

本实验证实了西红花苷对过氧化氢所致内皮细胞凋亡有保护作用,但其对基因表达或调控的影响还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Marie-Rose Van Calsteren, Martine C Bissonnette, Francois Cormier, *et al.* Spectroscopic characterization of crocetin derivatives from *Crocus sativus* and *Gardenia jasmnoides* [J]. *Agric Food Chem*, 1997, 45: 1055-1061.

[2] Rios J L, Recio M C, Giner R M. An update review of saffron and its active constituents [J]. *Phytother Res*, 1996, 10: 189-194.

[3] Alan Mortensen, Leif H Skibsted. Importance of cartenoid structure in radical-scavenging reactions [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 2970-2977.

[4] Nair S C, Panikar B, Pannikar K R. Antitumor activity of saffron [J]. *Cancer Lett*, 1991, 57: 109-116.

[5] Minoru Sugiura, Yukihiro Shoyama, Hiroshi Saito, *et al.*

Crocic prevents the inhibitory effect of ethanol on long-term potentiation in the dentate gyrus *in vivo* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1994, 271(2): 703-707.

[6] Thanh Quan Pham, Francois Cormier, Edward Farnworth, *et al.* Antioxidant propeties of crocin from *Gardenia jasmnoides* Ellis and study of the reactions of crocin with linoleic acid and crocin with oxygen [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 1455-1461.

[7] 章静波. 细胞生物学实用方法与技术[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996.

[8] 卢青, 刘冀珑, 陈大元. 胞质钙信号[J]. *生命化学*, 1999, 19(2): 78-82.

[9] Li P F, Christian Maasch, Hermann Haller, *et al.* Requirement for protein kinase C in reactive oxygen species-induced apoptosis of vascular smooth muscle cells [J]. *Circulation*, 1999, 100: 967-973.

[10] 张陆勇, 季慧芳, 周素娣, 等. 西红花总苷对鹌鹑实验性动脉粥样硬化的影响[J]. *中国药科大学学报*, 1999, 30(5): 383-386.

一种真菌菌丝体甲醇提取物—A7 的抗肿瘤活性研究

逯海燕¹, 郭顺星^{1*}, 林 晨², 张雪艳², 付 明², 梁 肖², 于能江¹

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 中国医学科学院 中国协和医科大学肿瘤研究所, 北京 100021)

摘要:目的 研究一种真菌菌丝体甲醇提取物—A7 的抗肿瘤活性。方法 MTT 法观察 A7 对人 BEL-7402 肝癌细胞、HCT-8 结肠癌细胞、SPC-A-1 肺腺癌细胞、GLC-82 肺腺癌细胞和 EC-109 食管癌细胞的生长抑制作用; 以小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀ 模型, 观察 A7 的体内抗肿瘤作用。结果 A7 对前述癌细胞的半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 0.8, 1.7, 4.7, 5.0, 7.6 μg/mL, 均小于 10 μg/mL; 动物实验表明, 50 mg/kg A7 对 S₁₈₀ 实体肉瘤的抑制率达 46.8% (P < 0.001)。结论 A7 在体外和体内都具有一定的抗肿瘤活性。

关键词: 真菌菌丝体; 抗肿瘤; MTT 分析; S₁₈₀ 实体肉瘤

中图分类号: R 286. 91 文献标识码: A 文章编号: 0253 - 2670(2002) 05 - 0442 - 03

Studies on antitumor activity of A7 extracted from one fungal mycelium

LU Hai-yan¹, GUO Shun-xing¹, LIN Chen², ZHANG Xue-yan²,
FU Ming², LIANG Xiao², YU Neng-jiang¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 2. Institute of Cancer, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Key words: fungal mycelia; antitumor activity; MTT assay; S₁₈₀ sarcoma

真菌发酵产物具有增强机体免疫力、抗辐射和抗肿瘤等生物活性, 日益受到人们的普遍关注。自然界中真菌种类繁多, 真菌发酵产物是研究、发现新化合物和开发研制新药的重要天然宝库。*Calcarisp orium arbuscula* Preuss 是我室从四川野生灵芝子实体中分离纯化获得的一种真菌, 我们对其发酵获得的

菌丝体甲醇提取物进行了体外和体内抗肿瘤活性实验研究。

1 材料

1.1 药品: 菌丝体, 由本室发酵获得。菌丝体浸膏 A7 的制备: 将菌丝体干燥后研成粉状, 用 75% 甲醇提取并浓缩得粘稠浸膏, 2.6 kg 菌丝体得 410 g

* 收稿日期: 2001-10-07

作者简介: 逯海燕(1975-), 女, 山东潍坊人, 博士研究生, 1997 年毕业于山东医科大学药理学系, 同年考入协和医科大学攻读硕士研究生和博士研究生, 研究方向为抗肿瘤药理。Tel: 13681518997 E-mail: haiyan-lu@hotmail.com

* 通讯作者 E-mail: shunxing.guo@bj.col.com.cn clin@public.bta.net.cn

浸膏。MTT 由 Sigma 公司生产。DMSO 由北京化工厂生产。

1.2 仪器: EL 312e 型酶标检测仪, 由 Bio-TEK 公司生产。

1.3 动物及瘤源: 健康昆明种小鼠, 雌性, 体重 18~22 g, 由中国医学科学院肿瘤研究所实验动物室提供。S₁₈₀腹水型肉瘤由中国医学科学院肿瘤研究所传代保存。BEL-7402、GLC-82、SPC-A-1、EC-109、HCT-8 癌细胞系均由中国医学科学院肿瘤研究所分子肿瘤学国家重点实验室提供。

2 方法与结果

2.1 A7 对肿瘤细胞的生长抑制作用: 采用 MTT 法^[1-3], 取处于对数生长期的 BEL-7402、HCT-8、SPC-A-1、GLC-82、EC-109 癌细胞系, 用 RPMI 1640 培养基稀释为 3×10^4 /mL, 按每孔 100 μ L 种入 96 孔板。37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 条件下培养 24 h 后加样品 A7, 设 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 μ g/mL 5 个浓度, 同时设空白对照组和对照组, 每组设 3 个平行孔。37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 条件下培养 96 h 后, 弃去孔中培养液, 每孔加用无血清 RPMI 1640 稀释 10 倍的 MTT (0.5 mg/mL) 150 μ L, 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 条件下培养 4 h, 弃去 MTT 液, 每孔加 DMSO 150 μ L 溶解甲肽, 酶标仪检测 A₅₇₀, 按抑制率 = (给药组平均 A 值 - 空白对照组平均 A 值) / (对照组平均 A 值 - 空白对照组平均 A 值) \times 100% 计算 A7 对几种肿瘤细胞的生长抑制率, 并通过浓度-抑制率曲线求 IC₅₀。结果显示, 当样品作用 96 h 时, A7 对 BEL-7402、HCT-8、SPC-A-1、GLC-82 和 EC-109 癌细胞生长抑制作用的 IC₅₀ 分别为 0.8, 1.7, 4.7, 5.0 和 7.6 μ g/mL, 均低于 10 μ g/mL, 可见 A7 对肿瘤细胞具有明显的抑制作用, 见图 1。

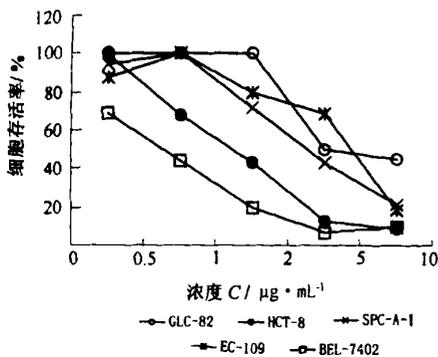


图 1 A7 对几种肿瘤细胞系生长抑制作用的量效关系曲线

2.2 A7 的体内抑瘤活性实验^[4]: 于每只小鼠的右

腋下常规接种 S₁₈₀ 肉瘤细胞悬液 (2×10^7 /mL) 0.2 mL, 接种后随机分为对照组和给药组, 每组 10 只, 接种 24 h 后, 给药组小鼠 ip A7 溶液 50 mg/kg, 对照组小鼠 ip 等量生理盐水, 连续给药 8 d。末次给药 24 h 后, 颈椎脱臼处死小鼠, 剥离出瘤块称重, 计算抑瘤率, 抑瘤率 = (对照组平均瘤重 - 给药组平均瘤重) / 对照组平均瘤重 \times 100%, 采用 t 检验比较组间差异。结果显示, ip 50 mg/kg A7 可显著抑制 S₁₈₀ 实体肉瘤的生长, 抑瘤率为 46.8% ($P < 0.001$)。给药组的平均体重在实验前后无明显改变, 说明 A7 无明显毒性, 见表 1。

表 1 A7 水溶液对 S₁₈₀ 实体肉瘤的生长抑制作用

组别	剂量 (mg/kg)	动物数		平均体重 (g)		平均瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
		始	末	始	末		
对照组	-	10	10	19.6	20.1	2.63 \pm 0.832	-
给药组	50	10	10	19.5	19.6	1.40 \pm 0.457*	46.8

与对照组比较: * $P < 0.001$

3 讨论

肿瘤严重威胁着人类的生命健康, 世界各国都投入大量人力物力开发研制新的高效抗肿瘤药。化学治疗在肿瘤治疗中起着不可替代的作用, 寻找高效低毒的抗肿瘤化疗药是许多药学工作者的追求。

从动植物组织中可以提取获得结构独特而作用机制新颖的抗肿瘤化合物, 但受资源限制很大, 且易破坏自然植被, 破坏生态环境。利用发酵法从真菌中获得原料药, 具有大规模发酵生产和容易控制质量等特点。过去从真菌发酵产物中开发的抗肿瘤药大多是一些多糖类化合物, 通过提高人体免疫力来抗肿瘤^[5,6]。自然界存在的真菌种类繁多, 从这些真菌的发酵产物中是否能寻找到作用机制新颖的抗肿瘤成分, 是开发抗肿瘤新药的基础工作。我们利用 MTT 法对 43 种真菌的发酵产物——菌丝体和发酵液共 86 个样品进行初筛, 从中找到 3 个对实验所用癌细胞系敏感的样品, 并对效果最好的样品 A7 进行了深入研究。

采用 MTT 法对 A7 的体外抑瘤活性进行了研究, 结果显示 A7 对上述肿瘤细胞系的 IC₅₀ 均低于 10 μ g/mL, 其中 BEL-7402 肝癌细胞系对 A7 最敏感, 提示 A7 的抑瘤活性具有一定的选择性, 可选择 BEL-7402 肝癌细胞系作为敏感细胞系, 对 A7 抑瘤活性和作用机制作更深入的研究, 有望从中找到对肝癌有特效的抗癌新药。

A7 的体内抑瘤活性实验结果显示, 当 ip 50 mg/kg A7 水溶液时, 对 S₁₈₀ 实体肉瘤的抑瘤率达

46.8% ($P < 0.001$)。说明 A7 具有显著的体内抑瘤活性。

参考文献:

- [1] Hussain R F, Nouri A M E, Oliver R T D. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay [J]. *J Immunol Methods*, 1993, 160(1): 89-96.
- [2] Carmihaei J, Degraff W C, Gazxdar A F, *et al.* Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity [J]. *Cancer Res*, 1987, 47: 936-

942.

- [3] Ebisuno S, Inagaki T, Kohjimoto Y, *et al.* The cytotoxic effect of fleroxacin and ciprofloxacin on transitional cell carcinoma *in vitro* [J]. *Cancer*, 1997, 80(12): 2263-2267.
- [4] 陈宏, 曾凡波, 雷学锋, 等. 茯苓多糖的抗肿瘤作用及其机理的研究 [J]. *中药药理与临床*, 1995, (2): 33-35.
- [5] 李敏民. 真菌多糖抗肿瘤研究简况 [J]. *江西中医药*, 1985, (5): 59-61.
- [6] 曾庆田, 赵军宁, 邓治文. 金针菇多糖的抗肿瘤作用 [J]. *中国食用菌*, 1998, 10(2): 11-13.

精血归颗粒对初老雌性大鼠生殖器官抗氧化作用的实验研究

陈红¹, 张庆文¹, 唐怡¹, 武权生^{2*}

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610075; 2. 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 研究精血归颗粒改善围绝经期生殖器官衰老状况的作用机制。方法 将初老雌性大鼠随机分为 5 组, 设精血归颗粒高、中、低剂量组, 尼尔雌醇阳性对照组, 初老空白组; 另设青年空白组。检测生殖器官 MDA 含量, SOD 活力。结果 精血归颗粒能降低生殖器官 MDA 含量, 提高 SOD 活力, 与初老空白组相比具有极显著性差异 ($P < 0.01$), 作用类于尼尔雌醇, 并达到青年空白组水平。结论 “填补精血, 濡润阴器”之精血归颗粒能提高初老雌性大鼠生殖器官的 SOD 活力, 减少 MDA 的堆积, 增强其抗氧化作用, 从而改善生殖器官的衰老状况。

关键词: 围绝经期; 生殖器官; 精血归颗粒; 初老雌性大鼠; SOD; MDA; 抗氧化作用

中图分类号: R286.75 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)05-0444-02

Experimental study on improving antioxidation of reproductive organs of praesenilis female rats with JINGXUEGUI GRANULE

CHEN Hong¹, ZHANG Qing-wen¹, TANG Yi¹, WU Quan-sheng²

(1. Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan 610075, China; 2. Gansu College of TCM, Lanzhou Gansu 730000, China)

Key words: perimenopause; reproductive organs; JINGXUEGUI GRANULE; praesenilis female rat; superoxide dismutase (SOD); malonyl dialdehyde (MDA); antioxidation

围绝经期由于卵巢功能逐渐减退, 雌激素水平低下, 由雌激素支配的靶器官出现萎缩性退化, 生殖器官逐渐衰老, 正常的性生活能力下降, 严重影响其生活质量。现代医学多采用雌激素替代疗法, 但其有一定的副作用和禁忌症^[1]。本课题组从实践中提出绝经前后“肝肾不足, 精血双亏, 阴器失于濡养”这一病理机制, 并提出“填补精血, 濡润阴器”的治疗方法, 拟方精血归以改善围绝经期妇女生殖器官的衰老状况, 为绝经期后妇女健康的性生活提供良好的内环境。本研究通过检测精血归颗粒对初老雌性大鼠生殖器官超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 的影响, 探讨中医药改善围绝经期妇女生殖器官衰老状况的多途径作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物: Wistar 雌性大鼠 60 只, 其中 50 只为 15 月龄, 体重 (332.19 ± 30.78) g, 另 10 只, 约 3 月龄, 体重 (206 ± 20.11) g, 由重庆第三军医大学大坪医院实验动物中心提供, 实验动物合格证号: 川实动管质第 050 号。大鼠全价颗粒饲料由成都中医药大学实验动物中心提供。实验中保持室温: 16 ~ 20, 相对湿度 65% ~ 75%, 动物购回后驯养 1 周进行实验。

1.2 药物: 精血归颗粒药物组成: 熟地、当归、白芍、山茱萸等。精血归颗粒浸膏: 成都中医药大学附属医院制剂室提供, 批号: 990526。每毫升含生药 5 g, 用蒸馏水稀释为不同的浓度备用。尼尔雌醇: 上海华联

* 收稿日期: 2001-12-24

基金项目: 四川省教育厅科研基金资助项目 (1995026)

作者简介: 陈红 (1969-), 女, 四川泸州人, 主治医师, 1991 年毕业于泸州医学院获学士学位, 同年工作于泸州医学院附属医院, 2000 年毕业于成都中医药大学临床医学院, 获医学硕士学位, 同年于广州中医药大学攻读博士学位, 专业: 中西医结合临床。