

# 蒿甲醚与补铁剂合用对小鼠结直肠癌抑瘤效果的实验研究

● 吴永贵<sup>2</sup> 伍治平<sup>3</sup> 高诚伟<sup>4</sup> 朱启顺<sup>1</sup> 王熙才<sup>3</sup> 陈 艳<sup>3</sup>

**摘要** 目的:探讨蒿甲醚(Artemether)与不同剂量硫酸亚铁补铁剂合用对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤效果。方法:BALB/c小鼠皮下接种CT-26结直肠癌细胞(2106个/mL)72只小鼠,雌、雄各半;随机分为2个大实验组[蒿甲醚治疗剂量(50mg/kg)+不同剂量硫酸亚铁组;蒿甲醚维持剂量(33.3mg/kg)+不同剂量硫酸亚铁组],每个大组再随机分为4组,每组8只,分别为I组:蒿甲醚50mg/kg组、II组:蒿甲醚50mg/kg+3mg/kg硫酸亚铁组、III组:蒿甲醚50mg/kg+1.5mg/kg硫酸亚铁组、IV组:蒿甲醚50mg/kg+0.75mg/kg硫酸亚铁组;V组:蒿甲醚33.3mg/kg组、VI组:蒿甲醚33.3mg/kg+3mg/kg硫酸亚铁组、VII组:蒿甲醚33.3mg/kg+1.5mg/kg硫酸亚铁组、VIII组:蒿甲醚33.3mg/kg+0.75mg/kg硫酸亚铁组;IX组:空白对照组为等体积生理盐水。结果:各实验组对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌具有显著的抑制作用,I、II、III、IV组对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤率分别为:52.0%、56.3%、53.5%、51.2%;V、VI、VII、VIII组对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤率分别为:41.8%、44.0%、43.6%、42.2%,各实验组间比较,差异无显著性( $P>0.05$ ),与IX组比较,有显著性差异(分别 $P<0.01$ )。结论:在一定剂量范围内,口服蒿甲醚(Artemether)对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌具有显著的抑瘤效果,与不同剂量硫酸亚铁补铁剂合用,能明显增强蒿甲醚的抑瘤作用。

**关键词** 蒿甲醚 BALB/c小鼠 CT-26 结直肠癌 硫酸亚铁 抑瘤作用

蒿甲醚(Artemether)为青蒿素的脂溶性衍生物,对恶性疟和脑型疟具有显著疗效。近年的研究发现,青蒿素及其衍生物有明确的抗肿瘤作用,可选择性地杀伤肿瘤细胞而对正常组织细胞的毒性较小,与传统化疗药物不存在交叉耐药<sup>[1]</sup>。体外的研究表明,青蒿素及其衍生物与补铁剂合用,能显著增强对肿瘤细胞的杀伤作用<sup>[2]</sup>;我们的研究表明<sup>[3]</sup>,在一定剂量范围内,口服蒿甲醚对小鼠CT-26结直肠癌有明显的抑制作用,蒿甲醚与铁剂合用具有一定的协同作用,使抑瘤率增加。但迄今有关蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁补铁剂合用对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤效果的实验研究尚未见报道,为观察其与不同剂

量硫酸亚铁补铁剂合用对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤效果,我们进行了蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁补铁剂合用对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤效果的实验研究,为进一步的药物开发和临床应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料 药物:**蒿甲醚片(昆明制药集团股份有限公司,批号:05106702);复方硫酸亚铁颗粒(河南福森药业有限公司,批号:061103)。

**实验动物:**BALB/c小鼠,6~8周龄,体重17~20g(昆明医学院实验动物科,批准文号:SCXK滇P0005-0008)。

**瘤株:**BALB/c小鼠CT-26结直肠癌细胞株,购自美国ATCC公司,保存于液氮。

## 1.2 方法

• 作者单位 1. 云南大学生命科学院(650091);2. 云南中医学院(650200);3. 昆明医学院第三附属医院肿瘤研究所(650118);4. 云南大学化学工程学院(650091)

1.2.1 小鼠模型的建立 复苏结肠癌细胞株 CT-26, 用含 10% 标准小牛血清(中国科学院生物工程研究所 灏洋生物)的 RPMI 1640(GIBCO)全培养基常规传代培养。将对数生长期的细胞调整为适宜浓度 2106 个/ml,接种于小鼠右前肢皮下,每只小鼠接种 0.2ml。

1.2.2 动物分组及给药 将 72 只结肠癌皮下接种小鼠随机分成 2 个大实验组[蒿甲醚治疗剂量(50mg/kg) + 不同剂量硫酸亚铁组;蒿甲醚维持剂量(33.3mg/kg) + 不同剂量硫酸亚铁组],每个大组再随机分为 4 组,每组 8 只,分别为 I 组:蒿甲醚 50mg/kg 组、II 组:蒿甲醚 50mg/kg + 3mg/kg 硫酸亚铁组、III 组:蒿甲醚 50mg/kg + 1.5mg/kg 硫酸亚铁组、IV 组:蒿甲醚 50mg/kg + 0.75mg/kg 硫酸亚铁组;V 组:蒿甲醚 33.3mg/kg 组、VI 组:蒿甲醚 33.3mg/kg + 3mg/kg 硫酸亚铁组、VII 组:蒿甲醚 33.3mg/kg + 1.5mg/kg 硫酸亚铁组、VIII 组:蒿甲醚 33.3mg/kg + 0.75mg/kg 硫酸亚铁组;IX 组:空白对照组为等体积生理盐水。采用灌胃给药法持续给药 8 天(见表 1),停药 24 小时处死动物。剥离肿瘤,称重,计算抑瘤率。肿瘤组织做病理。抑瘤率计算公式为:抑瘤率 = [(1 - 给药组平均瘤重)/对照组平均瘤重]100%。

1.2.3 数据收集计算及统计 用 Microsoft Excel 计算各组的平均瘤重,体重,用 SPSS11.0 统计软件对各组瘤重进行单因素方差分析,判断差异有无显著性, $P < 0.05$ ,为差异有显著性。

2 结果

2.1 治疗剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤率 口服治疗剂

量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤率分别为:52.0%、56.3%、53.5%、51.2%,见表 2。

2.2 维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤率 口服维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤率分别为:41.8%、44.0%、43.6%、42.2%,见表 2。

2.3 治疗剂量蒿甲醚和维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤疗效比较 治疗剂量蒿甲醚和维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤疗效比较,各实验组间差异无显著性( $P > 0.05$ );各实验组与对照组比较,有显著性差异( $P < 0.01$ )见表 2。

表 1 结肠癌细胞株 CT-26 移植小鼠的给药情况

分组	剂量 mg/(kg · d)	小鼠数 (只)	动物体重 (给药前)	给药 途径	时间 (天)
I	50.0	8	17.5 ± 2.0	灌胃	8
II	50.0 + 3.0	8	16.9 ± 2.2	灌胃	8
III	50.0 + 1.5	8	17.6 ± 2.6	灌胃	8
IV	50.0 + 0.75	8	16.9 ± 1.4	灌胃	8
V	33.3	8	17.5 ± 1.3	灌胃	8
VI	33.3 + 3.0	8	17.8 ± 2.2	灌胃	8
VII	33.3 + 1.5	8	17.3 ± 2.2	灌胃	8
VIII	33.3 + 0.75	8	16.9 ± 2.3	灌胃	8
IX		8	17.8 ± 1.2	灌胃	8

表 2 蒿甲醚对不同病期小鼠结直肠癌的抑瘤作用( $\bar{x} \pm s$ )

分组	剂量 mg/(kg · d)	小鼠数 (只)	平均瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	$P^{\Delta}$ 值	分组	剂量 mg/(kg · d)	小鼠数 (只)	平均瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	$P^*$ 值
I	50.0	8	0.49 ± 0.31	52.0	<0.01	V	33.3	8	0.60 ± 0.18	41.8	<0.01 >0.05
II	50.0 + 3.0	8	0.41 ± 0.03	56.3	<0.01	VI	33.3 + 3.0	8	0.57 ± 0.02	44.0	<0.01 >0.05
III	50.0 + 1.5	8	0.47 ± 0.09	53.5	<0.01	VII	33.3 + 1.5	8	0.57 ± 0.98	43.6	<0.01 >0.05
IV	50.0 + 0.75	8	0.49 ± 0.65	51.2	<0.01	VIII	33.3 + 0.75	8	0.59 ± 0.53	42.2	<0.01 >0.05
						IX	8 1.01 ± 0.60				

注:▲ $P$  值为各实验组与空白对照组间比较;\* $P$  值为各实验组间比较。

### 3 讨论

目前认为,青蒿素及其衍生物抗癌效应的始发机制,与肿瘤细胞铁代谢旺盛的特点有关<sup>[4]</sup>。所有增殖态的细胞都需要摄入铁,铁摄入越多,其增殖就愈快。因此,肿瘤细胞比正常细胞吸收更多的铁离子,在有转铁蛋白存在或给予硫酸亚铁的情况下,青蒿素分子内的过氧化基团与亚铁离子起反应产生自由基或亲电子中间产物,攻击细胞膜或细胞内其他膜性结构,或直接氧化损伤蛋白质分子或生命大分子(这些蛋白质对肿瘤细胞的过度增殖起关键作用),导致细胞死亡,这样可选择性杀伤癌细胞而对正常细胞损伤较小<sup>[5,6]</sup>。

本项研究结果显示:口服治疗剂量蒿甲醚对小鼠 CT-26 结直肠癌有明显的抑制作用,与不同剂量硫酸亚铁合用,能显著增强蒿甲醚的抑瘤作用。

本项研究结果还显示:口服维持剂量蒿甲醚对小鼠 CT-26 结直肠癌亦有明显的抑制作用,与不同剂量硫酸亚铁合用,能增强蒿甲醚的抑瘤作用,但维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤效果与治疗剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用的效果比较,没有统计学意义,抑瘤效果亦没有治疗剂量明显。

本项研究结果表明:治疗剂量蒿甲醚和维持剂量蒿甲醚与不同剂量硫酸亚铁合用对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤疗效比较,各实验组间差异无显著性;各实验组与对照组比较,有显著性差异。我们认为蒿甲醚在体内经转化代谢所产生的氧自由基可能是它的主要抗癌功效所在。口服药物往往作用时间长,经消化道作用吸收分解,再经肝脏转化后,产

生出更多的活性自由基和相关代谢产物及其相应的酶类而呈现对结直肠癌细胞生长的抑制作用。蒿甲醚与铁剂合用具有协同抑瘤作用,增加抑瘤率,其增加抑瘤率的机理与上述的杀瘤机制有关。已知铁为机体所必需的微量元素,缺铁可能是产生或加强人体免疫缺损状态的一个因素,严重缺铁可促使癌的发生。因此,肿瘤细胞将比正常细胞吸收更多的铁离子,致使癌细胞更易受到青蒿素及其衍生物类药物的攻击。

综上所述,在一定剂量范围内,口服蒿甲醚(Artemether)对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌具有显著的抑瘤效果,与不同剂量硫酸亚铁补铁剂合用,能明显增强蒿甲醚的抑瘤作用。

### 参考文献

- [1] Effert H, Dunstan H, Sauerbrey A, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer [J]. *Int J Oncol*, 2001, 18(4):767.
- [2] Mooce JC, Lai H, Li JR, et al. Oral administration of dihydroartemisinin and ferrousulfate retarded implanted fibrosarcoma growth in the therat [J]. *Cancer Letter*, 1995, 98 (7):83-87.
- [3] 伍治平,高城伟,吴永贵等.蒿甲醚对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌抑瘤作用的实验研究[J]. *中国肿瘤*, 2007, 16(5):356-357.
- [4] 董海鹰,宋维华.青蒿素对体外培养的 Hela 细胞生长的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2002, 36(6):423-427.
- [5] Lai H, Singh NP. Oral artemisinin prevents and delays the development of 7, 12 - dimethylbenz
- [a] anthracene (DMBA) - induced breast cancer in the rat [J]. *Cancer Lett*, 2006, 231: 43-48.
- [6] Singh NP, Lai H. Synergistic cytotoxicity of artemisinin and sodium butyrate on human cancer cells [J]. *Anticancer Res*. 2005, 25 (6B): 4325-4331.

### 读书境界

## 学 医 说

夫欲学医,必先读无方之书,则莫善于巢氏《病源》焉。《病源》引申经意,别类分门,比《灵》、《素》为易知,亦较《灵》、《素》而易入。习之既久,遂乃上探《灵》、《素》,兼读《难经》、《甲乙经》二书以疏之,明乎经络脏腑之源,达于望闻问切之故,而于向者之所得,益觉融会贯通,而明体者渐渐达用矣。然后读有方之书,《玉函》、《伤寒》、《金匱》是也。读三书尤必兼资《脉经》,以稽其异同,披本草(须用《证类本草》)以观其方法,盖临病之舟楫在焉。然《伤寒》之理,未许其遽通也,又必浸淫乎《肘后》、《千金》及《翼》、《外台》四书,斟酌乎《本事方》、《百证歌》、《九十论》、《明理论》等说,参互考订,以徐俟其悟,殆另有一境矣。大抵医者之于伤寒,其致力每在杂病未究之先,其得心转在杂病悉通之后,不亲历者不知也。溯流穷源,其事止此;神而明之,存乎其人。至于《圣济》、《局方》以下,则学成后读之,亦足扩聪明而炼识力,不必概屏之以自隘也。

(清·莫枚士《研经言》)