

绞股蓝正丁醇提取物对快速老化小鼠 A β 蛋白的影响

吴燕春¹, 包传红¹, 阎 莉^{1*}, 钟振国¹, 颜其双²

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530001; 2. 广西壮族自治区食品药品检验所, 广西南宁 530021)

摘要: **目的** 探讨壮药绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* 正丁醇提取物对快速老化 SAMP8 小鼠淀粉样蛋白 (A β 蛋白) 的影响。**方法** 50 只快速老化 SAMP8 小鼠随机分为模型组、石杉碱甲组 [0.15 mg/(kg·d)] 和绞股蓝正丁醇提取物高、中、低剂量组 [500、250、125 mg/(kg·d)], 10 只正常老化 SAMR1 小鼠为正常对照组。灌胃给药 8 周后, 取小鼠血清和脑匀浆, 以 ELISA 法检测其 A β 蛋白的水平, RT-PCR 和免疫组织化学法检测 *App* 基因和 APP 蛋白的表达。**结果** 与模型组比较, 绞股蓝正丁醇提取物给药组小鼠脑组织中的 APP 基因表达和蛋白表达明显下调, 血清和脑组织中的 A β 蛋白水平显著降低。**结论** 绞股蓝正丁醇提取物可通过抑制 APP 蛋白的生成, 使 A β 蛋白的表达减少, 从而起到防治阿尔茨海默症 (AD) 的作用。

关键词: 绞股蓝正丁醇提取物; 快速老化小鼠; 淀粉样前体蛋白 (APP 蛋白); 淀粉样蛋白 (A β 蛋白)

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)09-1898-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.004

Effect of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* on the expression of amyloid β protein in senescence accelerated mice

WU Yan-chun¹, BAO Chuan-hong¹, YAN Li^{1*}, ZHONG Zhen-guo¹, YAN Qi-shuang²

(1. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Regional Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the effect of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum*, a native herb of the Zhuang nationality, on the expression of A β protein in SAMP8 senescence-accelerated mice. **METHODS** Fifty SAMP8 senescence-accelerated mice were randomly divided into five groups, model, positive drug [Huperzine-A, 0.15 mg/(kg·d)], high-, medium- and low-dose of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* groups [500, 250, 125 mg/(kg·d)]. Furthermore, ten SAMR1 normal aging mice were used as normal control. After 8-week intragastric administration, the serum and brain homogenate of mice were collected to detect the A β protein level with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), *App* gene expression by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), and APP protein expression using immunohistochemistry. **RESULTS** Compared with the model group, the lower expressions of *App* gene and APP protein in brain tissue of mice could be observed in each group treated with n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum*. This result was accompanied by significantly reduced A β protein levels in serum and brain tissue. **CONCLUSION** The n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* can restrain APP protein formation, and reduce A β protein expression, which plays a role in the prevention and treatment of Alzheimer's disease.

KEY WORDS: n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum*; senescence accelerated mice; A β -precursor protein; amyloid β protein

收稿日期: 2016-03-07

基金项目: 广西自然科学基金 (2010GXNSFD013050); 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划资助项目 (桂教人 [2014] 7); 广西高校重点实验室 (壮医药基础与应用研究重点实验室) 项目 (桂教科研 [2014] 6)

作者简介: 吴燕春 (1980—), 女, 博士, 讲师, 从事中药防治老年痴呆研究。E-mail: wuyanchun_3333@126.com

* **通信作者:** 阎 莉 (1972—), 女, 硕士, 副教授, 从事天然药物、民族药活性成分筛选和研究。E-mail: mimatoo@163.com

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种持续性神经功能障碍, 临床上以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格和行为改变等全面性痴呆表现为特征。目前, 仍不清楚 AD 的成因及疾病进程, 其病理机制主要有 3 种假说: 淀粉样蛋白沉积、神经元纤维缠结以及胆碱能神经元退行性病变^[1], 而被广泛接受的是淀粉样蛋白 β 肽凝集和沉着为 AD 发病的诱因。基于此假说, 以阻断 $A\beta$ 产生及清除 β -淀粉蛋白为靶标的相关治疗药物已经成为研究热点^[2]。

绞股蓝为葫芦科绞股蓝属多年生草质藤本植物绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 的全草, 广西壮族民间认为其能通调三道两路, 具有清热解毒、止咳祛痰等功效, 常用于治疗慢性支气管炎、病毒性肝炎、高血压、痈疮肿毒、毒蛇咬伤等症^[3]。现代药理研究表明, 绞股蓝具有调节血脂^[4]、抗脑缺血损伤^[5]、抗血管性痴呆^[6]、抗疲劳、增强记忆力^[7]等作用, 可逆转 $A\beta$ 蛋白引起的动物学习记忆能力减退、海马神经元内异常表达细胞周期蛋白和钙稳态失衡^[8]; 绞股蓝总苷可减轻血管性痴呆小鼠海马神经元的损伤, 提高学习记忆能力^[9]; 绞股蓝正丁醇提取物可促进 $A\beta$ 损伤的 NG-108 细胞增殖^[10-11], 并通过抑制 Caspase-3 酶的生成, 减少 NG108-15 细胞凋亡^[12]。然而, 绞股蓝正丁醇提取物对 $A\beta$ 的作用尚不明确, 本研究拟考察其对快速老化 SAMP8 小鼠淀粉样前体蛋白 APP 及 $A\beta$ 的影响。

1 实验材料

1.1 药材 绞股蓝购自南宁市中药材批发站, 经广西中医药大学中药鉴定学教研室廖月葵高级实验师鉴定, 为葫芦科绞股蓝属多年生草质藤本植物绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 的全草。

1.2 试剂 石杉碱甲 (浙江震元制药有限公司, 批号 110401); $A\beta$ Elisa 试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司, 批号 201105); APP 抗体 (Bioward, 美国, 批号 bs1011); RNA prop pure Tissue Kit (天根生化科技北京有限公司, 批号 DP431); Quant script. RT. Kit (天根生化科技北京有限公司, 批号 KR103-03)。

1.3 仪器 Multiskan MK3 酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Mini Sub Cell GT 水平电泳系统、T-2A 凝胶成像分析仪 (美国 Bio-Rad 公司); T-gradient Thermoblock 梯度 PCR 仪 (德国

Biometra 公司); DMI2500 光学显微镜 (德国 Leica 公司); 旋涡混合器 XH-C (金坛市医疗仪器厂); 手掌式离心机 LX-200 (海门市麒麟医用仪器厂)。

1.4 实验动物 健康正常老化 SAMR1 小鼠 10 只, 快速老化 SAMP8 小鼠 50 只, 体质量 20~30 g, 购自天津中医药大学, 实验动物生产许可证号 SCXK (津) 2008-0001。

1.5 绞股蓝正丁醇提取物的制备 称取绞股蓝药材粗粉 25.0 kg, 分别用 95%、70%、50% 乙醇渗漉提取, 合并提取液, 回收乙醇, 得乙醇总提取物。再加水制成混悬液, 接着用正丁醇萃取, 回收溶剂, 得到正丁醇提取物 974.2 g^[13]。

2 方法

2.1 动物分组与处理 50 只 SAMP8 小鼠随机分为 5 组, 即 SAMP8 组 (模型组), 石杉碱甲组 (阳性组, Hup-A, 0.15 mg/kg) 和绞股蓝正丁醇提取物高、中、低剂量组 (500 mg/kg, GP-H; 250 mg/kg, GP-M; 125 mg/kg, GP-L), 10 只 SAMR1 小鼠为正常组。正常组、模型组给蒸馏水, 其余各组给予相应的药物。灌胃给药, 1 次/d, 连续 8 周。给药 8 周后, 动物摘眼球取血, 离心, 分离血清, -20 °C 冰箱冻存储存。随后, 取左侧大脑制成 10% 脑组织匀浆备用; 部分右脑组织加入 RNA 保存液, 冻存于 -70 °C 冰箱备用; 余下的右脑组织甲醛固定后, 用于免疫组织化学法测 APP 蛋白的表达。

2.2 小鼠血清和脑组织 $A\beta$ 水平的测定 取制备好的血清和脑组织匀浆上清液, 按 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 于 450 nm 波长处测 D 值。以 Curve Expert 曲线拟合软件计算标准曲线的直线回归方程式, 将样品的 D 值代入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

2.3 免疫组化法 右脑组织经甲醛固定后, 常规石蜡包埋切片, 铺片置于涂有组织黏胶的载玻片上, 免疫组织化学染色, 于 400 倍显微镜下观察。每张切片在海马 CA1、CA3 或大脑皮质区随机摄取 5 个完全不重叠的视野, 计数表达目标蛋白的阳性细胞数^[14]。

2.4 RT-PCR 检测 提取脑组织总 RNA, 逆转录获得 cDNA。以 cDNA 为模板扩增 *App* 基因。PCR 反应条件为 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 45 s, 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环, 72 °C 最终延伸 5 min。PCR 反应结束, 取目的基因与内参基因扩增产物各 5 μ L, 3% 琼脂糖凝胶水平电泳

(5 V/cm × 60 min)，凝胶成像分析仪测定扩增产物条带灰度并计算两者比值，作为基因的相对表达量^[15]。基因和内参 β -actin 的引物序列和退火温度见表 1。

表 1 引物序列、扩增产物长度和退火温度

Tab. 1 Primer sequence, amplification product length and annealing temperature

基因	引物序列(5'→3')	退火温度/ 产物长度/	
		℃	bp
App	正向 TATGCGATCGGAATGTTT	55	421
	反向 TGGGCTTCTGTCTTGGAG		
β -actin	正向 CATCTCTTGCTCGAAGTCCA	55	263
	反向 ATCATGTTTGAGACCTTCAACA		

2.5 统计方法 数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析，采用单因素方差分析 LSD 检验方差齐性。如方差齐，数据采用多个样本间的均数两两比较；如方差不齐，数据采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义^[16]。

3 结果

3.1 小鼠血清和脑组织 A β 水平测定 与 SAMP8 模型组比较，SAMR1 正常组、石杉碱甲组、GP-M 组及 GP-L 组小鼠的血清和脑内 A β 蛋白水平的表达显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。GP-H 组可以显著降低 SAMP8 小鼠血清中 A β 蛋白的水平 ($P < 0.05$)，但对脑内 A β 蛋白水平无明显影响 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.2 免疫组化法检测小鼠脑组织内 APP 蛋白表达水平 APP 蛋白主要分布于大脑顶叶皮层、海马

表 2 血清和脑组织 A β 蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 2 A β protein levels in serum and brain tissue ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	血清 A β / (ng·mL ⁻¹)	脑组织 A β / (ng·mL ⁻¹)
正常组	—	0.67 ± 0.14 **	0.36 ± 0.12 **
模型组	—	1.88 ± 0.25	0.78 ± 0.20
石杉碱甲组	0.15	0.98 ± 0.19 **	0.48 ± 0.14 **
GP-H 组	500	1.60 ± 0.26 *	0.67 ± 0.19
GP-M 组	250	1.30 ± 0.24 **	0.60 ± 0.17 *
GP-L 组	125	1.22 ± 0.21 **	0.58 ± 0.11 *

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

CA1、CA3 区和血管内壁等部位，其阳性反应物呈棕黄色，定位于胞膜或胞浆。模型组的小鼠脑组织切片在光镜下，可见较多的阳性棕黄色反应物，提示其 APP 蛋白在该组动物的大脑中沉淀较多。与模型组相比，正常组、石杉碱甲组及 GP-M、GP-L 组小鼠的大脑顶叶皮层和海马 APP 的表达则相对较少 ($P < 0.05$)^[14]，提示石杉碱甲组和 GP 组能显著减少 APP 在大脑的沉积。结果见表 3、图 1。

表 3 脑组织内 APP 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Tab. 3 APP protein expressions in brain tissue ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	APP 免疫阳性细胞数/ [个·(m ²) ⁻¹]
正常组	—	9.88 ± 3.62 **
模型组	—	22.28 ± 5.79
石杉碱甲组	0.15	14.4 ± 5.20 *
GP-H 组	500	19.74 ± 4.46
GP-M 组	250	17.36 ± 5.35 *
GP-L 组	125	17.84 ± 4.90 *

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

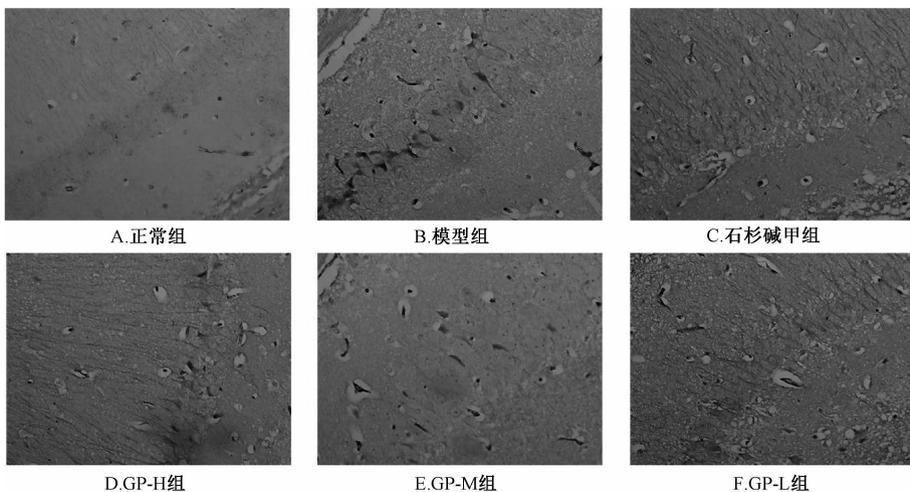


图 1 脑组织 CA1 区 APP 蛋白表达 ($\times 400$)

Fig. 1 APP protein expressions in brain tissue (CA1) ($\times 400$)

3.3 RT-PCR 检测脑组织中 App 基因的表达 与 SAMP8 模型组比较，SAMR1 正常组、石杉碱甲

组、GP-M 组和 GP-L 组的 App 基因表达下调，有显著性差异 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结果见表 4、

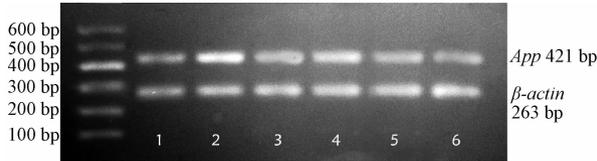
图2。

表4 脑组织内 *App* 基因表达 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Tab.4 *App* gene expressions in brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	给药剂量/(mg·kg ⁻¹)	<i>App</i>
正常组	—	0.53 ± 0.10 **
模型组	—	1.10 ± 0.14
石杉碱甲组	0.15	0.83 ± 0.13 *
GP-H组	500	1.05 ± 0.17
GP-M组	250	0.88 ± 0.10 *
GP-L组	125	0.90 ± 0.11 *

注:与模型组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01



1. 正常组 2. 模型组 3. 石杉碱甲组 4. 绞股蓝正丁醇提取物高剂量组 5. 绞股蓝正丁醇提取物中剂量组 6. 绞股蓝正丁醇提取物低剂量组

1. normal group 2. model group 3. Huperzine-A group 4. high-dose of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* group 5. medium-dose of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* group 6. low-dose of n-butanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* group

图2 脑组织内 *App* 基因表达

Fig.2 *App* gene expressions in brain tissue

4 讨论

在AD的病理过程中,最早期看到的变化是出现被称为“大脑皮质老年斑”的异常结构物。老年斑的主要构成成分是Aβ,其以β-折叠构造的重合,所形成的纤维性凝集体是β淀粉样蛋白。该蛋白除见之于老年斑外,还可在脑血管壁沉着,形成脑淀粉样变性血管病。构成β淀粉样蛋白的是一类由39~43个氨基酸构成的循环于血液、脑脊液和脑间质液中的小分子多肽,在正常状态下,Aβ可恒定地被分解、去除,在脑实质中仅以可溶状态微量存在;在AD脑中,因某种原因使Aβ代谢平衡被破坏,即变成高度不溶性的β-淀粉样蛋白沉着在细胞间,加上变性的神经突起和反应性神经胶质细胞,从而形成老年斑^[17]。淀粉样前体蛋白APP是一种跨膜蛋白,在生物体内经APP经β分泌酶和γ分泌酶的顺次切割产生Aβ^[18],其在正常情况下产生和降解以保持平衡^[19],通过抑制APP的生成,可以减少Aβ在脑内的沉积。目前,阻断致病物质Aβ产生及清除β-淀粉蛋白是AD防治的重要策略之一^[2],而研究减少Aβ产生和聚集来对抗其对大脑损伤的药物也已成为国际上研究

AD治疗最热门、发展最快的一类药物^[20]。

绞股蓝作为广西壮族地区常用的壮药,具有改善记忆和保护神经细胞等作用。本实验采用的研究对象为快速老化痴呆小鼠SAMP8,其具有均一的遗传背景和稳定老化的病态特征,快速老化的自然产生与临床痴呆的渐进性发生极为相似,特别是能在大脑内形成Aβ沉积,并随着年龄增加,表达量也增加,是目前研究老年性痴呆病症较理想的模型^[21]。研究结果发现,给予绞股蓝正丁醇的小鼠血清和脑内Aβ水平均降低,而且血清中的Aβ水平明显比脑内高,这可能与Aβ大量沉积在血管壁有关。对脑组织中的APP基因和蛋白水平的检测结果也提示,绞股蓝正丁醇可以显著下调脑内APP基因和蛋白的表达,从而减少Aβ蛋白在脑内的沉积。因此,绞股蓝具有成为以阻断Aβ产生为靶标的AD治疗药物的潜质。

参考文献:

- [1] 杜蕾,冯海威,李玉艳.阿尔茨海默病β-淀粉样蛋白的近红外荧光探针研究进展[J].药学学报,2015,50(5):528-534.
- [2] 赵谨,王心.β-淀粉样蛋白(β-amyloid)[J].日本医学介绍,2003,24(9):431.
- [3] 梁启成,钟鸣.中国壮药学[M].南宁:广西民族出版社,2005:94-95.
- [4] 黄雪萍.绞股蓝总苷与辛伐他汀治疗原发性高血脂症的疗效比较[J].中国药业,2006,15(6):46.
- [5] 韦登明,饶广勋,杨文辉.绞股蓝总甙对实验性脑缺血损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2005,21(1):20-22.
- [6] 齐刚,杨程,张莉,等.绞股蓝总皂苷对血管性痴呆大鼠海马一氧化氮合酶阳性神经元及核酸的保护作用研究[J].中国临床康复,2004,8(28):6267-6269.
- [7] 段炳南,陈庆林.绞股蓝总皂苷对小鼠腹腔巨噬细胞内酶活性及吞噬功能的影响[J].江西医学院学报,2007,47(3):38-40.
- [8] 姚柏春,袁华,黄翔,等.绞股蓝对海马注射Aβ₁₋₄₀大鼠脑内细胞周期蛋白表达和钙稳态变化的影响[J].中国病理生理杂志,2006,22(8):1618-1622.
- [9] 罗灿兰,田虹,秦伟,等.绞股蓝总苷对血管性痴呆小鼠海马组织神经元损伤及pCREB表达的影响[J].遵义医学院学报,2014,37(3):320-323.
- [10] 吴燕春,钟振国,谢金鲜,等.绞股蓝提取物体外对NG-108细胞增殖影响的实验研究[J].时珍国医国药,2013,24(6):1361-1363.
- [11] 吴燕春,钟振国,谢金鲜,等.绞股蓝正丁醇部位对NG-108受损细胞的保护作用研究[J].广西中医药,2013,36(2):52-54.
- [12] 吴燕春,钟振国,刘舒凌,等.绞股蓝正丁醇部位含药血

- 清体外对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 NG108-15 细胞凋亡的抑制作用[J]. 中药材, 2014, 37(6): 1029-1033.
- [13] 卢汝梅, 潘立为, 韦建华, 等. 绞股蓝化学成分的研究[J]. 中草药, 2014, 45(19): 2757-2761.
- [14] 吴燕春. 绞股蓝有效部位对 SAMP8 小鼠抗老年性痴呆作用及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [15] 卫智权, 阎 莉, 邓家刚, 等. 间断注射小剂量脂多糖建立大鼠的慢性炎症模型[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(6): 670-674.
- [16] 邓家刚, 阎 莉, 卫智权, 等. 芒果苷对脂多糖诱导慢性炎症中环氧化酶/脂氧合酶的双重抑制作用[J]. 华西药理学杂志, 2012, 27(3): 289-291.
- [17] 李晓秋. 淀粉样脑血管病的临床和神经病理学研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2009.
- [18] 王嘉鹏, 崔理立, 张应玫. 淀粉样前体蛋白 (APP) 相互作用及其生物学意义[J]. 生命科学, 2009, 21(2): 253-258.
- [19] 陈美婉, 路 露, 罗焕敏. 阿尔茨海默病 β 淀粉样蛋白的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2007, 27(6): 1112-1115.
- [20] 苏 燕, 何粤红, 李 超. 阿尔茨海默病 β 淀粉样蛋白药物治疗的研究进展[J]. 当代医学, 2011, 17(3): 32-33.
- [21] 于建春, 韩景献. 快速老化痴呆模型小鼠 SAMP8 和 SAMP10 老化特征及其相关研究进展[J]. 实验动物科学与管理, 2004, 21(3): 51-57.

小金胶囊对斑马鱼移植瘤的抗肿瘤作用

黄志军^{1,2}, 兰小红³, 赵 刚², 徐懿乔³, 吴木琴², 张 勇³, 李春启³

(1. 武汉理工大学化学化工与生命科学学院, 湖北 武汉 430070; 2. 健民药业集团股份有限公司, 湖北 武汉 430052; 3. 杭州环特生物科技股份有限公司, 浙江 杭州 310000)

摘要: 目的 应用斑马鱼模型研究小金胶囊(麝香、木鳖子、制草乌等)的抗肿瘤作用。方法 荧光标记的人乳腺癌细胞(michigan cancer foundation-7, MCF-7)移植入斑马鱼卵黄囊内建立移植瘤模型。小金胶囊以水溶液暴露移植瘤斑马鱼以评价其抗肿瘤作用, 用转基因斑马鱼观察其对新生血管形成的抑制作用。吖啶橙染色后, 图像分析法评价该药物的体内细胞凋亡诱导作用。结果 26.47、88.24、264.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的小金胶囊对斑马鱼 MCF-7 移植瘤的抑制率分别为 31.66%、54.35%、53.77% ($P < 0.01$)。小金胶囊在高质量浓度(264.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$)下能显著抑制血管形成和诱导细胞凋亡, 抑制率和诱导率分别为 21.74% 和 28.92% ($P < 0.01$)。结论 小金胶囊能诱导细胞凋亡, 抑制 MCF-7 移植瘤生长和新血管形成, 具有潜在的抗肿瘤作用。

关键词: 小金胶囊; 斑马鱼; 抑制血管形成; 诱导凋亡; 抗肿瘤

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)09-1902-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.005

Antitumor effect of Xiaojin Capsules on xenotransplanted tumor in zebrafish

HUANG Zhi-jun^{1,2}, LAN Xiao-hong³, ZHAO Gang², XU Yi-qiao³, WU Mu-qin², ZHANG Yong³, LI Chun-qi³

(1. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Sciences, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. Jianmin Pharmaceutical Groups Co., Ltd., Wuhan 430052, China; 3. Hangzhou Hunter Biotechnology Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the antitumor effect of Xiaojin Capsules (*Moschus*, *Momordicae Semen*, *Aconiti kusnezoffii Radix cocta*, etc.) in zebrafish models. **METHODS** The models for xenotransplanted tumor were established by zebrafish yolk sac xenotransplanted with fluorescent labeling human breast cancer cell line MCF-7. The zebrafish with xenotransplanted tumor was treated with Xiaojin Capsules by direct drug soaking for evaluating their antitumor effect, whose antiangiogenic activity was then observed by transgenic zebrafish. The *in vivo*

收稿日期: 2015-12-23

基金项目: 浙江省科技重大专项(2014C03009)

作者简介: 黄志军(1972—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药新药研究。Tel: (027) 84520229, E-mail: 452354589@qq.com