

吴茱萸超微粉巴布剂促渗剂的优选

吴蔚苗*, 罗锦莹#(佛山市顺德区中医院, 广东佛山 528000)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0050-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.16

摘要 目的:考察一元促渗剂和多元促渗剂按不同比例联用对吴茱萸超微粉巴布剂的促渗作用,以优选促渗剂及其浓度。方法:采用改良 Franz 扩散池,以离体小鼠腹部皮肤为屏障,采用高效液相色谱法检测一元促渗剂(丙二醇、氮酮、油酸)、多元促渗剂(丙二醇-氮酮、丙二醇-油酸、丙二醇-氮酮-油酸)及其比例、用量对吴茱萸超微粉巴布剂中吴茱萸碱及吴茱萸次碱单位面积累积渗透量(Q_n)的影响。结果:一元促渗剂丙二醇的促渗效果明显优于其他一元及多元促渗剂,且多元促渗系统中丙二醇所占的比例越高,对吴茱萸碱及吴茱萸次碱的促渗作用越好;以3%、5%、7%丙二醇为促渗剂时吴茱萸碱的 Q_{36h} 分别为11.290、14.332、13.537 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,吴茱萸次碱的 Q_{36h} 分别为11.965、14.856、13.901 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。结论:5%丙二醇的促渗作用最好,可作为吴茱萸超微粉巴布剂的促渗剂。

关键词 吴茱萸;吴茱萸碱;吴茱萸次碱;超微粉巴布剂;促渗剂

Optimization of the Enhancers for *Euodia rutaecarpa* Superfines Cataplasm

WU Weimiao¹, LUO Jingying¹(Foshan Shunde District Hospital of TCM, Guangdong Foshan 528000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate penetrative effects of a penetration enhancer and multiple penetration enhancers combination with different proportions on *Euodia rutaecarpa* superfines cataplasm, so as to optimize enhancer and their concentrations. METHODS: Modified Franz diffusion cell was employed with isolated mice abdominal skin as barrier. HPLC method was adopted to detect the effects of a penetration enhancer (propanediol, azone, oleic acid), multiple penetration enhancers (propanediol-azone, propanediol-oleic acid, propanediol-azone-oleic acid), their proportion and amount on accumulative permeation quantity (Q_n) of evodiamine and rutaecarpin in *Euodia rutaecarpa* superfines cataplasm. RESULTS: The penetrative effect of a penetration enhancer propanediol was significantly better than that of other one penetration enhancers and multiple penetration enhancers; the higher proportion of propanediol in multiple penetration enhancer system was, the better penetrative effects of evodiamine and rutaecarpin had. Using 3%, 5% and 7% propanediol as enhancer, Q_{36h} of evodiamine were 11.290, 14.332 and 13.537 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, and those of rutaecarpin were 11.965, 14.856 and 13.901 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. CONCLUSIONS: The penetrative effect of 5% propanediol is the best, and can be used as enhancer for *E. rutaecarpa* superfines cataplasm.

KEYWORDS *Euodia rutaecarpa*; Evodiamine; Rutaecarpin; Superfines cataplasm; Enhancer

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实,具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻之功效,临床常用于治疗厥阴头痛、寒疝腹痛、寒湿脚气、经行腹痛、脘腹胀痛、呕吐吞酸、五更泄泻等^[1-2]。现代药理研究发现其具有强心、保护心脏、抗心律失常、降压、抗血栓、抗肿瘤、抗过敏和抗炎镇痛等作用^[3-4]。吴茱萸碱和吴茱萸次碱是其主要的有效活性成分。药理学研究表明,吴茱萸碱具有镇痛消炎、强心、抗肿瘤、保护心脏、收缩支气管等作用,对于吴茱萸碱已知的药理作用,主要集中在抗肿瘤和保护心脏两方面^[5];吴茱萸次碱具有保护心脏、舒张血管降低血压、抗炎、影响药物代谢、影响内分泌系统、影响免疫及过敏反应等作用,特别是在心血管系统方面的药理作用极具临床意义^[6-7]。巴布剂(Cataplasm)系指将药物加入水溶性高分子化合物或亲水性物质基质中所制成的贴膏剂。相对于其他外用贴膏,巴布剂具有载药量大、透气性、贴敷性、保湿性好、刺激性小及应用方便等优点^[8-9]。药物的经皮渗透能力一

般可通过添加促渗剂来改善,促渗剂通过改变皮肤角质层脂质或蛋白间的相互作用提高药物的渗透量^[10]。目前,常用的促渗剂有氮酮、丙二醇、油酸、冰片、薄荷脑及中药挥发油(如桉油、松节油、丁香油)等^[11-13]。本研究采用体外透皮吸收试验方法,考察氮酮、丙二醇、油酸一元促渗剂及其不同比例联用的多元促渗剂对吴茱萸超微粉巴布剂的促渗作用,以优选促渗剂及其浓度。

1 材料

1.1 仪器

YB-P6 智能透皮仪(天津药典标准仪器厂);AUI220 分析天平(广州湘仪机电设备有限公司);LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);QYYS-20A 超纯水机(重庆前沿水处理设备有限公司);FY-6032 初黏性测试仪(深圳市方源仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

吴茱萸超微粉(广州南北行中药饮片有限公司,批号:20150203G322,粒度:300目);吴茱萸碱对照品、吴茱萸次碱对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号:MUST-12031010、MUST-10091505,纯度:98%);丙二醇、油酸、卡波姆、酒石酸(天津市大茂化学试剂厂,分析纯);氮酮(阿拉丁试剂有限公司,分析纯);聚丙烯酸钠 NP800(天津市福晨化学试剂厂,分析纯);甘羟铝(天津市富宇精细化工有限公司,分析纯);乙腈

* 主管中药师。研究方向:中药制剂。电话:0757-22626032。E-mail:m13724672006@163.com

通信作者:主管中药师。研究方向:中药制剂。电话:0757-22280163。E-mail:1656377337@qq.com

(迪马科技有限公司, 色谱纯); 四氢呋喃、冰醋酸(天津科密试剂有限公司, 色谱纯); 其余试剂均为市售分析纯。

1.3 动物

昆明小鼠33只, δ , 体质量10~13 g, 购自广州中医药大学实验动物中心, 合格证号为SCXK(粤)2013-0034。

2 方法与结果

2.1 吴茱萸超微粉巴布剂的制备

取15.0 g甘油置于烧杯中, 加入3.0 g聚丙烯酸钠NP800, 搅拌1 min, 再加入0.05 g 甘羟铝(用1.0 ml水溶解)搅拌1 min, 作为A相; 取3.0 g 聚乙烯吡咯烷酮置于烧杯中, 加入20 ml水, 搅拌溶解后加入0.06 g 酒石酸, 作为B相; 取吴茱萸超微粉约5.0 g, 精密称定, 置于烧杯中, 依次加入氯化蓖麻油CO-40 7.0 g、卡波姆(三乙醇胺调节pH至中性) 10.0 g、超纯水20 ml和适量促渗剂(空白对照组吴茱萸超微粉巴布剂不加促渗剂, 只加入与促渗剂等量的超纯水), 搅拌均匀作为C相。将B相加入A相中, 搅拌5 min至均匀, 再将C相加入混合均匀的A相中搅拌10 min, 至膏体均匀无结块, 涂布成12 cm×12 cm大小, 静置24 h晾干成型, 即得吴茱萸超微粉巴布剂。

2.2 色谱分析

2.2.1 供试品溶液制备 取体外透皮吸收试验的接收液, 以0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 即得接收液供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液制备 取吴茱萸碱对照品、吴茱萸次碱对照品适量, 精密称定, 加适量20%乙醇生理盐水溶液制成每1 ml含吴茱萸碱0.03 mg、吴茱萸次碱0.02 mg的混合溶液, 即得对照品母液。分别精密量取对照品母液2.50、5.00、7.50、10.00、12.50 ml, 置于100 ml量瓶中, 用20%乙醇生理盐水溶液定容至刻度, 摇匀后即得吴茱萸碱质量浓度分别为0.375、0.750、1.500、2.250、3.000、3.750 $\mu\text{g/ml}$, 吴茱萸次碱质量浓度分别为0.250、0.500、1.000、1.500、2.000、2.500 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

2.2.3 色谱条件与系统适用性考察 色谱柱: Inertsil ODS-SP (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A为乙腈, B为四氢呋喃-冰醋酸-水(1:0.2:59), A-B的比例为46:54; 流速: 1 ml/min; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μl ; 检测波长: 225 nm。在该色谱条件下, 分别取对照品溶液、供试品溶液和空白接收液(见“2.3.2”项)进样分析, 结果吴茱萸碱和吴茱萸次碱的出峰时间分别为16.4、19.5 min, 各峰间分离度均大于1.5。色谱图见图1。

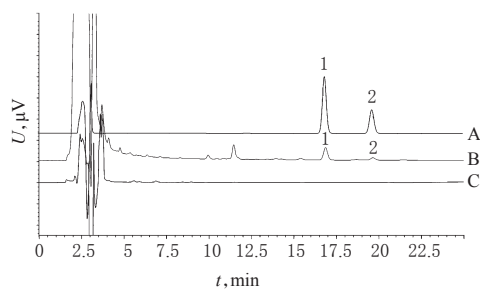


图1 高效液相色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 空白接收液; 1. 吴茱萸碱; 2. 吴茱萸次碱

Fig 1 HPLC chromatogram

A. substance control solution; B. sample solution; C. blank receptor fluid; 1. evodiamine; 2. rutaecarpin

2.2.4 标准曲线的绘制 取“2.2.2”项下的对照品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。以对照品溶液

质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线, 得吴茱萸碱回归方程为 $y=73\ 099x+4\ 185.5$ ($r=0.999\ 0$)、吴茱萸次碱回归方程为 $y=45\ 721x-678.6$ ($r=0.991\ 0$)。结果表明, 吴茱萸碱、吴茱萸次碱检测质量浓度的线性范围分别为0.375~3.750、0.250~2.500 $\mu\text{g/ml}$, 检测限分别为8、10 ng(信噪比为3), 定量限分别为25、30 ng(信噪比为10)。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 连续进样6次。结果吴茱萸碱和吴茱萸次碱峰面积的RSD分别为0.21%、0.28%($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(36 h采样), 按“2.2.2”项下色谱条件, 分别于制备后0、3、6、9、12 h进样分析。结果吴茱萸碱和吴茱萸次碱峰面积的RSD分别为0.27%、0.96%($n=5$), 表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.2.7 加样回收率试验 精密吸取已知吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量的超微粉巴布剂供试品溶液(36 h采样)6份, 各1 ml, 分别准确加入1 ml对照品溶液(吴茱萸碱、吴茱萸次碱质量浓度分别为30.0、20.0 $\mu\text{g/ml}$), 按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析, 重复3次。结果吴茱萸碱和吴茱萸次碱的平均回收率分别为97.6%、98.2%, RSD分别为2.09%、2.57%($n=3$)。

2.3 体外透皮吸收试验

2.3.1 离体皮肤的制备 取小鼠33只, 先用10%水合氯醛麻醉, 然后剃光腹部毛, 再用10%的硫化钠脱毛。24 h后将小鼠颈椎脱臼处死, 用剪刀将腹部皮肤剪下并用刀片轻轻刮下筋膜, 生理盐水漂洗干净, 放置于-30 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

2.3.2 样品的收集与测定 取不同促渗剂超微粉巴布剂各3组, 将处理好的小鼠皮肤固定于YB-P6型透皮扩散试验仪的扩散池上, 扩散池容积为15 ml, 有效渗透面积(A)为1.13 cm^2 , 使皮外表面朝上, 并贴上剪成直径1.2 cm的圆形巴布剂贴于上面。接收室加满扩散介质, 以32 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴, 磁力搅拌子以200 r/min的速度搅拌。分别于2、4、8、12、24、36 h吸取1 ml接收液, 同时用20%乙醇生理盐水溶液补充满。接收液以0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析, 计算单位面积累积渗透量(Q_n)。
$$Q_n = (c_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} c_i \cdot V_s) / A$$
 公式中, c_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度($\mu\text{g/ml}$); V 为接收池体积; V_s 为取样体积; c_i 为第 i ($i \leq n-1$)个取样点测得的药物质量浓度($\mu\text{g/ml}$); A 为供药池池口面积即有效透皮面积(1.13 cm^2)。以 Q_n 对时间 t 作图, 并对曲线中的直线部分线性回归, 求出直线斜率 dQ/dt , 即得稳态渗透速率(J , $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)。

2.3.3 不同促渗剂种类考察 以吴茱萸碱及吴茱萸次碱的 $Q_{36\text{h}}$ 为指标, 分别考察质量分数均为3%的一元促渗剂(丙二醇-氮酮、油酸)、多元促渗剂[丙二醇-氮酮(简称丙-氮, 1:1:2:1:3:1)、丙二醇-油酸(简称丙-油, 1:1:2:1:3:1)、丙二醇-氮酮-油酸(简称丙-氮-油, 1:1:1)]以及不加促渗剂(空白对照)对吴茱萸超微粉巴布剂的促渗作用。不同促渗剂对巴布剂中不同成分透皮吸收的影响见图2, 数据结果见表1和表2。

结果显示, 丙二醇单独用时, 吴茱萸碱及吴茱萸次碱的 $Q_{36\text{h}}$ 均为最大值。各促渗剂对吴茱萸总生物碱的促渗效果依次为丙二醇>丙二醇-油酸(3:1)>氮酮>丙二醇-氮酮(3:1)>丙二醇-氮酮(2:1)>丙二醇-油酸(2:1)>丙二醇-油酸(1:1)>油酸>丙二醇-氮酮(1:1)>丙二醇-氮酮-油酸(1:1:1)>空白对照。由此结果发现, 丙二醇-油酸(3:1)>丙二醇-油酸(2:1)>丙二醇-油酸(1:1), 丙二醇-氮酮(3:1)>丙二醇-

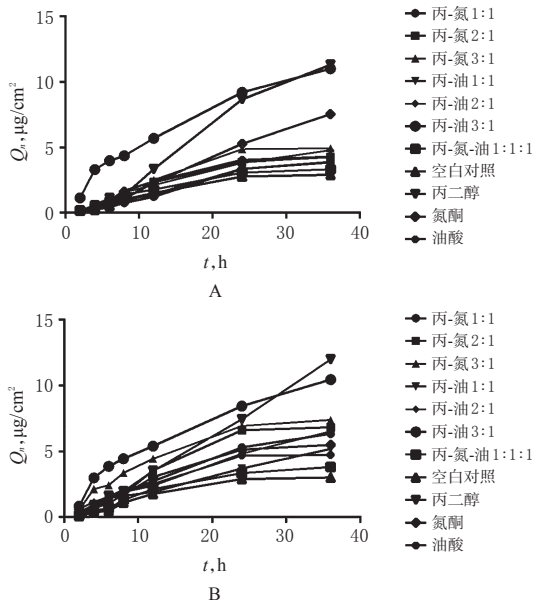


图2 不同促渗剂对巴布剂中不同成分透皮吸收的影响
A. 吴茱萸碱; B. 吴茱萸次碱

Fig 2 Effects of different enhancers on percutaneous absorption of different components in cataplast

A. evodiamine; B. rutaecarpin

表1 不同促渗剂对巴布剂中吴茱萸碱透皮吸收的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Effects of different enhancers on percutaneous absorption of evodiamine in cataplast ($\bar{x} \pm s, n=3$)

体系	回归方程	r	$Q_{6h}, \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$
丙二醇	$Q_s=0.352 7t-0.861 3$	0.984 3	11.290 ± 0.32	0.352 7
氮酮	$Q_s=0.225 3t-0.434 3$	0.995 9	7.532 ± 0.21	0.225 3
油酸	$Q_s=0.128 6t+0.293 7$	0.901 7	4.299 ± 0.15	0.128 6
丙-氮(1:1)	$Q_s=0.123 0t-0.192 1$	0.965 7	3.887 ± 0.16	0.123 0
丙-氮(2:1)	$Q_s=0.132 7t+0.049 7$	0.921 0	4.263 ± 0.19	0.132 7
丙-氮(3:1)	$Q_s=0.155 8t-0.067 0$	0.910 3	4.917 ± 0.35	0.155 8
丙-油(1:1)	$Q_s=0.115 7t+0.031 9$	0.964 5	3.845 ± 0.09	0.115 7
丙-油(2:1)	$Q_s=0.138 1t+0.150 4$	0.966 7	4.775 ± 0.22	0.138 1
丙-油(3:1)	$Q_s=0.270 6t+1.966 6$	0.952 4	10.996 ± 0.36	0.270 6
丙-氮-油(1:1:1)	$Q_s=0.095 6t+0.311 8$	0.912 2	3.322 ± 0.28	0.095 6
空白对照	$Q_s=0.088 1t+0.147 8$	0.915 2	2.901 ± 0.06	0.088 1

表2 不同促渗剂对巴布剂中吴茱萸次碱透皮吸收的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Effects of different enhancers on percutaneous absorption of rutaecarpin in cataplast ($\bar{x} \pm s, n=3$)

体系	回归方程	r	$Q_{6h}, \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$
丙二醇	$Q_s=0.342 3t-0.548 7$	0.998 2	11.965 ± 0.56	0.342 3
氮酮	$Q_s=0.164 4t+0.314 2$	0.919 0	5.481 ± 0.37	0.164 4
油酸	$Q_s=0.137 0t+0.525 0$	0.882 9	4.721 ± 0.43	0.137 0
丙-氮(1:1)	$Q_s=0.184 5t+0.223 9$	0.964 5	6.333 ± 0.27	0.184 5
丙-氮(2:1)	$Q_s=0.192 6t+1.352 2$	0.897 2	6.822 ± 0.45	0.192 6
丙-氮(3:1)	$Q_s=0.207 4t+0.332 7$	0.919 0	7.378 ± 0.28	0.207 4
丙-油(1:1)	$Q_s=0.134 7t+0.399 0$	0.987 1	5.181 ± 0.12	0.134 7
丙-油(2:1)	$Q_s=0.172 7t+0.439 6$	0.995 2	6.158 ± 0.25	0.172 7
丙-油(3:1)	$Q_s=0.256 0t+1.833 6$	0.943 5	10.450 ± 0.62	0.256 0
丙-氮-油(1:1:1)	$Q_s=0.111 1t+0.243 3$	0.925 7	3.801 ± 0.07	0.111 1
空白对照	$Q_s=0.091 3t+0.188 6$	0.891 1	3.002 ± 0.15	0.091 3

氮酮(2:1) > 丙二醇-氮酮(1:1) > 丙二醇-氮酮-油酸(1:1:1)。因此可知,多元促渗剂中丙二醇所占的比例越高,对吴茱

萸总生物碱的促渗作用越好。故选择丙二醇作为吴茱萸超微粉巴布剂的促渗剂。

2.3.4 不同用量的丙二醇对吴茱萸超微粉巴布剂经皮吸收的影响 以吴茱萸碱及吴茱萸次碱的 Q_{36h} 为指标,分别考察加入3%、5%、7%的丙二醇作为促渗剂及不加任何促渗剂(空白对照)对吴茱萸超微粉巴布剂的促渗作用。结果显示,3%、5%、7%的丙二醇作为促渗剂时巴布剂中吴茱萸碱的 Q_{36h} 分别为11.29、14.332、13.537 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,吴茱萸次碱的 Q_{36h} 分别为11.965、14.856、13.901 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,表明对吴茱萸总生物碱 Q 的促渗作用5%丙二醇 > 7%丙二醇 > 3%丙二醇;当丙二醇的用量为5%时,促渗作用最好,而总用量继续增加,促渗作用有所降低。故吴茱萸超微粉巴布剂促渗剂丙二醇的用量以5%最佳。

3 讨论

透皮吸收促渗剂就像化学中的催化剂一样,对巴布剂主要成分的透皮吸收具有不可或缺的作用,使药物更易透过皮肤天然屏障,其主要机制是通过改变皮肤角质层脂质或蛋白间的相互作用而提高药物的渗透量^[4]。目前国内巴布剂多采用 Franz 扩散池进行体外透皮性能的研究,并通过测定透过液中有有效成分含量判断其透皮性能^[15]。

促渗剂可单独使用,也可以联合使用。本研究发现一元促渗剂丙二醇单独使用对吴茱萸碱和吴茱萸次碱的促渗作用最强,多元促渗剂丙二醇-油酸按3:1比例联合使用对药物渗透有较好的协同作用,其他比例联合使用协同作用不明显。此外亦发现,促渗剂联合使用时,对吴茱萸碱和吴茱萸次碱的促渗作用随丙二醇在联合体系中所占的比例越高,促渗作用越好,可能原因是偏水溶性的丙二醇比偏脂溶性的氮酮或油酸更容易使脂溶性的吴茱萸碱和吴茱萸次碱透过水溶性基质的巴布剂。促渗剂的用量和配伍情况及配伍比例对制剂中药物的透皮吸收有显著影响。本研究考察不同用量的丙二醇促渗剂对吴茱萸碱和吴茱萸次碱促渗效果时,发现5%丙二醇的促渗作用最好,当用量升高至7%时,促渗作用反而下降,这可能是由于丙二醇随着用量的提高,黏性增加,反而阻滞药物扩散。石恩嫻等^[16]研究表明,使用低用量的促渗剂也可使药物具有良好的透皮渗透性;并不一定是促渗剂浓度越高对药物的促渗作用就越强,有时候促渗剂浓度过高甚至可能降低药物的渗透量。这一结论与本文结果一致。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 160.
- [2] 杨传英, 李俊峰. 吴茱萸临床应用琐谈[J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(5): 77.
- [3] 龚慕辛, 王智民, 张启伟, 等. 吴茱萸有效成分的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 183.
- [4] 文丽梅, 马超英, 余德林, 等. 吴茱萸的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(9): 1 976.
- [5] 张志仙, 蒋美玲, 王欣慧, 等. 吴茱萸碱的药学研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(21): 4 189.
- [6] 邱模昌, 彭维杰. 吴茱萸次碱药理作用研究进展[J]. 科技信息, 2012(1): 651.
- [7] 杨晓青, 李最琼, 曾泗宇, 等. 吴茱萸次碱对高血压大鼠胸主动脉血管肽酶C表达的影响研究[J]. 中国药房, 2009, 20(15): 1 124.
- [8] 罗静, 张涛, 黄华, 等. 洛索洛芬钠巴布剂的制备及质量评

叶黄素对鼻咽癌C666-1细胞的抑制作用及其机制

沈敏*, 刘辉, 万俐佳(华中科技大学同济医学院附属荆州医院耳鼻咽喉科头颈外科, 湖北荆州 434020)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0053-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.17

摘要 目的:研究叶黄素对鼻咽癌C666-1细胞的抑制作用及其机制。方法:以0(空白对照)、20、40、80、160 mg/L的叶黄素培养C666-1细胞0、12、24、48 h,以CCK-8法测定细胞增殖率,以TUNEL法测定细胞凋亡率,以Western blot法测定细胞腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)和mTOR通路中核糖体蛋白S6激酶(S6K)、S6蛋白的磷酸化程度。结果:与空白对照比较,80、160 mg/L叶黄素作用48 h及160 mg/L叶黄素作用12、24、48 h的细胞增殖率均降低($P<0.05$);80、160 mg/L叶黄素作用48 h及160 mg/L叶黄素作用24、48 h的细胞凋亡率增加($P<0.05$);80、160 mg/L叶黄素作用48 h的细胞内磷酸化AMPK增加,磷酸化S6K、S6蛋白减少($P<0.05$)。结论:叶黄素能有效抑制C666-1细胞增殖,可能通过促进AMPK磷酸化,抑制S6K、S6蛋白磷酸化诱导其凋亡。

关键词 叶黄素;鼻咽癌;C666-1细胞;增殖;凋亡

Inhibitory Effects and Mechanism of Lutein on Nasopharyngeal Carcinoma C666-1 Cells

SHEN Min, LIU Hui, WAN Lijia (Dept. of Otolaryngology and Head & Neck Surgery, the Affiliated Jingzhou Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Jingzhou 434020, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects and mechanism of lutein on nasopharyngeal carcinoma C666-1 cells. METHODS: C666-1 cells were stimulated by lutein at different concentrations [0 (blank control), 20, 40, 80, 160 mg/L] for different time (0, 12, 24, 48 h). The proliferation rate of cells was determined by CCK-8 assay, and apoptotic rate of cells was determined by TUNEL method; Western blot was adopted to determine the phosphorylation of S6K and S6 proteins of AMPK and mTOR pathway. RESULTS: Compared with blank control group, proliferation rate of C666-1 cells was significantly reduced after treated with lutein (80, 160 mg/L) for 48 h and lutein (160 mg/L) for 12, 24, 48 h ($P<0.05$). After treated with lutein (80, 160 mg/L) for 48 h and lutein (160 mg/L) for 24, 48 h, cell apoptosis was significantly increased ($P<0.05$). Lutein (80, 160 mg/L) could promote intracellular AMPK phosphorylation, and inhibits mTOR pathway S6K, S6 protein phosphorylation after 48 h treatment ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Lutein can inhibit nasopharyngeal carcinoma C666-1 cell proliferation and induce nasopharyngeal carcinoma cell apoptosis and inhibit S6K, S6 protein phosphorylation through promoting AMPK phosphorylation.

KEYWORDS Lutein; Nasopharyngeal carcinoma; C666-1 cells; Proliferation; Apoptosis

鼻咽癌是一种鼻咽部的鳞状上皮细胞癌,临床具有发病部位较深、病变难以被发现的特点,癌变后易发生浸润转移^[1]。当前临床治疗以放疗联合辅助化疗为主,但传统化疗后,患者常出现骨髓抑制、胃肠功能紊乱等不良反应,影响患者的预后^[2]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路具有整合细胞内外各种传递信号的功能,并能调节细胞代谢、增殖等生理过程,癌症发生后,mTOR信号通路调节出现异常^[3]。叶黄素是一种天然胡萝卜素,药理

学实验和流行病学均发现叶黄素具有抗癌作用,该作用可能与叶黄素的抗氧化及免疫调节功能有关^[4]。此外,叶黄素还在心血管疾病、提高机体免疫力方面有较好的生物学活性^[5]。当前,叶黄素对鼻咽癌C666-1细胞增殖、凋亡的影响的研究报道很少。为此,本文就叶黄素对鼻咽癌C666-1细胞增殖、凋亡的影响进行了探讨,并通过检测mTOR通路中能量感受器腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)和核糖体蛋白S6激酶(S6 kinase, S6K),对mTOR信号通路的作用

价[J].中国医药工业杂志,2012,43(2):107.

[9] 薛彩红,罗远,梁健钦.优化壮药六味巴布剂的处方及制备工艺[J].中药材,2013,36(10):1694.

[10] Parhi R, Suresh P, Mondal S, et al. Novel penetration enhancers for skin applications: a review[J]. *Curr Drug Deliv*, 2012, 9(2): 219.

[11] 何嘉仑,唐洪梅,涂星.吴茱萸提取物的透皮吸收促进剂的筛选[J].中成药,2013,35(6):1184.

[12] 祁艳,陈军,李磊,等.不同促渗剂对马钱子碱贴剂体外透

皮吸收的影响[J].中国药房,2011,22(3):195.

[13] 陈军,刘培,蒋秋冬,等.中药挥发油作为透皮吸收促进剂的现状与展望[J].中草药,2014,45(24):3651.

[14] 侯雪梅,李国栋,李卫华.化学促渗剂及其机理的探讨[J].上海医药,2008,29(5):232.

[15] 王瑾,杨明,李剑.中药巴布膏剂的研究进展及存在的问题[J].中国药业,2009,18(24):15.

[16] 石恩娴,邢桂琴.不同透皮促进剂对复方黄芩巴布剂中黄芩苷透皮吸收的影响[J].山西医科大学学报,2008,39(1):36.

* 主治医师,硕士。研究方向:耳鼻咽喉头颈外科。E-mail: 18352126@qq.com

(收稿日期:2015-07-16 修回日期:2015-09-10)
(编辑:邹丽娟)