

- [1] Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Microwave-assisted process (MAP<sup>TM</sup>): a new tool for the analytical laboratory [J]. Trends in Anal Chem, 1994, 13(4): 176
- [2] Guo Z K, Jin Q H, Fan G Q, *et al.* Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine *Radix pueraride* [J]. Analytica Chimica Acta, 2001(436): 41.
- [3] 缪宏良. 微波辐射诱导萃取天然香料 [J]. 上海轻工业, 1994, (1): 29-32
- [4] Molins C, Hogendoorn E A, Heusinkveld H A G, *et al.* Microwave assisted solvent extraction (MASE) for the efficient determination of triazines in soil samples with aged residues [J]. Chromatographia, 1996, 43(9-10): 527-532.
- [5] Onuska F E, Terry K A. Extraction of pesticides from Sediments using a microwave technique [J]. Chromatographia, 1993, 36 191-194.
- [6] 熊国华, 梁今明, 邹世春, 等. 微波萃取土壤中 PAHs 的研究 [J]. 高等学校化学学报, 1998, 19(10): 1560-1565.
- [7] Xiong G H, Tang B Y, He X Q, *et al.* Comparison of microwave-assisted extraction of triazines from soils using water and organic solvents as the extractants [J]. Talanta, 1999, 48 (2): 333-339.
- [8] 郝金玉, 黄若华, 王平艳, 等. 微波萃取除虫菊酯 [J]. 精细石油化工, 2001(2): 48.

## 蝎毒抗癌多肽的研究进展

张文萍

(天津市医药科学研究所, 天津 300070)

蝎毒抗癌多肽 (antineoplastic polypeptide from *Buthus martensii venom*, APBMV) 是从东亚钳蝎蝎毒中提取分离的抗肿瘤有效部位, 对人食管癌、胃癌、喉癌、鼻咽癌及直肠癌细胞株等有显著的细胞杀伤和细胞毒性作用, 对肝癌、肺癌等有确切的疗效。目前该项研究越来越深入并从 APBMV 中又分离出单一成分蝎毒抗癌多肽组分 III (antineoplastic polypeptide-III from APBMV, AP-III), 纯度达 95%, 毒性较 APBMV 强约 16%, 具有抑制 H<sub>2</sub> 生长的作用, 高剂量的 AP-III 可增加带瘤小鼠胸腺重量, 提高机体的免疫功能。

### 1 蝎毒抗癌多肽的提取分离

蝎毒抗癌多肽<sup>[1]</sup>是河南医科大学生物毒素中心利用分子筛层析技术从东亚钳蝎粗蝎毒中分离出的抗肿瘤有效部位, 其相对分子质量在 6 000~7 000 之间。孔天翰等<sup>[2]</sup>对该部位用 HPLC 仪进行检测发现有 4 个峰, 说明 APBMV 并不是一个单一成分的多肽, 而是由 4 组多肽组成并带有不同电荷或电量的 APBMV。郭进武等<sup>[3]</sup>对 APBMV 进行了分离纯化条件的摸索, 选用 Sepharose FF 强阳性离子交换凝胶, 通过改变柱长和流速, 可得到不同的蝎毒样品。当选择柱长 25 cm, 直径 5 cm, 流速 0.2 mL/min 时出现有 3 个峰, 得到 APBMV, AP-III 纯度为 83% 且峰形低平; 当流速为 0.5 mL/min 时, 分离出 4 个峰, AP-III 纯度为 85%; 流速为 1.0 或 0.8 mL/min 时, 可得到 6 个峰, 纯度为 89%, 研究表明流速为 1.0 或 0.8 mL/min 是最佳的分离条件。孔天翰等<sup>[4]</sup>探讨了 AP-III 的分离和纯化方法, 将蝎毒预处理后, 分别采用 Sephadex FF 阳性离子交换凝胶柱层析法和 Sepharose FF 阳性离子交换凝胶柱与 Sephadex G-50 凝胶柱联合层析法, 从 APBMV 中分离 AP-III, 用 HPLC 仪检测两种方法分离出的 AP-III 的纯度及产量。结果表明: 前者的分离纯度及产量与郭进武等人的分离结果相同。而后的分离结果比前者的效果好, 其产率为 4.72%, 纯度为 95%。

### 2 蝎毒抗癌多肽的热稳定性

近年来研究显示生物毒素主要由多种肽类物质所组成, 其活性及毒力与温度有密切关系。随着温度的升高, 加热时间的延长, 毒素的毒力逐渐下降, 直至完全失活<sup>[5]</sup>。APBMV 对热是否稳定引起了专家的关注, 孔天翰等<sup>[6]</sup>利用紫外分光光谱、聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定了 APBMV 粉针剂的热稳定性, 结果显示 50℃~80℃ 范围内随着加热时间延长, 在波长 280 nm 处吸光度逐渐升高, 聚丙烯酰胺凝胶电泳主色带逐渐变浅, 但 pH 值、水溶性及外观色泽无明显变化。朱心强等<sup>[7]</sup>报道新鲜蝎毒煮沸 30 min, 其毒性基本未见破坏, 即使煮沸 120 min, 其 LD<sub>50</sub> 升高 1 倍左右, 仍有明显的毒性。两者研究结果基本一致, 由此可见蝎毒及其注射剂在常压下煮沸不易破坏。据上述结果, 注射用 APBMV 粉针剂在 4℃ 密闭、暗处储藏的情况下, 其保质期可暂定为 5 年<sup>[6]</sup>。

### 3 蝎毒抗癌多肽的药理研究

3.1 蝎毒抗癌多肽抑瘤作用: 蝎毒抗癌多肽对多种肿瘤均有抑制作用<sup>[1,8]</sup>, 尤对食管癌 (Eca109) 细胞株、人喉癌 (Hep-2) 细胞株及人直肠癌 (C1184) 细胞株有显著的细胞杀伤和细胞毒性作用; 明显延长腹腔接种艾氏腹水癌小鼠的生存期; 抑制小鼠肉瘤 37(S37) 的生长; 并可提高小鼠的细胞免疫功能, 连续注射 91 d APBMV, 对重要器官没有损害作用。董伟华等<sup>[9]</sup>以 APBMV 不同浓度处理 4 种肿瘤细胞 (人早幼粒细胞白血病细胞株 HL-60 人肝癌细胞株 SMMC-7721 人低分化鼻咽上皮癌细胞株 CNE-2Z 和人胃癌细胞株 MGC-803), 结果 APBMV 均有显著的细胞毒性和生长抑制作用。APBMV 对 HL-60 细胞的生长抑制作用以 48 h 为显著, 还可显著抑制 SMMC-7721 细胞的集落形成。另外 APBMV 对小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 和小鼠黑色素瘤 B<sub>16</sub> 均有明显的抑制作用, 抑制率均大于 30%, 与对照组相比差异显著 ( $P < 0.001$ ); APBMV 在高、中、低 3 个剂量组对 B<sub>16</sub> 具有显著的抑制作用, 其

抑制作用强于 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 经用 APBMV 处理的 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠外周血白细胞数及脾脏指数 (SI) 与对照组相比无明显变化; 用 5-Fu 处理后则使 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠白细胞数和 SI 明显减少, 与对照组及 APBMV 治疗组相比差异非常显著 ( $P < 0.001$ )。说明 APBMV 能有效抑制 H<sub>2</sub> 和 B<sub>16</sub> 的生长, 并有助于带瘤小鼠机体正常功能的维持<sup>[10]</sup>。研究证明 APBM 能够抑制人肝癌细胞株和小鼠肝癌细胞株的生长, 使克隆形成的能力下降, 其抑制作用与浓度和作用时间均有明显的依赖关系。APBMV 经实验治疗小鼠肝癌 H<sub>2</sub> 后, 带瘤小鼠外周白细胞计数和脾脏指数均比 5-Fu 治疗组明显升高, 在抑制肝癌 H<sub>2</sub> 的同时, 没有出现骨髓抑制等毒副作用。APBMV 可以引起鼻咽癌 CNE-2Z 细胞膜钾电位降低, 使 CNE-2Z 细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub> 期<sup>[11]</sup>。近年来的临床观察显示: 注射用的 APBMV 胸腔内肝动脉介入给药对肝癌、肺癌等有确切的疗效<sup>[12, 13]</sup>。韩雪飞等<sup>[14]</sup>研究了 APH 对肝癌 H<sub>2</sub> 的生长抑制作用及对带瘤小鼠胸腺重量的影响, 结果表明: APH 实验组和 APBMV 组对 H<sub>2</sub> 有明显的抑制作用, 与对照组比较有显著性差异 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ )。5-Fu 组胸腺重量低于对照组, 而 APH 实验组和 APBMV 组则高于或接近对照组。结果显示 APH 具有抑制 H<sub>2</sub> 生长的作用, 高剂量的 APH 还可增加带瘤小鼠的胸腺重量。

### 3.2 蝎毒抗癌多肽的免疫调节作用

3.2.1 蝎毒抗癌多肽与化疗药合用对免疫调节作用的影响: 董伟华等<sup>[15, 16]</sup>在研究中分别观察了单独给 APBMV、5-Fu 以及 APBMV 与化疗药 5-Fu 联合应用后带瘤小鼠免疫功能的变化。结果显示: APBMV 及 APBMV 与 5-Fu 联合应用可显著增强 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠 NK 细胞的活性, 提高其淋巴细胞转化指数, 增强二硝基苯基 (DNFB) 诱导的皮肤迟发超敏反应, 与对照组及单用 5-Fu 组有显著性差异; APBMV 可显著提高 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠外周血白细胞计数, 当其与 5-Fu 联合应用后亦能明显减轻 5-Fu 所致的白细胞减少, 使白细胞计数恢复接近对照组水平; 单用 APBMV 还可提高 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠血清溶血素水平。韩雪飞等<sup>[17]</sup>研究了 APBMV 对人低分化量咽癌上皮细胞 CNE-2Z 的毒性作用, 从而找出 APBMV 抑制鼻咽癌的最佳浓度。结果 APBMV 在 2~8 mg/L 浓度范围内, 生长抑制率 GL < 50%, CT > 50%, 其中在 3~6 mg/L 浓度范围内, CT > 68%, 与阴性对照组比较有显著差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 但剂量效应关系不明显。APBMV 对 CNE-2Z 具有较强的细胞毒性作用。

3.2.2 蝎毒抗癌多肽与放疗合用对免疫调节作用的比较: 孔天翰<sup>[18]</sup>观察了 APBMV 对放疗后肝癌小鼠瘤重以及对放疗引起的造血功能抑制和脂质过氧化等机体状况的影响。单独应用 APBMV 时, 对 H<sub>2</sub> 均保持较稳定的抑制作用, 抑瘤率最高可达 40.30%; APBMV 与放疗 (RT) 联用可维持较强的肿瘤抑制作用, H<sub>2</sub> 带瘤小鼠的瘤重显著下降, 肿瘤生长抑制率 (IR) 最高可达 78.28%, 对肿瘤的抑制作用显著优于单用 RT 和 APBMV 组。说明 APBMV 可能增加了肿瘤组织对射线的敏感性, 或是发挥了其本身对肝癌 H<sub>2</sub> 细胞的直接毒

性作用, 增强了射线对肿瘤细胞的杀伤效应; APBMV 具有一定程度的升白细胞和骨髓保护作用; APBMV 组带瘤小鼠的脾脏指数 (SI) 保持正常水平, APBMV 与 RT 合用 SI 亦高于 RT 组 ( $P < 0.05$ ), 说明 APBMV 可对抗辐射所引起的 SI 降低, 对脾脏有一定的保护作用; APBMV 能够加快清除照射后产生的自由基, 抑制辐射引发的脂质过氧化作用, 拮抗放疗引起的 SOD 活力下降, 提高机体的抗氧化能力。APBMV 不但能高选择性杀伤多种肿瘤细胞, 增强机体免疫力, 尚可减轻化疗对骨髓造血功能抑制的副作用, 增强正常组织对放疗抗辐射的能力。

3.3 蝎毒抗癌多肽的毒性研究: 董伟华等<sup>[19]</sup>对 APBMV 及其 AP-III 进行了毒性比较研究, 结果表明: 给小鼠注射大剂量的 APBMV 或 AP-III 1~5 min 后, 可出现尖叫不安、跳跃、添注射部位、多涎、呆滞、呼吸不规则、颈部立毛等行为的改变。随着给药时间的延长, 动物呈俯伏不动, 后肢痉挛性麻痹, 呼吸加速, 窒息, 惊厥直至死亡, 大部分动物的死亡时间均在注射后 90 min 之内。解剖死亡动物, 心、脑、肝、肺、胃、小肠等主要器官切片观察未见明显的病理改变。根据各组动物的给药剂量及死亡率, 测得 APBMV LD<sub>50</sub> 为 9.738 mg/kg, 95% 可信区间为 (9.738 ± 1.527) mg/kg; AP-III LD<sub>50</sub> 为 8.177 mg/kg, 95% 可信区间为 (8.17 ± 1.279) mg/kg。AP-III 的毒性较 APBMV 强约 16% 以上。从实验结果看出纯度增强则毒性加大, 但 AP-III 的抗肿瘤作用是否强于 APBMV 则有待进一步的研究。

### 4 不同剂型的 APBMV 对肿瘤细胞和免疫功能的影响

为了做好新药的申报工作, 以便为临床提供科学的依据, 孔天翰等<sup>[20]</sup>对 APBMV 的剂型进行了研究比较, 在试验中分别给予 3 种 APBMV 制剂 (针剂、胶囊、乳剂) 及 5-Fu。结果 5-Fu 对 H<sub>2</sub> 带瘤小鼠的抑瘤率最高, 可达 48.81%; APBMV 针剂对肿瘤的抑制率达 40.59% 与阴性对照组相比差异均有显著性 ( $P < 0.05$ )。APBMV 乳剂、针剂及胶囊组的脾重指数分别为 74.27, 71.42 及 73.31 mg/10 g, 与阴性对照组相比均有显著增加 ( $P < 0.01$ ); APBMV 乳剂及胶囊组的白细胞数分别达到  $14.2 \times 10^9/L$ ,  $14.36 \times 10^9/L$ , 与阴性对照组相比均有显著增加 ( $P < 0.01$ ), 而 APBMV 针剂组的白细胞数目为  $10.4 \times 10^9/L$ , 与阴性对照组相似, 但较阳性对照组显著增加 ( $P < 0.001$ )。结果表明 3 种 APBMV 制剂均可抑制肿瘤的生长, 促进脾脏功能, 升高白细胞数目及增强机体免疫力。APBMV 乳剂的药用量为 2.5 mg/kg, 仅为胶囊剂量的 1/4, 但两者在抑制肿瘤的生长、促进脾脏功能、升高白细胞数目及增强机体免疫功能等方面药效基本相同。另外, APBMV 乳剂的剂量与针剂之比为 5:1, 虽然乳剂在抑制肿瘤生长方面不如针剂疗效显著, 但其增强机体免疫力的效果明显优于针剂, 而针剂抑制肿瘤的效果又优于胶囊及乳剂。刘晓雯等<sup>[21]</sup>研究表明 APBMV 针剂对 H<sub>2</sub> 的抑制作用优于胶囊。APBMV 针剂单独给药以及 5-Fu 同时应用均能明显提高带瘤小鼠的 NK 细胞活性, 增强淋巴细胞转化率, 而 5-Fu 单用则无增强 NK 细胞活性作用, 也无提高淋巴

细胞转化率的作用。用 APBMV 针剂治疗后能显著增强 H<sub>2</sub>带瘤小鼠的免疫功能,提示 APBMV 针剂除可直接抑制肿瘤细胞的生长之外,还可增强免疫系统介导的肿瘤细胞杀伤作用。

### 5 结语

APBMV 可对抗或恢复肿瘤对宿主或化疗导致的免疫抑制或免疫缺损<sup>[14]</sup>。近十几年来科学家们对蝎毒的研究越来越深入,目前正在进行Ⅱ期临床的研究之中,在临床上用于治疗癌痛<sup>[22]</sup>。蝎毒抗癌多肽对多种肿瘤具有明显抑瘤作用,且有良好的免疫调节功能,与放疗药和化疗合用可降低放疗和化疗的毒副作用,因此,其具有成为新型抗癌中药的良好前景。

### 参考文献:

- [1] 孔天翰. 蝎与蝎毒 [M]. 郑州: 河南科学出版社, 1995.
- [2] 孔天翰, 肖桂元, 周少雄, 等. 7种蝎毒高效液相分析与毒理学研究 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 63-66.
- [3] 郭进武, 孔天翰, 董伟华, 等. Sepharose FF凝胶柱分离参数对蝎毒抗癌多肽纯化的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(4): 279-282.
- [4] 孔天翰, 郭进武, 肖桂元, 等. 蝎毒抗癌多肽组分Ⅲ的分离方法 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(4): 282-285.
- [5] 营佳, 陈维欣, 孙欣. 注射用精致蜂毒的稳定性研究 [J]. 中国生化药物杂志, 1994, (4): 275-276.
- [6] 孔天翰, 韩雪飞, 陈华艳, 等. 注射用蝎毒抗癌多肽热稳定性 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 49-51.
- [7] 朱心强, 郑一凡, 黄幸纤. 新鲜蝎毒汁的急性毒性与其热稳定研究 [J]. 卫生毒理学杂志, 1996, 10(4): 282-282.
- [8] 董伟华, 孔天翰, 郑智敏, 等. 马氏钳蝎蝎毒对艾氏腹水癌 (EAC)小鼠和 Hela细胞株的作用 [J]. 河南医科大学学报, 1993, (4): 298-301.
- [9] 董伟华, 孔天翰, 韩雪飞, 等. 蝎毒抗癌多肽对 4种人肿瘤细

- 胞的作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 52-53.
- [10] 董伟华, 孔天翰, 王成裕, 等. 蝎毒抗癌多肽对移植性肿瘤的抑制作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 61-63.
- [11] 董伟华, 韩雪飞, 魏玲, 等. 蝎毒抗癌多肽对肝肿瘤的抑制作用研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(2): 123-127.
- [12] 孙立冬, 候长安, 邓春禧, 等. 蝎毒抗癌因子介入性治疗晚期肝癌治疗观察 [J]. 河南医科大学学报, 1996, 31(3): 25-26.
- [13] 孙立冬, 候长安, 邓春禧, 等. 蝎毒抗癌因子胸腔给药治疗癌性腹水 23例近期疗效观察 [J]. 河南医科大学学报, 1996, 31(3): 22-24.
- [14] 韩雪飞, 王永奎, 陈华艳, 等. 蝎毒抗癌多肽纯化组分Ⅲ对小鼠肝癌的生长抑制作用及带瘤小鼠胸腺重量的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(4): 288-290.
- [15] 董伟华, 孔天翰, 雷留根, 等. 蝎毒抗癌多肽对肝癌小鼠免疫功能的影响 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 67-70.
- [16] 杨建斌, 李晓雯, 董伟化, 等. 东亚钳蝎毒抗癌多肽对 H<sub>2</sub>荷瘤小鼠免疫调节作用 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 736-739.
- [17] 董伟华, 韩雪飞, 王永奎, 等. 蝎毒抗癌多肽对人低分化鼻咽癌上皮细胞的抑制作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 58-61.
- [18] 孔天翰, 魏玲, 韩雪飞, 等. 蝎毒抗癌多肽对放疗后肝癌小鼠瘤重和一般状况影响的初步观察 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2000, 20(5): 313-316.
- [19] 董伟华, 韩雪飞, 郭进武, 等. 蝎毒抗癌多肽与其组分Ⅲ的毒性比较 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(4): 285-288.
- [20] 孔天翰, 董伟华, 周永安, 等. 3种抗癌多肽制剂抑制小鼠肝癌及增强免疫作用比较 [J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(1): 55-58.
- [21] 李晓雯, 宋国英, 陈辉, 等. 不同剂型的抗癌多肽对小鼠肝癌的抑制作用及带瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(34): 291-293.
- [22] 沈小玢, 许建中, 朱伟嵘, 等. 蝎毒注射液治疗癌痛 [J]. 中国癌症杂志, 2001, 11(3): 200-204.

## 中药现代化必须走标准化建设之路

王焕群<sup>1</sup>, 马树忠<sup>2</sup>, 马薇<sup>2</sup>

(1. 吉林省药物研究所, 吉林 长春 130062 2. 吉林天三奇药业有限公司, 吉林 长春 132200)

中医中药是我国的瑰宝, 中药产业是我国传统产业, 也是颇具优势和特色的新型产业。近年来, 由于我们在中药现代化进程中, 坚持了标准规范化建设, 中药产业取得了突飞猛进的发展, 不仅在我国医药事业的战略地位更显重要, 而且在国际医药市场的地位也愈加突出, 中药发展潜力巨大。

### 1 标准化建设是中药现代化的必要条件

多年来, 国家及相关部门十分重视和支持中药事业的发展, 曾先后实施了“中药现代化科技产业行动计划”、“中药现代化产业推进战略研究”, 对我国中药现代化建设发挥了重大的指导和推动作用。

由于人类生存环境的污染, 疾病谱的改变, 医学模式的

转换及医源性、药源性疾病增多, 加之化学药品的毒副作用等难题困扰人们; 而中药具有疗效稳定、安全、毒副作用小以及对某些疑难病、慢性病有独特疗效的特点, 深受世人欢迎。于是, 人们的目光更多地转向天然药物的开发和利用上来, “崇尚天然药物”的呼声越来越高, 传统医药学倍受重视。我国是传统中药大国, 具有几千年传统中药文化, 有着独特的天然药物理论体系和丰富的医药学实践经验, 拥有得天独厚的天然药物资源, 发展中药产业的条件极其优势。但时至今日, 我国的中医药尚难被国际社会普遍接受, 中药在世界范围内对人们防病治病、康复保健中应有的作用远未得到发挥, 在国际天然药物市场中所占的份额还很小, 这同我们这

\* 收稿日期: 2002-06-17  
作者简介: 王焕群 (1970-), 男, 工程师, 毕业于吉林教育学院化学系, 主要从事新药的研制、开发及工艺路线的合成研究。