

## B-S5-5

## HBCD 对 HepG2 的遗传毒性、氧化应激机制及水葫芦提取物黄酮的保护作用

李宇丹<sup>1</sup>, 周佩云<sup>1</sup>, 刘铁军<sup>2</sup>, 杨超萍<sup>1</sup>; 指导教师: 向明钧

1. 吉首大学 2010 级临床医学

2. 吉首大学 2012 级临床医学

**【立论依据】** 六溴环十二烷(hexabromocyclododecane, HBCD)是一种世界广泛应用的新型溴代阻燃剂,因其热稳定性较差,分解温度低,易扩散到环境中,现已成为环境中广泛存在的污染物,会对人体产生极大的危害。在人体脂肪、血清、母乳甚至儿童体内均可检测到 HBCD,会对人体产生严重危害,如导致血清甲状腺激素浓度下降、抑制神经和卵子的发育、肝组织病理学改变、免疫功能改变,并具有致畸潜力。水葫芦(Eichhornia crassipes)全世界公认为“十大害草”之一。我国每年由水葫芦造成的直接经济损失接近 100 亿元。文献表明水葫芦中含有较丰富的黄酮类物质。天然植物中的黄酮类化合物属于多酚类物质,具有生物抗氧化性、抗衰老、抗癌、镇痛、抗炎等功能。我们研究 HBCD 对 HepG2 的遗传毒性及其氧化应激机制,并在此基础上提取水葫芦黄酮研究其保护作用具有极其重要的意义。

**【设计思路】** 通过微核实验和单细胞凝胶电泳分别检测 HBCD 对 HepG2 细胞的染色体和 DNA 损伤,检测染毒后细胞内 ROS 和 GSH 的情况阐明遗传毒性机制,在此基础上提取水葫芦黄酮研究其抗活性氧以保护 HepG2 细胞的作用。

**【实验内容】** 本项目采用 MTT 检测 HBCD 对细胞的毒性效应,通过微核试验和单细胞凝胶电泳评价 HBCD 的遗传毒性,以测定 ROS 和 GSH 探讨 HBCD 对 HepG2 遗传毒性。采用超声波法提取水葫芦中黄酮类物质干预 HBCD 对 HepG2 的遗传毒性。

**【材料】** HBCD、HepG2 细胞、水葫芦、MTT 细胞毒性检测试剂盒、Giemsa 染料、单细胞凝胶电泳实验相关试剂、S0053-GSH 和 GSSG 检测试剂盒、S0033 活性氧检测试剂盒试剂盒。

**【可行性】** (1)HepG2 细胞存在生物转化过程中 I 和 II 相酶,已成为评价化合物遗传毒性的有力工具。(2)项目成员均已参加由指导教师主持的多项课题,掌握了多项基本技能,保证课题的顺利进行。(3)本实验委托大学生创新性实验室完成,具备相关仪器设备。

**【创新性】** 研究了 HBCD 对生物体遗传毒性及其机制;研究了水葫芦活性提取物黄酮对 HBCD 遗传毒性的保护作用。

**关键词:** HBCD; HepG2; 遗传毒性; 氧化应激; 水葫芦

## B-S5-6

## 基于肝脏靶向的水飞蓟素固体脂质纳米粒的构建及评价

季晓伟, 丛沛聿, 朱佳慧, 魏正杰; 指导教师: 王晓丹

泰山医学院 2011 级药学

**【立论依据】** 肝纤维化及肝硬化是各种慢性肝病的最终共同转归,减缓或阻止肝纤维化进程是重要的治疗对策,开展抗纤维化治疗有重大意义。肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)在肝纤维化形成过程中发挥关键作用,是肝纤维化时 ECM 的主要来源细胞。因此,肝纤维化的主要效应细胞 HSC 成为抗纤维化治疗的“靶细胞”。临床上常用的水飞蓟素制剂为国产益肝灵片或德国进口的利肝隆胶囊剂,但由于水飞蓟素的低溶解性问题影响了其临床疗效,可采用固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)来提高难溶性药物的生物利用度和增加靶向性。

本实验旨在探讨不同粒径分布的水飞蓟素固体脂质纳米粒载药体系的肝靶向性,并探讨水飞蓟素在 TGF- $\beta$ 1 刺激 HSC-T6 增殖中对 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号转导通路的作用。

**【设计思路】** (1)通过星点设计效应面法优化水飞蓟素固体脂质纳米粒的制备工艺并探讨粒径与靶向性之间的相关性;(2)体内实验观察该载药体系对肝纤维化的保护作用;(3)探讨水飞蓟素的抗肝纤维化的分子机制。

**【实验内容】** 以水飞蓟素为模型药物,制备固体脂质纳米粒,通过处方优化制备合适粒径的 SIL-SLN 并具备较好的趋肝性;复制肝纤维化动物模型,比较 SIL 与 SIL-SLN 的治疗作用;体外培养大鼠肝星状细胞评价细胞增殖情况;进行细胞凋亡与相关蛋白的表达的检测。

**【材料】** AnnexinV FITC 试剂盒;ALT、AST 试剂盒、TGF- $\beta$ 1、Smad2/3、Smad7 等抗体。

**【可行性】** 前期采用 Box-behenken 效应面实验设计优化了水飞蓟素固体脂质纳米粒的处方,并对所制备的固体脂质纳米粒进行了形态表征,结果显示所制备的固体脂质纳米粒平均粒径在 230 nm 左右,为固体脂质纳米粒的应用提供了依据。

**【创新性】** (1)构建不同粒径分布的固体脂质纳米粒载药体系,考察粒径与静脉注射吸收程度的相关信息,探讨肝靶向的影响因素。(2)研究载药固体脂质纳米粒在肝星状细胞的转运机理以及细胞转运与靶向性的内在联系,并通过药效学实验和分子水平检测进行验证,为中药抗肝纤维化药物新剂型开发提供实验依据。

**关键词:**水飞蓟素;固体脂质纳米粒;肝纤维化

## B-S5-7

# 固体碱化法直接从绿茶中提取咖啡碱的技术研究

邢蓬蕊,张晓峥,于鑫,朱伟伟;指导教师:杨志孝

泰山医学院 2010 级临床医学与英语

**【立题依据】** 从茶叶中提取咖啡因是医学院有机化学实验教学中关于天然产物提取的经典实验之一,实验采用脂肪提取器作为萃取装置,进行固-液连续提取,耗时长,过程复杂且不易操作,针对上述问题我们寻找一种从绿茶或废弃茶叶中快速高效提取咖啡碱的技术方法,以方便基础医学教学,科研等用途。咖啡因是茶叶中的一种生物碱,现代医学研究表明咖啡因在生理上有重要作用,是一种中枢神经系统兴奋剂,能促进新陈代谢,影响神经、心脏、肝脏、肾脏的功能,对人类的健康发挥着积极作用。近年来科学家发现咖啡碱与癌症预防和治疗有着密切的关系。

**【设计思路】** 利用固体 CaO 碱化直接升华的方法,控制温度在 160℃,时间 45 min 就可一步提取得到咖啡碱,方便教学和科研等的快速提取,使用。

**【实验内容】** 称取茶叶放在坩埚中,用蒸馏水润湿 CaO,在坩埚上加一张穿有很多小孔的滤纸,然后将大小合适的玻璃漏斗倒扣在上面,插入温度计,控制温度于 160℃下直接升华,咖啡碱直接升华并凝集在滤纸上,冷却后收集产品。残渣最后用较大火焰再加热升华一次,合并两次收集的咖啡因。

**【材料】** 绿茶,生石灰。

**【可行性】** 采用固体碱化直接升华的方法,提取绿茶中的咖啡碱,实际消耗少(只消耗氧化钙)、能源消耗低、操作简便、快速(45 min)、收率高、产品质量好、生产成本低、不存在环境污染等特点。

**【创新性】** 作为医学院有机化学实验教学中关于天然产物提取的经典实验之一,该实验采用脂肪提取器作为萃取装置,进行固-液连续提取,从茶叶中将咖啡因提取出来,实验过程复杂且不易操作,耗时过长,特别是对升华实验操作中往往因温度过高而使得产品碳化 and 变焦,从而造成产品损失和纯度降低,使得实验效果不理想。针对上述问题,我们的方法可以快速高效提取咖啡因,避免升华中的碳化问题,并且收率高、产品质量好。从时间、产率、环保、成本等综合因素考虑,此法是从绿茶或废弃茶叶中直接提取咖啡因的理想方法。

**关键词:**绿茶;咖啡碱;固体碱化法;升华法