

小蘗胺抗肿瘤作用的实验研究

辽宁中医学院 朱希伟 隋文作 印晓光 郝宏党

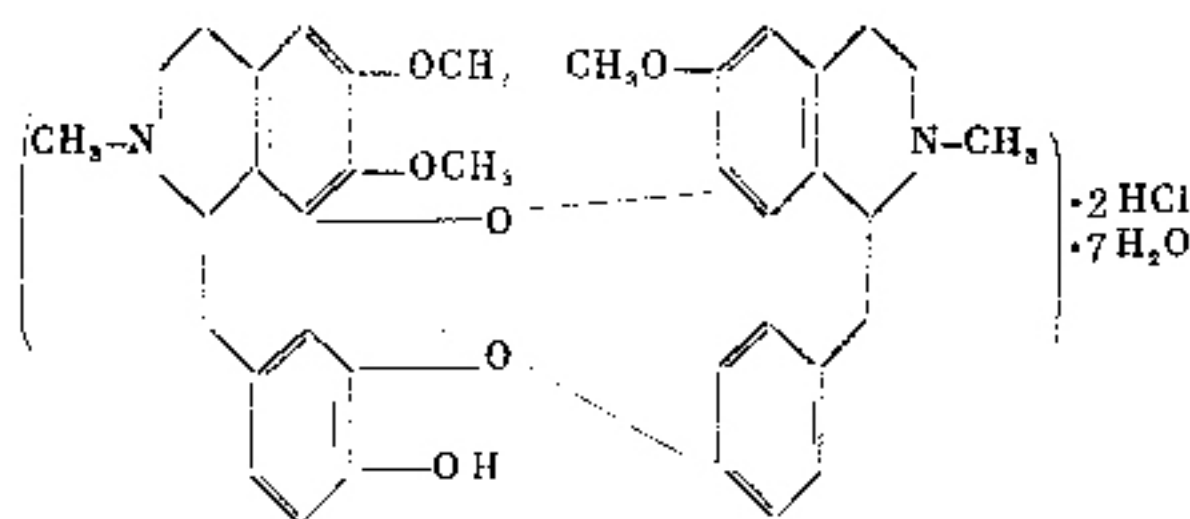
内容提要 本文通过动物抗肿瘤实验,证明小蘗胺对小鼠 S_{180} 的抑制率为75~78%;对小鼠HAC的生命延长率为68~80%;对小鼠EAC的生命延长率为68~80%。病理学及超微结构观察,提示实验组肿瘤细胞有坏死现象和代谢受阻情况。小蘗胺的急性 LD_{50} 为 $112 \pm 0.04 \text{ mg/kg}$ 。

小蘗胺(Berberamine)系从小蘗属植物 (*Berberis* L) 细叶小蘗 (*Berberis poiretii* Schn) 根中提出的一种双苄基异喹啉生物碱。小蘗胺与汉防己甲素(Tetrandine)的结构极其相似,汉防己甲素对大鼠Waker癌有很高活性,国外已通过临床前毒性试验进入临床试验阶段⁽¹⁾。有人推测小蘗胺也有抗肿瘤作用。本文初步观察了小蘗胺的抗肿瘤作用,现将结果报告如下。

材料与方法

一、材料

1. 盐酸小蘗胺:中国科学院林业土壤研究所植化组提供。其结构式为:



本品为无色小片状结晶,使用前用无菌生理盐水配成所需浓度。

2. 肿瘤模型:小鼠肉瘤 $180(S_{180})$ 、小鼠艾氏腹水癌(EAC)、小鼠肝癌腹水型(HAC)。以上瘤株均由中国医学科学院药物研究所引入,在本实验室连续传代20代以上。

3. 动物:健康杂系小鼠,体重18~22g,雌雄各半,由本院动物房提供。

二、方法

1. 抗肿瘤实验⁽²⁾

(1) 对小鼠 S_{180} 的抑制作用:取小鼠于右前腋皮下常规接种 S_{180} 肿瘤匀浆0.2ml(约 2×10^6 个细

胞/ml),次日随机分组,每组10只。实验组每鼠每日腹腔注射小蘗胺20mg/kg;对照组小鼠注射等量生理盐水。连续10天停药,处死动物,先称体重,后剖取瘤块,称重、记录,比较实验组与对照组间的差异,计算抑制率并进行显著性检验。

(2) 对小鼠HAC、小鼠EAC的抑制作用:予小鼠腹腔常规接种HAC或EAC腹水0.2ml(约 2×10^6 个细胞/ml),次日随机分组,给药方法同上,连续10天停药。称体重、记录、正常饲养,观察时间为50天。比较组间差异,计算生命延长率并进行显著性检验。

(3) 疗效标准:实体瘤抑制率 $\geq 30\%$,腹水瘤生命延长率 $\geq 50\%$,重复2~3次疗效稳定,经统计学处理有显著差异者,则认为该药有一定疗效。

2. 病理学及电镜超微结构的观察

(1) 病理学观察:取实验组与对照组之肿瘤组织,10%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,切片,HE染色,于光学显微镜下观察。

(2) 电镜超微结构的观察:取小鼠 S_{180} 实验组与对照组之肿瘤组织,2.5%戊二醛与1%锇酸固定,乙醇丙酮脱水,Epon812包埋,超薄切片,醋酸铅与柠檬酸铅染色,H600型电镜观察。

3. 急性毒性试验:取18~22g健康小鼠,按剂量分组,每组10只。将不同剂量的药物一次腹腔注射,观察72小时内小鼠死亡数,按照Karber氏法计算 LD_{50} 。

实验结果

一、抗肿瘤作用

1. 小蘗胺对小鼠HAC的抑制作用:实验结果指出,实验组小鼠每日腹腔注射小蘗胺20mg/kg,其生命延长率在68~80%之间,经统计学处理差异非常显著($P < 0.01$),说明小蘗胺对小鼠HAC有较为显著的抑制作用,见附表。

2. 小蘗胺对小鼠 EAC 的抑制作用: 实验结果, 小蘗胺对小鼠 EAC 的生命延长率在 68~80% 之间, 经

统计学处理差异非常显著 ($P < 0.01$), 说明小蘗胺对小鼠 EAC 有较为显著的抑制作用, 见附表。

附表 小蘗胺对小鼠 HAC、EAC、S₁₈₀ 的抑制作用

实验次数	组别	药物	剂量 mg/kg	HAC		EAC		S ₁₈₀	
				生存天数	生命延长率%	生存天数	生命延长率%	瘤重 (mg)	抑制率%
一	对照组	生理盐水		13.2±5.65	68	10.7±3.80	70	1425±496.1	75
	实验组	小蘗胺	20	41.78±8.75		36.1±11.58		363±132.2	
二	对照组	生理盐水		9.22±1.62	79	7.22±2.86	80	1388±486.9	78
	实验组	小蘗胺	20	44.56±5.17		36.67±12.99		309±117.4	
三	对照组	生理盐水		9.22±1.62	80	10.55±2.45	68	1486±461.6	75
	实验组	小蘗胺	20	46.44±5.70		33.11±12.35		374±127.9	

注: 实验动物数为每组 10 只, 均为腹腔注射给药。

3. 小蘗胺对小鼠 S₁₈₀ 的抑制作用: 实验结果, 小蘗胺对小鼠 S₁₈₀ 的抑制率在 75~78% 之间, 经统计学处理差异非常显著 ($P < 0.01$), 说明小蘗胺对小鼠 S₁₈₀ 有较为显著的抑制作用, 见附表。

二、病理学及电镜超微结构观察

1. 病理学观察: 光镜下观察, 发现实验组肿瘤细胞有坏死现象, 如细胞肿胀, 胞膜破裂, 核固缩、碎裂等。同时, 肿瘤组织周围纤维细胞增加, 且有大量淋巴细胞浸润。

2. 电镜超微结构观察

(1) 对照组小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞的特点: 胞核明显增大, 胞质相应缩小, 核/质比值增大, 核膜凹陷而

不规则, 核呈畸形, 核周间隙增宽。染色质多凝集成块分布于核膜内侧, 电子密度显著增高, 核仁呈团块状。线粒体多肿胀, 呈圆形或卵圆形, 嵴萎缩变短, 有的嵴完全消失, 呈空泡化。粗面内质网扩张, 细胞界限不清, 细胞联接消失(见图 1、2)。

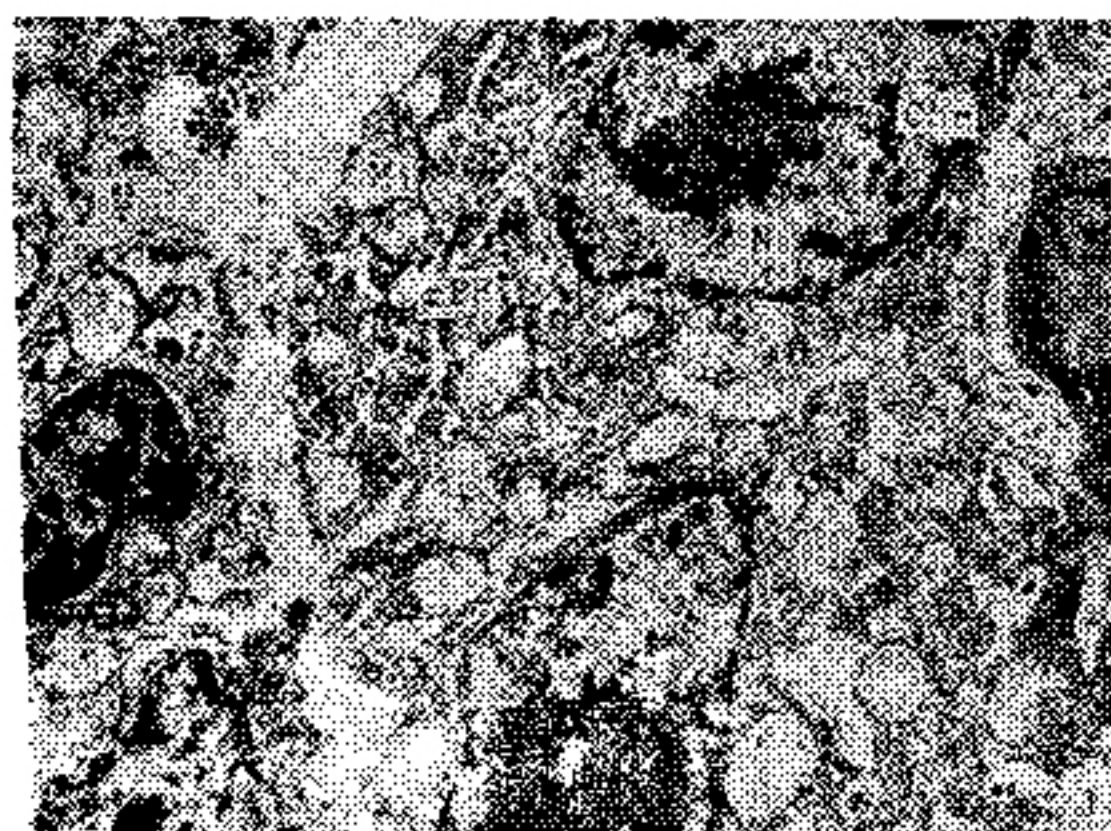


图1 对照组1 小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞: 核/质比例大, 细胞核(N)呈畸形, 染色质(Chr)分布于核膜内侧, 线粒体(Mi)多肿胀呈圆形或卵圆形, 粗面内质网(rER)扩张 ×8000

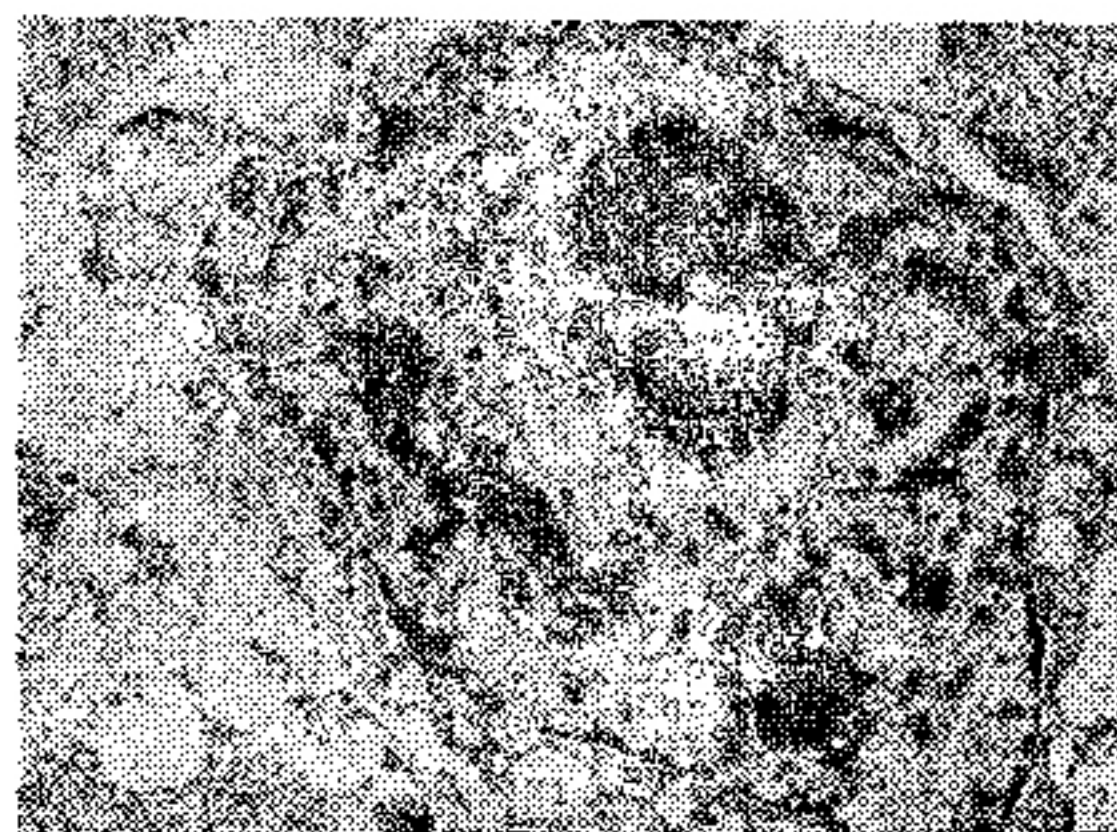


图2 对照组2 小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞: 核/质比例大, 细胞核(N)呈畸形, 染色质(Chr)分布于核膜内侧, 线粒体(Mi)呈圆形或卵圆形 ×9000

(2) 实验组小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞的特点: 用小蘗胺治疗后, 电镜观察, 癌组织中心部位有些癌细胞破碎, 胞核裸露, 胞质消失, 呈坏死改变。坏死癌组织的周围有大量癌细胞核圆化, 核的形状较正常, 核/质比例明显减少, 染色质块也明显减少, 线粒体明显增多, 并有大量游离核糖体存在(见图 3、4)。

三、小蘗胺的急性毒性: 小蘗胺给小鼠腹腔注射的急性 LD₅₀ 为 112±0.04mg/kg。

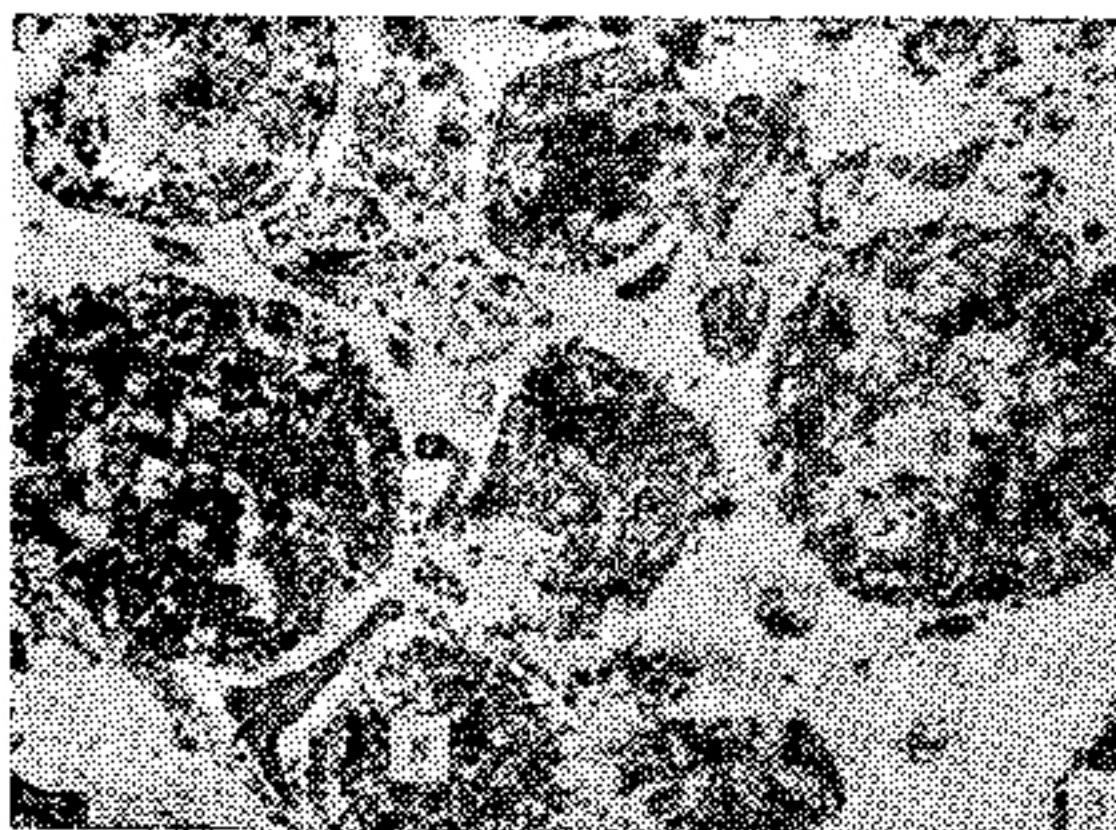


图3 实验组1 小蘗胺治疗后小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞特点, 细胞及细胞核破碎。有的细胞核(N)裸露 ×5000

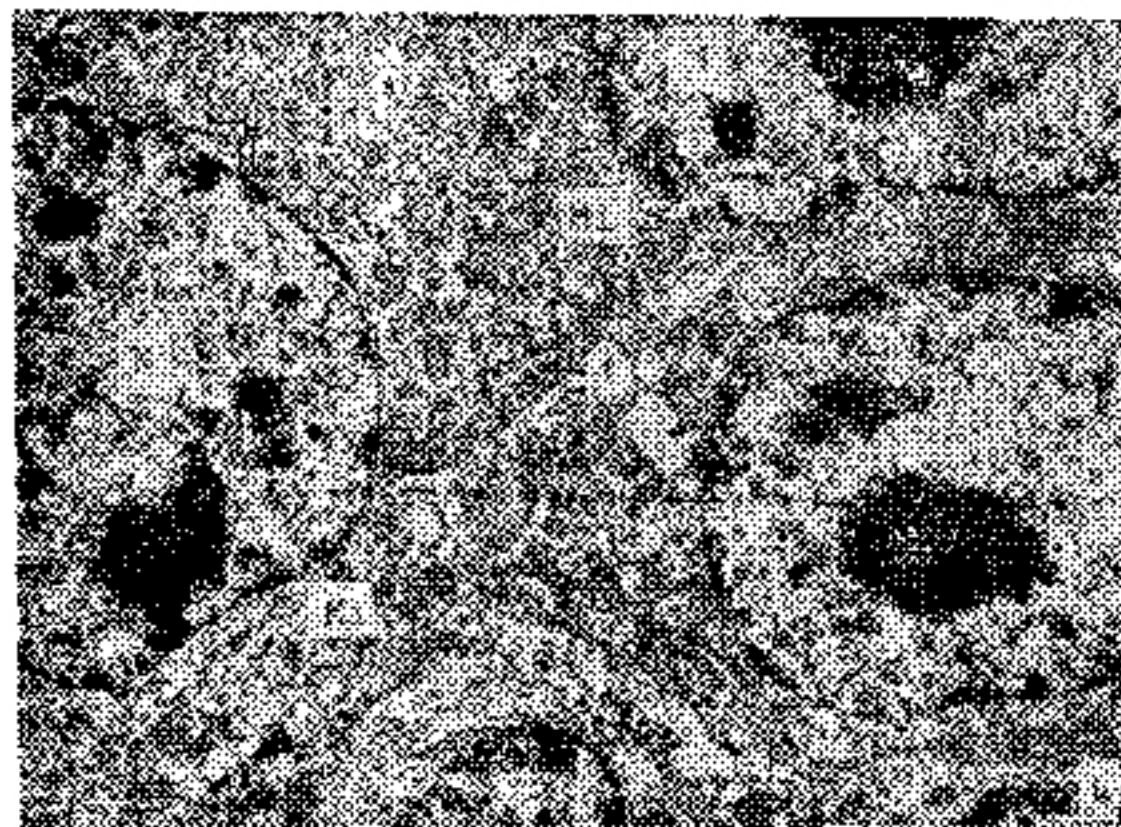


图4 实验组2 小蘗胺治疗后小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞特点, 见有大量肿瘤细胞坏死, 核/质比例明显减少, 细胞核(N)形状比较正常, 染色质(Chr)块明显减少, 线粒体(Mi)明显增多, 核糖体(Ri)大量游离、散在 ×6000

讨 论

小蘗胺与汉防己甲素、千金藤素等皆属于双苕异喹啉生物碱, 三者共存于小蘗、粉防己及头花千金藤等植物中^[3]。范围广泛的双苕基异喹啉生物碱有明显的抗癌活性^[4], 因而受到了广泛的重视^[5~7]。

已知, 中草药化学成份类似的结构可能存在相似的生物活性。小蘗胺与汉防己甲素、千金藤素的结构基本相似, 因此推测小蘗胺与前二者在生物活性方面

也可能有类似表现。

据报道, 小蘗胺有显著升高白细胞的作用, 能治疗多种原因引起的白细胞减少症, 对环磷酰胺的抗癌作用也有协同作用^[8]。并能提高机体的免疫功能^[9], 对化疗药物引起的免疫损伤具有调整作用。

为此, 我们观察了小蘗胺对小鼠移植性肿瘤的治疗作用, 并做了形态学观察。结果表明, 小蘗胺 20mg/kg 腹腔注射, 对小鼠 HAC、EAC、S₁₈₀ 均有显著的抑制作用。表现为实验组小鼠瘤重减轻和存活期延长。在实验期间, 实验组小鼠肿瘤增长缓慢, 且运动活泼, 毛色润泽, 无不良反应。

病理学观察, 实验组肿瘤细胞有明显坏死现象, 表现为细胞肿胀、破裂, 核固缩、碎裂等。电镜超微结构观察, 发现实验组肿瘤细胞核/质比例显著减小, 核外形趋于正常, 染色质数量减少, 提示实验组肿瘤细胞的核酸代谢受到了一定的抑制。

综合上述, 小蘗胺对小鼠移植性肿瘤有较显著的抑制作用, 且副作用小, 使用安全。本文可为筛选抗肿瘤植物成份的工作提供参考。

(中国科学院林业土壤研究所植化组陈玉崑老师为本实验提供小蘗胺样品, 特此致谢。)

参 考 文 献

1. 黄得阳. 国外对汉防己甲素的抗癌药理研究和临床应用. 上海中医药杂志 1979; 4: 44.
2. 全国抗癌药筛选及专题学术座谈会. 抗肿瘤药物体内筛选规程(草案). 医学研究通讯 1973; 4: 28.
3. 菰田泰夫. 抗肿瘤植物成份. 化学の领域 1974; 28: 887.
4. 严惠芬. 汉防己甲素抗肿瘤作用的研究. 中医药研究参考 1979; 2: 46.
5. Edward J, et al. Toxicology studies with d-Tetrandrine (NSC-7703), a plant alkaloid with vascular and lymphotoxic effects in dogs and monkeys. Cancer Chemother Rep Part 1974; 3(5): 79.
6. Kuroda H, et al. Antitumor effects of bisbenzylisoguinoline alkaloids. Chem Pharm Bull(Tokyo) 1976; 24(10): 2413.
7. Liao L L. Effects of terandrine on Hela cell. Fed Proc 1977; 36(3): 335.
8. 刘昌孝. 等. 升白药小蘗胺的实验研究. 中草药通讯 1979; 9: 36.
9. 山西省劳动卫生与职业病防治研究所. 小蘗胺对免疫功能的影响. 山西省劳动卫生与职业病资料汇编 1979; 2: 57.

Effects of *Rehmannia glutinosa*, *Plastrum testudinis* and *Aconitum carmichaeli*, *Cinnamomum cassia* on the Beta-Adrenergic Receptors of Hyperthyroid Rat Kidneys

Feng Guoping (冯国平), Zhang Shide (张世德), Yi Ningyu (易宁育), et al
Shanghai Second Medical University, Shanghai

The effects of some Yin tonics (*Rehmannia glutinosa* and *Plastrum testudinis*) and Yang tonics (*Aconitum carmichaeli* and *Cinnamomum cassia*) on the beta-adrenergic receptors of kidney of rats with T_3 injection-caused hyperthyroid were studied. The maximum binding capacity (RT) and dissociation constant (KD) were determined with 3H -DHA binding assays. The results were as follows: (1) The RT value of hyperthyroid rat kidney (89.5 ± 4.1) was significantly higher than normal (73.2 ± 2.4 , $P < 0.01$). There was no significant difference in KD values between the two groups. (2) By administration of *Rehmannia* and *Plastrum*, the RT of hyperthyroid rat was reduced to normal (75.4 ± 3.3 , $P < 0.01$), while *Aconitum* and *Cinnamomum* further increased the RT value of the hyperthyroid rat (103.4 ± 4.6 , $P < 0.05$). Both *Rehmannia*, *Plastrum* and *Aconitum*, *Cinnamomum* did not change the KD value of the hyperthyroid rat. (3) The measurements of the oxygen consumption rate were also coincided with the above results (control, hyperthyroid, hyperthyroid treated with *Rehmannia* and *Plastrum* and treated with *Aconitum* and *Cinnamomum* were 100%, $149 \pm 6\%$, $123 \pm 5\%$ and $162 \pm 6\%$ respectively)

Combined with other studies we concluded tentatively that Yin tonics (*Rehmannia* and *Plastrum*) and Yang tonics (*Aconitum* and *Cinnamomum*) could regulate the RT value of beta-adrenergic receptors along the opposite directions in hyperthyroid rat kidneys, which may be one of the important mechanisms of Yin and Yang tonics.

(Original article on page 606)

Observation on the Anti-Inflammatory Action of Propyl Gallate

Zhang Jiajun (张家俊), Liu Chunmei (刘春梅), Chen Wenwei (陈文为)
Dept. of Biochemistry, Central Laboratory, Beijing College of TCM, Beijing

Propyl gallate, i.e. 801, is a derivative of gallic acid, which is isolated from Chinese herbal drug *Paeonia rubra*. It has strong ability in scavenging superoxide anion radical, inhibiting the increase in capillary permeability induced by intraperitoneal injection of 0.7% acetic acid 10 ml/kg in mice and the swelling of hind paw induced by hypodermic injection of 0.1% histamine 0.1 ml in rats, and reducing the polymerization of hyaluronic acid induced by superoxide anion radical. It is presumed that the compound possesses anti-inflammatory action.

(Original article on page 609)

Experimental Study on Anti-Tumor Action of Berbamine in Mice

Zhu Xiwei (朱希伟), Sui Wenzuo (隋文作), et al
Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang

This paper reports on the effect of berbamine treatment of tumor in mice. After hypodermic transplantation of 4.0×10^5 S_{180} cells and intraperitoneal transplantation of 4.0×10^5 HAC or EAC ascitic tumor cells, the mice in the berbamine treated group was given 20 mg/kg berbamine intraperitoneally, once daily for ten days. The growth suppressing rate of S_{180} tumor cells was 75~78%, and the lifespan extension rate of the mice with HAC and EAC was 68~80% in the berbamine treated group. Light and electron microscopic examination showed that there were necrosis and metabolic disturbance in the tumor cells treated by berbamine. The experimental result showed that berbamine can suppress the transplanted tumor in mice effectively.

(Original article on page 611)