

内折香茶菜素和内折香茶菜素 D抗肿瘤作用的实验研究

李继成¹,林则田²,张启堂³,刘兰琦¹,杨丽嘉¹

(1. 河南医科大学 医学实验中心,河南 郑州 450052; 2. 郑州市卫生局,河南 郑州 450000; 3. 河南医科大学 药理教研室,河南 郑州 450052)

摘要:目的 研究内折香茶菜素和内折香茶菜素 D(以下简称内折素和内折素 D)对动物移植性肿瘤的作用以及对机体免疫状态的影响。方法 以动物移植性肿瘤艾氏腹水癌(ECA)、肉瘤 180(S₁₈₀)、肝癌(HCA)和 Lewis肺癌为模型,以 5-Fu为阳性对照组,以生理盐水为阴性对照组,观察 12.5和 25 mg/kg内折素和内折素 D的抗肿瘤作用,并采用小鼠溶血素实验和小鼠迟发性变态反应实验观察内折素和内折素 D对机体免疫状态的影响。结果 内折素和内折素 D与阴性对照组相比在体外对 ECA肿瘤细胞有较强的杀伤力,在体内对 S₁₈₀实体型和腹水型肿瘤, HCA实体型和腹水型肿瘤以及 Lewis肺癌实体型肿瘤均有较强的抑制作用,对机体免疫状态无明显影响。结论 内折素和内折素 D具有较强的抗肿瘤作用,且对机体免疫状态无明显影响。

关键词:内折香茶菜素;内折香茶菜素 D;艾氏腹水癌;肉瘤 180;肝肿瘤;Lewis肺肿瘤;抗肿瘤作用

中图分类号: R285; R979.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0049-04

Studies on antitumor effect of inflexusin and inflexusin D

LI Ji-cheng¹, LIN Ze-tian², ZHANG Qi-tang³, LIU Lan-qi¹, YANG Li-jia¹

(1. Laboratory Centre of Medical Research, Henan University of Medical Sciences, Zhengzhou Henan 450052, China; 2. Zhengzhou Municipal Public Health Bureau, Zhengzhou Henan 450000, China; 3. Department of Pharmacology, Henan University of Medical Sciences, Zhengzhou Henan 450052, China)

Key words inflexusin; inflexusin D; Ellrich ascites carcinoma; sarcoma 180; hepatoma carcinoma; Lewis lung carcinoma; antitumor activity

内折香茶菜 *Rabdosia inflexus* (Thunb)为唇形科香茶菜属植物。已报道了内折香茶菜乙素的抗肿瘤作用^[1]。内折香茶菜素(简称内折素, inflexusin)经结构鉴定为新的二萜化合物^[2],内折香茶菜素 D(简称内折素 D)为其黄酮苷^[3]。为了解内折素和内折素 D的抗肿瘤作用,作者采用多种动物移植性肿瘤模型,观察其对动物肿瘤的抑制作用,并对动物溶血素水平和迟发性超敏反应进行了检测,观察其对机体免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料:内折素和内折素 D经薄层法鉴定其纯度为 99%,河南医科大学医学实验中心新药研究室提供。昆明种小鼠和 C₅₇纯种小鼠,体重均为(20±2)g,雌雄兼用,22℃~25℃常规饲料喂养,河南医科大学实验动物中心提供。瘤株艾氏腹水癌(ECA)、肉瘤(S₁₈₀)实体型及腹水型、肝癌(HCA)实体型及腹水型、肺癌(Lewis)实体型,各瘤株均由河南省医学科学研究所药理室保种,按常规方法传代接种。

1.2 方法

1.2.1 对体外培养的 ECA癌细胞生长的影响:无菌条件下,抽取荷 ECA肿瘤小鼠腹水混悬于 RPMI 1640培养液中,调细胞浓度为 5×10^5 cfu/mL,接种于培养瓶中,每瓶接种细胞悬液 1.9 mL,按拟定剂量加入药液 0.1 mL,总体积 2 mL,置 5% CO₂培养箱中 37℃培养 24 h后取出,采用台盼蓝拒染法测定细胞杀伤率。

1.2.2 体内抗肿瘤作用实验:方法同文献^[1]。腹水型肿瘤以生命延长率为疗效指标,停药后继续观察 60 d,死亡的动物以实际存活时间为生存时间,长期存活动物以 60 d为生存时间计算。实体型肿瘤以瘤重抑制率作为疗效指标,于停药次日将肿瘤剖出精确称重。实验结果的统计学方法用 *t*检验。

1.2.3 对机体免疫功能的影响:采用小鼠溶血素实验,测定本品对小鼠体液免疫状态的影响,本实验分组同 1.2.2,用昆明种小鼠按文献^[1]法进行实验。24 h处死动物,剪下小鼠左右两耳壳,用打孔器打下直

② 收稿日期: 2000-04-30

基金项目:国家人事部留学回国人员资助项目:人发[1999]122号;河南省科技攻关资助项目,课题号: 991180121

作者简介:李继成,男,48岁,北京医科大学药学院毕业,现任河南医科大学新药研究室主任,副研究员。主要从事中药和天然药物的开发研究。1997~1998年应日本摂南大学药学部的邀请作为客员研究员公派日本留学。承担国家、省重点科研项目 12项,发表论文 30余篇,出席国际会议 5次,著书 2部,获科技成果奖 7项。Tel (0371) 6941865 E-mail lijicheng@371.net

径为 8 mm的耳片精确称重,以左右两耳重量之差为肿胀度,同时取其胸腺、脾脏精确称重。计算其脾指数和胸腺指数,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对体外培养的 ECA 瘤细胞生长的影响:由表 1 可以看出,内折素和内折素 D 剂量为 2 mg/L 时,细胞杀伤率为 100%,当减小到 0.25 mg/L 时则为 65%和 69%,作用明显减弱,表明两种单体化合物在体外对 EC A 肿瘤细胞有较强的细胞毒作用,且

随剂量增大而作用增强

2.2 体内抗肿瘤作用:见表 2~ 7

表 1 内折素和内折素 D对体外培养的 ECA 细胞生长的影响

组别	剂 量 (mg/L)	蓝染率 (%)	组别	剂 量 (mg/L)	蓝染率 (%)
对照	—	0~ 5			
内折素	2.000	100	内折素 D	2.000	100
	1.000	100		1.000	100
	0.500	93		0.500	98
	0.250	65		0.250	69

表 2 内折素和内折素 D对小鼠腹水瘤 S₈₀的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		存活时间 (d)	生命延长率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	10	0	19.90± 1.37	28.00± 4.88	11.60± 2.06	—
5-Fu	20	10	1	20.00± 1.05	24.50± 3.34	37.80± 8.75*	225.86
内折素	12.5	10	0	19.80± 1.03	29.40± 1.27	29.00± 3.53*	150.00
	25.0	10	0	18.90± 0.87	26.30± 2.11	35.40± 5.84†	205.17
内折素 D	12.5	10	0	19.30± 1.49	30.60± 2.27	29.50± 3.44*	154.31
	25.0	10	0	19.60± 1.26	29.20± 2.48	36.20± 5.53*	212.07

与对照组比较: * *P* < 0.05

表 3 内折素和内折素 D对小鼠腹水瘤 ECA的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		存活时间 (d)	生命延长率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	8	0	19.50± 1.19	26.25± 1.83	13.38± 2.19	—
5-Fu	20	8	0	20.63± 0.74	24.63± 1.40	35.13± 6.99	162.56
内折素	12.5	8	0	19.88± 0.84	34.00± 16.91	23.38± 6.61†	74.74
	25.0	8	0	18.87± 0.83	33.88± 7.14	34.00± 7.39	154.11
内折素 D	12.5	8	0	19.50± 0.92	24.75± 1.39	23.75± 7.03*	77.50
	25.0	8	0	18.87± 0.64	23.37± 1.77	34.25± 7.24*	155.98

与对照组比较: * *P* < 0.01

表 4 内折素和内折素 D对小鼠腹水肝癌 HCA的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		存活时间 (d)	生命延长率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	8	0	20.88± 0.83	27.00± 2.45	14.75± 2.49	—
5-Fu	20	8	0	20.13± 0.64	25.00± 1.85	33.50± 6.91†	127.12
内折素	12.5	8	0	21.37± 0.73	25.25± 1.75	28.75± 6.22	94.92
	25.0	8	0	21.88± 0.83	26.13± 1.46	30.88± 5.66	109.36
内折素 D	12.5	8	0	22.25± 0.71	25.38± 1.41	29.50± 5.97	100.00
	25.0	8	0	20.75± 0.46	24.38± 1.39	32.25± 5.92*	118.64

与对照组比较: * *P* < 0.01

表 5 内折素和内折素 D对 C₅₇小鼠实体瘤 Lewis肝癌的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	8	8	18.38± 0.74	24.00± 2.20	3.00± 0.37	—
5-Fu	20	8	8	21.00± 0.75	24.62± 1.30	1.11± 0.42	63.0
内折素	12.5	8	8	18.75± 0.69	23.87± 1.81	1.62± 0.51†	46.0
	25.0	8	8	21.12± 0.99	24.75± 1.16	1.38± 0.44*	54.0
内折素 D	12.5	8	8	21.37± 0.51	26.00± 1.30	1.50± 0.53*	50.0
	25.0	8	8	22.00± 0.93	25.75± 2.05	1.19± 0.37	60.0

与对照组比较: * *P* < 0.01

表 6 内折素和内折素 D对 S₈₀小鼠实体瘤的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	8	8	19. 13± 0. 99	23. 25± 1. 66	2. 69± 0. 46	—
5-Fu	20	8	8	20. 63± 0. 74	23. 00± 1. 41	1. 25± 0. 53 [*]	53. 53
内折素	12. 5	8	8	20. 37± 0. 51	22. 88± 1. 55	2. 06± 0. 42 [*]	23. 40
	25. 0	8	8	20. 13± 0. 83	22. 25± 1. 00	1. 38± 0. 44 [*]	48. 70
内折素 D	12. 5	8	8	18. 50± 0. 53	21. 50± 1. 77	1. 93± 0. 42	28. 25
	25. 0	8	8	19. 88± 0. 98	22. 50± 1. 19	1. 31± 0. 37	51. 30

与对照组比较: * P < 0. 01

表 7 内折素和内折素 D对小鼠腹水瘤 HCA(肝癌)的作用

组别	剂 量 (mg/kg° d)	动物数		体重 (g)		瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	—	8	8	19. 37± 0. 74	24. 87± 1. 45	3. 19± 0. 37	—
5-Fu	20	8	8	19. 12± 0. 64	23. 75± 1. 83	1. 31± 0. 37	58. 93
内折素	12. 5	8	8	21. 25± 0. 70	25. 62± 1. 42	1. 75± 0. 26	45. 14
	25. 0	8	8	19. 00± 0. 53	23. 50± 2. 13	1. 56± 0. 32 [*]	51. 10
内折素 D	12. 5	8	8	20. 75± 0. 71	24. 00± 2. 16	1. 69± 0. 46 [*]	47. 02
	25. 0	8	8	18. 88± 0. 64	23. 25± 2. 25	1. 44± 0. 42	54. 86

与对照组比较: * P < 0. 01

由表 2~ 7可以看出,内折素和内折素 D在剂量为 12. 5 mg /kg 时,对实体型及腹水型肿瘤表现有一定抑制作用;而剂量为 25 mg /kg 时,疗效提高,表现出明显抗肿瘤作用,与对照组相比 P < 0. 01

2. 3 内折素和内折素 D对小鼠溶血素的影响: 见表 8 结果表明,对照组的最大溶血稀释度为 1∶ 512,内折素和内折素 D各两剂量组的最大稀释度分别为 1∶ 512和 1∶ 256,表明内折素和内折素 D在 25 mg /kg 时对以溶血素反应为指标的体液免疫可能有轻度抑制作用。

表 8 内折素和内折素 D对小鼠溶血素形成的影响

组别	剂量 (mg /kg° d)	最大溶血稀释度
对照组	—	1∶ 512
5-Fu	15	1∶ 32
内折素	12. 5	1∶ 512
	25. 0	1∶ 256
内折素 D	12. 5	1∶ 512
	25. 0	1∶ 256

与对照组比较: * P < 0. 05

2. 4 对 DNCB诱导的小鼠迟发性超敏反应的影响: 由表 9可以看出,内折素和内折素 D与正常组相比,两剂量组的耳肿胀度、脾指数和胸腺指数均无

表 9 内折素和内折素 D对 DNCB诱导的小鼠迟发性超敏反应的影响

组别	动物数	耳肿胀度 (mg)	脾指数 (mg /g)	胸腺指数 (mg /g)
对照组	8	1. 52± 0. 24	81. 11± 7. 85	42. 15± 4. 07
5-Fu	8	2. 03± 0. 28 [*]	42. 06± 8. 86 [*]	19. 03± 3. 09 [*]
内折素	8	1. 68± 1. 32	74. 43± 8. 07	38. 88± 5. 31
	8	1. 66± 1. 51	74. 62± 7. 43	40. 25± 3. 00
内折素 D	8	1. 65± 1. 44	75. 13± 7. 16	41. 38± 2. 24
	8	1. 66± 1. 30	76. 20± 7. 32	41. 50± 2. 45

与对照组比较: * P < 0. 05

差异 (P> 0. 05),表明内折素和内折素 D对小鼠体内细胞免疫无明显作用。

3 讨论

小鼠肝癌 (HCA)、肉瘤 (S₈₀)、Lewis肺癌和艾氏腹水癌 (ECA)均为抗肿瘤药物筛选实验中常用的动物移植性肿瘤模型,作者采用瘤株,进行了内折素和内折素 D的抗肿瘤作用实验。用小鼠溶血素实验和 DNCB诱导的小鼠迟发性超敏反应实验观察内折素和内折素 D对小鼠的机体免疫状态的影响。

其抗肿瘤作用从体内、外实验结果来看,其具有较强的抗肿瘤作用,且抗瘤谱较广,能抑制 Lewis肺癌、肉瘤 S₈₀实体型以及肝癌 HCA实体型等实体瘤的增长,也能明显延长荷肉瘤 S₈₀腹水型、荷肝癌 (HCA)腹水型和艾氏腹水癌 (ECA)小鼠的生命延长率,其抗肿瘤作用的强弱呈现剂量依赖性。内折素和内折素 D相比,抗肿瘤作用内折素 D比内折素强。从对机体免疫机能影响的实验结果来看,内折素和内折素 D对小鼠细胞免疫无影响,在 25 mg /kg

剂量时,对小鼠溶血素水平有较轻微抑制,表明在该剂量时,本品对小鼠的体液免疫有较轻微的影响。

从内折素和内折素 D 体内和体外实验来看,显示出较强的抗肿瘤作用,而免疫结果又表明,对机体免疫机能没有明显影响,而由于内折素和内折素 D 是由内折香茶菜中提取分离而得,内折香茶菜资源丰富,表明内折素和内折素 D 具有较好的临床应用

价值,可作为一种有前途的抗肿瘤药物值得进一步深入研究与开发。

参考文献:

[1] 李继成,叶启霞,杨丽嘉,等. 内折香茶菜乙素抗肿瘤作用的研究 [J]. 中草药, 2000, 31(9): 681-683.

[2] 李继成,袁宝梅,沈晓羽,等. 内折香茶菜素的化学结构 [J]. 云南植物研究, 1993, 15(3): 291.

[3] 李继成,苏金玲,方桂远,等. 21届国际天然产物化学论文集 [C]. 北京: 1998, 1-20.

红花抗衰老作用的实验研究

张明霞¹,李效忠¹,赵磊²,赵惠¹,许春香¹
(1. 河北医科大学,河北 石家庄 050031; 2. 邯郸市医学专科学校 药理教研室,河北 邯郸 056029)

摘要: 目的 研究红花的抗衰老作用。方法 采用小鼠游泳实验、耐常压缺氧实验和耐寒实验等方法观察了红花对小鼠抗疲劳、抗缺氧和抗寒能力的影响,并采用 TBA 显色法观察了红花对中老龄大鼠体内的过氧化脂质生成的影响。结果 红花可显著延长小鼠游泳时间(t_s)及在常压缺氧和寒冷条件下的存活时间(t_l),增强小鼠在各种不利环境下的生存能力,并明显抑制中老龄大鼠体内过氧化脂质(LPO)的生成。结论 结果表明红花有抗衰老作用。

关键词 红花;生存能力;过氧化脂质;抗衰老

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2001) 01- 0052- 02

Experimental studies on antisenility effect of *Carthamus tinctorius*

ZHAN G Ming-xia¹, LI Xiao-zhong¹, ZHAO Lei², ZHAO Hui¹, XU Chun-xiang¹

(1. Hebei University of Medical Sciences, Shijiazhuang Hebei 050031, China; 2. Department of Pharmacology, Handan Medical Special College, Handan Hebei 056029, China)

Key words *Carthamus tinctorius* L.; ability of living; lipid peroxides (LPO); antisenility

衰老不仅表现为生命活力的降低,而且还伴有各组织器官退行性变化及许多病理过程的发生。祖国医学认为,气虚血瘀是人体衰老的本质之一,从活血祛瘀着手,改善机体微循环,消除各脏器的瘀血现象,可有效地防治老年病和延缓衰老。红花 *Carthamus tinctorius* L. 为菊科一年生草本植物,具活血通络、改善微循环和抑制血小板聚集等多方面药理作用^[1]。《本草纲目拾遗》一书中记载红花曾被用作活血化瘀和延年益寿的药茶^[2]。金鸣等报道红花水提液有抗氧化作用,可清除羟自由基及抑制脂质过氧化反应^[3],另有报道红花有免疫增强作用^[4],但尚未见到有关其抗衰老作用的研究报道,我们对此进行了初探。

1 实验材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雄性,18~ 22 g,购自河北医科大学实验动物中心;Wistar大鼠,12月龄,雄

性,280~ 320 g,购自河北省医科院实验动物中心。

1.2 药品:红花水煎液(自制),每毫升相当于生药 0.6 g

2 方法与结果

2.1 对小鼠耐常压缺氧能力的影响(常压缺氧实验法^[5]):小鼠 30只,随机分成 3组:①生理盐水对照组②红花水煎液高剂量组(生药量 12 g/kg),③红花水煎液低剂量组(生药量 6 g/kg),每组 10只。分别 ig 给药,每天 1次,连续 7 d,于末次给药后 1 h,将小鼠放于盛有 10 g 钠石灰的 125 mL 广口瓶中,密封。记录各鼠在缺氧条件下的存活时间(t_l)。结果给药组小鼠 t_l 明显延长,与对照组比较有显著性差异(见表 1)。

2.2 对小鼠耐寒能力的影响(耐寒实验法^[5]):小鼠 30只,按 2.1法随机分组。给药 于末次给药后 1 h,将小鼠(单只入笼)放入 - (5± 1)℃低温冰箱内进

② 收稿日期: 2000-03-15
基金项目: 河北医科大学青年教师科研基金资助项目
作者简介: 张明霞(1964-),女,河北省献县人,讲师,学士学位,毕业于河北医科大学(原河北医学院)药学专业,现在河北医科大学基础医学院药理教研室工作。 Tel (0311) 5888832