

文章编号:1001-6880(2015)6-1092-07

刺五加中异嗪皮啶提取工艺优化及其抗肿瘤、抗氧化活性研究

汪 琢^{1*}, 姜守刚², 郭晓帆¹, 王虹玲¹, 刘 欣¹¹沈阳工学院生命工程学院, 抚顺 113122;²东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

摘要:通过运用单因素试验、响应面设计试验,用回流提取法从刺五加中提取异嗪皮啶,确定了异嗪皮啶提取的最优工艺条件:硫酸浓度为11.5%,固液比为1:8,乙醇体积分数为50%,提取时间为30 min,在此条件下,可得提取物中异嗪皮啶含量为29.5 μg/g。同时研究了异嗪皮啶的抗肿瘤和抗氧化作用,研究结果表明:异嗪皮啶对脂质过氧化具有一定的抑制作用,在浓度为1 mg/mL时,抑制率为23.15%,其抑制作用与0.2 mg/mL维生素C一致;不同浓度的异嗪皮啶具有一定的清除超氧阴离子自由基的能力,并随着浓度的增加,清除率不断提高;异嗪皮啶对体外培养的3种肿瘤细胞有一定的抑制作用,并且对小鼠腹水瘤发病具有一定干预作用。

关键词:刺五加;异嗪皮啶;响应面;抗氧化活性;抗肿瘤作用

中图分类号:R932

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.06.028

Optimization of Extraction Conditions for Isofaxidin from *Eleutherococcus senticosus* and Its Antioxidant, Antitumor Activities

WANG Zhuo^{1*}, JIANG Shou-gang², GUO Xiao-fan¹, WANG Hong-ling¹, LIU Xin¹¹College of Life Engineering, Shenyang Institute of Technology, Liaoning Fushun 113122, China;²Ministry of education key lab of forest plant ecology, Northeast forest university, Heilongjiang Haerbin 150040, China

Abstract: The extraction conditions of isofaxidin from *Eleutherococcus senticosus* were optimized by using the spherical symmetrical design test and single factor experiments. The optimized extraction conditions were as follows: concentration of sulfuric acid, solid-liquid ratio, concentration of ethanol, extraction time were 11.5%, 1:8, 50% (v/v) and 30 min, respectively. With the optimal extraction conditions, the yield of isofaxidin from *E. senticosus* was 29.5 μg/g. Besides, the antioxidant activity and antitumor activity of the extract were studied. The results showed isofaxidin exhibited good inhibition activity of lipid peroxidation. Inhibition rate of 1 mg/mL isofaxidin was 23.15%, the same as 0.2 mg/mL of vitamin C. In addition, isofaxidin exhibited radical scavenging activity against superoxide in a dose-dependent manner. Isofaxidin also exhibited good *in vivo* and *in vitro* antitumor activities.

Key words: *Eleutherococcus senticosus*; isofaxidin; response surface; antioxidant activity; antitumor activity

刺五加为五加科植物刺五加的根和根茎,广泛分布于我国多个省份和地区,是我国重要的中草药之一,此外在朝鲜、俄罗斯远东地区以及日本北海道等地也有分布和种植^[1]。据《中国药典》记载,刺五加具有益气健脾、补肾安神之功效,主要用于脾肾阳虚、体虚乏力、食欲不振、腰膝酸痛、失眠多梦等病症^[2]。国内外对刺五加的药理作用研究表明,刺五加可增强机体非特异性防御能力,除具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射损伤及抗疲劳等作用外,还可治疗心血管疾病、糖尿病及神经衰弱等症^[3]。刺

五加的根和茎部分含有多种活性化学成分,异嗪皮啶(Isofaxidin)是刺五加中主要活性成分之一,具有抗炎^[4]和抗菌^[5]等多种药理活性,其含量的高低是评价刺五加质量优劣的指标之一。到目前为止,对异嗪皮啶的研究主要集中在提取工艺和含量测定,系统的药效学研究并不多见。由于过量掠夺式采挖,甚至毁林开荒,刺五加野生资源遭到严重破坏,有些地方濒临灭绝,已难满足市场供应,因此优化刺五加中有效成分的提取条件,考察其药理作用,对人类充分利用刺五加药材资源具有重要的意义和作用。本实验从刺五加根茎中提取分离异嗪皮啶,并在此基础上对异嗪皮啶进行了抗肿瘤以及抗氧化作用研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

CO_2 培养箱,美国 SIM 公司;TS-100 倒置显微镜,日本 Nikon 公司;DL-CJ-2N 生物洁净工作台,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;StatFax-3200 酶标仪,美国 AWARENESS 公司;1-15K 高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司;BS110 电子天平,美国 Sartorius 公司;3102 型电子天平,辽宁龙腾电子有限公司;DK-8D 型电热恒温热水槽,上海森信实验仪器有限公司;一次性针头式滤器,美国 Pall Life Sciences 公司;Milli-Q 超纯水系统,美国 Millipore 公司;MDF-U32V 超低温冰箱,日本 SANYO 公司;PB-21 pH 计,美国 Sartorius 公司;accu-jet 电动移液器,德国 Brand 公司;吉尔森 Gilson 移液器,法国 Gilson 公司;LDZX-40BI 型立式自动电热压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;X-4 数字显示显微熔点测定仪(温度未校正),北京泰克仪器有限公司制造;旋光用 WZZ-1S 型数字自动旋光仪,上海浦东物理光学仪器厂;Waters600 半制备液相(Waters2996 二极管阵列),美国 Waters 公司;RE-52AA 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;UV-2550 紫外分光光度计,日本岛津公司。

1.2 材料

刺五加药材购于黑龙江省哈尔滨三棵树药材市场,经东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室聂绍荃教授鉴定为刺五加的干燥根茎,用前粉碎成小块状;昆明种小鼠,雄性 18~22 g(动物合格证书编号为 20090106),由哈尔滨医科大学肿瘤医院提供;荷肉瘤 S-180 小鼠,由哈尔滨医科大学肿瘤医院传代培养;人宫颈癌 Hela 细胞、肺癌 A549 细胞和前列腺癌 PC-3 细胞购于哈尔滨医科大学。

2 试验方法

2.1 异嗪皮啶的提取工艺

刺五加中异嗪皮啶以游离型和结合型两种形式存在,结合型异嗪皮啶以刺五加昔 B1 的形式存在,通过酸水解的方法可以得到刺五加中总异嗪皮啶。称取一定量的刺五加粉末,过 60 目筛,加适当的乙醇溶剂和一定浓度的硫酸进行回流提取,所得提取液经过滤、旋转蒸发后得总浸膏。总浸膏加 10 倍量水在沸水浴中回流制备成混悬液,定量转移至分液漏斗中,加等量氯仿萃取 4 次,合并氯仿层萃取液,

减压浓缩干燥,浸膏加甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得供试液^[6]。

2.2 分析方法

2.2.1 对照品溶液的制备

取异秦皮啶对照品约 5 mg,精密称定,加甲醇制成 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品贮备溶液^[7]。

2.2.2 高效液相色谱测定条件

色谱柱为 Zorbax Extend C₁₈ (4.16 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-甲醇-水-冰醋酸 = 17:3:80:1;检测波长 344 nm;流速 0.9 mL/min;进样量 20 μL ,柱温为室温。

2.2.3 线性关系考察

取异嗪皮啶对照品贮备溶液(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$),精密吸取 0.5、1、2、4、6 mL,加甲醇制成每 1 mL 分别含 0.0025、0.0050、0.0100、0.0200、0.0300 mg 异嗪皮啶对照品的溶液,作为各对照品溶液。分别精密吸取 20 μL ,注入液相色谱仪,测定。以异秦皮啶微克数为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得出回归方程 $Y = 28738X - 378240, R^2 = 0.9991$ 。结果表明异秦皮啶在 0.025~0.300 mg 范围内与峰面积积分值成良好线性关系。

2.2.4 异嗪皮啶含量的测定

精密吸取供试品溶液各 20 μL ,注入高效液相色谱仪,每样品重复进样 3 次,按外标法计算供试品中异秦皮啶的含量。

2.3 响应面法优化刺五加中异嗪皮啶提取工艺试验

通过参考相关文献和预实验,选取固液比、乙醇浓度、提取时间和硫酸浓度为考察因素,以异嗪皮啶提取率为考察指标,设计响应面试验,利用 Minitab15 软件进行 Box-Behnken 设计和数据处理,以确定最优工艺条件。试验因素和水平安排见表 1。

2.4 异嗪皮啶抗氧化活性实验

2.4.1 异嗪皮啶抗脂质过氧化能力的测定

取 1 mL 大豆卵磷脂溶液、1 mL 0.4 mol/L FeSO_4 溶液、1 mL 异嗪皮啶溶液依次加入试管中,混匀。避光于 37 °C 水浴 60 min,加入 2 mL TCA-TBA-HCl 混合液(15 g TCA,0.37 g TBA,2.1 mL 浓盐酸,定容至 100 mL),90~100 °C 水浴 15 min,迅速冷却,以 3000 rpm 离心 10 min,以蒸馏水为阴性对照,取上清液在 535 nm 波长处测定吸光度(As)^[8]。抑制率计算公式如下:抑制率(%) = (Ac-As)/Ac × 100,

表 1 响应面分析的因子和水平

Table 1 Factors and levels of response surface analysis

水平 level	A 硫酸浓度 Concentration of sulfuric acid(%)	B 固液比 Solid-liquid ratio	C 乙醇体积分数 Ethanol concentration(%)	D 提取时间 Extraction time(min)
-1	5	1:7	50	30
0	10	1:8	60	60
+1	15	1:9	70	90

式中:As 为样品的吸光度;Ac 为不含样品的吸光度。

2.4.2 异嗪皮啶对超氧阴离子自由基的清除作用

用邻苯三酚自氧化法测定清除超氧阴离子自由基的能力。取 4.5 mL 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.2),4.2 mL 蒸馏水,混匀后于 25 ℃ 水浴中保温 20 min,取出后立即加入 0.3 mL 3 mmol/L 邻苯三酚(以 10 mmol/L HCl 配制,25 ℃ 水浴预热),迅速混匀后立即倒入比色皿,(注:空白管以 10 mmol/L HCl 代替 3 mmol/L 邻苯三酚)在 319 nm 波长下测定吸光度值 Ai。加入不同浓度的样品,再按上述方法依次加入其它试剂,用蒸馏水定容至 1 mL,进行测量,按公式 $P(\%) = (A_0 - A_i)/A_0 \times 100$ ^[11] 计算试液清除率。以相同浓度的维生素 C 为阳性对照,每个样品重复测定 3 次。

2.5 异嗪皮啶抗肿瘤活性实验

2.5.1 MTT 法检测异嗪皮啶对 3 种人癌细胞增殖的体外抑制作用

分别取处于指数生长期的 A549、PC-3、HeLa 细胞,用含有 10% 胎牛血清的 RPM I1640 培养液稀释成 20000 个细胞/mL,96 孔板每孔中加入 200 μL 细胞悬液,置于 37 ℃,5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,将异嗪皮啶用一定浓度的 DMSO 溶解,每孔中加入设定浓度异嗪皮啶,稀释至需要的工作浓度。置于 37 ℃,5% CO₂ 培养箱中培养 48 h。MTT 用 PBS 配成 5 mg/mL 溶液,每孔中加入 20 μL,置于 37 ℃,5% CO₂ 孵箱中孵育 4 h。吸出上清液,用 PBS 洗 3 次,加入 150 μL DMSO 溶解沉淀物,用振荡器摇匀,酶标仪测定其 OD 值。计算药物对肿瘤细胞的抑制率:肿瘤细胞生长抑制率(%) = (1-实验组 OD/对照组 OD) × 100%

2.5.2 异嗪皮啶对小鼠实体瘤 S₁₈₀的抑制作用

取生长旺盛的 S₁₈₀腹水瘤小鼠,无菌抽取腹水,用生理盐水(1:6)稀释,制成细胞悬浮液,取 0.1 mL 于玻璃片上,加 0.02% 台盼蓝 1 滴,在光镜下计数,

活细胞数应大于 95%。取此肿瘤细胞悬液,无菌条件下接种于昆明种小鼠右腋下,每只 0.2 mL,然后随机分组。取小鼠 80 只,按上述方法造模后,随机分为 4 组,分别为阳性对照组,异嗪皮啶和环磷酰胺组,异嗪皮啶高剂量组、异嗪皮啶低剂量组和空白对照组。连续小鼠尾静脉注射给药 7 d,末次给药后次日处死动物,解剖取瘤,称重,并进行统计学(*t* 检验)处理,计算抑瘤率。抑瘤率(%) = (1-实验组平均瘤重/模型对照组平均瘤重) × 100%。

3 结果与分析

3.1 响应面法设计试验结果

以异嗪皮啶的含量为响应值,经回归拟合后,得试验结果见表 2,根据 Box-Behnken 设计分析,各实验模型均显著,同时,失拟情况均为不显著,这表明试验所模拟的模型可用,当 *P* 值小于 0.05 时表明该模型项为显著因素,因此,通过表 3 可知,对异嗪皮啶的含量影响显著的因素有:一次项 A、B 和二次项 A2、B2 和 C2,其中硫酸浓度和固液比对异嗪皮啶含量影响显著。运用 Minitab 数据统计分析软件使用未编码单位对试验数据进行多元回归拟合,回归模型系数及显著性检验结果见表 4,得到硫酸浓度、固液比、乙醇体积分数和提取时间的二次多项回归模型:
$$Y = 31.5167 + 0.94A + 0.46B - 2.76A^2 - 1.89B^2 - 1.54C^2 + 0.56AB + 0.69BC$$

将建立回归模型中的 C、D 两因素固定在零水平,得到另外 A、B 两因素的交互影响结果,二次回归方程的响应面及其等高线见图 1。因子的交互作用效应可以从响应曲面的坡度变化及等高线的形状得到反映,响应曲面坡度的平缓与陡峭程度,表明在处理条件发生变异时提取率的响应灵敏程度,如果响应曲面坡度相对平缓,表明异嗪皮啶提取率可以忍受处理条件的变异,响应值不敏感;反之,如果响应曲面坡度非常陡峭,表明对于处理条件的变异,响应值非常敏感,等高线的形状为椭圆形,表示两因素

交互作用显著;为圆形则表示两因素交互作用可忽略不计。

等高线表示在同一椭圆形区域里,提取率是相同的,在椭圆形区域中心,提取率最大,并逐渐向边缘减少。图中椭圆排列越密集,表明因素的变化对酶解率的影响越大。图1反映出提取率在各因素的中心点附近可获得最大值。

根据软件分析结果,对试验结果进行优化,得到最佳提取工艺条件:硫酸浓度为11.5%,固液比为1

:8,乙醇体积分数为50%,提取时间为30 min,在此条件下,依照2.1的提取方法处理提取液,经高效液相色谱检测后,可得刺五加中总异嗪皮啶含量为29.5 μg/g。

3.2 最佳条件验证试验

按以上对Minitab软件分析得到的最优的响应值,在最优的条件下进行三组平行试验,验证试验结果。异嗪皮啶的含量为(29.34 ± 0.1) μg/g,与理论值(29.5 μg/g)相差0.54%,证实了模型的有效性。

表2 Box-Behnken实验设计方案及实验结果

Table 2 Box-Behnken designs and results

实验 No.	A	B	C	D	异嗪皮啶含量 yield of Isoxatin(μg/g)
1	15	9	60	60	29.88
2	10	7	60	30	28.96
3	5	8	60	90	27.65
4	10	8	70	90	30.89
5	5	7	60	60	25.31
6	5	8	60	30	27.55
7	10	7	70	60	26.98
8	5	9	60	60	25.5
9	15	8	60	90	29.32
10	10	8	60	60	31.5
11	10	7	60	90	28.12
12	15	8	70	60	27.85
13	5	8	50	60	25.66
14	10	8	50	30	29.68
15	10	8	70	30	28.33
16	10	8	60	60	31.85
17	15	7	60	60	27.47
18	10	7	50	60	28.56
19	15	8	60	30	28.39
20	10	8	50	90	29.56
21	10	8	60	60	31.2
22	10	9	60	90	29.99
23	10	9	60	30	28.69
24	5	8	70	60	27.35
25	10	9	50	60	27.81
26	10	9	70	60	28.99
27	15	8	50	60	27.33

表 3 回归方程偏回归系数的估计值

Table 3 Estimated values of the partial regression coefficients of the regression model

项 Source	系数 Coefficient	系数标准误差 Coefficient standard error	T	P
常量 Constant	31.5167	0.3861	81.618	0
A	0.9350	0.1931	4.843	0.000
B	0.4550	0.1931	2.357	0.036
C	0.1492	0.1931	0.773	0.455
D	0.3275	0.1931	1.696	0.116
A * A	-2.7600	0.2896	-9.530	0.000
B * B	-1.8850	0.2896	-6.509	0.000
C * C	-1.5438	0.2896	-5.330	0.000
D * D	-0.5262	0.2896	-1.817	0.094
A * B	0.5550	0.3344	1.660	0.023
A * C	-0.2925	0.3344	-0.875	0.399
A * D	0.2075	0.3344	0.620	0.547
B * C	0.6900	0.3344	2.063	0.041
B * D	0.5350	0.3344	1.600	0.136
C * D	0.6700	0.3344	2.004	0.068

表 4 回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis for the regression model

来源 source	自由度 DOF	连续平方和 Continuous sum of squares	调整平方和 Adjust the sum of squares	校正均方和 Correction of mean square sum	F	P
回归 Regression	14	71.6463	71.6463	5.1176	11.44	0.000
线性 Linearity	4	14.5291	14.5291	3.6323	8.12	0.002
平方 Square	4	50.5258	50.5258	12.6314	28.24	0.000
交互作用 Interaction	6	6.5914	6.5914	1.0986	2.46	0.087
残差误差 Residual error	12	5.3679	5.3679	0.4473		
失拟 Lack of fit	10	5.1563	5.1563	0.5156	4.87	0.182
纯误差 Pure error	2	0.2117	0.2117	0.1058		
合计 Sum	26	77.0143	77.0143			
s = 0.6688		R ² = 96.03%		R ² adj = 93.90%		

3.3 异嗪皮啶抗氧化活性实验结果

3.3.1 异嗪皮啶抗脂质过氧化

卵磷脂可被·O H 氧化损伤产生丙二醛(MDA)类似物,硫代巴比妥酸(TBA)可与MDA类似物反应生成粉红色物质,该物质在532 nm处有最大光吸收^[9]。通过测定加有异嗪皮啶的待测液在532 nm吸光度值,即可检测异嗪皮啶的抗脂质过氧化能力^[10]。表5结果表明,异嗪皮啶对脂质过氧化具有一定的抑制作用。在浓度为1 mg/mL时,抑制

率为23.15%,其抑制作用与0.2 mg/mL维生素C一致。

3.3.2 异嗪皮啶清除超氧阴离子自由基作用

图3为不同浓度异嗪皮啶对超氧阴离子自由基的清除作用,由图3可知,不同浓度的异嗪皮啶具有一定的清除超氧阴离子自由基的能力,并随着浓度的增加,清除率不断提高。当阳性对照维生素C的浓度为0.2 mg/mL的时候,维生素C的清除率可以

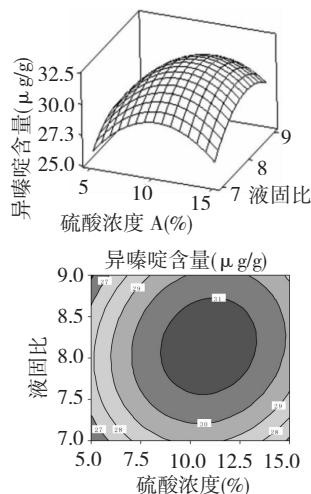


图 1 硫酸浓度和液固比对异嗪皮啶含量影响的响应面及等高线

Fig. 1 Response surface plot and contour plot showing the effects of concentration of sulfuric acid and solid-liquid ratio on yield of isofaxidin

表 5 异嗪皮啶对脂质过氧化的抑制率

Table 5 Inhibitory effects of isofaxidin on lipid peroxidation

抑制剂 Inhibitor	浓度 Concentration (mg/mL)	抑制率 Inhibitory rate (%)
维生素 C Vitamin C	0.2	22.31
异嗪皮啶 Isofaxidin	1	23.15

达到 75.16% ,与维生素 C 相比,异嗪皮啶的清除超氧阴离子自由基的能力不及维生素 C,但也具有一定清除能力。

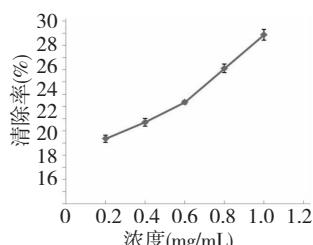


图 3 不同浓度异嗪皮啶对超氧阴离子自由基的清除作用

Fig. 3 Radical scavenging activity of isofaxidin against superoxide

3.4 异嗪皮啶的体内外抗肿瘤活性

3.4.1 MTT 法检测异嗪皮啶对 3 种人癌细胞增殖的体外抑制作用

根据实验数据,由 OD 值计算生长抑制率,将抑制率与药物浓度做图,得出剂量反应曲线,计算出

IC_{50} (半数抑制浓度)值。MTT 检测结果表明异嗪皮啶对 3 种肿瘤细胞均有抑制作用,随着异嗪皮啶浓度的增大肿瘤抑制率也升高,呈明显的剂量依赖性(见图 4)。对 3 种肿瘤细胞的半数抑制浓度 IC_{50} 值见表 6。

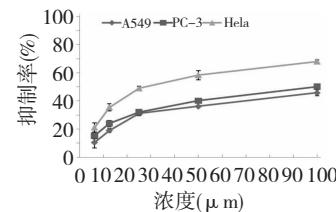


图 4 异嗪皮啶对 3 种肿瘤细胞株的生长抑制作用

Fig. 4 Inhibitory effects of isofaxidin on the growth of three cell lines

表 6 异嗪皮啶对 3 种肿瘤细胞株的 IC_{50} 值

Table 6 IC_{50} values of the three cell lines treated with isofaxidin

处理药物 Drug	IC_{50} (μg/mL)		
	A549	PC-3	HeLa
异嗪皮啶 Isofaxidin	108.89	94.05	31.60

3.4.2 异嗪皮啶对小鼠实体瘤 S_{180} 的抑制作用

异嗪皮啶对小鼠实体瘤的抑制作用结果如表 7 所示。表 7 结果表明,异嗪皮啶和环磷酰胺联合给药组 S_{180} 小鼠平均瘤重均明显低于生理盐水组、异嗪皮啶单独给药组以及环磷酰胺单独给药组,抑瘤率分别为 69.20%、20.54% 以及 66.07% ,由此表明异嗪皮啶对小鼠腹水瘤发病具有一定干预作用,适用作抗癌药物辅助药品。

4 讨论

通过响应面试验方法确定了从刺五加中提取异嗪皮啶的最佳工艺为硫酸浓度为 11.5% ,固液比为 1:8,乙醇体积分数为 50% ,提取时间为 30 min ,在此条件下,异嗪皮啶的提取率为 29.5 $\mu\text{g/g}$;另外,对异嗪皮啶的抗氧化活性进行评价,异嗪皮啶的抗脂质过氧化能力试验表明,异嗪皮啶对脂质过氧化具有一定的抑制作用,在浓度为 1 mg/mL 时,抑制率为 23.15% ,其抑制作用与 0.2 mg/mL 维生素 C 相当;异嗪皮啶对超氧阴离子自由基的清除作用试验表明,不同浓度的异嗪皮啶具有一定的清除超氧阴离子自由基的能力,并随着浓度的增加,清除率不断提高。但是与 0.2 mg/mL 维生素 C 的清除率相

表 7 异嗪皮啶对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用Table 7 Inhibitory rate of Isofadixin by calculating S₁₈₀ tumor weight in mice

处理 Treatment	药物剂量 Drug dose (mg/kg)	动物数 Counts of animals (n)	瘤重 Tumor weight (g)	抑制率 Inhibitory rate (%)
荷瘤对照组 Tumor-burdened group	-	20	2.24 ± 0.39	0
环磷酰胺 Cyclophosphamide	20	20	0.76 ± 0.36	0.660714286
异嗪皮啶给药组 Isofadixin	200	20	1.78 ± 0.43	0.205357143
异嗪皮啶和环磷酰胺联合给药组 Isofadixin and cyclophosphamide	200	20	0.69 ± 0.12	0.691964286

比,异嗪皮啶的清除超氧阴离子自由基的能力偏弱,但也具有一定的清除能力。此外,对异嗪皮啶的抗肿瘤效果的评价从体内和体外两个方面进行。本试验采用MTT法,选用人宫颈癌HeLa细胞、肺癌A549细胞和前列腺癌PC-3细胞进行抗肿瘤实验,结果发现异嗪皮啶对上述3种肿瘤细胞均有一定的抗肿瘤活性,IC₅₀值分别为108.89、94.05、31.60 μg/mL,均呈明显的量-效关系。另外,荷瘤小鼠实验表明,异嗪皮啶对实体瘤的生长具有一定的抑制作用,但是弱于异嗪皮啶和环磷酰胺联合给药组和环磷酰胺单独给药组,抑瘤率分别为20.54%、69.20%以及66.07%。我国刺五加资源丰富,但目前主要使用刺五加混合物成分,本文对异嗪皮啶的抗氧化和抗肿瘤活性进行研究,在开发美容产品和抗肿瘤药物的同时,更充分利用了刺五加药材资源,为进一步开发利用刺五加的药用价值提供参考。

参考文献

- Pan HF(潘海峰), Meng YB(孟艳彬), Miao H(缪红). Study on *Acanthopanax senticosus* of general situation. *J Chengde Med Mag* (承德中医药学报), 2002, 19:157.
- Zhang XD(张旭东), Ma J(马杰), Zhang B(张彬). Study on *Acanthopanax senticosus* pharmacological action of general situation. *J Hebei TCM* (河北中医药学报), 2007, 22(3): 45-46.
- Wang ZR(王志睿), Lin JM(林敬明), Zhang ZY(张忠义). Study on *Acanthopanax senticosus* chemical composition and pharmacological action of the present situation and the progress. *China Tradit Herb Drugs* (中药材), 2003, 26:603-606.
- Yamazaki T, Shimosaka S, Sakurai M, et al. Anti-inflammatory effects of a major component of *Acanthopanax senticosus* Harms, isofraxidin. *J Electrophoresis*, 2004, 48:55-58.
- Liu JQ, Tian JN, Tian X, et al. Interaction of isofraxidin with human serum albumin. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12: 469-474.
- Liu Y(刘洋), Yang L(杨磊), Hao JW(郝婧玮), et al. Optimization of homogenized extraction of phenol glycosides and aglycones from the root of *Acanthopanax senticosus* Harms using response surface analysis. *Chem Ind Eng Prog* (化工进展), 2010, 29:745-752.
- Ma XF(马新飞), Lu TL(陆兔林), Yin FZ(殷放宙), et al. Study on the extraction method of Isofraxidin from *Acanthopanax senticosus*. *J Nanjing Univ TCM* (南京中医药大学学报), 2006, 22:246-247.
- Li YC(李颖畅), Li BX(李冰心), Meng LY(孟良玉), et al. Antioxidant activity and stability of Anthocyanins from *St. Cloud Blueberry*. *Food Sci* (食品科学), 2012, 33:105-109.
- Bei YX(贝玉祥), Dong XH(董秀华), Li GP(李干鹏), et al. The general alkaloid of *corydalis* on active oxygens and its antioxidation *in vitro*. *Food Sci* (食品科技), 2008, 9:189-191.
- Ren HR(任红荣), Zhang WM(张卫明), Shan CY(单承莺), et al. Study on antioxidant activity of ethanol extract from the flower of *nymphaea hybrid*. *Food Sci* (食品科技), 2010, 35:200-203.
- Chen HL(陈海林), Fu MH(傅明辉). Study on antioxidant activity of hydrophilic extracts prepared from *Eichhornia crassipes*. *Guangdong Agric Sci* (广东农业科学), 2012, 1: 136-137.