

· 实验研究 ·

茶油常见临床用药的药理药效基础研究

谢雷 石欣蕾 任安石 高华春 陈全成

【摘要】目的 探讨茶油多种临床用药可能的药理药效基础。方法 将油茶籽经两次 95% 的乙醇回流提取后浓缩至不含乙醇和水的提取物, 取其中的茶油部分作为试验药物; 用肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 处理人乳腺癌细胞系 (MCF-7) 细胞建立细胞炎症模型, 进一步用蛋白质印迹技术观察药物处理对细胞炎症因子 I κ B- α 表达的影响进而评价茶油是否具有抗炎活性。结果 从油茶籽提取得到的茶油显著地抑制细胞中 TNF- α 诱导的 I κ B- α 的降解从而抑制炎症发生。结论 茶油对细胞显示良好的抗炎作用, 这种特性可能是其临床应用于治疗皮肤过敏、暗疮、疥癣、小儿红屁股、以及皮肤烧伤等多种与炎症相关疾病的药理基础之一。

【关键词】茶油; 药理药效; 抗炎

DOI : 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2015.09.210

Research of pharmacological effect basis of usual clinical medications with camellia oil XIE Lei, SHI Xin-lei, REN An-shi, et al. School of Pharmacy, Xiamen University, Xiamen 361102, China

【Abstract】Objective To explore the possible pharmacological effect basis of usual clinical medications

基金项目 : 厦门市科技计划项目 (项目编号 : 3502Z20123015) ; 国家自然科学基金 (项目编号 : 81102332)

作者单位 : 361102 厦门大学药学院

通讯作者 : 陈全成

法同对照组。针刺取穴 : 极泉、膻会、肩髃、清冷渊、消泅、天井、梁丘、风市、阳陵泉、血海、阴陵泉、阳辅、三阴交。操作 : 取患者仰卧位, 取患侧腧穴, 常规腧穴局部消毒, 采用 3 寸毫针, 直刺进针, 针下得气后, 留针 40 min, 留针期间每 10 分钟行针 1 次。

两组均治疗 30 d 后进行疗效评价。

1.4 观察指标 两组于治疗前后分别以患肢运动的改良 Ashworth (Modified Ashworth Scale, MAS) 张力评分分级量表进行疗效评价。

1.5 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验; 计数资料采用 χ^2 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

两组治疗后改良 MAS 评分与治疗前比较均明显减少, 治疗前后组内比较差异均有统计学意义 (P<0.01)。治疗后, 治疗组改良 MAS 评分减少程度优于对照组, 差异具有统计学意义 (P<0.05)。见表 1。

表 1 两组治疗前后改良 MAS 评分变化比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	例数	治疗前	治疗后
治疗组	30	2.68 \pm 1.05	1.79 \pm 0.62 ^{ab}
对照组	30	2.71 \pm 0.96	2.13 \pm 0.65 ^a

注 : 与治疗前比较, ^aP<0.01 ; 与对照组比较, ^bP<0.05

3 讨论

痉挛性瘫痪又称为中枢性瘫痪, 是导致脑卒中康复进程中出现曼-韦挛缩 (Mann-wemicke) 姿态的主要原因, 严重影响患者康复进程^[2]。脑卒中患者进行康复治疗, 在减少患者神经功能缺损程度、提高运动功能及日常生活活动能力等方面的作用已得到共识^[3,4]。

脑梗死后中枢神经系统在结构和功能上都具有重组能力, 能够消除脑损伤影响, 在一定条件下部分神经元能够再生, 具有一定的可塑性^[5]。这为脑卒中患者的临床康复治疗提供了理论依据。本研究针刺所选腧穴以手少阳三焦经穴为主, 三焦经穴能够疏通经脉循行所过之处的气血, 可用于肩背肘臂屈伸不能的治疗。本研究中, 经过 1 个月的治疗, 针刺与康复训练联合治疗组改良 MAS 评分比对照组低 (P<0.05), 说明针刺与康复训练联合治疗能够改善患肢痉挛, 提高患者的运动功能。

综上所述, 针刺与康复训练联合治疗能够改善患肢痉挛, 值得临床推广应用。

参 考 文 献

- [1] 方定华, 陈小梅, 李漪, 等. 脑血管病临床与康复. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2001:46-60.
- [2] 李东霞, 胡培佳, 程红亮, 等. 针刺并穴治疗脑梗死后肢体痉挛临床研究. 中医药临床杂志, 2013, 25(11):999-1001.
- [3] 朱蕴红. 早期针刺联合康复训练对急性脑梗死患者肢体功能的影响. 河北中医, 2012, 34(8):1191-1193.
- [4] 吴秀玲, 李永秋, 徐静红, 等. 针刺对部分前循环脑梗死患者软瘫期运动功能的影响. 河北中医, 2013, 35(12):1851-1853.
- [5] 王中琳. 中药对缺血性卒中模型大鼠神经功能重塑的影响. 中医药信息, 2009, 26(3):72-73.

[收稿日期 : 2014-11-14]

with camellia oil. Methods After twice 95% ethanol reflux extraction of camellia seed, the solution was concentrated to the extractive without ethanol and water. Camellia oil in the extractive was taken as study drug. Human breast adenocarcinoma cell line (MCF-7) cell was managed by tumor necrosis factor (TNF)- α to build a cell inflammation model. Influence of drug treatment on cell inflammatory cytokines I κ B- α was observed by Western blot, in order to make evaluation on whether camellia oil possesses anti-inflammatory activity. Results Camellia oil extracted from camellia seed had significantly inhibiting effect on degradation of I κ B- α induced by TNF- α , so as to suppress occurrence of inflammation. Conclusion Camellia oil has precise anti-inflammation effect on cells, and this effect may be one of its pharmacological basis for treating inflammation related diseases as skin allergy, pimples, scabies, pediatric bunda vermelha, skin burn and scald.

【Key words】 Camellia oil; Pharmacological effect; anti-inflammation

茶油系山茶科植物油茶 (*Camellia oleifera* Abel) 或小叶油茶 (*C. meiocarpa* Hu, ms.) 的成熟种子经压榨法得到的脂肪油^[1], 茶油的成份以不饱和脂肪酸为主, 包括油酸、亚油酸和亚麻酸, 不饱和脂肪酸含量达90%左右, 其中又以油酸含量最大, 占到80%以上。此外, 据报道茶油中还含有山茶苷、山茶皂苷、茶多酚、角鲨烯等多种次生代谢产物^[2]。茶油除了食用外, 在《中国药典》中被作为药用油脂收录,《纲目拾遗》、《农政全书》、《中华本草》等中医药典籍中曾记录其具有清热解毒、润燥、杀虫、息风等作用, 临床用药中多以单方或配方用于治疗皮肤过敏、暗疮、疥癣、小儿红屁股、以及皮肤烧烫伤等多种与炎症有关联的疾病^[3-6]。为了更好地说明茶油在临床使用中所起的药效作用, 作者采用体外细胞模型对其存在的抗炎活性进行实验观察与评价, 旨在为茶油的临床用药提供基础实验依据。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 仪器、试剂和材料 仪器: 电子天平 BS224S(赛多利斯科学仪器北京有限公司), 凝胶电泳仪(北京六一)。试剂和材料: 试剂主要包括95%市售食用乙醇、含10% FBS与streptomycin/penicillin的DMEM细胞培养液(Hyclone), TNF- α (PeproTech), I κ B- α (Abcam) 及 β -actin (Sigma-Aldrich) 蛋白抗体等, MCF-7细胞购自美国 ATCC, 油茶籽(福建山宝油茶有限公司提供)来源于福建省龙岩上杭县。

1.2 方法

1.2.1 茶油的提取 取油茶籽4.5 kg, 粉碎后加入2.5 L 95%的乙醇于回流提取装置中加热回流提取2.5 h, 过滤; 再加入2.5 L 乙醇重复提取一次, 过滤合并滤液; 用旋转蒸发仪减压浓缩到不含乙醇和水, 最终得到油膏状乙醇提取物750 g。将提取物放入4℃冰箱中24 h使提取物中的固形物与茶油分层, 用吸管吸出茶油过滤后备用。

1.2.2 细胞培养 将冻存的MCF-7细胞解冻后移至加有DMEM培养基的10 cm培养皿并放于空气中含5% CO₂的细胞培养箱中复苏及传代培养, 最终取处于对数生长期的细胞进行活性实验研究。

1.2.3 药物处理 取处于对数生长期的MCF-7细胞接种于六孔板, 密度30%~40%, 培养24 h后细胞贴壁, 吸掉培养基, 用1×PBS洗2次, 吸掉PBS后无血清加入2 μ l/ml上述提取的茶油样品处理3 h, 然后再加入10 ng/ml的TNF- α 分别处理10、20和30 min后收集细胞。

1.2.4 蛋白质印迹检测 将收集的细胞用NP-40裂解液(含蛋白酶抑制剂混合物和磷酸化酶抑制剂)冰上裂解15 min, 裂解液转入1.5 ml离心管, 12000 RPM低温离心15 min, 吸取上清液加入5×loading, 煮5 min, 10%的SDS变性聚丙烯酰胺

凝胶电泳分离, 100 V转膜1 h, 5%牛奶封闭1 h, 一抗孵育过夜, 二抗孵育1 h, 胶片曝光检测I κ B- α 蛋白, 以 β -actin作为内参。

1.3 统计学方法 采用SPSS17.0统计学软件处理数据。实验中统计方法采用T-test分析。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样品制备 油茶籽通过提取得到金黄色透明的茶油样品, 有浓重粗榨茶油香气。

2.2 茶油的抗炎作用 实验中单独用TNF- α 处理MCF-7细胞可以观察到随时间的增加, 细胞中的I κ B- α 的蛋白表达水平逐渐减少, 可见TNF- α 处理导致细胞中的I κ B- α 降解(P<0.05)(见图1, 第2、6和10道)。而以茶油(CY)预处理MCF-7细胞发现TNF- α 诱导的I κ B- α 降解作用被明显阻止(P<0.05)(见图1, 第8和12道分别与第6和10道对照)。

以上实验结果显示茶油可以抑制TNF- α 诱导的炎症通路, 初步表明茶油可能具有良好的抗炎作用。

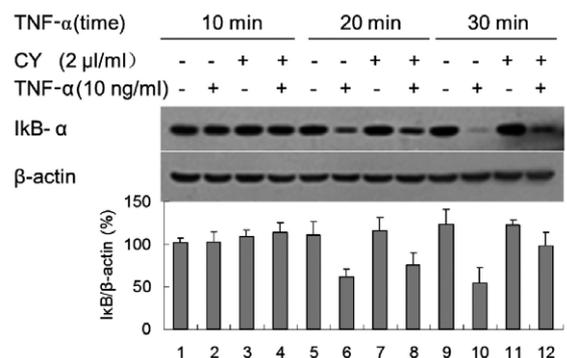


图1 茶油对乳腺癌细胞MCF-7中TNF- α 诱导的I κ B- α 表达的影响

注: 第8和12道分别与第6和10道比较, P<0.05

3 讨论

TNF- α 是一种能与细胞膜上受体特异结合进而发挥促进细胞生长、分化、凋亡及诱发炎症等广泛生物学效应的细胞因子。I κ B- α 是核因子 κ B(免疫球蛋白K轻链基因增强子)抑制蛋白的亚基, I κ B从NF- κ B复合体中解离并降解是NF- κ B信号通路激活和参与炎症应答及基因调控的必要条件^[7]。本实验结果初步表明油茶籽中提取的茶油可以有效地抑制TNF- α 引起的I κ B降解, 因此可能具有潜在的抑制炎症发生的功效, 而这种功效可能是茶油临床应用于治疗皮肤过敏、暗疮、疥癣、小儿红屁股、以及皮肤烧烫伤等多种与炎症相关疾病的药效基础之一。这些研究结果为茶油的临床用药提供了一些基础的实验依据。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 茶油. 中国药典(一部). 北京:中国医药科技出版社, 2010:386-387.
- [2] 谢蓝华, 周春灵, 李伟云, 等. 热榨法和冷榨法制取茶油的品质差异及其在护肤美容上的应用研究. 农产品加工(学刊) 2010(7):58-61,65.
- [3] 邹清容, 禚丽萍. 茶油抗炎、抗菌作用的临床应用进展, 2013, 22(12):12-13.
- [4] 胡鑫. 中药治疗牛疥癣. 兽医科技杂志, 1982(3):29.
- [5] 李金花, 丁明丽. 茶油联合氢氧化钙溶解液治疗烧伤的疗效观察. 中国疗养医学, 2009, 18(5):469-470.
- [6] 陈凤珍, 苏碧霞, 梁美德, 等. 茶油预防新生儿红臀的疗效观察. 中国校医, 2013, 27(11):823, 825.
- [7] 徐洁, 姚红兵. TNF- α 信号传导通路的研究现状. 泸州医学院学报, 2007, 30(2):156-158.

[收稿日期:2015-01-15]

薯蓣正丁醇部位洗脱液对人型支原体培养基 pH 值的影响

朱蕾 钟超

【摘要】目的 探讨薯蓣抗人型支原体的作用机制。方法 人型支原体液体培养基中加入 25% 乙醇洗脱流分的薯蓣正丁醇部位作为实验组, 加入 0.9% NaCl 溶液作为对照组, 检测两组菌落数及培养基 pH 值。结果 加入实验组菌落数及培养基 pH 值均低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 薯蓣提取物可能通过降低培养基的 pH 值抑制人型支原体。

【关键词】薯蓣正丁醇部位洗脱液; 人型支原体培养基; pH 值

DOI : 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2015.09.211

泌尿生殖道支原体感染是妇科常见病, 应用抗生素是主要的治疗手段, 但泌尿生殖道支原体耐药性也日益明显。本课题组的早期研究发现薯蓣具有抗泌尿道人型支原体的作用^[1], 但其机制尚不清楚, 现将本实验结果报告如下, 为研究薯蓣体外抗泌尿道人型支原体的作用机制提供理论依据。

1 实验材料

1.1 培养基的配制 人型支原体的液体培养基参照吴移谋等^[2]的方法。20% 新生小牛血清、10% 新鲜酵母菌液、0.002% 酚红、1 1 牛心组织消化液、含有青霉素 20000 U/L。使用 0.1% 的精氨酸溶液将液体培养基的 pH 值调到 6.5^[3]。

1.2 原株的获取 临床患者阴道分泌物的标本培养得到 30 株, 鉴定传代培养 3 次后, 于 -70 保存备用。在常温条件下融化前期制备的原株菌液, 以 1 100 稀释液体培养基, 37 $^{\circ}$ C, 24-48 h 培养后达到 10⁶ 颜色变化单位 /0.1 ml 作为实验用的接种物。

1.3 原药处理 薯蓣正丁醇部位洗脱液采用前期实验的方法取得。

2 实验方法

2.1 实验组选用固体培养基, 37 $^{\circ}$ C 恒温箱复温 10 min, 培养基中央滴入正丁醇部位 25% 洗脱部位的 1% DMSO 溶液 (1% 二甲基亚砜无抗人型支原体的作用) 50 μ l, 倒置 10 min, 无菌接种环在药液区内均匀接种原株, CO₂ 培养箱培养; 选择滴入同剂量的 0.9% 的 NaCl 溶液的培养基做为对照组。两组培养基培养 96 h 后, 取出培养基, 倒置, 在 10 倍物镜显微镜下, 观察视野中煎蛋样菌落, 顺时针方向取 5 个视野, 记录菌落数^[4]。0.1 g/ml 阿奇霉素溶液作为阳性对照。

2.2 pH 值的测定 将实验组和对照组的培养基溶液经蒸馏水稀释至 0.2 g/ml 用 Bechman 61 型 pH 计进行检测。

2.3 统计学方法 采用 SPSS15.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验; 计数资料采用 χ^2 检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 经正丁醇部位 25% 洗脱部位处理的培养基的菌落数明显低于同剂量的 0.9% 的 NaCl 溶液处理培养基的菌落数, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 pH 值测定 薯蓣正丁醇部位洗脱液组的 pH 值与阿奇霉素组相近, 且其低于同剂量 0.9% 的 NaCl 溶液培养基的 pH 值, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 三组培养基菌落数测定结果 ($\bar{x} \pm s$, n=30)

培养基	菌落数 (个)
薯蓣正丁醇部位洗脱液	4.06 \pm 1.15 ^a
阿奇霉素 (0.1 g/ml)	1.25 \pm 0.46
0.9%NaCl	573.85 \pm 62.73

注: 以阿奇霉素为阳性对照, 与同剂量的 0.9% 的 NaCl 溶液比较, ^aP < 0.05

表 2 三组培养基 pH 值测定结果 ($\bar{x} \pm s$, n=30)

培养基	pH 值
薯蓣正丁醇部位洗脱液	5.01 \pm 0.05 ^a
阿奇霉素 (0.1 g/ml)	4.88 \pm 0.03
0.9%NaCl	7.12 \pm 0.04

注: 以阿奇霉素为阳性对照, 与同剂量 0.9% 的 NaCl 溶液培养基比较, ^aP < 0.05

4 讨论

人型支原体是女性泌尿生殖道感染的常见病原之一, 可引起盆腔炎、急性肾盂肾炎等多种生殖道疾病和创伤感染、支原体血症等生殖道外感染, 目前治疗人型支原体的药物均已显示不同程度的耐药性, 例如红霉素、链霉素、卡那霉素、氯霉素等常用抗生素。中药薯蓣对人型支原体的抑制作用本

作者单位: 518106 深圳市光明新区人民医院妇科 (朱蕾), 药剂科 (钟超)