

供血供氧,同时扩张外周血管,外周阻力下降,调整心血管的顺应性,对心血管系统起到调整和改善作用。

牛黄降压丸具有清心化痰、镇静降压之功效,其特点降压平稳持久,安全可靠,明显改善高血压病人症状,提高生活质量,降低高血压病所引起的动脉硬化、心绞痛、中风、心肌梗死、肾衰等并发症的发病

率。牛黄降压丸在抗高血压的同时能改善心功能的机制有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 第 10版. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [2] 周春芬. 高血压病人系统管理与疗效观察 [J]. 中国慢性病预防与控制, 1998, 6(3): 120-122.

青蒿琥酯对体外人癌细胞 HeLa SACC-83细胞增殖的影响

张居馨, 王士贤, 张富庚, 张玉华, 刘爱恒*

(天津市医药科学研究所 生物技术室, 天津 300070)

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)04-0345-02

青蒿琥酯是青蒿素的衍生物,为二氢青蒿素的 12- α 琥珀酸酯钠。青蒿琥及其衍生物具有抗疟疾、抗焦虫、抗血吸虫及抗肿瘤等药理活性以及临床的疗效。其抗疟机制被认为是该药化学结构含有过氧桥,在代谢过程中产生自由基的构效特点,使红细胞 O_2 和 H_2O_2 活性氧浓度升高^[1]。鉴于该化学结构中含有过氧桥,在组织有可能释放氧的机制,我们研究了青蒿琥酯对体外培养的人癌细胞系 HeLa SACC-83细胞增殖的影响。

1 材料

1.1 药物及试剂: 青蒿琥酯,广西桂林制药二厂提供,白色粉剂,用前溶于 2 mL 5% $NaHCO_3$ 溶液中,经过滤除菌,用 RPMI-1640 培养液稀释。MISO,放射增敏剂,中科院生物物理研究所沈洵教授惠赠,用前溶于 RPMI-1640,过滤除菌后,终浓度为 1×10^{-3} mol/L。MTT, Gibco 公司产品,临用前现配制 DMSO(二甲基亚砷), Gibco 公司产品。

1.2 仪器: 德国贺利氏 CO_2 培养箱,日本 Olympus 倒置显微镜,芬兰 Labsystem MS MK3 ELISA 检测仪。

1.3 细胞系及培养条件: 人肝癌细胞系 BEL-7402,北京市肿瘤医院研究所提供。人乳癌细胞系 BCH,人胃癌细胞系 MGC-803,北京市肿瘤医院研究所提供。人涎腺样囊性癌细胞系 SACC-83,北京医科大学口腔医学院提供。人舌鳞癌细胞系 TC-83,天津医科大学肿瘤医院提供。人宫颈癌细胞系 HeLa,本生

物技术室提供。

2 实验方法

2.1 细胞敏感筛选实验: 各细胞系传代至指数增殖期,经扩增培养,胰酶-EDTA 消化后,计数后配成 5×10^4 cfu/mL,接种于 96 孔板,培养液为 15% FCS RPMI-1640, 5% CO_2 , 37℃ 下培养,试验组分别加入青蒿琥酯(终浓度为 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/mL),对照组细胞加入 RPMI-1640,继续培养 48 h,在终止前 4 h,换成无血清 PRIM-1640 液,加入 MTT 2 mg/mL,培养 4 h,移液,加入 DMSO,振荡, Labsystem MS MK3 ELISA 仪 570 nm 测各细胞系的吸光度(A)。

2.2 细胞增殖 MTT 分析实验: 指数增殖期细胞接种,细胞数 2×10^5 cfu/mL, 5% CO_2 , 37℃, 孵育 4 h,待贴壁, HeLa 细胞系青蒿琥酯 12.5~100 μ g/mL 浓度范围, SACC-83 细胞系青蒿琥酯 25~100 μ g/mL 浓度范围,不同浓度药物分别与培养 20, 44, 68 h 的细胞接触,于不同时期(20, 44, 68 h)按 Mosman 法^[2],采用 Labsystem MS MK3 ELISA 仪 570 nm 测两种细胞系的 A 值。

2.3 统计学处理: 按 *t* 检测比较实验和对照各组的 A 值(细胞生存),采用线性回归计算 IC_{50} 。

3 实验结果

3.1 敏感细胞系: 各细胞系经 ELISA 检测筛选,淘汰不敏感的细胞株,青蒿琥酯敏感细胞系为人宫颈癌细胞系 HeLa 和人涎腺样囊性癌细胞系 SACC-

83 青蒿琥酯对 HeLa细胞的药物有效浓度从 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 开始,而对 SACC-83细胞的效浓度从 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 开始

3.2 青蒿琥酯对 HeLa细胞不同时相细胞活性的影响: 青蒿琥酯在 12.5~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围对 HeLa细胞接触 20, 44, 68 h 各时相细胞存活率明显不同, 与 HeLa细胞接触 44~68 h 时相左右是药物细胞毒活性最佳时期, 44 h 时相的细胞毒作用最明显 (12.5~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $P < 0.05$; 50~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $P < 0.01$), 而 68 h 时相各剂量与细胞毒性呈正相关, 见图 1

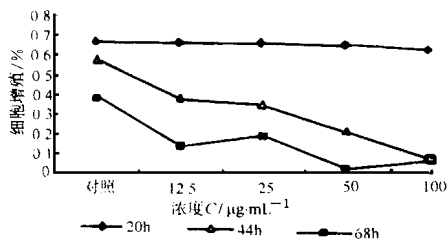


图 1 青蒿琥酯对 HeLa细胞不同时相细胞活性的影响 ($n=8$)

3.3 青蒿琥酯对 SACC-83细胞不同时相细胞活性的影响: 青蒿琥酯在 25~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围对 SACC-83细胞接触 20, 44 h 时相细胞存活率不同, 药物与 SACC-83细胞接触 20~40 h 时相左右是药物细胞毒活性最佳时期, 20 h 时相低剂量作用不明显 (50~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度, $P < 0.01$), 而 44 h 时相各剂量都显示较明显的细胞增殖抑制活性 (25~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度, $P < 0.01$), 见图 2

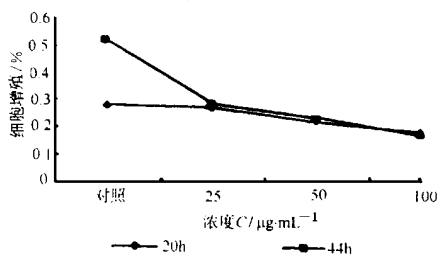


图 2 青蒿琥酯对人癌 SACC-83细胞不同时相细胞活性的影响 ($n=8$)

3.4 青蒿琥酯对体外 HeLa和 SACC-83人癌细胞

增殖的抑制作用: 实验表明, 青蒿琥酯对 HeLa细胞的生长抑制作用在 44 h 时相对 HeLa细胞增殖抑制率最高为 93.86%, 青蒿琥酯对 HeLa细胞的 IC_{50} 为 37.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 在 68 h 时相对 HeLa细胞增殖抑制率最高为 86.21%, 青蒿琥酯对 HeLa细胞的 IC_{50} 为 37.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 在 44 h 时相青蒿琥酯对 SACC-83细胞生长抑制率最高为 67.31%, 青蒿琥酯对 SACC-83细胞的 IC_{50} 为 30.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图 3)

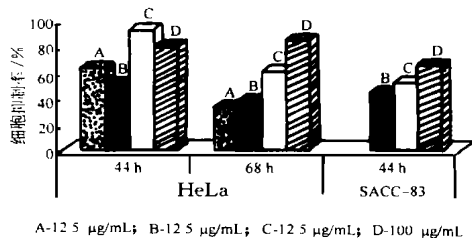


图 3 青蒿琥酯对 HeLa和 SACC-83细胞增殖的抑制

4 讨论

文献报道, 青蒿酯钠在体外对小鼠 P388细胞、HeLa细胞、人肝癌 SMMC-7721细胞、人鼻咽低分化鳞癌 CNE2、SUNE-1及体内抑瘤实验对肝癌、网状红细胞肉瘤及裸鼠移植人鼻咽癌等有肿瘤抑制作用^[3,4]。本实验初步证明青蒿琥酯对人宫颈癌细胞系 HeLa细胞抑制 IC_{50} 在 37 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右, 而对人涎腺样癌细胞 SACC-83的 IC_{50} 在 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右, 提示青蒿素衍生物有选择性杀伤癌细胞的作用。青蒿素类药是我国首先发现的高效、低毒的抗疟药, 鉴于青蒿琥酯分子中含有过氧基团, 其抑制肿瘤的作用是否与其结构中过氧桥在组织中可能释放出氧的机制有关, 还需要进一步深入探讨。

参考文献:

- [1] 蔺福宝. 青蒿素衍生物对红细胞的过氧化作用 [C]. 北京: 中国生物物理学会论文汇编, 1986.
- [2] Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. J Immunol Methods, 1983, 65: 55-58.
- [3] 邓定安, 许承辉, 蔡俊超, 等. 有抗肿瘤活性的青蒿 β 衍生物 [J]. 药学报, 1992, 27(4): 317-319.
- [4] 杨小平, 潘启超, 梁永钊, 等. 青蒿酯钠的抗肿瘤作用 [J]. 癌症, 1997, 16(3): 186-190.

1999年中国科技论文统计分析报告新闻发布: 按全国 1372种主要科技期刊总被引频次排序, 《中草药》杂志名列全国期刊第 18名。