

# 美洲大蠊多肽 PAP-2 对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用研究<sup>Δ</sup>

吕 鸿\*, 王 瑶, 张 蕊, 张鸿翰, 彭 芳<sup>#</sup>(大理大学药学与化学学院, 云南大理 671000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)07-0927-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.14

**摘要** 目的:探讨美洲大蠊多肽 PAP-2 对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用。方法:通过小鼠腋窝皮下注射 H22 肝癌小鼠腹水构建荷瘤小鼠模型。将 70 只小鼠随机分为模型组(生理盐水)、5-氟尿嘧啶组(阳性药对照, 20 mg/kg)以及美洲大蠊提取物的脱脂膏组(200 mg/kg, 以提取物量计)、C II -3 组(从浸膏中提取的以多肽为主要活性成分的组分, 200 mg/kg, 以提取物量计)和多肽 PAP-2 高、中、低剂量组(从 C II -3 中分离得到, 200、100、50 mg/kg, 以单体量计), 每组 10 只。5-氟尿嘧啶组小鼠隔天腹腔注射给药 1 次, 其余各组小鼠均每天灌胃给药 1 次, 给药周期均为 10 d。给药结束后, 观察小鼠瘤块变化并测定其脏器(脾、胸腺、肝)指数, 苏木精-伊红染色后观察其瘤组织病理变化, 并采用酶联免疫吸附试验法测定其血清中血管内皮生长因子(VEGF)、白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和 IL-4 的含量。结果:脱脂膏、C II -3 和不同剂量的 PAP-2 均能不同程度地抑制荷瘤小鼠瘤块的生长并升高其脏器指数, 且 PAP-2 的作用具有一定的量效关系。其中, PAP-2 高剂量组的抑瘤率(38.95%)显著高于脱脂膏组和 C II -3 组( $P < 0.05$ ), 并与 5-氟尿嘧啶组(40.87%)接近( $P > 0.05$ ); PAP-2 高剂量组小鼠脾指数、胸腺指数、肝指数较模型组均显著升高( $P < 0.05$ ), 并显著高于 C II -3 组( $P < 0.05$ ), 且其肝指数显著高于脱脂膏组( $P < 0.05$ )。此外, PAP-2 还可降低荷瘤小鼠血清中 VEGF 和 IL-4 含量、升高其血清中 IL-1 $\beta$  含量, 其中 PAP-2 高剂量组与模型组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 并且 PAP-2 高剂量组小鼠血清中 IL-1 $\beta$  含量显著高于脱脂膏组和 C II -3 组( $P < 0.05$ ), IL-4 含量显著低于脱脂膏组和 C II -3 组( $P < 0.05$ ), 但是其血清中 VEGF 含量显著低于脱脂膏组和 C II -3 组( $P < 0.05$ )。结论:美洲大蠊多肽 PAP-2 对 H22 荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用, 可升高其脏器指数, 降低其血清中 VEGF、IL-4 含量并升高其血清中 IL-1 $\beta$  含量。

**关键词** 美洲大蠊多肽 PAP-2; 脱脂膏; C II -3; H22 荷瘤小鼠; 抗肿瘤

## Study on Anti-tumor Effects of *Periplaneta americana* Polypeptide PAP-2 on H22 Tumor-bearing Mice

LYU Hong, WANG Yao, ZHANG Rui, ZHANG Honghan, PENG Fang (College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Yunnan Dali 671000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate anti-tumor effects of *Periplaneta americana* polypeptide PAP-2 on H22 tumor-bearing mice. METHODS: The mice tumor-bearing model was established by subcutaneous injection of ascites of H22 hepatocellular carcinoma mice via axilla. 70 mice were randomly divided into model group (normal saline), 5-FU group (positive drug control, 20 mg/kg), *P. americana* extract skimmed cream group (200 mg/kg, calculated by extract), C II -3 group (polypeptide isolated from skimmed cream as main active ingredient, 200 mg/kg, calculated by extract) and polypeptide PAP-2 high-dose, medium-dose and low-dose groups (isolated from C II -3, 200, 100, 50 mg/kg, calculated by monomer), with 10 mice in each group. The mice in the 5-FU group were given intraperitoneal injection once every other day, while the mice in the other groups were given intragastric administration once a day, the administration cycle was 10 d. After medication, the changes of tumor were observed and the organs (spleen, thymus and liver) index were measured. Histopathological changes of tumor tissue were observed after HE staining. The contents of VEGF, IL-1 $\beta$  and IL-4 in serum were determined by ELISA. RESULTS: Skimmed cream, C II -3 and different doses of PAP-2 could inhibit the growth of tumor in tumor-bearing mice to different extent and increase organ index, and PAP-2 showed a dose-effect relationship. The tumor inhibition rate (38.95%) of PAP-2 high dose group was significantly higher than those of skimmed cream group and C II -3 group ( $P < 0.05$ ), which was close to that (40.87%) of 5-FU group ( $P > 0.05$ ). Spleen index, thymus index and liver index of mice in PAP-2 high dose group were significantly those of model group and C II -3 group ( $P < 0.05$ ); and the liver index of mice in PAP-2 high dose group was significantly higher than that of skimmed cream group ( $P < 0.05$ ). In addition, PAP-2 could decrease the serum contents of VEGF and IL-4, and increased serum content of IL-1 $\beta$ , with high dose group showed significant difference compared with model group ( $P < 0.05$ ); the serum content of IL-1 $\beta$  of mice in PAP-2 high dose group was significantly higher the that of skimmed cream group and C II -3 group ( $P < 0.05$ ), serum content of IL-4 in PAP-2 high dose group was significantly lower the that of skimmed cream group and C II -3 group ( $P < 0.05$ ), but the

serum content in which was significantly lower than that of skimmed cream group and C II -3 group ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: *P. americana* polypeptide PAP-2 it has a certain anti-tumor effects on H22 tumor-bearing mice, and its can increase the index of organs of H22 tumor-bearing mice,

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560600)

\* 硕士研究生。研究方向:抗肿瘤药理学。E-mail: 2531195439@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授, 硕士。研究方向:抗肿瘤药理学。电话:0872-2257392。E-mail: pengfang6556@aliyun.com

decrease the contents of VEGF and IL-4 in serum, increase the content of IL-1 $\beta$  in serum.

**KEYWORDS** *Periplaneta americana* polypeptide PAP-2; Skimmed cream; C II -3; H22 tumor-bearing mice; Anti-tumor

肝癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上的恶性肿瘤之一,位居全球癌症死亡的第2位<sup>[1]</sup>。HCC的早期发现较难,且无法根治<sup>[2]</sup>。目前,其发生和转移的机制尚不明确<sup>[3]</sup>,且易受到肿瘤细胞分泌的细胞因子和生长因子等的影响,导致其自身的信号通路被破坏,促进肿瘤细胞生长,进而促进和导致癌症的发生、发展<sup>[4]</sup>。美洲大蠊(*Periplaneta americana* L.)具有促修复、抗炎杀菌、保护心血管和肝脏以及增强免疫等药理作用<sup>[5-10]</sup>。本课题组前期用95%乙醇为溶剂对美洲大蠊进行提取,通过水浴加热、去除油脂等操作后得到棕黑色膏状物,并将其命名为脱脂膏;接着通过上聚酰胺柱等方式又从浸膏中分离得到了一种以肽类为主的物质,并命名其为C II -3。经过前期大量的药理学实验,已证实美洲大蠊脱脂膏和C II -3具有较好的抗肿瘤作用<sup>[11-15]</sup>。在系统的深入研究中,本课题组经过多肽/糖肽物质药效组分的分离、纯化,以及通过高效液相色谱、质谱等技术手段,又从C II -3中提取分离得到了一种全新的多肽PAP-2,并且已证实它具有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)肽特征。本研究将对此全新多肽PAP-2在体内的抗肿瘤活性进行研究,并与美洲大蠊粗提物脱脂膏和C II -3进行比较,旨在为开发抗恶性肿瘤的天然美洲大蠊多肽药物提供科学的实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

255939酶标仪(美国Bio-Tek公司);CKX41SF倒置相差显微镜(日本Olympus公司);BSC-1000IIA2二级生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

美洲大蠊多肽PAP-2(纯度: $\geq 98\%$ )、C II -3(得率为0.2%)<sup>[15]</sup>和脱脂膏(由浸膏到脱脂膏的收率均数约为75.18%)<sup>[16]</sup>均由大理大学昆虫生物医药研究院张成桂博士提供;胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基(美国Gibco公司);5-氟尿嘧啶(5-FU,美国Sigma公司,批号:WX-BC0190,纯度:99%);鼠血管内皮生长因子(VEGF)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒、鼠白细胞介素4(IL-4)ELISA试剂盒(中国艾博泰克生物公司,批号:9670018307、9677316820);鼠IL-1 $\beta$  ELISA试剂盒(深圳市达科为生物技术股份有限公司,批号:9670018200)。

### 1.3 细胞

H22肝癌腹水细胞株由大理大学药学与化学学院药理教研室提供。

### 1.4 动物

SPF级Balb/c小鼠70只,♀♂各半,体质量18~22g,购于昆明楚商科技有限公司,实验动物合格证号:

43004700028293。

## 2 方法

### 2.1 药液的制备

将美洲大蠊提取物脱脂膏、C II -3和多肽PAP-2均用生理盐水制备成20 mg/mL的母液,4℃保存备用,实验时再稀释到所需浓度。将5-FU用生理盐水制备成2 mg/mL的母液,4℃短期保存。

### 2.2 H22荷瘤小鼠模型的构建

移植原代H22肝癌细胞于小鼠腹腔,并传代6d,无菌抽取第2代小鼠腹水,以生理盐水稀释,0.4%台盼蓝计数,当细胞活力 $> 95\%$ 后,取细胞密度为 $1 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup>的细胞悬液0.2 mL,于小鼠右腋窝处接种,当小鼠腋窝处出现明显瘤组织时即造模成功。

### 2.3 分组与给药

将造模成功的70只小鼠随机分为10组,每组10只(♀♂各半),分别为模型组(生理盐水)、5-FU组(阳性药对照,20 mg/kg)以及美洲大蠊提取物的脱脂膏组(200 mg/kg,以提取物量计)、C II -3组(从浸膏中提取的以多肽为主要活性成分的组分,200 mg/kg,以提取物量计)和多肽PAP-2高、中、低剂量组(从C II -3中分离得到,200、100、50 mg/kg,以单体量计)<sup>[17]</sup>,每组10只。5-FU组小鼠隔天腹腔注射5-FU(0.2 mL/只)1次,其余各组小鼠均每天灌胃相应药物(0.2 mL/只)1次,均连续给药10 d。

### 2.4 抑瘤率及脏器指数的测定

小鼠末次给药24 h后,眼眶取血,然后脱颈椎处死,剥取瘤块及脏器(脾、胸腺和肝),按下列公式计算抑瘤率及脏器指数:抑瘤率(%)=(模型组小鼠平均瘤质量-实验组小鼠平均瘤质量)/模型组小鼠平均瘤质量 $\times 100\%$ ;脏器指数=脏器(脾、胸腺和肝)质量(mg)/体质量(0.1 g)。

### 2.5 肿瘤组织的病理学观察

将肿瘤组织常规处理,经包埋、切片、贴片、苏木精-伊红(HE)染色后<sup>[18]</sup>,于倒置相差显微镜下观察标本病理学改变。

### 2.6 血清中VEGF、IL-1 $\beta$ 、IL-4含量的测定

小鼠眼眶取血后,将全血于4℃环境下放置2 h,然后在4℃条件下以4 000 r/min离心15 min,吸取上清,置于-20℃冰箱中保存,备用。采用ELISA法测定各组小鼠血清中VEGF、IL-1 $\beta$ 、IL-4的含量,具体操作按照相应说明书进行。

### 2.7 统计学方法

采用SPSS 17.0统计学软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 小鼠瘤质量及抑瘤率测定结果

与模型组比较,各给药组小鼠的瘤质量均显著降低( $P<0.05$ ),且PAP-2对肿瘤生长的抑制作用呈现一定的量效关系。其中,高剂量PAP-2的抑瘤作用显著强于脱脂膏和C II -3,瘤质量差异具有统计学意义( $P<0.05$ );并且,高剂量PAP-2的抑瘤作用与5-FU接近,两组小鼠瘤质量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。各组小鼠瘤质量及抑瘤率测定结果见表1。

表1 各组小鼠瘤质量和抑瘤率测定结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Tab 1 Tumor mass and tumor inhibition rate of mice in each group( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	瘤质量,g	抑瘤率,%
模型组	1.50±0.08	
5-FU组	0.89±0.18*	40.87
脱脂膏组	1.32±0.02**	12.23
C II -3组	1.26±0.11**	16.29
PAP-2高剂量组	0.92±0.06** <sup>Δ</sup>	38.95
PAP-2中剂量组	1.06±0.16*	29.45
PAP-2低剂量组	1.21±0.12**	19.33

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与5-FU组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与C II -3组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$ ;与脱脂膏组比较,<sup>◆</sup> $P<0.05$

Note: vs. model group, \* $P<0.05$ ; vs. 5-FU group, <sup>#</sup> $P<0.05$ ; vs. C II -3 group, <sup>Δ</sup> $P<0.05$ ; vs. skimmed cream group, <sup>◆</sup> $P<0.05$

#### 3.2 小鼠脏器指数测定结果

与模型组比较,5-FU组小鼠的脾指数、胸腺指数和肝指数均不同程度降低,其中脾指数和肝指数差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示5-FU对小鼠脏器有一定的损伤;而其余各给药组小鼠的脾指数、胸腺指数和肝指数均不同程度升高,其中PAP-2高、中剂量组小鼠的脾指数、胸腺指数、肝指数以及脱脂膏组小鼠的脾指数差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。并且PAP-2的作用具有一定的量效关系,PAP-2高剂量组小鼠的脾指数、胸腺指数和肝指数均显著高于C II -3组( $P<0.05$ ),肝指数显著高于脱脂膏组( $P<0.05$ )。各组小鼠脾指数、胸腺指数和肝指数测定结果见表2。

#### 3.3 小鼠肿瘤组织切片HE染色观察结果

模型组小鼠可见明显的肿瘤组织结构,肿瘤细胞排列紧密,核大深染,大小不等,形态多样,异型明显。与模型组比较,5-FU组小鼠肿瘤细胞排列疏松,可见大面积的坏死;PAP-2高、中、低剂量组小鼠肿瘤细胞排列逐渐疏松,且随着PAP-2剂量的增加,其肿瘤细胞坏死区域明显增大;C II -3组和脱脂膏组小鼠肿瘤组织也可见细胞坏死,但坏死程度轻于PAP-2高剂量组。各组小鼠肿瘤组织的HE染色结果见图1。

#### 3.4 小鼠血清中VEGF、IL-1 $\beta$ 、IL-4含量测定结果

与模型组比较,各给药组小鼠血清中VEGF、IL-4含量均不同程度降低,IL-1 $\beta$ 含量均不同程度升高。其中,

表2 各组小鼠脾指数、胸腺指数和肝指数测定结果( $\bar{x}\pm s, n=10, \text{mg}/10 \text{g}$ )

Tab 2 Determination results of spleen index, thymus index and liver index of mice in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10, \text{mg}/10 \text{g}$ )

组别	脾指数	胸腺指数	肝指数
模型组	0.715±0.017	0.061±0.027	4.805±0.087
5-FU组	0.423±0.120*	0.046±0.015	3.731±0.972*
脱脂膏组	0.853±0.014**	0.079±0.010 <sup>#</sup>	5.188±0.097 <sup>#</sup>
C II -3组	0.790±0.030 <sup>#</sup>	0.061±0.004	5.290±0.305 <sup>#</sup>
PAP-2高剂量组	0.937±0.040** <sup>Δ</sup>	0.086±0.010** <sup>Δ</sup>	6.034±0.175** <sup>Δ</sup> ◆
PAP-2中剂量组	0.840±0.007**	0.085±0.013**	5.683±0.025**
PAP-2低剂量组	0.716±0.021 <sup>#</sup>	0.080±0.007 <sup>#</sup>	5.051±0.169 <sup>#</sup>

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与5-FU组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与C II -3组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$ ;与脱脂膏组比较,<sup>◆</sup> $P<0.05$

Note: vs. model group, \* $P<0.05$ ; vs. 5-FU group, <sup>#</sup> $P<0.05$ ; vs. C II -3 group, <sup>Δ</sup> $P<0.05$ ; vs. skimmed cream group, <sup>◆</sup> $P<0.05$

PAP-2高剂量组、C II -3组和脱脂膏组小鼠血清中VEGF含量和5-FU组、PAP-2高剂量组小鼠血清中IL-1 $\beta$ 含量以及5-FU组、PAP-2各剂量组小鼠血清中IL-4含量差异有统计学意义( $P<0.05$ )。PAP-2高剂量组小鼠血清中VEGF含量显著高于脱脂膏组和C II -3组( $P<0.05$ );但其血清中IL-1 $\beta$ 含量显著高于脱脂膏组和C II -3组,IL-4含量显著低于脱脂膏组和C II -3组( $P<0.05$ )。各组小鼠血清中VEGF、IL-1 $\beta$ 、IL-4含量测定结果见表3。

### 4 讨论

本研究利用H22细胞株构建Balb/c小鼠腋下移植瘤小鼠模型,进行了PAP-2的体内抑瘤作用研究。实验结果表明,美洲大蠊多肽PAP-2可使肿瘤细胞排列逐渐疏松,且随着PAP-2剂量的增加,其肿瘤细胞坏死区域明显增加,高剂量PAP-2(200 mg/kg)的抑瘤率达38.95%,接近于阳性对照药5-FU,且PAP-2的抑瘤效果显著优于脱脂膏和C II -3。此外,PAP-2还可升高H22荷瘤小鼠的脏器(脾、胸腺、肝)指数,从而升高荷瘤小鼠的免疫力,达到抑瘤作用<sup>[9]</sup>,并且高剂量PAP-2的作用效果优于脱脂膏和C II -3。

VEGF是目前发现的最重要的促血管生成因子。正常情况下,机体的免疫系统发挥免疫作用后对肿瘤细胞进行重塑,但同时肿瘤细胞也相应会释放出免疫抑制细胞及因子来对抗免疫细胞的作用,从而导致免疫抑制微环境的形成,在该微环境中免疫细胞的功能下降,促进了VEGF的表达,使得新生血管形成,导致了肿瘤的进展和转移。美洲大蠊多肽PAP-2可降低H22荷瘤小鼠血清中VEGF的含量,并呈一定的量效关系,但是其作用不及脱脂膏和C II -3。IL-4主要由活化T淋巴细胞产生,在小鼠中由辅助性T细胞(Th2)亚群产生,可促进体液免疫。T细胞能够促进 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )、IL-1的分泌,IL-1与IL-4相互制约达到平衡,调节机体免疫功能。

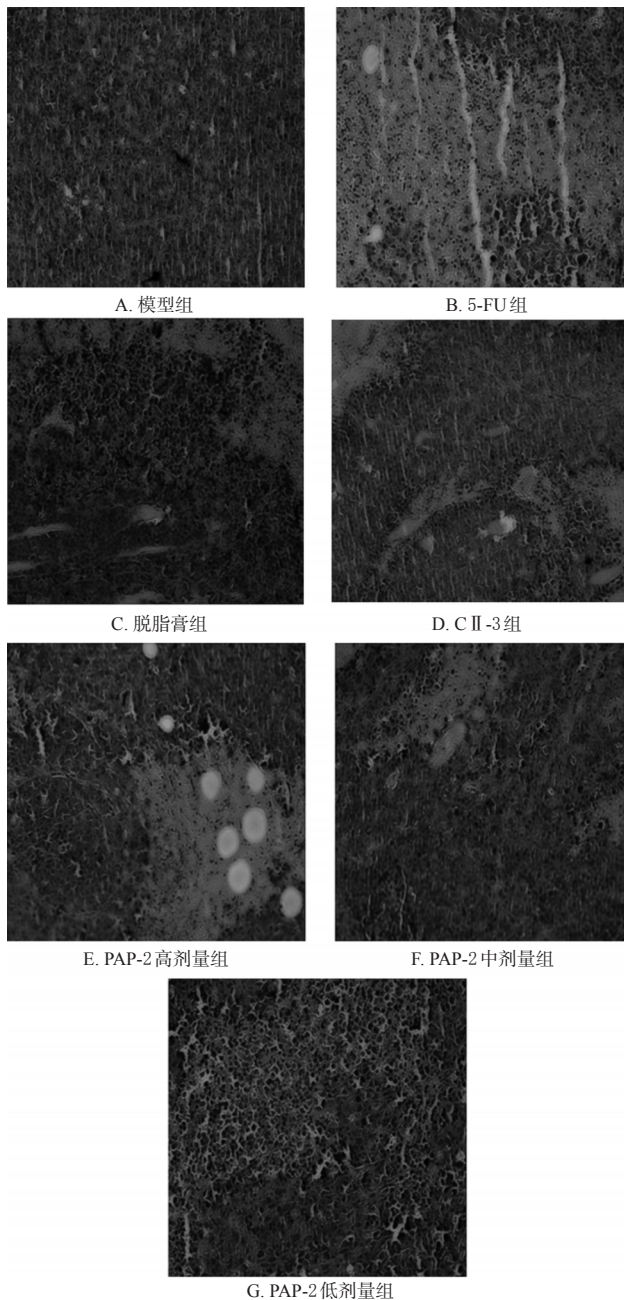


图1 各组小鼠瘤组织的HE染色结果( $\times 200$ )

Fig 1 HE staining of tumor tissue of mice in each group( $\times 200$ )

肿瘤发生时,IL-1水平会显著减低,而IL-4水平明显上升<sup>[20]</sup>。有研究显示,IL-1 $\beta$ 可促进炎症反应<sup>[21-22]</sup>,其可招募中性粒细胞积聚到肿瘤细胞周围,从而抑制肿瘤的生长<sup>[23]</sup>。本实验结果显示,美洲大蠊多肽PAP-2可提高小鼠血清中IL-1 $\beta$ 的含量,下调其血清中IL-4的含量,提示其可能具有调节细胞因子分泌、改善Th1/Th2的平衡、促进免疫应答过程中Th2/Th1型偏移,增强细胞免疫功能,从而起到有效抑制肿瘤生长效应的作用;同时,其又可以通过减少荷瘤小鼠血清中VEGF的含量,从而抑制肿瘤的生长、浸润和转移。

综上所述,美洲大蠊多肽PAP-2可升高荷瘤小鼠的

表3 各组小鼠血清中VEGF、IL-1 $\beta$ 、IL-4含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$ )

Tab 3 Serum contents of VEGF, IL-1 $\beta$  and IL-4 of mice in each group( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$ )

组别	VEGF	IL-1 $\beta$	IL-4
模型组	72.25 $\pm$ 3.12	18.50 $\pm$ 0.45	56.02 $\pm$ 6.60
5-FU组	66.92 $\pm$ 2.62	35.30 $\pm$ 3.61*	38.79 $\pm$ 1.59*
脱脂膏组	52.10 $\pm$ 3.88**	16.73 $\pm$ 2.29 <sup>#</sup>	52.13 $\pm$ 3.54 <sup>#</sup>
C II -3组	49.98 $\pm$ 5.26**	18.90 $\pm$ 1.92 <sup>#</sup>	51.32 $\pm$ 2.39 <sup>#</sup>
PAP-2高剂量组	60.81 $\pm$ 1.91* <sup>Δ</sup> •	33.40 $\pm$ 5.02* <sup>Δ</sup> •	45.04 $\pm$ 0.00* <sup>Δ</sup> •
PAP-2中剂量组	65.45 $\pm$ 8.87	29.86 $\pm$ 9.81	43.06 $\pm$ 0.00*
PAP-2低剂量组	72.89 $\pm$ 2.85	24.66 $\pm$ 7.35	44.02 $\pm$ 2.80*

注:与模型组比较,\* $P < 0.05$ ;与5-FU组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与C II -3组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$ ;与脱脂膏组与比较,<sup>•</sup> $P < 0.05$

Note: vs. model group, \* $P < 0.05$ ; vs. 5-FU group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; vs. C II -3 group, <sup>Δ</sup> $P < 0.05$ ; vs. skimmed cream group, <sup>•</sup> $P < 0.05$

脏器指数,下调其血清中VEGF、IL-4含量并升高其血清中IL-1 $\beta$ 含量,对H22荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用,且其作用优于美洲大蠊提取物脱脂膏和C II -3,具有一定的开发价值,但是其具体的抗肿瘤机制仍有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] NAVEENTA K, KHAKOO SI. Hepatocellular carcinoma: prospects for NK cell immunotherapy[J]. *HLA*, 2018, 12(2):138-144.
- [2] LI HM, ZHANG LS. Liver regeneration microenvironment of hepatocellular carcinoma for prevention and therapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1):1805-1813.
- [3] 姚蓉蓉,王艳红.肝细胞肝癌免疫微环境的研究进展[J]. *中国临床医学*, 2014, 21(4):487-496.
- [4] BISSELL MJ, HINES WC. Why don't we get more cancer a proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression[J]. *Nat Med*, 2011, 17(3):320-329.
- [5] 高洁,沈咏梅,岳碧松.美洲大蠊药理作用及其临床疗效的研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(4):203-208.
- [6] 焦春香,刘光明,周萍.天然药物康复新的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(11):2623-2624.
- [7] 甘平,张旭强,何旭,等.美洲大蠊醇提物对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(3):123-128.
- [8] 杜一民,陈鸿珊,李树楠,等.治疗乙型肝炎新药肝龙胶囊的药效学初步研究[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(8):1369-1371.
- [9] 李武,段丽芳,何贵清,等.美洲大蠊提取物对实验性肝纤维化的影响[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(5):1137-1138.
- [10] 何正春,彭芳,宋丽艳,等.美洲大蠊化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(21):2326-2331.
- [11] 吴少辉,彭芳,高鹏飞,等.膜超滤分离美洲大蠊抗肿瘤活性部位小分子肽的研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(4):

# 星点设计-响应面法优选高良姜的砂烫炮制工艺<sup>Δ</sup>

邓仙梅<sup>1\*</sup>, 黄斯敏<sup>1</sup>, 陈玉玲<sup>1</sup>, 孟江<sup>2</sup>, 赵斌<sup>3#</sup> (1.肇庆医学高等专科学校药理学系, 广东肇庆 526000; 2.广东药科大学中药学院, 广州 510006; 3.中山火炬职业技术学院生药系, 广东中山 528436)

中图分类号 R283.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)07-0931-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.15

**摘要** 目的: 优选高良姜的砂烫炮制工艺, 为高良姜的规范化炮制提供科学依据。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC)测定炮良姜中高良姜素和姜黄素含量。在单因素试验基础上, 以炮制温度、炮制时间为考察因素, 以高良姜素和姜黄素含量的综合评分为指标, 采用星点设计-响应面法优选高良姜的砂烫炮制工艺, 并进行工艺验证。结果: 优选的工艺为炮制温度200℃、炮制时间5.5 min。3次验证试验中, 平均综合评分为94.38(RSD=1.02%), 与预测值93.74的相对误差为0.68%。结论: 优选的炮制工艺方法简便、预测性良好, 可用于高良姜的砂烫炮制。

**关键词** 高良姜; 炮良姜; 砂烫炮制; 星点设计-效应面法; 高良姜素; 姜黄素

## Optimization of the Hot Sand Processing Technology for *Alpinia officinarum* by Central Composite Design-response Surface Method

DENG Xianmei<sup>1</sup>, HUANG Simin<sup>1</sup>, CHEN Yuling<sup>1</sup>, MENG Jiang<sup>2</sup>, ZHAO Bin<sup>3</sup> (1.Dept. of Pharmacy, Zhaoqing Medical College, Guangdong Zhaoqing 526000, China; 2.School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 3.Dept. of Pharmacology, Zhongshan Torch Polytechnic, Guangdong Zhongshan 528436, China)

2041-2042, 2089.

- [12] 胡艳芬, 吕小满, 刘光明, 等. 美洲大蠊提取物对3株人肺癌细胞的体外抑制作用[J]. 大理学院学报, 2009, 8(12): 1-3.
- [13] 何旭, 普小菲, 彭芳, 等. 美洲大蠊提取物对S180荷瘤小鼠肿瘤抑制作用及免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 179-182.
- [14] 陈俊雅, 耿玲, 张旭强, 等. 美洲大蠊提取物C II -3对H22肝癌小鼠血管生成作用的研究[J]. 肿瘤学杂志, 2012, 18(5): 274-276.
- [15] 普小菲, 罗亦佳, 彭芳, 等. 美洲大蠊提取物C II -3体内外抗HSV-2实验研究[J]. 大理学院学报, 2014, 13(10): 5-9.
- [16] 李洪文, 耿玲, 刘光明, 等. 美洲大蠊脱脂膏及其活性炭脱色物体外抗菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 159-161.
- [17] 张蕊, 袁发璐, 李婷, 等. 美洲大蠊提取物对人肝癌HepG2

细胞的作用机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(12): 1-8.

- [18] 李阳, 郝艺照, 傅熠俊, 等. 黄连-干姜药对预防DSS诱导的小鼠结肠炎作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15): 154-159.
- [19] 吴会清. 灵芝多糖对S180荷瘤小鼠血清细胞因子水平与脏器指数的影响[J]. 中国药房, 2014, 25(35): 3273-3275.
- [20] 赵昌林, 王珍, 骆敏翔, 等. 番荔枝单体Bullatacin调节Th1/Th2平衡对小鼠H22肝癌的抑制作用研究[J]. 肿瘤药理学, 2016, 6(4): 266-280.
- [21] HCHORS K, EVAN G. Tumor angiogenesis: cause or consequence of cancer[J]. *Cancer Res*, 2007. DOI: 10.1158/0008-5472.
- [22] KIM JW, KOH Y, KIM DW. Clinical implications of VEGF, TGF- $\beta_1$ , and IL-1 $\beta$  in patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res Treat*, 2013, 45(4): 325-333.
- [23] CHEN LC, WANG LJ, TSANG NM, et al. Tumour inflammasome-derived IL-1 $\beta$  recruits neutrophils and improves local recurrence-free survival in EBV-induced nasopharyngeal carcinoma[J]. *EMBO Mol Med*, 2012, 4(12): 1276-1293.

<sup>Δ</sup> 基金项目: 国家发改委新兴产业重大工程中药标准化项目(No.201609-07-05); 广东省教育厅青年创新人才类项目(No. 2017-GKQNCX104); 肇庆医学高等专科学校中青年科技基金项目(No. Zqyq17-009); 肇庆医学高等专科学校学生科技活动基金项目(No. 2017XS08)

\* 助教, 硕士。研究方向: 中药炮制及饮片质量标准。E-mail: 779325951@qq.com

# 通信作者: 教授, 博士。研究方向: 中药质量标准。E-mail: zhaobin3226794@163.com

(收稿日期: 2018-12-10 修回日期: 2019-01-12)

(编辑: 林静)