

三种冬凌草素和毛萼乙素体外对人血管生成的影响

李思维^{1,3},李玛琳^{1*},韩全斌²,杨丽华¹,孙汉董² (1. 昆明医学院云南省天然药物药理重点实验室,昆明 650031; 2. 中国科学院昆明植物研究所,昆明 650204; 3. 湖北省宜昌市第二人民医院,湖北 宜昌 443000)

摘要:目的 研究 4 种二萜化合物(冬凌草甲素、信阳冬凌草甲素、冬凌草乙素、毛萼乙素,分别简称为 SH-A、SX-A、SH-B、ER-B)在体外对血管生成的影响,为发现新的抗肿瘤药物提供线索。方法 采用人脐静脉内皮细胞 ECV304 增殖、迁移试验及小管形成试验研究了 4 种化合物对血管生成的影响。结果 4 种二萜化合物对 ECV304 (人脐静脉内皮细胞系)的增殖、迁移、小管形成具有不同程度的抑制作用, IC_{50} 值分别在 $1.47 \times 10^{-5} \sim 3.76 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (抑制作用 $SX-A > SH-A > SH-B > ER-B$)、 $8.01 \times 10^{-7} \sim 5.41 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (抑制作用 SH-B 最强,而 SH-A、SX-A 和 ER-B 相仿)和 $4.25 \times 10^{-7} \sim 2.80 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内 (抑制作用 $SH-B > SH-A > SX-A > ER-B$),抑制血管迁移、小管形成的 IC_{50} 值均低于抑制增殖的 IC_{50} 。结论 4 种二萜化合物在体外对人脐静脉内皮细胞系血管形成均有不同程度的抑制作用,值得作为抗肿瘤药物的候选物进一步深入研究。

关键词:冬凌草甲素;信阳冬凌草甲素;冬凌草乙素;毛萼乙素;血管形成

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1001 - 2494 (2007) 14 - 1063 - 04

Effect of Oridonin, Xindongnin A, Ponacidin, Eriocalyxin B on Human Angiogenesis in V itro

LI Si-wei^{1,3}, LI Ma-lin^{1*}, HAN Quan-bin², YANG Li-hua¹, SUN Han-dong² (1. Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 3. The Second Hospital of Yichang City, Yichang 443000, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To investigate the effect of Oridonin (SH-A), Xindongnin A (SX-A), Ponacidin (SH-B) and Eriocalyxin B (ER-B) on angiogenesis *in vitro*. **METHODS** The effects of 4 compounds on angiogenesis *in vitro* were measured by the proliferation, migration and tube formation assay using ECV304 (human umbilical vein endothelial cell). **RESULTS** SH-A, SH-B, SX-A and ER-B had inhibitory effects on the proliferation of ECV304. Their IC_{50} to ECV304 were fell in the range of $1.47 \times 10^{-5} \sim 3.76 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, which showed similarity of inhibition. Four ent-Kaurenoids had different effects on the migration of ECV304 and their IC_{50} were in the range of $8.01 \times 10^{-7} \sim 5.41 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. SH-B was much stronger than the other three. All the four ent-Kaurenoids inhibited the tube formation with IC_{50} between $4.25 \times 10^{-7} \sim 2.80 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. SX-A was weaker than the other three. **CONCLUSION** Four ent-Kaurenoids could inhibit the migration and tube formation of ECV304 at lower concentrations, and they have no effect on the proliferation of ECV304.

KEY WORDS: oridonin; xindongnin A; ponacidin; eriocalyxin B; angiogenesis

我国具有丰富的天然资源,一些天然化合物已证明具有较强的抗肿瘤血管生成作用,如从毛萼香茶菜提取出来的二萜类化合物毛萼乙素^[1]和从豆科植物槐 (*Sophora flavescens* Ait.) 的干燥花蕾提取出来的黄酮类化合物槲皮素^[2]都有抑制血管生成活性。但是,目前对天然化合物的抗血管生成活性的相关研究不多,发现具有抗血管生成活性的化合物更是十分有限,因此,寻找、筛选具有抑制新血管生成作用的天然化合物,不但对于人类肿瘤疾病的认识、防治,而且对于挖掘、开发和利用我国丰富的天然资源都有重要意义。

本研究对从豫产冬凌草中提取的 3 种冬凌草素和 1 种滇产毛萼乙素在体外对血管生成活性的影响进行研究,为从中发现新的抗肿瘤药物提供了科学依据。

1 材料与仪器

ECV304 (人脐静脉内皮细胞系) (中国科学院上海细胞生物研究所细胞库)。SH-A (冬凌草甲素, M_r 364)、SX-A (信阳冬凌草甲素, M_r 432)、SH-B (冬凌草乙素, M_r 362)、ER-B (毛萼乙素, M_r 344)。SH-A, SH-B, SX-A 分离自河南省冬凌草 (*Isodon rubescens*); ER-B 分离自云南省毛萼香茶菜 (*Isodon*

基金项目:云南省自然科学基金资助项目 (2001C0051M, 2004C0008Z)

作者简介:李思维,男,硕士研究生 *通讯作者:李玛琳,女,博士,教授 Tel/Fax: (0717) 6447398 E-mail: limalinb@vip.163.com

erica lyx); DMSO (二甲基亚砜, Merck 公司); RPMI 1640 (Hyclone 公司); 特级无支原体新生牛血清 (杭州四季青生物工程材料研究所); bFGF (Invitrogen 公司); Endostatin (Calbiochem 公司, USA); Matrigel (Cibntech 公司, USA)。

酶标板自动读数仪 (美国 Biotek 公司, BL340 型); 真彩色病理图像分析系统 Td-2000 (北京天地电子科技公司); Mustek 扫描仪 (美国 Beapaw 公司); Leica 图像分析仪 (DM IRB 公司, MPS30 型)。

2 实验方法

2.1 待测样品的提取、分离和配制

将毛叶香茶菜茎叶, 用乙醚浸泡 3 次, 回收溶剂, 浸膏用甲醇溶解, 活性炭回流脱色、浓缩、滤出沉淀部分三萜酸后, 进行硅胶柱色谱, 以不同比例的氯仿-丙酮进行梯度洗脱, 分得上述二萜化合物。先用生理盐水、DMSO 将待测试样品 ER-B, SX-A, SH-A, SH-B 倍比稀释成 10^{-2} , 10^{-3} mol · L⁻¹ 两个浓度, 再用 1.0% DMSO 样品倍比稀释成各实验所需浓度。

2.2 人脐静脉内皮细胞增殖试验

采用经改进的 MTT 法^[3]来检测 Endostatin 对 ECV304 增殖的影响。

将对数生长、每 1 mL 含 4×10^4 个的 ECV-304 细胞加入 96 孔板中。24 h 后弃培养液, 加入含 3.0% FBS 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ bFGF 的 RPMI 1640 培养液, 培养 12 h 后, 加入不同浓度的待测样品。受试样品的终浓度分别为 1×10^{-4} , 5.0×10^{-5} , 2.5×10^{-5} , 1.25×10^{-5} , 6.25×10^{-6} mol · L⁻¹; 以重组人 Endostatin 为阳性对照, 阳性对照 Endostatin 的加样质量浓度分别为 62.5, 125 和 250.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以含 3.0% FBS 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ bFGF 的 RPMI 1640 培养基和 0.1% 的 DMSO 分别为 Endostatin 和 4 种样品的溶媒对照。各组每浓度均设 4 个复孔。置细胞于培养箱中孵育 48 h 后, 分别加入 MTT $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。继续培养 4 h 后, 加入三联液 [10% SDS-5% 异丁醇-0.012 mol · L⁻¹ HCl], 放置 12 h 后, 用酶标仪在 570, 630 nm 双波长下测定各孔的 A 值。本试验重复 3 次。

2.3 内皮细胞迁移试验^[4]

将 ECV-304 悬液加入 6 孔培养板, 常规培养, 待细胞长满 85% 底面后用细胞刮擦器刮出 $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ 刮痕, 用 PBS 溶液冲洗净刮痕内内皮细胞。加入 $11 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ bFGF 与 1% FBS 的混合溶液 1 440 μL , 再加上不同含量的待测样品各 160 μL 。样品的终浓度为 1.00×10^{-5} , 3.33×10^{-6} , 1.00×10^{-6} ,

3.70×10^{-7} 和 1.23×10^{-7} mol · L⁻¹。以 0.1% 的 DMSO 为阴性对照。48 h 后吸去培养液, 用 Wright-Giemsa 法固定染色, 用 Leica 图像分析仪随机摄片 4 张, 计数刮痕内迁移的细胞数。并计算每个浓度的细胞迁移抑制率。本试验重复 2 次。细胞迁移抑制率 = (阴性对照组的迁移细胞数 - 样品某个浓度迁移细胞数) / 阴性对照组的迁移细胞数 $\times 100\%$ 。

2.4 内皮细胞小管形成试验^[5]

在 4 孔下, 将 0.3 mL Matrigel 平铺 24 孔培养板后, 37 °C、5% 湿化 CO₂ 培养箱内固定 30 min, 每孔接种上含 10% 胎牛血清培养液的 ECV304 细胞悬液 200 μL (细胞为每 1 mL 含 2.0×10^5), 然后分别加上不同浓度的待测样品和加样质量浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 bFGF 各 25 μL 。每个浓度 1 个孔。待测样品的终浓度分别为 1.00×10^{-5} , 3.33×10^{-6} , 1.11×10^{-6} , 3.70×10^{-7} 和 1.23×10^{-7} mol · L⁻¹。以溶媒 (终浓度为 0.1% DMSO) 为阴性对照。培养箱 6 h 后, 用 Leica 图像分析仪随机摄片 4 张, 采用 TD2000 真彩色病理图像显微分析系统计算小管形成长度。并计算每个浓度的小管形成抑制率。本试验重复 2 次。小管形成抑制率 = (阴性对照组的小管长度 - 样品某个浓度小管长度) / 阴性对照组的小管长度 $\times 100\%$ 。

2.5 数据处理

本研究各实验数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 SPSS 9.0 版统计软件包进行单因素方差分析处理。检验水准均为 $\alpha = 0.05$ 。用 GWBASIC 软件计算各受试样品在体外对 ECV304 增殖、迁移、小管形成的半数抑制浓度 (IC_{50})。

3 实验结果

3.1 4 种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304 增殖的影响

用 MTT 法检测阳性对照 Endostatin 和 4 种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304 细胞增殖的影响, 结果发现, Endostatin 对 ECV304 增殖的 IC_{50} 是 8.73×10^{-3} mol · L⁻¹, 而 4 种化合物对 ECV304 细胞增殖的影响见表 1。

从表 1 可以看出, 4 种化合物在 $6.25 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol · L⁻¹ 内, 对 ECV304 增殖的抑制作用强弱顺序为 SX-A > SH-A > SH-B > ER-B。

3.2 4 种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304 迁移的影响

4 种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304 迁移的影响结果见表 2。

表 1 4种对映-贝壳杉烯类二萜化合物在体外对 ECV304增殖的 IC₅₀

Tab 1 IC₅₀ of four ent-Kaurenoids on the proliferation of ECV304 cells

Sample	Endostatin	SH-A	SH-B	SX-A	ER-B
IC ₅₀ /mol·L ⁻¹	4.39 ×10 ⁻¹⁰	2.53 ×10 ⁻⁵	3.04 ×10 ⁻⁵	1.47 ×10 ⁻⁵	3.76 ×10 ⁻⁵

表 2 4种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304迁移的影响 . n = 8, $\bar{x} \pm s$

Tab 2 Effect of four ent-Kaurenoids on the migration of ECV304 cells. n = 8, $\bar{x} \pm s$

Concentration /mol·L ⁻¹	SH-A		SH-B		SX-A		ER-B	
	Cell count	Inhibition rate	Cell count	Inhibition rate	Cell count	Inhibition rate	Cell count	Inhibition rate
	($\bar{x} \pm s$)	/%	($\bar{x} \pm s$)	/%	($\bar{x} \pm s$)	/%	($\bar{x} \pm s$)	/%
0	149.3 ±6.8		152.0 ±9.2		127.3 ±7.8		124.0 ±21.4	
1.23 ×10 ⁻⁷	148.0 ±16.3	0.8	137.3 ±8.3 ¹⁾	9.7	171.0 ±15.6 ²⁾	-34.4	167.5 ±15.8 ²⁾	-35.1
3.70 ×10 ⁻⁷	151.3 ±6.2	-1.3	83.5 ±9.0 ²⁾	45.1	147.5 ±16.4 ²⁾	-15.9	153.0 ±13.6 ²⁾	-23.4
1.11 ×10 ⁻⁶	113.5 ±13.6 ²⁾	24.0	49.5 ±4.8 ²⁾	67.4	86.5 ±5.3 ²⁾	32.0	101.8 ±6.4 ¹⁾	17.9
3.33 ×10 ⁻⁶	90.0 ±12.3 ²⁾	39.7	45.5 ±7.1 ²⁾	70.1	51.8 ±4.5 ²⁾	59.3	56.0 ±7.9 ²⁾	54.8
1.00 ×10 ⁻⁵	41.3 ±8.5 ²⁾	72.4			41.0 ±6.1 ²⁾	67.8	40.8 ±7.7 ²⁾	67.1

注: 1) P < 0.05, 2) P < 0.01, 与对照组相比

Note: 1) P < 0.05, 2) P < 0.01, vs control group

迁移有促进作用 (P < 0.05)。SH-A, SH-B, SX-A 和 ER-B 对 ECV304 迁移的 IC₅₀ 值分别为 5.41 ×10⁻⁶、8.01 ×10⁻⁷、4.26 ×10⁻⁶ 和 4.65 ×10⁻⁶ mol·L⁻¹。

3.3 4种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304

表 3 4种对映-贝壳杉烯类二萜化合物对 ECV304小管形成的影响 . n = 8, $\bar{x} \pm s$

Tab 3 Effect of four ent-Kaurenoids on the tube formation of ECV304 cells. n = 8, $\bar{x} \pm s$

Concentration /mol·L ⁻¹	SH-A		SH-B		SX-A		ER-B	
	Tube length	Inhibition rate	Tube length	Inhibition rate	Tube length	Inhibition rate	Tube length	Inhibition rate
	/μmol·L ⁻¹	/%	/μmol·L ⁻¹	/%	/μmol·L ⁻¹	/%	/μmol·L ⁻¹	/%
0	321.9 ±6.8		283.5 ±9.8		305.1 ±3.5		130.2 ±23.5	
1.23 ×10 ⁻⁷	282.0 ±11.0 ¹⁾	12.4	169.2 ±5.1 ¹⁾	40.3	265.5 ±12.4 ¹⁾	13.0	119.4 ±8.4	8.3
3.70 ×10 ⁻⁷	189.0 ±19.4 ¹⁾	41.3	114.7 ±8.2 ¹⁾	59.6	249.8 ±8.8 ¹⁾	18.1	121.6 ±13.9	6.6
1.11 ×10 ⁻⁶	144.1 ±7.1 ¹⁾	55.2	174.9 ±16.0 ¹⁾	38.3	217.8 ±5.8 ¹⁾	28.6	69.9 ±17.9 ¹⁾	46.3
3.33 ×10 ⁻⁶	60.6 ±13.9 ¹⁾	81.2	81.9 ±6.05 ¹⁾	71.1	131.1 ±3.9 ¹⁾	57.0	63.0 ±15.7 ¹⁾	51.6
1.00 ×10 ⁻⁵	0.0 ¹⁾	100.0	65.3 ±18.9 ¹⁾	77.0	87.2 ±12.6 ¹⁾	71.4	48.0 ±3.5 ¹⁾	63.1

注: 1) P < 0.01, 与对照组相比

Note: 1) P < 0.01, vs control group

SH-A, SH-B, SX-A 在 1.23 ×10⁻⁷ mol·L⁻¹ 及其以上浓度时对 ECV304 小管形成均有抑制作用 (P < 0.01); ER-B 在 1.11 ×10⁻⁶ mol·L⁻¹ 及其以上浓度时对 ECV304 小管形成才有抑制作用 (P < 0.01)。经计算, SH-A、SH-B、ER-B 和 SX-A 对 ECV304 小管形成的 IC₅₀ 值分别为 5.08 ×10⁻⁷、4.25 ×10⁻⁷、6.92 ×10⁻⁷ 和 2.80 ×10⁻⁶ mol·L⁻¹。4 种二萜化合物, 在 1.23 ×10⁻⁷ ~ 1.0 ×10⁻⁵ mol·L⁻¹ 内, 对 ECV304 小管形成的抑制作用的顺序为 SH-B > SH-A > ER-B > SX-A。

4 讨论

长期以来, 人们一直试图寻找抗肿瘤治疗的新药物和新途径。天然药物以其抗肿瘤活性强、毒副反应低日益受到药物研究者的重视。从天然产物中

从表 2 可以看出, 与各自的阴性对照组相比, SH-A、SX-A、ER-B 在 1.1 ×10⁻⁶ mol·L⁻¹ 及其以上浓度时均对 ECV304 迁移有抑制作用 (P < 0.01); SH-B 在 1.23 ×10⁻⁷ mol·L⁻¹ 及其以上浓度时对 ECV304 迁移有抑制作用 (P < 0.05); SX-A、ER-B 在 3.7 ×10⁻⁷ mol·L⁻¹ 及其以下浓度时对 ECV304

小管形成的影响

4 种二萜化合物对 ECV304 小管形成的影响结果见表 3。

从表 3 可以看出, 与各自的阴性对照组相比,

寻找抗肿瘤血管生成的药物已成为国内外药物研究的一个重要策略。研究证实^[1], 许多具有环外 α, β-不饱和酮 D 环的对映-贝壳杉烯类二萜化合物具有抗肿瘤活性, 其中一部分抗肿瘤活性与其抗肿瘤血管生成的作用有关。本研究所筛选的 4 种化合物都是从香茶菜属植物中分离鉴定出来的此类化合物。其中 SH-A、SH-B 二种冬凌草素及 ER-B (毛萼乙素) 具有抗肿瘤作用^[1]。我们前期研究表明^[1], ER-B 还具有在鸡胚尿囊膜上抑制肿瘤血管生成活性, 其抑制鸡胚尿囊膜血管生成的有效剂量为每胚 20 μg。在前期研究基础上, 进一步探讨它们抗血管生成的作用环节是十分重要的。本研究通过 ECV304 增殖试验、迁移试验、小管形成试验, 对它们在体外对血管生成的影响进行了研究。

本研究发现,4种化合物对 ECV304的细胞毒活性相差不大,都在 $1.47 \times 10^{-5} \sim 3.76 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($6.00 \sim 13.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)之间。本试验阳性对照 Endostatin对 ECV304增殖 IC_{50} 是 $4.39 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。国内研究发现,雷公藤红素^[6]对 ECV增殖的 IC_{50} 是 $2.96 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,青蒿琥酯^[7]对 HUVEC增殖的 IC_{50} 为 $2.1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;国外用 ANUP^[8]有效抑制 bFGF诱导的内皮细胞增殖是在 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;鲨鱼软骨纯化物 U-995为 $15 \sim 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[9]。与本试验所选的阳性对照 Endostatin相比,4种二萜化合物对 ECV304增殖的抑制作用明显弱于 Endostatin,也弱于雷公藤红素,与青蒿琥酯相近。SH-A, SH-B, SX-A和 ER-B对 ECV304增殖的抑制强度处于中等水平,值得进一步研究。4种二萜化合物抑制内皮细胞的增殖可能是其抑制血管生成的环节之一。

从4种化合物对 ECV304迁移的影响结果可知,4种化合物对其迁移均有一定的影响,其中 SH-A、SH-B只能抑制其迁移,而 SX-A、ER-B对其迁移影响具有双重作用,较低浓度具有促进作用;高浓度又具有抑制作用。具有这种双重作用的原因,可能与它们在不同浓度时,分别作用于内皮细胞的不同靶点有关,其作用机制有待进一步探讨。4种天然化合物对 ECV304迁移的 IC_{50} 值 $8.01 \times 10^{-7} \sim 5.41 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内。从其 IC_{50} 值可知,在4种化合物中,SH-B对 ECV304迁移的抑制作用最强,ER-B、SX-A、SH-A相近。研究表明,雷公藤红素^[6]对 ECV(血管内皮细胞株)迁移的 IC_{50} 为 $2.22 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,青蒿琥酯^[7]对 HUVEC迁移的 IC_{50} 为 $5.46 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,Endostatin^[10]对 bFGF刺激下的人表皮微血管内皮细胞(HDMEC)迁移的 IC_{50} 是 $3 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,对 VEGF刺激下 HUVEC迁移的 IC_{50} 在 $3 \times 10^{-12} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平。从上述研究可知,本研究的4种二萜化合物抑制内皮细胞的迁移活性弱于细胞因子,但与天然产物雷公藤红素和青蒿琥酯的活性相当。雷公藤红素^[6]对 ECV(血管内皮细胞株)小管形成的 IC_{50} 在 $8.89 \times 10^{-8} \sim 4.24 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,青蒿琥酯^[7]对 HUVEC小管形成的 IC_{50} 为 $2.45 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,本研究的4种化合物对小管形成的 IC_{50} 值在 $4.25 \times 10^{-7} \sim 2.80 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,其抗小管形成能力活性略弱于雷公藤红素,但强于青蒿琥酯。

通过比较 ECV304增殖和 ECV304迁移、小管

形成的 IC_{50} 值,可以发现,每种化合物对 ECV304增殖的 IC_{50} 值均大于其对 ECV304迁移和小管形成的 IC_{50} 值,即抑制迁移、小管形成所需的浓度明显低于抑制增殖所需的浓度,说明它们在产生抑制 ECV304迁移、ECV304小管形成作用的浓度时对 ECV304无细胞毒活性,减少了细胞毒活性对迁移、小管形成的影响,也间接证实了所建立的 ECV304迁移、小管形成两种模型的正确性与有效性。上述研究说明,本研究4种化合物在一定浓度时,对内皮细胞迁移与小管形成都有一定抑制作用,其中 SH-A(信阳冬凌草甲素)对 ECV304迁移、小管形成作用最强,值得进一步深入研究。抑制内皮细胞迁移与小管形成可能是4种二萜化合物在体外抑制血管生成的靶点之一。

总之,4种化合物对 ECV304的增殖有一定的抑制活性,而且在一定浓度时对 ECV304迁移、小管形成有抑制作用,它们体外在不同的环节抑制血管生成,都有可能成为有潜在前途的抑制血管生成的药物。

REFERENCES

- [1] SUN H D, XU Y N, JIANG B. Diterpenoids from *Isodon* Species [M]. Beijing: Science Press, 2001: 103-104.
- [2] WANG X Q, LIANG Z Q, GU Z L, et al. Study on antiangiogenesis effects of quercetin[J]. *Chin Pharm Bull*(中国药理学通报), 2004, 20(10): 1161-1164.
- [3] XIA H, ZHANG L, WEN J X, et al. Expression and purification of human endostatin in *Pichia pastoris* and its inhibition on the growth of mouse pulmonary adenocarcinoma cell line LA795[J]. *J First Mil Med Univ*(第一军医大学学报), 2002, 22(5): 393-396.
- [4] USHIRO S, ONO M, NAKAYAMA J, et al. New nortriterpenoid isolated from anti-rheumatoid arthritic plant, *Tripterygium wilfordii*, modulates tumor growth and neovascularization[J]. *Int J Cancer*, 1997, 72(4): 657-663.
- [5] THALOOR D, SINGH A K, SINGH G S, et al. Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin[J]. *Cell Growth Differ*, 1998, 9(4): 305-312.
- [6] HUANG Y L, ZHOU Y X, ZHOU D, et al. Elastin in the inhibition of neovascularization[J]. *Chin J Oncol*(中华肿瘤杂志), 2003, 25(5): 429-432.
- [7] CHEN H H, ZHOU H J. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis[J]. *Acta Pharm Sin*(药学报), 2004, 39(1): 29-33.
- [8] MASOOD R, MCGARVEYM, ZHENG T, et al. Anti-neoplastic urinary protein inhibits kaposi sarcoma and angiogenesis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Blood*, 1999, 93(3): 1038-1044.
- [9] SHEU J R, FU C C, TSAI M L, et al. Effect of U-995, a potent shark cartilage-derived inhibitor, on anti-angiogenesis and anti-tumor activities[J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(6A): 4435-4441.
- [10] YAMAGUCHI N, ANAND-APTE B, LEE M, et al. Endostatin inhibits VEGF-induced endothelial cell migration and tumor growth independently of zinc binding[J]. *EMBO J*, 1999, 18(16): 4414-4423.

(收稿日期: 2006-05-06)