实,均经鉴定。

1.2 方法

1.2.1 不同产地的楮实子的灰分的测定(中国药典2005年版附录IX K^[6]) 楮实子干燥至恒重的供试品3g,放入炽灼至恒重的坩埚,称重(准确至0.01g),缓缓炽热至完全炭化后,逐渐升温至500~600℃,至完全灰化,冷却称重。据残渣重量计算供

试品中总灰分的含量。

将上述总灰分加10mL稀盐酸混匀,用表面皿盖住坩埚,于水浴加热10min,用热水冲洗表面皿,洗液并入坩埚,用无灰滤纸滤过,残渣用水洗于滤纸上,至洗液不显Cl⁻反应为止。滤纸和滤渣于坩埚中干燥,灼烧至恒重。称量并计算酸不溶性灰分的含量。

1.2.2 不同产地楮实子浸出物的制备 楮实子内含较多油性物质,且目前在临床上主要供中医配方用,故用热水、热乙醇浸法。按2005年版中国药典附录X A浸出物测定法项下的热浸法测定操作^[6]。

1.2.3 丙二醛法测定楮实子提取物对小鼠肝匀浆MDA的影响 ①肝匀浆制备:取健康小白鼠10只,雌雄各半,颈椎脱臼处死,立即取肝脏,置于4℃冷生理盐水中洗净残血,滤纸拭干,称重,用4℃生理盐水制成10%肝组织匀浆。②肝匀浆丙二醛(MDA)的测定:取10%新鲜肝匀浆1.5mL,分别加入楮实子提取物0.1mL,500mg/L维生素E 0.1mL、无水乙醇0.1mL、生理盐水0.1mL,37℃温浴振荡1.5h,按丙二醛测定试剂盒说明书操作。532nm处比色测定各管吸光度值,计算丙二醛(MDA)值及抑制率。采用考马斯亮兰法测定肝匀浆中的蛋白含量。

抑制率(%) = (自氧化组MDA值 - 楮实子提取物组MDA值) / 自氧化组MDA值 × 100%

2 结果

2.1 不同产地的楮实子的灰分及浸出物的含量 结果显示,10个不同产地的楮实子以山东烟台的楮实子的总灰分含量最小,为4.44%,酸不溶性灰分以广东广州的最小为0.17%,水浸出物以新疆乌鲁木齐和安徽芜湖的两个产地的含量较高,分别为9.41%和9.14%,醇浸出物以安徽芜湖的最高,达11.7%。详情见表1。

表 1 不同产地楮实子的浸出物及灰分的含量(n=3, x±s)

产地	总灰分(%)	酸不溶灰分(%)	水浸出物(%)	醇浸出物(%)
新疆乌鲁木齐	7.28 ± 0.113	0.66 ± 0.0081	9.41 ± 0.1955	3.7 ± 0.0842
山西长治	7.01 ± 0.025	0.52 ± 0.0251	7.23 ± 0.0984	6.6 ± 0.0682
河南遂平	7.45 ± 0.135	0.96 ± 0.0120	5.72 ± 0.1201	4.8 ± 0.0389
广东广州	7.36 ± 0.051	0.17 ± 0.0031	6.21 ± 0.0589	4.4 ± 0.0752
广西桂林	7.49 ± 0.119	0.50 ± 0.0168	6.90 ± 0.0621	7.6 ± 0.0681
贵州贵阳	7.51 ± 0.132	0.82 ± 0.0236	7.82 ± 0.1062	4.6 ± 0.0528
湖北武汉	7.98 ± 0.098	0.69 ± 0.0196	5.23 ± 0.0816	4.5 ± 0.0452
安徽芜湖	7.71 ± 0.101	1.09 ± 0.0601	9.14 ± 0.1820	11.7 ± 0.0345
山东烟台	4.44 ± 0.089	0.34 ± 0.0201	5.52 ± 0.0403	5.0 ± 0.0259
浙江东阳	5.26 ± 0.107	0.74 ± 0.0305	6.81 ± 0.0396	5.0 ± 0.0427

2.2 不同产地楮实子提取物对小鼠肝组织中丙二醛的影响 实验结果表明,各产地楮实子醇、水提取物均可抑制小鼠正常肝组织自氧化 MDA 的产生,

且山西、广西及安徽三个产地的楮实子醇提物的抑制肝组织脂质过氧化反应的作用优于维生素 E(500 mg/L)。详情见表 2。

表 2 不同产地楮实子的水浸出物对小鼠肝匀浆脂质过氧化产物 MDA 的影响(n=3, x±s)

组别	水浸出物浓度 (g 生药材/mL)	MDA (nmol/mg)	抑制率(%)	醇浸出物浓度 (g 生药材/mL)	MDA (nmol/mg)	抑制率(%)
新疆乌鲁木齐	1	1.45 ± 0.021 ¹⁾	19.89	1	1.25 ± 0.011 ¹⁾	30.94
山西长治	1	1.50 ± 0.032 ¹⁾	17.12	1	1.08 ± 0.023 ¹⁾	40.33
河南遂平	1	1.58 ± 0.040 ¹⁾	12.71	1	1.24 ± 0.038 ¹⁾	32.60
广东广州	1	1.54 ± 0.029 ¹⁾	14.92	1	1.31 ± 0.042 ¹⁾	27.62
广西桂林	1	1.57 ± 0.011 ¹⁾	13.26	1	1.11 ± 0.011 ¹⁾	38.67
贵州贵阳	1	1.49 ± 0.024 ¹⁾	17.68	1	1.26 ± 0.024 ¹⁾	30.39
湖北武汉	1	1.55 ± 0.031 ¹⁾	14.36	1	1.19 ± 0.031 ¹⁾	34.25
安徽芜湖	1	1.32 ± 0.016 ¹⁾	27.07	1	1.10 ± 0.013 ¹⁾	39.23
山东烟台	1	1.52 ± 0.026 ¹⁾	16.02	1	1.23 ± 0.026 ¹⁾	32.04
浙江东阳	1	1.51 ± 0.032 ¹⁾	16.57	1	1.18 ± 0.041 ¹⁾	34.81
自氧化组	-	1.81 ± 0.010				
维生素 E 组	500 mg/L	1.13 ± 0.018 ¹⁾	37.57			

与自氧化组比较: ¹⁾P < 0.05

3 讨论

3.1 楮实子原植物构树在我国大部分地区均有分布,历年药典均以灼烧后的灰分为其药材质量评价指标,以灰分含量越少质量越优。从实验结果发现,10 个产地的药材总灰分的含量均低于药典规定的标准 8.0%,酸不溶性灰分低于 1.2%^[6],山东烟台、浙江东阳和广东广州三个产地的楮实子的灰分含量远低于药典规定的标准,从这一点说为上品。近年来研究发现楮实子水提取物有改善衰老模型实验动物的记忆能力,水提物及醇提物有抗疲劳作用和比较显著的耐缺氧作用,对正常小鼠疲劳、缺氧等刺激因子具有增强应激保护效用^[7],而本实验研究也发现楮实子的水、醇提取物有较明显的抗小鼠肝匀浆脂质过氧化的作用,因此建议中国药典再版时收载水、醇浸出物含量。

3.2 衰老的自由基学说认为,衰老是由自由基引起组织损伤的结果^[5]。临床发现,体内脂质过氧化产

物增多,抗氧化酶活性降低是衰老的重要生理变化^[8]。脑衰老过程中,神经元脂质过氧化物(LPO)降解,形成丙二醛(MDA)、烷烃等终末产物发生生物大分子于交联作用,造成细胞内衰老色素和脂褐素堆积,形成常见“寿斑”。其中 MDA 的含量可直接反应机体氧化损伤的程度。本实验证实,无论楮实子水或醇提物都有抑制小鼠肝组织中 MDA 生成的作用,这正验证了楮实子中医临床上的抗衰老的作用,也为将楮实子开发成抗衰老或保健药提供一定的科学依据。

参考文献:

- [1] 陶弘景. 名医别录[M]. 北京:人民卫生出版社,1986:414.
- [2] 黄宝康,秦路平,郑汉臣,等. 中药楮实子及其原植物的本草考证[J]. 中药材,2002,25(5):356.
- [3] 戴新民,张尊样,付中先. 楮实对小鼠学习和记忆的促进作用及临床研究[J]. 中药药理与临床,1997,(5):27.
- [4] 戴新民,张尊样,杨然. 楮实对老年痴呆血液 LPO、SOD 和脂蛋白的影响[J]. 解放军药理学学报,1999,15(4):5.
- [5] 张洪泉. 抗衰老药理学新论[M]. 北京:人民卫生出版社,

- 2004:6.
 [6] 中国药典 2005 年版. 一部[S]. 附录, 2005:48, 56, 235.
 [7] 黄宝康, 秦路平, 郑汉臣, 等. 中药楮实子强壮滋补作用研究[J], 中华临床医药, 2004, 5(1):38.

- [8] 赵克毅. 氧自由基与临床[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1999:134.

收稿日期:2005-09-22

褶合光谱法检测限预测系统

陈 岚¹, 朱臻宇², 吴玉田², 柴逸峰², 曹颖瑛², 孙连娜² (1. 南京军区杭州疗养院海勤疗养区, 浙江 杭州 310002; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 建立褶合光谱法检测限预测系统。方法: 分别采用两种方法对检测限进行预测。结果: 在两个混合体系中, 预测方法与实际测得结果相符。结论: 检测限预测系统操作快速、简便, 有利于方法的比较与选择。

关键词 限量检查; 检测限; 褶合光谱法; 预测系统

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2006)03-0152-03

Forecasting system of detection limit based on convolution spectrum method

CHEN Lan¹, ZHU Zhen-yu², WU Yu-tian², CHAI yi-feng², CAO Ying-ying², SUN Lian-na² (1. Naval Resting Therapy Zone, Hangzhou Convalescent Hospital of Nanjing Command of PLA, Hangzhou 310002, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To construct the forecasting system of limit test for convolution spectrum method. **Methods:** Two methods were used to forecast the limit of detection. **Results:** The results from forecasting method were in consistent with those from experiment in two mixture systems. **Conclusion:** The forecasting system of limit test is quick and simple to handle, and favours the methods comparison and selection.

KEY WORDS limit test; limit of detection; convolution spectrum method; forecasting system

在药物分析中, 常需对与主成分紫外吸收光谱相似的杂质作限量检查。因杂质含量低, 其往往被吸收相似的主成分所掩盖, 一般采用色谱技术加以分离后再进行测定^[1,2], 较为繁琐。褶合光谱法的模式识别系统, 可揭示杂质吸收对整个紫外可见光区的光吸收特性细微变化, 以检出杂质的存在, 在实际应用中具有灵敏度高, 无需分离的优点^[3,4]。本文通过建立褶合光谱法杂质检测限智能预测系统, 给予用户一个方法效能指标的估计参数, 简化了化学操作, 为方法的选择提供依据。

1 原理

根据紫外可见光谱的两个基本属性——线性和加和性, 混合物光谱可采用混合物中各单组分的实际光谱, 按浓度比例进行纯数学加和后, 再加入模拟的仪器噪声分布来构造, 其公式:

$$\alpha = C_1\beta + C_2\gamma + \dots + e \quad (1)$$

式中 α 为混合物光谱向量, β 、 γ 为各单组分的光谱向量, C_1 、 C_2 为相应单组分的浓度, e 为混合物

光谱中的误差向量。本文提出以下二种方法对误差分布进行模拟^[5,6]:

1.1 偶然误差分布法 仪器噪声分布的大小和方向有较强的随机性, 可采用符合一定标准偏差正态分布的模拟信号替代, 通过对一个样品进行实测得出的检测限, 从一系列标准偏差中, 找出最符合采样仪器误差分布实际情况的一个, 构造检测限预测系统。

1.2 基线采样法 因仪器噪声随采样过程, 可能会出现定向漂移等非偶然性变化。为在检测限预测过程中, 更好地估计这些因素对结果的影响, 我们可采用基线采样法估计误差分布。其过程是: 以空白替代样品, 采集其基线吸收数据组群, 以获得仪器在实际采样时, 可能出现的误差分布, 并以其作为误差向量, 构造检测限预测系统。

2 仪器与试剂

UV/Vis - W 褶合光谱仪(第二军医大学研制); 十万分之一电子天平(梅特勒, 美国); (液体涡旋混