

# 竹节参总皂苷的抗肿瘤作用和毒性研究

邓旭坤<sup>1</sup> 米雪<sup>1</sup> 蔡俭<sup>1</sup> 尹文仲<sup>2</sup> 李游<sup>1</sup> 赵碧群<sup>1</sup> 蒋捷<sup>1</sup> 蔡爽<sup>1</sup> 吴非<sup>1</sup>

(1 中南民族大学药学院,武汉 430074; 2 湖北民族学院附属医院,恩施 445000)

**摘要** 为评价竹节参总皂苷对移植性 H22 荷瘤小鼠的肿瘤抑制作用和对免疫系统毒性,用 SPF 级雄性小鼠接种肝癌 H22 瘤株建立移植性肝癌 H22 小鼠模型,观察不同剂量的竹节参总皂苷对移植性 H22 荷瘤小鼠给药 12 d 后的抑瘤率、小鼠体重和免疫器官指数。结果表明:40、80、160 mg/kg 竹节参总皂苷对移植性 H22 荷瘤小鼠的抑制率分别为 30.7%、38.6%、48%,竹节参总皂苷能增加 H22 荷瘤小鼠小鼠体重,但对其免疫系统无明显毒性。说明竹节参总皂苷具有较显著的抗肿瘤作用,可成为抗癌新药。

**关键词** 竹节参总皂苷; 抗肿瘤; 毒性作用

**中图分类号** R282.71; R965.1 **文献标识码** A **文章编号** 1672-4321(2013)01-0047-03

## Anti-Tumor Activity and Toxicity of Total Saponins from *Panax japonicus* on H22 Tumor Bearing Mice

Deng Xukun<sup>1</sup> Mi Xue<sup>1</sup> Cai Jian<sup>1</sup> Yin Wenzhong<sup>2</sup> Li You<sup>1</sup> Zhao Biquan<sup>1</sup> Jiang Jie<sup>1</sup> Cai Shuang<sup>1</sup> Wu Fei<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, South-University for Nationalities, Wuhan 430074, China;

2. Affiliated Hospital, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China)

**Abstract** To evaluate the antitumor effects of total saponins from *Panax japonicus* and its toxicity on immune systems in mice transplanted with Hepatocarcinoma H22 cells, SPF male mice of Hepatocarcinoma H22 tumor model was made through H22 cells inoculation. The total saponins of 40, 80, 160 mg/kg of *Panax japonicus* were administrated to H22 tumor bearing mice to get tumor inhibitory ratio, mice weight, immune organ weight and immune index. The results showed that total saponins *Panax japonicus* had significant antitumor effect on the growth of H22 tumor in mice. Its inhibitory rate was 30.7%, 38.6% and 48% respectively. And it could obviously increase the weight of body, but had no toxicity on immune systems. So it is concluded that total saponins of *Panax japonicus* may become a promising anticancer drug as it has significant antitumor effect.

**Keywords** total saponins of *Panax japonicus*; anti-tumor activity; toxicity

竹节参,又名竹节三七、竹节人参、白三七,系五加科(Araliaceae)人参属植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. May. 的干燥根,为常用中药,味甘、微苦、性温,具有散瘀止血、消肿止痛、祛痰止咳、补虚强壮的功效。用于癆嗽咯血、跌扑损伤、咳嗽痰多、病后虚弱等症<sup>[1,2]</sup>。现代研究表明,竹节参主要的活性成分为皂苷类,尚含少量挥发油、多糖和氨基酸<sup>[3]</sup>,对中枢神经系统、免疫系统及心血管系统具有广泛的药理作用<sup>[4-7]</sup>。肝癌是临床上常见的恶性肿瘤之一,在世界肿瘤相关的死亡中排名第三,严重

威胁人类生命健康<sup>[8]</sup>。切除和移植肝脏是传统的肝癌治愈方法,但复发率较高<sup>[9]</sup>,且约有 80% 患者确诊时已无法手术,均大大降低了患者的生存率<sup>[10]</sup>。目前抗肿瘤药物中化学药品研发费用昂贵,副作用较大,患者较难耐受;而中草药中的活性化学成分来源广泛,毒副作用较小,备受学者们关注。基于对竹节参总皂苷体内抗肿瘤药理研究较少,本研究观察了竹节参总皂苷对移植性 H22 荷瘤小鼠的肿瘤抑制和毒性作用。

收稿日期 2012-12-04

作者简介 邓旭坤(1972-)男,副教授,博士,研究方向:肿瘤药理学和中药炮制学, E-mail: dxk990720@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81073147);中南民族大学本科生“国家级创新训练项目”(GCX12019)

## 1 材料与方法

### 1.1 药品、细胞和动物

竹节参采自湖北省宜昌市五峰县种植基地,经湖北省宜昌市药检所鉴定.5-氟尿嘧啶(阿拉丁,批号5402),氯化钠注射液(武汉滨湖双核药业有限责任公司),其他为市售分析纯试剂.SPF级昆明种雄性小鼠(18~22 g,湖北省疾病预防控制中心,4200400081).H22肝癌细胞购于武汉大学中国典型培养物保藏中心.

### 1.2 样品制备

总皂苷的提取:称取竹节参药材粉末,置圆底烧瓶中,加10倍量的60%乙醇于80℃加热回流2 h,共提取3次.回收乙醇至无醇味,加水稀释至0.2 g/mL待用.称取500 g D101大孔树脂用95%乙醇浸泡2 h后装柱,用超纯水冲洗大孔树脂2 BV至无醇味.将生药0.2 g/mL的竹节参提取液缓慢加入大孔树脂中吸附2 h.用超纯水冲柱2 BV至无醇味,以3 BV 70%乙醇洗脱,收集液体,回收溶剂,得总皂苷粉末<sup>[11-13]</sup>.用生理盐水溶解,配制浓度依次为2、4、8 mg/mL,一次性滤膜过滤后分装于洁净试管,4℃保存.

### 1.3 移植性H22荷瘤小鼠模型的建立

取生长旺盛无溃破的荷H22腹水瘤小鼠,颈椎脱臼处死,在超净工作台上从腹腔抽取乳白色瘤液,经台盼蓝染色确认细胞状态良好后,用无菌氯化钠注射液稀释为 $1 \times 10^6$ /mL的细胞悬液.于小鼠右前肢腋窝皮下接种0.2 mL.

### 1.4 动物分组与给药

接种后将小鼠随机分为5组,每组10只.分别为模型对照组(NS, ip),阳性组(5-FU, 20mg/kg, ip),竹节参剂量组(40, 80, 160mg/kg, ip).接种瘤液24 h后按0.02 mL/g给药,每天1次,连续12 d,观察记录各组小鼠生存状况并称重.

### 1.5 指标检测

小鼠于末次给药后禁食不禁水12 h以上,次日处死,剥离瘤块、胸腺和脾脏,分别称重.根据下式计算抑瘤率和胸腺、脾脏指数.

抑制率(%) = (平均瘤重<sub>模型对照组</sub> - 平均瘤重<sub>实验组</sub>) / 平均瘤重<sub>模型对照组</sub> × 100%

胸腺指数 = 10 × 胸腺重量(mg) / 实验后体重(g)

脾脏指数 = 10 × 脾脏重量(mg) / 实验后体重(g)

### 1.6 数据处理

数据以( $\bar{X} \pm s$ )表示,所有数据经Excel处理,采用t检验进行组间分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 竹节参总皂苷对移植性H22荷瘤小鼠肿瘤抑制作用

竹节参总皂苷对H22荷瘤小鼠抑制作用见表1.由表1可见,竹节参总皂苷对荷瘤小鼠表现出明显的抑瘤作用,可使其瘤重明显减轻;与模型对照组相比,竹节参总皂苷在40~160 mg/kg剂量范围内对H22荷瘤小鼠肿瘤生长抑制差异有显著性( $P < 0.01$ ),在160mg/kg时的抑瘤效果最好达48%.

表1 竹节参总皂苷对H22荷瘤小鼠肿瘤生长抑制作用

Tab.1 The inhibitory effect of total saponins of *Panax japonicus* on growth of H22 tumor transplanted in mice

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	瘤重/g	抑瘤率 TIR/%
模型对照组(NS)	-	0.574 ± 0.035	-
阳性组(5-FU)	20	0.279 ± 0.017 **	51.3
	40	0.398 ± 0.041 **	30.7
竹节参总皂苷	80	0.352 ± 0.043 **	38.6
	160	0.298 ± 0.033 **	48.0

与模型对照组比较, \*\*  $P < 0.01$

### 2.2 竹节参总皂苷对H22荷瘤小鼠免疫器官的重量及其指数的影响

竹节参总皂苷对H22荷瘤小鼠免疫器官的重量及其指数的影响结果见表2.由表2可见,空白组

及竹节参总皂苷各剂量组荷瘤小鼠体重增加较为明显,而5-FU组小鼠体重增加较少,说明竹节参总皂苷在40~160 mg/kg剂量范围内对小鼠的毒性作用较小.

就竹节参总皂苷对荷瘤小鼠的免疫器官影响而言,与模型空白组相比,5-FU 组小鼠的胸腺、脾脏及指数显著低于生理盐水组小鼠( $P < 0.01$ ),显示 5-FU 和其他化疗药物一样,对动物的免疫系统具有抑

制作用.而竹节参总皂苷三个剂量组小鼠的胸腺、脾脏及其指数均有明显增加作用.说明竹节参对小鼠的毒性作用较小.

表 2 竹节参总皂苷对 H22 荷瘤小鼠免疫器官重量及指数的影响

Tab. 2 The effect of total saponins of *Panax japonicus* on immune organ weight and immune index of H22 mice

组别	剂量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	体重		免疫器官重量/g		免疫器官指数( $\times 10^3$ )	
		前	后	胸腺	脾脏	胸腺	脾脏
模型对照组(NS)	-	21.81 ± 0.34	26.63 ± 0.52	0.054 ± 0.003	0.113 ± 0.006	2.09 ± 0.138	4.41 ± 0.186
阳性组(5-FU)	20	21.85 ± 0.51	23.95 ± 0.61*	0.032 ± 0.002**	0.080 ± 0.006**	1.28 ± 0.078**	3.12 ± 0.197**
	40	22.73 ± 0.41	27.69 ± 1.06	0.085 ± 0.013**	0.125 ± 0.015	3.36 ± 0.324**	4.71 ± 0.416
竹节参总皂苷	80	21.61 ± 0.45	27.12 ± 1.10	0.070 ± 0.005**	0.146 ± 0.017*	2.64 ± 0.198**	4.90 ± 0.407*
	160	21.95 ± 0.43	26.50 ± 0.44	0.068 ± 0.006	0.150 ± 0.020*	2.55 ± 0.251	5.18 ± 0.646*

与模型对照组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$

### 3 结语

竹节参含有多种化学成分,主要的活性成分为皂苷类,粗皂苷含量约为 23.6%<sup>[14]</sup>.研究表明诸多皂苷类成分如人参皂苷、重楼皂苷、黄芪皂苷、九节龙皂苷、榭藤子皂苷<sup>[15]</sup>等,对肿瘤生长有抑制作用,并能够诱导肿瘤细胞凋亡.为评价竹节参的抗肿瘤作用,本实验从整体的角度观察了竹节参总皂苷对移植性 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长的作用.结果表明竹节参总皂苷能显著的抑制 H22 荷瘤小鼠肿瘤的生长,具有显著的体内抗肿瘤作用,且没有常见化疗药所特有的副作用如明显的体重减轻,抑制免疫系统等,这对肿瘤的治疗具有重要的意义,其作用机制有待进一步的研究.

#### 参 考 文 献

- [1] 林先明,谢玲玲,由金文,等.竹节参名称及基源考[J].中药材,2007,30(6):742-743.
- [2] 国家药典委员会.中国药典,Ⅰ部[S].北京:中国医药科技出版社,2010,129.
- [3] 左锐,袁丁.竹节参化学成分和药理活性研究进展[J].时珍国医国药,2005,16(9):838-839.
- [4] 贾占红,赵晖.竹节参总皂苷对脑缺血大鼠神经细胞凋亡和即早基因表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):168-172.
- [5] 袁丁,姚琦,张长城.竹节参总皂苷对佐剂关节炎大鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  表达的影响[J].山东医药,2009,49(19):4-6.

- [6] 袁丁,左锐,张长城.竹节参总皂苷抑制肿瘤生长的实验研究[J].时珍国医国药,2007,18(2):277-278.
- [7] 杨小林,陈平.竹节参总皂苷对高血脂模型小鼠的影响作用[J].中医药学报,2010,38(6):22-24.
- [8] Santi V, Buccione D, Di Micoli A, et al. The changing scenario of hepatocellular carcinoma over the last two decades in Italy[J]. J Hepatol, 2012, 56(2):397-405.
- [9] Lachenmayer A, Toffanin S, Cabellos L, et al. Combination therapy for hepatocellular carcinoma: additive preclinical efficacy of the HDAC inhibitor panobinostat with sorafenib[J]. J Hepatol, 2012, 56(6):1343-1350.
- [10] Chow P, Ricke J, Malfertheiner P, et al. Evolving clinical evidence for selective internal radiation therapy in hepatocellular carcinoma[J]. EJC Suppl, 2012, 10(3):30-33.
- [11] 欧阳丽娜,吴雪,李兰林.大孔吸附树脂富集纯化竹节参总皂苷工艺条件优选[J].中成药,2011,33(7):1163-1168.
- [12] 王薇,宋小妹,扈亚国,等.大孔吸附树脂富集纯化珠子参总皂苷的工艺研究[J].辽宁中医杂志,2010,37(7):713-715.
- [13] 刘友平,万德光,鄢丹,等.大孔吸附树脂纯化远志总皂苷工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(6):3-6.
- [14] 欧阳丽娜,向大位,吴雪,等.竹节参化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2010,41(6):1023-1027.
- [15] 吴夏慧,胡文静,薛娇,等.六种天然皂苷抗肿瘤作用的研究进展[J].现代肿瘤医学,2011,19(10):2113-2116.