

大叶钩藤中非生物碱成分对骨肉瘤细胞增殖的影响

杨君¹, 张有为², 宋纯清³, 胡之璧³

(1. 复旦大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200032;

2. 日本东京医科齿科大学细胞生理研究室, 日本 东京; 3. 上海中医药大学中药研究所, 上海 200032)

Effect of non-alkaloid components in *Uncaria macrophylla* Wall. on proliferation of osteosarcoma cells YANG Jun¹, ZHANG You-wei², SONG Cun-qing³, HU Zhi-bi³ (1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. The Section of Cellular Physiological Chemistry of Tokyo Medical & Dental University, Japan; 3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(4): 55-56

Abstract: The anticancer activity of non-alkaloid components in *Uncaria macrophylla* Wall. was studied. The results indicated that ursolic acid showed the strongest activity of inhibiting the proliferation of tumor cells; 3 β -6 β -23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid, β -sitosterol and 3 β -6 β -19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid possessed the same activity, too.

关键词: 大叶钩藤; 非生物碱成分; 乌索酸; 抗肿瘤活性

Key words: *Uncaria macrophylla* Wall.; non-alkaloid components; ursolic acid; anticancer

中图分类号: S567.1⁺9; Q946.8; R96 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)04-0055-02

大叶钩藤(*Uncaria macrophylla* Wall.)系茜草科钩藤属植物,为常用中药,用于治疗头晕目眩、惊痫抽搐、全身麻木等疾。现已成为治疗高血压方剂中的常用药物^[1]。其化学、药理及应用有较多研究,但绝大部分是针对生物碱部分,非生物碱部分作为无用成分而极少研究和应用。为了明确其药理作用的物质基础及进一步挖掘其药用潜能,作者在对大叶钩藤的非生物碱部分进行系统研究的基础上^[2],对抗肿瘤活性进行研究。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验样品乌索酸(I)、3 β -6 β -23-三羟基乌索酸(III)、表儿茶素(IV)、 β -谷甾醇(VI)、3 β -6 β -19 α -三羟基乌索酸(VII)、胡萝卜甙(VIII)和总非生物碱部分(M),均为作者从大叶钩藤中分离得到,并经UV、IR、NMR和MS验证其结构^[2]。骨肉瘤细胞U2OS由日本东京医科齿科大学细胞生理研究室保种,S180实体型肉瘤由沈阳药科大学药理教研室提供。沈阳药科大学实验动物中心提供的昆明种小白鼠,体重(20 \pm 2)g,雌雄兼用。

1.2 样品制备

取化合物I、III、IV、VI、VII和VIII分别溶解在DMSO中,制备50mmol/L的储备液。实验浓度为5 μ mol/L和1 μ mol/L。M溶解在DMSO中,制成浓度2.5mg/L。用于体外实验。

1.3 抑制U2OS骨肉瘤细胞增殖实验

骨肉瘤U2OS在含有10%灭活胎牛血清的DMEM培养基中,5%CO₂培养箱37 $^{\circ}$ C培养,24孔培养板的各孔中分别加入40000个肿瘤细胞,第2天加入试样,DMSO为阴性对照,第2、6和8天观察肿瘤细胞的增殖情况,并计细胞存活数。

1.4 抑制实体瘤S180肉瘤实验

取昆明种小鼠(雌雄不限),随机分为5组,每组8只。阴性对照组为生理盐水0.1mL/10g;阳性对照组为5-Fu 20mg/kg;样品剂量组均为12.5mg/kg和25mg/kg。按常规方法接种,接种后次日按拟定剂量ip给药,每天1次,连续7d,阳性对照组第1、4和7天给药,以瘤重抑制率为指标。

2 实验结果

2.1 非生物碱成分对体外培养的U2OS骨肉瘤细胞增殖的影响

化合物I、III、IV、VI、VII、VIII和M对体外培养的U2OS骨肉瘤细胞增殖影响见表1。可以看出,化合物I有较强的抑制肿瘤细胞增殖的活性,且作用时间长,当浓度降低时活性也随之下降。化合物III、VI和VII剂量为5 μ mol/L时,在第4天也显示了活性,但随着时间的延长活性消失。M在第6天明显地抑制肿瘤细胞的增殖。

2.2 非生物碱成分对体内S180肉瘤的作用

各化合物对每组8只小鼠实体瘤S180肉瘤的影响见表2。化合物I在剂量为12.5mg/(kg \cdot d)时,对实体瘤有抑制作用,剂量为25mg/(kg \cdot d)时,抑瘤率提高,表现出明显的抗肿瘤作用,与阴性对照组比较,差异显著, $P < 0.01$ 。化合物III和VII在剂量为25mg/(kg \cdot d)时,对实体瘤也表现出一定的抑制作用。

收稿日期: 2001-08-05

基金项目: “九五”国家重点科技攻关资助项目(969030203)

作者简介: 杨君(1963-),男,吉林四平人,博士后,副教授,主要从事天然产物化学研究。

表 1 大叶钩藤非生物碱成分对骨肉瘤细胞 U2OS 增殖的影响(平均值 ± 标准差)

Table 1 Effect of the non-alkaloid components of *Uncaria macrophylla* Wall. on proliferation of osteosarcoma cells ($\bar{X} \pm SD$)

化合物 ¹⁾ Comp. ¹⁾	浓度 ²⁾ Conc. ²⁾	不同时间细胞增殖数(个) Number of cells proliferation in different days			
		1 d	4 d	6 d	8 d
对照 Control		40 000	47 730 ± 2 491	191 080 ± 7 580	397 990 ± 9 516
I	5	40 000	41 029 ± 940**	164 848 ± 2 119***	337 366 ± 18 988***
I	1	40 000	44 061 ± 2 874*	194 224 ± 4 221*	376 310 ± 11 721*
III	5	40 000	37 241 ± 333***	186 260 ± 4 787*	397 465 ± 8 574*
III	1	40 000	45 718 ± 1 069*	192 462 ± 9 222*	405 016 ± 13 857*
IV	5	40 000	48 254 ± 2 180*	188 282 ± 3 240*	389 387 ± 10 506*
IV	1	40 000	50 582 ± 1 315*	172 775 ± 7 443*	405 471 ± 9 736*
VI	5	40 000	39 948 ± 1 516***	204 382 ± 6 804*	367 052 ± 23 709*
VI	1	40 000	38 740 ± 1 360***	206 730 ± 7 320*	386 964 ± 8 954*
VII	5	40 000	39 761 ± 2 978**	178 234 ± 4 656*	381 247 ± 13 966*
VII	1	40 000	43 863 ± 2 672*	186 772 ± 5 158*	411 662 ± 10 166*
VIII	5	40 000	47 432 ± 2 386*	223 590 ± 24 337*	374 060 ± 15 722*
VIII	1	40 000	51 661 ± 3 010*	183 970 ± 14 715*	408 797 ± 10 121*
M	2.5	40 000	51 526 ± 1 264*	128 942 ± 11 081***	385 324 ± 8 623*

¹⁾ I: 乌索酸 ursolic acid; III: 3β-6β-23-三羟基乌索酸 3β-6β-23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid; IV: 表儿茶素 epicatechin; VI: β-谷甾醇 β-sitosterol; VII: 3β-6β-19α-三羟基乌索酸 3β-6β-19α-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid; VIII: 胡萝卜甙 daucosterin; M: 总非生物碱部分 total non-alkaloid. ²⁾ I - VIII 的浓度单位为 μmol/L, M 的浓度单位为 mg/L. Concentration unit of compound I - VIII was μmol/L, concentration unit of M was mg/L. * P > 0.05, ** P < 0.05, *** P < 0.01

表 2 大叶钩藤中部分非生物碱成分对小鼠实体瘤 S180 肉瘤的影响(平均值 ± 标准差)

Table 2 Effect of the partial non-alkaloid components of *Uncaria macrophylla* Wall. on S180 in mice ($\bar{X} \pm SD$)

组别 ¹⁾ Group ¹⁾	剂量 Dose [mg/ (kg·d)]	重量 Weight (g)		瘤重 Weight of tumor (g)	抑制率 Inhibition rate (%)
		前 Initial	后 End		
CK		20.12 ± 1.13	25.41 ± 1.02	2.76 ± 0.34	
5-Fu	20	20.00 ± 0.96	23.78 ± 0.87	1.21 ± 0.53***	56.16
I	25	19.18 ± 0.79	21.85 ± 1.20	1.56 ± 0.43***	43.48
	12.5	19.35 ± 0.91	22.13 ± 0.98	1.85 ± 0.77**	32.97
III	25	20.12 ± 0.93	23.14 ± 1.11	1.93 ± 0.57**	30.07
	12.5	19.34 ± 1.08	23.89 ± 0.78	2.11 ± 0.45**	23.55
VII	25	19.89 ± 1.10	23.79 ± 1.58	1.89 ± 0.41**	31.52
	12.5	19.83 ± 0.95	24.58 ± 1.39	2.07 ± 0.49**	25.00

¹⁾ I: 乌索酸 ursolic acid; III: 3β-6β-23-三羟基乌索酸 3β-6β-23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid; VII: 3β-6β-19α-三羟基乌索酸 3β-6β-19α-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid. ** P < 0.05; *** P < 0.01

3 讨论

研究结果发现大叶钩藤中的非生物碱成分乌索酸对 U2OS 骨肉瘤细胞及实体瘤有较强的抑制作用,表明乌索酸

无论在体内或体外均显示有抗肿瘤作用。文献曾报道乌索酸在体内和体外对白血病细胞 P388 和 L1210、肺癌细胞 A549、结肠癌细胞、乳腺癌细胞及 HL60 细胞等多种肿瘤细胞具有抑制作用^[3,4]。这说明乌索酸具有广泛的抗肿瘤作用,作为一种有前途的抗癌药物,值得进一步研究开发。同时我们还发现,乌索酸类化合物 III 和 VII 对肿瘤也有一定的抑制作用,这说明乌索酸结构骨架在此起着较重要的作用,与乌索酸结构类似的三萜类化合物的抗肿瘤作用应进一步研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一九九五年版(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,1995. 225.
- [2] 杨君,宋纯清,胡之璧. 大叶钩藤的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2000,25(8):484-485.
- [3] Lee K H, Lin Y M, Wu T S, et al. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acids and related derivatives [J]. *Planta Med*, 1988, 54(4): 308-311.
- [4] Simon A, Najid A, Chulia A J, et al. Inhibition of lipoxigenase activity and HL60 leukemic cell proliferation by ursolic acid isolated from heather flowers (*Calluna vulgaris*) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1125(1): 68-72.

(责任编辑:宗世贤)