

姜黄水提液抗氧化与抑瘤作用的初步研究

陈 华¹, 王志红¹, 汪家梨¹, 陈铁辉², 薛常锦²

(1. 福建医科大学预防医学实验中心, 福建 福州 350004; 2. 福建省疾病预防控制中心, 福建 福州 350001)

【摘要】背景与目的: 观察姜黄水提液对荷 H₂₂ 肝癌小鼠实体瘤的抑制作用及其对荷瘤鼠体内抗氧化能力的影响。材料与方 法: 建立移植性 H₂₂ 肝癌小鼠实体瘤的模型, 灌胃给药, 观察姜黄水提液及纯姜黄素给药后各处理组小鼠实体瘤重, 肝重, 脾重以及 GSH、SOD 的变化情况。结果: 纯姜黄素组抑瘤率为 37.97%, 姜黄水提液各剂量组未见抑瘤作用。姜黄水提液与纯姜黄素均使荷瘤鼠体内 GSH 和 SOD 水平升高, 两者效果相似。结论: 中药姜黄水提液对 H₂₂ 肝癌小鼠实体瘤抑制作用不明显; 但是姜黄水提液和纯姜黄素均能提高实验小鼠体内的 GSH 和 SOD 的水平, 有良好的提高体内抗氧化能力作用。

【关键词】姜黄; H₂₂; 抗肿瘤; 抗氧化

中图分类号: R730.52

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2004)06-0347-02

Preliminary Study on Antioxidative and Antitumor Effect of Curcuma Longa L Fluid on H₂₂ Tumorigenic Mouse

CHEN Hua¹, WANG Zhi-hong¹, WANG Jia-li¹, et al

(1. Lab center for preventive medicine, Fujian medical university, Fuzhou 350004, China; 2. Center of disease control and prevention of Fujian province, Fuzhou 350001, China)

【ABSTRACT】BACKGROUND & AIM: To study the antioxidative and antitumor effects of Curcuma longa L decoction on H₂₂ tumorigenic mouse. MATERIAL AND METHODS: The H₂₂ tumorigenic mice were oral administrated with the decoction with 24 g/kg, 12 g/kg and 6 g/kg curcuma longa L respectively for 8 days. Weight of tumor, both GSH and SOD activities of animal blood were determined. RESULTS: Inhibition of tumor growth was found for curcuma longa L decoction. But curcuma longa L decoction could significantly increase the levels of GSH and SOD on H₂₂ tumorigenic mice blood. CONCLUSION: In this investigation, Curcuma longa L decoction has no obvious antitumor effect, but has antioxidative effect on H₂₂ tumorigenic mice.

【KEY WORDS】Curcuma longa L; H₂₂; antitumor; antioxidant;

姜黄(Curcuma long L.)为姜科姜黄属植物,药用其根茎,主要含挥发油类、姜黄素类,姜黄素(curcumin)是从姜黄属植物姜黄,郁金,莪术等的根茎提取的一种有效成分,其化学名为阿魏酰甲胺。研究认为姜黄素是有效的抗突变、抗促癌剂^[1],因此,美国国立肿瘤研究所已将其列为第三代肿瘤化学预防剂。但是纯姜黄素提纯工艺复杂,价格昂贵,难以在大量人群中使用,而中药姜黄价格便宜,来源丰富,易为人们接受,本试验观察姜黄水提液对移植性肝癌小鼠实体瘤的抑制作用及对体内抗氧化功能的影

响,为开发经济有效的肝癌化学预防药提供线索。

1 材料与方法

1.1 肿瘤细胞株 H₂₂小鼠肝癌型细胞瘤株由本校药理实验室赠送。

1.2 试剂 姜黄素,上海三爱思试剂有限公司生产(批号为 20010927)。以 DMSO 为助溶剂溶于亚沸蒸馏水中,灌胃前配制。环磷酰胺,江苏恒瑞医药股份有限公司生产(批号为 403510)。中药姜黄在福州回春药店购得,产地福建,加蒸馏水熬制,浓缩成 10 g 生

药/ml 的浓缩液, 4 °C 冰箱保存, 临用前蒸馏水稀释至所需剂量。

1.3 实验动物 昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 由福建医科大学实验动物中心提供 (合格证号: 闽实动质准 B002-04)。

1.4 实验方法

1.4.1 肿瘤接种 无菌条件下取生长 7 d 小鼠体内传代接种的 H22 肝癌小鼠腹水, 用生理盐水按 1:4 稀释成细胞悬液, 每只小鼠右腋皮下接种 0.20 ml。

1.4.2 动物分组 接种后的昆明种小鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为荷瘤对照组 (给同体积蒸馏水)、环磷酸胺对照组 (CP, 50 mg/kg, 间日给药)、纯姜黄素组 (Curcumin, 300 mg/kg) 和姜黄水提液 (Curcuma Longa L, CLL) 高、中、低剂量组 (折合生药为 24、12、6 g/kg), 灌胃给药, 每日 1 次, 连续 8 d。

1.4.3 抑瘤率、肝脏指数、脾脏指数 动物停药 24 h 后, 小鼠腋下静脉取血, 肝素抗凝, 供生化检测, 处死动物, 称体重, 剥取肿瘤组织、肝、脾并称量, 计算抑瘤率, 肝脏指数和脾脏指数。

1.4.4 抗氧化指标 GSH 测定采用改良 DTNB 比色法 [2]; SOD 测定采用邻苯三酚自氧化速率法 [3]。

1.4.5 统计分析 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, SPSS10.0 统计软件, 用方差分析。

2 结果

2.1 姜黄水提液对 H22 肝癌实体瘤生长的影响 表 1 显示, 纯姜黄素对实体瘤生长有抑制作用, 其抑瘤率为 37.97%, 而姜黄水提液各剂量组对实体瘤生长无影响。

表 1 姜黄水提液对 H22 肝癌实体瘤生长的影响 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effect of tumor inhibiting on H22 tumorigenic mouse with Curcuma Longa L (CLL) fluid by oral administration (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Mean weight tumor (g)	Restraining rate
H22 control	1.085 ± 0.541	-
CP	0.471 ± 0.352**	0.5659
Curcumin	0.673 ± 0.403*	0.3797
CLL (high dose)	1.081 ± 0.323	-
CLL (middle dose)	1.087 ± 0.422	-
CLL (low dose)	1.105 ± 0.385	-

Compared with H22 control, * P < 0.05, ** P < 0.01 .

2.2 姜黄水提液对荷瘤鼠体内抗氧化能力的影响

表 2 的数据显示: 与荷瘤对照组比较, 姜黄水提液和纯姜黄素组荷瘤鼠全血 GSH 和 SOD 水平均显著高于荷瘤对照组 (P < 0.05)。进一步两两比较, 纯姜黄素组与姜黄水提液高、中、低剂量组间全血 GSH 和 SOD 水平无明显差别。提示在一定浓度范围内纯姜黄素与姜黄水提液提高体内抗氧化能力效果是相同的。

表 2 姜黄水提液对荷瘤鼠体内抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effect of antioxidation on H22 tumorigenic mouse with Curcuma Longa L (CLL) fluid by oral administration

Groups	GSH (mg · L ⁻¹)	SOD (U · ml ⁻¹)
H22 control	84.679 ± 25.195	34.650 ± 8.449
CP	63.501 ± 19.591*	84.825 ± 21.413*
Curcumin	119.901 ± 11.146**	89.325 ± 20.650*
CLL (high dose)	115.171 ± 8.478**	89.888 ± 12.510*
CLL (middle dose)	104.000 ± 30.590*	97.538 ± 12.370**
CLL (low dose)	114.401 ± 13.055**	113.963 ± 13.553**

Compared with H22 control, * P < 0.05, ** P < 0.01 .

2.3 姜黄水提液对荷瘤鼠肝重和脾重的影响 方差分析显示, 各组间肝重和肝脏指数均无明显差别 (P > 0.05), 而脾重和脾脏指数环磷酸胺组明显高于其他各组 (P < 0.05)。

表 3 姜黄水提液对荷瘤鼠肝重和脾重的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effect of the weight of liver and spleen on H22 tumorigenic mouse with Curcuma Long L (CLL) fluid by oral administration

Groups	Liver weight (g)	Spleen weight (g)	Liver index	Spleen index
H22 control	2.072 ± 0.359	0.329 ± 0.098	6.85 ± 0.991	0.9 ± 0.27
CP	1.819 ± 0.411	0.435 ± 0.216*	6.55 ± 0.441	0.75 ± 0.75*
Curcumin	2.060 ± 0.345	0.365 ± 0.093	6.59 ± 0.801	0.17 ± 0.25
CLL (high dose)	2.028 ± 0.300	0.331 ± 0.118	6.34 ± 0.751	0.02 ± 0.26
CLL (middle dose)	2.186 ± 0.465	0.348 ± 0.151	6.77 ± 1.201	0.07 ± 0.43
CLL (low dose)	2.167 ± 0.248	0.310 ± 0.092	6.45 ± 0.740	0.92 ± 0.17

Compared with H22 control, * P < 0.05 .

3 讨论

姜科姜黄属植物除可作为调味品、色素外, 还有广泛的药理作用。姜黄素是姜黄属植物根茎提取的一种有效成分, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎等药理作用, 对正常机体无明显毒副作用。动物实验证明 [4], 姜黄素半数致死量 LD50 > 2 g/kg, 口服 5 g/kg 姜黄素无明显毒性。本实验中, 姜黄给药剂量高达 24 g/kg 对荷瘤鼠的体重、肝重及脾重无明显影响, 说明姜黄毒副作用极低, 与文献报道一致。

实验结果显示纯姜黄素对 H22 瘤株有一定的抑制效应, 但是姜黄水提液未观察到明显的抑瘤作用, 可能原因是: ①姜黄水提液是一混合物, 主要含挥发油类和姜黄素类, 此外还有树脂类、糖类、甾醇类和脂肪酸、生物碱及微量元素等 [5], 是否其他成分干扰其有效成分, 有待研究。②姜黄的另一抗肿瘤有效成分——挥发油在中药熬制过程中挥发丢失, 降低了抗肿瘤效应。此外, 据文献报道 [6], 不同产地、种类、采收期、储藏期, 姜黄中的姜黄素含量差异较大, 可能本次实验所用姜黄水提液中姜黄素含量尚未达到其发挥作用的有效剂量, 而影响其效果。因此, 姜黄水提液的抑瘤效应还需进一步研究。

在本实验中观察到姜黄水提液能明显提高荷瘤小鼠体内 GSH 和 SOD 的含量 (P < 0.05), 其效果与纯姜黄素组无明显差别。
(下转 358 页)

本研究发现,杜仲对小鼠的急性经口 LD₅₀均大于 160.0 g/kg,属无毒类;细胞毒性试验结果表明,在所设试验剂量范围内杜仲在较高剂量下对 CHO 和 CHL 细胞都表现出一定的毒性作用;遗传毒性试验均为阴性结果。

参考文献:

[1] 江苏新医学院编. 中药大辞典[M]. 上海:上海科技出版社,1986. 1032.

(上接 348 页)

GSH 和 SOD 是体内抗氧化系统的重要组成部分,具有保护细胞膜,清除体内自由基等多种生物学效应,其测定方法简单,结果真实可靠,其含量越高反映体内的抗氧化活性越高。抗氧化特性是许多肿瘤化学预防药物发挥作用的重要机制之一,本实验结果提示姜黄水提液有可能通过提高体内抗氧化酶活性和自由基清除剂水平,保护机体免受化学致癌物产生的氧自由基的攻击,起到化学预防作用。同时本实验还观察到,随着姜黄给药剂量的增高姜黄水提液提高体内 GSH 和 SOD 水平的能力并未增加,提示姜黄水提液提高体内抗氧化能力有一定的有效剂量范围,故在实际应用中应注意选择适宜的剂量。

目前,用于肿瘤治疗和预防的药物,在抗癌的同时对正常组织细胞也有毒性作用,可引起继发肿瘤以及肝、肾毒性及骨髓抑制,消化道反应,脱发等不良反应,而迄今未发现姜黄有明显的毒副作用,由于纯姜黄素提纯工艺复杂,价格昂贵,不适于在大量人

(上接 354 页)

群中使用,限制了其应用范围。本试验研究表明姜黄水提液与纯姜黄素在保护机体免受过氧化自由基损伤方面效果是相同的,无明显毒副作用,同时可以节省成本,具有明显的经济效益,用于肿瘤高发地区人群早期化学预防,有一定的开发利用前景。

消除巢湖水致 DNA 损伤作用。提示对巢湖源水经混凝、活性炭吸附及沉淀处理后其 DNA 损伤作用有所下降,但氯化消毒可增加水中有机提取物的 DNA 损伤作用,与国内有关报道一致^[9]。由于未进行定量指标的检测,要准确地反映巢湖水有机提取物对鱼红细胞的 DNA 损害效应,有待我们做进一步的研究。

参考文献:

[1] 王红兵,朱惠刚. 我国若干湖泊中蓝藻毒素的遗传毒性研究[J]. 中国公共卫生学报,1995,14(6): 339-340.
[2] 吴南翔,杨寅楣,金锋,等. Z 流域水质致突变性研究

[2] 王彩兰. 杜仲叶中无机元素动态含量测定[J]. 微量元素与健康研究,1997,14(4): 33.
[3] 阴健. 中药现代研究与临床应用(1)[M]. 北京:学苑出版社,1993. 39.
[4] 南京药学院编写组. 中草药学(上册)[M]. 南京:江苏科技出版社,1976. 391.
[5] 卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S],2003.
[6] 杨景山. 医学细胞化学与细胞生物技术[M]. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1996.

(福建医科大学预防医学 98 级实习生许涛、何庆峰参加部分实验工作)

参考文献:

[1] 韩锐. 抗癌药物研究与实验技术[M]. 北京:协和医科大学中国医学科学院出版社,1997. 13.
[2] 冯仁丰. 实用医学检验录[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996. 151.
[3] 丁克祥,钟水先,姚树人. 刺玫果冲剂对 SOD 活性的影响[J]. 老年学杂志,1989,9(6): 353.
[4] 陈宏,张振书. 姜黄的药理作用研究概况[J]. 国外医学中医中药分册,1996,18(6): 3-7.
[5] 肖小河,苏中武,乔传卓. 姜黄属药用植物研究进展[J]. 中草药,1997,28(2): 114-118.

[J]. 环境与健康杂志,2001,18(4): 227-230.
[3] 黄晓沐,王国钦. 巢湖源水和饮用水的诱变性研究[J]. 环境与健康杂志,1994,11(1): 6-9.
[4] 鲁文清,越飞,陈秀娜,等. 氯化饮水中有机提取物对大鼠和人肝肿瘤细胞(HepG2)的遗传毒性及脂质过氧化作用[J]. 卫生研究,1999,28(6): 326-328.
[5] 孙建英,杜雪飞,贾力敏,等. 不同消毒方法对自来水中有机浓集物致突变性影响. 环境与健康杂志,2001,18(3): 160-161.
[6] 唐小江. 用鱼的红细胞微核试验评价三氟氯氰聚酯的遗传毒性[J]. 职业医学译丛,2000,1: 8-10.
[7] 王玉鹏. 微核试验方法及在环境监测中应用的发展趋势[J]. 环境与健康杂志,1999,16(6): 378-379.
[8] 吴静. 外来化合物常规毒理学检测的新终点及新方法[J]. 国外医学卫生学分册,2000,27(4): 232-234.
[9] 张遵真,田怀军,衡正昌,等. 水中有机提取物对 V79 细胞 DNA 损伤的研究[J]. 环境与健康杂志,1999,16(1): 10-12.