

# 复方五味子素B及其成分体外抑制胃癌细胞的增殖

刘晓霓, 张承玉, 李月珍, 金秀东, 郑学芝, 李丽

## ■背景资料

实现中药现代化是中药产业发展的唯一出路, 将中药有效成分合理组方可能是开发发现代化复方中药的有效方法和途径之一。胃癌的发病率和死亡率居恶性肿瘤前位, 开发抗胃癌药物具有重要的社会意义。

刘晓霓, 张承玉, 李月珍, 金秀东, 郑学芝, 李丽, 牡丹江医学院生理教研室 黑龙江省牡丹江市 157011  
黑龙江省自然科学基金资助项目, No. TD2005-01  
黑龙江省卫生厅课题资助项目, No. 2006-391  
通讯作者: 刘晓霓, 157011, 黑龙江省牡丹江市, 牡丹江医学院生理教研室. liuxiaoni888@yahoo.com.cn  
电话: 0453-6582156-3384  
收稿日期: 2007-03-09 修回日期: 2007-08-06

## Inhibitory effects of the components of Schisandrin compound on gastric cancer cells *in vitro*

Xiao-Ni Liu, Cheng-Yu Zhang, Yue-Zhen Li, Xiu-Dong Jin, Xue-Zhi Zheng, Li Li

Xiao-Ni Liu, Cheng-Yu Zhang, Yue-Zhen Li, Xiu-Dong Jin, Xue-Zhi Zheng, Li Li, Department of Physiology, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, No. TD2005-01; Heilongjiang Health Department Research Fund, No. 2006-391

Correspondence to: Xiao-Ni Liu, Department of Physiology, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang Province, China. liuxiaoni888@yahoo.com.cn  
Received: 2007-03-09 Revised: 2007-08-06

## Abstract

**AIM:** To screen the constituent parts of Schisandrin compound, and to ascertain the best composition by comparing the inhibitory effects of Schisandrin compound and its ingredients on gastric cancer cells *in vitro*.

**METHODS:** An orthogonal design was used to screen for the best composition of Schisandrin compound. MTT assay was used to examine the inhibitory effects of Schisandrin compound and its ingredients on gastric cancer cells. Data from 10 groups were analyzed: normal control (medium), negative control (2 g/L DMSO), positive control (50 mg/L 5-fluorouracil), low concentration Schisandrin (50 mg/L), high concentration Schisandrin (100 mg/L), low concentration aloe emodin (50 mg/L), high concentration aloe emodin (100 mg/L), low concentration *Astragalus polysaccharides* (50 mg/L), high concentration *Astragalus polysaccharides* (200 mg/L) and

Schisandrin compound.

**RESULTS:** The best combinations of Schisandrin, aloe emodin and *Astragalus polysaccharides* were 100 mg/L, 50 mg/L and 50 mg/L, respectively. Compared with the negative control group, the absorbance of low concentration Schisandrin, high concentration Schisandrin, low concentration aloe emodin, high concentration aloe emodin and Schisandrin compound at 490 nm wavelength was substantially decreased ( $0.296 \pm 0.011$ ,  $0.260 \pm 0.012$ ,  $0.376 \pm 0.017$ ,  $0.334 \pm 0.013$ ,  $0.162 \pm 0.007$  vs  $0.427 \pm 0.018$ ,  $P < 0.05$ ), whereas the inhibitory rate of low concentration Schisandrin (26.26%  $\pm$  4.65%), high concentration Schisandrin (39.11%  $\pm$  5.13%), high concentration aloe emodin (21.78%  $\pm$  3.67%) and Schisandrin compound (52.06%  $\pm$  9.87%) clearly increased.

**CONCLUSION:** Creating effective compounds of traditional Chinese medicines by enhancing the effect of a particularly effective component may be one way to exploit modern traditional Chinese medicinal compounds.

**Key Words:** Schisandrin; Aloe emodin; *Astragalus polysaccharides*; MTT assay; Gastric Cancer

Liu XN, Zhang CY, Li YZ, Jin XD, Zheng XZ, Li L. Inhibitory effects of the components of Schisandrin compound on gastric cancer cells *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(23): 2526-2529

## 摘要

**目的:** 筛选复方五味子素组方最佳配比, 比较复方五味子素B及其成分对胃癌细胞的增殖抑制作用。

**方法:** 采用 $L_4(2^3)$ 正交设计的方法筛选药物的最佳配比。用MTT的方法观察组方及其成分对胃癌细胞的增殖抑制作用。空白对照组加培养液; 阴性对照和阳性对照组分别加DMSO和5-氟尿嘧啶(5-FU)。

**结果:** 高浓度五味子乙素(100 mg/L)、低浓度芦荟大黄素(50 mg/L)、低浓度黄芪多糖(50 mg/L)组方为复方五味子素B的药物最佳配

比. 同阴性对照组( $0.427 \pm 0.018$ )相比, 五味子乙素低浓度( $0.296 \pm 0.011$ )和高浓度组( $0.260 \pm 0.012$ )、芦荟大黄素低浓度( $0.376 \pm 0.017$ )和高浓度组( $0.334 \pm 0.013$ ), 复方五味素B组( $0.162 \pm 0.007$ )在波长490 nm处的吸光度A值均显著性降低( $P < 0.01$ ); 增殖抑制率结果显示, 五味子乙素低浓度( $26.26\% \pm 4.65\%$ )和高浓度组( $39.11\% \pm 5.13\%$ ), 芦荟大黄素高浓度组( $21.78\% \pm 3.67\%$ ), 复方五味素B组( $52.06\% \pm 9.87\%$ )抑制率均明显增高。

**结论:** 合理的中药有效成分组方可能有效提高单纯中药有效成分的作用, 将中药有效成分合理组方可能是开发现代化复方中药的有效方法和途径之一。

**关键词:** 五味子乙素; 芦荟大黄素; 黄芪多糖; MTT法; 胃癌

刘晓霞, 张承玉, 李月珍, 金秀东, 郑学芝, 李丽. 复方五味子素B及其成分体外抑制胃癌细胞的增殖. 世界华人消化杂志 2007;15(23):2526-2529  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2526.asp>

## 0 引言

根据中医基础理论和中药有效成分的药理作用, 将中药的有效成分合理组方是开发现代化复方中药的有效途径之一<sup>[1]</sup>. 研究表明, 五味子乙素具有抗肿瘤的作用, 尤其是在治疗多药物耐药(MDR)肿瘤方面具有一定的应用前景<sup>[2-3]</sup>. 为了能够进一步提高五味子乙素的抗肿瘤药效, 本研究根据五味子、芦荟和黄芪3种中药的药理作用, 将3种中药的有效成分五味子乙素、芦荟大黄素和黄芪多糖合理组成新的有效成分组方-复方五味子素B, 通过观察组方对离体胃癌细胞株增殖抑制作用, 筛选3种成分组方的最佳配比, 并比较组方与单味有效成分对胃癌细胞的增殖抑制作用, 进而为重组现代化有效中药复方提供可能的实验理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 五味子乙素、芦荟大黄素(中国药品生物制品检定所); 黄芪多糖(惠州东方植物保健中心); MTT、胰蛋白酶、胎牛血清、DMSO(Sigma公司)、RPMI1640(Gibco公司); 人胃癌细胞株SGC-7901购自上海生命科学院细胞化学与细胞生物研究所; 培养液为含100 mL/L小牛血清、青霉素 $10^5$  U/L、链霉素 $10^5$  U/L的RPMI 1640; 细胞株在37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培

养, 每1-2天更换培养液1次。

### 1.2 方法

**1.2.1 正交设计方法筛选药物最佳配比** 采用L<sub>4</sub>(2<sup>3</sup>)正交设计表<sup>[4]</sup>, 即三因素(五味子乙素、芦荟大黄素、黄芪多糖), 二水平(高浓度100 mg/L, 低浓度50 mg/L), 进行三成分最佳配比筛选. L<sub>4</sub>(2<sup>3</sup>)正交设计表分组见表1。

**1.2.2 MTT法测定细胞存活率** 空白对照组加培养液; 阴性对照组加DMSO(终浓度2 g/L); 阳性对照组加5-氟尿嘧啶(5-FU)(终浓度50 mg/L); 五味子乙素低浓度组(终浓度50 mg/L); 五味子素高浓度组(终浓度100 mg/L); 芦荟大黄素低浓度组(终浓度50 mg/L); 芦荟大黄素高浓度组(终浓度100 mg/L); 黄芪多糖低浓度组(终浓度50 mg/L); 黄芪多糖高浓度组(终浓度200 mg/L). 每组设6个复孔, 重复实验3次. 选择对数生长期胃癌细胞, 用2.5 g/L胰蛋白酶消化1-2 min后, 磷酸缓冲液洗3次, 调整细胞数为 $5 \times 10^8$ 个/L接种于96孔培养板, 每孔100 μL, 24 h后更换培养液加药, 分组见上, 每组6个复孔, 于24 h后, 每孔分别加入5 g/L的MTT 20 μL, 37℃孵育4 h, 弃上清, 加入150 μL的DMSO, 在平板摇床微振荡10 min后, 用酶标仪在波长490 nm处测每孔吸光度(A), 根据A值判定药物对细胞增殖的影响. 抑制率(IR) =  $[1 - (\text{药物组平均吸光度值} / \text{空白平均对照组吸光度值})] \times 100\%$ 。

## 2 结果

**2.1 正交设计方法筛选药物最佳配比实验结果** 五味子乙素的1(高浓度)水平之和为263.72, 2(低浓度)水平之和为251.72; 芦荟大黄素的1(高浓度)水平之和为254.64, 2(低浓度)水平之和为260.80; 黄芪多糖的1(高浓度)水平之和为256.68, 2(低浓度)水平之和为258.76. 可以看出五味子乙素1, 2水平之和差值最大, 说明五味子乙素对实验结果影响最大, 且高浓度好; 其次为芦荟大黄素, 低浓度好; 影响最小的为黄芪多糖, 低浓度好. 所以通过正交实验设计, 我们以高五味子乙素(100 mg/L)、低芦荟大黄素(50 mg/L)、低黄芪多糖(50 mg/L)的组方为最佳配比-复方五味子素B(表1)。

**2.2 复方五味子素B及其成分体外抗胃癌细胞增殖作用研究结果** 与阴性对照组相比, 五味子乙素低、高浓度组, 芦荟大黄素低、高浓度组和复方五味素B组在波长490 nm处的吸光度A值均显著性降低, 而黄芪多糖低、高浓度组的吸光

### ■ 研发前沿

五味子乙素对某些肿瘤细胞具有一定的细胞毒性, 可有效逆转肿瘤的多药耐药性, 五味子乙素作用于P-糖蛋白, 可完全抑制P-糖蛋白的功能, 因此具有临床应用意义. 五味子乙素可与其他药物配伍进一步提高逆转效果, 因此, 采用化学修饰或与中药有效成分联合应用增强其抗肿瘤作用将是五味子乙素的研究热点。

## ■应用要点

五味子乙素可有效逆转肿瘤的多药耐药性,所以五味子乙素具有很好的临床肿瘤化疗的应用前景,特别是作为肿瘤细胞多药耐药性逆转剂药物的前景。

表 1  $L_4(2^3)$ 正交设计表药物最佳配比筛选

分组	实验组合安排			实验次数及结果(IR%)			
	五味子乙素	芦荟大黄素	黄芪多糖	1	2	3	合计
1	1(高)	1(高)	1(高)	42.12	44.23	43.45	129.80
2	1(高)	2(低)	2(低)	45.24	45.61	43.07	133.92
3	2(低)	1(高)	2(低)	40.32	41.16	43.36	124.84
4	2(低)	2(低)	1(高)	43.44	43.29	40.15	126.88
1水平和( $Z_1$ )	263.72	254.64	256.68	171.12	174.29	170.03	515.44
2水平和( $Z_2$ )	251.72	260.80	258.76				
差值( $Z_1-Z_2$ )	12.00	-6.16	-2.08				

度降低不明显;增殖抑制率结果显示,五味子乙素低、高浓度组,芦荟大黄素高浓度组和复方五味素B组抑制率明显增高,其中复方五味子素B的抑制作用最为明显(表2)。

## 3 讨论

五味子乙素(Schisandrin B)是五味子中重要的木脂素类有效成分。研究表明,体外五味子乙素能明显抑制小鼠腹水型肝癌、小鼠 $S_{180}$ -V癌细胞和人胚肺成纤维细胞的DNA合成<sup>[5]</sup>,能抑制人肝癌SMMC-7721细胞的增殖并诱导其凋亡<sup>[6]</sup>,可以增强阿霉素诱导人肝癌SMMC-7721细胞和人乳腺癌细胞MCF-7凋亡的作用<sup>[7]</sup>。本研究结果也显示,50和100 mg/L五味子乙素对胃癌细胞株SGC-7901的增殖均有明显的抑制作用。大黄的有效成分芦荟大黄素(aloeemodin)具有抗菌消炎功效,体外可抑制金黄色葡萄球菌、链球菌、白喉杆菌、枯草杆菌、大肠杆菌等多种细菌,对幽门螺杆菌也有抑制生长作用。此外,动物活体实验证明芦荟大黄素能延长P388白血病小鼠的存活期<sup>[8]</sup>,诱导早幼粒白血病细胞株HL-60,人肝癌细胞系BEL-7402, HCC, Mah/avu, PLC/PRF/5和HepG2及Hep3B等多种肿瘤细胞凋亡<sup>[9-10]</sup>,能调节胶质瘤细胞PKC同工酶、抑制其增殖进而诱导其凋亡的作用<sup>[11]</sup>。我们以往的实验显示芦荟大黄素在12-48 h内能明显抑制人胃癌SGC-7901细胞的增殖<sup>[12]</sup>。本研究结果发现,100 mg/L芦荟大黄素能明显抑制胃癌细胞株SGC-7901的增殖。黄芪多糖(astragalus polysaccharides, APS)是黄芪的主要活性成分之一。黄芪具有多种免疫调节的作用<sup>[13]</sup>。在肿瘤防治方面具有重要的作用。大量研究显示,黄芪多糖不能直接杀死肿瘤细胞,而是能刺激淋巴细胞增殖,提高巨噬细胞吞噬功能,增强NK细胞活力,通过增强宿主免疫反应发挥抗肿瘤作

表 2 复方五味子素B及其成分体外抗胃癌细胞增殖作用研究( $n=6$ )

分组	A	IR(%)
空白对照	0.423 ± 0.021	
阴性对照	0.427 ± 0.018	
阳性对照	0.199 ± 0.008 <sup>b</sup>	53.40 ± 7.69 <sup>b</sup>
五味子乙素		
50 mg/L	0.296 ± 0.011 <sup>b</sup>	26.26 ± 4.65 <sup>ad</sup>
100 mg/L	0.260 ± 0.012 <sup>b</sup>	39.11 ± 5.13 <sup>bc</sup>
芦荟大黄素		
50 mg/L	0.376 ± 0.017 <sup>a</sup>	11.94 ± 1.86
100 mg/L	0.334 ± 0.013 <sup>a</sup>	21.78 ± 3.67 <sup>ad</sup>
黄芪多糖		
50 mg/L	0.398 ± 0.019	6.79 ± 1.23 <sup>d</sup>
200 mg/L	0.411 ± 0.020	3.48 ± 0.65 <sup>d</sup>
复方五味子素B	0.162 ± 0.007 <sup>b</sup>	52.06 ± 9.87 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 阴性对照; <sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 复方五味子素B。

用<sup>[14]</sup>。但也有体内实验结果表明, im APS对小鼠移植性肿瘤S180和肝癌(Heps)有明显的抑制作用<sup>[15]</sup>。我们体外实验结果显示, APS对胃癌细胞株SGC-7901的增殖没有明显影响。

为了提高单味中药成分的抑癌作用,我们将五味子乙素、芦荟大黄素和黄芪多糖合理组方,并通过正交实验设计的方法筛选出了3种成分的抑制胃癌细胞增殖的最佳配比-复方五味子素B。同时我们还比较了复方五味子素B及其组成成分对胃癌细胞抑制的作用,结果表明复方五味子素B的抑癌作用比单纯使用五味子乙素、芦荟大黄素和黄芪多糖的抑癌作用明显。3种成分抑癌作用之间相互关系以及复方五味子素B抑癌作用机制将在后续研究中进行。

实现中药现代化是中药产业发展走出“瓶颈”的唯一出路。本实验研究结果不仅为重组

## ■名词解释

五味子乙素:是木兰科植物五味子中重要的木脂素类有效成分,联苯环辛烯类物质的衍生物,具有较强效的抗自由基作用。近年来发现五味子乙素具有抗肿瘤的功效,尤其可有效逆转肿瘤的多药耐药性。

抗胃癌高效中药复方提供了实验依据, 而且提示将中药有效成分合理组方可能是开发现代化复方中药的有效方法和途径之一。

#### 4 参考文献

- 1 王停, 张建军, 张德芹, 高学敏, 荆鲁. 中药新药研发思路与方法的探索. 中国中药杂志 2004; 29: 387-388
- 2 Li L, Wang T, Xu ZL, Yu Y, Chen W, Chen F. Effects of schisandrin B on reversing multidrug resistance in human breast cancer cells transfected with mdrl gene. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005; 85: 1633-1637
- 3 Sun M, Xu X, Lu Q, Pan Q, Hu X. Schisandrin B: a dual inhibitor of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein 1. *Cancer Lett* 2007; 246: 300-307
- 4 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 199
- 5 刘力生, 王勤, 郑荣梁, 孙晓菲, 张龙弟. 五味子乙素对小鼠免疫功能、腹水型肝癌细胞DNA合成和存活率的作用. 兰州大学学报(自然科学版) 1990; 26: 55-59
- 6 Wu YF, Cao MF, Gao YP, Chen F, Wang T, Zumbika EP, Qian KX. Down-modulation of heat shock protein 70 and up-modulation of Caspase-3 during schisandrin B-induced apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2944-2948
- 7 Li L, Lu Q, Shen Y, Hu X. Schisandrin B enhances doxorubicin-induced apoptosis of cancer cells but not normal cells. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 584-595
- 8 李洋, 陆燕. 芦荟药用的最新研究进展. 中国药物应用与监测 2005; 2: 27-29
- 9 Jing X, Ueki N, Cheng J, Imanishi H, Hada T. Induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines by emodin. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 874-882
- 10 Kuo PL, Lin TC, Lin CC. The antiproliferative activity of aloe-emodin is through p53-dependent and p21-dependent apoptotic pathway in human hepatoma cell lines. *Life Sci* 2002; 71: 1879-1892
- 11 Acevedo-Duncan M, Russell C, Patel S, Patel R. Aloe-emodin modulates PKC isozymes, inhibits proliferation, and induces apoptosis in U-373MG glioma cells. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 1775-1784
- 12 富泽龙, 刘晓霓, 张承玉, 金秀东, 郑学芝. 芦荟大黄素对人胃癌细胞株SGC-7901的增殖抑制作用. 牡丹江医学院学报 2006; 27: 8-11
- 13 Shao P, Zhao LH, Zhi-Chen, Pan JP. Regulation on maturation and function of dendritic cells by Astragalus mongholicus polysaccharides. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 1161-1166
- 14 张小梅. 黄芪多糖的免疫调节作用及抗肿瘤作用研究进展. 大连大学学报 2003; 24: 101-104
- 15 周淑英, 卢振初, 王侑先, 元寿海, 陈惠英, 刘文虎. 黄芪多糖(APS)抗肿瘤作用的实验研究. 药物生物技术 1995; 2: 22-25

#### ■同行评价

本文研究了复方五味子素B及其成分对胃癌细胞增殖的影响, 研究技术路线合理可靠, 设计严谨, 数据通过统计学处理, 科学性较强, 有一定的参考价值。

编辑 何燕 电编 张敏

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 欢迎订阅 2008 年《世界华人消化杂志》

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用。

《世界华人消化杂志》2008年由北京报刊发行局发行, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 邮发代号82-262, 出版日期每月8, 18, 28日, 月价72.00, 年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023, 北京市2345信箱。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。