

# 山豆根颗粒及其饮片抗肿瘤作用及其机制

彭百承<sup>1</sup>, 黄健<sup>2</sup>, 李萍<sup>3\*</sup>, 江海燕<sup>3</sup>

(1. 南宁市中医院, 南宁 530001; 2. 广西药用植物园, 南宁 530002;  
3. 广西中医药大学, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**观察山豆根颗粒及其饮片对肝癌 H22 腹水瘤、S180 实体瘤的抑制作用,探讨其作用机制。**方法:**采用小鼠移植性肝癌 H22 腹水瘤、S180 实体瘤的体内实验方法,以环磷酰胺 (CTX) 为阳性对照,分别取肿瘤成功的小鼠随机分为 9 组,即:正常组,模型组,山豆根饮片高、中、低剂量组 (生药 7.0, 3.5, 1.75 g·kg<sup>-1</sup>)、山豆根颗粒高、中、低剂量组 (生药 7.0, 3.5, 1.75 g·kg<sup>-1</sup>)、CTX 组 (0.02 g·kg<sup>-1</sup>)。于分组第 2 天,CTX 组 *ip* 给药,其余各组 *ig* 给予相应的药物,连续给药 11 d,每日 1 次,给药体积均为 20 mL·kg<sup>-1</sup> 体重,分别观察山豆根颗粒及其饮片对荷瘤肝癌 H22 腹水瘤小鼠和 S180 实体瘤小鼠瘤重、抑瘤率的影响,并用放射免疫法测定小鼠血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (INF- $\gamma$ )、白介素-2 (IL-2) 的含量。**结果:**山豆根颗粒及其饮片均能显著抑制小鼠肝癌 H22 腹水瘤、S180 实体瘤的生长,且能显著提高荷瘤小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 、IL-2 的水平 ( $P < 0.0$ , 或  $P < 0.01$ )。**结论:**山豆根颗粒及其饮片均可对抗肝癌 H22 腹水瘤、S180 实体瘤,其作用机制均可能与其抑制细胞因子的表达有关。山豆根颗粒抗肿瘤作用与其饮片作用相当。

**[关键词]** 山豆根颗粒; 山豆根; 抗肿瘤; 作用机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0190-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230190

## Studies on Antitumor Effect and Mechanisms of *Sophora tonkinensis* and Its Granules

PENG Bai-cheng<sup>1</sup>, HUANG Jian<sup>2</sup>, LI Ping<sup>3\*</sup>, JIANG Hai-yan<sup>3</sup>

(1. Nanning Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanning 530001, China;  
2. Guangxi Medicinal Botanical Garden, Nanning 530002, China;  
3. Guangxi University of TCM, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the inhibitory action of *Sophora tonkinensis* and its granules on hepatoma H22 ascitic tumor, S180 solid tumor and investigate their mechanisms. **Method:** Using cyclophosphamide (CTX) as a positive control to compare with Transplantated hepatoma H22 ascitic tumor, S180 solid tumor of mice *in vitro*. Use the cyclophosphamide (CTX) as positive control, the mice that successful tumor types were randomly divided into nine groups, which are the normal control group, model group, *S. tonkinensis* high, medium and low dose group (raw medicine 7.0, 3.5, 1.75 g·kg<sup>-1</sup>), *S. tonkinensis* granules high, medium and low dose group (raw medicine 7.0, 3.5, 1.75 g·kg<sup>-1</sup>), positive control group (CTX, 0.02 g·kg<sup>-1</sup>). Two days after grouping, give the positive group *ip* CTX. Other groups give appropriate medicine once a day, for 11 days. The volumes are 20 mL·kg<sup>-1</sup>. Observe the effect of *S. tonkinensis* and its granules on the weight of hepatoma H22 ascitic tumor and S180 solid tumor, inhibition rate and the organ index. The content of tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), interleukin-2 (IL-2) in mice serum were determined by

**[收稿日期]** 20140311(017)

**[基金项目]** 广西科技厅科技攻关课题(桂科攻 0815005-1-9)

**[第一作者]** 彭百承, 主任药师, 从事临床药学研究工作. Tel:13807878505, E-mail:13807878505@139.com

**[通讯作者]** \* 李萍, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事中药药理研究. Tel:13005923060, E-mail:lizli92@163.com

using radioimmunoassay. **Result:** The growth of hepatoma H22 ascitic tumor and S180 solid tumor was significantly inhibited by both *S. tonkinensis* and its granules after a treatment from day 1 to day 10 by *ig* besides, the level of TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ), INF- $\gamma$  ( $P < 0.05$ ), IL-2 ( $P < 0.01$ ) in mice serum was significantly improved. **Conclusion:** The mechanisms of *S. tonkinensis* and its granules on hepatoma H22 ascitic tumor and S180 solid tumor may be related to repressing the expression of cytokines.

[**Key words**] *Sophora tonkinensis* granules; *Sophora tonkinensis*; antitumor; mechanism

山豆根为豆科植物广豆根的根,主产于广西、广东,别名山大豆根(《经验方》)、苦豆根(《中药材手册》),为《中国药典》(2005年版)收载品种<sup>[1-2]</sup>。本药功效始载于《开宝本草》:“主解诸药毒、止痛、消疮肿毒”;《本草经疏》谓山豆根为解毒清热之上药;《本草求真》载“解咽喉肿痛第一要药”。近代临床常用于治疗咽喉肿痛、牙龈肿痛、湿热黄疸、湿热带下以及肿瘤等<sup>[3-4]</sup>。山豆根饮片在临床上使用较多,但是由于患者往往不能掌握煎煮的时间而有可能出现毒性反应,通过山豆根免煎颗粒的毒性实验,发现山豆根免煎颗粒的毒性远远小于饮片<sup>[5]</sup>。为了研究山豆根颗粒制剂是否能代替饮片用于临床抗肿瘤,笔者进行了山豆根颗粒及其饮片对肝癌 H22 腹水瘤、S180 实体瘤抑制作用的比较。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 山豆根颗粒(1 g 颗粒含 5 g 生药,南宁培力药业股份有限公司,批号 A081082-04);山豆根饮片(购自南宁市医药公司,批号 20101203);环磷酰胺(CTX,江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 08010821);肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 放免分析试剂盒,干扰素- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) 放免分析试剂盒,白介素-2 (IL-2) 放免分析试剂盒(上海船夫生物科技有限公司分装,批号 20100617)。

**1.2 药物的制备** 山豆根饮片水提浓缩液的制备:山豆根饮片 1 kg,加 5 倍水,浸泡 2 h,煎煮 1 h,过滤;药渣再加 3 倍数煎煮 30 min,过滤;合并滤液浓缩至 2.5 g·mL<sup>-1</sup>。山豆根颗粒溶液的制备:准确称取山豆根颗粒,用纯净水配制成实验所需浓度。

**1.3 动物** 清洁级昆明种小鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄兼用,由广西中医药大学实验动物中心提供,合格证号(桂)医动字第 11004 号。肝癌 H22 腹水瘤小鼠、S180 实体瘤小鼠由广西中医药研究院提供。

**1.4 仪器** BP211D 型 1/1 万电子天平(德国赛多利斯),722 型紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂),DMN-9602G 型酶标仪(成都贝斯达仪器公司)。

## 2 方法

### 2.1 造模方法

**2.1.1 H22 肝癌小鼠造模方法** 取 118 只小鼠,雌雄各半,适应性喂养 3 d 后接种,用无菌注射器无菌条件下抽取 6 ~ 8 d 转代接的种 H22 肝癌小鼠的腹水,用生理盐水按体积比 1:5 稀释(将细胞密度调整为  $1 \times 10^7$ /mL)。每只小鼠右前腋下接种 H22 细胞悬液 0.2 mL/只,接种 24 h 后随机分组。

**2.1.2 S180 实体瘤小鼠造模方法** 方法同 2.1.1。

### 2.2 分组及给药

**2.2.1 H22 肝癌小鼠分组及给药** 将肿瘤成功的小鼠随机分为 9 组,即:正常对照组(纯净水),模型组(纯净水),山豆根饮片高、中、低剂量组(生药 7.0,3.5,1.75 g·kg<sup>-1</sup>)、山豆根颗粒高、中、低剂量组(生药 7.0,3.5,1.75 g·kg<sup>-1</sup>)、阳性对照组(CTX,0.02 g·kg<sup>-1</sup>)。于分组第 2 天,阳性组 *ip* 给予 CTX,其余各组 *ig* 给予相应的药物,连续给药 11 d,每日 1 次,给药体积均为 20 mL·kg<sup>-1</sup>。

**2.2.2 S180 实体瘤小鼠分组及给药** 同 2.2.1。

### 2.3 检测指标及方法

**2.3.1 抑瘤率测定** 末次给药后 24 h,称体重,脱颈椎处死小鼠,用镊子镊住小鼠右腋窝肿瘤生长部位皮肤后,用手术剪子剪开皮肤,暴露肿瘤,用手术剪钝性剥离肿瘤,用滤纸吸干后用电子天平称瘤重,计算抑瘤率。

**2.3.2 血清中 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 水平的检测** 末次给药后 24 h,摘眼球取血,室温静置 6 h 后,离心 10 min,3 000 r·min<sup>-1</sup>,分离血清放于 -20 °C 备用。临用前平衡至室温,以酶联免疫吸附法测定荷瘤小鼠血清细胞因子 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 的水平(均按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作)。

**2.4 统计学方法** 用 SAS13.0 软件分析,计量资料均用  $\bar{x} \pm s$  表示,数据比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为有统计意义。

## 3 结果

### 3.1 对小鼠肿瘤生长的影响

**3.1.1 对小鼠移植性 H22 肿瘤生长的影响** 与模

型组比较,山豆根饮片各剂量组对小鼠 H22 肝癌抑瘤率分别为 11.2% ,21.6% ,23.8% ,饮片能显著抑制小鼠肝癌 H22 腹水瘤的生长 ( $P < 0.05$ );山豆根颗粒各剂量组对小鼠 H22 肝癌抑瘤率分别为 22.1% ,30.7% ,39.0% ,颗粒高、中、低剂量组能显著抑制小鼠肝癌 H22 腹水瘤的生长 ( $P < 0.01, P < 0.05$ ),且作用呈剂量依赖性。见表 1。

表 1 山豆根颗粒及其饮片对小鼠移植性 H22 肿瘤生长的影响

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	瘤重 /g	抑瘤率 /%
模型	20	-	2.31 ± 0.43	-
山豆根颗粒	10	1.75	1.80 ± 0.53 <sup>1)</sup>	22.1
	10	3.50	1.60 ± 0.48 <sup>2)</sup>	30.7
	10	7.00	1.41 ± 0.46 <sup>2)</sup>	39.0
山豆根饮片	10	1.75	2.05 ± 0.61	11.2
	10	3.50	1.81 ± 0.44 <sup>1)</sup>	21.6
	10	7.00	1.76 ± 0.52 <sup>1)</sup>	23.8
CTX	10	0.02	0.66 ± 0.32 <sup>2)</sup>	71.4

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.1.2 对小鼠移植性 S180 肿瘤生长的影响** 与模型组比较,山豆根饮片各剂量组对小鼠 S180 肉瘤的抑瘤率分别为 8.3% ,14.0% ,19.2% ,饮片中、高剂量组能显著抑制小鼠肉瘤 S180 的生长 ( $P < 0.05$ )。山豆根颗粒各剂量组对小鼠 S180 肉瘤的抑瘤率分别为 17.9% ,17.5% ,29.2% ,颗粒高、中、低剂量组能显著抑制小鼠肉瘤 S180 的生长 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),且作用呈剂量依赖性。见表 2。

表 3 山豆根颗粒及其饮片对 H22 荷瘤小鼠外周血 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$ /ng·L <sup>-1</sup>	INF- $\gamma$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-2 /ng·L <sup>-1</sup>
空白	10	-	310 ± 29.7	0.79 ± 0.19	2.70 ± 0.79
模型	20	-	261.2 ± 47.4 <sup>1)</sup>	0.56 ± 0.17 <sup>2)</sup>	1.19 ± 0.81 <sup>2)</sup>
山豆根颗粒	10	1.75	273.2 ± 52.3	0.70 ± 0.13 <sup>3)</sup>	1.88 ± 0.58 <sup>3,5)</sup>
	10	3.50	307.5 ± 49.9 <sup>3)</sup>	0.88 ± 0.16 <sup>4,5)</sup>	2.29 ± 0.60 <sup>4,5)</sup>
	10	7.00	372.3 ± 48.9 <sup>3)</sup>	0.94 ± 0.17 <sup>4,5)</sup>	2.45 ± 0.56 <sup>4,5)</sup>
山豆根饮片	10	1.75	261.5 ± 49.3	0.76 ± 0.15 <sup>3)</sup>	1.16 ± 0.69
	10	3.50	258.2 ± 47.5	0.74 ± 0.11 <sup>3)</sup>	1.68 ± 0.54 <sup>4)</sup>
	10	7.00	318.6 ± 29.5 <sup>4)</sup>	0.82 ± 0.13 <sup>4)</sup>	2.05 ± 0.44 <sup>4)</sup>
CTX	10	0.02	297.7 ± 57.8 <sup>4)</sup>	0.70 ± 0.11 <sup>3)</sup>	2.50 ± 0.79 <sup>4)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$ ;与同剂量饮片组比较<sup>5)</sup> $P < 0.05$ (表 4 同)。

**3.2.2 对 S180 荷瘤小鼠血清 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 的影响** 与空白组比较,模型组血清 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ,

表 2 山豆根颗粒及其饮片对小鼠移植性 S180 肿瘤生长的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	瘤重 /g	抑瘤率 /%
模型	20	-	2.29 ± 0.36	-
山豆根颗粒	10	1.75	1.88 ± 0.26 <sup>1)</sup>	17.9
	10	3.50	1.89 ± 0.31 <sup>1)</sup>	17.5
	10	7.00	1.62 ± 0.27 <sup>2)</sup>	29.2
山豆根饮片	10	1.75	2.10 ± 0.33	8.3
	10	3.50	1.97 ± 0.44 <sup>1)</sup>	14.0
	10	7.00	1.85 ± 0.23 <sup>1)</sup>	19.2
CTX	10	0.02	0.73 ± 0.28 <sup>2)</sup>	68.1

**3.2 对荷瘤小鼠血清 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 的影响**

**3.2.1 对 H22 荷瘤小鼠血清 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 的影响** 与空白组比较,模型组血清中 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-2 等含量显著降低 ( $P < 0.05$ ),说明造模成功。与模型组比较,山豆根颗粒高、中剂量组,山豆根饮片高剂量组,CTX 组均能显著提高 H22 荷瘤小鼠血清 TNF- $\alpha$  的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );山豆根颗粒高、中、低剂量组,山豆根饮片高、中、低剂量组,CTX 组均能显著提高 H22 荷瘤小鼠血清 INF- $\gamma$  含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );山豆根颗粒高、中、低剂量组,山豆根饮片高、中剂量组,CTX 组均能显著提高 H22 荷瘤小鼠血清 IL-2 含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与饮片各同剂量组比较,山豆根颗粒高、中剂量组能显著提高 H22 荷瘤小鼠血清 INF- $\gamma$  含量 ( $P < 0.05$ );颗粒高、中、低剂量组能显著提高 H22 荷瘤小鼠血清 IL-2 含量 ( $P < 0.05$ );颗粒各剂量组血清 TNF- $\alpha$  含量无显著性差异。见表 3。

IL-2 等含量显著降低 ( $P < 0.05$ ),说明造模成功。与模型组比较,山豆根颗粒高、中剂量组,山豆根饮

片高剂量组,CTX组均能显著提高荷瘤小鼠血清TNF- $\alpha$ 含量( $P < 0.01$ );山豆根颗粒高、中、低剂量组,山豆根饮片高、中、低剂量组,CTX组均能显著提高S180荷瘤小鼠血清INF- $\gamma$ 的含量( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );山豆根颗粒高剂量组,山豆根饮片高

剂量组,CTX组均能显著提高S180荷瘤小鼠血清IL-2的含量( $P < 0.01$ )。与饮片各同剂量组比较,山豆根颗粒高、中剂量组能显著提高荷瘤小鼠血清TNF- $\alpha$ ,INF- $\gamma$ 等含量( $P < 0.05$ );山豆根颗粒各剂量组血清IL-2含量无显著差异。见表4。

表4 山豆根颗粒及其饮片对S180荷瘤小鼠外周血TNF- $\alpha$ ,INF- $\gamma$ ,IL-2的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$ /ng·L <sup>-1</sup>	INF- $\gamma$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-2 /ng·L <sup>-1</sup>
空白	10	-	297.8 ± 51.9	0.83 ± 0.11	1.30 ± 0.29
模型	20	-	251.4 ± 82.0 <sup>2)</sup>	0.69 ± 0.10 <sup>2)</sup>	0.78 ± 0.22 <sup>2)</sup>
山豆根颗粒	10	1.75	259.8 ± 65.2 <sup>1)</sup>	0.75 ± 0.15 <sup>3)</sup>	0.76 ± 0.39
	10	3.50	321.6 ± 75.0 <sup>2,4,5)</sup>	0.93 ± 0.19 <sup>4,5)</sup>	0.97 ± 0.26
	10	7.00	376.6 ± 75.0 <sup>2,4,5)</sup>	1.09 ± 0.14 <sup>4,5)</sup>	1.27 ± 0.32 <sup>4)</sup>
山豆根饮片	10	1.75	261.6 ± 66.0 <sup>1)</sup>	0.93 ± 0.18 <sup>3)</sup>	0.76 ± 0.32
	10	3.50	263.4 ± 75.3 <sup>1)</sup>	0.75 ± 0.12 <sup>3)</sup>	0.80 ± 0.24
	10	7.00	339.6 ± 75.4 <sup>1,4)</sup>	0.83 ± 0.11 <sup>4)</sup>	1.17 ± 0.23 <sup>4)</sup>
CTX	10	0.02	386.6 ± 94.2 <sup>4)</sup>	1.22 ± 0.10 <sup>4)</sup>	1.20 ± 0.24 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

在恶性肿瘤的发病机制中,免疫功能失衡是一个重要因素,IL-2,INF- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ 等细胞因子对机体免疫应答的调节起着重要的作用。IL-2是由活化的I型辅助淋巴细胞(Th1细胞)分泌的免疫调节因子,具有促进T细胞增殖,诱生LAK细胞,促进B细胞分泌抗体,促进T细胞杀伤作用及增强NK细胞活性等作用。同时诱导杀伤细胞产生INF- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ 等细胞因子,从而间接发挥抗肿瘤作用;INF- $\gamma$ 通过抑制肿瘤细胞的增生,改变肿瘤细胞表面的性能及诱发新的抗原而被免疫监视细胞识别并加以排斥,实现抗肿瘤效应和增强机体抗肿瘤能力<sup>[6]</sup>;TNF- $\alpha$ 是由单核巨噬细胞产生的具有广泛生物学活性的细胞因子,不仅参与机体的免疫防御机能,选择性地杀伤肿瘤细胞,而且能介导炎症反应、组织损伤等病理生理过程。TNF- $\alpha$ 生物学作用与体内的水平高低密切相关,临床研究表明肿瘤患者血TNF- $\alpha$ 水平异常升高<sup>[7]</sup>。

实验结果得知,山豆根颗粒及其饮片均能显著提高H22荷瘤小鼠、S180荷瘤小鼠外周血清IL-2,INF- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ 等细胞因子水平,表明山豆根颗粒及其饮片具有改善荷瘤机体细胞因子异常的作用,使IL-2,INF- $\gamma$ ,细胞因子维持在较高水平而发挥抗肿

瘤及调节机体免疫功能的作用。

本研究表明,山豆根颗粒抗肿瘤作用与其饮片相当,且山豆根颗粒具有毒性小,质量可控,服用方便等优点。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:19.

[2] 范健,吕建峰. 山豆根的化学成分与药理研究进展[J]. 实用医技杂志,2003,10(11):1254.

[3] 赵培荣,田爱琴,马湘玲,等. 山豆根对人食管癌细胞株(Eca-109)杀伤、抑制及脱氢酶类影响[J]. 河南肿瘤学杂志,1998,11(2):87.

[4] 张燕军,夏天,赵建斌. 苦参碱对SMMC-7721细胞系的诱导分化作用[J]. 第四军医大学学报,1998,19(3):340.

[5] 彭百承,李萍,江海燕,等. 山豆根颗粒及其饮片的毒性及抗炎作用的研究[J]. 时珍国医国药,2011,20(7):1616.

[6] 陈闯. 苦参类生物碱抗肿瘤的研究概况[J]. 中医药研究,2001,17(1):54.

[7] 培荣,田爱琴,马湘玲,等. 山豆根对人食管癌细胞株(Eca-109)杀伤、抑制及脱氢酶类影响[J]. 河南肿瘤学杂志,1998,11(2):87.

[责任编辑 聂淑琴]