

## 红果槲寄生抗肿瘤有效部位的确定

凌勇<sup>1</sup>, 孙永慧<sup>2</sup>, 赵芹<sup>1</sup>, 刘洪玲<sup>1</sup>, 于良生<sup>1</sup>, 孙向红<sup>1\*</sup>

(1. 青岛大学医学院附属医院, 山东 青岛 266003; 2. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的: 确定红果槲寄生 [*Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *Rubroaurantiacum* Kitag, VCR] 的抗肿瘤有效部位。方法: 以 S180 实体瘤小鼠作为动物模型, 以抑瘤率为考察指标, 对红果槲寄生 75% 乙醇提取物的不同溶剂萃取部位: 石油醚萃取部分、氯仿萃取部分、乙酸乙酯萃取部分、正丁醇萃取部分以及水层部分分别进行了抗肿瘤活性筛选。将接种肿瘤的昆明小鼠在成瘤后按照瘤体大小随机分为 7 组, 阳性对照组于 ip 环磷酰胺, 给药剂量为 100 mg·kg<sup>-1</sup>, 其他试验组于同一时间 ig 给药, 每天 1 次, 给药剂量按生药量计为 14.2 g·kg<sup>-1</sup>, 空白对照组给予相同剂量的空白溶剂, 连续给药 8 d。结果: 红果槲寄生提取物能明显抑制小鼠 S180 实体瘤生长, 其中正丁醇萃取物组, 平均抑瘤率为 48.8%; 氯仿萃取物组, 平均抑瘤率为 44.1%。结论: 正丁醇和氯仿萃取部分抗肿瘤活性较强, 为红果槲寄生抗肿瘤有效部位。

**[关键词]** 红果槲寄生; 抗肿瘤; 有效部位

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0193-03

## Determination of Effective Part of Anti-tumor Activity in *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *Rubroaurantiacum* Kitag

LING Yong<sup>1</sup>, SUN Yong-hui<sup>2</sup>, ZHAO Qin<sup>1</sup>, LIU Hong-ling<sup>1</sup>, YU Liang-sheng<sup>1</sup>, SUN Xiang-hong<sup>1\*</sup>

(1. Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China;

2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** ascertain the effective part of anti-tumor activity in *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *Rubroaurantiacum* Kitag (VCR). **Method:** We made sarcoma S180 mice as the animal model, the inhibition rate of tumor was used as investigation index. We carried out the screen assay of the anti-tumor for different solvent extraction part of the VCR extracts by 75% alcohol, including petroleum extraction part, chloroform extraction part,

**[收稿日期]** 20101124(004)

**[第一作者]** 凌勇, 硕士, 从事中药及复方物质基础研究, Tel: 18765265372, E-mail: linyongzhaoqin@163.com

**[通讯作者]** \* 孙向红, 主任药师, 硕士研究生导师, Tel: 0532-82911232, E-mail: songsx007@sina.com

- [5] 赵红洋, 孙若鹏, 甄军晖, 等. 原发性肾病综合征患儿肾组织核因子- $\kappa$ B 活化水平与病理类型及尿蛋白关系[J]. 中国实用儿科杂志, 2005, 20(6): 340.
- [6] 鲍华英, 陈荣华, 潘晓勤, 等. 姜黄素对肾小球系膜细胞增殖的影响及其意义[J]. 南京医科大学学报, 2003, 23(3): 238.
- [7] 鲍华英, 陈荣华, 郭梅, 等. 姜黄素对肾毒血清肾炎大鼠肾组织超微结构及细胞增殖的影响[J]. 江苏医药, 2004, 30(2): 104.
- [8] 鲍华英, 陈荣华, 黄松明, 等. 姜黄素对大鼠肾毒血清肾炎肾组织细胞外基质积聚的影响[J]. 中西医结合学报, 2004, 2(1): 30.
- [9] 熊礼佳, 刘慎微. 姜黄素对 2 型糖尿病大鼠肾组织 OPN/NF- $\kappa$ B 途径的影响[J]. 现代医学, 2008, 36(1): 15.
- [10] 魏建冬, 黎磊石, 姚建. 大黄治疗大鼠系膜增殖性肾炎的实验研究[J]. 中华内科杂志, 1997, 36(2): 87.
- [11] LiH L, ChenH L, Li H, et al. Regulatory effects of emodin on NF-kappa B activation and inflammatory cytokine expression in RAW264.7 macrophages[J]. Int J Mol Med, 2005, 16(1): 41.

[责任编辑 何伟]

acetate extraction part, n-butanol extraction part and the rest. We randomly divided mice with inoculated tumor into 7 groups according to tumor size. The positive control group of mice were given ip cyclophosphamide of  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , the other experimental group at the same time were given ig of  $14.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  and the blank control group were given the same volume of the blank solvent, continuously administrated for 8 days. **Result:** The results showed that the extraction of VCR could obviously prevent the growing of the tumor in mice. The inhibition rate of tumor for the chloroform extraction part was 48.8%; the rate of the n-butanol extraction part was 44.1%. **Conclusion:** The chloroform extraction part and the n-butanol extraction part are the effective part of anti-tumor from VCR.

[**Key words**] *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *Rubroaurantiacum* Kitag; anti-tumor activity; effective part

红果槲寄生是桑寄生科槲寄生属植物,药用部位是干燥带叶茎枝。槲寄生始载于《神农本草经》,列为上品,具有祛风湿、补肝肾、强筋骨、安胎的功效,用于风湿痹痛,腰膝酸软,胎动不安。在我国分布广泛,尤以北方资源丰富。现代药理学研究表明,槲寄生属植物具有抗肿瘤、抗心律失常、抗病毒、抗氧化等多种作用<sup>[1,2]</sup>。

动物移植性肿瘤实验法是最通用的体内抗肿瘤药物研究方法。现有的移植性肿瘤接种成功率为 100%,可在同一时间内获得大量生长相对均匀的肿瘤。通过观察动物的一般状态、体重的变化及抑瘤率,可以判断在动物耐受剂量下,药物是否具有明显的抑制肿瘤生长的作用。

参考已有文献报道<sup>[3]</sup>的槲寄生  $\text{LD}_{50}$  及抗肿瘤药理实验资料,并结合我们现有的实验条件和情况,我们选择小鼠 S180 实体瘤作为动物移植肿瘤模型,采用不同的提取部分,观察各部分对实验动物移植肿瘤的抑瘤率,以确定红果槲寄生抗肿瘤活性的有效部位。

## 1 材料

**1.1 药材来源** 红果槲寄生 *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *Rubroaurantiacum* Kitag 药材采集于黑龙江省宝清县,经黑龙江中医药大学都晓伟教授鉴定为桑寄生科槲寄生属植物槲寄生的变型植物红果槲寄生的带叶茎枝。

**1.2 动物与瘤株** 昆明种小鼠,体重  $(20 \pm 2) \text{ g}$ , 雄性, 210 只,由黑龙江中医药大学 GLP 实验动物中心提供。合格证黑动字第 P00101006 号。肉瘤 S180 瘤株,由哈尔滨医科大学肿瘤防治研究所引进,以腹水型传代。

**1.3 仪器设备** METTLER-TOLEDO AG135 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);超净工作台(苏州净化设备厂)。

**1.4 试剂与药品** 环磷酰胺(CP)制剂(上海华联制药有限公司)。

## 2 方法

**2.1 实验用药的制备** 取干燥的红果槲寄生药材 100 g,粉碎至适宜粒度,用 1 000 mL 75% 乙醇渗漉提取,提取液减压浓缩至无醇味,加水分散至 100 mL 制成水混悬液。分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取,分取有机层,得到 5 个部分: I (石油醚层)、II (氯仿层)、III (乙酸乙酯层)、IV (正丁醇层)、V (水层部分)。

将提取的各个部分分别减压回收溶剂至干,加适量 95% 乙醇溶解,再加生理盐水稀释(乙醇终浓度  $\leq 2\%$ ) 制成所需浓度的混悬液。配置的药液分装,置冰箱内冷冻,临用前取出于室温融化供试验用。

**2.2 给药剂量的确定** 参考文献报道<sup>[3]</sup>的槲寄生 75% 乙醇提取物,按原药材计  $\text{LD}_{50}$  为  $42.735 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,选择  $1/3 \text{ LD}_{50}$  作为给药剂量,即按原药材计给药剂量为  $14.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

**2.3 小鼠 S180 实体瘤模型的建立** 在无菌条件下抽取接种于昆明小鼠传代约 7 ~ 10 d、生长良好的 S180 瘤株腹水,加入适量的生理盐水稀释至细胞计数约为  $1 \times 10^7$  个/mL,配制成 S180 瘤细胞悬浮液,吹打混匀,给每只小鼠右前肢腋部皮下迅速接种瘤组织细胞混悬液 0.1 mL。

**2.4 动物分组及给药方法** 将接种肿瘤的昆明小鼠在成瘤后按照瘤体大小随机分为 7 组,每组 10 只,分别为空白对照组、阳性对照组以及样品 I ~ V 给药试验组。小鼠 S180 模型制备成功之后,阳性对照组于 ip 环磷酰胺 1 次,给药剂量为  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其他试验组于同一时间 ig 给药 1 次,试验组红果槲寄生醇提取物不同极性部位给药剂量为  $14.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  (以生药量计),空白对照组给予相同剂量的空白溶剂,连续给药 8 d。于最后 1 次给药 24 h 后将

小鼠称重后脱臼处死,剥取各组动物的肿瘤,称质量,每组计算10个鼠肿瘤的平均质量,比较治疗组与对照组的平均瘤质量,最后计算各组实验动物的抑瘤率。试验重复3次。

**2.5 统计学方法** 应用Statview统计处理软件进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析和t检验进行比较。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

抑瘤率计算公式

$$\text{抑瘤率} = (1 - T/C) \times 100\%$$

(T:用药组的平均瘤质量;C:空白对照组的平均瘤质量)

### 3 结果

红果榭寄生提取物对小鼠S180实体瘤生长的影响3批结果见表1。结果表明VCR提取物样品Ⅱ(氯仿层萃取物)、Ⅳ(正丁醇层萃取物)对小鼠移植S180实体瘤具有明显的抑制作用,其中正丁醇萃取物组,平均抑瘤率为48.8%;氯仿萃取物组,平均抑瘤率为44.1%。其他提取部位对小鼠移植S180实体瘤影响不显著。以上结果表明红果榭寄生75%乙醇提取物的氯仿及正丁醇萃取物具有较好的抗肿瘤活性。

表1 红果榭寄生提取物对小鼠S180实体瘤生长的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	第1批		第2批		第3批	
		平均瘤重 /g	抑瘤率 /g	平均瘤重 /g	抑瘤率 /%	平均瘤重 /g	抑瘤率 /%
空白对照	-	1.66 ± 0.38	0	1.85 ± 0.46	0	1.49 ± 0.27	0
环磷酰胺	0.1	0.32 ± 0.08 <sup>2)</sup>	80.72	0.41 ± 0.12 <sup>2)</sup>	77.84	0.25 ± 0.10 <sup>2)</sup>	83.22
样品Ⅰ	14.2	1.23 ± 0.31	25.90	1.39 ± 0.24	24.86	1.03 ± 0.44	30.87
样品Ⅱ	14.2	0.90 ± 0.42 <sup>2)</sup>	45.78	1.12 ± 0.54 <sup>2)</sup>	39.46	0.79 ± 0.38 <sup>2)</sup>	46.98
样品Ⅲ	14.2	1.07 ± 0.56 <sup>1)</sup>	35.54	1.37 ± 0.65 <sup>1)</sup>	25.94	0.95 ± 0.26 <sup>1)</sup>	36.24
样品Ⅳ	14.2	0.85 ± 0.29 <sup>2)</sup>	48.79	1.05 ± 0.37 <sup>2)</sup>	43.24	0.68 ± 0.30 <sup>2)</sup>	54.36
样品Ⅴ	14.2	1.46 ± 0.47	12.89	1.51 ± 0.28	18.38	1.13 ± 0.52	24.16

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

### 4 讨论

本文进行了红果榭寄生抗肿瘤有效部位的筛选研究,通过对小鼠体内移植S180实体瘤实验进行筛选,确定红果榭寄生75%乙醇提取物的氯仿及正丁醇萃取物具有较好的抗肿瘤活性。

榭寄生作为一种天然抗肿瘤药物确实值得人们进一步研究和利用。目前,世界范围内对榭寄生的研究已越来越多,对榭寄生抗肿瘤作用的研究亦越来越深入。国外已有榭寄生制剂用于癌症的治疗且疗效显著。像Iscador<sup>®</sup>, Helixor<sup>®</sup>, Plenosol<sup>®</sup>等多种榭寄生制剂在欧洲已上市并被广泛使用,并取得了非常好的临床疗效<sup>[4]</sup>。榭寄生作为一种天然药物值

得进一步研究和利用,专家预测“榭寄生”有望成为继紫杉之后又一种天然的抗癌药<sup>[5]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:404.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005:305.
- [3] 杨官娥,张肇铭. 光合细菌转化榭寄生制剂抗肿瘤活性初步研究[J]. 微生物学通报,2006,33(2):40
- [4] 姚俊涛,袁彬,孙莉. 白果榭寄生的化学成分及其抗肿瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(11):2021.

[责任编辑 聂淑琴]