

参麦注射液的抗肿瘤作用研究

邬方宁

天津市药品审评中心, 天津 300052

摘要: 目的 研究参麦注射液体外抗肿瘤作用。方法 以小鼠肉瘤 S₁₈₀、肝癌 H₂₂、Lewis 肺癌实体瘤模型考察参麦注射液的体内抑瘤作用; 通过 MTT 法考察参麦注射液体外对人宫颈癌 HeLa 细胞和人肝癌 HepG 2 细胞的增殖抑制作用。结果 参麦注射液在体内对小鼠肉瘤 S₁₈₀、肝癌 H₂₂、Lewis 肺癌均有显著的抑制作用, 且呈剂量相关性, 中、高剂量抑瘤率可达 35% 以上; 体外对人宫颈癌 HeLa 细胞和人肝癌 HepG 2 细胞亦有增殖抑制作用, 且呈浓度-时间相关性, 48 h 的 IC₅₀ 值分别为 0.36、0.72 g/mL, 72 h 的 IC₅₀ 值分别为 0.21、0.29 g/mL。结论 参麦注射液体内外均有显著的抗肿瘤活性。

关键词: 参麦注射液; 抗肿瘤活性; S₁₈₀ 肉瘤; H₂₂ 细胞; HeLa 细胞; MTT 法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)01-0021-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.01.006

Antitumor activity of Shenmai Injection

WU Fang-ning

Tianjin Center for Drug Evaluation, Tianjin 300052, China

Abstract: Objective To investigate the antitumor effect of Shenmai Injection *in vitro* and *in vivo*. **Methods** Solid tumor models of mouse sarcoma S₁₈₀, hepatoma H₂₂, and Lewis lung carcinoma were used to study the antitumor effect of Shenmai Injection *in vivo*. MTT assay was used to examine its inhibitory effect on the proliferation of HeLa cell and HepG 2 cells. **Results** Shenmai Injection showed obviously inhibitory effect on the growth of S₁₈₀, H₂₂, and Lewis in tumor-bearing mice in a dose-dependent manner, and inhibitory rates in mid- and high-dose groups were over 35%. Shenmai Injection also inhibited the proliferation of HeLa cells and HepG 2 cells *in vitro*, showing a concentration-time correlation. The IC₅₀ values of 48 h were 0.36 and 0.72 g/mL and the IC₅₀ values of 72 h were 0.21 and 0.29 g/mL. **Conclusion** Shenmai Injection has remarkable antitumor activity both *in vitro* and *in vivo*.

Key words: Shenmai Injection; antitumor activity; S₁₈₀ sarcoma; H₂₂ cell; HeLa cell; MTT assay

参麦注射液是人参、麦冬提取物的注射液, 具有益气固脱、养阴生津、生脉等功效, 临床上广泛应用于肿瘤病人的治疗, 与化疗药物合用时有一定的增效作用, 同时能减少化疗药物所引起的毒副反应。刘鲁明等^[1]已报道了参麦注射液抗肿瘤初步试验的筛选结果。由于参麦注射液在临床上广泛使用的药物, 阐明其抗肿瘤作用可以为临床的深入使用提供极大的参考价值, 因此本实验进一步在体内外多个瘤株上考察了参麦注射液的抗肿瘤作用及强度。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本 Olympus BH—2 显微镜; 美国 NuAir 二氧化碳培养箱; 奥地利 Tecan 酶联免疫分析仪; 美国

Costar 96 孔培养板。

参麦注射液, 自制, 规格 20 mL/支 (相当于 2 g 生药); 环磷酰胺为上海华联制药有限公司产品, 200 mg/支, 批号 041103; 氟尿嘧啶为上海旭东海普药业有限公司产品, 10 mL/支, 批号 041006; 胎牛血清为美国 Hyclone 公司产品; RPMI-1640 培养基为美国 Gibco 公司产品; 甲基噻唑蓝 (MTT) 为美国 Sigma 公司产品。

1.2 细胞株与实验动物

小鼠肝癌 H₂₂、肉瘤 S₁₈₀ 购自中国医科大学肿瘤研究所, Lewis 肺癌购自军事医学科学院, 常规复苏传代培养。人肝癌 HepG 2 细胞株, 人宫颈癌 HeLa 细胞株购自中国医科大学免疫教研室。

昆明种小鼠, 沈阳药科大学实验动物中心提供,

收稿日期: 2012-10-29

作者简介: 邬方宁 (1967—), 女, 副主任药师, 主要从事新药注册与审评。Tel: (022)60255269

体质量 18~22 g, 雌雄兼用, 合格证号为 SCXK(辽)2003-008。C57BL/6 小鼠, 雄性, 体质量 18~22 g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 合格证编号为沪动(合证)字(153)号。

1.3 方法

1.3.1 荷瘤动物模型的建立^[2] 选择腹腔接种 7~9 d, 生长良好的荷 H₂₂ 肝癌、S₁₈₀ 肉瘤的小鼠, 断颈处死, 均在无菌条件下抽取接种小鼠的腹水, 用无菌生理盐水调整细胞数为 $2 \times 10^7/\text{mL}$, 于昆明小鼠右侧腋下皮肤行无菌皮下接种, 接种量为每只 0.2 mL。Lewis 肺癌取成瘤适当剪碎后, 轻轻匀浆, 将其制成混悬液, 无菌生理盐水稀释调整细胞数为 $2 \times 10^7/\text{mL}$, 于 C57BL/6 小鼠右侧腋下皮肤行无菌皮下接种, 接种量每只 0.2 mL。

1.3.2 分组及处理 体内实验: 小鼠接种 24 h 后按体质量随机分为 5 组, 每组 10 只, 尾 iv 给药。分为参麦注射液高、中、低剂量组, 分别给予相当于生药 6.4、3.2、1.6 g/(kg·d); 环磷酰胺组给予环磷酰胺 10 mg/(kg·d); 模型组给予等体积的生理盐水, 给药体积 10 mL/kg。连续给药并观察 7 d, 于末次给药后 24 h 处死动物, 剥瘤称量质量, 计算抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量

体外实验^[3]: 将人宫颈癌 HeLa 细胞、肝癌 HepG 2 细胞以每孔 5×10^3 的密度接种于 96 孔板中, 在含 10% 胎牛血清、2% 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养液, 37 °C、5% CO₂ 培养, 24 h 后于不同孔中分别加入不同质量浓度的药液 (0.062 5~1 g/mL)、氟尿嘧啶 (50 μmol/L), 每组设 6 个平行孔, 另设阴性对照组 (加入含等量 DMSO 的培养液), 空白组加入不含细胞的培养液, 加药后 48、72 h 用 MTT 法, 酶联免疫分析仪测定吸光度 (A) 值, 计算细胞生长抑制率。

生长抑制率 = $[A_{492}(\text{阴性对照组}) - A_{492}(\text{给药组})] / A_{492}(\text{阴性对照组})$

1.4 统计分析

体内实验的瘤质量和体外实验的 A 值等指标采用成组间 t 检验进行统计处理。

2 结果

2.1 体内抗肿瘤作用

参麦注射液、高剂量组对 S₁₈₀、H₂₂、Lewis 肺癌抑瘤率均达 35% 以上, 各剂量组瘤质量与模型组相比差异均有显著性 ($P < 0.01$)。其中参麦注射液对 H₂₂ 细胞株的抑瘤率较其他瘤株更为显著。参麦注射液各组与环磷酰胺组相比动物状态较好, 体质量有所增加。见表 1。

表 1 参麦注射液对荷瘤小鼠 S₁₈₀、H₂₂、Lewis 肺癌增长的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Inhibition of Shenmai Injection on tumor growth of S₁₈₀, H₂₂, and Lewis in tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	S ₁₈₀		H ₂₂		Lewis 肺癌	
		瘤质量/g	抑瘤率/%	瘤质量/g	抑瘤率/%	瘤质量/g	抑瘤率/%
模型	—	1.420 ± 0.322	—	1.187 ± 0.156	—	1.309 ± 0.171	—
参麦注射液	1.6	0.989 ± 0.212**	30.37	0.779 ± 0.167**	36.25	0.879 ± 0.110**	32.90
	3.2	0.855 ± 0.212**	39.82	0.724 ± 0.166**	43.68	0.807 ± 0.165**	38.38
	6.4	0.755 ± 0.179**	46.80	0.663 ± 0.133**	49.01	0.722 ± 0.135**	44.84
环磷酰胺	0.01	0.590 ± 0.156**	58.43	0.568 ± 0.171**	52.17	0.677 ± 0.115**	48.32

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

2.2 体外抗肿瘤作用

2.2.1 抗 HeLa 细胞 参麦注射液在 0.125~1 g/mL, 48 h 时 4 组对人癌细胞株 HeLa 的生长抑制率分别为 25.0%、38.1%、59.3%、79.1%, IC₅₀ 为 0.36 g/mL, 4 组的 A 值与对照组相比均有统计学意义 ($P < 0.01$)。72 h 时生长抑制率分别为 39.3%、57.2%、72.7%、86.4%, IC₅₀ 为 0.21 g/mL, 4 组的 A

值与对照组相比均有统计学意义 ($P < 0.01$), 抑制效果与质量浓度和时间均相关, 见表 2。

2.2.2 抗 HepG 2 细胞 参麦注射液在 0.25~1 g/mL, 48 h 时对人肝癌细胞株 HepG 2 的生长抑制率分别为 23.4%、37.8%、58.6%, IC₅₀ 为 0.72 g/mL, 4 组的 A 值与对照组相比均有统计学意义 ($P < 0.01$)。72 h 时的生长抑制率分别为 47.4%、57.1%、

66.3%，IC₅₀ 为 0.29 g/mL，抑制效果与质量浓度和 时间均相关，见表 3。

表 2 参麦注射液对人癌细胞株 HeLa 增殖的抑制作用
Table 2 Inhibition of Shenmai Injection on proliferation of HeLa cells

组别	终浓度/ (g·mL ⁻¹)	A		生长抑制率/%	
		48 h	72 h	48 h	72 h
对照	—	0.723±0.031	0.829±0.034	—	—
参麦注射液	1	0.151±0.029**	0.112±0.011**	79.1	86.4
	0.5	0.294±0.016**	0.226±0.017**	59.3	72.7
	0.25	0.447±0.036**	0.354±0.027**	38.1	57.2
	0.125	0.542±0.007**	0.503±0.018**	25.0	39.3
	0.062 5	0.685±0.029	0.707±0.015*	5.2	17.3
氟尿嘧啶	50 μmol/L	0.231±0.034**	0.227±0.018**	68.0	72.6

与对照组比较：*P<0.05 **P<0.01
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

表 3 参麦注射液对人癌细胞株 HepG 2 增殖的抑制作用
Table 3 Inhibition of Shenmai Injection on growth in HepG 2 cell

组别	终浓度/ (g·mL ⁻¹)	A		生长抑制率/%	
		48 h	72 h	48 h	72 h
对照	—	0.727±0.038	1.061±0.086	—	—
参麦注射液	1	0.301±0.016**	0.357±0.042**	58.6	66.3
	0.5	0.452±0.037**	0.455±0.045**	37.8	57.1
	0.25	0.558±0.008**	0.558±0.054**	23.4	47.4
	0.125	0.700±0.021	0.987±0.044	3.7	7.0
	0.062 5	0.726±0.018	0.999±0.068	1.3	5.8
氟尿嘧啶	50 μmol/L	0.229±0.020**	0.371±0.044**	68.5	65.0

与对照组比较：*P<0.05 **P<0.01
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

3 讨论

参麦注射液是人参、麦冬提取物的注射液，目前在临床上应用于肿瘤病人治疗的文献报道非常多，总体上归类为减毒增效类辅助用药。人参中的人参皂苷可以通过不同的途径诱导细胞凋亡，并抑制肿瘤血管生成^[4-6]；麦冬的主要成分是土茯苓总皂苷，对肉瘤 S₁₈₀ 有抑制作用^[4]。从基础研究的结果来看，参麦注射液本身已存在抗肿瘤作用的物质基础。刘鲁明等^[1]已报道了参麦注射液抗肿瘤作用的初步筛选结果，本文的体内实验结果表明，参麦注射液对小鼠 S₁₈₀、H₂₂、Lewis 肺癌均有抑制作用，药物的作用强度与剂量呈现良好相关性，且对 H₂₂ 抑瘤作用最显著，提示参麦注射液具有抗肿瘤作用，可能对肝癌效果更明显。体外实验也说明该药对人宫颈癌 HeLa 细胞、人肝癌 HepG 2 细胞有一定的抑制作用，且细胞毒副作

用呈时间 - 浓度相关。

在动物实验过程中，参麦注射液各剂量组小鼠生存质量均优于模型组和环磷酰胺组，小鼠体质量有所增加，对荷瘤小鼠机体恢复有一定益处。自造模第 3 天起给药组小鼠始见成瘤，成瘤时间、肿瘤生长速度均慢于模型组。结合体外实验结果，提示参麦注射液的抑瘤作用机制，一方面可能与其本身具有抑制肿瘤细胞增殖的作用有关，另一方面对调节机体自身的免疫功能也具有一定的作用。

文献报道人参和麦冬的主要成分具有广泛的药理作用，包括增强免疫功能、诱导癌细胞凋亡、抑制肿瘤的浸润和转移、抑制肿瘤细胞新生血管的形成、逆转肿瘤细胞的耐药性等^[6]。本文从参麦注射液整体的角度进行了抗肿瘤作用研究，由于中药成分复杂、作用途径广泛，充分认识其药理作用对于临床使用具有良好的参考价值。

参考文献

- [1] 刘鲁明, 钱 华, 陈 震, 等. 参麦注射液抗肿瘤作用的初步实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1996, 2(4): 11-14.
- [2] 陈 勇, 李 祥, 陈建伟, 等. 双四氢呋喃型番荔枝内酯体内抗肿瘤作用 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 139-142.
- [3] 李 鹏, 司维柯, 王 源, 等. 苦参碱与氧化苦参碱抑制 HpeG-2 细胞增殖的对比研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25(5): 261-264.
- [4] Park I H, Piao L Z, Kwon S W, *et al.* Cytotoxic dammarane glycosides from processed ginseng [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(4): 538-540.
- [5] Sato K, Mochizuki M, Saiki B, *et al.* Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of *Panax ginseng*, gisenoside-Rb₂ [J]. *Biol Pharm Bull*, 1994, 17(5): 635-639.
- [6] 任莉莉, 魏影非, 杜惠兰. 人参抗肿瘤作用研究进展 [J] 中成药, 2005, 27(8): 947-950.
- [7] 余伯阳, 殷 霞, 荣祖元, 等. 短葶山麦冬皂甙 C 的药理活性研究 [J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(5): 286-288.