

白英总苷抗肿瘤作用初步研究

任 靖 , 冯国楠 , 王敏伟 , 孙立新

The Primary Study on the Anti-tumor Effect of Total Saponin of Solanum Lyratum Thunb

REN Jing , FENG Guo-nan , WANG Min-wei , SUN Li-xin

College of Pharmacy , Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110015 , China

Corresponding Author : SUN Li-xin , Email : SLX04 @163.com

Abstract : Objective To observe the anti-tumor activity of the total saponin of Solanum Lyratum in vitro and vivo. Methods In vitro , the inhibitory effects of total saponin of Solanum lyratum on proliferation of human hepatoma BEL-7402 cells and gastric carcinoma SGC-7901 cells were measured by MTT colorimetric assay. The mouse tumor model was used to investigate the effects of total saponin on tumor growth. Results The studies demonstrate that total saponin of Solanum lyratum inhibited proliferation of BEL-7402 cells and SGC-7901 cells , and the IC₅₀ values on them were (180.22 ±6.32) μg/ml and (14.89 ±4.89) μg/ml , respectively. The tumor inhibitory rate of high dose of total saponin on S180 sarcoma-transplanted mice were 33.76 % ±3.24 %. When the dose of total saponin varied from low to high , it was able to inhibit the growth of S180 sarcoma-transplanted mice in a dose-dependent manner. There was no influence of total saponin on the growth of H₂₂ hepatic cancer. Conclusion The total saponin of Solanum lyratum could inhibit the proliferation of tumor cells and inhibit the growth of graft tumor in mice. No acute toxic effect was seen in our experiment.

Key words :Solanum Lyratum Thunb ; Anti-tumor ; MTT method ; S180 ; H₂₂

摘要: 目的 研究白英总苷体内外抗肿瘤作用。方法 采用 MTT 法考察白英总苷体外对人肝癌 BEL-7402 细胞及人胃腺癌 SGC-7901 细胞的增殖抑制作用;以小鼠 S180 肉瘤及 H₂₂ 肝癌为模型,考察白英总苷体内对肿瘤生长的抑制作用。结果 白英总苷对人肝癌 BEL-7402 细胞及人胃腺癌 SGC-7901 细胞有显著地增殖抑制作用,且均呈现良好的浓度-效应依赖关系,作用 48h 的 IC₅₀ 值分别为 (180.22 ± 6.32) μg/ml 和 (14.89 ± 4.89) μg/ml;白英总苷对小鼠 S180 肉瘤有显著的抑制作用,且呈现良好的剂量-效应关系,三次重复实验,高剂量组的抑瘤率达到 33.76 % ± 3.24 %;白英总苷各剂量对小鼠 H₂₂ 肝癌抑制作用均不显著。结论 白英总苷体内外有一定的抗肿瘤作用。

关键词: 白英 ; 抗肿瘤 ; MTT 法 ; 小鼠 S180 肉瘤 ; 小鼠 H₂₂ 肝癌

中图分类号 :R73-36 ; R932.5 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8578(2006)04-0262-03

0 引言

茄科植物白英 (Solanum Lyratum Thunb) 又名白毛藤,主产于江苏、浙江、江西,具有清热解毒,祛风利湿,化瘀等作用。临床常用于治疗感冒发热,胆囊炎,胆石病,癌症,子宫颈糜烂,白带等病症^[1]。有研究表明,白英水提物体外有较强的肿瘤细胞增殖抑制活性^[2],脂溶性提取物能促进癌细胞凋亡^[3]。前期研究结果表明,白英总苷对 A375 细胞等多种体外培养的肿瘤细胞系具有良好的细胞增殖抑制活性^[4],本研究进一步对白英总苷体内外的抗肿瘤作

用进行系统的观察。

1 材料与方法

1.1 动物及瘤株

昆明种小鼠,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。人肝癌 BEL-7402 细胞株与人胃腺癌细胞 SGC-7901 细胞株,由本实验室传代保种。小鼠 S180 肉瘤和 H₂₂ 肝癌瘤株,由沈阳药科大学吴英良教授惠赠。

1.2 药物

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。取白英全草干品 1 000.0 g,用 95% 正丁醇适量浸泡过夜后,回流提取 3 次,每次 1h,自然冷却,过滤,挥去溶剂得浸膏,浸膏以适量水分散,等量石油醚萃取 3 次,水层再以等量正丁醇萃取 3 次,正丁醇层减压干燥,得白英总

收稿日期:2005-06-01;修回日期:2005-07-29

基金项目:沈阳市科技局攻关项目(1032041-3-09)

作者单位:110015 沈阳药科大学药学院

通讯作者:孙立新,E-mail:SLX04 @163.com

作者简介:任靖(1978-),女,硕士,主要从事中药抗肿瘤作用研究

昔 10.0g。配制成不同浓度溶液备用。注射用环磷酰胺(CTX)(江苏恒瑞医药股份有限公司产品,批号 0020266-0020270)。5-氟尿嘧啶(5-Fu)水剂 250 毫克/瓶(上海旭东海普药业有限公司,批号 002302)。

1.3 试剂

RPMI-1640 培养液(MEDIUM HyClone, 批号 AML17586B), 胎牛血清(北京元亨圣马生物技术研究所, 批号 020902), 四甲基偶氮唑盐(Thiazolyl Blue Tetrazolium Eromide, MTT)(美国 Amresco, 批号 2072B77)。

1.4 方法

1.4.1 白英总昔对多种人癌细胞的体外增殖抑制作用

取对数生长期的 SGC-7901、BEL-7402 细胞,以 1×10^5 /ml 密度埋 96 孔板,每孔 100 μ l,埋板 12h 后加药。白英总昔设 5 个浓度,分别为 250、50、10、2、0.4 μ g/ml, 阳性对照药 5-Fu 同样设 250、50、10、2、0.4 μ g/ml 等浓度, 每个浓度设 3 个复孔。给药 48h 后, 小心吸弃孔内培养液, 每孔以 PBS 洗一次, 再将上清液吸弃。每孔加培养液 100 μ l, MTT 液 10 μ l, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 饱和继续孵育 4h 后中止培养, 小心吸弃孔内培养液。每孔加入 150 μ l DMSO, 振荡 10min。用酶标仪在 492nm 处测吸光度值 $A^{[5]}$, 求出 IC₅₀ 值。

细胞生长抑制率按下列公式计算:

$$\text{生长抑制率} = [(\text{对照组平均 } A \text{ 值} - \text{用药组平均 } A \text{ 值}) / \text{对照组平均 } A \text{ 值}] \times 100\%$$

1.4.2 白英总昔最大给药量实验^[6]

健康昆明种小鼠 20 只, 雌雄各半, 体重 18~22g, 禁食 10h 并自由饮水, 白英总昔以生理盐水配置成 2.0g/ml, 按灌胃动物能允许的最大容积 0.4

ml/10g 灌服给药 1 次, 给药量相当于 8000.0g 生药/kg/d, 观察 24h 及 2 周内动物的状态及死亡数, 每日记录, 以下式计算此剂量相当于人日用剂量的倍数。

小鼠的最大耐受量倍数

$$\frac{\text{每只小鼠的耐受药量}}{\text{小鼠的平均体表面积}(0.00442 \text{m}^2)} = \frac{\text{成人的平均体表面积}(1.36 \text{m}^2)}{\text{成人每日用量}}$$

1.4.3 白英总昔体内对小鼠移植性肿瘤的作用^[7,8]

选择腹腔接种 7~9d, 生长良好的荷 S₁₈₀ 肉瘤或 H₂₂ 肝癌的小鼠, 断颈处死, 无菌抽取腹水, 以无菌生理盐水稀释成 1×10^7 /ml 瘤细胞悬液, 接种于健康小鼠右前肢腋部皮下, 每只 0.2ml, 接种 60 只。接种次日, 按体重随机分为 5 组, 灌胃给予受试药物各剂量或生理盐水, 每日一次, 连续 8d。阳性对照组腹腔注射 CTX(0.02g/kg/d)。白英总昔高、中、低剂量组分别为 62.4、31.2、15.6g 生药/kg/d。期间, 每日观察小鼠的一般活动、皮毛、粪便等情况。最后一次给药后 24h, 处死动物, 称瘤重并计算抑瘤率, 实验结果进行 t 检验。实验重复 3 批, 每批实验中动物选取同一性别。

$$\text{抑瘤率} (\%) = (\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{对照组平均瘤重} \times 100\%$$

2 结果

2.1 白英总昔对 BEL-7402 和 SGC-7901 细胞的体外增殖抑制作用

白英总昔对体外培养的 BEL-7402 细胞与 SGC-7901 细胞具有一定的增殖抑制作用, 且呈现良好的浓度依赖性关系, 见表 1。

表 1 白英总昔对 BEL-7402 与 SGC-7901 细胞的增殖抑制作用

药物	BEL-7402			SGC-7901 细胞		
	药物浓度(μ g/ml)	抑制率(%)	IC ₅₀ 值	药物浓度(μ g/ml)	抑制率(%)	IC ₅₀ 值
总昔	0.4	10.41 ± 1.12		0.4	1.79 ± 0.84	
	2	24.39 ± 0.74		2	5.82 ± 1.14	
	10	28.64 ± 0.96	180.22 ± 6.32	10	15.67 ± 1.31	114.89 ± 4.89
	50	36.27 ± 1.43		50	35.85 ± 1.22	
	250	53.42 ± 1.67		250	62.71 ± 1.58	
5-Fu	0.4	16.24 ± 1.22		0.4	23.08 ± 2.96	
	2	28.44 ± 1.02		2	42.00 ± 0.42	
	10	33.98 ± 2.15	14.06 ± 0.38	10	50.43 ± 0.71	3.93 ± 0.98
	50	57.57 ± 1.60		50	78.85 ± 1.62	
	250	88.27 ± 0.74		250	96.29 ± 1.49	

表 2 白英总苷对小鼠 S₁₈₀ 肉瘤及肝癌 H₂₂ 的抑制作用

瘤株	组别	剂量 (g/kg/d)	动物数(只)		鼠重(g)		瘤重(g)	抑瘤率(%)
			初始	结束	初始	结束		
S ₁₈₀	荷瘤对照	—	12	12	20.92 ±0.71	26.99 ±2.02	1.64 ±0.30	—
	CTX	0.02	12	11	20.87 ±0.64	21.19 ±1.73	0.47 ±0.19 **	71.07
	总苷	15.6	12	11	20.83 ±0.84	27.10 ±2.02	1.50 ±0.22	8.22
		31.2	12	11	20.64 ±0.98	26.21 ±1.99	1.34 ±0.24 *	18.15
		62.4	12	12	20.72 ±0.89	27.03 ±1.50	1.12 ±0.27 **	31.89
H ₂₂	荷瘤对照	—	12	12	20.40 ±1.04	25.57 ±2.67	1.46 ±0.27	—
	CTX	0.02	12	10	20.55 ±1.19	19.72 ±1.54	0.73 ±0.17 **	50.09
	总苷	15.6	12	11	20.53 ±1.10	25.43 ±1.50	1.40 ±0.22	4.03
		31.2	12	12	20.52 ±1.18	24.67 ±2.24	1.32 ±0.19	9.52
		62.4	12	12	20.17 ±1.02	25.98 ±2.54	1.22 ±0.32	16.70

* P < 0.05, ** P < 0.01, 与荷瘤对照组相比

2.2 白英总苷最大耐受量实验

给药后小鼠活动均正常,2周后亦全部存活,且体重增加,据此动物的最大耐受量为人日用量的1 641.0倍,表明白英总苷急性毒性甚小。

2.3 白英总苷的体内抗癌活性

荷 S₁₈₀ 肉瘤小鼠给予总苷各剂量肿瘤重量明显减轻,与 NS 对照组比较,有显著性差异,见表 2。

3 讨论

体外实验表明,总苷对多种体外培养的人癌细胞均呈现一定的增殖抑制作用,并呈现良好的浓度-剂量依赖关系。

动物实验表明,白英总苷的小鼠最大耐受量相当于人用剂量的1 641.0倍,急性毒性甚小。

体内小鼠移植瘤实验表明,白英总苷对小鼠移植性 S₁₈₀ 肉瘤有显著的抗肿瘤作用,高剂量组抑瘤率大于 30%,且与荷瘤对照组有显著性差异,同时药物的作用强度与剂量呈现良好的依赖关系,但其对小鼠移植性 H₂₂ 肝癌虽有肿瘤平均重量的减少,但不具有显著性差异,肿瘤重量的变异范围较大,高剂量组抑瘤率仅 16.7%。

通过较为系统的研究认为,白英总苷体内外具

有一定的抗肿瘤作用,且其作用存在一定的选择性,考虑可能与不同肿瘤的生物学性状的差别有关,其抗肿瘤作用机制有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1988.291.
- [2] 施文荣,刘艳.白英对人急性早幼粒白血病 HL-60 细胞生长的影响[J].福建中医学院学报,2002,12(1):36-38.
- [3] 单长民,胡娟娟,杜冠华,等.白英提取物诱导人肝癌 BEL-7404 细胞凋亡作用[J].中国临床药理学与治疗学,2001,6(3):200-203.
- [4] 孙立新,任婧,王敏伟,等.白英抗肿瘤有效部位筛选[J].沈阳药科大学学报,2005,22(3):210-212.
- [5] 徐叔云.药理实验方法学[M].第 3 版.北京:人民卫生出版社,2002.1762-1763.
- [6] 陈奇.中药药理研究方法学[M].第 1 版.北京:人民卫生出版社,1993.119-120.
- [7] 徐叔云.药理实验方法学[M].第 3 版.北京:人民卫生出版社,2002.1757-1779.
- [8] 李仪奎.中医药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.513-514.

[编辑:贺文]