

公石松抗运动性疲劳的活性部位筛选[△]

石鹤坤*, 邱韵玲, 陈开杰, 杨钦磊, 陈锦珊#(解放军第175医院/厦门大学附属东南医院药学科, 福建漳州 363000)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1343-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.14

摘要 目的:筛选公石松抗运动性疲劳的活性部位。方法:用80%乙醇提取制备公石松浸膏,用水分散后依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,得各部位提取物。将70只小鼠随机分为空白对照(1%羧甲基纤维素钠,CMC-Na)组、阳性对照[大株红景天胶囊,590 mg/(kg·d)]组和公石松石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇提取物组及水层组(分别记为TS、TL、TY、TZ、TW组),公石松提取物组小鼠均按2.5 g(生药)/(kg·d) ig给药,连续7 d,测定小鼠负重游泳力竭时间。将70只小鼠按上述方法分组给药,测定小鼠体内肝糖原、肌糖原含量和肝脏系数。将80只小鼠除按上述方法分组给药外增设模型(1% CMC-Na溶液)组,不负重游泳90 min后测定小鼠血清中乳酸、肌酸激酶及尿素氮含量。结果:与空白对照组比较,TS、TY、TZ组小鼠负重游泳力竭时间延长,TY、TZ、TW组小鼠体内肝糖原含量增加,TS、TW组小鼠体内肌糖原含量增加,模型组小鼠血清中尿素氮、乳酸、肌酸激酶含量增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,TS、TY组小鼠血清中尿素氮含量减少,TZ组及TW组小鼠血清中乳酸含量减少,TS组小鼠血清中肌酸激酶含量减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:公石松的石油醚、正丁醇部位和水层具有较好的抗疲劳活性。

关键词 公石松;活性部位;抗疲劳;负重游泳;糖原;小鼠

Screening of Gongshisong's Active Sites for Anti-sports Fatigue

SHI Hekun, QIU Yunling, CHEN Kaijie, YANG Qinlei, CHEN Jinshan (Dept. of Pharmacy, No. 175 Hospital of PLA/Southeast Affiliated Hospital of Xiamen University, Fujian Zhangzhou 363000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen Gongshisong's active sites for anti-sports fatigue. METHODS: Gongshisong extract was prepared with 80% ethanol extraction technology, and extracted with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and *n*-butyl alcohol after dispersed with water to obtain the extract. 70 mice were randomly divided into blank control group (1% sodium carboxymethylcellulose, CMC-Na), positive control group [Rhodiola wallichiana capsules, 590 mg/(kg·d)], petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and *n*-butyl alcohol extracts and aqueous layer of Gongshisong groups (TS, TL, TY, TZ, TW groups). Gongshisong extracts groups was given relevant medicine 2.5 g(crude drug)/(kg·d), ig, for consecutive 7 days. Exhaustion time of burden swimming test was detected. 70 mice were grouped according to above method, and the contents of liver glycogen, muscle glycogen and the coefficient of liver were tested in mice. 80 mice were grouped according to above method, and model group was established additionally (1% CMC-Na). The contents of lactic acid (LA), creatine kinase (CK) and urea nitrogen (BUN) in serum of mice were determined after 90 minutes of unburden swimming. RESULTS: Compared with blank control group, exhaustion time of burden swimming mice in TS, TY and TZ groups prolonged; the content of liver glycogen increased in TY, TZ and TW groups; the content of muscle glycogen increased in TS and TW groups; the contents of BUN, LA and CK in mice increased in model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the serum content of BUN in mice decreased in TS and TY groups; that of LA in mice decreased in TZ and TW groups; that of CK in mice decreased in TS group ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: The petroleum ether and *n*-butanol extract site and water layer of Gongshisong are good anti-fatigue active sites.

KEYWORDS Gongshisong; Active site; Anti-fatigue; Burden swimming; Glycogen; Mice

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:263.
- [2] 田原. 我国中药注射剂发展现状 & 前景述评[J]. 中国现代中药, 2009, 11(1):35.
- [3] 侯家玉. 中药药理学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:31-33.
- [4] 姜勇, 鲍忠, 石子仪, 等. 柴胡注射液化学成分分析与质量标准探讨[J]. 中国药品标准, 2012, 13(5):332.
- [5] 高阳, 王志斌, 左泽平, 等. 柴胡注射液对LPS发热模型大鼠解热药效的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(10):696.
- [6] 孟庆刚, 王微, 李强, 等. 黄芩解热作用的谱效关系研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(6):379.
- [7] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2002:993.
- [8] 李红明, 秦贵和, 郝勃, 等. 模糊匹配中的匹配度计算方法[J]. 计算机工程, 2010, 36(6):184.
- [9] 李强, 杜思邈, 张忠亮, 等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药, 2013, 44(22):3 905.
- [10] 李雨, 李骁, 薛付忠, 等. 基于人工神经网络的中药性判别研究[J]. 山东大学学报:医学版, 2011, 49(1):57.
- [11] 魏航, 林励, 张元, 等. 灰色系统理论在中药色谱指纹图谱模式识别中的应用研究[J]. 色谱, 2013, 31(2):127.
- [12] 胡芳, 杨英来, 刘小花, 等. 补中益气丸补气疗效的谱-效关系研究[J]. 中国药房, 2014, 25(3):195.

△基金项目:解放军第175医院青年苗圃基金资助项目(No.13Y017)
*药师, 硕士。研究方向:中药药理学。电话:0596-2975884。E-mail:zzpshk@163.com

#通信作者:主管药师。研究方向:医院药事管理、临床药学。电话:0596-2925193。E-mail:cjs1223@sohu.com

(收稿日期:2015-08-28 修回日期:2015-11-23)
(编辑:林静)

运动性疲劳是由运动引起的机体工作能力暂时降低,经过适当休息和调整后又可以恢复的生理现象。过度疲劳不仅损害机体的肌肉、心血管和内分泌等多个系统,导致肌肉软弱、食欲下降、精神萎靡等,还可引发或加重多种疾病。抗疲劳的化学药物尽管在延缓疲劳发生和消除疲劳方面有较好的效果,但多存在发生心血管事件、干扰睡眠、使精神紊乱、具有成瘾性等缺陷。

公石松为兰科(*Orchidaceae*)血叶兰属植物血叶兰(*Ludisia discolor* A.Rich)的全草,是极具闽南民间特色的一味中草药^[1]。其味甘、微涩,性凉,具有滋阴润肺、健脾安神、凉血、止血等功效,主治肺癆咯血、食欲不振、神经衰弱、高烧不退、咽喉肿痛、脾胃炎等症^[2]。其药用价值在闽南地区备受推崇,但相关的研究文献较少,关于公石松抗疲劳作用的研究至今未见报道。中医认为:疲劳以“精气夺则虚”为基本病机,脾肾亏虚是其主要病理,运动性疲劳的心、肺虚损多表现为与脾、肝共同虚损的病理。故本文主要研究公石松的不同提取部位的抗疲劳作用,以筛选公石松抗运动性疲劳的活性部位,为其进一步开发利用提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

ADVIA 2400全自动生化分析仪(德国西门子公司);Pico-17离心机(美国赛默飞世尔公司);BS223S电子天平(德国赛多利斯集团公司);420-A恒温水浴箱(姜堰市新康医疗器械有限公司);UV-2550紫外分光光度计(日本岛津公司)。

1.2 药材、药品与试剂

公石松药材(批号:20140822)购于漳州山珍金线莲有限公司,经天津中医药大学中药学院中药资源教研室李先宽老师鉴定为*Ludisia discolor* A.Rich的干燥全草;大株红景天胶囊(江苏康缘药业股份有限公司,批号:130907,规格:0.38 g/粒);肌/肝糖原试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20141225);肌酸激酶(CK)试剂盒(批号:D1406073)、乳酸(LA)试剂盒(批号:274240)、尿素氮(BUN)试剂盒(批号:D1409033)均购于上海复星长征医学科学有限公司。

1.3 动物

清洁级KM小鼠,♂,220只,体质量(20±2)g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号:SCXK(沪)2012-0002]。实验动物环境及设施符合《中华人民共和国实验动物规范》(GB14925-95)。实验在厦门大学附属东南医院中心实验室进行[许可证号:SYXK(军)2012-054]。实验获得厦门大学附属东南医院实验动物伦理委员会批准,按实验动物使用的3R原则给予人道的关怀。

2 方法

2.1 药物的提取制备和给药剂量的设置

2.1.1 药物的提取制备 取公石松药材粗粉1 810 g,加入10倍量80%乙醇,回流提取3次,合并提取液,回收乙醇得浸膏569 g(得率为31.44%,即1 g浸膏相当于3.18 g原药材)。将浸膏用1 000 ml水分散制成混悬液,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,回收试剂分别得石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇部位提取物62.3、89.3、34.8、76.3 g及水层提取物279.2 g,得率分别为3.44%、4.93%、1.92%、4.22%、15.42%。

2.1.2 给药剂量的设置 公石松民间的临床成人用法用量为每日3次,每次3.125 g,共9.375 g(生药)/(kg·d),换算为小鼠的等效剂量为1.22 g(生药)/(kg·d),但预实验结果显示给予小鼠2.5 g(生药)/(kg·d)公石松有较好的抗疲劳效果。因此,各提取物以1%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液搅拌均匀制得以

2.5 g(生药)/(kg·d)为小鼠给药剂量的药液,根据“2.1.1”项下各部位提取物得率进行换算,则石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水层提取物给药剂量分别为86、123、48、106、386 mg/(kg·d)。红景天抗疲劳作用疗效确切,已进行大量的研究,故选为阳性对照药。将大株红景天胶囊研磨成细粉,以1% CMC-Na溶液搅拌均匀制成混悬液,以剂量590 mg/(kg·d)(根据体表面积法换算为人临床用量的等效剂量)给药。

2.2 小鼠负重游泳实验

取KM小鼠70只,随机分为7组,即空白对照组、阳性对照(大株红景天胶囊)组和公石松石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇提取物组及水层组(分别记为TS、TL、TY、TZ、TW组),每组10只。各给药组分别按“2.1.2”项下剂量ig相应药液,空白对照组ig等体积的1% CMC-Na溶液,每天1次,连续给药7 d。末次给药30 min后,各组小鼠按照体质量的5%在尾根部负重铅丝,将负重小鼠放入水深30 cm的游泳箱中游泳,水温为(30±1)℃,记录小鼠从游泳开始至死亡的时间(以小鼠沉入水底、10 s内不能浮出水面为溺死指标)。

2.3 小鼠肝糖原、肌糖原含量及肝脏系数测定实验

取KM小鼠70只,按“2.2”项下方法进行分组,按“2.1.2”项下剂量给药。末次给药30 min后,称定各组小鼠体质量;然后将小鼠颈椎脱臼处死,取出小鼠肝脏,经生理盐水漂洗后用滤纸吸干,测定肝脏湿质量,计算肝脏系数(肝脏系数=肝脏湿质量/体质量×100%)。各称取80~100 mg肝脏与肌肉,将样本与碱液按1:3加入试管进行水解,沸水浴20 min后,流水冷却试管,将肝糖原水解液制备成1%检测液,并制备空白液与标准液,混匀,沸水浴5 min,冷却。采用紫外分光光度计于620 nm波长处测定样品光密度(OD)值,计算肝糖原和肌糖原的含量,计算公式如下:肝/肌糖原含量(mg/g)=测定管OD值/标准管OD值×标准管含量(0.01 mg)×样本测试前稀释倍数×10÷1.11。

2.4 小鼠生化指标测定

取KM小鼠80只,按体质量随机分为8组,即空白对照组、模型组、阳性对照(大株红景天胶囊)组和TS、TL、TY、TZ、TW组,每组10只。空白对照组和模型组小鼠ig等体积1% CMC-Na溶液,其余各给药组给药剂量同“2.1.2”项下,每天1次,连续给药7 d。末次给药30 min后,除空白对照组外,将其余各组小鼠置于水深30 cm的游泳箱中游泳,水温为(30±1)℃,不负重游泳90 min。游泳结束后,立即摘除小鼠眼球进行采血,以离心半径为7 cm、3 000 r/min离心10 min,收集血清,严格按试剂盒说明书测定小鼠血清中BUN、LA和CK的含量。

2.5 统计学方法

采用SPSS 13.0软件统计分析。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较使用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠负重游泳力竭时间的测定结果

给予公石松提取物及大株红景天胶囊后均可延长小鼠负重游泳力竭时间。除TL、TW组外,其余各组小鼠的负重游泳力竭时间与空白对照组比较显著延长($P < 0.05$)。各组小鼠负重游泳力竭时间的测定结果见表1。

3.2 小鼠肝、肌糖原含量及肝脏系数测定结果

除TL组外,其余各组小鼠的肝糖原含量均高于空白对照组,TZ、TW和阳性对照组较空白对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),TL组较空白对照组差异有统计学意义($P < 0.01$);各给药组小鼠的肌糖原含量均高于空白对照组,TS、TW组较

表1 各组小鼠负重游泳力竭时间的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Exhaustion time of burden swimming of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/(kg·d)	负重游泳力竭时间,min
空白对照组		61.85 ± 15.01
TS组	86	76.73 ± 13.21*
TL组	123	73.67 ± 17.02
TY组	48	79.07 ± 18.87*
TZ组	106	76.10 ± 14.86*
TW组	386	68.86 ± 14.60
阳性对照组	590	76.55 ± 10.87*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$

空白对照组差异有统计学意义($P < 0.01$);各给药组小鼠的肝脏系数与空白对照组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠肝、肌糖原含量及肝脏系数的测定结果见表2。

表2 各组小鼠肝、肌糖原含量及肝脏系数的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Contents of liver glycogen, muscle glycogen and coefficient of liver of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/(kg·d)	肝糖原含量,mg/g	肌糖原含量,mg/g	肝脏系数,%
空白对照组		4.52 ± 3.07	0.98 ± 0.36	6.69 ± 0.41
TS组	86	6.28 ± 2.88	1.56 ± 0.45**	6.82 ± 1.45
TL组	123	3.24 ± 1.62	1.30 ± 0.78	6.99 ± 0.50
TY组	48	10.39 ± 5.09**	1.37 ± 0.18	6.33 ± 0.42
TZ组	106	8.74 ± 4.04*	1.14 ± 0.36	6.57 ± 0.59
TW组	386	10.75 ± 7.11*	1.52 ± 0.45**	6.52 ± 1.15
阳性对照组	590	10.00 ± 5.64*	0.99 ± 0.24	6.40 ± 0.67

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.3 小鼠血清中BUN、LA、CK含量测定结果

与空白对照组比较,模型组小鼠血清中BUN、LA、CK含量增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明小鼠造模成功。与模型组比较,各给药组小鼠血清中BUN、LA、CK含量不同程度地增加,其中TS组小鼠血清中BUN含量较模型组差异有统计学意义($P < 0.01$),TY组小鼠血清中BUN含量较模型组差异有统计学意义($P < 0.05$);TZ组小鼠血清中LA含量较模型组差异有统计学意义($P < 0.01$),TW组小鼠血清中LA含量较模型组差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组小鼠血清中BUN、LA、CK含量测定结果见表3。

表3 各组小鼠血清中BUN、LA、CK含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mmol/L}$)

Tab 3 Contents of BUN, LA and CK in serum of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mmol/L}$)

组别	剂量,mg/(kg·d)	BUN	LA	CK
空白对照组		7.09 ± 0.98	6.47 ± 1.78	1 607.80 ± 536.94
模型组		9.27 ± 1.41**	9.71 ± 3.69*	2 709.79 ± 1 048.48*
TS组	86	7.21 ± 0.90**	6.82 ± 1.91	1 628.32 ± 749.77*
TL组	123	8.25 ± 0.55	7.82 ± 1.75	2 533.51 ± 670.55
TY组	48	7.76 ± 1.12*	7.16 ± 1.50	2 338.18 ± 694.36
TZ组	106	8.73 ± 1.17	4.39 ± 1.03**	1 952.24 ± 550.88
TW组	386	9.26 ± 1.44	5.13 ± 2.04*	2 604.36 ± 877.98
阳性对照组	590	7.57 ± 1.18*	6.39 ± 1.72*	1 450.01 ± 765.71*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$,** $P < 0.01$; vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

4 讨论

在运动性疲劳实验中,游泳、跑台和爬杆时间长短一直以来被用作反映运动耐力的重要行为学指标^[9]。疲劳生化指标中BUN、LA、肝糖原、肌糖原含量等最具代表性,也是判定疲劳最常用的指标^[4]。本次实验以负重游泳力竭时间为指标测定小鼠运动耐力,利用LA、BUN、CK、糖原试剂盒检测相应生化指标以考察小鼠疲劳状态。

小鼠游泳力竭时间是判断小鼠耐力程度的客观指标,测定机体连续运动至力竭的时间可以反映机体的耐力。本次负重游泳实验结果表明,公石松提取物能延长小鼠负重游泳力竭时间,其中TS、TY和TZ组均有显著效果($P < 0.05$)。

肌肉活动时,能量的主要来源是糖类。其在血液中可以直接转化为三磷酸腺苷(ATP),运动过程中随着肌糖原消耗的增加,肝糖原通过不断分解入血补充不断消耗的血糖,以维持体内血糖稳定,从而为机体提供更多能量^[9]。有实验表明,在长时间的紧张运动中,体力衰竭总是与肝、肌糖原的消耗同时发生。因此,肝、肌糖原的含量能反映疲劳发生的快慢或程度^[6]。本次实验结果显示,公石松各提取物组小鼠的肌、肝糖原含量均高于空白对照组,其中以TS和TW提高肌糖原储备量效果最佳。在增加小鼠肝糖原储备量方面,TY、TZ和TW均有显著效果,其中又以TY效果最佳。

长时间运动时,体内能量平衡遭到破坏,肌、肝糖原消耗,血糖降低,蛋白质及氨基酸的分解代谢加大,从而产生大量的BUN并释放到血液中。血液中BUN含量随着运动负荷的增加而增加,其含量是糖类供能是否充足的衡量标准,是评价机体在体力负荷时的承受力的灵敏指标^[7]。本次实验结果显示,公石松各提取物组小鼠运动后血清中BUN含量均较模型组有所减少,其中TZ组和TS组差异有统计学意义($P < 0.05$),说明给予一定剂量的公石松正丁醇、石油醚提取物能减少小鼠运动后BUN的产生。

LA是机体中糖无氧酵解的中间产物,大量LA的堆积会导致局部酸痛、身体疲乏、四肢无力的症状,是导致机体疲劳的重要原因。在运动训练实践中,LA是运动性疲劳的客观指标之一^[8]。在本次实验中,各给药组小鼠运动后血清中的LA含量均较模型组减少,TZ、TW能显著降低游泳后小鼠血中LA含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中又以TZ效果最佳。这说明公石松的正丁醇提取物和水层可能通过减少游泳后LA的产生或增加其清除速度,从而降低运动小鼠体内LA水平。

CK通常存在于心脏、肌肉以及脑等组织的细胞浆和线粒体中,是一种与细胞内能量运转、肌肉收缩、ATP生成有直接关系的重要激酶,能可逆地催化肌酸与ATP之间的转磷酸基反应,是检测肌肉损伤的灵敏指标^[9]。本次实验显示,公石松的各提取物组小鼠运动后血清中CK含量均较模型组有所减少,其中TS组效果较为显著($P < 0.05$)。由此推测,公石松的石油醚提取物可能通过降低小鼠肌细胞损伤、减少儿茶酚胺分泌等来降低小鼠游泳后体内CK水平。

综上所述,公石松的石油醚、正丁醇部位和水层是较佳的抗疲劳活性部位。公石松的石油醚、正丁醇提取物和水层可能通过增加肝、肌糖原的储备量,提高糖原利用率,减少蛋白质的分解代谢产物的产生,加速LA、BUN与CK的清除或减少其生成,从而抑制疲劳的产生。

参考文献

- [1] 黄泽豪,沈贤娟.闽南民间药公石松的生药鉴定[J].亚热带植物科学,2013,42(4):288.

知母皂苷B-Ⅱ抑制人肺癌A549细胞增殖和迁移的机制研究

陆文铨^{1*}, 邱彦², 庞涛¹, 陈万生^{1#}(1.上海长征医院药学部, 上海 200003; 2.解放军第454医院药剂科, 南京 210002)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1346-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.15

摘要 目的:研究知母皂苷B-Ⅱ(TB-Ⅱ)抑制人肺癌A549细胞增殖和迁移的机制。方法:使用0(空白对照)、1、10、100 μg/ml的TB-Ⅱ处理A549细胞48 h后,分别提取细胞总RNA及总蛋白,采用实时定量荧光-聚合酶链反应和Western blot法分别检测细胞内白细胞介素18(IL-18)mRNA及蛋白表达;通过转染沉默A549细胞内IL-18基因,比较未转染组、阴性对照组和转染组细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达,然后用10 μg/ml的TB-Ⅱ处理转染后的细胞24、48、72 h,采用CCK-8法检测细胞增殖活性,划线法观察细胞迁移能力变化。结果:与空白对照比较,TB-Ⅱ处理后A549细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达均增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且与浓度呈正相关。与未转染组比较,转染组细胞内IL-18 mRNA及蛋白表达均降低($P<0.01$);与TB-Ⅱ处理的未转染细胞比较,TB-Ⅱ处理72 h后的转染细胞增殖活性和迁移能力均增强($P<0.01$)。结论:TB-Ⅱ可通过上调IL-18基因的表达来抑制A549细胞的增殖和迁移。

关键词 知母皂苷B-Ⅱ;人肺癌A549细胞;增殖活性;白细胞介素18;迁移

Study on Inhibitory Mechanism of Timosaponin B-Ⅱ on the Proliferation and Migration of Human Lung Cancer A549 Cells

LU Wenquan¹, QIU Yan², PANG Tao¹, CHEN Wansheng¹(1.Dept. of Pharmacy, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China; 2.Dept. of Pharmacy, No.454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory mechanism of timosaponin B-Ⅱ (TB-Ⅱ) on the proliferation and migration of human lung cancer A549 cells. METHODS: A549 cells were treated with TB-Ⅱ [0 (blank control), 1, 10 and 100 μg/ml] for 48 h, and total RNA and total protein were extracted respectively. Real time fluorescence quantitative-PCR and Western blot were used to detect mRNA and protein levels of IL-18. IL-18 in A549 cells was silenced by transfection; the expression of IL-18 mRNA and protein were compared among untransfection group, negative control group and transfection group; and then human lung cancer A549 cells with silenced gene were treated with 10 μg/ml TB-Ⅱ for 24, 48 and 72 h. The activity of cell proliferation was detected with CCK-8, and the change of cell migration ability was observed by streak method. RESULTS: Compared with blank control, the expression of IL-18 mRNA and protein in A549 cells all increased after treated with TB-Ⅱ ($P<0.05$ or $P<0.01$), and were positively correlated with concentration. Compared with untransfection group, the expression of IL-18 mRNA and protein decreased in transfection group ($P<0.01$). Compared with untransfected cell treated with TB-Ⅱ, the viability and migration ability of A549 cells with transfection gene increased after treated with TB-Ⅱ for 72 h ($P<0.01$). CONCLUSIONS: TB-Ⅱ can inhibit the proliferation and migration of A549 cells by up-regulating IL-18 gene expression.

KEYWORDS Timosaponin B-Ⅱ; Human lung cancer A549 cells; Proliferation activity; IL-18; Migration

- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第八卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 737.
- [3] 曲永红, 党欢, 王鹏远, 等. 正源方提取物对小鼠的抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用[J]. 中国药房, 2015, 26(7): 901.
- [4] Tan W, Yu KQ, Liu YY, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from Radix Rehmanniae Preparata [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50(1): 59.
- [5] Xu C, Lv J, Lo YM, et al. Effects of oat β-glucan on endurance exercise and its anti-fatigue properties in trained rats[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(2): 1 159.
- [6] Ding JF, Li YY, Xu JJ, et al. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation[J]. *Food Hydrocoll*, 2011, 25(5): 1 350.
- [7] Huang LZ, Huang BK, Ye Q, et al. Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of Acanthopanax senticosus[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(1): 213.
- [8] 王雪冰, 冯连世. 肌乳酸、细胞内pH值与运动性疲劳研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(1): 119.
- [9] Koch AJ, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance exercise[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2014, 14(1): 68.

* 副主任药师, 博士。研究方向: 中药药理、医院制剂。电话: 021-65307133。E-mail: lwqp@163.com

通信作者: 主任药师, 教授, 博士。研究方向: 医院药学、生药学。电话: 021-65307133。E-mail: chenws126@126.com

(收稿日期: 2015-07-10 修回日期: 2015-11-04)

(编辑: 林静)