

# Experimental Study on the Effect of Parnassia Ethanol Extract in Inhibiting the Proliferation of Human Breast Cancer Cells *in Vitro*

Ying Xin<sup>1,2</sup>, Lahu Da<sup>2</sup>, Deng Nai<sup>2</sup>, Wuliji Ao<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Inner Mongolia Research Institute of Traditional Mongolian Medicine Engineering Technology, Tongliao Inner Mongolia

<sup>2</sup>College of Mongolian Medicine and Pharmacy, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao Inner Mongolia

Email: \*wuliji@126.com

Received: Nov. 5<sup>th</sup>, 2016; accepted: Nov. 23<sup>rd</sup>, 2016; published: Nov. 28<sup>th</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

**Objective:** To study the effect of Parnassia ethanol extract in inhibiting the proliferation of human breast cancer cells (MCF-7 cells) *in vitro*. **Methods:** Inhibitory effect of different doses of ethanol extract of Parnassia was detected by MTT on proliferation of MCF-7 cells. ELISA method was used to detect the enrichment factor of each group of MCF-7 cells in order to find the early apoptosis. **Results:** The proliferation of MCF-7 cells was significantly inhibited at 24 h after treated with Parnassia ethanol extract. Compared with the control group, the ethanol extract of Parnassia can significantly promote MCF-7 cells apoptosis. **Conclusion:** The ethanol extract of Mongolian medicine Parnassia can inhibit MCF-7 cells proliferation *in vitro* and its mechanism may be related to the induction of apoptosis in MCF-7 cells.

## Keywords

Mongolian Drug, Parnassia, Ethanol Extract, MCF-7 Cell, Apoptosis

---

\*通讯作者。

# 蒙药孟根 - 地格达体外抗乳腺癌细胞增殖的实验作用研究

辛颖<sup>1,2</sup>, 达拉胡<sup>2</sup>, 乃登<sup>2</sup>, 奥·乌力吉<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>内蒙古蒙医药工程技术研究院, 内蒙古 通辽

<sup>2</sup>内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽

Email: wuliji@126.com

收稿日期: 2016年11月5日; 录用日期: 2016年11月23日; 发布日期: 2016年11月28日

## 摘要

**目的:** 研究蒙药孟根 - 地格达的乙醇提取物在体外对人乳腺癌细胞(MCF-7细胞)的增殖抑制作用。**方法:** 应用MTT检测法研究蒙药孟根 - 地格达的乙醇提取物的不同剂量组对MCF-7细胞增殖的抑制作用; 并采用单克隆抗体ELISA法测定各实验组的富集系数, 检测孟根 - 地格达对MCF-7细胞的早期凋亡是否具有促进作用。**结果:** 与对照组相比, 孟根 - 地格达的乙醇提取物可以抑制MCF-7细胞的增殖, 并明显促进MCF-7细胞的早期凋亡。**结论:** 蒙药孟根 - 地格达的乙醇提取物在体外可以抑制MCF-7细胞的增殖, 其作用机制可能与诱导MCF-7细胞的凋亡有关。

## 关键词

蒙药, 孟根 - 地格达, 乙醇提取物, MCF-7细胞, 细胞凋亡

## 1. 引言

近年来国内外学者对中药抗肿瘤作用的作用机制及其有效物质基础研究方面进行了大量的研究, 实验结果证实我国的传统中药具有良好的抗肿瘤效果, 且副作用较小[1] [2] [3]。“破痞”属于一种蒙药功效, 相当于现代医学中的抗肿瘤作用。现代蒙药药理学[4]认为具有破痞功效的蒙药即具有抗肿瘤活性。

“痞症”在蒙医理论上多发生在人体的各个器官, 属于继发于各种疾病的郁结性痼疾, 其发病原因归结于维持人体生命的“三根”(赫依、希日、巴达干)因某种原因失去了平衡, 进而导致“七素”(食物精华、血、肉、脂、骨、骨髓、精液)在转化过程中因积聚凝结而成浑浊、恶血激增、黄水淤积, 并在赫依的促动作用下, 在人体的某一部位形成痞块。医治痞病, 不但要破痞瘤本身同时还要判明其发病原因, 对症施治。长期以来, 蒙医药学在“痞症”的治疗方面已经积累了非常丰富的治疗方法和用药经验, 临床疗效显著, 且副作用小, 资源丰富[5]。但存在的挑战是如何利用现代医药学理念去解释蒙医药“破痞”功效的根本原理和机制。

孟根 - 地格达又名乌勒地格、纳木嘎纳、纳木仁 - 查干 - 其其格。孟根 - 地格达在各地蒙藏医所用各异, 其原植物有待进一步考证[6]。孟根 - 地格达在内蒙古蒙医用虎耳草科梅花草属多年生植物梅花草(*Parnassia palustris* L.)的全草或根, 具有清热解毒、消肿排脓、破痞、抑希日等功效。作为蒙古族历代和民间常用的特色蒙药, 梅花草在现代蒙医临床应用中常用于治疗肿瘤及其相关疾病[7] [8]。据文献查阅, 目前未见国内外专家和学者对蒙药梅花草的“破痞”功效的活性化学成分和作用机制等方面的研究报道。

本文沿着天然药物研究这一思路，首先拟用活性追踪法对蒙药梅花草的乙醇提取物的抗肿瘤作用进行研究，旨在通过体外实验初步评价梅花草的乙醇提取物对人乳腺癌细胞(MCF-7 细胞)的增殖是否具有抑制作用，进一步研究梅花草的抗肿瘤效果。

## 2. 实验材料

### 2.1. 细胞

人乳腺癌细胞系(MCF-7 细胞)购自上海博谷生物科技有限公司。

### 2.2. 仪器

倒置相差显微镜(TS100 型, 日本尼康); 超纯水机(GYJ1/2-40L-S 型, 重庆华创责任有限公司); 立式压力蒸汽灭菌器(YXQ-LS-100A 型, 上海博讯有限公司); 鼓风干燥箱(DHG-9203A 型, 上海精宏有限公司); 双人双面净化工作台(SW-CJ-2F 型, 苏州智净有限公司); 酶标仪(DNM-9602 型, 北京普朗责任有限公司); 水套式 CO<sub>2</sub> 培养箱(3110 系列, 美国 Thermo Scientific); 电子调温电热套(98-1B 型, 天津市秦斯特仪器有限公司); 超声波清洗器(KQ-100 型, 昆山市超声仪器有限公司); 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 集团); 循环水式多用真空泵(SHZ-DIII 型, 郑州长城仪器有限公司); 96 孔培养板及培养瓶(美国 Corning 公司)。

### 2.3. 试药

梅花草采集于内蒙古通辽市扎鲁特旗罕山自然保护区, 由内蒙古民族大学蒙医药学院蒙药鉴定教研室徐都冷教授鉴定为虎耳草科植物梅花草的全草; DMEM 培养基(美国 Gibco 公司); 胎牛血清(美国 Gibco 公司); 胰酶(北京索莱宝科技有限公司); MTT (北京索莱宝科技有限公司); 生理盐水、乙醇、二甲亚砜(DMSO)等试剂均购自天津科密欧公司。

## 3. 实验方法

### 3.1. 药物制备

将采集的梅花草药材自然干燥, 粉碎后取一定量用 95% 的乙醇浸泡后放于圆底烧瓶中, 加热浸煮(4 次, 每次 4 h), 合并所有提取液, 在旋转蒸发仪中减压浓缩回收试剂, 并干燥后得浸膏, 备用。经计算提取率为 33.26%。用 DMSO 作为梅花草体乙醇提取物在外细胞实验用的溶剂, 待提取物完全溶解后, 制备一系列浓度梯度作为实验用药物。其中实验最大剂量组需将 DMSO 的浓度控制在 0.1% 以下[9]。

### 3.2. MTT 实验

常规培养 MCF-7 细胞, 胰酶(0.08%)消化后将细胞的浓度调整为  $1 \times 10^5$ /mL, 接种在 96 孔板上。CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 24 h 后, 分别加入不同浓度的梅花草乙醇提取物, 继续培养 24 h, 吸弃每孔内的培养液并加入 5 mg/mL 的 MTT 工作液 50  $\mu$ L, 培养 4 h 后终止培养。吸弃孔内 MTT, 每孔加入 100  $\mu$ L DMSO, 振荡 2~3 分钟后使用酶标仪在 490 nm 波长处检测 OD 值, 记录结果并计算抑制率。抑制率 = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值)/对照组 OD 值  $\times$  100%, 实验重复 3 次, 取平均值。

### 3.3. ELISA 法检测细胞凋亡

MCF-7 细胞加入梅花草的乙醇提取物处理 24 h 后, 用 PBS 洗涤 2 次, 使用抗组蛋白和抗 DNA 的单克隆抗体 ELISA 法早期检测细胞凋亡, 按着试剂盒的说明方法进行操作, 使用酶标仪(405 nm)测定 OD

值。凋亡细胞率以富集系数 EF 表示, EF 值 = (待测样品 OD 值 - 本底 OD 值)/阴性对照 OD 值 × 100%。

### 3.4. 统计学方法

应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 所有数据用平均值 ± 标准差表示, 多组间均数差异性比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  为差异具有统计学意义。

## 4. 实验结果

### 4.1. 梅花草乙醇提取物体外对 MCF-7 细胞的增殖抑制作用

梅花草乙醇提取物在浓度为 12.5 mg/mL 时对 MCF-7 细胞的增殖有抑制作用。结果见表 1。

### 4.2. 梅花草乙醇提取物对 MCF-7 细胞早期凋亡的影响

与对照组相比, 梅花草乙醇提取物的浓度为 12.5 mg/mL 时, 细胞凋亡率(EF)明显升高( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

## 5. 讨论

目前, 对于肿瘤的治疗主要采用手术治疗、化学药物治疗和放射线治疗等方法。然而, 以上治疗手段强调的是肿瘤的缩小或消失, 着眼于局部, 忽视了对肿瘤宿主全身功能状态的治疗。特别是还面临着肿瘤扩散速度快、术后高复发率以及对传统抗癌药物的耐药性等方面的问题, 使得寻找高效低毒的抗癌新药迫在眉睫。蒙药治疗肿瘤有其独特的经验和方法, 临床治疗时采用辨治施治的方法治疗。蒙药用药剂量小, 有高效、低毒、发挥复合药理作用、疗效可靠等优点, 其有效成分的抗肿瘤作用及其机理的研究已成为当今医药学领域研究的重点。

**Table 1.** Effect of ethanol extracts of Parnassia on proliferation of MCF-7 cells

**表 1.** 梅花草乙醇提取物对 MCF-7 细胞增殖的作用

组别	剂量(mg/mL)	OD 值	抑制率(%)
对照组	—	0.98 ± 0.0973	—
	3.125	1.10 ± 0.0927	0.00
梅花草乙醇提取物	4.617	1.09 ± 0.0915	0.00
	6.25	1.02 ± 0.0896	0.00
	12.5	0.70 ± 0.1589**	28.57

注: 与对照组相比, \*\* $P < 0.01$ 。

**Table 2.** Effect of ethanol extract on apoptosis of MCF-7 cells in Parnassia

**表 2.** 梅花草乙醇提取物对 MCF-7 细胞凋亡的影响

组别	剂量(mg/mL)	EF(U/mL)
对照组	—	10.8 ± 1.32
	3.125	10.7 ± 1.53
梅花草乙醇提取物	4.617	11.2 ± 1.69
	6.25	12.1 ± 1.44
	12.5	14.8 ± 1.28*

注: 与对照组相比, \* $P < 0.05$ 。

我课题组率先发现梅花草的乙醇提取物体外对人宫颈癌细胞 **Hela** 细胞有抑制作用, 其作用机制与诱导肿瘤细胞的凋亡有关[10]。本实验研究的结果显示, 蒙药孟根地格达(梅花草)的乙醇提取物对 **MCF-7** 细胞可以表现出抑制其增殖的作用, 并可以促进 **MCF-7** 细胞发生早期凋亡。这与作者的前期研究结果保持一致。细胞凋亡可以维持机体内细胞数量的动态平衡, 进一步加强机体内环境的稳定, 是细胞的一种基本生物学现象[11]。今后我们的研究中会从凋亡发生通路中找到更多、更有效的蒙药孟根地格达治疗肿瘤的切入点, 并且检测其是否能够有效拮抗凋亡抑制因子的作用, 最大限度地选择性地诱导肿瘤细胞的凋亡, 有效地利用诱导凋亡来控制肿瘤。

## 基金项目

内蒙古自治区蒙医药科技重大专项子课题(GCY201508023); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZZ16184)。

## 参考文献 (References)

- [1] 尹龙, 徐亮, 胡格, 等. 抗肿瘤中药及其有效成分的作用研究现状[J]. 动物医学进展, 2006, 27(1): 39-44.
- [2] 刘磊磊, 陈娟, 师彦平. 清热解毒中药抗肿瘤作用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(6): 1203-1212.
- [3] 梁欣娜, 张兴燊, 滕红丽. 中药及其有效成分抗肿瘤作用研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 119-122.
- [4] 王秀兰, 白玉霞, 王欢, 等. 蒙药药理学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006, 82-87.
- [5] 特·特木热校注. 四部医典[M]. 呼和浩特: 内蒙古科学技术出版社, 1987, 272-286.
- [6] 布日额, 其其格玛, 东格尔道尔吉. 蒙药地格达的本草考证[J]. 中药材, 2006, 29(1): 81-82.
- [7] 罗布桑. 蒙药学[M]. 北京: 民族出版社, 1989, 459-460.
- [8] 奥·乌力吉, 布和巴特儿. 传统蒙药与方剂[M]. 呼和浩特: 内蒙古科学技术出版社, 2013, 08.
- [9] Adler, S., Pellizzer, C., Paparella, M., et al. (2006) The Effects of Solvents on Embryonic Stem Cell Differentiation. *Toxicology in Vitro*, 20, 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.043>
- [10] 辛颖, 达拉胡, 红艳. 蒙药梅花草乙醇提取物体外抗肿瘤实验研究[J]. 北方药学, 2016, 13(9): 128-129.
- [11] 欧阳高亮, 李祺福, 洪水根. 细胞凋亡与肿瘤的发生发展和治疗[J]. 国外医学(肿瘤学分册), 2000, 27(5): 266-269.

### 期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [pi@hanspub.org](mailto:pi@hanspub.org)