

榼藤子生品和炮制品总皂苷体内抗肿瘤作用

邓悟红¹, 肖二², 熊慧², 莫莎莎², 梅之南^{2*}

(1. 武汉市黄陂区中医医院, 武汉 430300; 2. 中南民族大学药学院, 武汉 430074)

[摘要] 目的: 考察榼藤子生品和炮制品总皂苷体内抗肿瘤作用。方法: 荷瘤小鼠随机分为 8 组, 接种后第 2 天给药, 连续 10 d, 模型对照组 ig 以等量生理盐水, 阳性对照组腹腔注射顺铂 3 mg·kg⁻¹, 低、中、高剂量榼藤子生品、炮制品总皂苷组分别 ig 0.25, 0.5, 1 g·kg⁻¹ 剂量。观察榼藤子总皂苷的肿瘤抑制作用; 计算抑瘤率、胸腺指数、脾指数、肝脏指数; 测定血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平。结果: 榼藤子生品高、中、低剂量组的抑瘤率分别为 58.86%, 49.52%, 43.45%, 榼藤子炮制品高、中、低剂量组的抑瘤率分别为 59.41%, 48.81%, 44.59%, 榼藤子生品及炮制品总皂苷还能提升荷瘤小鼠血清 SOD 的活力, 降低 MDA 水平。结论: 榼藤子生品和炮制品总皂苷具有抗小鼠肿瘤作用, 并可增强抗氧化能力。

[关键词] 榼藤子; 总皂苷; 抗肿瘤; 炮制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0148-03

Experimental Study on Anti-tumor Effect of the Total Saponins from the Crude and Processed Products of *Entada phaseoloides*

DENG Wu-hong¹, XIAO Er², XIONG Hui², MO Sha-sha², MEI Zhi-nan^{2*}

(1. Wuhan Huangpi District Traditional Chinese Medicine Hospital, Wuhan 430300, China;
2. College of Pharmacy, South-central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-tumor action of total saponins from the crude and processed

[收稿日期] 20110825(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073150); 国家科技支撑计划项目(2007BA148B08)

[第一作者] 邓悟红, 主管药师, Tel: 027-85939863, E-mail: 113330031@qq.com

[通讯作者] * 梅之南, 博士, 教授, 从事民族药物基础研究, Tel: 027-67843713, E-mail: meizhinan@163.com

- [11] Bjornsson E, Olsson R. Suspected drug-induced liver fatalities reported to the WHO database [J]. Dig Liver Dis, 2006, 38(1):33.
- [12] Manyike P T, Kharasch E D, Kalhorn T F, et al. Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation [J]. Clin Pharmacol Ther, 2000, 67(3):275.
- [13] 王君明, 崔瑛, 申玲玲, 等. 中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):247.
- [14] 王君明, 崔瑛, 王峰涛, 等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):265.
- [15] 齐双岩, 金若敏, 刘红杰, 等. 川楝子致大鼠肝毒性机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(16):2405.
- [16] 韦健全, 罗莹, 薛强, 等. 梅花钻对乙醇引起小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13):167.
- [17] 徐丹洋, 陈佩东, 张丽, 等. 黄芩的化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):78.
- [18] Inoue T, Jackson E K. Strong antiproliferative effects of baicalein incultured rat hepatic stellate cells [J]. Eur J Pharmacol, 1999, 378(1):129.
- [19] Shieh D E, Liu L T, Lin C C. Antioxidant and free radical scavenging effects of baicalein, baicalin and wogonin [J]. Anticancer Res, 2000, 20(5A):2861.
- [20] Wu Y L, Lian L H, Wan Y, et al. Baicalein inhibits nuclear factor- κ B and apoptosis via c-FLIP and MAPK in D-GalN/LPS induced acute liver failure in murine models [J]. Chem Bio Interact, 2010, 188(3):526.

[责任编辑 聂淑琴]

products of *Entada phaseoloides* in vivo. **Method:** Mice bearing transplanted tumor S180 were used to observe the effects of total saponins from *E. phaseoloides*; then inhibition ratio, thymus index, spleen index and liver index were calculated. The level of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) was detected. **Result:** The crude and processed products *E. phaseoloides* saponins showed a significant anti-cancer activity on S180 implanted in mice, increased the level of SOD and reduced the content of MDA in blood serum in tumor-bearing mice. **Conclusion:** The crude and processed products *E. phaseoloides* saponins have anti-tumor effects and anti oxidative capacity.

[**Key words**] *Entada phaseoloides*; total saponins; anti-tumor; processing

傣药楤藤子为豆科楤藤子属植物楤藤子的干燥种仁,系西双版纳傣医习用药材,主要用于治疗胃痛、痔疮、便秘等病症^[1]。本课题组已对其化学成分进行了研究^[2]。有研究表明,楤藤子皂苷作为楤藤子活性药效成分,具有抗肿瘤,增强免疫,降血糖等作用^[3-5]。本实验对楤藤子生品及炮制品^[6]中提取的总皂苷进行体内抗肿瘤作用研究,并初步探讨其作用机制,为其进一步研究提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂 楤藤子生品购于原产地云南西双版纳,并经中南民族大学药学院万定荣教授鉴定为豆科植物楤藤子 *Entada phaseoloides* (Linn.) Merr. 的干燥种仁。楤藤子炮制品的炮制方法为炒黄,由西双版纳傣族自治州民族医药研究所提供。楤藤子生品和炮制品总皂苷均为实验室自制。方法为:楤藤子醇提取通过 HP-20 大孔树脂柱,依次用纯化水、20% 乙醇去除杂质后,用 50% 乙醇进行洗脱,收集洗脱液,蒸干即得楤藤子总皂苷。注射用顺铂,齐鲁制药有限公司,批号 809021CE。超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量测定试剂盒,南京建成生物制品有限公司。

1.2 动物 SPF 级昆明种小鼠,雌雄兼用,体重(20 ± 2) g,由武汉生物制品研究所动物饲养中心提供,动物许可证号 SCXK(鄂)2008-0003。所购动物饲养于中南民族大学药学院 SPF 级实验动物中心。

1.3 仪器 FY130 药物粉碎机,天津泰斯特仪器有限公司。JEC-6S 电子天平,福州科迪电子有限公司。真空干燥箱,天津泰斯特仪器有限公司。

2 方法

2.1 S180 荷瘤小鼠模型的建立 在无菌条件下,抽取传代后 6 d 的 S180 小鼠的腹水,用无菌 0.9% 生理盐水以 1:3 稀释至 2×10^6 个/mL,分别取 0.2 mL 接种于小鼠的右前肢腋下皮肤,制成荷瘤小鼠模型。

2.2 荷瘤小鼠的抑瘤率 取荷瘤小鼠随机分为 8

组,每组各 10 只。于接种后第 2 天给药。接种 3~4 d 后,在每只小鼠右前肢腋下均可触及小米粒大小实体瘤。模型对照组灌以等量生理盐水,阳性对照组腹腔注射顺铂 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,低、中、高剂量楤藤子生品总皂苷组分别以 $0.25, 0.5, 1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃,低、中、高剂量楤藤子炮制品总皂苷组分别以 $0.25, 0.5, 1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃,1 次/d,连续 10 d。停药次日对每只小鼠进行称重,小鼠眼眶取血,血液保存于离心管中, $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,获得血清保持于 4 °C 冰箱中,备用。颈椎脱臼处死小鼠,称体重,取小鼠肿瘤组织,称瘤重,计算抑瘤率。

抑瘤率 = (对照组平均瘤重 - 给药组平均瘤重) / 对照组平均瘤重 × 100%

2.3 荷瘤小鼠脏器测定 完成 2.2 项下各步骤后,将小鼠解剖称取胸腺、脾脏、肝脏质量,计算小鼠的胸腺指数、脾脏指数和肝脏指数 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

胸腺(脾脏、肝脏)指数 = 胸腺(脾脏、肝脏)质量(mg) / 体重(g)

2.4 对 S180 小鼠 SOD, MDA 的影响 将 2.2 项下制备的小鼠血清按照试剂盒说明书方法测定 SOD 和 MDA 的含量。

2.5 统计学处理 采用 SPSS 11.5 软件进行数据分析,实验数据以 $x \pm s$ 表示,组间进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对荷瘤小鼠抑瘤率的影响 楤藤子生品和炮制品总皂苷低、中、高各剂量对小鼠移植性肿瘤 S180 均具有显著的抑制作用,和生理盐水对照组相比,均有显著性差异。见表 1。

3.2 对荷瘤小鼠体重、肝脏、脾脏、胸腺指数的影响 与生理盐水对照组比较,除楤藤子生品和炮制品高剂量组胸腺指数明显降低,其他各处理组小鼠体重、肝脏、脾脏、胸腺指数无明显改变,而顺铂组体重、肝脏、脾脏、胸腺指数,与阴性对照组比较差异有显著性,见表 1。

表 1 槭藤子对 S180 小鼠的抑瘤作用以及对各器官的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体重 /g	瘤重 /g	抑瘤率 /%	胸腺指数 /mg·g ⁻¹	脾脏指数 /mg·g ⁻¹	肝脏指数 /mg·g ⁻¹
生理盐水	-	24.54 ± 1.14	1.70 ± 0.38	-	3.52 ± 0.40	10.53 ± 1.30	62.69 ± 8.52
顺铂	0.003	18.99 ± 1.28 ²⁾	0.39 ± 0.14 ²⁾	76.87	1.83 ± 0.40 ²⁾	6.52 ± 1.48 ²⁾	52.93 ± 7.54 ¹⁾
槭藤子生品总皂苷	1.0	22.52 ± 1.86 ¹⁾	0.70 ± 0.27 ²⁾	58.86	2.97 ± 0.57 ¹⁾	10.23 ± 1.25	60.43 ± 5.60
	0.5	24.27 ± 1.79	0.86 ± 0.32 ²⁾	49.52	3.41 ± 0.51	11.75 ± 1.66	66.04 ± 7.11
	0.25	23.55 ± 1.93 ¹⁾	0.96 ± 0.23 ²⁾	43.45	3.32 ± 0.55	11.29 ± 1.38	64.03 ± 7.46
槭藤子炮制品总皂苷	1.0	22.56 ± 1.26	0.69 ± 0.19 ²⁾	59.41	3.05 ± 0.38 ¹⁾	11.02 ± 1.31	60.10 ± 5.34
	0.5	23.45 ± 1.05	0.87 ± 0.34 ²⁾	48.81	3.24 ± 0.71	10.87 ± 0.84	59.04 ± 6.31
	0.25	23.42 ± 1.47	0.94 ± 0.33 ²⁾	44.59	3.29 ± 0.47	10.55 ± 1.40	60.87 ± 8.30

注:与模型对照组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01 (表 2 同)。

3.3 槭藤子对 S180 小鼠 SOD,MDA 的影响 槭藤子生品和炮制品总皂苷低、中、高剂量组作用的 S180 荷瘤小鼠血清 SOD 活力均有升高,MDA 水平均有下降,与生理盐水对照组对比均有显著性差异,见表 2。

表 2 槭藤子对 S180 小鼠 SOD,MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g/kg	SOD /U·mL ⁻¹	MDA /mmol·L ⁻¹
生理盐水	-	52.91 ± 5.88	6.06 ± 0.80
顺铂	0.003	63.86 ± 6.22 ²⁾	4.72 ± 0.85 ²⁾
槭藤子生品总皂苷	1.0	64.31 ± 2.71 ²⁾	4.43 ± 0.58 ²⁾
	0.5	60.80 ± 6.28 ¹⁾	4.98 ± 0.73 ²⁾
	0.25	60.49 ± 7.58 ¹⁾	5.03 ± 0.55 ¹⁾
槭藤子炮制品总皂苷	1.0	65.61 ± 5.38 ²⁾	4.63 ± 0.64 ²⁾
	0.5	61.94 ± 4.80 ²⁾	4.94 ± 0.96 ¹⁾
	0.25	60.18 ± 6.68 ¹⁾	5.10 ± 0.68 ¹⁾

4 讨论

傣医认为槭藤子性味微苦麻,凉。入风、土、水、火塔。有小毒。具有补气补血,健胃消食,除风止痛,强筋硬骨之功。需炮制后入药,槭藤子的传统炮制加工方法为炒黄或炒焦。近年来本课题组对其传统的炮制技术、炮制化学及炮制药理等进行了系统而深入的研究。结果表明,槭藤子经炒焦炮制后槭藤酰胺类和皂苷类成分的含量均下降,对小鼠的毒性有显著的降低,LD₅₀值明显增大。并且槭藤子经炮制后对正常和抑制状态的小鼠小肠运动有促进作用,对正常小鼠的胃排空也有抑制作用^[4]。

为了探讨槭藤子炮制前后抗肿瘤的作用,本实验通过建立 S180 小鼠模型,以不同剂量槭藤子生品和炮制品总皂苷对小鼠进行干预,进行了抑瘤率以及脏器指数的实验,观察受试物对荷瘤小鼠血清中

SOD 与 MDA 的水平。结果表明,槭藤子生品及炮制品总皂苷能显著抑制小鼠 S180 肉瘤的生长,受试药治疗荷瘤小鼠后,小鼠相对于生理盐水组体重并未明显减轻,除槭藤子生品和炮制品总皂苷高剂量组对小鼠胸腺有一定影响,对脾脏、肝脏并未有不良影响,提示在适量的剂量下,槭藤子总皂苷对小鼠的免疫器官无损伤作用。槭藤子生品和炮制品总皂苷低、中、高剂量组作用的 S180 荷瘤小鼠血清 SOD 活力均有升高,MDA 水平均有下降,提示槭藤子总皂苷可提高自由基清除剂水平和体内抗氧化酶活性,能保护机体免受氧自由基的侵害,对肿瘤的发生发展起一定的抑制作用。

[参考文献]

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:3563.
- [2] Xiong Hui, Xiao Er, Zhao Ying-hong, et al. Sulfur-containing amides from *Entada phaseoloides* [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2010, 45(5):624.
- [3] 许腾,薛存宽,何学斌,等. 槭藤子水溶性提取物的体外抗肿瘤作用[J]. *华西药学杂志*, 2005, 20(6):487.
- [4] 肖二,熊慧,赵应红,等. 槭藤子及其炮制品的急性毒性及对胃肠运动的影响[J]. *中药材*, 2010, 33(11):1704.
- [5] Zheng T, Shu G, Yang Z, et al. Antidiabetic effect of total saponins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in type 2 diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3):814.
- [6] 肖二,熊慧,陈小龙,等. 槭藤子生品与炮制品 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(23):3140.

[责任编辑 聂淑琴]