

柴苓护肝颗粒的质量标准研究^Δ

莫国栋*, 杨瑾, 林丽, 谭芳廷(中山市第二人民医院, 广东中山 528477)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2796-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.13

摘要 目的:建立柴苓护肝颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中柴胡、白术、甘草药材进行定性鉴别,采用紫外-可见分光光度法测定制剂中总黄酮(以芦丁计)的含量,并对制剂的水分、溶化性、粒度进行检查。结果:柴胡、白术、甘草的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。芦丁检测质量浓度线性范围为0.050~0.300 mg/mL($r=0.999\ 8$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%;加样回收率为97.89%~100.01%(RSD=0.68%, $n=9$);样品含量为1.920~2.018 mg/g。3批样品的水分含量分别为1.54%、1.62%、1.57%,均在5 min内容化,不能通过一号筛且能通过五号筛的总和分别为2.13%、2.51%、2.38%,均符合2015年版《中国药典》(四部)的规定。结论:初步拟定柴苓护肝颗粒中总黄酮的含量应不得低于1.57 mg/g(以芦丁计);所建质量标准的相关方法简便、快速、准确、重复性好,可用于柴苓护肝颗粒的质量控制。

关键词 柴苓护肝颗粒;质量标准;薄层色谱法;紫外-可见分光光度法;芦丁;总黄酮;柴胡;白术;甘草

Study on Quality Standard of Chailing Hupan Granules

MO Guodong, YANG Jin, LIN Li, TAN Fangting (Zhongshan Second People's Hospital, Guangdong Zhongshan 528477, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Chailing hupan granules. METHODS: TLC was used for qualitative identification of *Radix bupleuri*, *Atractylodes macrocephala* and *Glycyrrhiza uralensis*. The content of total flavonoids (by rutin) in preparation was determined by UV-visible spectrophotometry. The moisture, dissolubility and granularity of preparation were determined. RESULTS: TLC spots of *R. bupleuri*, *A. macrocephala* and *G. uralensis* were clear and well-separated without interference from negative control. The linear range of rutin was 0.050-0.300 mg/mL ($r=0.999\ 8$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The recoveries were 97.89%-100.01% (RSD=0.68%, $n=9$). The content of samples were 1.920-2.018 mg/g. The contents of moisture in 3 batches of samples were 1.54%, 1.62% and 1.57%; all samples dissolved within 5 min. The sum of granules not passing through No.1 sieve and passing through No.5 sieve were 2.13%, 2.51%, 2.38%, which were all in line with the requirements of *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, Vol IV). CONCLUSIONS: The content of total flavonoids in Chailing hupan granules should be no less than 1.57 mg/g (by rutin). Established quality standard is simple, rapid, accurate and reproducible, and can be used for quality control of Chailing hupan granules.

KEYWORDS Chailing hupan granules; Quality standard; TLC; UV-visible spectrophotometry; Rutin; Total flavonoids; *Radix bupleuri*; *Atractylodes macrocephala*; *Glycyrrhiza uralensis*

Environ Pathol Toxicol Oncol, 2014, 33(4):295-314.

- [16] YANG KL, CHANG WT, HONG MY, et al. Prevention of TGF- β -induced early liver fibrosis by a maleic acid derivative anti-oxidant through suppression of ROS, inflammation and hepatic stellate cells activation[J]. *PloS One*, 2017, 12(4):e0174008.
- [17] OTUNOLA GA, AFOLAYAN AJ. Therapeutic effect of aqueous extracts of three dietary spices and their mixture on lipid metabolism and oxidative stress in a rat model of chronic alcohol consumption[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2016, 29(4):1155-1161.
- [18] KARNER CM, ESEN E, OKUNADE AL, et al. Increased glutamine catabolism mediates bone anabolism in re-

sponse to Wnt signaling[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(2):551-562.

- [19] 蒯博婷, 朱梦琳, 高雅, 等. 杠板归总黄酮对抗结核药物致肝损伤小鼠的保护作用及机制研究[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(5):51-54.
- [20] Ghafoory S, Varshney R, Robison T, et al. Platelet TGF- β_1 deficiency decreases liver fibrosis in a mouse model of liver injury[J]. *Blood Adv*, 2018, 2(5):470-480.
- [21] MARRONE G, SHAH VH, GRACIA-SANCHO J. Sinusoidal communication in liver fibrosis and regeneration [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(3):608-617.
- [22] 邓乔华. 溪黄草资源分布与开发利用的研究[J]. *今日药学*, 2009, 19(9):21-25.
- [23] 黄珊珊. 中药溪黄草研究进展[J]. *今日药学*, 2016, 26(5):365-368.

^Δ 基金项目:中山市社会公益科技研究专项项目(No.2017B1099)

* 副主任药师, 硕士研究生。研究方向:医院药学、医院制剂。电话:0760-28103168。E-mail:moguodong2002@163.com

(收稿日期:2018-02-26 修回日期:2018-06-01)

(编辑:张元媛)

柴苓护肝方为逍遥散方^[1]在结合临床应用的基础上加减药味形成的经验方,由柴胡、白术、甘草(炙)8味中药材组成,具有疏肝利胆、解酒泻毒的功效,可用于酒精肝、脂肪肝、急慢性病毒性肝炎等病的治疗^[2]。柴苓护肝颗粒由处方药材饮片经水提、醇沉、浓缩、干燥、成型等工序制成,具有体积小、便于携带和保存、质量稳定可控等优点^[3-4]。为更好地控制其质量,笔者根据药材所含化学成分及其理化性质,结合“君、臣、佐、使”的中医药理论^[5],采用薄层色谱法(TLC)对该制剂中柴胡、白术、甘草药材进行定性鉴别,采用紫外-可见分光光度法测定该制剂中总黄酮的含量,并对其水分、溶化性、粒度进行检查,旨在为该制剂质量标准的建立提供参考。

1 材料

1.1 仪器

ZF-8型紫外分析成像仪(上海嘉鹏科技有限公司);AS20500A型超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);XP26型百万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);UV-6100S型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);DGX-9073型烘箱(上海福玛实验设备有限公司);定量点样毛细管(华西医科大学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

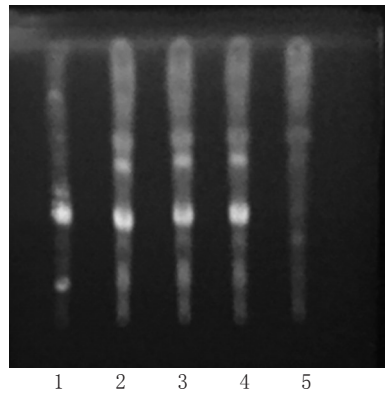
柴胡对照药材(批号:120992-201509)、白术对照药材(批号:120925-201611)、甘草对照药材(批号:120904-201519)、芦丁对照品(批号:100080-201409,纯度:92.6%)均由中国食品药品检定研究院提供;柴苓护肝颗粒(我院制剂室自制,批号:20170611、20170613、20170615,规格:15 g/袋);硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂分厂,批号:20150921);其他试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 柴胡 取样品10 g,加水40 mL,搅拌溶解,用水饱和和正丁醇萃取2次,每次20 mL,弃去水层;合并正丁醇层,用40%氨试液洗涤2次,每次20 mL,弃去氨试液;取正丁醇层挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,摇匀,作为供试品溶液。取柴胡对照药材0.5 g,加水40 mL,回流提取30 min,滤过,滤液按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。取按柴苓护肝颗粒处方和工艺制备的缺柴胡的阴性样品10 g,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[6]试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(7:3, V/V)^[6]为展开剂,展开,取出,晾干;以含5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液显色,于105℃烘箱中加热5 min,置紫外光灯(302 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图2。

2.1.2 白术 取样品10 g,加水30 mL,搅拌溶解,用石



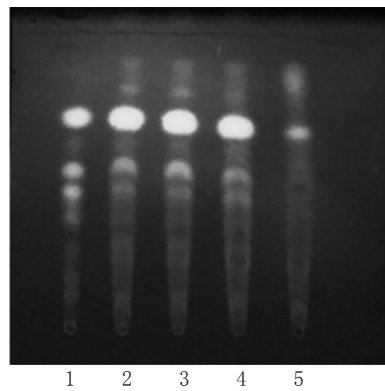
注:1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Note: 1. reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

图1 柴胡的薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatogram of *Radix bupleuri*

油醚(60~90℃)提取3次,每次30 mL,弃去水层;合并提取液,石油醚层挥干,残渣加甲醇0.5 mL溶解,摇匀,作为供试品溶液。取白术对照药材0.5 g,加水30 mL,煮沸30 min,放冷,滤过,滤液按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。取按柴苓护肝颗粒处方和工艺制备的缺白术的阴性样品10 g,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[6]试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(7:3, V/V)^[6]为展开剂,展开,取出,晾干;以含5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液显色,于105℃烘箱中加热5 min,置紫外光灯(302 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图2。



注:1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

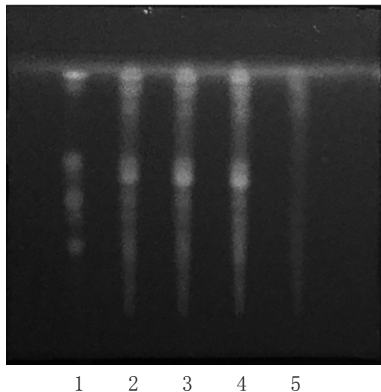
Note: 1. reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

图2 白术的薄层色谱图

Fig 2 TLC chromatogram of *Atractylodes macrocephala*

2.1.3 甘草 取样品5 g,加水40 mL,搅拌溶解,用水饱和和正丁醇提取3次,每次20 mL,弃去水层;合并正丁醇层,用水洗涤3次,每次20 mL,弃去水层;取正丁醇层挥干,残渣加甲醇3 mL溶解,摇匀,作为供试品溶液。取甘草对照药材0.1 g,加水40 mL,煮沸30 min,放冷,滤过,滤液按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。取

按柴苓护肝颗粒处方和工艺制备的缺甘草的阴性样品 5 g, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 2015 年版《中国药典》(四部) TLC 法^[6] 试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水 (15:1:1:2, V/V/V/V)^[9] 为展开剂, 展开, 取出, 晾干; 以 10% 硫酸乙醇溶液显色, 于 105 $^{\circ}$ C 烘箱中加热 5 min, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。结果, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰, 详见图 3。



注: 1. 对照药材; 2~4. 供试品; 5. 阴性对照

Note: 1. reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

图 3 甘草的薄层色谱图

Fig 3 TLC chromatogram of *Glycyrrhiza uralensis*

2.2 水分检查

取 3 批样品 (批号: 20170611、20170613、20170615) 各适量, 精密称定, 按 2015 年版《中国药典》(四部) 通则“0832 水分测定法”第二法烘干法^[6] 测定水分, 平行测定 3 次。结果显示, 3 批样品的平均水分含量分别为 1.54%、1.62%、1.57%, 均符合 2015 年版《中国药典》(四部) 规定的限度标准 (不得超过 8%)^[6]。

2.3 溶化性检查

取 3 批样品 (批号: 20170611、20170613、20170615) 各适量, 精密称定, 按 2015 年版《中国药典》(四部) 通则“0104 颗粒剂”项下有关溶化性的可溶颗粒检查^[6] 测定溶化性, 平行测定 3 次。结果显示, 3 批样品均在 5 min 内溶化, 均符合 2015 年版《中国药典》(四部) 规定的标准^[6]。

2.4 粒度检查

取 3 批样品 (批号: 20170611、20170613、20170615) 各适量, 精密称定, 按 2015 年版《中国药典》(四部) 通则“0982 粒度测定法”第二法双筛法^[6] 测定粒度, 平行测定 3 次。结果显示, 3 批样品不能通过一号筛且能通过五号筛的总和分别为 2.13%、2.51%、2.38%, 均符合 2015 年版《中国药典》(四部) 规定的标准 (不得超过 15%)^[6]。

2.5 含量测定

2.5.1 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品 0.1 g, 置于 100 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 1 mg/mL 的对照品溶液。

2.5.2 供试品溶液的制备 精密称取样品 0.5 g, 加 70% 乙醇至 10 mL, 超声 (功率: 500 W, 频率: 25 kHz) 处理 5 min, 以 3 000 r/min 离心 4 min, 取上清液, 即得供试品溶液。

2.5.3 检测波长的选择 精密吸取“2.5.1”项下对照品溶液 2 mL, 置于具塞玻璃试管中, 加 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀, 于 20~30 $^{\circ}$ C 下反应 6 min; 加 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 于 20~30 $^{\circ}$ C 下反应 6 min; 加氢氧化钠溶液 (4.3 g 氢氧化钠加水定容至 100 mL) 4 mL, 摇匀, 于 20~30 $^{\circ}$ C 下反应 15 min。于 200~600 nm 波长范围内扫描^[9], 测得其最大吸收波长为 500 nm, 详见图 4。

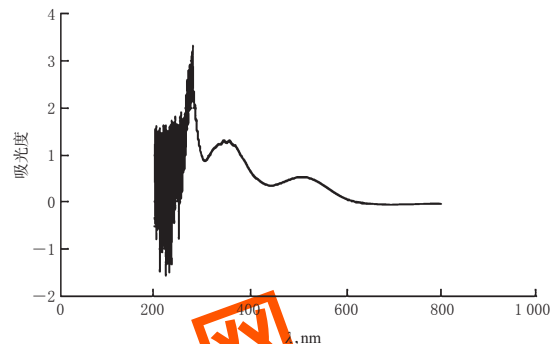


图 4 对照品的紫外吸收光谱图

Fig 4 UV absorption spectrum of substance control

2.5.4 线性关系考察 精密吸取“2.5.1”项下对照品溶液 0.5、1、1.5、2、2.5、3 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 取 2 mL 置于具塞试管中, 按“2.5.3”项下方法处理后于 500 nm 波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度 (x , mg/mL) 为横坐标、吸光度 (y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $y = 4.039 4x - 0.021 5$ ($r = 0.999 8$)。结果表明, 芦丁检测质量浓度线性范围为 0.050~0.300 mg/mL。

2.5.5 精密度试验 精密吸取“2.5.1”项下对照品溶液适量, 按“2.5.3”项下方法处理后于 500 nm 波长处连续测定 6 次。结果, 吸光度的 RSD 为 1.76% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 取“2.5.2”项下供试品溶液 (批号: 20170611) 适量, 分别于室温下放置 0、30、60、90、120、150 min 时按“2.5.3”项下方法处理后于 500 nm 波长处进行测定。结果, 吸光度的 RSD 为 1.35% ($n = 6$), 表明供试品溶液在室温下放置 150 min 内基本稳定。

2.5.7 重复性试验 精密称取样品 (批号: 20170611) 适量, 共 6 份, 按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.5.3”项下方法处理后于 500 nm 波长处进行测定。结果, 吸光度的 RSD 为 1.67% ($n = 6$), 表明本方法重复性较好。

2.5.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 (批号: 20170611) 适量, 共 9 份, 每 3 份分别加入一定量的芦丁对照品溶液, 按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液, 再

按“2.5.3”项下方法处理后于500 nm波长处进行测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.502 3	0.969 9	0.776 2	1.739 8	99.19		
0.503 8	0.971 1	0.776 2	1.747 0	99.96		
0.501 1	0.970 2	0.776 2	1.735 8	98.63		
0.504 5	0.971 5	0.972 3	1.939 4	99.55		
0.502 9	0.970 1	0.972 3	1.942 5	100.01	99.31	0.68
0.505 2	0.969 2	0.972 3	1.921 0	97.89		
0.500 8	0.970 4	1.173 2	2.139 7	99.67		
0.501 9	0.969 5	1.173 2	2.138 3	99.62		
0.503 5	0.969 1	1.173 2	2.134 0	99.29		

2.5.9 样品含量测定 取3批样品各0.5 g,按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.3”项下方法处理后于500 nm波长处进行测定,平行测定3次,记录吸光度并计算样品中总黄酮(以芦丁计)的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=9)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=9)

批号	总黄酮,mg/g	平均含量,mg/g	RSD, %
20170611	1.924	1.937	0.89
	1.932		
	1.957		
20170613	1.945	1.939	0.95
	1.920		
	1.952		
20170615	1.998	2.000	0.83
	1.985		
	2.018		

3 讨论

TLC法是快速分离和定性分析少量物质的一种重要的试验方法,也是中药材定性鉴别的主要方法,常用于中药成方制剂质量标准的研究,在中药分析与检验中具有重要的地位^[10-11]。笔者在预试验中参考2015年版《中国药典》(一部)^[12]及相关文献^[7-9,12-15]对柴苓护肝颗粒中8味药材的主要活性成分进行分析,结果发现,除柴胡、白术、甘草的TLC鉴别专属性强、色谱斑点清晰、分离度好、无拖尾现象,可用于定性鉴别外,其余药材不宜作为该制剂的定性鉴别指标。

柴苓护肝颗粒中含有多种中药材,成分复杂,主要有效成分为皂苷类、黄酮类和多糖类化合物,因此应建立多指标综合评价体系对制剂的质量进行控制。柴胡皂苷为君药柴胡的主要活性成分之一,对肝脏具有一定的保护作用,其含量本应作为质量控制指标。但笔者采用对二甲胺基苯甲醛比色法对其进行含量测定时,经反复预试验发现回收率达不到2015年版《中国药典》(一部)的要求;进一步检索2015年版《中国药典》(一部)中收录的以柴胡为君药的成方制剂^[12],如柴胡口服液、柴

黄片、逍遥丸、柴银口服液等,发现均未建立柴胡皂苷的含量测定方法。而目前已报道的柴胡皂苷含量测定方法差异较大,多为溶剂提取法^[16]和大孔树脂法^[17],步骤复杂烦琐、重复性差、提取效率低,因此本研究未选择总皂苷为控制该制剂质量的指标。而经查阅相关文献^[18-21],发现该制剂中柴胡、猪苓、白术、甘草等药材中均富含黄酮类化合物,其对肝病亦有不同程度的防治作用,故本研究以总黄酮(以芦丁计)含量为质量控制指标。

笔者对3批样品中的总黄酮进行含量测定,结果发现其平均含量为1.97 mg/g。考虑到企业生产中中药材饮片的有效成分含量具有一定的波动性,因此基于实际生产加工过程中的损耗和保存期等不稳定因素,并结合相关文献^[22],将样品中总黄酮含量的平均值下调20%,初步拟定柴苓护肝颗粒中总黄酮的含量应不得低于1.57 mg/g(以芦丁计)。

综上所述,所建质量标准的相关方法简便、快速、准确、重复性好,可用于柴苓护肝颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 邓中甲. 方剂学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008:81.
- [2] 杨瑾,莫国栋,宋凤兰,等. 柴苓护肝颗粒的优化工艺[J]. 环球中医药,2015,8(12):1455-1459.
- [3] 刘妮岭. 中药颗粒剂临床应用体会[J]. 中医药导报,2014,20(5):134-135.
- [4] 瞿剑. 中药饮片和中药颗粒剂使用情况调研分析[J]. 长春中医药大学学报,2012,28(6):1106-1107.
- [5] 韦佳,陈倩,冯泳. 试论中医传统方剂“君臣佐使”配伍理论的沿革[J]. 贵阳中医学院学报,2014,36(6):1-3.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社,2015:7、57-58.
- [7] 温勇,王德杭,陈瑞云,等. 小柴胡汤的质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(6):562-565.
- [8] 李艳,胡红艳,黄秋明. 白术护肝合剂中当归、白术、芍药的薄层色谱鉴别[J]. 中医学报,2012,3(27):343-344.
- [9] 陈美红,陈建华,龙凤来. 八珍片的甘草薄层鉴别方法对比研究[J]. 产业与科技论坛,2017,16(24):72-73.
- [10] 李丽,杨瑾,龙晓英,等. 柴苓护肝颗粒提取工艺的优化[J]. 广东药学院学报,2016,32(6):695-699.
- [11] 罗由萍,邓鹏飞. 薄层色谱及其在药用植物研究中的应用[J]. 安徽农业科学,2011,39(6):3309-3312.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社,2015:87-1354.
- [13] 寿旦,俞忠明,章建民. 改良的白术药材薄层色谱鉴别研究[J]. 中华中医药学刊,2011,29(3):535-536.
- [14] 陈向前. 薄层色谱法同时鉴别柏地黄丸中泽泻、茯苓、山茱萸[J]. 海峡药学,2014,26(3):86-87.
- [15] 刘少波. 新降糖颗粒制备工艺及质量标准的研究[D]. 广州:广东药科大学,2017.

重组腺病毒 Ad-GFP-C197 对 3 种肿瘤细胞的抑制作用研究^Δ

邬 贤^{1,2*}, 黄 莹³, 李舒婕², 段萍萍², 米鹏程¹, 陈文瑛^{1,2#} (1. 南方医科大学药学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学第三附属医院药学部, 广州 515000; 3. 南方医科大学深圳医院药学部, 广东深圳 518000)

中图分类号 R966; R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2800-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.14

摘要 目的: 研究以腺病毒载体系统装载人端粒酶逆转录酶 C 端片段(C197)制成的重组腺病毒 Ad-GFP-C197 对 3 种肿瘤细胞增殖的抑制作用。方法: 采用 HEK293 细胞扩增并纯化 Ad-GFP-C197。采用 Ad-GFP-C197 分别感染人胃癌细胞 SGC7901、人乳腺癌细胞 MCF7 和人结肠癌细胞 CaCO2。以空白腺病毒载体(Ad-GFP)为参比, 采用 Western blot 法检测 Ad-GFP-C197 感染后 3 种肿瘤细胞中 C197 的蛋白表达水平; 采用 MTT 法检测 Ad-GFP-C197 感染后对 3 种肿瘤细胞的抑制作用, 绘制细胞增殖曲线并计算增殖抑制率。结果: Ad-GFP 感染的 3 种肿瘤细胞中均未检测到 C197 蛋白表达, 而 Ad-GFP-C197 感染的上述细胞中 C197 蛋白均有明显表达; Ad-GFP-C197 感染后 3 种肿瘤细胞的增殖曲线随时间延长而呈明显抑制现象, 其增殖抑制率最高可达 37.31%~41.42%。结论: Ad-GFP-C197 对 SGC7901 细胞、MCF7 细胞、CaCO2 细胞增殖均有明显的抑制作用, 且起效迅速, 能够克服其他端粒酶抑制剂起效缓慢的缺点。

关键词 人端粒酶逆转录酶; 端粒酶抑制剂; 重组腺病毒; Ad-GFP-C197; 肿瘤细胞; 细胞增殖

Study on Inhibitory Effects of Recombinant Adenovirus Ad-GFP-C197 on 3 Kinds of Tumor Cells

WU Xian^{1, 2}, HUANG Ying³, LI Shujie², DUAN Pingping², MI Pengcheng¹, CHEN Wenying^{1, 2} (1. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 515000, China; 3. Dept. of Pharmacy, Shenzhen Hospital of Southern Medical University, Guangdong Shenzhen 518000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of recombinant adenovirus Ad-GFP-C197, which prepared by adenovirus vector system-loading human telomerase reverse transcriptase (hTERT) C fragment (C197) on the proliferation of 3 kinds of tumor cells *in vitro*. METHODS: Ad-GFP-C197 was amplified and purified with HEK293 cells. Human gastric cancer cells SGC7901, human breast cancer cells MCF7 and human colorectal cancer cells CaCO2 were infected by Ad-GFP-C197 respectively. Using blank adenovirus carrier (Ad-GFP) as reference, the protein expression of C197 in 3 kinds of tumor cells infected by Ad-GFP-C197 was detected by Western blot assay. The inhibitory effects of Ad-GFP-C197 on 3 kinds of tumor cells were detected by MTT assay. The cell proliferation curve was drawn and the proliferation inhibition rate was calculated. RESULTS: The protein expression of C197 was not detected in 3 kinds of tumor cells infected by Ad-GFP, while significant protein expression of C197 was found in above cells infected by Ad-GFP-C197. The proliferation curves of the 3 kinds of tumor cells infected by Ad-GFP-C197 were significantly inhibited with the time extended, and the proliferation inhibitory rate reached 37.31% -41.42%. CONCLUSIONS: Ad-GFP-C197 shows significant inhibitory effects on the proliferation of SGC7901, MCF7 and CaCO2 cells, which is rapid to make up for the slow effect of other telomerase inhibitors.

KEYWORDS hTERT; Telomerase inhibitor; Recombinant adenovirus; Ad-GFP-C197; Tumor cell; Cell proliferation

- [16] 李向军, 王超, 王永, 等. 中药薄层色谱影响因素分析及应用[J]. 中国药业, 2011, 20(14): 13-15.
[17] 章佳赟. 含柴胡的常用中成药中柴胡皂苷含量的测定及研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
[18] 李军, 石任兵, 刘斌, 等. 四逆散不同配伍对柴胡皂苷 a、b2 及柴胡总皂苷煎出量的影响[J]. 北京中医药大学学

报, 2007, 30(2): 115-120.

- [19] 阳毅, 莫伟彬, 李启畅. 甘草黄酮对运动大鼠肝组织自由基代谢及 p53 mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 245-249.
[20] 孔繁阳, 陈真. 黄酮类化合物防治酒精性肝病的研究进展[J]. 北方药学, 2016, 13(5): 118-119.
[21] 崔莹. 猪苓总黄酮提取工艺的研究[J]. 陕西农业科学, 2014, 60(12): 41-42, 56.
[22] 段丽, 张永萍, 徐剑, 等. 精源胶囊的质量标准研究[J]. 中国药房, 2017, 28(9): 1231-1235.

(收稿日期: 2017-12-13 修回日期: 2018-08-27)

(编辑: 陈宏)

^Δ 基金项目: 广州市天河区科技计划项目(No. 穗天科工信字[2016]19号-201604KW026)

* 药师, 硕士。研究方向: 抗肿瘤药理。电话: 020-62784812。E-mail: wuxian1991@163.com

通信作者: 主任药师, 博士。研究方向: 临床药理。电话: 020-62784827。E-mail: chenwenying2016@163.com