

雷公藤红素联合用药对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

张雪, 欧阳惠枝, 徐伟, 王晓颖*

(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要 研究雷公藤红素分别与甘草次酸、紫杉醇、大黄酸联合用药对人肝癌 HepG2 细胞增殖的抑制作用。采用 MTT 法, 测定并计算雷公藤红素分别与甘草次酸、紫杉醇、大黄酸联用后 HepG2 细胞的存活率, 利用协同指数 (CI)、金氏公式判定协同药效。同时检测细胞凋亡情况以及细胞周期阻滞情况。结果表明, 单独应用雷公藤红素、甘草次酸、大黄酸、紫杉醇均可抑制 HepG2 细胞增殖; 雷公藤红素分别与甘草次酸、紫杉醇、大黄酸联用, 能显著增强雷公藤红素对 HepG2 细胞增殖抑制效果, 联合用药在一定浓度范围内呈现良好协同作用; 联合用药使 HepG2 细胞凋亡率显著提高 ($P < 0.01$), 并使更多 HepG2 细胞阻滞于 G_2/M 期。雷公藤红素与甘草次酸、紫杉醇、大黄酸联用对 HepG2 细胞的增殖具有良好的协同抑制效果, 其与共同诱导凋亡及增加细胞 G_2/M 期阻滞相关。

关键词 雷公藤红素; 大黄酸; 紫杉醇; 甘草次酸; HepG2 细胞; 联合用药; 协同作用

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2020)02-0185-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20200209

引用本文 张雪, 欧阳惠枝, 徐伟, 等. 雷公藤红素联合用药对 HepG2 细胞增殖的抑制作用[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(2): 185-192.
Cite this article as: ZHANG Xue, OUYANG Huizhi, XU Wei, *et al.* Effect of celastrol combined medication on the inhibition of HepG2 cell proliferation[J]. *J China Pharm Univ*, 2020, 51(2): 185-192.

Effect of celastrol combined medication on the inhibition of HepG2 cell proliferation

ZHANG Xue, OUYANG Huizhi, XU Wei, WANG Xiaoying*

School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China

Abstract To study the inhibitory effect of celastrol respectively combined with glycyrrhetic acid, paclitaxel, and rhein on the proliferation of human hepatoma cell line HepG2. The MTT method was used to detect the survival rate of HepG2 cells. The cooperativity index (CI) and Jin's formula method were used to determine the synergistic effect. Apoptosis and cell cycle arrest were detected, too. The results show that celastrol, glycyrrhetic acid, rhein, and paclitaxel alone can inhibit the proliferation of HepG2 cells, respectively. Combination with glycyrrhetic acid, paclitaxel, and rhein, respectively, the inhibitory effect of celastrol on the proliferation of HepG2 cells was significantly enhanced. And the synergistic effect on the proliferation inhibition of HepG2 cells in some concentrations was displayed in the experiment. The cell apoptosis rate was improved ($P < 0.01$) and more cells were arrested in G_2/M phase. Celastrol respectively combined with glycyrrhetic acid, paclitaxel, and rhein displayed a synergistic inhibitory effect on the proliferation of HepG2 cells, and the effect was related to inducing cell apoptosis and increasing the cell cycle arrest in G_2/M phase.

Key words celastrol; rhein; paclitaxel; glycyrrhetic acid; HepG2 cells; combined medication; synergy effect

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81603301), the Personnel Training Funding of Fujian Province Health Department (No. 2016-ZQN-69) and the Project of Scientific Research Platform of Fujian University of Traditional Chinese Medicine (X2019006-platform)

收稿日期 2019-12-31 * **通信作者** Tel: 13960704809 E-mail: wangxy623@yeah.net

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 81603301); 福建省卫计委中青年骨干人才培养项目资助 (No. 2016-ZQN-69); 福建中医药大学科研平台校管课题资助项目 (X2019006-平台)

雷公藤红素 (celastrol, Cela) 是中药雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 的有效成分之一, 是一种天然的蛋白酶体抑制剂, 具有免疫调节、抗炎、抗肿瘤等多种药理作用^[1]。近年来研究表明, Cela 可抑制多种肿瘤的引发、转移和增殖, 对胰腺癌、胃癌、前列腺癌等均有较好疗效^[2-3]。Cela 可以通过抑制肿瘤细胞新血管生成、激活 ROS 产生诱导细胞凋亡等机制抑制肝癌细胞增殖^[4-5]。但其靶向性低、不良反应大, 限制了其临床应用。

大黄酸 (rhein, Rh)、紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 和甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA) 均具有抗肝癌活性, 它们均可以通过诱导细胞凋亡以及阻滞细胞周期来抑制 HepG2 细胞增殖^[6-8]。有实验表明 Rh、GA 具有保肝作用^[9-10], 可以降低药物带来的肝损伤; PTX 为临床一线抗肿瘤药, 临床研究表明其与其他药物联用能达到对肝癌更好的治疗效果^[11]。综上考虑, 本研究希望探索一种以 Cela 为主的联合给药系统, 在达到良好的抗肝癌效果的同时减少对正常组织的副作用。因此, 本研究采用 MTT 法考察了 Cela 分别与 Rh、PTX、GA 3 种中药有效成分联用对 HepG2 细胞增殖抑制的影响, 根据药物协同指数、金氏公式、凋亡检测、细胞周期检测分析 Cela 分别与 Rh、PTX、GA 联用时对 HepG2 细胞增殖抑制作用效果, 以期未来为 Cela 联合用药、增效减毒以及剂型设计奠定研究基础。

1 材料

1.1 药品与试剂

雷公藤红素 (成都普菲德生物技术有限公司); 大黄酸 (分析级, 南京景竹生物科技有限公司); 紫杉醇 (上海金和生物制药有限公司); 甘草次酸 (β 型, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); DMEM 高糖培养基 (美国 HyClone 公司); 胎牛血清、青霉素-链霉素溶液、0.25% 胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 上海泰坦科技股份有限公司); AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒 (广州美仑生物科技有限公司)。

1.2 仪器

流式细胞仪 (美国 BD 公司); 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); 细胞培养箱 (美国赛默飞公司); 低速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司)。

1.3 细胞

人肝癌细胞 HepG2 (中科院干细胞与再生医学创新研究院)。

2 方法

2.1 细胞培养

将 HepG2 细胞于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素溶液的 DMEM 高糖培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温细胞培养箱中培养。每 2 天或 3 天传代 1 次, 取对数生长期细胞进行实验。

2.2 MTT 法测定药物对细胞的抑制作用

取对数生长期的 HepG2 细胞接种于 96 孔板中, 每孔细胞数为 5×10^3 个, 置于培养箱中培养 24 h 后, 分对照组和实验组进行实验。对照组为不加任何药物, 正常培养的细胞; 实验组分别为: Cela 组、Rh 组、PTX 组、GA 组, Cela + Rh 组、Cela + PTX 组和 Cela + GA 组。Cela 组质量浓度依次为 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Rh 组、PTX 组、GA 组, 质量浓度为 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20, 40, 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 联合用药组固定 Cela 质量浓度, 选择使用不同质量浓度的 Rh、PTX、GA。每组设 6 个复孔。处理 48 h 后, 吸弃培养基, 每孔加入 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MTT 100 μL , 继续培养 4 h 后, 吸弃 MTT 溶液, 加入 DMSO 150 μL 振荡均匀。用酶标仪在检测波长 570 nm 检测波长下测定吸收度, 计算肿瘤细胞的存活率。存活率 = (给药组吸收度的平均值 - 空白组吸收度的平均值) / (对照组吸收度的平均值 - 空白组吸收度的平均值) $\times 100\%$ 。

2.3 药物协同作用分析

为判断两药合用是拮抗、相加或增强的协同效应, 采用 Chou-Talalay 法以及金氏公式, 利用 Compusyn 1.0 软件计算不同浓度 Cela 分别和 Rh、PTX、GA 药物以非固定比例组合的协同指数 (CI) 并且绘制 Fa-CI 图, Fa-CI 图可根据观测比较实际测量点落入图中所在区域的位置, 可直观判断联用药物在剂量、效应二者之间的关系, 以及变化趋势。CI < 1 表示两药相互协同; CI = 1 表示两药作用相加; CI > 1 表示两药作用拮抗; CI < 0.3 表示两药协同作用强烈^[12]。利用金氏公式求 q 值: $q = E_{A+B} / [E_A + (1 - E_A) \times E_B]$, E_{A+B} 表示两药合用的抑制率; E_A 、 E_B 为单独用药的抑制率; $q < 0.85$ 表示两药合用有拮抗作用; $q > 1.15$ 表示两药合用有协同

作用; $0.85 \leq q \leq 1.15$ 表示两药合用有相加作用^[13]。利用 GraphPad Prism 5 计算 Cela 单独用药以及联合用药的 IC_{50} 。

2.4 细胞凋亡检测

取对数生长期的 HepG2 细胞以 2×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔板中,培养箱培养过夜后,吸弃培养基,用 PBS 洗 2 遍。分别设置对照组、Cela 组、Rh 组、PTX 组、GA 组、联合用药组,每组设 3 个复孔,培养箱培养 48 h 后,采用 AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒进行样品处理,用流式细胞仪进行检测。

2.5 细胞周期检测

取对数生长期的 HepG2 细胞以每孔 4×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔板中,培养箱培养过夜,吸弃培养基,用 PBS 洗 2 遍。分别设置对照组、Cela 组、Rh 组、PTX 组、GA 组和联合用药组,每组设 3 个复孔,培养箱培养 24 h 后,采用细胞周期检测试剂盒进行样品处理,用流式细胞仪进行检测。

2.6 统计分析

采用 SPSS 22.0 软件对实验数据进行描述性统计,计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间比较选用 t 检验和方差分析, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 雷公藤红素对肿瘤细胞增殖的影响

单独应用 Cela 对 HepG2 细胞增殖抑制的实验中,各浓度 Cela 处理细胞 48 h 后,细胞存活率见图 1-A。结果显示,Cela 在质量浓度低时对 HepG2 细胞增殖无明显抑制作用,随着质量浓度的升高,抑制作用明显加强,呈明显剂量依赖性;Cela 质量浓度为 0.75 和 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞存活率与空白对照组相比具有显著差异($P < 0.05$),Cela 质量浓度为 2.5 和 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞存活率与空白对照组相比具有极显著差异($P < 0.001$)。

3.2 协同用药组 Rh、PTX、GA 终浓度确定

单独使用 Rh、PTX、GA 作用于 HepG2 细胞,给药后 48 h 后,细胞存活率结果分别如图 1-B、1-C 和 1-D 所示,Rh、PTX、GA 均可以抑制 HepG2 细胞增殖,细胞生长抑制率随着 Rh、PTX、GA 质量浓度增加而增加的趋势,呈现一定剂量依赖性。根据 Rh、PTX、GA 抑制 HepG2 细胞增殖的存活率图,最终选用协同药物质量浓度分别为:Rh 1、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$;PTX 0.1、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$;GA 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

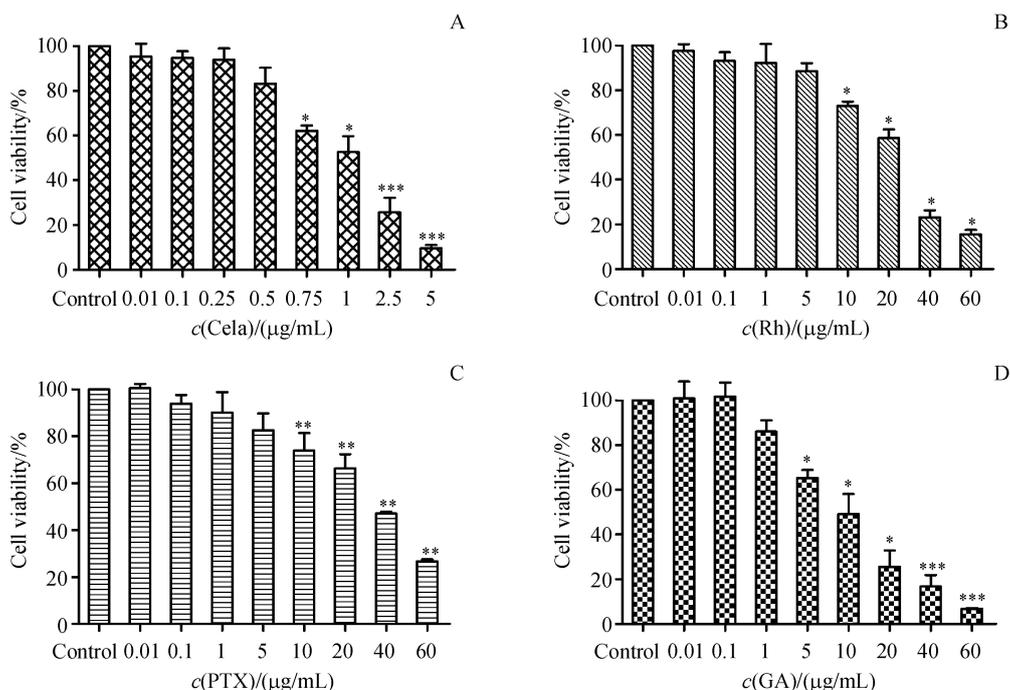


Figure 1 Cytotoxicity in HepG2 cells in 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

A: MTT assay of celastrol (Cela) on the proliferation of HepG2 cells; B: MTT assay of rhein (Rh) on the proliferation of HepG2 cells; C: MTT assay of paclitaxel (PTX) on the proliferation of HepG2 cells; D: MTT assay of glycyrrhetic acid (GA) on the proliferation of HepG2 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group

3.3 联合用药对肿瘤细胞增殖的影响

Cela 与 Rh、PTX、GA 联合用药对肿瘤细胞增殖抑制的结果见图 2。结果表明,Cela 与 Rh 联合用药时,Rh 在 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度时,Cela + Rh 组在 Cela 0.01、0.1、0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度时对 HepG2 细胞的增殖抑制作用效果是 Cela 单独使用的 5 倍;Cela + PTX 联合用药组在 Cela 0.01、0.1、0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度时抑制 HepG2 细胞增殖的效果比 Cela 单独用药组高出 10 倍以上,抑制作用呈质量浓度依赖性,Cela 低质量浓度时增殖抑制

效果更优;Cela + GA 联合用药组与 Cela 单用组相比,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GA 与 Cela 合用 48 h,抑制率由 Cela 单独用药组的 $(4.70 \pm 5.67)\% \sim (90.40 \pm 1.48)\%$ 提高到 $(25.36 \pm 4.02)\% \sim (95.86 \pm 0.45)\%$,低浓度时抑制作用更明显。以上结果说明 Cela 单用仅在高质量浓度时对 HepG2 细胞有明显增殖抑制作用,Rh、PTX、GA 均有增强 Cela 对 HepG2 细胞增殖抑制作用的效果,并且在 Cela 低质量浓度时增强作用更好,联合用药组比 Cela 单用组细胞增殖抑制效果更优。

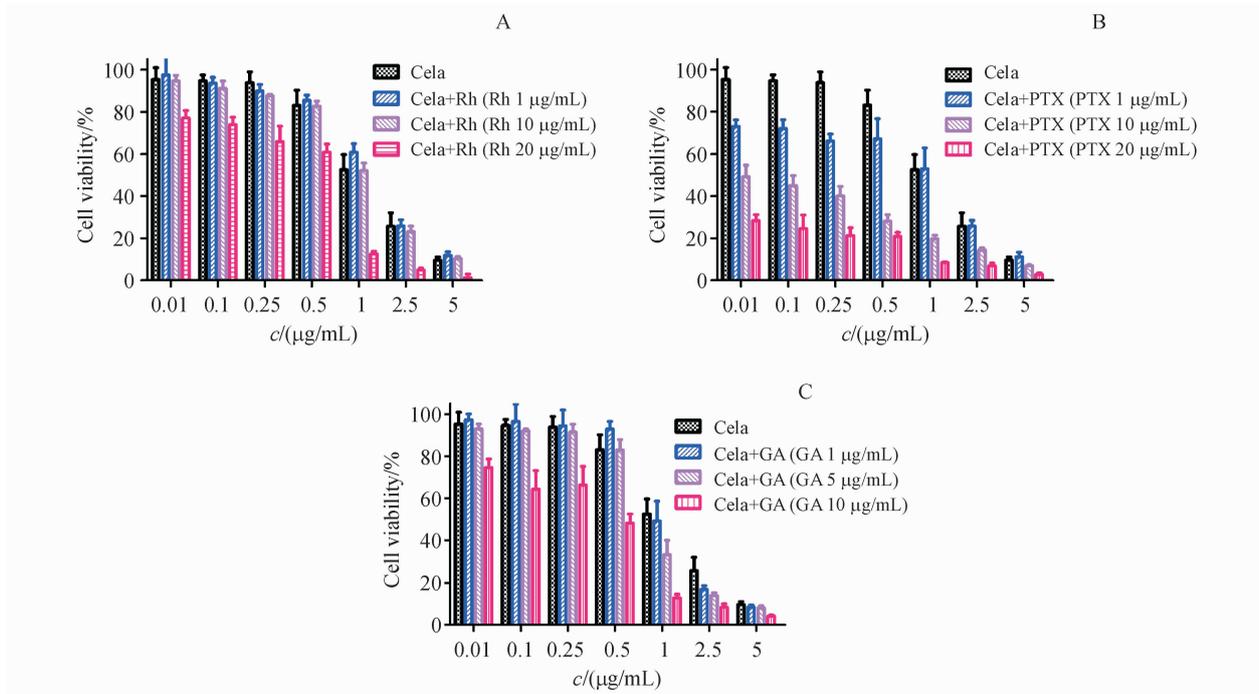


Figure 2 Cytotoxicity of the combination groups on HepG2 cells in 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

A: MTT assay of Cela combined with Rh on the proliferation of HepG2 cells; B: MTT assay of Cela combined with PTX on the proliferation of HepG2 cells; C: MTT assay of Cela combined with GA on the proliferation of HepG2 cells

通过 GraphPad Prism 5 软件的非线性回归计算 Cela 单用及各药物联用组用于 HepG2 细胞 48 h 后的 IC_{50} (表 1) 显示,与 Cela 单独使用时 IC_{50} 相比,Cela 分别与 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Rh 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GA 联用时, IC_{50} 明显降低,Cela 与 0.1、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PTX 联用后, IC_{50} 皆有明显降低。说明 Cela 与 PTX 联用对 HepG2 细胞增殖抑制作用更佳。

实验采用协同指数法以及金氏公式对 Cela 分别与 Rh、PTX、GA 之间的相互作用类型(相加性、协同性或拮抗性)进行了评价,并绘制了 Fa-CI 图(见图 3)。结果表明,Cela 质量浓度为 0.01 ~ 0.5

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,Cela 分别与 Rh、GA 联合用药组均表现为拮抗作用,随着 Cela 质量浓度增大,联合用药组 $\text{CI} < 1, q > 0.85$ (q 值见表 1),且绝大部分 $\text{CI} < 0.7, q > 1.15$,表现出显著协同以及相加作用;Cela 与 PTX 合用时,当两者都处于低浓度时表现为拮抗作用,随着两药的浓度增大,表现出协同作用,尤其是 PTX 质量浓度增大到 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,协同作用非常显著。由 Fa-CI 图可看出,联合用药组在较宽浓度范围内,CI 始终低于 1,表明 Cela 与 Rh、PTX、GA 联用的协同效果良好。

Table 1 q value and IC_{50} of Cela combined with Rh, Cela combined with PTX, Cela combined with GA on HepG2 cells in 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| Drug | $c/$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | q value of the combination groups | | | | | | | IC_{50} of the combination groups/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) |
|------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---|
| | | Cela/($\mu\text{g}/\text{mL}$) | | | | | | | |
| Rh | 1 | 0.097 9 | 0.276 | 0.662 | 0.574 | 0.745 | 0.968 | 0.965 | 1.360 |
| | 10 | 0.051 | 0.161 | 0.358 | 0.415 | 0.767 | 0.942 | 0.962 | 1.157 |
| | 20 | 0.519 | 0.585 | 0.757 | 0.725 | 1.263 | 1.120 | 1.046 | 0.413 |
| PTX | 0.1 | 0.440 | 0.473 | 0.512 | 0.765 | 0.935 | 0.979 | 0.993 | 0.682 |
| | 10 | 0.905 | 0.929 | 1.101 | 0.848 | 0.770 | 0.916 | 0.956 | 0.023 |
| | 20 | 1.381 | 1.475 | 1.583 | 1.560 | 1.231 | 1.032 | 0.993 | 0.001 |
| GA | 1 | 0.145 | 0.184 | 0.286 | 0.247 | 0.925 | 1.069 | 0.999 | 1.096 |
| | 5 | 0.132 | 0.149 | 0.157 | 0.287 | 0.899 | 0.985 | 0.966 | 0.837 |
| | 10 | 0.477 | 0.665 | 0.625 | 0.872 | 1.175 | 1.050 | 1.006 | 0.280 |

$q < 0.85$ indicates that the two drugs have an antagonistic effect; $q > 1.15$ indicates that the two drugs have a synergistic effect; $0.85 \leq q \leq 1.15$ indicates that the two drugs have an additive effect

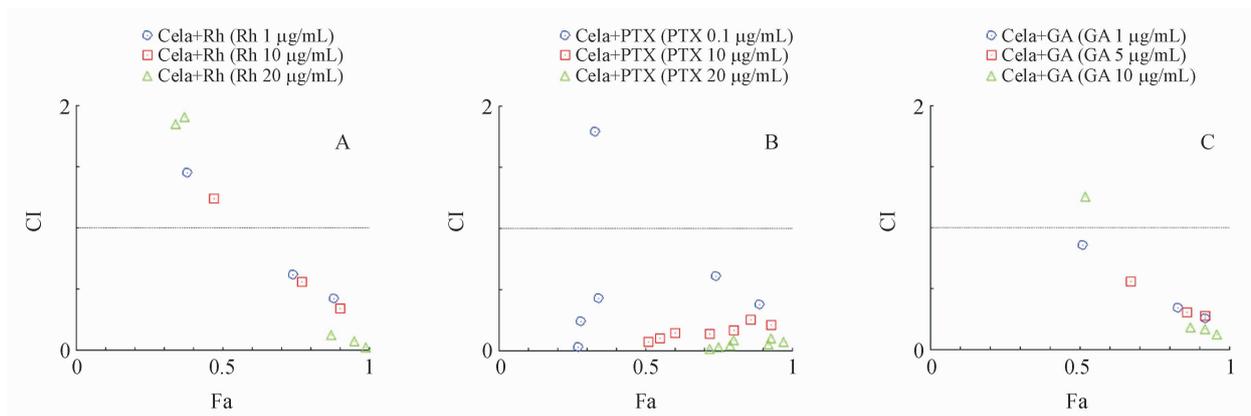


Figure 3 Fa-CI plot of using drugs alone and the combination groups on HepG2 cells in 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

A: Fa-CI plot of Cela combined with Rh on HepG2 cells; B: Fa-CI plot of Cela combined with PTX on HepG2 cells; C: Fa-CI plot of Cela combined with GA on HepG2 cells

Above the line indicates the antagonistic effect between the two drugs, on the line indicates the additive effect between the two drugs, below the line indicates the synergy between the two drugs

3.4 细胞凋亡率

采用 AnnexinV-FITC/PI 标记法结合流式细胞仪检测, Cela、Rh、PTX、GA 单独用药和 Cela 与 Rh、PTX、GA 联合用药组作用于 HepG2 细胞 48 h 后, 细胞凋亡率(图 4)结果显示, 单独使用 Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、Rh 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、PTX 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、GA 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用于 HepG2 细胞 48 h 时, 细胞凋亡率分别为 $(9.67 \pm 0.60)\%$ 、 $(10.43 \pm 0.93)\%$ 、 $(23.33 \pm 1.20)\%$ 和 $(5.40 \pm 0.95)\%$ 。GA 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、PTX 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、Rh 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 分别与 Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 合用 48 h 后, 细胞凋亡率均提高, Cela + Rh、Cela + PTX、Cela + GA 依次为 $(23.50 \pm 2.91)\%$ 、 $(57.57 \pm 2.34)\%$ 和 $(11.77 \pm 0.32)\%$ 。结果显示 4 种药物均可诱导细胞凋亡, 联合用药

组细胞凋亡率显著提高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3.5 细胞周期检测

将 HepG2 细胞分别用 Cela、Rh、PTX、GA、Cela + Rh、Cela + PTX、Cela + GA 干预 24 h 后, 采用流式细胞仪检测细胞周期分布, 并在细胞 G_0/G_1 期、S 期和 G_2/M 期观察分析数据(图 5)。结果表明, HepG2 细胞在药物干预下, 周期发生明显变化, Cela、GA、PTX 单独处理组可引起 G_2/M 期阻滞, Rh 单独处理组可引起 G_0/G_1 期阻滞。而联合用药组的 G_0/G_1 期细胞百分率明显减少, S 期和 G_2/M 期细胞比例相应地增加, 说明联合用药组使得细胞更多地阻滞于 G_2/M 期, 进而抑制细胞增殖。

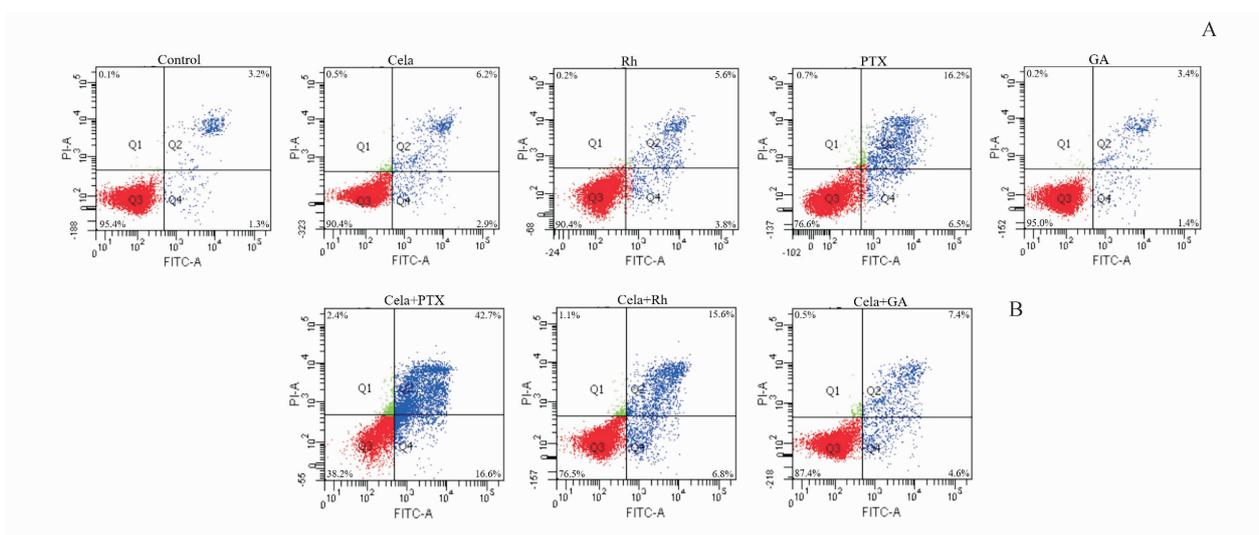


Figure 4 Apoptosis rate of using drugs alone and the combination groups on HepG2 cells in 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Apoptosis rate of Cela, Rh, PTX, GA alone on HepG2 cells; B: Apoptosis rate of Cela and Rh (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Rh 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Cela and PTX (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, PTX 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Cela and GA (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, GA 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on HepG2 cells

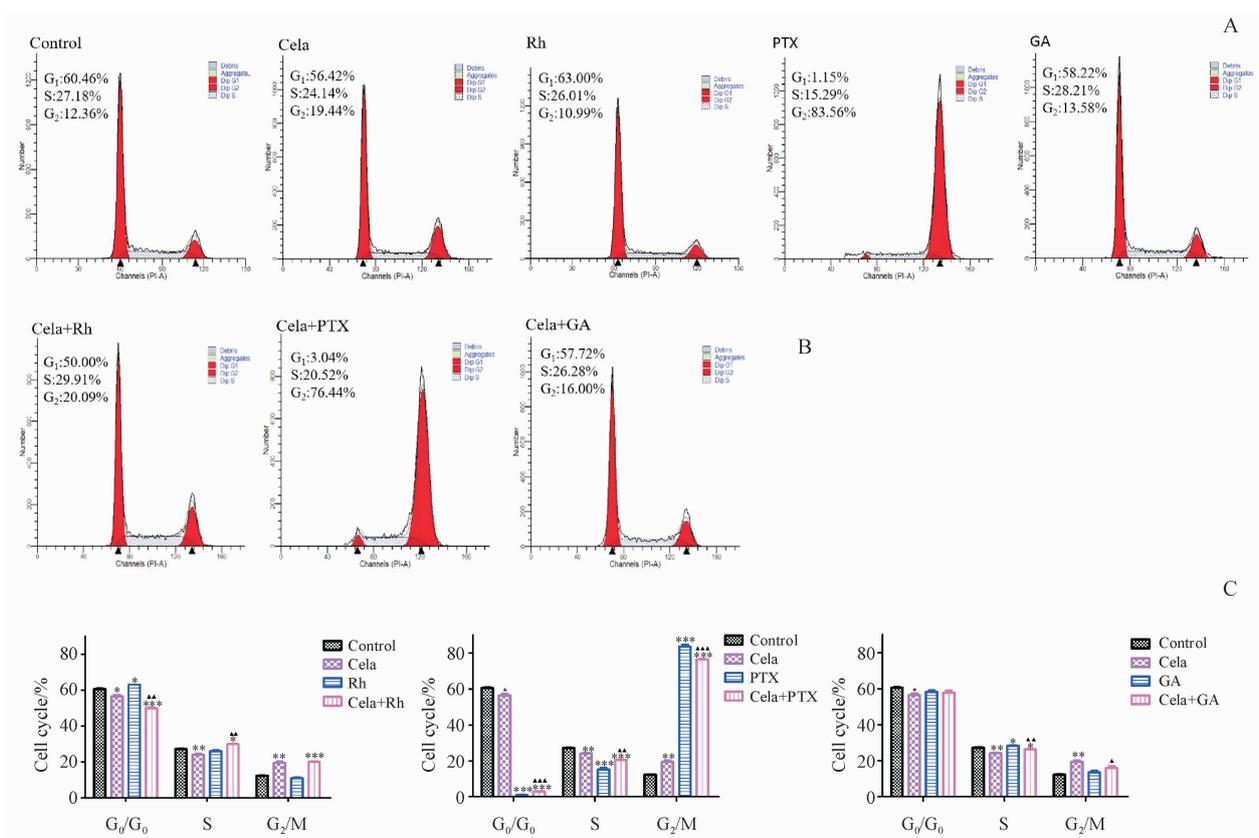


Figure 5 Cell cycle of using drugs alone and the combination groups on HepG2 cells in 24 h ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Flow cytometry analysis of Cela, Rh, PTX, GA alone on the cell cycle of HepG2 cells; B: Flow cytometry analysis of Cela and Rh (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Rh 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Cela and PTX (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, PTX 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Cela and GA (Cela 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, GA 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on the cell cycle of HepG2 cells; C: Statistical of G₁, S and G₂ phase distribution in histograms

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, ▲▲▲ $P < 0.001$ vs Cela group

4 讨 论

Cela 是一种具有潜力的抗肿瘤药物,自 2006 年 Yang 等^[14]首次报道了 Cela 可以诱导前列腺癌细胞凋亡,引发了对 Cela 抗肿瘤作用的热点研究。但 Cela 具有全身性不良反应,如心脏毒性、肾毒性、生殖毒性等,胃肠道反应严重^[15-16]。为解决其不良反应大的缺陷,本研究从抑制肿瘤细胞增殖的角度考虑,以具有抗肿瘤作用的中药有效成分 GA、PTX、Rh 与其联合应用,以期通过减少用量或在制备新型制剂时实现肝靶向、减轻不良反应的同时获得更好的临床治疗效果的目的,为 Cela 的临床应用探索新路。GA 由于肝细胞表面存在大量甘草次酸受体而具有肝靶向性^[17],为 GA 修饰纳米制剂载体肝靶向递送 Cela 提供可能,并且结合本研究结果,GA 还能够与 Cela 协同对 HepG2 肝癌细胞增殖起抑制作用,为 Cela 联合应用 GA 制备肝靶向制剂的研究拓展思路。Rh 可通过刺激 ROS 产生和 Ca^{2+} 释放进而引发内质网应激效应^[18-19],本研究中 Rh 与 Cela 协同抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡,两者合用可提高 Cela 疗效。PTX 是一线抗肿瘤药物,但容易产生耐药性,而 Cela 可以降低 PTX 耐药乳腺癌细胞的耐药性^[20],本研究结果表明 Cela 与 PTX 联用具有非常显著的协同作用,二者联用可减少各自用药剂量从而降低肿瘤细胞耐药现象的出现。综上,Cela 分别与 GA、PTX、Rh 联用,为 Cela 增效减毒、制剂设计以及临床应用提供了可行的方案。

本实验采用不同质量浓度的 Cela 分别与不同质量浓度 GA、PTX、Rh 联合用药作用于 HepG2 肿瘤细胞,结果显示 Cela、GA、PTX、Rh 单独作用时,均可以抑制肿瘤细胞生长,并呈剂量依赖性。Cela 分别与 GA、PTX、Rh 合用时,肿瘤细胞生长受到明显抑制,在一定浓度范围内具有明显协同作用,说明在两药联用过程中,可通过调节两药配伍剂量达到提高 Cela 疗效或减少 Cela 用量以减少其不良反应的目的。Cela 在体外可通过诱导 HepG2 细胞凋亡并且可以阻滞细胞的 G_2/M 期,从而抑制 HepG2 肿瘤细胞增殖,与 GA、PTX、Rh 联合使用后凋亡率增加,阻滞作用更强,抑制细胞增殖效果更好。这一结果对临床药物联用以及开发 Cela 药物剂型提供了研究基础。

参 考 文 献

- [1] Kannaiyan R, Shanmugam MK, Sethi G. Molecular targets of celastrol derived from Thunder of God Vine; potential role in the treatment of inflammatory disorders and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2011, **303**(1):9-20.
- [2] Sha M, Ye J, Zhang LX, et al. Celastrol induces apoptosis of gastric cancer cells by miR-146a inhibition of NF-kappaB activity [J]. *Cancer Cell Int*, 2013, **13**(1):50.
- [3] Zhao X, Gao S, Ren H, et al. Inhibition of autophagy strengthens celastrol-induced apoptosis in human pancreatic cancer *in vitro* and *in vivo* models[J]. *Curr Mol Med*, 2014, **14**(4):555-563.
- [4] Han X, Sun S, Zhao M, et al. Celastrol stimulates hypoxia-inducible factor-1 activity in tumor cells by initiating the ROS/Akt/p70S6K signaling pathway and enhancing hypoxia-inducible factor-1alpha protein synthesis [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(11):e112470.
- [5] Huang L, Zhang Z, Zhang S, et al. Inhibitory action of celastrol on hypoxia-mediated angiogenesis and metastasis via the HIF-1alpha pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2011, **27**(3):407-415.
- [6] Du Q, Bian XL, Xu XL, et al. Role of mitochondrial permeability transition in human hepatocellular carcinoma HepG-2 cell death induced by rhein[J]. *Fitoterapia*, 2013, **91**:68-73.
- [7] Nasongkla N, Nittayacharn P, Rotjanasithikit A, et al. Paclitaxel-loaded polymeric depots as injectable drug delivery system for cancer chemotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Pharm Dev Technol*, 2017, **22**(5):652-658.
- [8] Zhang YQ, Cai Y, Liu Y, et al. Glycyrrhetic acid selectively inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells *in vitro* [J]. *J South Med Univ* (南方医科大学学报), 2018, **20**, **38**(4):477-482.
- [9] Liu QY, Gao TS, Yu SJ. Preliminary study about effect of rhein treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Liaoning Univ TCM* (辽宁中医药大学学报), 2015, **17**(7):30-32.
- [10] Yang XY, Su XL. Pathways and their mechanisms of hepatoprotective effect of glycyrrhetic acid [J]. *Chin J Histochem Cytochem* (中国组织化学与细胞化学杂志), 2019, (1):66-70.
- [11] Li MF, Guan H, Gan XF. Clinical trial of paclitaxel combined with sorafenib in the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2016, **32**(11):969-971.
- [12] Wang SQ, Zhu YZ, Zheng XB. Study and application of Chou-Talalay method for anti-tumor drug combination [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2013, **30**(4):449-453.
- [13] Zhao J. An experimental study of the synergistic effect of TRAIL combined with cisplatin in NSCLC cell lines [D]. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [14] Yang H, Chen D, Cui QC, et al. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese "Thunder of God Vine", is a potent proteasome

- inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice[J]. *Cancer Res*, 2006, **66**(9):4758-4765.
- [15] Chen Z. The molecular mechanism of cardiac toxicity of tripterine (雷公藤红素致心脏毒性的分子机制研究)[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2012.
- [16] Li ZX, Jin BY. Study on sodium glycodeoxycholate/DSPE-mPEG 2000 bionic mixed micelles loaded with celastrol for treating prostate cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Med Mat* (中药材), 2018, **41**(6):1423-1429.
- [17] Zhang L, Zhou JP, Yao J. Preparation and properties of paclitaxel-loaded glycyrrhetic acid-modified hyaluronic acid nanoparticles [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2012, **43**(3):226-230.
- [18] Du Q, Bian XL, Xu XL, *et al.* Role of mitochondrial permeability transition in human hepatocellular carcinoma HepG-2 cell death induced by rhein[J]. *Fitoterapia*, 2013, **91**:68-73.
- [19] Wang DD, Koramagazi A, Mao Y, *et al.* Rhein induces apoptosis in L-02 cells via reactive oxygen species-independent endoplasmic reticulum stress pathway[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(2):215-221.
- [18] Lu L, Guo QL, Zhai L. Advances of Src kinase family and paclitaxel resistance[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2017, **48**(4):377-383.
- [20] Xie GE, Du JC, Xu X. Inhibitory effect of celastrol on the growth of taxol-resistant breast cancer cells[J]. *J Guangdong Pharm Univ* (广东药学院学报), 2016, (3):335-338.

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2020 年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》是由国家教育部主管、中国药科大学主办的药学中文核心期刊,主要刊登合成药物化学、天然药物化学、生药学、中药学、药剂学、药物分析、药代动力学、药物生物技术、药理学、药事管理等学科的原创研究论著。

《中国药科大学学报》在药学界享有较高的学术声誉,目前已被国际上多家著名权威数据库(CA, IPA, SCOPUS, JST, IC, EMBASE/Excerpta Medica, CAS)等所收录,被国内权威数据库:《中文核心期刊要目总览》(2017年版)、中国科学引文核心数据库(CSCD核心)、中国科技论文统计源数据库等列为药学类核心期刊,屡获原国家新闻出版总署、教育部、科技部等各种优秀期刊奖。

2008年,《中国药科大学学报》被评为中国精品科技期刊,2006、2008、2010年连续3次被教育部评为中国高校精品科技期刊。据中国科学技术信息研究所最新发布的《2017年版中国科技期刊引证报告(核心版)》,《中国药科大学学报》2016年度核心被引半衰期为9.1,在47种药学核心期刊中排名第一。学术影响力极高,在高等院校、科研机构、制药企业、医院等单位拥有众多读者。

本刊为双月刊,128页。国际标准开本,国内外公开发行。欢迎到当地邮局订阅,漏订者可直接与编辑部联系。

| | |
|--------------------------|------------------------|
| 国内刊号:CN 32-1157/R | ISSN:1000-5048 |
| 国内邮发代号:28-115 | 定 价:40元/期,全年240元 |
| 地 址:南京市童家巷24号 | 邮政编码:210009 |
| 电 话:025-83271566 | 传 真:025-83271279 |
| E-mail:xuebao@cpu.edu.cn | http://www.zgykdxxb.cn |