

$\mu\text{g/mL}$  的 Amp B 时为  $8.5 \times 10^4$  CFU/mL。如果 Amp B 剂量加倍,CFU 减少大于 92%。4) GSE 与 Amp 协同作用的体内试验:将 20 只小鼠分为 4 组,分别 ip GSE (2 mg/kg) 与 Amp B (0.5 mg/kg) 的混合物、GSE (2 mg/kg)、Amp B (0.5 mg/kg)、DPBS,1 h 后每只小鼠 iv 0.2 mL 活的白念珠菌细胞 ( $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ ),观测小鼠 MST。结果显示,DPBS 组、Amp B 组、GSE 组、混合物组小鼠的 MST 分别为 11.4、14.4、17.6、38.4 d,而单用 Amp B 0.5、1.0、2.0 mg/kg 时的 MST 各为 12.8、17.0、31.6 d,对照组为 11.6 d。以上结果表明,GSE 与 Amp B 有协同抗白念珠菌作用,两者合用时可降低 Amp B 的剂量,从而降低其毒副作用。

(赵晓东摘 姚庆强校)

**245 卡瓦胡椒叶和根提取物的肝细胞毒性** [英]/Lüde S...//Phytomedicine.-2008, 15(1/2).-120~131

卡瓦胡椒 *Piper methysticum* Forster 提取物具有广泛用途,如用其制造饮料,诱导松弛或睡眠,治疗焦虑症等多种疾病,且认为其应用是安全的。但近几年有报道记载,几例患者的肝损害与他们摄食卡瓦胡椒有关。为探讨卡瓦胡椒产生肝损害的可能作用机制,制备和分析了该植物根的甲醇和丙酮提取物、叶甲醇提取物,研究了它们对人肝细胞癌细胞系 HepG<sub>2</sub> 和离体大鼠肝线粒体的毒性。

以磺酰罗丹明 B 实验、乳酸脱氢酶 (LDH) 实验和 MTT 法检测提取物的细胞毒性;以 5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基-苯并咪唑基羰花青碘化物 (JC-1) 为标记物,检测提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞中线粒

体膜电位的影响;通过测定谷胱甘肽 (GSH) 的积累,评价 HepG<sub>2</sub> 细胞的氧化还原状态;以膜联蛋白 V-碘化丙锭染色、并用流式细胞仪测定提取物诱导的细胞凋亡或死亡;使用生物发光检测试剂盒测定提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞中 ATP 酶量的作用。色谱分析结果显示,2 个根提取物中的卡瓦内酯类化合物的质量分数均约 80%,无明显不同;而叶中的卡瓦内酯类仅为 24%。细胞毒性检测结果显示,3 个提取物在 50~100  $\mu\text{g/mL}$  与 HepG<sub>2</sub> 细胞培养 24 h 后产生细胞毒性,并呈质量浓度相关,该结果在 LDH 试验中得到进一步证实。MTT 检测显示,2 个根提取物 1~25  $\mu\text{g/mL}$  明显减弱 HepG<sub>2</sub> 细胞的还原活性;而叶提取物在 10  $\mu\text{g/mL}$  以上,中等强度地减弱 HepG<sub>2</sub> 细胞的还原活性。根甲醇提取物在 100  $\mu\text{g/mL}$ 、丙酮提取物在 50  $\mu\text{g/mL}$ ,可耗竭线粒体膜电位;而叶提取物未产生此项影响。在 150  $\mu\text{g/mL}$ ,2 个根提取物抑制和分解肝线粒体呼吸链,而叶提取物仅分解呼吸链;且 3 个提取物均可质量浓度相关地抑制线粒体脂肪酸  $\beta$  氧化。以提取物处理 HepG<sub>2</sub> 细胞,可减少其中的 GSH,增加氧化型谷胱甘肽 (GSSG),但与对照组相比差别不明显,但 GSH/GSSG 比率 (约 1.5) 与对照组 (2.85) 有明显差别。3 个提取物还以质量浓度相关方式增加凋亡细胞数、后期凋亡细胞或坏死细胞数。细胞中 ATP 水平未被提取物降低,表明提取物诱导的细胞死亡是由于其诱导细胞凋亡,而不是坏死的缘故。以上结果证明,卡瓦胡椒提取物对肝线粒体产生毒性,从而导致呼吸链的抑制,增加活性氧的产生,减少线粒体膜电位,最终引起细胞凋亡。

(陈晓玲摘)

## 生物技术

**246 南非醉茄体外组织培养物中醉茄内酯 A 的生物合成** [英]/Sangwan R S...//Chem Pharm Bull.-2007, 55(9).-1371~1375

南非醉茄 *Withania somnifera* Dunal 在印度被誉为印度人参。体内、外分子药理学研究表明,该植物多种活性与其特殊的次生代谢产物醉茄内酯有关,而醉茄内酯 A 和 withanone 是主要成分,且前者的量很低。建立了 2 种培养系统,对南非醉茄体外组

织培养和合成醉茄内酯 A 进行了研究。

两种实验植株 (RS-Sel-1 和 RS-Sel-2) 为在含不同植物生长调节剂的 MS 培养基生长的培养物。将从腋生芽生长的多发性出芽培养物作为外植体在琼脂固化基础培养基 [含苜蓿基腺嘌呤 (BAP)  $1.00 \times 10^{-6}$ , 激动素  $0.5 \times 10^{-6}$ ] 上培养。以生长出的嫩芽 (节段) 作为外植体在含不同植物激素的培养系统中进一步培养,光照 16 h,避光 8 h,培养温度

20℃。当分化嫩芽长至2.0~2.5cm长时,用TLC和HPLC法分析其中和畸生物中醉茄内酯A和withanone的水平。结果显示,在两种不同的培养系统中,嫩芽培养物显示不同的形态特征,在RS-Sel-1,4个培养基中每个外植体分别产生55、48、15、58个嫩芽,在RS-Sel-2中分别产生26、16、34、17个嫩芽。在RS-Sel-2,在所有激素结合条件下均有畸胎瘤形成;而在RS-Sel-1中,仅在BAP  $1.00 \times 10^{-6}$  + 激动素  $0.5 \times 10^{-6}$  条件下才有畸胎瘤形成。

研究表明,BAP和激动素结合不仅影响形态反应,而且以不同形式调节醉茄内酯A在两种不同培

养体系中的生物合成量水平。有趣的是,很难从野生南非醉茄植物体内检测到的醉茄内酯A,却在该植物体外组织培养物中有相当大的积累,而且醉茄内酯A的产量会随着培养基中激素组成的变化和外植体基因型的改变而有相当大的变化。在RS-Sel-1系统中,BAP升至  $1.00 \times 10^{-6}$ 、激动素升至  $0.50 \times 10^{-6}$  后生长的体外组织培养物绿芽中显示了最高量的醉茄内酯A,即每100克干质量组织中含有0.238g,而迄今为止在该植物野生种的根中醉茄内酯A较高量也仅为0.015g/100g。

(张凤梅摘 丁中涛校)

## 临床研究

247 欧地笋对甲状腺性参数和与甲状腺功能相关症状的作用 [英]/Beer A M... // Phytomedicine. - 2008, 15(1/2). - 16~22

欧地笋 *Lycopus europaeus* L. 提取物传统用于治疗伴有植物神经紊乱的甲状腺机能亢进以及紧张和乳腺痛。此项预期的、两部分开放研究的目的是测定欧地笋提取物对甲状腺和与甲状腺功能相关症状的作用。

甲状腺刺激激素(TSH)基值 $<1.0$  mU/L和具有与甲状腺机能亢进相关症状的68名患者参加了此项研究,其中女49例,男13例,有6例患者在实验末因故退出数据分析。在最近3个月内服用过该植物制剂、进行过禁食疗法、服用甲状腺制剂和(或)甲基硫氧嘧啶类药物、有典型的伴有潮红的绝经期紊乱症状、怀孕和哺乳期、严重甲状腺机能亢进、甲状腺中毒危象等患者排除在试验外。患者平均观察期为15.6周。分别在参加试验开始(V1)、撤出临床治疗时(V2,即4周后结束在医院治疗时)、及结束在医院治疗4和8周后(V3和V4)的电话访问、试验末(V5)采集数据。根据受试者加入此项研究的顺序,将他们分为2个组。第1组病人在V1~V5期间,每日早、晚口服欧地笋提取物片剂各1片,每片含该植物20mg。第2组为对照组,既不服用提取物片剂,也不服安慰剂。主要疗效测定为在V1、V2 24h内尿样中三碘甲状腺氨酸( $T_3$ )和甲状腺

素( $T_4$ )的分泌;次要疗效测定为V1和V2期间连续3d的每日早、中、晚血清中游离(f)的 $T_3$ 和 $T_4$ 、17 $\beta$ -雌二醇、睾丸激素、卵泡刺激激素(FSH)、黄体化激素(LH)、泌乳刺激素、平均血压和心率,在V1、V2、V5的血清TSH、有关疼痛的Bf-S等级、有关生活质量的问卷调查,V1~V5期间的临床症状和不良反应事件。平均观察期为15.6周。主要疗效测定结果显示,在对照组,尿中 $T_3$ 的分泌有减少的趋势,但与欧地笋提取物组相比无明显差异;在欧地笋片剂组,尿样中 $T_4$ 的分泌明显增加,单变变化分析证明被分析因素与时间存在明显的内部相关性,该结果提示,是肾脏机制引起 $T_4$ 的分泌,而不是通过肾小球内部改变或减弱再吸收。次要疗效评判结果显示,在欧地笋治疗组,受试者血清中f $T_3$ 、f $T_4$ 和TSH水平未产生明显变化。统计学评价未显示血浆中17 $\beta$ -雌二醇、睾丸激素、FSH、LH和泌乳刺激素有明显差别。血压、心率、有关生活质量的问卷调查的总体评分、临床症状和所有文献记载的症状的平均水平有明显差别。医生认为患者依从性好或非常好,多数病人认为疗效好。在发生的6例副反应事件中,有3例似乎或确实与摄入试药无关。另3例副反应事件可能与服药有关,其中1例服药7周后心律失常,但在停药后可逆转。以上结果进一步证明,欧地笋对轻微的甲状腺机能亢进具有阳性结果。

(陈晓玲摘)