

# 骆驼蓬总碱药理作用的研究<sup>①</sup>

潘启超<sup>②</sup> 杨小平 李春杰 胡海棠 利国威 曹俊 许招懂 谢冰芬 潘伟光

(中山医科大学肿瘤研究所; 广州, 510060)

**摘要** 从骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)种子中提取骆驼蓬总碱(total alkaloid of harmala, TAH)。实验证明TAH对6种体外培养人癌细胞有强力细胞毒作用,对3种杂种鼠移植性肿瘤和3种人癌裸鼠移植瘤有明显抑瘤作用,与顺铂或阿霉素有协同作用。用电子显微镜观察TAH对肿瘤细胞超微结构影响;用显微荧光光度法分析对细胞周期的影响;用同位素掺入法测定对肿瘤细胞大分子合成的影响;用自建高效液相法进行骆驼蓬碱代谢动力学研究;毒性研究表明长期大剂量TAH可引起可逆性毒性。

**主题词** 哈马灵/药理学; 哈尔明/药理学; 抗肿瘤药/药理学

**中图分类号** R 979.1; 914.2

骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)系莨菪科骆驼蓬属多年生草本植物,广布于我国中原和西北地区。文献报道,骆驼蓬种籽中含有多种生物碱。主要为骆驼蓬碱(harmaline)、去氢骆驼蓬碱(harmine)、哈梅醇(Harmalol)和哈尔明(harman)。以往的药理研究,主要是在心血管系统、神经肌肉系统等,未见对抗癌作用的系统研究报道。我室与新疆医学院附属第二医院协作,从1980年开始,对骆驼蓬制剂抗肿瘤作用进行了较系统的研究,概述如下。

## 1 骆驼蓬抗肿瘤成份的提取

骆驼蓬总碱是混合生物碱。将骆驼蓬种籽粉碎后,采用溶剂提取及离子交换法提取总碱,并分离得两个单体为骆驼蓬碱和去氢骆驼蓬碱,通过熔点、薄层、质谱、红外线、紫外线、核磁共振等检测证实<sup>[1]</sup>。将骆驼蓬种籽粉碎后,采用溶剂提取及柱层析,可提取另一混合生物碱5L<sup>[2]</sup>,在其基础上继续抽提得到一吲哚生物碱5n<sup>[3]</sup>。

## 2 体外及体内抗肿瘤作用的研究<sup>[2,3]</sup>

潘启超等在新疆研究的基础上,首次证实骆驼蓬总碱对体外生长的肿瘤细胞毒性作用及体内抗癌活性。

### 2.1 混合生物碱5L及5n的研究

2.1.1 体外试验 用台盼兰拒染法测出5L对体外培养人宫颈癌细胞(HeLa细胞)在47 mg/L和94 mg/L下对细胞生长抑制率分别为62.9%和75.3%,有显著意义。

2.1.2 体内试验 5L作用于小鼠移植性肿瘤,在3.8~15.0 mg/(kg·d)时,对S-180抑瘤率为27.6%~43.0%,15.0~25.0 mg/(kg·d)作用于网织细胞肉瘤L2,抑瘤率为40.0%~51.3%,统计学上有显著意义。但5L在3.8 mg/(kg·d)或7.5 mg/(kg·d)作用于小鼠肝癌,15 mg/(kg·d)或22.5 mg/(kg·d)作用于艾氏腹水癌(EAC),均无明显抑制作用。

5n,在11.3 mg/(kg·d)剂量下对S-180抑瘤率为47.4%~48.5%;22.5~45.0 mg/(kg·d)剂量下,对肝癌的抑瘤率为54.4%~66.7%,但22.5~45.0 mg/(kg·d)剂量下,对EAC仍无效。

### 2.2 骆驼蓬碱及骆驼蓬总碱的抗癌研究

2.2.1 体外试验 骆驼蓬总碱对体外培养人视网膜母细胞系SO-Rb50细胞极度敏感,IC<sub>50</sub>为1.4 mg/L<sup>[4]</sup>。用噻唑兰(MTT)法测得人肝癌(BEL-7402)、胃癌(MGC-803)、鼻咽癌(CNE2)细胞株体外均有显著性生长抑制作用,药物作用48 h的IC<sub>50</sub>分别为4.8 mg/L、17.9 mg/L、24.3 mg/L<sup>[5]</sup>。对人宫颈癌(HeLa)细胞、乳腺癌MA782'5S细胞株,IC<sub>50</sub>分别为12.3 mg/L和18.3 mg/L<sup>[6]</sup>。

2.2.2 体内试验 用骆驼蓬总碱治疗杂种小鼠移

① 国家自然科学基金资助课题;曾获1993年广东省医药卫生科技进步二等奖;② 第一作者,1930年出生,男,博士,教授

植性肿瘤, 20 ~ 40 mg/(kg·d) 作用于肝癌, 抑制率 28.9% ~ 31.3%; 20 ~ 40 mg/(kg·d) 作用于 S-180, 抑瘤率 22.2% ~ 36.9%; 20 ~ 60 mg/(kg·d) 作用于 L2, 抑瘤率 25.0% ~ 51.2%, 统计学上均有显著意义。

用骆驼蓬碱(Sigma 公司) 45 mg/(kg·d) 作用于 S-180, 3 次平均抑瘤率(43.70 ± 3.6)%; 作用于 L2, 3 次平均抑瘤率(41.7 ± 3.2)%; 作用于肝癌, 3 次平均抑瘤率(50.6 ± 6.6)%, 统计学上均有显著意义。但对 EAC 的生命延长率仅达 11.8%<sup>[7]</sup>。

2.2.3 与已知抗癌药联合使用 用骆驼蓬总碱 40 mg/(kg·d) 和顺铂 0.8 mg/(kg·d) 联合用药, 对小鼠 S-180 4 批实验中单用顺铂的抑瘤率为 62%、32%、29% 和 38%, 单独用骆驼蓬总碱的抑瘤率为 32%、22%、32% 和 20%, 联合用药的抑瘤率则依次增加到 72%、61%、46% 和 49%, 其中 61% 组和 46% 组, 经按金正均公式计算表明有明显协同作用。骆驼蓬总碱 40 mg/(kg·d) 和阿霉素 1.0 mg/(kg·d) 联合使用, 两批实验中抑瘤率分别由单用阿霉素的 27% 和 37% 增加到 64% 和 51%, 未见毒性增加。

2.2.4 裸鼠移植人肿瘤试验 骆驼蓬总碱 60 mg/(kg·d) 对人肝癌(BEL-7402) 抑瘤率为 60%, 人胃癌(MGC-803) 抑瘤率为 48.4%, 人鼻咽癌(CNE2) 抑瘤率为 60%; 骆驼蓬总碱 40 mg/(kg·d) 和顺铂 0.8 mg/(kg·d) 联合用药治疗肝癌(BEL-7402) 抑瘤率由各自的 30.7%、23.0% 升高到联合用药的 54.7%, 有明显增效作用, 统计学上均有显著意义<sup>[5,8]</sup>。

### 3 用电镜观察骆驼蓬总碱对肿瘤细胞超微结构的影响<sup>[6]</sup>

用电镜观察骆驼蓬总碱对体外培养 HeLa 细胞、人肝癌(BEL-7402)、乳腺癌(MA782<sup>+</sup>5S) 细胞、小鼠网织细胞 L2、肝癌和裸鼠异体移植人鼻咽癌(CNE2) 肿瘤细胞超微结构影响, 归纳为 7 点: ①粗面内质网和核周间隙扩大; ②细胞膜、粗面内质网、线粒体膜和核膜局限性中断; ③微绒毛减少; ④胞质充满大小不等的空泡; ⑤染色质凝聚和边集; ⑥核仁分离; ⑦核固缩和核溶解; 提示骆驼蓬总碱损伤肿瘤细胞生物膜结构及 DNA 而起抗癌作用。

### 4 骆驼蓬碱和骆驼蓬总碱对肿瘤细胞

## 中生物大分子合成的影响

#### 4.1 用同位素掺入法测定对肿瘤细胞生物大分子合成的影响

用去氢骆驼蓬碱作用于体外培养 HeLa 细胞, 47 mg/L 和 94 mg/L 的抑制率分别为 59.0% 和 71.7%; 对<sup>3</sup>H-TdR 的掺入抑制率为 58.0% 和 66.5%, 统计学上均有显著意义<sup>[9]</sup>。骆驼蓬总碱作用于体外培养视网膜母细胞瘤 SO-Rb50 细胞, 对<sup>3</sup>H-TdR 掺入抑制, IC<sub>50</sub> 为 5.9 mg/L; 对<sup>3</sup>H-UR 掺入抑制, IC<sub>50</sub> 为 7.5 mg/L; 对<sup>3</sup>H-Teu 掺入抑制, IC<sub>50</sub> 为 8.6 mg/L, 按绝对值相比, 抑制强度顺序为 DNA > RNA > 蛋白质。结果提示骆驼蓬总碱对 DNA 合成的抑制是可逆的, 它对 DNA 模板不产生永久性的损伤, 有可能是通过嵌入 DNA 双链中而起作用。

#### 4.2 用显微荧光光度法分析对细胞周期的影响

用骆驼蓬总碱作用于小鼠腹水型肝癌可使 G<sub>2</sub>M 期积累, G<sub>1</sub>、S 期细胞减少。用秋水仙碱使细胞停止分裂于中期, 则发现骆驼蓬总碱是阻滞 G<sub>2</sub> 期细胞向 M 期转化, 细胞停滞于 G<sub>2</sub> 期, G<sub>2</sub> 期是作用的敏感时期; 对增殖速度慢的细胞, 如 G<sub>0</sub> 期细胞不敏感。具有一定的周期特异性<sup>[10]</sup>。

#### 4.3 骆驼蓬总碱药物代谢动力学的研究

建立了高效液相(HPLC)法测定骆驼蓬总碱血药浓度<sup>[11]</sup>, 发现骆驼蓬总碱在 5 只兔内的 4 只兔符合一室开放模型, 1 只兔符合二室开放模型。在此基础上继续研究<sup>[12]</sup>, 结果相似, 4 只兔符合一室开放模型, 2 只兔符合二室开放模型。用 10 mg/kg 剂量平均消除相半衰期 T<sub>1/2β</sub> = (138.8 ± 60.4) min。给带瘤小鼠连续腹腔用药 8 d (45 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) 在抑制肿瘤的同时, 测定了其血药浓度, 发现连续给药的血峰浓度比单次同剂量给药组略高(分别为 7.6 mg/L, 5.8 mg/L), 表明药物在体内积蓄不多。

## 5 骆驼蓬总碱毒性研究

#### 5.1 急性毒性试验

用骆驼蓬总碱测得小鼠 LD<sub>50</sub> 及其 95% 可信限: 灌胃给药为 289 mg/kg (218.5 ~ 383.3 mg/kg), 静脉给药为 56 mg/kg (48.3 ~ 68.97 mg/kg) 腹腔给药为 144 mg/kg (131.7 ~ 157.9 mg/kg)。观察到毒性表现有颤抖、竖尾、撕咬等神经兴奋现象, 继而抑制而

死亡。尸解肉眼观察无明显变化。

## 5.2 亚急性毒性试验

用SD大鼠灌胃给骆驼蓬总碱表明高剂量[300 mg/(kg·d)共20次,5次/周]骆驼蓬总碱组大鼠,在给药结束时测出尿素氮升高,肾脏有不同程度的病理改变,表现在肾小管(远端)扩张,内有坏死物及脓球,中性多形核细胞充斥,有些扩张的肾小管中有蛋白管型,有些可见肾间质性炎或间质化脓性炎,停药休息4周内,尿氮素降低,但未恢复到正常,肾脏病理改变亦有减轻。心、肝、脾、肺、胃、大肠、小肠、胸腺、卵巢、睾丸、大脑、小脑及骨髓没有明显变化。说明该药毒性的靶器官是肾脏,停药后肾脏病变在一定程度上是可逆的。

## 6 小 结

我们从植化、药效、作用机理、临床前药理、毒理方面进行较系统研究,表明骆驼蓬总碱在体内、体外抗癌实验中有明显抗癌活性,且抗癌谱较广;实验表明没有骨髓抑制的毒副作用。

## 参 考 文 献

1 李春杰,刘得玺,买买提依明,等. 骆驼蓬抗癌化学成分

- 的分离鉴定和药理实验研究(附21例病人疗效观察). 新疆医学院学报, 1987, 10(1):27
- 2 潘启超,杨小平,利国威,等. 骆驼蓬种籽混合生物碱L抗肿瘤作用. 广东医学, 1985, 6(5):40
- 3 潘启超,杨小平,利国威,等. 骆驼蓬种籽一吲哚生物碱的抗癌作用. 癌症, 1985, 4(4):192
- 4 金捷. 骆驼蓬总碱, 氟尿嘧啶对视网膜母细胞瘤细胞系SO-Rb50生物效应. 中山医科大学学报, 1990, 11(4):24
- 5 杨小平,潘启超,李春杰. 骆驼蓬总碱体内、外对人体肝癌和胃癌瘤株的抑制作用. 癌症, 1991, 10(6):463
- 6 曹俊,潘启超. 骆驼蓬总碱对小鼠网织细胞肉瘤L II细胞超微结构的影响. 癌症, 1993, 12(3):214
- 7 许招懂,潘启超. 骆驼蓬碱抗癌作用研究. 癌症, 1989, 8(2):94
- 8 杨小平,潘启超,李春杰. 骆驼蓬总碱对裸鼠移植性肿瘤生长的影响. 北京实验动物科学, 1992, 9(4):54
- 9 杨小平,潘启超,利国威. 去氢骆驼蓬(Harmine)对体外人宫颈癌(HeLa)细胞的作用. 中山医科大学学报, 1986, 7(1):44
- 10 胡海棠,潘启超. 骆驼蓬总碱对小鼠肝癌细胞周期动力学的影响. 癌症, 1993, 12(6):489
- 11 潘启超,陈建兴. 骆驼蓬碱的高效液相层析法及在兔的药物代谢动力学. 癌症, 1990, 9(2):90
- 12 许招懂,潘启超. 高效液相法测定兔和小鼠血中骆驼蓬碱浓度及药代动力学研究. 癌症, 1991, 9(3):92

(1996-08-13 收稿 1997-03-20 修回)

# STUDIES ON THE PHARMACOLOGICAL ACTION OF THE TOTAL ALKALOID OF *PEGANUM HARMALA*

Pan Qichao Yang Xiaoping Li Chunjie Li Guowei  
Hu Haitang Cao Jun Xu Zhaodong Xie Bingfen Pan Weiguang

(Cancer Institute, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510060)

The total alkaloid of Harmala (TAH) was isolated from the seeds of *peganum harmala* L. The antitumor activities of TAH was studied in vitro and in vivo. The TAH was highly cytotoxic to 6 human cancer cell lines. The growth of 3 transplantable tumors in mice and xenograft of 3 human cancers in nude mice was significantly inhibited by TAH. Synergistic antitumor effects were observed when TAH was combined with cisplatin (DDP) or adriamycin. Ultrastructural changes of various tumors after treatment of TAH were studied by electron-microscope. Microfluorometric method was also used to study the effect of TAH on the cell cycle. The effects of TAH on the biosynthesis of DNA, RNA and protein in human cell lines were studied by incorporation of  $^3\text{H-TdR}$ ,  $^3\text{H-UR}$  and  $^3\text{H-leu}$ . The pharmacokinetics of harmaline in rabbits and mice were studied using a HPLC method established by us. The long-term toxicity test showed that use high dose of TAH for long time can produce reversible nephrotoxicity.

**Subject headings** harmaline/pharmacology; harmine/pharmacology; antitumor drug/pharmacology