

## 松节藻抗肿瘤活性

史大永<sup>1,4</sup>, 韩丽君<sup>1</sup>, 贺娟<sup>2</sup>, 石建功<sup>3\*</sup>, 范晓<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所 生物工程与技术中心, 山东 青岛 266071; 2. 青岛大学医学院附属医院 营养科, 山东 青岛 266003; 3. 中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所 天然产物化学研究室, 北京 100050; 4. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**目的 对松节藻中得到的10种化合物进行体外细胞毒活性筛选, 并对其醇提取物进行体内抑瘤活性研究。方法 采用碘酰罗丹明B(SRB)蛋白染色法和MTT法对10种化合物进行细胞毒活性筛选; 用S<sub>180</sub>荷瘤小鼠模型进行松节藻醇提取物的体内抗肿瘤活性评价, 分别测定半数致死量(LD<sub>50</sub>)、抑瘤率、胸腺指数、脾指数、脾淋巴细胞增殖活性(MTT法)、免疫球蛋白IgA、IgG、IgM和脾淋巴细胞凋亡率等指标, 应用软件SPSS进行数据处理。结果 体外活性筛选实验表明4,4'-亚甲基-二(5,6-二溴-1,2-二苯酚)(I)、3-溴-4-[2,3-二溴-4,5-二羟基苯基]甲基-5-(甲氧基甲基)-1,2-二苯酚(II)、3-溴-4,5-二(2,3-二溴-4,5-二羟基苯基)-1,2-二苯酚(III)、二(2,3-二溴-4,5-二羟基苯基)醚(IV)和3-溴-4-[2,3-二溴-4,5-二羟基苯基]甲基-5-(乙氧基)-1,2-二苯酚(V)5种单体化合物对人肺癌细胞株A-549具有一定的细胞毒活性。松节藻醇提取物中剂量(1g/kg)组表现出较高的抑瘤率, 但中剂量组胸腺指数及脾指数均有所升高; 松节藻醇提取物各组均可较好抑制脾淋巴细胞增殖; 各组免疫球蛋白IgA和IgG无明显变化, 而松节藻醇提取物中剂量组IgM含量有明显升高; 中、高剂量组脾淋巴细胞凋亡率显著升高。结论 从松节藻中提取的部分化合物表现出一定的细胞毒活性; 其醇提取物对肿瘤细胞有一定的抑制作用, 并可增强机体免疫功能。

**关键词:** 松节藻; 人肺癌细胞株 A-549; HL-60; S<sub>180</sub>肉瘤; 抗肿瘤

**中图分类号:** R286.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)02-0229-05

### Antitumor activities of *Rhodomela confervoides*

SHI Da-yong<sup>1,4</sup>, HAN Li-jun<sup>1</sup>, HE Juan<sup>2</sup>, SHI Jian-gong<sup>3</sup>, FAN Xiao<sup>1</sup>

(1. Center of Bioengineering and Technology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Department of Nutrition, The Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, China; 3. Department of Natural Product Chemistry, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 4. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract: Objective** To screen the *in vitro* cytotoxicity of ten compounds from *Rhodomela confervoides* and investigate the antitumor activities of ethanol extract from *R. confervoides* (EERC) on S<sub>180</sub> mice. **Methods** Cytotoxicity of ten compounds was obtained by SRB and MTT assays. S<sub>180</sub> mice were used to evaluate the antitumor activities *in vivo* of EERC (Cytoxan as positive drug). LD<sub>50</sub>, tumor inhibition rate, indices of thymus and spleen, multiplication of spleen lymphocyte (MTT assay), IgA, IgG, IgM, and apoptosis rate of spleen lymphocyte were detected, respectively. The data were analyzed by software SPSS. **Results** Five compounds as 4,4'-methylene-bis[5,6-dibromo-1,2-benzenediol] (I), 3-bromo-4-[2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl] methyl-5-(methoxymethyl)-1,2-benzenediol (II), 3-bromo-4,5-bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl)-1,2-benzenediol (III), bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether (IV), and 3-bromo-4-[2,3-dibromo-4,5-dihydroxyphenyl] methyl-5-(ethoxymethyl) 1,2-benzenediol (V) showed cytotoxicity to human lung cancer cell lines A-549. Tumor inhibitory rate of EERC in middle-dose group (1 g/kg) was significantly higher than that in the other groups, while the indices of thymus and spleen were increased obviously. Groups of EERC showed inhibition on multiplication of spleen lymphocyte. Concentration of IgA and IgG maintained a stable level in all groups. IgM was increased significantly in middle-dose group of EERC. Apoptosis rate of spleen lymphocyte was increased in middle- and high-dose groups. **Conclusion** Some compounds from *R. confervoides* showed certain cyto-

收稿日期: 2004-06-27

基金项目: 国家 863 项目 (2004AA625030, 2001AA620503); 中国科学院方向性创新项目 (KZCX3-SW-215)

作者简介: 史大永 (1977—), 男, 山东省烟台市人, 在读博士生, 研究方向为海洋天然产物。E-mail: shidayong@ms.qdio.ac.cn

\* 通讯作者 Tel: (0532) 2898641 (010) 83154789 E-mail: fxiao@ms.qdio.ac.cn; shijg@imm.ac.cn

toxicity. The EERC has obvious antitumor effect on  $S_{180}$  mice and can enhance the immune function of organism.

**Key words:** *Rhodomela confervoides* (Huds.) Silva; human lung cancer cell lines A-549; HL-60;  $S_{180}$  sarcoma; antitumor

松节藻 *Rhodomela confervoides* (Huds.) Silva 广泛分布于中国、日本、朝鲜半岛及大西洋北岸,化学成分研究发现其富含溴酚类化合物<sup>[1,2]</sup>。本研究松节藻中分离得到的 10 个纯化化合物的体外细胞毒活性及其醇提取物的体内抑瘤活性。

## 1 材料

1.1 药材:松节藻 *R. confervoides* (Huds.) Silva 2003 年 4 月采于山东青岛市太平角海湾,由中国科学院海洋研究所邵魁双博士鉴定,标本现存于中国科学院海洋研究所海藻化学研究室,标本号为 2003048。

1.2 单体化合物:均为自制(纯度 $\geq 95\%$ ),分别为:

① 3,4-二溴-5-(乙氧基甲基)-1,2-二苯酚 [3,4-dibromo-5-(ethoxymethyl)-1,2-benzenediol]; ② 4,4'-亚甲基-二-(5,6-二溴-1,2-二苯酚) [4,4'-methylene-bis-(5,6-dibromo-1,2-benzenediol)] (I); ③ 3-溴-4-[2,3-二溴-4,5-二羟基苯基]甲基-5-(甲氧基甲基)-1,2-二苯酚 {3-bromo-4-[2,3-dibromo-4,5-dihydroxyphenyl]methyl-5-(methoxymethyl)-1,2-benzenediol} (II); ④ 3-溴-4,5-二(2,3-二溴-4,5-二羟基苯基)-1,2-二苯酚 [3-bromo-4,5-bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl)-1,2-benzenediol] (III); ⑤ 3-溴-4-[2,3-二溴-4,5-二羟基苯基]甲基-5-(羟甲基)-1,2-二苯酚 {3-bromo-4-[2,3-dibromo-4,5-dihydroxyphenyl]methyl-5-(hydroxymethyl)-1,2-benzenediol}; ⑥ 二(2,3-二溴-4,5-二羟基苯基)醚 [bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl)ether] (IV); ⑦ 3-溴-4,5-二羟基-苯甲醛 (3-bromo-4,5-dihydroxy-benzaldehyde); ⑧ 3-溴-4,5-二羟基-苯甲酸甲酯 (3-bromo-4,5-dihydroxy-benzoic acid methyl ester); ⑨ 2-甲基-3(2,3-二溴-4,5-二羟基)-丙醛 [2-methyl-3(2,3-dibromo-4,5-dihydroxy)-propylaldehyde]; ⑩ 3-溴-4-[2,3-二溴-4,5-二羟基苯基]甲基-5-(乙氧基)-1,2-二苯酚 {3-bromo-4-[2,3-dibromo-4,5-dihydroxyphenyl]methyl-5-(ethoxymethyl)-1,2-benzenediol} (V)。

1.3 瘤株:人肺癌细胞株 A-549、人白血病细胞株 HL-60 由国家新药筛选中心提供;小鼠  $S_{180}$  实体瘤,

中国医学科学院药物研究所引进,山东医学科学院药物研究所药理学室低温冻存保种,复苏后代传 5~7 代的细胞悬液备用。

1.4 实验动物:青岛市实验动物中心提供纯种昆明种小鼠,雌雄各半,体重 18~23 g。

## 2 方法

2.1 松节藻醇提取物制备:松节藻干品约 5 kg,粉碎过筛;95% 乙醇提取 3 次,合并得浸膏 325 g;用约 10 倍量的水混悬浸膏,醋酸乙酯萃取;减压蒸干得棕黑色稠膏 105 g。

2.2  $LD_{50}$  的测定 (Horn 法):20 只昆明小鼠,随机分成 4 组,每组雌性 3 只,雄性 2 只,分笼,适应性饲养 3 d;第 4 天给药前禁食 16 h,饮水不限,依据松节藻醇提取物溶解性及小鼠 ig 最大耐受体积确立分别以 3.16、1.0、0.316、0.1 g/kg ig,观察 14 d,记录小鼠出现症状及死亡情况。

2.3 体外细胞毒生物活性测定<sup>[3]</sup>:磺酰罗丹明 B (Sulforhodamine B, SRB) 蛋白染色法,细胞株为人肺癌细胞株 A-549,作用时间 72 h;MTT 还原法,细胞株为人白血病 HL-60 细胞株,作用时间 48 h。每种方法平行操作两次。

## 2.4 肿瘤移植

2.4.1 小鼠  $S_{180}$  瘤细胞悬液制备<sup>[4]</sup>:选取接种  $S_{180}$  实体瘤 7~8 d 后生长良好的小鼠,急性处死;抽取腹水瘤细胞,用生理盐水洗涤离心 2 次,换用 RPMI-1640 培养液再洗 1 次;将肿瘤细胞悬液放入含 10% 小牛血清、青霉素 100 U/mL 的 RPMI-1640 培养液中,稀释成  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ /mL 单细胞悬液。台盼蓝染色检查活细胞数,成活率 95% 以上即可接种。

2.4.2 药物治疗:昆明小鼠 50 只,每只于左前肢腋窝皮下接种 0.2 mL  $S_{180}$  瘤细胞悬液,整个操作过程 30 min 内完成;24 h 后随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,分笼喂养。松节藻醇提取物组,ig 松节藻醇提取物色拉油稀释液,剂量分别为 25、50、100 mg/kg<sup>[5]</sup>,每日 ig 1 次,连续 10 d;阳性对照组,ip 环磷酰胺 20 mg/kg,每日 1 次;空白对照组,ig 等量大豆色拉油,每日 1 次,隔天称体重,观察小鼠生长情况。

2.5 标本采集:末次给药 24 h 后,将小鼠称重,眼眶取血于含 1 mL 肝素的玻璃试管,混匀,3 000 r/min 离心 10 min;收集上层无溶血血浆于 EP 管中,-20 ℃ 冰箱贮藏备用。小鼠解剖并称重;无菌取胸腺、脾脏,称重;无菌取脾脏于 PBS,匀浆过筛,PBS 冲洗,1 000 r/min 离心 10 min,制成脾淋巴单细胞悬液;台盼蓝染色计活细胞数(95%以上),调整细胞浓度为  $2 \times 10^6$  /mL。

2.6 指标测定

2.6.1 抑瘤率及脏器指数计算:按常规方法计算。

2.6.2 脾淋巴细胞增殖活性的测定(ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验——MTT 法):上述制备的脾淋巴单细胞悬液加入 24 孔培养板,每孔 1 mL,其中一孔加 50  $\mu$ L ConA (5  $\mu$ g/mL),另一孔作为对照,37 ℃ 培养 68 h;每孔吸去上清液 0.7 mL,加入 0.7 mL 不含小牛血清的 RPMI-1640 培养液和 50  $\mu$ L MTT (5 mg/mL),继续培养 4 h;然后加入 1 mL 酸性异丙醇,吹打均匀,使紫色结晶(Formazan)完全溶解,分装到 96 孔板,酶标仪 570 nm 波长处测定吸光度 ( $A_{570}$ )。

2.6.3 血浆免疫球蛋白测定:均采用 Olympus 400 全自动生化分析仪测定,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

2.6.4 脾淋巴细胞凋亡率测定:2 mL 脾淋巴细胞悬液加到盛有 4 mL 淋巴细胞分离液的试管中,3 000 r/min 离心 15 min,取中间粉红色的淋巴细胞层;PBS 洗涤 3 次,加到 1 mL 含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基(含青霉素、链霉素各 100 U/mL),调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  /mL;再次离心,去上清液,加入 50  $\mu$ g/mL PI 低渗染液(含 NP-40RNA 酶 200 mL) 0.5 mL;混匀,低温避光染色 30 min,流式细胞仪测定细胞凋亡情况。

3 结果

3.1 LD<sub>50</sub>:受试小鼠死亡率为 0,表明松节藻醇提

取物在本实验所选剂量下无毒性。

3.2 体外细胞毒生物活性:结果见表 1 和 2。化合物②③④⑥⑩对人肺癌细胞株 A-549 有一定的细胞毒活性。(表中无效为浓度  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 时生长抑制率 < 85%,弱效为浓度  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 时生长抑制率  $\geq 85\%$  或为浓度  $1 \times 10^{-6}$  mol/L 时生长抑制率 > 50%,强效为浓度  $1 \times 10^{-6}$  mol/L 时生长抑制率  $\geq 85\%$  或浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L 时生长抑制率 > 50%)。

3.3 体内抑瘤试验

3.3.1 瘤重和抑瘤率:结果见表 3。松节藻醇提取

表 1 对 A-549 人肺癌细胞生长的抑制率(SRB 法)

Table 1 Inhibitory rate of human lung cancer cells A-549 growth (SRB assay)

编号	细胞生长的抑制率/%			评价
	$1 \times 10^{-4}$ mol · L <sup>-1</sup>	$1 \times 10^{-5}$ mol · L <sup>-1</sup>	$1 \times 10^{-6}$ mol · L <sup>-1</sup>	
①	84.1	27.7	0	无效
②	97.6	96.8	52.5	弱效
③	98.4	97.3	4.2	弱效
④	96.6	97.1	0	弱效
⑤	96.2	23.7	1.1	无效
⑥	97.0	94.8	4.3	弱效
⑦	85.2	11.3	2.3	无效
⑧	1.8	0	3.0	无效
⑨	92.5	39.6	0	无效
⑩	97.5	95.9	7.9	弱效

表 2 对 HL-60 细胞生长的抑制率(MTT 法)

Table 2 Inhibitory rate of HL-60 cells growth (MTT assay)

编号	细胞生长抑制率/%			评价
	$1 \times 10^{-4}$ mol · L <sup>-1</sup>	$1 \times 10^{-5}$ mol · L <sup>-1</sup>	$1 \times 10^{-6}$ mol · L <sup>-1</sup>	
①	63.9	20.9	1.4	无效
②	59.6	89.8	10.7	弱效
③	59.9	68.9	5.6	无效
④	37.8	80.1	0	无效
⑤	61.0	0	2.9	无效
⑥	70.4	90.7	7.7	弱效
⑦	86.7	6.7	8.0	无效
⑧	27.2	9.0	10.2	无效
⑨	92.4	24.9	3.2	无效
⑩	55.8	70.1	4.1	无效

表 3 松节藻醇提取物对小鼠瘤重、胸腺指数、脾指数及脾淋巴细胞增殖活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Effect of EERC on tumor weight, indices of thymus and spleen, and multiplication of spleen lymphocyte ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	瘤重/g	抑瘤率/%	胸腺指数(×1 000)	脾指数(×1 000)	A <sub>570</sub>
空白对照	—	1.589 ± 0.590	—	2.34 ± 1.13	4.80 ± 1.82	0.028 9 ± 0.012 6
松节藻醇提取物	25	1.119 ± 1.002	29.6	2.45 ± 0.89	4.34 ± 1.41	0.024 0 ± 0.014 5
	50	1.016 ± 0.718	36.1	3.60 ± 1.64 <sup>△</sup>	8.20 ± 1.18*	0.017 1 ± 0.010 5
	100	1.332 ± 0.706	16.2	2.68 ± 1.17 <sup>△</sup>	4.23 ± 1.31	0.008 9 ± 0.004 2
环磷酰胺	20	0.684 ± 0.560*	60.0	0.96 ± 0.64	4.71 ± 1.18	0.006 6 ± 0.003 1*

与空白对照组比较: \*P < 0.05; 与环磷酰胺组比较: <sup>△</sup>P < 0.05  
 \*P < 0.05 vs blank control group; <sup>△</sup>P < 0.05 vs Cytosoxan group

物低、中、高剂量组的平均瘤重均低于空白对照组，但无统计学意义，中剂量组的瘤重比低、高剂量组为低，抑瘤率达 36.1%；阳性对照组的瘤重与空白对照组比较差异显著 ( $P < 0.05$ )。

3.3.2 胸腺指数和脾指数：见表 3。阳性对照组的胸腺指数明显下降，松节藻醇提取物低、中、高剂量组的胸腺指数上升，其中中剂量组较为明显，但差异无显著性；中、高剂量组同阳性对照组差异显著；说明环磷酸胺可抑制荷瘤小鼠的胸腺，而中剂量组可使胸腺明显增大。高、低剂量组和阳性对照组的脾指数均较空白对照组为低，但统计学分析差异无显著性；中剂量组脾指数上升，较空白对照组差异显著。

3.3.3 脾淋巴细胞增殖活性：见表 3。松节藻醇提取物组和阳性对照组的  $A_{570}$  值与空白对照组相比均下降，阳性对照组较空白对照组差异显著，松节藻醇

提取物中、高剂量对脾淋巴细胞的增殖有抑制作用。  
3.3.4 免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 水平：见表 4。松节藻醇提取物各剂量组血浆 IgA 水平与空白对照组比差异无显著性，阳性对照组可明显降低荷瘤小鼠血浆中 IgA 水平。各组血中 IgG 水平与空白对照组比均降低，阳性对照组血中 IgG 水平与空白对照组比差异显著，3 个剂量组较空白对照组为低，但不显著。高、中、低剂量组血中 IgM 水平与空白对照组比均有上升，中剂量组上升显著，且差异显著，阳性对照组较空白对照组血中 IgM 水平为低，说明松节藻醇提取物可显著提高荷瘤小鼠血中 IgM 水平。  
3.3.5 脾淋巴细胞凋亡率：见表 4。各剂量组较空白对照组的凋亡率均有升高，其中中、高剂量组与空白对照组差异显著，说明松节藻醇提取物的肿瘤抑制作用是通过诱导细胞凋亡而产生的。

表 4 松节藻醇提取物对小鼠血浆中免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 水平及对脾淋巴细胞凋亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of EERC on IgA, IgG, and IgM level in plasma and spleen lymphocyte apoptosis rate ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	IgA/( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	IgG/( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	IgM/( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	凋亡率/%
空白对照	—	0.122 ± 0.013	0.945 ± 0.138 $\Delta$	0.526 ± 0.352	0.83 ± 0.28
松节藻醇提取物	25	0.115 ± 0.012	0.808 ± 0.119 $\Delta$	0.681 ± 0.154	3.84 ± 1.29
	50	0.132 ± 0.025	0.874 ± 0.128 $\Delta$	0.881 ± 0.112	9.02 ± 1.28*
	100	0.125 ± 0.039	0.898 ± 0.141 $\Delta$	0.592 ± 0.278	8.60 ± 2.28*
环磷酸胺	20	0.085 ± 0.021*	0.320 ± 0.059*	0.495 ± 0.142	3.24 ± 1.82

与空白对照组比较：\* $P < 0.05$ ；与环磷酸胺组比较： $\Delta P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs blank control group； $\Delta P < 0.05$  vs Cyclophosphamide group

#### 4 讨论

21 世纪抗肿瘤药物的开发将寄希望于海洋生物中寻找高效的活性物质，不仅从海洋生物中直接获取有抗肿瘤活性的初级和次生代谢产物，而且要利用海洋生物活性物质特异的结构为导向物，设计合成新的抗肿瘤药物。美国国立肿瘤研究所 (NCI) 建议从天然产物寻找潜在的抗肿瘤药物每一步均应以生物实验为指导，而最简单、快速、经济的筛选办法为体外实验<sup>[6]</sup>。细胞毒活性是一种常用的体外活性筛选指标，本实验分别采用 SRB 法和 MTT 法对松节藻分离得到的 10 种化合物进行了细胞毒性筛选，发现部分化合物具有较好的细胞毒活性，为了进一步研究松节藻抗肿瘤生物活性，本实验进行了松节藻醇提取物的体内抑瘤实验。

正常机体的免疫防御处于平衡状态，而肿瘤患者的免疫功能失去平衡；化疗作为肿瘤治疗的主要手段存在不良反应，免疫抑制是其中之一。机体的免疫状态影响着肿瘤形成，增强机体的免疫功能是肿瘤防治的有效途径。研究表明接种肿瘤细胞后，动物的免疫器官胸腺和脾的质量均降低，其中以胸腺指

数降低最为明显；环磷酸胺组胸腺指数显著低于其他各组，表明环磷酸胺有免疫抑制作用。本实验中松节藻醇提取物中、高剂量组的胸腺指数上升，表明中、高剂量松节藻醇提取物可提高胸腺的免疫功能，中剂量组的脾指数较其他组为高，表明中剂量松节藻醇提取物可提高脾细胞的免疫功能。

机体对肿瘤的免疫应答包括细胞免疫和体液免疫，细胞免疫功能主要由 T 淋巴细胞负责。本实验结果表明，阳性对照组及松节藻醇提取物各组对 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖均有抑制作用，但松节藻醇提取物的抑制作用相对较低。

免疫球蛋白是体液免疫中发挥免疫功能的最主要的免疫分子，抗肿瘤药物常可导致免疫功能低下，表现在免疫球蛋白上可见 IgA、IgG、IgM 等水平降低。本实验结果表明阳性对照组较空白对照组免疫球蛋白均有降低，与此相比松节藻醇提取物对荷瘤小鼠血中 IgA、IgG、IgM 水平降低不明显，可促进免疫球蛋白指标恢复，使抗癌药物引起的小鼠体液免疫抑制得到恢复，其中以中剂量组效果最明显，其作用机制可能是提高小鼠巨噬细胞的吞噬能力和血

清抗体效价,从而增强体液免疫。

研究表明,肿瘤的发生、发展和转移过程与肿瘤自身的细胞凋亡密切相关,凋亡一旦发生便不可逆转。本研究发现,中、高剂量松节藻醇提取物诱导脾淋巴细胞凋亡的能力要显著高于空白对照组,说明松节藻醇提取物的肿瘤抑制作用可能是通过诱导细胞凋亡而产生的。

本研究表明松节藻醇提取物具有一定的抗肿瘤药活性,虽然作为药物开发尚有大量的工作要做,但为开发利用海洋生物资源带来了希望,其潜在的药用价值应予重视。

#### References:

- [1] Fan X, Xu N J, Shi J G. Bromophenols from the red alga *Rhodomela confervoides* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66: 455-458.
- [2] Pederson M. Bromochlorophenols and a brominated diphenylmethane in red algae [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(2): 291-293.
- [3] Tan W D, Jin H, Luo D X, et al. Comparison of MTT with SRB assays *in vitro* anticancer drug screening [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11(3): 17-22.
- [4] Xu S B, Xiang H, Su J Y, et al. Antitumor effect of some compounds with unsaturated lactone from marine natural products [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 1994, 49(1): 1-5.
- [5] Shi X Y. *Laboratory Animal Science of Medicine* (医学实验动物学) [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1989.
- [6] Yao X S. View of marine antitumor medicine [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2002, 23(3): 233-235.

## 复方血尿停经肝微粒体代谢后对肾小球系膜细胞的影响

张红敏<sup>1</sup>, 丁 樱<sup>2</sup>, 陈世伟<sup>3,4</sup>, 王丽英<sup>1</sup>

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610075; 2. 河南中医学院第一附属医院, 河南 郑州 450008; 3. 四川大学华西公共卫生学院 营养与食品卫生教研室, 四川 成都 610041; 4. 河南省疾病预防控制中心, 河南 郑州 450003)

**摘要:**目的 探讨复方血尿停治疗以系膜增生为主要病理改变的肾小球疾病的作用机制。方法 将复方血尿停与大鼠肝微粒体共同孵育后加入到肾小球系膜细胞(GMC)体外培养体系中, MTT法观察细胞增殖情况, 放射免疫法测定白细胞介素-6(IL-6)、内皮素-1(ET-1)水平, 速率法检测乳酸脱氢酶(LDH)的含量。结果 经肝微粒体代谢后, 复方血尿停 2、4、8 mg/mL 均抑制 GMC 的增殖及 IL-6、ET-1 的产生, 且呈剂量依赖方式。结论 复方血尿停能抑制 IL-6、ET-1 的分泌和 GMC 的增殖, 此作用可能是其治疗系膜增生性肾小球疾病的作用机制之一。

**关键词:** 复方血尿停; 肾小球系膜细胞; 增殖; 白细胞介素-6(IL-6); 内皮素-1(ET-1)

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)02-0233-04

## Effects of Compound Xueniaoting metabolized by liver microsomes on glomerular mesangial cells

ZHANG Hong-min<sup>1</sup>, DING Ying<sup>2</sup>, CHEN Shi-wei<sup>3,4</sup>, WANG Li-ying<sup>1</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 2. The First Affiliated Hospital, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 3. West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Henan Province Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450003, China)

**Abstract: Objective** To study the mechanism of traditional Chinese medicine Compound Xueniaoting (CXNT) in treating glomerulus diseases with the main pathological changes of proliferation in mesangial cells. **Methods** CXNT and rat liver microsomes were incubated together, and then the incubated CXNT was added into cultured glomerular mesangial cells (GMC) *in vitro*. The proliferation of GMC was observed by MTT assay, the levels of interleukin-6 (IL-6) and endothelin-1 (ET-1) were determined by radioimmunoassay, and content of lactic dehydrogenase (LDH) was determined by velocity assay. **Results** CXNT (2, 4, 8 mg/mL) metabolized by rat liver microsomes could all inhibit the proliferation of GMC and production of IL-6 and ET-1 in a dose-dependent manner. **Conclusion** CXNT can inhibit the proliferation of GMC and restrain the secretion of IL-6 and ET-1, this function may be one of CXNT mecha-

收稿日期: 2004-05-08

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (0111023200)

作者简介: 张红敏(1969—), 女, 河南濮阳人, 主治医师, 成都中医药大学 2002 级在读博士, 主要从事内分泌与肾脏疾病的防治研究。  
E-mail: zhm0916@126.com