

玉叶金花质量控制研究*

秦兰^{1,2**}, 刘亭³, 孙佳³, 陆苑³, 潘洁¹, 王永林³, 李勇军¹, 林昌虎^{1***}, 刘春花^{1***}
(1. 贵州医科大学 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心 & 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 550025; 3. 贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立玉叶金花的质量控制方法。方法: 采集来自贵州和广东的 13 批次玉叶金花药材, 采用显微鉴别方法鉴定玉叶金花叶表面特征和粉末特征, 采用薄层色谱法对玉叶金花真实性进行鉴定; 按照《中国药典》2015 年版通则规定对玉叶金花水分、总灰分及醇溶性浸出物进行研究。结果: 玉叶金花的显微特征明显, 叶上表皮细胞呈类多角形、垂周壁增厚、气孔少见, 叶下表皮细胞不规则形状、垂周壁波状弯曲、气孔为平轴式、非腺毛多见; 粉末显微特征中非腺毛众多、表面光滑、导管多为具缘纹孔、偶见螺旋导管, 石细胞众多、呈长方形、方形及类圆形; 薄层色谱中主斑点清晰、分离好, 斑点颜色和位置与对照药材一致; 13 批次玉叶金花的水分、总灰分及醇溶性浸出物存在差异。结论: 本研究建立的玉叶金花的质量控制研究方法专属性强, 稳定性和重复性良好, 为该药材的真实性鉴定和质量评价提供了参考依据。

[关键词] 色谱法, 薄层; 质量控制; 玉叶金花; 显微特征; 一般检查; 醇溶性浸出物

[中图分类号] R282.5 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2020)04-0408-07

DOI: 10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2020. 04. 007

Studies on Quality Control Method of *Mussaenda pubescens*

QIN Lan^{1,2}, LIU Ting³, SUN Jia³, LU Yuan³, PAN Jie¹, WANG Yonglin³,
Li Yongjun¹, LIN Changhu¹, LIU Chunhua¹

(1. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Ministry of Education & State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To establish a quality control method of *Mussaenda pubescens*. Methods: The microscopic identification method was applied to identify the surface characteristics of the leaves and powders of 13 batches of *M. pubescens*. The thin layer chromatography (TLC) was used to qualitatively identify the authenticity of *M. pubescens*. According to the general rules of the *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition), water content, total ash and alcohol soluble extract of *M. pubescens* were determined. Results: The leaf epidermal cells were usually irregular or polygonal in shape, and the stomata type was plane axis. Non-glandular hairs were found covering the leaf epidermis. A large number of bordered pit vessels were observed. In the thin-layer chromatography, the main spots were clear and the resolution was good. The spot color and position were consistent with the reference crude herb. The average moisture content, the total ash and the alcohol soluble extract of 13 batches of *M. pubescens* were different. Conclusion: The quality control method of *M. pubescens* is specific and reproducible, with very good stability and repeatability, providing a reliable foundation for the assessment of *M.*

*[基金项目] 国家自然科学基金项目(U1812403); 中央引导地方科技专项项目[黔科中引地(2018)4006]; 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2016)5613, 黔科合平台人才(2016)5677, 黔科合平台人才(2017)5718]
** 贵州医科大学 2018 级硕士研究生
*** 通信作者 E-mail: liu_hua139@126. com; lincbh@126. com.

pubescens.
[**Key words**] chromatography, thin layer(TLC);quality control;*Mussaenda pubescens*; morphological character;general inspection; ethanol-soluble extractives

玉叶金花为茜草科玉叶金花属植物玉叶金花(*Mussaenda pubescens* Ait. f.)的干燥地上部分,既是我省常用民间药物,也是苗族常用药物,苗药名为“阿岗奴”^[1]。玉叶金花具有清热解毒,祛风利湿的功效,可用于感冒、中暑、肠炎、肾炎水肿、咽喉肿痛及支气管炎等^[1-3]。据《湖南省中药材标准》(2009 年版)和《广西省中药材标准》(1990 年版)记载,玉叶金花的入药部位为根和茎,两“标准”仅对其形状进行描述、质量控制体系较为简单仅包含理化鉴别方法,尚不完善^[4-5]。民间常用玉叶金花根研粉拌粥服治疗小儿疳积,或全株水煎当茶饮治疗精神分裂症,也有用鲜叶捣烂调鸡蛋清服用治疗断肠草或野菌中毒^[6-8]。有研究发现,玉叶金花含有皂苷类、环烯醚萜类及萜类等成分,具有抗炎、抗菌及抗病毒等生物活性及良好的药用价值^[9-12]。玉叶金花的根、枝、叶或全株均可入药^[1,6],但至今尚无质量标准,限制了应用和开发,本研究参照《中国药典》2015 年版相关规定通过对玉叶金花的性状、显微鉴别、薄层鉴别、检查及浸出物等项目进行系统的研究,为建立玉叶金花的质量标准提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材与主要试剂 玉叶金花药材来自贵州和广东(表 1),原植物及样品均由贵州医科大学药学院药用植物与生药学教研室张旭副教授鉴定为 *Mussaenda pubescens* Ait. f. 的地上部分,凭证标本存放于贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室;玉叶金花对照药材(批号 121404-201502)购自中国食品药品检定研究院;硫酸、甲醇、乙醇、三氯甲烷及甲酸购自国药集团化学试剂有限公司(均为分析纯),青岛海洋硅胶 G 板购自青岛海洋化工厂分厂,烟台黄海江友硅胶 G 板购自烟台黄海江友化工厂,青岛鼎康硅胶 G 板购自青岛鼎康化工厂。
1.1.2 主要仪器 奥林巴斯 CX41 简易偏光显微镜(日本奥林巴斯公司)及明美 S60 显微成像系统(广州明美光电技术有限公司),REPROSTAR3 薄层数码成像系统(瑞士 CAMAG 公司),WP-MP-II-

20 实验室超纯水机(四川沃特尔水处理设备有限公司),EL204 电子天平(瑞士 METTLER 公司),DK-98-II 型水浴锅(天津泰斯特有限公司)。

表 1 不同批次玉叶金花样本

Tab. 1 The different batches of *M. pubescens*

编号	批号	收集地
1	20170230	广东梅州市
2	20170406	广东梅州市
3	20170815	贵州黔南布依族苗族自治州
4	20170817	贵州黔南布依族苗族自治州
5	20170821	贵州黔南布依族苗族自治州
6	20180611	广州中山市
7	20180712	贵州黔南布依族苗族自治州
8	20180714	贵州黔东南苗族侗族自治州
9	20180715	贵州黔南布依族苗族自治州
10	20180514	贵州黔西南布依族苗族自治州
11	20180515	贵州黔西南布依族苗族自治州
12	20180719	贵州黔南布依族苗族自治州
13	20180719	贵州黔南布依族苗族自治州

1.2 方法

1.2.1 性状鉴定 采用标尺对玉叶金花的大小进行测量,采用看、摸、闻及尝等直观方法对样品的形状、色泽、表面、质地、断面及气味进行鉴定。
1.2.2 显微鉴别 表面制片系采用表皮撕离法,分别撕取玉叶金花上下表皮,置于载玻片上,滴加甘油醋酸试液,或者加水合氯醛试液加热透化,再滴加稀甘油,盖上盖玻片,在显微镜下(100×)观察上下表皮细胞的形状、气孔和毛状体等特征,拍照记录;粉末制片系挑取玉叶金花粉末(过 4 号筛)少许置载玻片上,滴加蒸馏水、水合氯醛试液或稀甘油试液等(必要时加热透化),盖上盖玻片,倒置显微镜下(400×)观察、测量和拍照。
1.2.3 薄层色谱鉴别 取玉叶金花粉末(过 3 号筛)0.5 g,加乙酸乙酯 5 mL,超声处理 20 min,滤过,取续滤液作为供试品溶液;另取玉叶金花对照药材 0.5 g,同法制得对照药材溶液。按《中国药典》2015 年版四部通则 0502 进行薄层色谱法试验^[13],吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷:甲醇:水(8.5:1.5:1.5)为展开剂,展开、取出、晾干,喷硫酸乙醇溶液置 105 ℃ 加热 10 min,置紫外灯光

365 nm检视。

1.2.4 水分、总灰分和浸出物测定 取玉叶金花粉末(过2号筛)2 g,精密称定,按《中国药典》2015年版四部通则 0832 水分测定法(第二法 烘干法)进行水分测定^[13];取本品粉末 2 g,置炽灼至恒重的坩埚中,称定质量(准确 0.01 g),按《中国药典》2015年版四部通则 2302 灰分测定法进行灰分测定^[13];取本品粉末(过2号筛)2 g,精密称定,置 100 mL 的锥形瓶中,精密加乙醇 50 mL,按《中国药典》2015年版四部通则 2201 浸出物测定法中醇溶性浸出物测定法进行浸出物测定^[13]。

2 结果

2.1 性状鉴定

玉叶金花茎呈圆柱形,直径 3~10 mm,表面棕色或棕褐色,具细纵皱纹、点状皮孔及叶柄痕,质坚硬、不易折断,断面黄白色或淡黄绿色,髓部明显、白色;叶对生或轮生、多皱缩、破碎,完整叶片展平后呈卵状矩圆形、顶端渐尖、基部楔形,上表面近无毛或被疏毛,下表面密被短柔毛,有时稍疏;气微,味淡。见图 1。

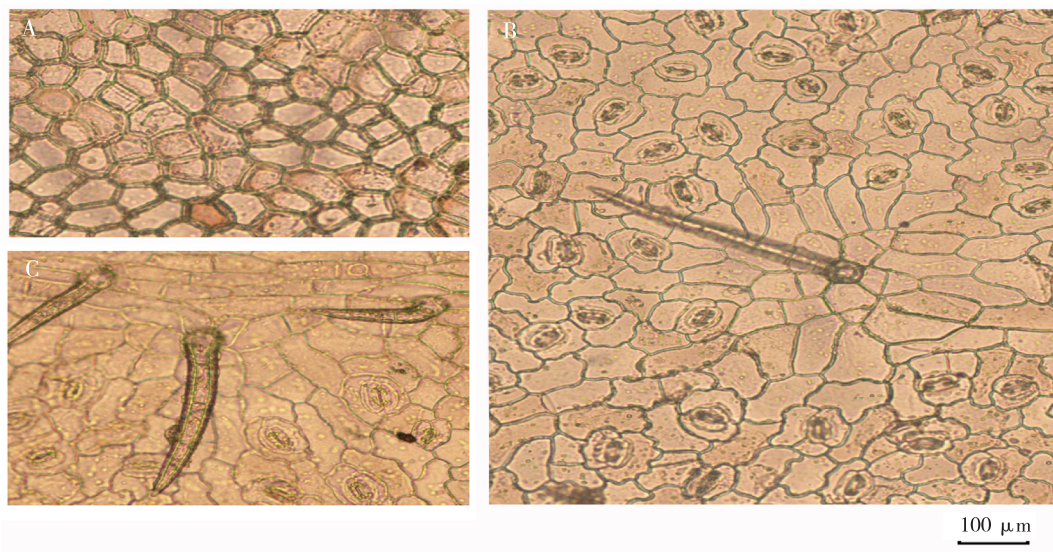
2.2 显微鉴别

玉叶金花药材的叶表皮显微结构特征表现为:上表皮细胞呈类多角形,垂周壁增厚,气孔少见;下



图 1 玉叶金花(批号 20170714)药材的外观性状
Fig. 1 Characters of *M. pubescens*

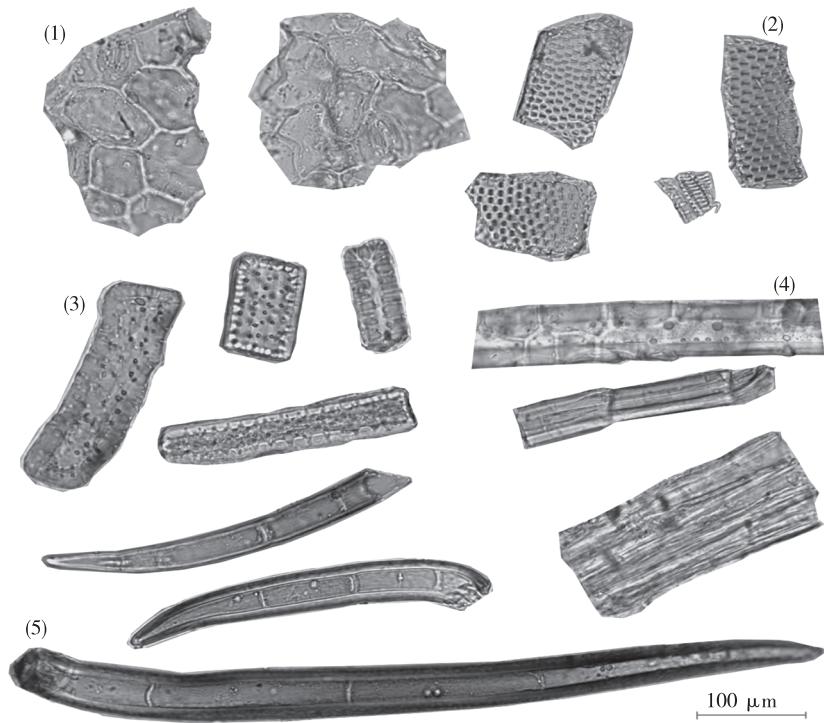
表皮细胞不规则形状,垂周壁波状弯曲;气孔为平轴式;非腺毛多见(图 2)。玉叶金花药材的粉末显微结构特征表现为:粉末灰白色或灰绿色;非腺毛众多,由 2~9 个细胞组成,表面光滑,基部直径 10~35 μm ;导管主为具缘纹孔,直径 20~90 μm ,偶见螺旋导管;石细胞众多,长方形、方形及类圆形,直径 15~70 μm ;叶上表皮细胞类多角形,叶下表皮细胞不规则形状,垂周壁稍弯曲;纤维壁薄,具单纹孔,直径 12~50 μm (图 3)。



注:A 为叶上表皮细胞,B、C 为叶下表皮细胞。

图 2 玉叶金花的叶表皮显微结构(100 \times)

Fig. 2 Microscopic features of epidermis of leaves of *M. pubescens*(100 \times)



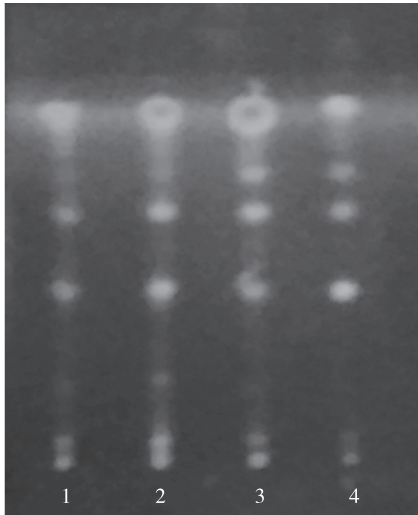
注:(1)为叶表皮细胞,(2)为导管,(3)为石细胞,(4)为纤维,(5)为非腺毛。

图3 玉叶金花药材的粉末显微结构(400 ×)

Fig. 3 Microscopic features of powder of *M. pubescens*(400 ×)

2.3 薄层色谱

2.3.1 系统适用性试验 以玉叶金花对照药材作为对照品对其进行薄层鉴别,结果显示在供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,各斑点分离度良好。见图4。



注:1 为 20170230, 2 为 20170406, 3 为 20180611, 4 为对照药材。

图4 玉叶金花薄层色谱鉴别系统适用性试验

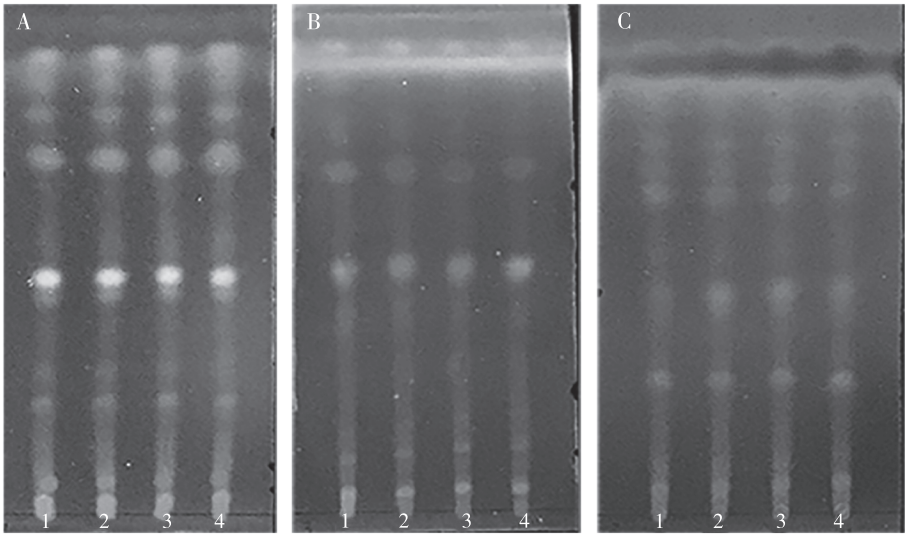
Fig. 4 Applicability test of the TLC identification system of *M. pubescens*

2.3.2 耐用性试验 不同厂家薄层板展开效果显示,青岛海洋、烟台江友及青岛鼎康 3 种不同厂家的硅胶 G 板均能鉴别玉叶金花(图5);利用不同浓度硫酸调整湿度为 32%、60% 及 72%,考察不同湿度条件下的展开效果,结果显示不同湿度下色谱图的斑点清晰,均能较好的鉴别玉叶金花(图6);分别在 10 ℃、20 ℃ 及 30 ℃ 下展开,考察不同温度对展开的影响,结果显示不同温度下色谱图的斑点清晰,均能较好的鉴别玉叶金花(图7);将同一批次的本品粉末于放置 3 d、2 d、1 d 及当日按拟定的方法制备供试品溶液,分别点于同一硅胶 G 板上,展开显色结果显示,各斑点无明显差异(图8)。

2.3.3 不同批次样品鉴别 按拟定的薄层色谱鉴别方法,对 13 批样品进行测定,结果显示供试品色谱中与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,13 批玉叶金花饮片均符合要求。见图9。

2.4 水分、总灰分和醇溶性浸出物测定

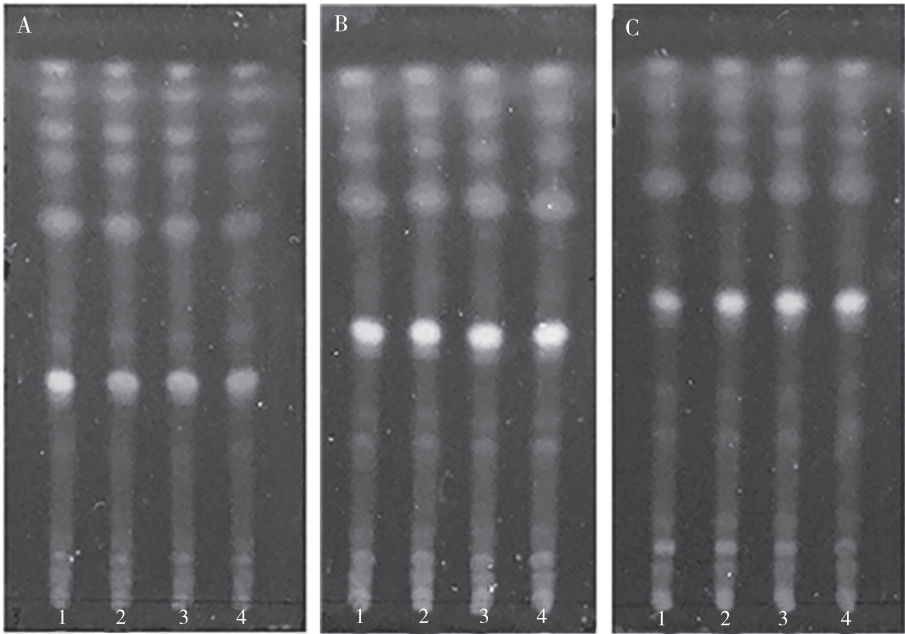
13 批玉叶金花的水分、总灰分和醇溶性浸出物结果显示不同产地的玉叶金花中水分、总灰分和醇溶性浸出物含量存在一定差异。见表2。



注:A 为青岛海洋硅胶板,B 为台江友硅胶板,C 为青岛鼎康硅胶板;1 为 20170230, 2 为 20170406,3 为 20180611,4 为对照药材。

图 5 玉叶金花在不同厂家硅胶板的展开效果

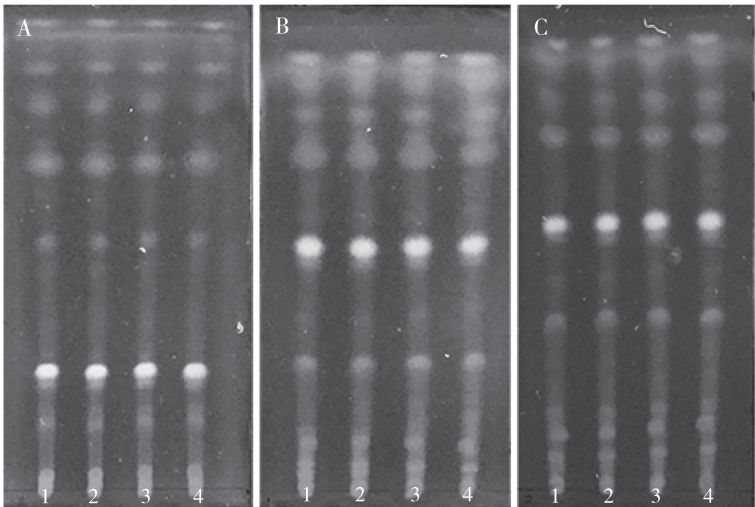
Fig. 5 Investigation of *M. pubescens* in silica gel plates from different manufacturers



注:A 为相对湿度 32%,B 为相对湿度 60%,C 为相对湿度 72%;1 为 20170230, 2 为 20170406,3 为 20180611,4 为对照药材。

图 6 玉叶金花在不同湿度环境的展开效果

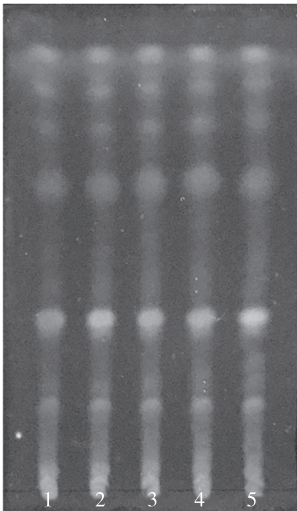
Fig. 6 Different developing humidity of *M. pubescens*



注:A 为温度 10 °C ,B 为温度 20 °C ,C 为温度 30 °C ;1 为 20170230, 2 为 20170406,3 为 20180611,4 为对照药材。

图 7 玉叶金花在不同温度环境的展开效果

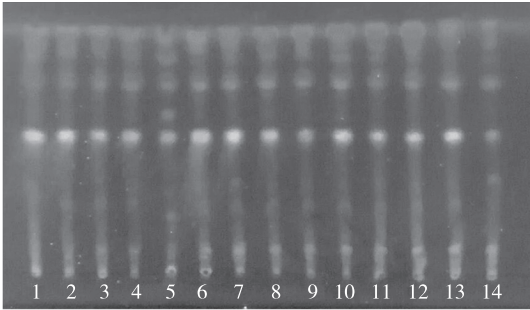
Fig. 7 Different developing temperature of *M. pubescens*



注:1 为当日,2 为放置 1 d,3 为放置 2 d, 4 为放置 3 d,5 为对照药材。

图 8 玉叶金花供试品溶液稳定性考察

Fig. 8 The stability of the test sample of *M. pubescens*



注:1 ~ 13 为不同批次(批号见表 1),14 为对照药材。

图 9 不同批次玉叶金花薄层鉴别色谱结果

Fig. 9 TLC of different batches of *M. Pubescens*

表 2 玉叶金花的水分、总灰分和醇溶性浸出物测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Determination of moisture, total ash and alcohol soluble extracts of *M. pubescens*($\bar{x} \pm s$)

编号	水分/%	总灰分/%	醇溶性浸出物/%
1	13. 53 \pm 0. 17	6. 16 \pm 0. 11	5. 99 \pm 0. 03
2	10. 10 \pm 0. 04	7. 22 \pm 0. 08	7. 19 \pm 0. 33
3	14. 30 \pm 0. 11	6. 79 \pm 0. 04	6. 03 \pm 0. 08
4	12. 91 \pm 0. 14	6. 50 \pm 0. 03	5. 50 \pm 0. 13
5	13. 62 \pm 0. 13	5. 51 \pm 0. 13	6. 29 \pm 0. 05
6	12. 27 \pm 0. 02	6. 90 \pm 0. 06	5. 18 \pm 0. 09
7	11. 03 \pm 0. 11	5. 96 \pm 0. 01	7. 61 \pm 0. 03
8	11. 51 \pm 0. 06	7. 88 \pm 0. 06	6. 35 \pm 0. 05
9	13. 48 \pm 0. 06	5. 68 \pm 0. 08	6. 28 \pm 0. 07
10	12. 73 \pm 0. 05	6. 11 \pm 0. 02	7. 08 \pm 0. 06
11	9. 40 \pm 0. 03	5. 26 \pm 0. 21	6. 61 \pm 0. 07
12	9. 20 \pm 0. 05	5. 57 \pm 0. 01	8. 80 \pm 0. 04
13	11. 32 \pm 0. 06	5. 67 \pm 0. 02	7. 20 \pm 0. 04
平均值	11. 95 \pm 1. 61	6. 24 \pm 0. 74	6. 62 \pm 0. 92

3 讨论

玉叶金花不仅可以作为药物使用,还可食用,广东等地常用玉叶金花制备凉茶^[6]。玉叶金花资源丰富,使用价值广泛,具有潜在的开发和利用前景,建立完善的质量标准具有一定的必要性。性状鉴定、显微鉴定和薄层色谱鉴定是中药鉴定的常用方法^[14],具有快速、直观和便捷等特点,对中药材和饮片的鉴别具有重要意义。本研究对玉叶金花地上部分入药药材的性状特征进行了描述,并对干燥药材叶表面制片的方法进行考察,采用浸泡后撕取表皮和切取表皮等方法比较,最后发现撕取表皮

制片的方法较好,最终成功地观察到比较清晰和明显的玉叶金花叶表皮特征,如平轴式的气孔,垂周壁波状弯曲的下表皮细胞,呈类多角形的上皮细胞,表面光滑的非腺毛及长方形、方形及类圆形的石细胞等,这些特征均可作为玉叶金花鉴定的依据。

本研究通过考察不同溶剂(甲醇、三氯甲烷及乙酸乙酯等)、不同提取方法(超声处理与回流)和不同时间等,最终得到最佳提取条件。进一步考察不同展开条件,包括三氯甲烷:甲醇(8.5:8.0)、三氯甲烷:甲醇:水(8.5:1.5:1.5)、三氯甲烷:甲醇:水(8.5:0.5:0.5),确定最佳展开条件。耐用性试验考察结果表明不同厂家薄层板、不同湿度和不同温度下色谱图的斑点清晰,均能较好的鉴别玉叶金花,说明该方法适用性好,受相对湿度,温度影响不明显;稳定性试验考察结果表明同一批玉叶金花粉末在不同放置时间下色谱图无明显差异,说明样品稳定性良好,进一步说明该方法稳定、可靠。将所建立的薄层色谱法对 13 批玉叶金花药材进行鉴定,结果显示主斑点明显、清晰及分离度好,且主斑点颜色和位置与对照药材一致,进一步说明该方法专属性强,可以有效鉴别不同批次的玉叶金花药材,同时色谱图结果表明不同产地的药材中主斑点颜色深浅不同,提示不同产地玉叶金花中该类成分含量可能不同。

本研究对 13 批玉叶金花粉末进行了水分、总灰分及醇溶性浸出物的检测,结果发现 13 批玉叶金花中水分含量范围是 9.20% ~ 14.30%,平均含量为 11.95%。总灰分含量范围是 5.26% ~ 7.88%,平均含量为 6.24%。因为玉叶金花中的化学成分主要为皂苷、萜类等,且现代研究发现这些成分可能是其活性成分^[9,11,15-20],故以醇溶性浸出物作为玉叶金花质量控制指标之一,13 批次玉叶金花醇溶性浸出物含量范围是 5.18% ~ 8.80%,平均值含量为 6.62%。不同产地的玉叶金花中水分、总灰分和醇溶性浸出物含量存在一定差异,可能与产地、气候和采收时间有关,这些因素均有待进一步深入研究。

综上所述,本研究建立的玉叶金花的质量控制研究方法专属性强、稳定性和重复性良好,为该药材的真实性鉴定和质量评价提供了参考依据。

4 参考文献

[1] 邱德文,杜江.中华本草苗药卷[M].贵阳:贵州科技出版社,2005:175.

- [2] 贵州省中医研究所编.贵州中草药名录[M].贵阳:贵州人民出版社,1986:551.
- [3] 李嘉,卢覃培,张颖.玉叶金花属植物化学成分及药理作用研究进展[J].中国民族民间医药,2016,25(15):39-48.
- [4] 湖南省卫生厅编.湖南省中药材标准[M].长沙:湖南省科学技术出版社,2009:357.
- [5] 广西壮族自治区卫生厅编.广西中药材标准[M].南宁:广西僮族自治区人民出版社,1990:34-35.
- [6] 广西壮族自治区卫生局主编.广西本草选编(上册)[M].南宁:广西人民出版社,1974:864-865.
- [7] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编(上册)[M].2版.北京:人民卫生出版社,1996:236-237.
- [8] 南京中医药大学编著.中药大辞典(上)[M].上海:上海科学技术出版社,2014:202.
- [9] 李娟,赵小芳,谢扬帆,等.玉叶金花化学成分和生物活性的研究进展[J].中国新药杂志,2017,26(5):542-547.
- [10] 唐德智.玉叶金花研究进展[J].解放军药学报,2016,32(2):170-173.
- [11] 潘利明,林励.玉叶金花苷酸甲酯抗炎、镇痛、抑菌作用研究[J].中成药,2015,37(3):633-636.
- [12] 潘利明,林励,胡旭光.玉叶金花水提物的抗炎抑菌作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(23):248-251.
- [13] 国家药典委员会.中国药典 第四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [14] 殷雅杰,孙鑫.中药的传统鉴定方法与现代鉴定技术[J].中西医结合心血管病电子杂志,2018,6(30):15-16.
- [15] 张谦华,唐梅,扈芷怡,等.玉叶金花的化学成分及药理作用研究概况[J].广西中医药大学学报,2017,20(3):67-72.
- [16] 林雀跃,罗永强,张荣林,等.HPLC法同时测定壮药玉叶金花中9个成分的含量[J].药物分析杂志,2018,38(5):765-770.
- [17] 张颖,李嘉,姜平川.大孔树脂纯化玉叶金花中三萜皂苷 musaendoside G 的工艺研究[J].中南药学,2015,13(7):704-707.
- [18] 于虹敏,卢雪花,王英豪,等.玉叶金花总三萜类成分含量测定方法建立[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(2):40-42.
- [19] 曾宪彪,李嘉,韦桂宁,等.玉叶金花皂苷 U 对 M 胆碱能神经支配器官的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(20):1.
- [20] 周中林,雷佳琦,潘利明,等.玉叶金花醇提物不同极性部位抗氧化活性研究[J].广东化工,2017,44(7):26-28.

(2020-01-18 收稿,2020-03-10 修回)

中文编辑:严征;英文编辑:丁廷森

Ph⁺ 急性 B 淋巴细胞白血病耐伊马替尼细胞模型的建立^{*}

方宗宇¹, 马莉², 张智琪¹, 吴青青^{2* *}

(1. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附院 检验中心, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 构建稳定的耐伊马替尼(IM)的费城染色体阳性(Ph⁺)急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)细胞株(SUP-B15/IM), 为其耐药机制研究提供细胞模型。方法: 采用 IM 小剂量浓度递增间歇诱导亲本细胞(SUP-B15), 建立对 IM 耐药的 SUP-B15 细胞株(耐药组, SUP-B15/IM)模型, 并用与耐药组细胞培养条件相同但不加 IM 的 SUP-B15 作为对照细胞(对照组, SUP-B15/C), 采用 CCK-8 法检测 SUP-B15、SUP-B15/C 及 SUP-B15/IM 对 IM 的耐药性, 用流式细胞术检测细胞凋亡率, 用 RT-PCR 检测各组细胞相关耐药基因 *MDR1* 和 *MRP5* 的表达。结果: 成功建立 SUP-B15/IM 耐药细胞株, 其对 IM 的耐药指数为 12.3; 用 100 μmol/L IM 刺激细胞 24 h 后, SUP-B15/C 的凋亡率远大于 SUP-B15/IM 细胞($P < 0.001$); 100 μmol/L IM 浓度下, SUP-B15/IM 细胞中 *MDR1* 和 *MRP5* mRNA 表达水平显著高于 SUP-B15/C 细胞, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。结论: 成功构建了耐 IM 的 Ph⁺ B-ALL 细胞株 SUP-B15/IM。

[关键词] 白血病; 费城染色体; 伊马替尼; 耐药

[中图分类号] R392 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)04-0415-07

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2020.04.008

Establishment of Imatinib Cell Model of Ph⁺ Acute B Lymphoblastic Leukemia

FANG Zongyu¹, MA Li², ZHANG Zhiqi¹, WU Qingqing²

(1. The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To construct a stable imatinib-resistant (IM) philadelphia chromosome-positive (Ph⁺) acute B lymphoblastic leukemia (B-ALL) cell line (SUP-B15/IM) to provide a cell model for the study of its resistance mechanism. **Methods:** Cell lines of IM resistant SUP-B15 (drug resistance group, SUP-B15/IM) were established to induce parent cells (SUP-B15) with increasing dose concentration. The SUP-B15, SUP-B15/C and SUP-B15/IM were detected by CCK-8 method using the same SUP-B15 without IM as the cell culture conditions of drug-resistant group (control group, SUP-B15/C) Drug resistance to IM. The apoptosis rate was detected by flow cytometry, and the expression of cell-related drug resistance gene *MDR1* and *MRP5* was detected by RT-PCR. **Results:** The resistance index of SUP-B15/IM resistant cell line to IM was 12.3. The apoptosis rate of SUP-B15/C was much higher than that of SUP-B15/IM cells after 24 h stimulation with 100 μmol/L IM cells($P < 0.001$). The expression levels of *MDR1* and *MRP5* mRNA in SUP-B15/IM cells were significantly higher than those in SUP-B15/C cells at 100 μmol/L IM concentration, the difference was statistically significant($P < 0.001$). **Conclusion:** The SUP-B15/IM of IM resistant Ph⁺ B-ALL cell lines is successfully constructed.

* [基金项目] 国家自然科学基金(31460236)

** 通信作者 E-mail: susanwqq@163.com