

益母草提取物抗癌研究

宋 霏

(华北制药集团新药研究开发有限责任公司 河北石家庄 050015)

摘要:目的:观察益母草提取物的体内外抗肿瘤活性。方法:采用 MTT 法观察益母草水提物及醇提物对人子宫颈癌的作用,并观察两者对小鼠体内 S180 肉瘤的抑制作用。结果:108、180 和 300μg/mL 的益母草水提物及益母草醇提物可显著抑制人子宫颈癌 HeLa 细胞的增殖,250 及 750 mg/kg 的益母草水提物及益母草醇提物对 S180 小鼠肉瘤的生长无抑制作用。结论:益母草水提物及益母草醇提物对人子宫颈癌具有一定的体外抗肿瘤活性。

关键词:益母草提取物;抗癌作用;小鼠 S180 肉瘤;人子宫颈癌 HeLa 细胞

中图分类号:R 285.5

文献标识码:B

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2010.04.065

中药治疗恶性肿瘤的治则有扶正培本法、活血化瘀法、清热解毒法等^{〔1〕}。研究表明,中药抗肿瘤在减轻临床症状、提高生存质量、提高患者免疫力、增强放化疗敏感性并减轻其不良反应等很多方面发挥着重要作用^{〔2〕}。益母草(herba leonuri)是我国传统医药中常用的中草药,具有活血调经、利尿消肿、祛瘀生新作用^{〔3〕}。本文对不同方法制取的益母草提取物分别进行了体外及体内抗肿瘤活性研究,为益母草的临床应用提供了更多的实验数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级昆明小鼠,雄性,体重 18~22g,购自河北省实验动物中心。

1.2 细胞株 人子宫颈癌 HeLa 细胞和 S180 肉瘤瘤株均购自美国菌种保藏中心。

1.3 主要仪器 CO₂ 恒温细胞培养箱:美国 Shellan 公司;RPMI 1640 培养液,Gibco 公司;Victor 1420 多标计数仪,美国 PE 公司。

1.4 实验药品 益母草水提物及益母草醇提物由华药新药研发中心提供,顺铂购自山东省德州制药厂,MTT 购自美国 Sigma 公司。益母草水提物的具体制备方法:称取益母草 16g,双蒸水 300mL 浸泡 1h,反复煎煮 3 次(第 1 次 30min,后 2 次各 20min),混合 3 次滤液,4℃ 保存,试验前以无菌生理盐水稀释至临床剂量^{〔4〕}。益母草醇提物的具体制备方法:准确称取益母草,加入 15 倍量 95%乙醇加热回流提取 3 次,每次 1h,滤过,合并滤液,回收乙醇至无醇味,混合,浓缩至临床剂量^{〔5〕}。

1.5 MTT 法体外抑瘤实验 采用常规 MTT 法。收集处于对数生长期的人子宫颈癌 HeLa 细胞,用 0.25%的胰蛋白酶消化细胞,然后用 10%的 RPMI 1640 培养液调整细胞浓度为 1.0×10⁵ 个/mL,接种于 96 孔细胞培养板,每孔 100μL,分别加入不同浓度的益母草水提物及益母草醇提物,使其终浓度分别为 38.8、64.8、108、180、300 μg/mL,阴性对照药为等体积的 10%的 RPMI 1640 培养液。置于 37℃、5%

CO₂ 培养箱中培养 72h,于培养结束前 4h,各培养孔加入 10μL MTT (5mg/mL),培养结束后,吸去培养上清,每孔加入 10%的 SDS 100μL,震荡 10min,使结晶物充分溶解,放置过夜,最后用酶标仪于 490nm 波长处测定各孔 OD 值,每个点均设 3 个复孔,计算细胞生长抑制率。生长抑制率(%)=(对照组 OD 值-给药组 OD 值)/对照组 OD 值×100%。

1.6 S180 肉瘤小鼠体内抑瘤实验 采用昆明种小鼠皮下接种 S180 肉瘤模型。瘤种体外培养至对数生长期,记数,调节细胞数为 6×10⁶ 个/mL,接种于小鼠右前肢腋下,每只 0.2mL,随机分成六组,每组动物 10 只,同时记录每组小鼠体重。设生理盐水组和顺铂阳性对照组,益母草水、醇提取物设 250、750 mg/kg 剂量组,于接种后次日连续腹腔注射给药 8d,第 9 天脱颈椎处死动物,记录小鼠体重,解剖取出瘤块,称重,计算抑瘤率。抑瘤率(%)=(生理盐水组平均瘤重-给药组平均瘤重)/生理盐水组平均瘤重×100%。

1.7 统计学处理 使用 SPSS 11.5 统计学软件,实验数据以均数±标准差表示。使用组间 t 检验比较各组间的差别。

2 结果

2.1 MTT 法体外抑瘤实验 结果显示,浓度 108、180 和 300 μg/mL 的益母草水提物及益母草醇提物对人子宫颈癌 HeLa 细胞增殖有显著抑制作用(P<0.01);且益母草水提物对人子宫颈癌 HeLa 细胞增殖的抑制率高于同浓度的益母草醇提物。见表 1。

表 1 益母草提取物对人子宫颈癌 HeLa 细胞的增殖的影响 (X±S)					
组别	浓度 (μg/mL)	益母草水提物 OD 值	益母草水提物 抑制率(%)	益母草醇提物 OD 值	益母草醇提物 抑制率(%)
对照组		0.678±0.075		0.668±0.089	
益母草提取液	38.8	0.645±0.038	4.9	0.658±0.059	1.5
	64.8	0.615±0.037	9.3	0.591±0.068	11.5
	108.0	0.535±0.032**	21.1	0.563±0.045*	15.7
	180.0	0.332±0.054**	51.0	0.498±0.061**	25.4
	300.0	0.188±0.029**	72.3	0.375±0.056**	43.9

2.2 S180 肉瘤小鼠体内抑瘤实验 结果显示,阳性药顺铂 2.5 mg/kg 对 S180 小鼠肉瘤的生长有明显的抑制作用(P<0.01),抑瘤率为 50.0%;与对照组

特异性抗人三价流感病毒 IgY 对小鼠的保护作用研究

方会珍¹ 聂荣庆¹ 吴东风¹ 张进¹ 胡国柱²

(1 江西省中医药研究院 南昌 330046; 2 江西省人民医院 南昌 330006)

关键词: 特异性抗人三价流感病毒 IgY; 非特异性 IgY; 小鼠; 保护作用

中图分类号: R 965

文献标识码: B

doi: 10.3969/j.issn.1671-4040.2010.04.066

流行性感 冒(简称流感)是由甲、乙、丙三种类型流感病毒分别引起的发病率最高的急性呼吸道传染病, 上世纪人类曾遭受四次大规模流行性感冒, 数千万人被夺去生命^[1]。近些年的流行病学和流感病毒分子进化演变研究提示, 新的变异株很有可能出现。因此, 流行性感 冒已成为严重威胁人类健康的世界性疾病, 也是我国当前流行最为广泛、危害性最严重的一种传染病。在多次新变异株出现的我国, 预测和预防新的流感大流行成为摆在我们面前的重大课题。本实验研究通过制备特异性抗人三价流感病毒 IgY 抗体, 观察特异性抗人三价流感病毒 IgY 不同给药方案经滴鼻途径免疫小鼠后, 抗流感强毒攻击的效果及其对流感病毒的防治作用, 探索特异性抗人三价流感病毒抗体预防和治疗流感的可行性, 为流感的生物防治提供理论依据和新的防治手段。

1 材料与方法

1.1 材料 特异性抗人三价流感病毒 IgY (20 倍稀释供试液); 非特异性 IgY。流感噬鼠肺毒株: A/fm/1/47(H1N1), 批号 Y030612A (长春生物制品研

究所保存、提供)。动物: BALB/C 小鼠, 体重 10~12g, 雌雄各半。

1.2 方法

1.2.1 半数致死量测定 取液氮冻存毒种, 给小鼠感染后, 用鼠肺浸出液分别接种鸡胚, 进行培养, 然后取鸡胚尿囊液感染小鼠。感染方法: 乙醚麻醉小鼠至浅Ⅲ期, 然后通过滴鼻方式用病毒感染小鼠, 原液稀释 10 倍为起始稀释度开始 10 倍稀释, 共 5 个剂量组, 每组 10 只小鼠, 感染后观察 10d, 记录死亡和活存数量, 计算 LD₅₀。动物试验攻击时, 均经鼻腔攻击 10 个 LD₅₀ 强毒。

1.2.2 动物保护力试验 对照组和试验组均滴鼻感染 10 个 LD₅₀ 流感噬鼠肺强毒病毒。各组免疫和攻击方法如下: A 组: 正常对照组, 自攻毒前 1d 开始, 每天用生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 共滴 8 次, 不攻毒。B 组: 阳性对照组, 攻毒前 1d 生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 1 次 /d, 第 2 次(第 2 天)滴鼻 1h 后攻毒, 经鼻攻击 10 个 LD₅₀, 0.02mL/ 只, 以后用生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 1 次 /d, 共滴 8 次。C 组: 非特异性 IgY 预防组, 攻毒前 1h 用非特异性 IgY 滴鼻,

表 2 益母草提取物对昆明种 S180 肉瘤小鼠的抑瘤率 ($\bar{X} \pm S$)

组别	剂量(mg/kg)	小鼠数量(只)	瘤重(g)	瘤率(%)
生理盐水	-	10	1.96± 0.27	/
顺铂	2.5	10	0.98± 0.26**	50.0
益母草水提物	250	10	2.12± 0.43	/
	750	10	1.45± 0.40	26.0
益母草醇提物	250	10	1.90± 0.26	/
	750	10	1.98± 0.30	/

3 讨论

益母草在我国有着丰富的自然资源, 其对妇科肿瘤、肝癌、胰腺癌、白血病等都有较好疗效, 经合理配伍还可以用于治疗膀胱癌、脑肿瘤、多发性骨髓瘤及子宫肌瘤等其他良恶性肿瘤^[9]。益母草可调补胎产妇女诸多虚证, 可能与增强妇女机体的细胞免疫功能有关。

本次研究中益母草水提物及醇提物在体外对 人子宫颈癌 HeLa 细胞增殖有显著的抑制作用, 提

示其具有一定抗肿瘤活性, 且研究发现益母草水提物的体外抑瘤效果优于益母草醇提物。上述两种益母草提取物对小鼠 S180 肉瘤的生长未见明显的抑制作用, 但 750 mg/kg 的益母草水提物出现了轻度的抑瘤趋势。综上所述, 益母草水提物及醇提物体外具有一定的抗肿瘤活性, 对益母草抗肿瘤活性及作用机制尚有待进一步研究。

参考文献

[1]黄自丽,黄修燕,郑起,等.中药抗肿瘤作用及其作用机制研究进展[J].医学综述,2010,16(3):386-389

[2]马敏,李俄成.中医中药在肿瘤内科治疗中的作用[J].现代中西医结合杂志,2005,14(12):1 604-1 605

[3]洪丽生,刘长节.益母草临床应用简介[J].中国乡村医药杂志,2006,13(6):35-36

[4]邢沈阳,乔萍.益母草提取液对小鼠遗传物质损伤的保护作用及对淋巴细胞功能的增强作用[J].吉林大学学报(医学版),2008,34(5):799-801

[5]吕丽莉,黄伟.益母草醇提取物对大鼠肾毒性损伤作用研究[J].中国药物警戒,2009,6(9):513-518

[6]张明庆,龚惠明.抗肿瘤中草药的临床应用[M].北京:人民卫生出版社,1998.120-124

(收稿日期: 2010-03-26)