

白头翁皂苷体外抗肿瘤试验研究

姜 成¹, 申晓慧², 李春丰¹, 赵永勋¹, 吴恒梅¹, 庄树文¹, 江清林³

(1. 佳木斯大学 生命科学学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 黑龙江省农业科学院 佳木斯分院, 黑龙江 佳木斯 154007; 3. 佳木斯大学 基础医学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:为研究白头翁皂苷体外抗肿瘤活性,从白头翁中提取有效成分皂苷,对大肠癌 HT29 细胞和人胃癌细胞株 BGC823 进行体外培养,用 MTT 法测定白头翁皂苷对 2 种肿瘤细胞增殖反应的影响。结果表明:白头翁皂苷对两种肿瘤细胞增殖有较强的抑制作用,并表现一定的剂量关系,白头翁皂苷浓度为 $6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对人胃癌细胞株 BGC823 细胞生长的抑制率达到了 80.71%,效果较好。因此,白头翁皂苷作为抗肿瘤药物有效成分的开发和利用有待于进一步深入研究。

关键词:白头翁皂苷;大肠癌 HT29;人胃癌细胞株 BGC823;抗肿瘤

中图分类号:R730.52

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)10-0125-02

恶性肿瘤在全世界的发病率及死亡率均很高,是当前危害人类健康的重要疾病之一,近年来癌症死亡率呈逐年上升趋势。在发展中国家同发达国家一样,癌症已成了一个主要卫生问题^[1-2]。

目前,肿瘤治疗的方法有很多,其中中医药治疗肿瘤是我国特有的医疗手段,历史悠久,有很好的疗效。中医药治疗肿瘤,能够在一定程度上稳定或缩小肿瘤,可以改善患者的症状,提高生存质量,延长生存期,配合其它方法如手术、放疗和化疗,可减轻毒副反应,提高远期疗效。因此,对中草药中的有效成分进行开发和利用,找到有效的抗肿瘤药物成分,具有重要的社会意义和经济价值。

白头翁为毛茛科多年生白头翁属植物,具有清热解毒,凉血止痢,燥湿杀虫之功效,是动物生产中防治腹泻的药^[3],现代药理研究发现白头翁主要活性成分——皂苷具有增强免疫功能、抗炎、抗肿瘤和抗病原微生物等作用^[4],因此现分离和提取白头翁中皂苷并进行体外抗肿瘤试验,旨在明确其对肿瘤的作用效果和药理学作用机制,为合理利用野生白头翁资源开发天然抗肿瘤药物提供理论依据和物质基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试白头翁购自佳木斯金天慈济医药总店,供试瘤株为大肠癌 HT29、人胃癌细胞株 BGC823。药品主要有乙醇、丙酮、乙醚、环磷酸胺、培养液 RPMI-1640、胎牛血清、胰酶与 EDTA 消化液、MTT 等。供试仪器有索式提取器、真空干燥仪、旋转蒸发仪、冰箱、6 孔培养板、96 孔培养板、超净工作台、CO₂ 培养箱和酶标仪等。

1.2 方法

1.2.1 白头翁皂苷提取方法 称取 0.5 kg 白头翁,将其粉碎,在索式提取器中用乙醚分次回流 10 h,进行脱脂,在通风橱内晾干,用 400 mL 95% 乙醇回流 6 h,过滤,药渣用 100 mL 的 95% 乙醇洗涤 2~3 次,合并滤液,减压浓缩至 20 mL,加入 40 mL 丙酮,析出白色粉质,再用 30 mL 95% 热醇溶解,立即过滤,滤液滴到 1:1 丙酮-乙醚的混合溶剂中,析出白色粉质,反复处理 2~3 次,过滤,收集白色粉质,在旋转蒸发仪上蒸发,充分除去有机溶剂,剩余的白色粉质放入冰箱冷冻,最后将其放在 -62℃ 的真空干燥仪上干燥,所得白色粉末即白头翁皂苷^[5],4℃ 条件下密封保存。

1.2.2 处理液的配制 白头翁皂苷用 RPMI-1640 液溶解,分别配成 1、3、6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,无菌过滤,备用。阳性对照采用环磷酸胺,使用前用蒸馏水配成 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液,备用。

1.2.3 细胞培养方法 HT29 和 BGC823 细胞用 RPMI-1640 营养液培养,营养液内含 15% 胎牛血清。待细胞融合时,用 0.25% 胰酶和 0.02%

收稿日期:2012-08-17

基金项目:黑龙江省卫生厅科研资助项目(2011-455)

第一作者简介:姜成(1978-),男,吉林省永吉县人,硕士,讲师,从事药用植物活性成分研究与应用及相关研究工作。E-mail:jiang780920@163.com。

通讯作者:江清林(1964-),男,黑龙江省林口县人,硕士,研究员,硕士研究生导师,从事抗肿瘤研究。E-mail:hljyykx@163.com。

ETDA(1:1)消化液,消化呈单个细胞,稀释、计数,分别以 10^3 、 10^4 或 10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 细胞数接种于培养板及瓶内,加足营养液进行培养。

1.2.4 细胞增殖活性的检测 取 HT29 和 BGC823 细胞采用 MTT 法测定细胞增殖抑制率,药物与细胞作用 48 h 后,吸去培养液,加入 MTT 显色,用酶标仪测定 570 nm 吸光度。以光密度值(OD)表示细胞数量,光密度越高说明细胞增殖活性越强。抑制率/ $\%$ =(对照组 OD 值-给药组 OD 值)/对照组 OD 值 $\times 100$ 。

表 1 白头翁皂苷对 HT29 细胞生长的抑制作用

Table 1 The inhibitory action of Pulsatilla Saponin on HT29 cell growth

处理 Treatment	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Dose	OD 值 OD value	抑制率/ $\%$ Inhibition ratio
对照 CK	0	1.951 \pm 0.061	—
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	1	1.603 \pm 0.072 *	17.84
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	3	1.524 \pm 0.051 **	21.89
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	6	1.418 \pm 0.042 **	27.32
环磷酰胺 Cyclophosphamide	0.5	1.105 \pm 0.025 **	43.36

注: * 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。下同。

Note: * and ** mean significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same below.

2.2 白头翁皂苷对 BGC823 细胞生长的影响

从表 2 可以看出,白头翁皂苷对 BGC823 细胞具有非常好的抑制作用,白头翁皂苷各剂量组和环磷酰胺组处理的 OD 值均明显低于对照组,白头翁皂苷对 BGC823 细胞的抑制率随着处理浓

2 结果与分析

2.1 白头翁皂苷对 HT29 细胞生长的影响

从表 1 中可以看出,各处理组 HT29 细胞培养 48 h 后,白头翁皂苷各剂量组及环磷酰胺组 OD 值均明显低于对照组,表明各组细胞增殖明显受到抑制,说明白头翁皂苷及环磷酰胺均可抑制细胞增殖,白头翁皂苷各组的抑制率随剂量增加而增大,说明白头翁皂苷对 HT29 细胞增殖的抑制作用有一定的剂量依赖性。

度的增加而增强,说明其对 BGC823 细胞的毒性呈剂量依赖关系。且白头翁皂苷 $6\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和环磷酰胺组对 BGC823 细胞抑制率均达到 80% 以上,效果较好。

表 2 白头翁皂苷对 BGC823 细胞生长的抑制作用

Table 2 The inhibitory action of Pulsatilla Saponin on BGC823 cell growth

处理 Treatment	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Dose	OD 值 OD value	抑制率/ $\%$ Inhibition ratio
对照 CK	0	0.095 \pm 0.010	
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	1	0.762 \pm 0.012 *	20.13
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	3	0.521 \pm 0.011 **	45.39
白头翁皂苷 Pulsatilla saponin	6	0.184 \pm 0.007 **	80.71
环磷酰胺 Cyclophosphamide	0.5	0.109 \pm 0.004 **	88.57

3 结论与讨论

该试验用白头翁有效活性成分白头翁皂苷对 2 种肿瘤细胞 HT29 和 BGC823 进行体外试验,用 MTT 法测定细胞的增殖抑制率,表明白头翁皂苷对两种细胞均有明显抑制作用,尤其对 BGC823 细胞的抑制作用在高剂量 $6\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时抑制率达到 80% 以上,效果较好。由此推测,其抗癌的机制可能是通过提高机体免疫功能而间接地影响癌细胞,即不是直接的杀死癌细胞,而是抑制细胞的增殖,对此今后将结合瘤株动物进行较全面的研究,以便得出更科学的结论,为进一步研

究和开发白头翁抗肿瘤药物提供理论依据。

参考文献:

- [1] Matusdaria H. 日本癌症发病率的新资料[J]. 中华放射医学与防护杂志,1993,13(6):376-382.
- [2] 张忠清. 2001 年美国癌症统计报告介绍[J]. 中国肿瘤,2001,10(9):520-521.
- [3] 钟长斌,李祥. 白头翁的化学成分及药理作用研究述要[J]. 中医药学刊,2003,21(8):1338.
- [4] 孙昌高,方坚,徐秀瑛. 毛茛科药用植物种子发芽的研究[J]. 天然产物研究与开发,2001(3):8-13.
- [5] 时维静,路振香,李丽顺. 白头翁不同提取物及复方体外抑菌用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2006,14(3):166-168.

紫花苜蓿与无芒雀麦混播对松嫩平原盐碱化草地土壤改良效果研究

潘多锋,申忠宝,王建丽,高 超,李道明,张瑞博,邸桂俐
(黑龙江省农业科学院 草业研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了探讨紫花苜蓿与无芒雀麦混播对松嫩平原盐碱化草地土壤的改良效果,分析比较了混播草地与盐碱化草地的土壤含水量、容重、pH、土壤全盐量和主要养分等的变化。结果表明:紫花苜蓿与无芒雀麦混播可显著降低盐碱化草地土壤0~30 cm土层的含水量、容重、pH和全盐含量($P<0.05$),4个指标分别比盐碱化草地降低9.88%、14.37%、10.56%和24.80%;种植紫花苜蓿与无芒雀麦后土壤主要养分均增加,0~30 cm土层的有机质、全氮、速效氮、全磷和速效磷分别是盐碱化草地的1.41、1.29、1.09、1.15和1.39倍,种植年限越长增量越多。紫花苜蓿与无芒雀麦混播改良盐碱化土壤效果明显,土壤环境向有利于植物生长的环境方向转化。

关键词:紫花苜蓿;无芒雀麦;混播草地;盐碱化草地;土壤

中图分类号:S812;S156

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)10-0127-05

松嫩平原草地是我国著名的天然草场,也是我国重要的畜牧业基地之一,具有较高的经济价值和重要的生态意义^[1-2]。由于长期遭受自然灾害和人类活动的影响,致使该区草地出现盐碱化和草地盐渍化,直接影响草地生态服务功能和畜

牧业的发展。而大量聚集在地表的盐分,在大风作用下,迅速扩散,也给周边地区土地造成严重危害,因而盐碱化草地的恢复与重建已成为科学研究和生产的主要任务^[3-5]。种植和选育耐盐碱性较强的优质牧草是改良盐碱地的可行途径之一。

苜蓿(*Medicago sativa* L.)蛋白质含量高,而碳水化合物含量较低,无芒雀麦(*Bromus inermis* Leyss)具有较高含量的碳水化合物,但蛋白质含量较低。苜蓿与无芒雀麦混播可以克服单一饲草在营养成分上的缺陷,优势互补,使营养较单一的牧草平衡,较好地满足动物(特别是高产奶

收稿日期:2012-06-29

基金项目:国家国际科技合作资助项目(2011DFR30840-11);黑龙江省农业科技创新工程种子创新基金资助项目(2010-10)

第一作者简介:潘多锋(1980-),男,宁夏回族自治区青铜峡市人,硕士,助理研究员,从事牧草育种和栽培方面的研究。
E-mail:panduofeng2000@163.com。

Study on Pulsatilla Saponin Anti-tumor Test *in vitro*

JIANG Cheng¹, SHEN Xiao-hui², LI Chun-feng¹, ZHAO Yong-xun¹, WU Heng-mei¹, ZHUANG Shu-wen¹, JIANG Qing-lin³

(1. Life Science College of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 3. Basic Medical College of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: To study the anti-tumor activity of Pulsatilla saponin *in vitro*, as the effective components, the Pulsatilla saponin was extracted from Pulsatilla chinensis to culture the colorectal carcinoma HT29 cells and human gastric carcinoma cell line BGC823 *in vitro*, the effect of Pulsatilla saponin on two kinds of tumor cell proliferation was determined by the method of MTT. The results showed that the Pulsatilla saponin had strong inhibition on two kinds of tumor cells proliferation, and the inhibition enhanced with the increasing of concentration of Pulsatilla saponin, the inhibition rate on BGC823 cell growth reached 80.71% when the concentration was $6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Therefore, it needs further deeply study on the development and utilization of the Pulsatilla saponin as anti-tumor drug effective components.

Key words: Pulsatilla saponin; colorectal cancer HT29; human gastric carcinoma cell line BGC823; anti-tumor
(该文作者还有王长平,单位同第一作者)