

# 人参皂苷 Ro 对胃癌细胞 MFC 增殖和凋亡的影响

王小平, 王鹏飞, 白吉庆, 权利娜, 王芳, 郭洁

(陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046)

**摘要:** 目的 探讨人参皂苷 Ro 对胃癌细胞 MFC 增殖和凋亡的影响。方法 采用 MTT 染色法检测 MFC 细胞的增殖抑制率; 流式细胞仪检测 MFC 细胞周期和凋亡情况; MFC 移植瘤小鼠 经受试药物处理后 剥取瘤组织称量并计算抑瘤率。结果 与对照组比较, 人参皂苷 Ro 在 6~96  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内对 MFC 细胞增殖的抑制率随浓度的增加而显著升高。与对照组比较, 人参皂苷 Ro 高剂量组对 MFC 细胞 G0/G1 期和凋亡率明显升高, G2/M 期, S 期明显降低; 人参皂苷 Ro 各剂量组均能显著抑制肿瘤生长, 与模型组比较, 各给药组肿瘤的质量明显降低, 其中, 高剂量组的抑瘤率为 62.7%。结论 人参皂苷 Ro 对 MFC 移植瘤具有抑制生长的作用, 这可能与诱导 MFC 细胞凋亡和抑制增殖有关。

**关键词:** 人参皂苷 Ro; 胃癌; MFC 细胞; 流式细胞仪; 细胞凋亡; MTT 染色法; 细胞增殖; 小鼠

中图分类号: R96

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2017)05-0499-03

DOI: 10.13375/j.cnki.wjps.2017.05.015

## The antitumor effects of ginsenoside Ro on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells MFC

WANG Xiaoping, WANG Pengfei, BAI Jiqing, QUAN Lina, WANG Fang, GUO Jie

(Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi 712046, P. R. China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** To investigate the antitumor effects of ginsenoside Ro on proliferation and apoptosis of murine gastric cancer MFC cells. **METHODS** MTT was employed to detect proliferation of MFC cells. Flow cytometry was used to examine the cell cycle progression and apoptosis of MFC cells. MFC tumor bearing mice were treated, and the tumor tissue was dissected and weighted. The tumor inhibition rate was calculated. **RESULTS** Ginsenoside Ro was within 6-96  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . MFC cell proliferation inhibition rate was significantly increased with the increase of the concentration (compared with that in the 6.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  group). The ratio of G0/G1 cells was significantly increased, and the ratio of G2/M cells was significantly reduced in high-dose ginsenoside Ro groups as compared with the blank group. All doses of ginsenoside Ro significantly inhibited the tumor growth (compared with that in the model group) and the tumor inhibition rate in high-dose ginsenoside Ro was 62.7%. **CONCLUSION** Ginsenoside Ro has antitumor effect on tumor bearing mice. The mechanism may be related to the inhibition of cell proliferation and the induction of cell apoptosis.

**Key words:** Ginsenoside Ro; gastric cancer; MFC cell; Flow cytometer; Cell apoptosis; MTT assay; Cell proliferation; Mouse

CLC number: R96

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2017)05-0499-03

近年来,从植物中寻找安全有效的抗肿瘤成分已成为抗肿瘤的热点,许多天然来源的成分,特别是人参皂苷显示出不同程度的抗肿瘤作用<sup>[1-3]</sup>。藤珠胃康颗粒是由陕西中医药大学沈舒文教授从临床常用基本方中筛选出来制得的颗粒剂,主要用于胃癌的防治<sup>[4]</sup>。而人参皂苷 Ro 是该制剂中含量最高的皂苷类成分,来源于处方中的珠子参。现通过观察人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞增殖和凋亡的影响,可为藤珠胃康颗粒的研究奠定基础。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与动物

二氧化碳培养箱(南京娇子藤科学器材有限公

司);酶标仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);流式细胞仪(贝克曼库尔特公司)。人参皂苷 Ro(陕西中医药大学中药化学教研室,纯度 >90.0%)。胎牛血清、PBS 漂洗液、青链霉素混合液、RPMI-1640 培养基、0.25% 的胰蛋白酶、AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、环磷酰胺(Sigma 公司);MFC 细胞(小鼠胃癌细胞株,武汉博士德生物工程有限公司)。SPF 级  $\delta$  昆明小鼠[西安交通大学医学部实验动物中心,许可证号:SCXK(陕)2012-003],重量  $20 \pm 2$  g。

### 1.2 方法与结果

1.2.1 细胞的培养 取出 MFC 细胞冻存管,于

基金项目:陕西省科技厅资助项目(2012KTCL03-14);陕西省科技厅中药现代化项目[2009K19-03(2)]

作者简介:王小平(1976—),女,陕西宝鸡,博士,从事中药药效物质基础与新药的研究工作。Email: wangxiaoping323@126.com

37 ℃水浴中解冻,离心除去冻存液,加入已配制含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,吹打均匀并移至细胞培养瓶中,于37 ℃、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。1~2 d换1次液,3~4 d传代,取对数生长期的细胞用于实验。

**1.2.2 人参皂苷 Ro 对体外 MFC 细胞生长抑制率的测定** 取对数生长期的 MFC 细胞,用 0.25% 胰蛋白酶分散细胞,再用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液调整细胞密度为  $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,接种于 96 孔细胞培养板中,每孔中加入 100  $\mu\text{L}$  细胞悬液,置 5% CO<sub>2</sub>、37 ℃ 培养箱中培养 24 h,分组。对照组孔中加入 RPMI 1640 培养液,给药组孔中给予人参皂苷 Ro,使其终质量浓度分别为 96、48、24、12、6  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。每组设定 3 个复孔,置 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h,每孔中加入 10  $\mu\text{L}$   $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT 溶液,培养 4 h,弃去上层液体,每个复孔中加入 150  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜溶液,振荡 10 min,使结晶溶解,采用酶标仪于 570 nm 处测吸光度(A),采用均值计算细胞增殖抑制率。重复 3 次实验。细胞增殖抑制率% =  $(A_{\text{对照孔}} - A_{\text{给药孔}}) / A_{\text{对照孔}} \times 100\%$ 。6~96  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞的增殖有不同程度的抑制作用,随着人参皂苷 Ro 浓度的增加,抑制率明显升高 ( $P < 0.01$ ) (表 1)。

表 2 人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞周期和凋亡的影响( $\bar{x} \pm s$   $n=3$ )

Table 2 Cell cycle and apoptosis of ginsenoside Ro on MFC( $\bar{x} \pm s$   $n=3$ )

Groups	Dose/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	G0/G1 phase	S phase	G2/M phase	Apoptotic rate/%
Black control	-	47.82 $\pm$ 3.75	30.40 $\pm$ 1.76	18.42 $\pm$ 3.12	1.75 $\pm$ 0.27
Ginsenoside Ro	6	49.12 $\pm$ 8.34	29.32 $\pm$ 7.84	18.54 $\pm$ 7.58	1.76 $\pm$ 4.23
	12	77.92 $\pm$ 6.47*	1.45 $\pm$ 0.44**	16.76 $\pm$ 2.76	5.54 $\pm$ 1.43*
	24	84.81 $\pm$ 7.99**	3.48 $\pm$ 0.50**	11.64 $\pm$ 1.59	15.41 $\pm$ 2.13*
	48	86.34 $\pm$ 1.57**	2.61 $\pm$ 0.66**	11.66 $\pm$ 2.42**	25.67 $\pm$ 2.79**
	96	86.30 $\pm$ 3.54*	2.64 $\pm$ 3.45*	12.86 $\pm$ 13.65*	26.78 $\pm$ 6.47*

Compared with blank control group: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**1.2.4 人参皂苷 Ro 对荷瘤小鼠瘤质量及抑瘤率的影响** 取 75 只昆明小鼠,用无菌生理盐水调整胃癌(MFC)细胞浓度为  $5 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,接种于小鼠右腋下,每只 0.2 mL,随机均分为模型组、人参皂苷 Ro(低、中、高剂量分别为 0.2、0.4、0.8  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  人参皂苷 Ro,分别相当于珠子参生药量 28、14、7  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,为成人临床剂量的 4、2、1 倍)剂量治疗组、环磷酰胺组(20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  环磷酰胺)。均灌胃给药,连续 10 d。灌胃模型组小鼠等体积生理盐水。末次给药 24 h 后,处死小鼠,剥取瘤组织称量,计算抑瘤率。抑瘤率% =  $(\text{平均瘤质量}_{\text{对照组}} - \text{平均瘤质量}_{\text{实验组}}) / \text{平均瘤质量}_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。与模型组比较,各给药组的肿瘤质量明显降低 ( $P < 0.05$ ),抑瘤率增加,在实验的剂量范围内,抑瘤率随人参皂苷 Ro 剂量的增加而增高

表 1 人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞增殖抑制的影响( $\bar{x} \pm s$   $n=3$ )

Table 1 Inhibitory rates of ginsenoside Ro on MFC( $\bar{x} \pm s$   $n=3$ )

Groups	Dose/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	A	Inhibitory activity/%
Blank control	-	0.872	0
Ginsenoside Ro	6	0.745	14.5 $\pm$ 1.18
	12	0.659	24.4 $\pm$ 2.34*
	24	0.539	38.2 $\pm$ 1.64*
	48	0.354	59.4 $\pm$ 2.26*
	96	0.314	64.0 $\pm$ 3.63*

Compared with blank control group: \*  $P < 0.01$

**1.2.3 人参皂苷 Ro 对体外 MFC 细胞周期及凋亡的影响** 取  $5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$  MFC 细胞接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,培养 24 h。分组,给药组孔中加入人参皂苷 Ro,使其终质量浓度为 6、12、24、48、96  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;对照组孔中加入等体积的培养液,各组均设定 3 个复孔,培养 48 h,收集细胞,离心,弃上清液,用 PBS 离心洗涤 2 次,加入 100  $\mu\text{L}$  Binding Buffer 重悬细胞,加入 5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和 5  $\mu\text{L}$  PI,轻轻混匀,避光、于室温下反应 10 min,用流式细胞仪检测。计算增殖抑制率 =  $(1 - A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}}) \times 100\%$ 。与对照组比较,各给药组 MFC 细胞的 G0/G1 期和凋亡率明显升高 ( $P < 0.05$ ),G1/G0 期阻滞和凋亡率显著增加 ( $P < 0.05$ ),S 期明显降低 ( $P < 0.01$ ),高剂量孔的 G2/M 期降低显著 ( $P < 0.01$ ) (表 2)。

(表 3)。

表 3 人参皂苷 Ro 对小鼠移植瘤质量及抑瘤率的影响( $\bar{x} \pm s$   $n=15$ )

Table 3 Effects of quality and inhibitory rates of ginsenoside Ro on the mice transplanted tumor( $\bar{x} \pm s$   $n=15$ )

Groups	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Tumor mass/g	Tumor xenografts/%
Model	-	3.01 $\pm$ 0.35**	-
Cyclophosphamide	30	0.58 $\pm$ 0.27	80.73 $\pm$ 2.12
Ginsenoside Ro	200	2.27 $\pm$ 0.38*	19.93 $\pm$ 2.34
	400	1.81 $\pm$ 0.16*	39.87 $\pm$ 2.49
	800	1.17 $\pm$ 0.23**	62.79 $\pm$ 3.31

Compared with model group: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**1.2.5 统计学方法** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 11.0 统计软件分析,先进行方差齐性检验,然后进

行方差分析 ,Dunnett 法进行组间比较 , $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 讨论

多数肿瘤的发生与细胞的增殖速度和细胞死亡速度有关 ,细胞周期控制是细胞增殖的主要调节机制 ,药物通过阻滞细胞周期 ,进而抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡<sup>[5-6]</sup>。文中观察了人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞周期分布的影响 ,结果显示 :人参皂苷 Ro 可将 MFC 细胞阻滞于 G0/G1 期 ,诱导 MFC 细胞凋亡。提示人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞的抑制作用可能是通过对该细胞的 G0/G1 期周期阻滞作用和诱导凋亡作用实现的。MTT 实验显示 :人参皂苷 Ro 对 MFC 细胞增殖有明显的抑制作用 ,表明在实验浓度范围内 ,体外试验中随着人参皂苷 Ro 的浓度增加 ,其对 MFC 细胞增殖率的抑制作用和促凋亡作用逐渐增强 ,诱导 MFC 细胞凋亡 ,延缓细胞分裂增殖速度 ,抑制胃癌细胞的生长 ;体内试验也表现出较好的抗肿瘤作用。

初步证实人参皂苷 Ro 通过作用于细胞的不同周期和诱导细胞凋亡来达到抗胃癌的作用。但其诱导细胞凋亡的调控基因还待研究。

## 参考文献:

- [1] 刘超 ,张欣 ,赵东东. 珠子参总皂苷肠吸收机制研究[J]. 中 南 药 学 2013 ,11(3) : 191 - 193.
- [2] 姜卫卫 ,刘嘉. 人参皂苷 Rb1、Rg3、Rh2 抗肿瘤作用与机制概 况[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化 ,2013 ,15(7) : 1634 - 1637.
- [3] 权愷 ,刘群. 人参皂苷抗癌活性的最新研究进展[J]. 医学研 究生学报 ,2015 ,28(4) : 427 - 431.
- [4] 王金 ,王芳 ,王小平 ,等. 藤珠胃康颗粒急性毒性和长期毒性 试验[J]. 现代中医药 ,2016 ,36(4) : 68 - 71
- [5] 权愷 ,刘群 ,李萍 ,等. 人参皂苷抗癌活性的最新研究进展 [J]. 医学研究生学报 ,2015 ,28(4) : 427 - 431.
- [6] 岳文华 ,徐坤 ,冯育林 ,等. 白头翁皂苷 D 体外抗肝癌作用及 其机制研究[J]. 中草药 ,2014 ,45(22) : 3295 - 3301.

收稿日期:2016 - 05 - 23

# 妇科止带片的体外溶出度比较

宋建芬 ,董海彦

(青海省药品检验检测院 ,青海 西宁 810016)

**摘要:** 目的 比较不同生产厂家妇科止带片的体外溶出情况 ,为临床用药提供参考。方法 参照日本“药品品质再评价”在 溶出度中所拟定的模拟人体消化道内体液的 4 种溶出介质及溶出度实验条件的规定 ,考察了不同药厂妇科止带片在 4 种溶出 介质中的体外溶出情况 ,并进行了比较。结果 7 家药厂的妇科止带片只有 1 家的在 4 种溶出介质中的溶出状况均较好 ,且 在 60 min 时 ,在溶出介质 I、IV 条件下的累积溶出百分率大于 65% ,在溶出介质 II、III 条件下的累积溶出百分率大于 80% ;其 他药厂的妇科止带片在 4 种溶出介质中的溶出状况不尽相同。在溶出介质 II、III 的条件下 ,7 家药厂的妇科止带片在 60 min 时的累积溶出百分率均大于 65% ,综合比较 ,在溶出介质 III 条件下的溶出状况较佳。结论 不同厂家生产的妇科止带片的体 外溶出差异较大 ;其质量水平差异显著。

**关键词:** 妇科止带片 ; 小檗碱 ; 含量测定 ; 溶出度 ; 溶出介质 ; 累积溶出百分率 ; 相似因子 ; 质量控制

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006 - 0103(2017)05 - 0501 - 04

DOI: 10.13375/j.cnki.wcjs.2017.05.016

## Comparison of the dissolution of Fuke Zhidai tablets

SONG Jianfen ,DONG Haiyan

(The Institute for Drug Control of Qinghai Province ,Xining ,Qinghai 810016 P. R. China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** By comparing the dissolution of Fuke Zhidai tablets(FZT) from different manufacturers ,this study aims to provide more scientific reference for clinical medication. **METHODS** According to Japan's drug quality's reevaluation in dissolution to simulate 4 kinds of dissolution medium conditions of human body fluids in the digestive tract ,and dissolution experiment ,the study were conducted to determine FZT from different pharmaceutical factories in four kinds of dissolution medium *in vitro*. **RESULTS** FZT from only one factory out of seven had good dissolution in the four different mediums. At 60 min ,it had more than 65% cumulative dissolu-

作者简介: 宋建芬(1964—) ,副主任药师 ,从事药品检验及管理工作。Email: sjf007009080@sina.com