

MASTER'S THESIS

白藜醇提物的體外抗腫瘤研究

李紹華

Date of Award:
2011

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and intellectual property rights for the publications made accessible in HKBU Scholars are retained by the authors and/or other copyright owners. In addition to the restrictions prescribed by the Copyright Ordinance of Hong Kong, all users and readers must also observe the following terms of use:

- Users may download and print one copy of any publication from HKBU Scholars for the purpose of private study or research
- Users cannot further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- To share publications in HKBU Scholars with others, users are welcome to freely distribute the permanent URL assigned to the publication

白藜醇提物的體外抗腫瘤研究

李紹華
09427961

中藥學碩士學位課程

指導老師：禹志頌 博士

香港浸會大學

二零一一年六月

摘要

目的：中醫認為，腫瘤為邪毒積聚所致，而清熱解毒法就是中醫治療腫瘤的治則之一。而現代醫學研究也發現，很多解邪毒的清熱類中藥，都有一定的抗腫瘤作用^[a]。所以本實驗會對清熱解毒藥中的白藜進行研究，探討白藜醇提物的體外抗腫瘤作用及其可能機制，為進一步的體內實驗和臨床應用提供依據。

方法：採用 MTT 法，檢測白藜醇提物對人結腸癌細胞 SW480 和 HCT116，以及人結腸正常上皮細胞 NC M460 的增值抑制作用，測定細胞生長抑制率，計算半數抑制濃度 IC_{50} ，繪製時效生長抑制曲線；採用流式細胞儀，檢測白藜醇提物對 SW480 細胞的細胞週期及凋亡的影響；採用 Western Blot 法，測定白藜醇提物對蛋白表達的影響。

結果：白藜醇提物對人結腸癌細胞 SW480 和 HCT116 的增殖均有顯著的抑制作用，且呈時間、劑量依賴關係。半數抑制濃度 IC_{50} 如下：SW480 為 $104 \mu\text{g/ml}$ ，HCT116 為 $153 \mu\text{g/ml}$ ；白藜醇提物在濃度為 $75 \mu\text{g/ml}$ 至 $175 \mu\text{g/ml}$ 的範圍內，對人結腸正常上皮細胞 NC M460 的增殖並無顯著的抑制作用；白藜醇提物能使 SW480 的細胞生長停滯在 G2/M 期和誘導細胞凋亡；檢測到白藜醇提物能增加細胞週期相關蛋白 p21 的表達，減少 cyclin-B1 的表達；減少凋亡相關蛋白 Caspase-9(46kDa)、Caspase-3 (32kDa) 和抗凋亡蛋白 Bcl-2(26kDa)的表達。

結論與討論：白藜醇提物具有體外抗腫瘤作用。其機制可能與其阻滯細胞週期、誘導細胞凋亡有關。

關鍵詞 白藜；抗腫瘤；結腸癌；抑制增值；細胞週期；細胞凋亡

目錄

致謝	-----	2
聲明	-----	3
摘要	-----	4
1 研究背景	-----	7
2 材料	-----	10
2.1 藥物	-----	10
2.2 試劑	-----	10
2.3 儀器	-----	11
2.4 細胞	-----	11
3 方法	-----	11
3.1 細胞培養	-----	11
3.2 MTT 法檢測白藜醇提物對腫瘤細胞增值的抑制作用	-----	12
3.2.1 細胞生長抑制率和半數抑制濃度 IC_{50} 的測定	-----	12
3.2.2 繪製時效生長抑制曲線	-----	12
3.3 流式細胞儀分析細胞週期	-----	13
3.4 流式細胞儀分析細胞凋亡	-----	13
3.5 Western Blot 法測蛋白的表達	-----	13
3.6 數據分析	-----	14

4	結果	-----	14
4.1	白藜醇提物對結腸癌細胞增值有顯著的抑制作用	-----	14
4.1.1	細胞生長抑制率和半數抑制濃度 IC_{50}	-----	14
4.1.2	細胞 24h和 48h的生長抑制曲線	-----	16
4.2	白藜醇提物誘導細胞週期阻滯	-----	16
4.3	白藜醇提物誘導細胞凋亡	-----	18
4.4	白藜醇提物對蛋白表達的影響	-----	19
5	討論與結論	-----	20
	參考文獻	-----	26

TG-DTA-IR 在含挥发性成分中药制剂质量分析和控制中的应用

林俊豪

09427759

中药学硕士学位课程

指导老师: 杨智钧博士

香港浸会大学

二零一一年六月

摘要

目的 研究含挥发性成分中药制剂的热特征，透过市面同一产品比较其挥发性物质的质量控制，探讨TG、DTA的检测在中药制剂质量控制中的应用。

方法 收集不同批号的西瓜霜润喉片(八个不同批号)，利用热重法(TG)、差热分析法(DTA)进行热特征分析，并结合红外光谱仪(IR)采集其红外光谱，比较其产品质量稳定性的分析研究。

结论 热分析法可作为鉴定挥发性成分中药制剂质量优劣的一种简便，用量少，直接可比，灵敏度高的检验方法。差热分析结果显示不同产品的TG/DTA热分析特征相近，但与对照品相比，均有区别，显示制剂的制备工艺或辅料均会对热分析产生某程度上的影响，然而不同产品的红外光谱显示吸光度相近，结果其质量稳定性的尚可接受。

关键词： 热重法(TG)；差热分析法(DTA)；红外光谱法(IR)；西瓜霜润喉片；薄荷脑；冰片

本文选取市面产品兼具有挥发性成分的产品——西瓜霜润喉片(桂林三金药业股份有限公司生产)，此药系由西瓜霜、冰片、薄荷脑、薄荷素油 4 味中药加工制成的复方制剂。

西瓜霜润喉片是卫生部药品标准中收载品种，该标准质量控制方法较简单，主要以薄层分析法(TLC)检定冰片成份作为定性鉴别部分；以化学分析检定硫酸钠(Na_2SO_4)成份作为定量鉴别部份。但检测往往忽略了其它挥发性成份，例如薄荷脑，薄荷油。有见及此，本文尝试利用热分析检测技术及采用红外光谱检定西瓜霜润喉片的挥发性成份，比较不同批次挥发性成分的质量稳定性。先应用热重法(TG)、差热分析法(DTA)进行热特征分析，并结合红外光谱法(IR)分析比较。此外本文会探讨 TG、DTA 及 IR 的检测在中药制剂质量控制中的应用。

目 录

一、研究概况

- 1 热分析法技术近况及发展..... 5-6
- 2 红外光谱法(IR)分析技术近况及发展..... 7

二、研究方法

- 1 热重法(TG) 8
 - 1.1 热重法(TG)原理..... 8
 - 1.2 热重法(TG)在中药制剂质控中的应用..... 8-9
- 2 差热分析法(DTA) 10
 - 2.1 差热分析法(DTA) 原理..... 10
 - 2.2 差热分析法(DTA)在中药制剂质控中的应用 10-11
- 3 红外分光光度法(IR) 12
 - 3.1 红外分光光度法(IR)原理..... 12
 - 3.2 红外分光光度法(IR)在中药制剂质控中的应用 12-13

三、研究对象

- 1 西瓜霜润喉片..... 14
 - 1.1 研究目的..... 14
 - 1.2 产品资料..... 14
 - 1.3 功效主治及用法用量 14
 - 1.4 质量标准..... 15
- 2 挥发性成份 16
 - 2.1 含挥发性成分的中药种类..... 16-17
 - 2.2 药理作用 18
 - 2.3 常用检测方法..... 19
- 3 冰片 20
 - 3.1 化学特性及结构..... 21

3.2 常用检测分析方法	21
3.3 质量标准	21
4 薄荷脑	22
4.1 化学特性及结构.....	22
4.2 常用检测分析方法	22
4.3 质量标准	22
四、仪器与试药	
1 仪器	23
2 测试条件	23
3 试药	23
五、实验方法与结果	
1 实验方法	24
1.1 TG/DTA 测试	24
1.2 IR 测试	25-26
六、结果与分析	
1 TG 与 DTA 图谱建立.....	27-30
2 IR 图谱建立	31-32
3 结果分析	33-34
七、讨论	
1 检测图谱分析与评价	35
2. 仪器的影响.....	35
2.1 浮力与对流的影响	35
2.2 坩埚的影响.....	35
3. 操作条件的影响.....	36
3.1 升温速度的影响.....	36
3.2 气氛的影响.....	36

3.3 试样用量，粒度，装填情况的影响.....	36
4. 热重法作分析优缺点.....	36
5. 红外光谱(IR)法分析误差影响.....	36
八、结论.....	37
参考文献.....	38-39