

多被银莲花素 A 对癌细胞 DNA, RNA, 蛋白质和血浆 cAMP 含量的影响¹

刘力生* 肖显华* 张龙弟* 郑荣梁* 吴凤钙** 朱子清**

(兰州大学生物物理教研室*和天然有机化学研究室**, 兰州 730001)

提要 多被银莲花素 A 30 $\mu\text{g/ml}$, 在体外能显著抑制小鼠 S180 和腹水型肝癌细胞 DNA, RNA 和蛋白质的合成, 其抑制率随作用时间(12-48 h)延长而增加, 它对 DNA 合成 48 h 的 ID_{50} 为 21 $\mu\text{g/ml}$. ip 多被银莲花素 A 10 $\text{mg/kg} \times 5\text{d}$ 能提高小鼠血浆 cAMP 含量 61%.

关键词 多被银莲花素 A; 肉瘤 180; 实验性腹水型肝细胞癌; 环一磷酸腺苷; [³H]胸腺嘧啶核苷; [³H]尿嘧啶核苷; [³H]亮氨酸

从多被银莲花 (*Anemone raddeana* Regel)

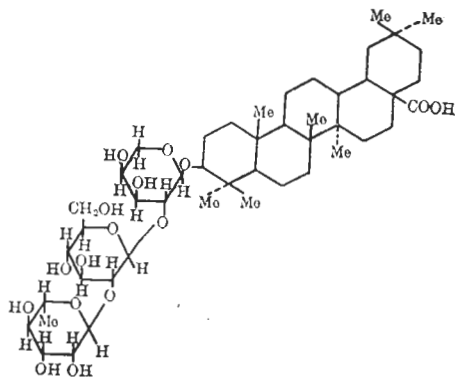


Fig 1. Oleanolic acid 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (anemoneanin A).

1983年8月29日收稿 1984年8月1日修回

¹ 中国科学院科学基金资助的课题

的根状茎中分离出多种皂苷,其中多被银莲花素(anemodeanin A)是一种新的皂苷⁽¹⁾。

此类皂苷化合物具有祛痰抗炎等作用⁽²⁾。本文研究多被银莲花素A对癌细胞DNA, RNA及蛋白质合成和对小鼠血浆cAMP含量的影响。

材 料

小白鼠 昆明杂种 50 只, $20.6 \pm SD 2.3$ g ♀♂各半。

癌细胞 取接种后 d 7 的小鼠 S 180 或腹水型肝癌(AH)细胞,用生理盐水洗涤 1 次,配成悬液。

培养液 RPMI-1640 内含 20% 小牛血清,青霉素 100 U, 链霉素 100 μ g。

多被银莲花素A悬液 无菌配制 0.5% 的吐温-80 溶液,再用于制成 0.5% 多被银莲花素A悬浮液。

标记物 [³H]TdR (27 Ci/mmol), [³H]Urd (20 Ci/mmol), [³H]Leu (53 Ci/mmol), 均为上海原子核研究所出品。

消化剂 过氯酸和过氧化氢 1:1(v:v)

闪烁液 0.5% PPO 和乙二醇甲醚 6:4 (v:v)

方 法 与 结 果

对癌细胞 DNA, RNA 和蛋白质合成的影响 用体外细胞培养 [³H]TdR 参入法^(3,4) 将小鼠 S 180 或 AH 用 RPMI-1640 培养液稀释成 3×10^5 /ml 的悬液,每瓶分装 5 ml, 37°C 温育 10 h 后随机分组,每组 12 瓶。实验组加 0.5% 的多被银莲花素A悬液 0.03 ml 使培养液成 30 μ g/ml, 对照组加相应的吐温溶液。每瓶分别加 0.05 ml 的 [³H]TdR, [³H]Urd 或 [³H]Leu 使培养液的放射性为 1 μ Ci/ml。37°C 温育 12, 24, 36 和 48 h。离心、洗涤、消化,并用 10 ml 闪烁液分 3 次将消化物移入测量杯,置 FJ-2100 型自动液体闪烁仪测量放射性。得 DNA, RNA 和蛋白质合成抑制的%(图 2)。

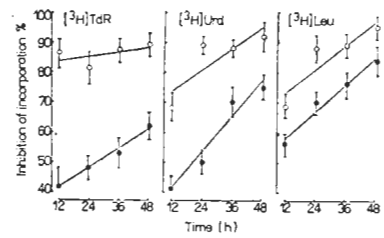


Fig 2. Inhibition of anemodeanin A 30 μ g/ml on [³H]TdR, [³H]Urd, [³H]Leu incorporation into S 180 (●) and ascitic hepatoma (○) cells *in vitro*. $\bar{x} \pm SD$, $p < 0.01$ for all points.

从图 2 可见,多被银莲花素 A 30 μ g/ml 对小鼠 S 180 和 AH 细胞 DNA, RNA 和蛋白质合成均有显著的抑制作用,其抑制率均随着时间的延长而加强。12 h 对 [³H]TdR 参入 S 180, AH DNA 的最低抑制率为 41% 和 85%, 48 h 的最高抑制率分别可达 62% 和 92%。在相同剂量下它对 AH 细胞 DNA 等合成的抑制率均比 S 180 高。

对 AH 细胞 DNA 合成的抑制率 ID₅₀ 用 RPMI-1640 培养液配成 3×10^5 /ml AH 细胞悬液,每瓶分装 5 ml, 37°C 培养 14 h 后随机分成 4 组,每组 3 瓶,分别加入多被银莲花素 A 10, 20 和 30 μ g/ml, 对照组加入相应的吐温溶液。同时加 [³H]TdR, 37°C 温育 48 h。离心、洗涤、消化,测量放射性,发现多被银莲花素 A 对 AH 细胞 DNA 合成的抑制率依次为 16, 35 和 89%。其 ID₅₀ 为 21 μ g/ml。

对癌细胞 DNA 合成的后作用 用 RPMI-1640 培养液制成 3×10^5 /ml 腹水型肝癌细胞悬液,每瓶分装 5 ml, 随机分组,每组 15 瓶,实验组加 0.5% 多被银莲花素 A 0.03 ml, 最终浓度为 30 μ g/ml, 对照组加相应的吐温溶液。37°C 温育 22 h 后,生理盐水洗 2 次除去药物,再加入新 RPMI-1640 培养液 5 ml。37°C 分别温育 0, 1, 2, 3 和 4 h 后,加 [³H]TdR, 均温育 2 h。离心、洗涤、消化,测量放射性。结果实验组参入率依次为对照组的 55, 52, 40, 23 和 17%。可见把多被银莲花素 A 清洗后, [³H]TdR 的相对参入率随时间延长而继续

下降, 即癌细胞的 DNA 合成不能恢复。

对小鼠血浆 cAMP 含量的影响 选昆明杂种♀小鼠 18 只 19.7 ± 1.2 g, 随机分为 2 组。实验组 ip 0.1% 多被银莲花素 A 悬液 10 mg/kg/d \times 5 d。对照组 ip 相应的吐温溶液。停药后 2 d 挖眼球取血, 3 鼠的血浆收集在 1 管, 每管重复试样 2 个。用蛋白结合法⁽⁵⁾测定 cAMP 含量。结果对照组为 51 ± 5 , 实验组为 82 ± 6 pmol/ml。可见给药组血浆中 cAMP 的含量比对照组高 61% ($p < 0.05$)。

讨 论

TdR, Urd 和 Leu 分别是 DNA, RNA 和蛋白质合成的前生物, 它们的参入率可反映细胞代谢的活力。多被银莲花素 A 30 μ g/ml 能显著抑制这些前生物参入体外培养的 S 180 和 AH 细胞, 也可反映该药对癌细胞增殖能力的抑制。一般认为 ID_{50} 在 1-100 μ g/ml 者为有效药物⁽⁶⁾。多被银莲花素 A 作用后, AH 细胞的 DNA 合成不能恢复, 故其抑制似属 DNA 模板损伤型⁽⁷⁾。

cAMP 是生物体和细胞内代谢的重要调节

因子之一。给艾氏腹水癌小鼠注射 cAMP 可抑制癌细胞的增殖⁽⁸⁾。提高细胞内或细胞外的 cAMP 含量有防止细胞癌变及抑制其分裂的作用^(8,9)。用药组血浆 cAMP 含量比对照组提高 61%, 说明给小鼠 ip 多被银莲花素 A 对抑制癌细胞可能有利。

参 考 文 献

- 1 吴凤镗、朱子清. 化学学报 1984; 42: 253
- 2 Wagner H, Horhammer L. *Pharmacognosy and phytochemistry*. 1st ed. Berlin: Springer, 1971: 274-86
- 3 Lea MA, Morris HP, Weber G. *Cancer Res* 1966; 26: 465
- 4 刘力生、肖显华、王肖莹、郑荣梁、周秀芳. 中国药理学报 1984; 5: 130
- 5 中国医学科学院首都医院基础组、中国人民解放军 59170 部队、中国科学院原子能研究所. 放射免疫分析及其他放射体外测定方法. 第 1 版. 北京: 原子能出版社, 1976: 228-34
- 6 Smith CG, Lummis WL, Grady JE. *Cancer Res* 1959; 19: 843
- 7 Painter RB. *Nature* 1977; 265: 650
- 8 Hochster RM. *Metabolic inhibitors*. 1st ed. NY: Academic Press, 1973; 4: 389-422
- 9 Braun N. *cAMP, cell growth and immune response*. 1st ed. NY: Springer, 1974: 290-329

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Sep; 6 (3): 192-194

EFFECTS OF ANEMODEANIN A ON DNA, RNA AND PROTEIN OF TUMOR CELLS IN VITRO AND PLASMA cAMP IN MICE¹

LIU Li-sheng*, XIAO Xian-hua*, ZHANG Long-di*, ZHENG Rong-liang*, WU Feng-e**, ZHU Zi-qin**

(Section of Biophysics* and Inst Organic Chemistry**, Lanzhou University, Lanzhou 730001)

ABSTRACT Oleanolic acid 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (anemodeanin A) was extracted from *Anemone raddeana* Regel. Anemodeanin A 30 μ g/ml obviously inhibited DNA, RNA and protein syntheses of sarcoma 180 and ascitic hepatoma cells during the period of 12-48 h after exposure *in vitro*. ID_{50} of anemodeanin A on DNA synthesis in ascitic hepatoma cells at 48 h was 21 μ g/ml. This drug

ip 10 mg/kg \times 5 d elevated the plasma cAMP of mice by 61%.

KEY WORDS anemodeanin A; sarcoma 180; experimental ascitic hepatoma; adenosine cyclic monophosphate; [³H]thymidine; [³H]uridine; [³H]leucine

¹ Project supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences