

## 丹参酮 II-A 磺酸钠对 Lewis 癌无促进生长与转移的作用<sup>1</sup>

刘明章、黄貽德、肖伟琪 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

No promoting effects of sodium tanshinone II-A sulfonate on growth and metastasis of Lewis carcinoma

LIU Ming-Zhang, HUANG Yi-Sui, XIAO Wei-Qi

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**ABSTRACT** From d 3 after transplantation of Lewis pulmonary carcinoma in C57BL mouse leg muscles, the mice were injected ip sodium tanshinone II-A sulfonate (DS-201) 0.2, 0.4, 6.3, 12.5, 25.0, and 50.0 mg · kg<sup>-1</sup> qd × 12 d. At the dose of 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> or below, the mice appeared to be as vivid as those of the control. In the group of 25 mg · kg<sup>-1</sup>, declining brisk and unkempt appearances were seen. At 50 mg · kg<sup>-1</sup>, the mice were more emaciated and half of them died. On d 2 of cessation of the medication, all remaining mice were dissected. The weights of muscle tumors and the metastatic foci on lungs in the medicated mice showed no significant differences from their controls. These results demonstrate that DS-201 has no promoting effect both on growth of Lewis carcinoma transplanted in C57BL mouse leg muscles and on lung metastasis of the neoplasm.

**KEY WORDS** *Salvia miltiorrhiza*; tanshinone II-A sulfonate; lung neoplasms; neoplasm metastasis; inbred C57BL mice

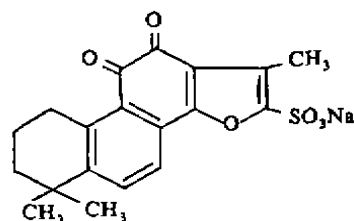
**提要** C57BL 小鼠肌肉接种 Lewis 癌后 d 3 起每日 ip DS-201 历 12 d. 剂量在 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 以下的小鼠与对照组的无异, 50 mg · kg<sup>-1</sup> 组半数小鼠死亡. 结果 6 个剂量组的肌肉内瘤重和癌的肺转移灶数, 与对照组的比较均无显著差异. 说明 DS-201 对接种于小鼠肌肉的 Lewis 癌的生长及其肺转移, 都不表现促进作用.

Received 1988 Jan 11 Accepted 1991 Jun 24

<sup>1</sup> Reported at the 1988 summer academic discussion held by Shanghai Branch of the Chinese Pharmaceutical Association on 1988 Jul 5

**关键词** 丹参; 丹参酮 II-A 磺酸钠; 肺肿瘤; 肿瘤转移; C57BL 近交系小鼠

丹参酮 II-A 磺酸钠(sodium tanshinone II-A sulfonate, DS-201), 是我所从治疗冠心病的常用中药丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bung)中提取出的一种脂溶成分丹参酮 II-A 经磺化而成的水溶性钠盐<sup>(1)</sup>. 药理实验 DS-201 有抗急性缺氧<sup>(2)</sup>改善左心室功能<sup>(3)</sup>及减少血栓形成<sup>(4)</sup>等效用. 临床试用对冠心病具有与丹参水提液相似的疗效<sup>(5)</sup>. 鉴于文献报道丹参注射液(水粗制剂)对动物移植瘤有促进肺转移作用<sup>(6)</sup>, 引起了临床上的关注. 为此本文研究了 DS-201 是否有促进肿瘤生长与转移的作用, 并与丹参水制剂比较, 以供临床参考.



Sodium tanshinone II-A sulfonate (DS-201)

### MATERIALS AND METHODS

DS-201 水溶液橙红色, 10 mg / 2 ml 安瓿, 上海第一制药厂生产, 批号 830701, 丹参注射液, 上海第一制药厂生产, 批号 870604.

C57BL 小鼠, ♀, 195 只, 体重 18.9 ± s 1.8 g, Wistar 远交系大鼠, 30 只, ♀ ♂ 各半, 体重 95 ± 10 g, 均由中国科学院上海实验

动物中心供应。

Lewis 癌，接种于 C57BL 小鼠皮下传种；Walker 256，大鼠皮下传种，皆为我所药理室肿瘤组提供。

取接种 Lewis 癌 15-18 d 的 C57BL 小鼠 2-3 只，颈椎拉脱处死，在无菌操作下，取下瘤块置于生理盐水(NS)平皿中，剔除瘤块的外周纤维组织及中间坏死部份，选取生长良好的鱼肉状癌称重，按实验所需瘤重，加入 NS 磨成匀浆，接种高细胞浓度的按 1:5 稀释，用 6 号针头，每鼠后腿肌肉接种 0.2 ml，接种后 d 3 随机分组，每组 10-15 只，ip DS-201 或 NS，qd × 12 d，每隔 2-3 d 称体重 1 次，按体重变化调整剂量，停药后 d 2 解剖，取接种部肌瘤称重，切下双侧肺，剥去气管及肺门组织称重后，用 5 倍放大镜查数各肺叶表面的 Lewis 癌转移灶。转移灶一般呈圆形小突起如疱状，表面光滑晶亮，直径多数在 0.5-1 mm，少数聚合的可达 2-3 mm。所得数据与对照组作 *t* 试验比较。另取接种于大鼠皮下 8 d 的 Walker 256 两鼠，同上法处死，选瘤组织按 1:10 磨成匀浆，用 100 网眼的铜纱过滤后，给 Wistar 远交系大鼠尾静脉注入匀浆 0.2 ml，将注射满意的大鼠 20 只，分作 DS-201 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 及 NS 两组，参照文献(6)法，于接种后 d 2 起每日 ip × 4 d，停药 23 d 后解剖，计数各肺叶表面的癌巢数。

## RESULTS

### DS-201 对接种肌肉的 Lewis 癌及肺转移的影响

1 接种高浓度癌细胞 以 1:5 浓度匀浆 im 接种后，结果肌瘤的接种成功率都是 100%，肌瘤重量见 Tab 1，DS-201 各剂量组与对照组间，都无显著差异。第一次实验的 B1 各组肌瘤比第二次实验 B2 的都明显较轻，这是由于匀浆按瘤的重量稀释，单位容量内所含的癌细胞数，不同次的难以相等，加以

每批瘤源的癌细胞活跃状态，往往有区别，因之不同次接种的肌瘤重量，常有差异，但同次实验的条件比较一致，B1 或 B2 各组间肌瘤重量就较接近，B1 中 DS-201 高剂量组的较对照组的略有减轻，可能因出现毒性反应，受营养与体质下降的影响。肺部癌转移的动物数，各组都在 90% 以上，转移灶数不论在 B1 还是 B2，DS-201 各组比对照组都未见增高倾向  $P > 0.05$ 。从表中也看不出肺转移灶数与肺重间有相应关系。DS-201 的最高剂量组已经出现明显毒性，给药期间有半数小鼠死亡，以此递减的 25、12.5 和 6.3 mg · kg<sup>-1</sup> 各组的肌瘤重和肺转移灶数及肺重，与其对照组间，皆无显著差异；因之 ip DS-201 对接种于小鼠腿肌内的原位 Lewis 癌，没有促进生长的倾向，对癌的肺转移灶数，也未见促进增多的作用。

Tab 1. Effects of ip sodium tanshinone sulfonate (DS-201) qd × 12 d on growth and metastasis of Lewis carcinoma transplanted im in C57BL mice.  $\bar{x} \pm s$ . \*  $P > 0.05$  vs NS group.

DS-201, mg · kg <sup>-1</sup>	n	Tumor weight, g	Lung weight, mg	Metastatic foci number
B1 (Transplanted im with 1:5 cell suspension)				
NS	10	6.1 ± 1.7	173 ± 21	4.6 ± 3.7
12.5	10	6.5 ± 1.1*	172 ± 4*	5.2 ± 4.2*
25.0	10	6.4 ± 1.3*	178 ± 12*	3.8 ± 2.1*
50.0	10 <sup>+</sup>	5.1 ± 1.7*	159 ± 8*	2.8 ± 1.5*
B2 (Transplanted as B1)				
NS	15	8.2 ± 1.1	13.4 ± 35	6.7 ± 4.8
6.3	15	8.2 ± 0.9*	146 ± 23*	5.3 ± 4.9*
12.5	15	8.1 ± 0.7*	142 ± 7*	7.1 ± 5.0*
B3 (Transplanted im with 1:20 cell suspension)				
NS	15	4.9 ± 1.4	145 ± 12	4.2 ± 3.4
0.2	15	5.0 ± 0.9*	140 ± 7*	2.5 ± 3.5*
0.4	15	5.1 ± 0.6*	136 ± 8*	3.4 ± 3.6*
6.3	15	4.7 ± 0.7*	145 ± 8*	4.4 ± 3.1*

<sup>+</sup> 5 mice died during the medication.

2 接种低浓度癌细胞 为了重点观察 DS-201 对癌的肺转移发生率的影响，将接种肌肉的 Lewis 癌匀浆，稀释成 1:20 以降低其

向肺部的自发转移率，利于看出药物对后者有无促进效用。同时减小用药剂量，以观察是否在小剂量下有促进作用，在大剂量下反而抑制的可能性。DS-201 小剂量，选用  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (相当于人临床用剂量)，和  $0.4$  及  $6.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  3 种剂量，结果见 Tab 1 B3。肌瘤重和癌的肺转移灶数，皆比 B1、B2 中略有下降；接种低浓度的匀浆后，变化较大的是癌的肺转移发生率，由 B1、B2 的 90-100% 降低到 B3 的 60-80%；但所用 DS-201 3 个小剂量组所得的各项数值，与对照组的相比都无显著差异，与 B1、B2 的结果一致。进一步证明 DS-201 对肌肉 Lewis 癌的肺转移动物发生率和肺转移灶数，均无显著性影响，都未见有促进作用；同时说明，DS-201 在小剂量下也和大剂量下一样，均未见有促进 Lewis 癌生长与转移的效果。

**DS-201 与丹参注射液对 Lewis 癌作用的比较** 同前法用 Lewis 癌 1:5 匀浆接种肌肉，DS-201 选用小鼠刚能耐受的  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，丹参注射液用较安全的  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  和适中的  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量，以及出现明显毒性的  $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  作为参考剂量。结果见 Tab 2。DS-201 组和丹参水溶液的 3 剂量组，对 Lewis 癌的肌瘤重和癌的肺转移灶数，各与对照组的相比都是  $P > 0.05$ ，显示 DS-201 和丹参注射液对 Lewis 癌的作用，并无显著区别。

Tab 2. Comparison of effects between DS-201 and Danshen injection on Lewis carcinoma in C57BL mice.  $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \*  $P > 0.05$  vs NS group.

Durg, $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Mice dissected	Muscle tumor weight, g	Lung weight, mg	Metastatic foci number
NS	10	$8.2 \pm 1.2$	$178 \pm 7$	$12 \pm 5$
DS-201	0.025 9	$7.4 \pm 0.9^*$	$177 \pm 9^*$	$10 \pm 4^*$
Danshen	5 10	$7.4 \pm 1.2^*$	$179 \pm 10^*$	$10 \pm 5^*$
	10 8	$6.7 \pm 1.5^*$	$174 \pm 12^*$	$10 \pm 5^*$
	20 5	$7.5 \pm 1.2^*$	$173 \pm 17^*$	$10 \pm 5^*$

DISCUSSION

一个药物若能促进癌的转移，除了该药具有促进癌细胞增殖、浸润和游离外，对载瘤动物的剂量，必然能表现出随着剂量的循序改变，促进癌转移的作用也相应增大的“量-效”关系；本文中 DS-201  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  已出现显著毒性，说明剂量已经用足，Tab 1 B1 中的  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以及 12.5 和 Tab 1 B2 的  $6.3 \text{ kg}^{-1}$  都未见对 Lewis 癌的生长与转移的促进作用，直到 Tab 1 B3 中小到相当于人临床剂量及其 2 倍剂量，仍未见有促癌影响，这些结果，与文献报告的丹参注射液对肿瘤的自发肺转移有促进作用<sup>(6)</sup>，显然不一致；是否丹参脂溶成分的 DS-201 与水溶部份的丹参注射液，在这方面有所区别？Tab 2 的实验结果否定了这种推想。文献(6)报道的给大鼠尾静脉接种 Walker 256 后，ip 丹参注射液促进“肺转移灶”增多；我们用同法对 DS-201 也作了观察，结果对照组肺癌巢灶数为  $11 \pm 8$ ，DS-201 组为  $28 \pm 15$ ， $P < 0.05$ ，反映 DS-201 具有与丹参注射液同样的促进 Walker 256 肺癌巢灶增多作用。这样对 Lewis 癌肌瘤的肺转移与对 Walker 256 静脉接种的肺癌灶的结果有了矛盾，我们的解释是：Lewis 癌为先长成了原位肌瘤，而后侵入脉管再经血流转移到肺部，形成他位的继发瘤，这过程是较典型的肿瘤转移；所以用 Lewis 癌肌肉接种，是观察药物有无促进癌肺转移作用的较好模型。而 Walker 256 是从静脉注入癌细胞，经血流直接留滞在肺部形成癌灶，在此之前没有原位瘤的形成部位，这不符合转移癌的定义，所以不是转移癌。作者认为将 Walker 256 静脉接种，不宜用作观察药物有无促进转移作用的模型。因之我们只把 DS-201 对 Lewis 癌肌肉接种的肺转移结果，作为评价有无促进癌转移的根据。

ACKNOWLEDGMENT 杨保津女士提供丹参酮 II-A 磺酸钠并给予协助.

REFERENCES

1 Chien MK, Young PT, Ku WH, Chen ZX, Chen HT, Yeh HC. Studies on the active principles of Dan-Shen I. The structure of sodium tanshinone II-A sulfonate and methylene tanshinquinone. *Acta Chim Sin* 1978; 36 : 199

2 Wang ZM, Chen LX, Zhang YF, et al. Effects of sodium tanshinone II-A sulfonate on myocardium and haemolysis. *Acta Physiol Sin* 1980; 32 : 18

3 Wang YP, Chen YH, Xu DZ, Jiang WD. Effect of "tanshinone IIA" sodium sulfonate on the

hemodynamics and extent of myocardial infarct in coronary occluded dogs. *Acta Acad Med Shanghai* 1980; 7 : 347

4 Li CZ, Yang SC, Zhao FD. Effect of tanshinone II-A sulfonate on thrombus formation, platelet and coagulation in rats and mice. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 39

5 上海丹参201临床协作组. 丹参酮IIA磺酸钠注射液治疗 108 例冠心病疗效观察. *中草药通讯* 1978; 1(1) : 37

6 Fu NW, Fan XJ, Wan YQ, Zhang LS, Quan LP. Effect of Danshen on the growth and metastases of experimental tumors and the preliminary study of its mode of action. *Chin J Oncol* 1981; 3 : 165

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Nov; 12(6) : 537-542

红花总黄素对免疫功能的抑制作用<sup>1</sup>

陆正武、刘发<sup>2</sup>、胡坚、边棣、李芳桂<sup>3</sup> (新疆医学院药理教研室, 乌鲁木齐 830054, 中国)

Suppressive effects of safflower yellow on immune functions<sup>1</sup>

LU Zheng-Wu, LIU Fa<sup>2</sup>, HU Jian, BIAN Di, LI Fang-Gui<sup>3</sup> (Department of Pharmacology, Xinjiang Medical College, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT Safflower yellow (SY) extracted from *Carthamus tinctorius* L contained chalconoid compounds, 75% of which was safflomin A. SY ip 50-450 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> × 6-8 d in mice decreased serum lysozyme concentration and phagocytosing functions of both peritoneal macrophages and peripheral leukocytes; diminished the production of plaque forming cells, specific rosette forming cells, and antibody; inhibited delayed type hypersensitivity

reaction and the activation of T suppressor cells elicited by supraoptimal immunization. Experiments *in vitro* showed inhibitory effects on [<sup>3</sup>H]TdR incorporation during human peripheral T- and B-lymphocyte proliferation by SY 0.03-3.0, 0.1-2.0 mg · ml<sup>-1</sup> respectively, murine mixed lymphocyte culture response and the production of interleukin-2 by SY 0.1-2.5 mg · ml<sup>-1</sup>.

In conclusion, SY produced declines in both nonspecific and specific immune functions.

KEY WORDS safflower yellow; phagocytosis; delayed hypersensitivity; rosette formation; suppressor cells; cultured cells; interleukin-2; immunosuppression

提要 探讨红花总黄素(SY)对正常小鼠免疫功能和人外周血淋巴细胞转化反应的影响. 发现 SY 降低血清溶菌酶含量、腹腔巨噬细胞和全血白细胞吞噬功能; 使 PFC, SRFC 和抗体产生减少; 抑制 DH 反应和 SOI 诱导的 T<sub>s</sub> 细胞活化. 体外, SY 0.03-3.0, 0.1-2.0 和 0.1-2.5 mg · ml<sup>-1</sup> 抑制 [<sup>3</sup>H]TdR 参入的 T, B 淋巴细胞转化、MLC 反应、IL-2 的产生及其活性.

Received 1990 Aug 15 Accepted 1991 Jul 29

<sup>1</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China, № 28960011

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed

<sup>3</sup> Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830001, China