

文章编号: 1674-7054(2014)01-0078-06

高良姜提取物对 PC12 细胞的神经保护作用

翟红莉¹, 王 辉², 张秀丽³, 蔡彩虹², 梅文莉², 戴好富²(1. 海南大学 园林园艺学院, 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所以农业
部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南 海口 571101; 3. 滨州医学院 药学院, 山东 滨
州 264003)

摘 要: 通过建立 H_2O_2 介导的 PC12 细胞损伤模型; 采用 MTT 法检测细胞存活率, 利用荧光显微镜观察细胞形态; 检测细胞中乳酸脱氢酶漏出率, 丙二醛(MDA)含量, 超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GGSH-Px)活性, 评价高良姜提取物对 H_2O_2 介导的 PC12 细胞损伤的保护作用。结果表明, 高良姜提取物能明显降低细胞内乳酸脱氢酶漏出率, 降低细胞内 MDA 含量, 提高 SOD 和 GGSH-Px 的活性, 且具有浓度依赖性, 由此推断, 高良姜提取物对 H_2O_2 介导的 PC12 细胞损伤有明显保护作用。

关键词: 高良姜; 神经保护作用; PC12 细胞**中图分类号:** TS 201.4**文献标志码:** A

急慢性神经退行性疾病(degenerative diseases of the central nervous system, ND) 是一组以原发性神经元变性为基础的慢性进行性神经系统疾病, 主要包括: 阿尔茨海默病、亨廷顿舞蹈病、帕金森病、脑中风、脑外伤、脊髓肌萎缩症和肌萎缩性侧索硬化症。病理研究表明, 神经退行性疾病是大脑和脊髓的神经元细胞功能丧失, 从而使中枢神经系统功能被抑制(退行能力) 的一类疾病。老龄是诱发该类疾病最主要的危险因素之一。随着老龄化社会的到来, 神经系统退行性疾病的发病率呈逐年上升趋势。据《2013 年世界阿尔茨海默病报告》统计, 全球范围内 60 岁及以上的人群中, 13% 的人需要长期护理, 需要个人护理的老年人中, 约有一半的人患有阿尔茨海默病, 而养老院中 80% 的老年人都是痴呆症患者。神经退行性疾病是一种高发病率、高死亡率的疾病, 目前对其还无有效的治疗方法。虽然治疗此类疾病的药物很多, 但是除帕金森病患者通过合理用药可延长其寿命和改善其生活质量外, 其他疾病的治疗效果均不理想, 所以开发神经保护药物已迫在眉睫。

姜科植物多数具有芳香气味, 自古用于开窍醒神。现代药理活性筛选也发现一些姜科植物提取物具有神经保护功效, 如益智仁的乙醇提取物能够抑制谷氨酸盐引起的神经元凋亡^[1]; 益智仁的水提物则能够预防缺血性学习功能障碍, 并能修复受损的神经元^[2]。高良姜(*Alpinia officinarum* Hance.) 为姜科(Zingiberaceae) 山姜属(*Alpinia* Roxb.) 的多年生草本植物, 生于阴湿的密林或疏林下, 主产福建、台湾、广东、广西、海南、云南等地。高良姜的干燥根茎高良姜别名膏凉姜(《本草经集注》)、良姜(《局方》)、蛮姜、佛手根(《履巉岩本草》)、小良姜(《中药志》)和海良姜(《药材学》), 性辛, 温, 入脾, 胃经, 具有温胃, 祛风, 散寒, 行气, 止痛的功效, 临床用于治疗脾胃中寒, 脘腹冷痛, 呕吐泄泻, 噎膈反胃, 食滞, 瘴疟, 冷癖(《本草汇言》)。现代化学成分研究表明, 高良姜中含有山柰素、槲皮素、高良姜素、山柰酚等黄酮类成分^[3-4]和姜黄素、5-羟基-1,7-双苯-3-庚酮和 HMP [4-hydroxy-3-methoxy-phenyl]-1-phenylhept-4-en-3-one] 等二芳基庚烷类化合物^[5-6]。药理研究表明, 高良姜具有抗菌^[7]、抗病毒^[8]和抗胃溃疡^[9]的功效。高良姜不

收稿日期: 2014-03-06**基金项目:** 国家科技支撑计划课题(2013BAI11B04); 2011 年海南省中药现代化专项资金(2011ZY002); 2012 年海南省中药现代化专项(2012ZY008); 海南省星火产业带专项(ZDXM20120093)**作者简介:** 翟红莉(1977-), 女, 海南大学园林园艺学院 2008 级博士研究生. E-mail: zhaizhaitl@163.com**通信作者:** 戴好富(1974-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 天然产物化学. E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

仅是一种重要中药,而且是一种深受人们喜爱的调味品,是 1998 年卫生部规定的药食同源类中药之一。笔者利用 H_2O_2 介导的 PC12 细胞损伤模型研究高良姜提取物对 PC12 细胞的保护作用,旨在为高良姜的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 高良姜样品于 2013 年 4 月分别采自海南海口市和广东徐闻县,由中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福副研究员鉴定,凭证标本(HK201304; XW201304)存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。PC12 细胞由滨州医学院药理实验室提供。超氧化物歧化酶(SOD)测试盒,丙二醛(MDA)测试盒,乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒和考马斯亮蓝法蛋白浓度测试盒均为南京建成生物工程研究所产品。DMEM 培养液为 GIBCO 公司产品。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 高良姜提取物的制备 将高良姜粉碎后用 $\varphi = 80\% \sim 95\%$ 乙醇浸提,将浸提液减压回收乙醇得浓缩液,浓缩液加适量水稀释,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取,减压回收乙酸乙酯、正丁醇萃取液,得到乙酸乙酯段浸膏(YSYZ)和正丁醇段浸膏(ZDC)。

1.3 PC12 细胞的培养 PC12 细胞从液氮复苏后,接种于培养瓶中,在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下, $\varphi = 5\%$ CO_2 的孵箱中培养,培养基是 DMEM 补加 10% 灭活 FBS, $100\text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素以及 $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素。细胞隔 1 d 更换 1 次培养液,传代时,先倒掉培养瓶中的培养基,然后加入适量的 0.25% 胰蛋白酶 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 消化 2~3 min,待消化完全后加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液终止消化,用吸管轻轻吹打数次,使细胞完全分散。倒置显微镜下观察,计数,取对数生长期的细胞进行实验。

1.4 H_2O_2 介导的细胞存活率检测 细胞以 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度接种于 96 孔板,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$,培养 24 h 后加 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 于培养孔中,在加入 H_2O_2 的 0.5 h 前加入不同浓度的 YSYZ 或 ZZDC 提取物样品,每处理设 6 个复孔,再培养 24 h 后观察细胞的存活率。

细胞的存活率采用 MTT 比色法检测。检测时,每孔加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ MTT(终浓度为 $0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)于 5% 的 CO_2 , $37\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 3 h。小心吸去培养液,每孔再加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 二甲基亚砜(DMSO)溶解蓝紫色结晶物,稍振荡待结晶物充分溶解后用酶标仪测定 570 nm ,参考波长为 630 nm 的 OD 值,计算细胞的存活率。

细胞的存活率 = $(OD_{\text{加药孔}} - OD_{\text{加药孔空白}}) / (OD_{\text{对照孔}} - OD_{\text{对照孔空白}}) \times 100\%$

1.5 高良姜提取物对乳酸脱氢酶漏出率的影响 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)的测定使用 LDH 检测试剂盒。将 PC12 细胞以 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度接种于 24 孔板,每孔 $500\text{ }\mu\text{L}$,培养 24 h 后加 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 于培养孔中,同时分别加入不同浓度的 YSYZ 或 ZDC,再培养 24 h 后,收集培养液和细胞。实验按照 LDH 检测试剂盒说明操作,通过以下公式计算细胞培养液的 LDH 漏出率。

LDH 漏出率 = $(\text{培养液 OD 值}) / (\text{培养液 OD 值} + \text{细胞匀浆液 OD 值}) \times 100\%$

1.6 高良姜提取物对 H_2O_2 介导的细胞内 SOD, GSH-Px 活性及 MDA 的影响

1.6.1 超氧化物歧化酶的检测 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用, SOD 能清除超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)保护细胞免受损伤。检测 SOD 采用 SOD 测试盒检测。当被测样品中含有 SOD 时,则对 $O_2^{\cdot-}$ 有专一性的抑制作用,形成的亚硝酸盐减少,比色时测定管的 OD 值低于对照管的 OD 值,通过公式计算可求出被测样品中的 SOD 活力。计算公式为:

SOD 活力($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$) = $(OD_{\text{对照}} - OD_{\text{测定}}) / (OD_{\text{对照}} \div 50\% \times (\text{反应液总体积 mL}) / (\text{取样量 mL}) \div (\text{样品中蛋白含量 } \text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ protein}))$

1.6.2 谷胱甘肽过氧化物酶的检测 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)是机体内广泛存在的一种重要的催化 H_2O_2 分解的酶,还可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。GSH-Px 可以促进 H_2O_2 与还原型谷胱甘肽反应生成 H_2O 及氧化型谷胱甘肽, GSH-Px 的活力可用其酶促反应的速度来表示,测定酶促反应中还原性谷胱甘肽的消耗,则可求出酶活力。计算公式如下:

GSH-Px 活力($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{protein}$) = $(OD_{\text{非酶管}} - OD_{\text{酶管}}) / (OD_{\text{标准管}} - OD_{\text{空白管}}) \times A \times B \div C \div D$

其中, A, 为标准管 GSH 浓度, B 为样品中蛋白的稀释倍数, C 为样品中蛋白含量($\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ protein}$), D

为反应时间。

1.6.3 丙二醛含量测定 MDA 的测定原理: 过氧化脂质降解产物中的丙二醛(MDA) 可与硫代巴比妥酸(TBA) 缩合, 形成红色产物, 在 532 nm 处有最大吸收峰, 因此, 可以通过测定不同样品的吸光值对其中的 MDA 进行定量。MDA 含量的计算公式:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{protein}) = \frac{\text{测定管 OD 值} - \text{测定空白管 OD 值}}{\text{标准管 OD 值} - \text{标准空白管 OD 值}} \times \text{标准品浓度}(10 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}) \div \text{样品中的蛋白含量}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{protein})$$

1.6.4 细胞凋亡形态学观察 细胞形态学变化在荧光显微镜下观察。细胞以 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度接种于 24 孔板, 每孔 500 μL , 培养 24 h 后加 0.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 于培养孔中, 在加入 H_2O_2 的 0.5 h 前加入 YSYZ 或 ZDC 继续培养 24 h 后, 直接显微镜下观察和进行 Hoechst 33258 染色, 在荧光显微镜下观察细胞核。荧光染色时, 吸净培养液, 加入预冷的 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液 0.5 mL 固定细胞 30 min 后, 吸去固定液, 然后用 PBS 荡洗 3 次, 每次 5 min。最后加入 0.5 mL Hoechst 33258($10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 在 37°C , 5% CO_2 的孵箱中培养 10 min 后于荧光显微镜下观察。

2 结果与分析

2.1 高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 对 H_2O_2 介导的 PC12 细胞存活率的影响 结果如图 1 所示, H_2O_2 加入细胞培养液后显著降低了细胞存活率, 而加入不同浓度的 YSY 或 ZZDC 提取物的细胞培养液中细胞存活率随着加入浓度的提高而升高, 这说明高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 可显著提高 H_2O_2 介导的 PC12 细胞存活率, 对 PC12 细胞具有显著的保护作用。

2.2 高良姜提取物对 H_2O_2 介导的细胞内乳酸脱氢酶漏出率的影响 细胞经 H_2O_2 处理后, 细胞发生坏死裂解, 细胞内 LDH 大量漏出, 所以测定细胞内乳酸脱氢酶漏出率可衡量细胞的存活率。由图 2 可见, 高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 可显著降低 H_2O_2 介导的细胞内乳酸脱氢酶漏出率, 且其降低幅度随着提取物剂量的增大而增大。

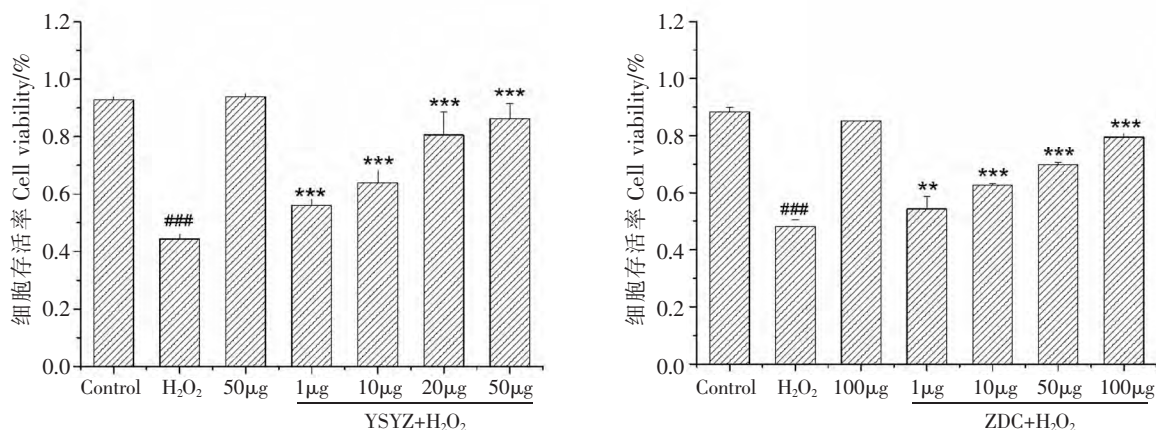


图1 高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 对 H_2O_2 介导的 PC12 细胞存活率的影响

图中数值均为平均值 $\pm$ SD; 与对照组比较, $^{###}P < 0.001$, $^{##}P < 0.01$, $^{\#}P < 0.05$;

与 H_2O_2 比较, $^{***}P < 0.001$, $^{**}P < 0.01$, $^*P < 0.05$

Fig. 1 Effects of YSYZ and ZDC extracted from *A. officinarum* on survival rate of PC12 cells induced by H_2O_2

Data in the figure are mean $\pm$ SD, Compared with the control, $^{###}P < 0.001$, $^{##}P < 0.01$, $^{\#}P < 0.05$,

and compared with the group added H_2O_2 , $^{***}P < 0.001$, $^{**}P < 0.01$, $^*P < 0.05$

2.3 高良姜提取物对 H_2O_2 介导的细胞内 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 的影响 GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的催化 H_2O_2 分解的酶, 还可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用, 所以细胞内 GSH-Px 活力的大小直接反应了细胞的存活状态。由表 1 和表 2 可知, 高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 均可显著提高 H_2O_2 介导的细胞内 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶的活力, 可见其对细胞的保护作用。

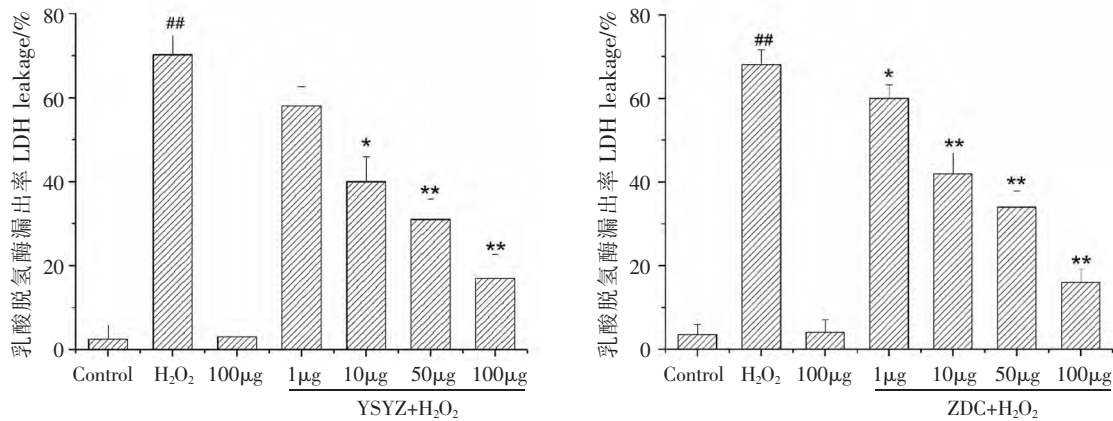


图 2 高良姜提取物 YSYZ 和 ZDC 对 H₂O₂ 介导的细胞内乳酸脱氢酶漏出率的影响

图中数值均为平均值 ± SD; 与对照组比较, ^{###}*P* < 0.001, ^{##}*P* < 0.01, [#]*P* < 0.05;

与 H₂O₂ 比较, ^{***}*P* < 0.001 ^{**}*P* < 0.01, ^{*}*P* < 0.05

Fig. 2 Effects of YSYZ and ZDC extracted from *A. officinarum* on LDH leakage rate of PC12 cells induced by H₂O₂

Data in the figure are mean ± SD, Compared with the control, ^{###}*P* < 0.001, ^{##}*P* < 0.01, [#]*P* < 0.05,

and compared with the group added H₂O₂, ^{***}*P* < 0.001 ^{**}*P* < 0.01, ^{*}*P* < 0.05

丙二醛是机体内脂质过氧化作用的产物。机体通过酶系统与非酶系统产生氧自由基,后者能攻击生物膜中的多数不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化作用,并因此形成脂质过氧化物,如醛基(丙二醛)、酮基、羟基、羧基、氢过氧基以及新的自由基等。脂质过氧化作用不仅把活性氧转化成活性化学剂,即非自由基性的脂类分解物,而且通过链式或链式支链反应,放大活性氧的作用。因此,初始的一个活性氧能导致很多脂类分解产物的形成,这些分解产物中,一些是无害的,另一些则能引起细胞损伤,而且还能通过脂氢过氧化物的分解产物引起细胞损伤。因而,测试丙二醛(MDA)的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞的损伤程度。MDA的测定常常与SOD的测定相互配合,SOD活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,而MDA的高低又间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度。高良姜提取物对细胞内MDA含量和SOD活性的检测结果见表1和表2。由表1和表2可知,高良姜提取物YSYZ和ZDC均可显著提高H₂O₂介导的细胞内SOD的活力,可显著降低细胞内丙二醛的含量,且本身对正常细胞无伤害作用。可见高良姜提取物YSYZ和ZDC对细胞有显著的保护作用。

表 1 高良姜提取物 YSYZ 对 H₂O₂ 介导的细胞内 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 的影响

Tab. 1 Effects of YSYZ extracted from *A. officinarum* on the SOD, GSH-Px and MDA of the PC12 cells induced by H₂O₂

	SOD (U · mg ⁻¹ · protein)	GSH-Px (μmol · mg ⁻¹ · protein)	MDA (nmol · mg ⁻¹ · protein)
Control	8.69 ± 0.47	100.05 ± 6.30	2.54 ± 0.13
H ₂ O ₂	5.34 ± 0.65 ^{##}	78.14 ± 7.20 ^{##}	8.36 ± 0.41 ^{##}
YSYZ	8.54 ± 0.60	98.87 ± 5.71	2.48 ± 0.21
YSYZ + H ₂ O ₂	7.37 ± 0.58 ^{**}	89.41 ± 5.63 ^{**}	4.47 ± 0.32 ^{**}

PC12 细胞(添加或不添加 50 μg 乙酸乙酯提取物)在 37 °C 下用 0.4 mmol · L⁻¹ 的 H₂O₂ 处理 24 h,数值通过 3 个独立的实验完成,每个实验数据取自 3 个培养孔,均为平均值 ± S. E. M. ^{**}: *P* < 0.01 表明在统计学上与 H₂O₂ 诱导组差异显著

PC12 cells were treated with 0.4 mol · L⁻¹ H₂O₂ in the absence or presence of 50 μg YSYZ for 24 h at 37 °C. Data are mean ± S. E. M. values obtained from three culture wells per experiment, determined in three independent experiments. ^{**} means statistical difference from H₂O₂-induced group at *P* < 0.01

表2 高良姜提取物 ZDC 对 H_2O_2 介导的细胞内 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 的影响Tab.2 Effects of ZDC extracted from *A. officinarum* on the SOD, GSH-Px and MDA of the PC12 cells induced by H_2O_2

	SOD ($U \cdot mg^{-1} \cdot protein$)	GSH-Px ($\mu mol \cdot mg^{-1} \cdot protein$)	MDA ($nmol \cdot mg^{-1} \cdot protein$)
Control	9.01 ± 0.58	97.10 ± 6.14	2.38 ± 0.21
H_2O_2	5.97 ± 0.64	76.10 ± 4.98	9.01 ± 0.43
ZDC	8.89 ± 0.60	96.52 ± 5.14	2.30 ± 0.24
ZDC + H_2O_2	$8.16 \pm 0.52^{**}$	$90.17 \pm 4.52^{**}$	$4.52 \pm 0.36^{**}$

PC12 细胞(添加或不添加 $100 \mu g$ 正丁醇提取物)在 $37^\circ C$ 下用 $0.4 mmol \cdot L^{-1}$ 的 H_2O_2 处理 24 h,数值通过 3 个独立的实验完成,每个实验数据取自 3 个培养孔,均为平均值 $\pm$ S. E. M。 ** : $P < 0.01$ 表明在统计学上与 H_2O_2 诱导组差异显著

PC12 cells were treated with $0.4 mmol \cdot L^{-1} H_2O_2$ in the absence or presence of $100 \mu g$ ZDC for 24 h at $37^\circ C$. Data are mean $\pm$ S. E. M. values obtained from three culture wells per experiment, determined in three independent experiments. ** means statistical difference from H_2O_2 -induced group) at $P < 0.01$

2.4 高良姜提取物对 PC12 细胞形态的影响 H_2O_2 是强氧化剂,它可以模拟氧化应激造成的细胞损伤。正常细胞经 Hoechst 33258 染色后细胞呈均匀的蓝色,如图 3 中 A 所示。细胞经 H_2O_2 处理后,经染色可见,细胞数量有所减少,色泽变亮,出现凋亡现象。经 H_2O_2 和 YSYZ 或 ZDC 共同处理后,PC12 细胞核与正常细胞差异不大。可见高良姜提取物对 H_2O_2 介导的 PC12 细胞损伤有一定的保护作用。

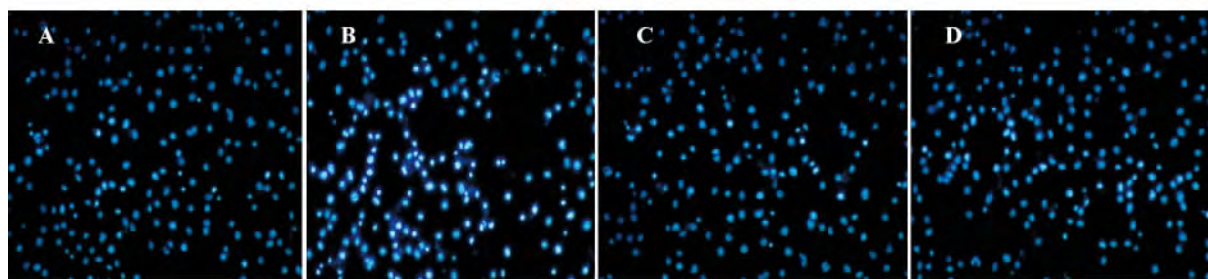


图3 高良姜提取物对 PC12 细胞形态的影响.

A: 对照; B: H_2O_2 损伤的 PC12 细胞; C: H_2O_2 加入高良姜乙酸乙酯萃取物处理后的 PC12 细胞;
D: H_2O_2 加入高良姜正丁醇萃取物处理后的 PC12 细胞;

Fig.3 Effects of extracts derived from *A. officinarum* on cellular morphology of PC12 cells

A: Control; B: PC12 cells induced by H_2O_2 ; C: PC12 cells treated with YSYZ + H_2O_2 ;
D: PC12 cells treated with ZDC + H_2O_2

3 讨 论

高良姜既是药品又是食品,被广泛应用于医药和保健品。本研究发现高良姜的乙酸乙酯和正丁醇萃取物对 H_2O_2 介导的神经细胞损伤具有明显的保护作用,具有一定的临床应用价值。高良姜中含有山柰素、槲皮素、高良姜素、山柰酚等黄酮类成分^[3-4],这类化合物本身就具有一定的抗氧化活性,所以,高良姜提取物的抗氧化活性可能与这些成分有关。因此,在神经保护活性跟踪下对高良姜中的成分进行分离,研究其活性的物质基础,对新药的开发具有重大意义。

参考文献:

- [1] YU X, AN L, WANG Y, et al. Neuroprotective effect of *Alpinia oxyphylla* Miq. fruits against glutamate-induced apoptosis in cortical neurons [J]. Toxicol Lett, 2003, 144(2): 205-212.
- [2] KOO B S, LEE W C, CHANG Y C, et al. Protective effects of *Alpinia oxyphylla* fructus (*Alpinia oxyphylla* MIQ) water-extracts on neurons from ischemic damage and neuronal cell toxicity [J]. Phytother. Res., 2004, 18(2): 142-148.

- [1] 吕玮, 蒋伶活. 高良姜的化学成分及药理作用 [J]. 中国药业, 2006, 15(3): 19–21.
- [2] 卜宪章, 肖桂武, 古练权, 等. 高良姜化学成分研究 [J]. 中药材, 2000, 23(2): 84–86.
- [3] 李彩君, 陈佃, 何瑞. 高良姜中二苯基庚烷类化合物研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2000(4): 367–368.
- [4] SUN Y, MATSUBARA H, KITANAKA S, et al. Diarylheptanoids from the rhizomes of *Alpinia officinarum* [J]. Helvetica Chimica Acta, 2008, 91(1): 118–123.
- [5] EUMKEB G, SAKDARAT S, SIRIWONG S, et al. Reversing β -actam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime [J]. Phytomedicine, 2010, 18(1): 40–45.
- [6] KONNO K, SAWAMURA R, SUN Y, et al. Antiviral activities of diarylheptanoids isolated from *Alpinia officinarum* against respiratory syncytial virus, poliovirus, measles virus, and herpes simplex virus type 1 in vitro [J]. Nat Prod Commun, 2011, 6(12): 1881–1884.
- [7] 江涛, 唐春萍, 陈艳芬, 等. 高良姜总黄酮对大鼠实验性胃溃疡模型的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(2): 260–262.

Neuroprotective Effect of Extracts from *Alpinia Officinarum* Hance on PC12 Cells

ZHAI Hongli¹, WANG Hui², ZHANG Xiuli³, CAI Caihong², MEI Wenli², DAI Haofu²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops/ Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. School of Pharmaceutical Science, Medical College of Binzhou, Shandong 264003, China)

Abstract: Model of cell injury induced by H_2O_2 was set up to evaluate the protective effect of the extracts derived from *Alpinia officinarum* Hance on PC12 cells injured by H_2O_2 . Cell survival rate was detected by the MTT method, and the cell morphology was observed under fluorescence microscope. The leakage rate of lactate dehydrogenase (LDH), malonaldehyde (MDA) content, activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in PC12 cells were analyzed when PC12 cells were treated with the extracts from *A. officinarum*. The extracts obviously decreased the LDH leakage rate and the MDA content, but increased activities of SOD and GSH-Px in PC12 cells in a dose-dependent manner. It is thus inferred that the extracts of *A. officinarum* have an obviously protective effect on PC12 cells injured by H_2O_2 . A neuroprotective medicine might be derived from these extracts which need further study.

Key words: *Alpinia officinarum*; neuroprotective effect; PC12 cell