

白对照组,可见局灶性心肌间质间隙扩大,呈水肿状,水肿灶面积较大,心肌间质水肿主要位于心室壁的内、中层,外层少见,间质水肿与正常心肌分界清楚,在间质水肿灶内可见较多心肌纤维胞浆嗜伊红浓染,胞核浓缩,个别肌纤维出现溶解,破坏,典型波浪状排列肌纤维较少见。阳性药对照组,可见心肌间质水肿灶,但其面积较空白对照组明显缩小,未见有心肌间质出血现象,心肌间质水肿多呈小灶状,散在分布于心室壁的内层和中层,心室壁外层较少见,心肌间质水肿灶与其周边的正常心肌分界明显,心肌细胞胞核浓缩,但未见肌纤维溶解破坏。舒心贴膏小剂量组,心室壁内可见数个较大心肌间质水肿灶,其面积较阳性药对照组较小,与周边正常心肌纤维分界清楚,主要位于心室壁的内层和中层,未见有心肌间质出血现象,心肌间质水肿灶多呈灶状,但未见明显心肌纤维嗜伊红浓染,也未见肌纤维溶解破坏。舒心贴膏大剂量组,心肌内可见数个间质水肿灶,其面积比阳性药对照组及舒心贴膏小剂量组的面积小,间质水肿灶内未见明显心肌纤维嗜伊红浓染,也未见肌纤维溶解破坏,表明舒心贴膏对心肌缺血有明显的保护作用。

3 讨论

2-ST 与 N-ST 两项心外膜电图是反映心肌缺血损伤程度和范围的可靠指标,缩小心外膜电图电位是评价抗心肌缺血药物的常用手段。因为心肌缺血后在细胞生化指标明显改变之前,心肌电生理就有相应的改变,且此改变贯穿整个缺血细胞的全过程。本研究采用结扎冠脉所致急性心肌梗死的方法,观察整体动物给予舒心贴膏对麻醉犬急性心肌梗死

心外膜电图的影响,表明舒心贴膏可使心肌梗死大边缘区和中心区心外膜电位明显降低,并且与给药剂量成正比,其机制可能与舒心贴膏通过扩张冠状动脉、降低冠脉阻力、增加心肌血流量、减少心肌耗氧量有关。舒心贴膏对缺血损伤心肌超微结构具有保护作用,缩小心肌梗死面积,改善血清中 AST、CPK、LDH 活性<sup>[5]</sup>。增加缺血心肌的血液供应,改善缺血造成的心肌细胞能量代谢障碍,从而起到对心肌细胞的保护作用。急性缺血心肌从 4~12 h 起出现凝固性坏死、核固缩和核溶解、胞浆萎缩、边缘坏死、收缩带形成及胞核和胞浆条纹消失,且细胞间质明显的中性粒细胞浸润。本实验病理形态学观察到试药组心肌间质水肿比空白对照组明显缩小,间质水肿程度减轻,心肌纤维呈胞浆嗜伊红浓染消失,证明舒心贴膏对犬急性心肌梗死缺血性病变有明显减轻作用。舒心贴膏通过穴位贴敷,直接透皮吸收,消除首关效应,达到治疗目的。

References:

[1] Ding T, Xu H B. Study on Shuxintiegao as percutaneous penetration enhancer [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2002, 8(2): 61-62.  
[2] Zhang L J, Wen F C, Ding T. Influence of Shuxintiegao on blood flow and oxygen metabolism of anesthetic thoyacopening dog [J]. Chin New Med (中华新医学), 2003, 4(19): 1737-1738.  
[3] Chen Q. Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.  
[4] Xu S Y, Bian R L, Chen X. Methodology in Pharmacological Experiment (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.  
[5] Zhang L J, Cui X M, Li Y R, et al. Protective effects of Shuxintiegao on acute myocardial infarction dog [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 35(11): 1284-1310.

白英水提物抗肿瘤作用的初步研究

孙立新, 任 靖, 王敏伟, 毕开顺<sup>X</sup>

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110015)

茄科植物白英 *Solanum lyratum* Thunb., 又名白毛藤, 多产于江苏、浙江、江西, 性味苦、辛、微寒, 归肝、胆经。常与他药伍用治疗肺癌、胃癌、肝癌等多种癌症, 此外还用于治疗疟疾、黄疸、水肿等。日本大

阪中医药研究所对 800 种中药进行抗癌药物筛选, 发现只有白英对癌细胞抑制率为 100%, 且对正常细胞无任何影响。施文荣等<sup>[1]</sup>研究表明白英水提液对 HL-60 细胞既表现为短时间作用后的细胞杀伤,

<sup>X</sup> 收稿日期: 2005-05-26  
基金项目: 沈阳市科技局攻关项目 (1032041-3-09)  
作者简介: 孙立新(1967—), 女, 满族, 辽宁新宾人, 副教授, 硕士生导师, 在读博士, 研究方向为抗肿瘤中药活性成分研究。  
Tel: (024) 23986365 Fax: (024) 23915428 E-mail: sk@163.com

也表现为药物持续作用后的增殖抑制。笔者研究了白英水提取物及含药血清对多种肿瘤细胞株的细胞毒作用,并以肉瘤 S<sub>180</sub> 及肝癌 H<sub>22</sub> 荷瘤小鼠为模型进行了体内抗肿瘤实验,初步考察其抗肿瘤作用。

## 1 材料

1.1 试药、试剂与仪器:白英饮片购于上海徐汇中药饮片厂,由沈阳药科大学孙启时教授鉴定。MTT (Amersco), RPMI-1640 培养基 (HyClone, AMC-15824), 胎牛血清 (北京元亨圣马生物技术研究所, 020902), 碘伏 (山东立尔康消毒科技有限公司, 040130), 注射用环磷酰胺 (CTX, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号 0020266-0020270)。酶标仪 (TECAN SPECTRA), 倒置式生物显微镜 (Leica DMIRB), 二氧化碳培养箱 (NU-47500), CJ-1F 型医用超净台 (苏州市金燕净化设备有限公司), LD4-2A 型低速离心机 (北京医用离心机厂)。

1.2 细胞株:人宫颈癌细胞株 HeLa、人黑色素瘤细胞株 A375、人乳腺癌细胞株 MCF7、小鼠纤维肉瘤细胞株 L929 由本实验室冻存。

1.3 瘤株:小鼠肉瘤 S<sub>180</sub>、小鼠肝癌 H<sub>22</sub>, 由沈阳药科大学 GLP 中心吴英良教授惠赠。

1.4 动物:昆明种小鼠, 雄性, 体重 18~22 g, 购自中国医科大学第二临床医院实验动物中心, 许可证号: SCXK (辽) 2003-0013; SD 大鼠, 雌雄各半, 350~400 g, 由沈阳药科大学动物室提供。

## 2 方法

### 2.1 药品配制

2.1.1 白英水提取物制备:称取白英全草干品适量, 用蒸馏水适量浸泡 30 min 后, 回流提取 3 次, 每次 1 h, 自然冷却, 滤过, 去除药渣, 旋转蒸发挥去溶剂得浸膏 (浸膏含甾体总苷 21.84%), 备用。

2.1.2 细胞毒实验供试液制备:取白英水提取物适量, 加 PBS 溶解至 30 g/L, 用培养液将其稀释至 0.06、0.30、1.50、7.50 g/L, 备用。

2.1.3 大鼠含药血清的制备:将 20 只 SD 大鼠随机分为 5 组, 每组 4 只, 雌、雄各半, 分别为白英水提取物高、中、低 (48.6、16.2、5.4 g/kg) 组及阳性对照 (CTX, 54 mg/kg) 组和空白对照组。各组均 ig 给予相应剂量药物 (空白对照组给无菌生理盐水), 连续 3 d, 每天 2 次, 于第 4 天最后 1 次 ig 前禁食 12 h, ig 1 h 后眼眶静脉丛采血, 分离血清, 经 56 °C 灭活 30 min 后, 用 0.22 μm 的微孔滤膜滤过除菌, 置 -70 °C 保存备用。

2.2 细胞培养:HeLa、A375、MCF7、L929 细胞用

含 10% 灭活新生小牛血清的 RPMI-1640 培养基在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养, 取对数生长期细胞用于实验。

2.3 体外抗肿瘤实验:采用 MTT 法, HeLa、MCF-7、L929 细胞用培养液稀释至  $1 \times 10^5$  /mL, A375 细胞用培养液稀释至  $5 \times 10^4$  /mL, 分别接种于 96 孔培养板中, 每孔 100 μL, 8~12 h 后, 除去培养液, 每孔加不同质量浓度的白英水提取物 (或含药血清) 及空白培养液 100 μL, 每组均设 3 个复孔, 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下培养 48 h 后, 除去培养液及药液, 并用 PBS 洗板后, 每孔加入 5 g/L MTT 10 μL 和培养液 100 μL, 继续培养 4 h 后, 加二甲基亚砜 150 μL 终止反应, 用酶标仪在波长 492 nm 处测定吸光度 (A) 值, 计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (1 - A_{\text{药物}} / A_{\text{对照}}) \times 100\%$$

2.4 体内抗肿瘤实验:选择腹腔接种 7~9 d、生长良好的荷 S<sub>180</sub> (或 H<sub>22</sub>) 细胞株的小鼠, 断颈处死, 无菌抽取腹水, 再用无菌生理盐水稀释成  $1 \times 10^7$  /mL 瘤细胞悬液。在无菌条件下, 于健康小鼠右前肢腋部皮下接种瘤液, 每只 0.2 mL。接种次日, 按体重随机分组给药, 每日 1 次, 连续 10 d。阴性对照组 ig 给予等体积无菌生理盐水; 阳性对照组 ip CTX 0.02 g/(kg·d); 白英水提取物高、中、低剂量组分别 ig 给予相当于原药材 62.4、31.2、15.6 g/(kg·d) 的药物。

## 3 结果

3.1 白英水提取物对不同肿瘤细胞的抑制作用:结果见图 1。白英水提取物对 A375、HeLa 细胞作用较敏感, IC<sub>50</sub> 分别为 0.95 和 0.99 g/L, 对 L929 细胞作用敏感性次之, IC<sub>50</sub> 为 2.0 g/L, 对 MCF7 细胞抑制作用较差, IC<sub>50</sub> 为 3.8 g/L。且对各细胞株的抑制作用呈剂量-效应关系。

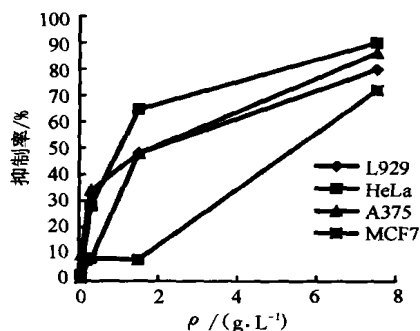


图 1 白英水提取物对不同肿瘤细胞的抑制作用

Fig.1 Inhibition of aqueous extract from *S. lyratum* on various tumor cells

3.2 含药血清对不同肿瘤细胞的抑制作用. 结果见

图 2。白英水提取物含药血清对肿瘤细胞具有一定的抑制作用, 且呈剂量-效应关系。白英水提取物高剂量组 20% 含药血清对 A375、L929、HeLa、MCF7 细胞的抑制率分别达到 28.5%、16.1%、28.0%、3.0%, 对各细胞的敏感性与白英水提取物直接作用于各细胞时的结果相似, 但其抑制作用明显低于白英水提取物。

3.3 白英水提取物对 S<sub>180</sub> 和 H<sub>22</sub> 荷瘤小鼠的抑制作用: 结果见表 1 和 2。白英水提取物中、高剂量组对小鼠 S<sub>180</sub> 肉瘤和小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 的抑制作用与对照组相

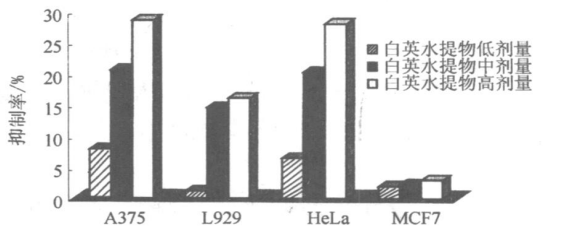


图 2 含药血清对不同肿瘤细胞的抑制作用  
Fig. 2 Inhibition of drug-containing serum on various tumor cells

表 1 白英水提取物对 S<sub>180</sub> 小鼠肿瘤生长的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Inhibition of aqueous extract from *S. lyratum* on tumor growth of S<sub>180</sub> mice ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组 别    | 剂量/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 动物数/ 只 |    | 体重/g       |            | 瘤块质量/g      | 抑瘤率/% |
|--------|----------------------------|--------|----|------------|------------|-------------|-------|
|        |                            | 开始     | 结束 | 开始         | 结束         |             |       |
| 对照     | -                          | 10     | 10 | 20.33±1.14 | 25.52±2.40 | 1.71±0.49   | -     |
| CTX    | 0.02                       | 10     | 10 | 20.22±1.07 | 21.32±2.31 | 0.18±0.12*  | 89.16 |
| 白英水提取物 | 15.6                       | 10     | 10 | 19.08±0.84 | 23.97±3.39 | 1.37±0.22*  | 19.77 |
|        | 31.2                       | 10     | 10 | 20.41±0.89 | 25.63±2.17 | 1.17±0.37*  | 31.56 |
|        | 62.4                       | 10     | 10 | 20.39±1.07 | 25.90±1.80 | 1.01±0.28** | 41.00 |

与对照组比较: \* P< 0.05 \*\* P< 0.01

\* p< 0.05 \*\* p< 0.01 vs control group

表 2 白英水提取物对 H<sub>22</sub> 小鼠肿瘤生长的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Inhibition of aqueous extract from *S. lyratum* on tumor growth of H<sub>22</sub> mice ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组 别    | 剂量/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 动物数/ 只 |    | 体重/g       |            | 瘤块质量/g      | 抑瘤率/% |
|--------|----------------------------|--------|----|------------|------------|-------------|-------|
|        |                            | 开始     | 结束 | 开始         | 结束         |             |       |
| 对照     | -                          | 12     | 10 | 19.03±0.61 | 21.95±1.68 | 1.14±0.41   | -     |
| CTX    | 0.02                       | 12     | 11 | 19.21±0.77 | 18.89±5.48 | 0.51±0.22** | 55.30 |
| 白英水提取物 | 15.6                       | 12     | 11 | 19.34±1.25 | 20.09±1.27 | 0.89±0.35*  | 22.25 |
|        | 31.2                       | 12     | 12 | 20.05±1.74 | 20.79±1.88 | 0.72±0.19*  | 36.79 |
|        | 62.4                       | 12     | 11 | 20.30±1.62 | 21.14±1.60 | 0.69±0.23** | 39.59 |

与对照组比较: \* P< 0.05 \*\* P< 0.01

\* P< 0.05 \*\* P< 0.01 vs control group

比, 具有非常显著的差异 (P< 0.01), 且各剂量组对两种小鼠移植性肿瘤的抑制作用均呈现良好的剂量-效应关系, 证明其具有明显的体内抗肿瘤作用。

4 讨论

用中药粗提取物直接作用于肿瘤细胞, 中药的杂质成分对肿瘤细胞的生长造成一定的影响, 由此得出的结论并不十分可靠, 而通过口服给药后, 用含药血清作用于肿瘤细胞, 更接近药物体内环境中产生药理效应的真实过程。

体内、外抗肿瘤实验表明白英水提取物具有明显的抗肿瘤活性。但目前白英抗肿瘤的药效物质基础

还不十分明确, 且无质量控制方法。有研究表明白英的化学成分主要为甾体生物碱和甾体皂苷等, 笔者已初步确定了白英抗肿瘤作用的有效部位<sup>[2]</sup>, 以期找到其发挥抗肿瘤作用的有效成分, 并对其进行质量控制, 为进一步开发利用提供依据。

References:

[1] Shi W R. Influence of *Solanum lyratum* Thunb. on HL-60 [J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med (福建中医学院学报), 2002, 12(1): 36-38.  
[2] Sun L X. Activity screening the anti-tumor effect of the extracts of *Solanum lyratum* Thunb. [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2005, 22(3): 210-212.