

## 苯丙氨酸甲基氮芥衍生物的抗肿瘤作用

周金煦 梁惠珍 胥 彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 本文比较了6个苯丙氨酸甲基氮芥衍生物对大、小鼠肿瘤的疗效及其毒性。在苯丙氨酸甲基氮芥异构体中, 邻位异构体(AT-581)的疗效明显地比对位(AT-290)和间位异构体(AT-582)高, 较HN<sub>2</sub>也有显著的优点。抗瘤谱较广, 对几株较晚期肿瘤也有明显疗效, 毒性较低, 而选与酪氨酸邻位(AT-786)和间位(AT-916)甲基氮芥进行比较, 它们的治疗作用相仿, 但后两药对大鼠的毒性较大, 以致对JS的化疗指数不如AT-581。在AT-581苯环5位上为硝基取代物即消瘤芥(AT-1258), 疗效较AT-581强, 毒性也较低, 对敏感瘤株ECS的治疗指数为7, 安全限为2, 均明显地较AT-581高, 单用AT-1258对大鼠JS也有明显消瘤作用, 治愈率达60—86%。

**关键词** 苯丙氨酸甲基氮芥衍生物; 邻脂苯芥; 消瘤芥; 酪氨酸甲基氮芥异构体; 大、小鼠移植瘤; 化疗指数; 毒性

数年来我所在寻找新抗癌药过程中合成了一些HN<sub>2</sub>的氨基酸取代物<sup>(1-3)</sup>, 企图降低毒性, 提高疗效。在这类化合物中, 对位甲基氮芥苯丙氨酸(AT-290)具有一定的抗肿瘤作用<sup>(4)</sup>, 据此又发现邻双(2-氯乙基)胺甲基苯丙氨酸二盐酸盐(AT-581)又名邻脂苯芥(oca-

本文1979年9月4日收稿 1980年12月24日修回

phane)及其苯环5位为硝基取代物(AT-1258), 又名消瘤芥(nitrocaphane)具有较强的抗肿瘤作用。本文报道它们的毒性和疗效试验, 以供抗肿瘤类似物优选的借鉴。

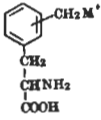
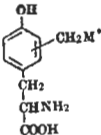
### 方法和结果

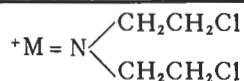
移植性动物肿瘤实验和疗效评价方法同前文<sup>(4)</sup>, 基本按全国抗肿瘤药物体内筛选规程进

行。药物溶于水或加稀酸溶解后用生理盐水稀释, 一般配制1次供一疗程应用,  $\text{HN}_2$ 为每2d配1次<sup>(5)</sup>。药物qd共7d。

**一、对小鼠腹水癌的疗效** 苯丙氨酸甲基氮芥衍生物的编号及其疗效见表1。ip治疗量时, 对小鼠艾氏腹水癌(EAC)均有非常明显的抑制作用, 生存时间多数可延长100%以上。应用sc给药对小鼠EAC, Krebs-2腹水

表1 苯丙氨酸甲基氮芥异构体对小鼠腹水癌的疗效

结 构 式	编号及其 $\text{CH}_2\text{M}^+$ 的位置	瘤 种	剂 量 (mg/kg)	给 药 途 径	生存时间 延长率(%)	
	AT-290 (para)	EAC	0.5 0.8 0.5	ip ip sc	118*** 127*** 14*	
		K-2 A	0.8 1.2	sc sc	0* 0*	
		HA	1.2	sc	6*	
	ocaphane (ortho)	EAC	1.2 2 1.2	ip ip sc	136*** 145*** 7*	
		K-2 A	1.5 2	sc sc	16* 24*	
		HA	2	sc	19*	
	AT-582 (meta)	EAC	0.75 1.2 0.75	ip ip sc	136*** 173*** 0*	
		K-2 A	0.8 1.2	sc sc	0* 0*	
		HA	1.2	sc	0*	
		AT-786 (ortho)	EAC	1.5 2	ip ip	88** 150***
		AT-916 (meta)	EAC	0.6 0.8	ip ip	116*** 113***
	$\text{CH}_3\text{M}^+$ ( $\text{HN}_2$ )		EAC	0.4	ip	104***
HA			1	sc	0*	



\*  $P > 0.05$ , \*\*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.01$

表 2 动物 ip 苯丙氨酸甲基氮芥异构体对移植性实体肿瘤的作用

药名	鼠												大 鼠						
	小						大						大 鼠						
	小鼠亚急性 LD <sub>50</sub> 及 95% 可信限 (mg/kg)		ECS		K-2S		HS		S-180		SS		B-22		S-37		W-256		
剂量 (mg/kg)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	剂量 mg/kg	抑制率 (%)
A.T-290	2.1 (1.6—3.3)	29* 38**	0.9 0.9	33* 33*	1.3 1.7	15* -6*	1.1 1.1	27* 45*	0.9 0.9	11* 22*	2.1 2.1	5* 19*	4.3	99***					
ocaphane	3.2 (2.7—3.9)	57* 71**	0.9 0.9	56** 78***	1.3 1.7	6* 25*	1.1 1.1	36* 55*	0.9 0.9	22* 56**	2.1 2.1	49* 52**	5.6	99***					
A.T-582	2 (1.5—2.3)	29* 42*	0.9 0.9	33* 33*	1.5 1.7	18* 35*	1.1 1.1	18* 45*	0.9 0.9	11* 33**	2.1 2.1	29* 38**	8.9	96***					
NH <sub>2</sub>	1.1 <sup>4</sup> (0.87—1.4)	21* 28*	1.5 1.9	17* 31*	1.3 1.7	19*		0* 36*	2.7 <sup>+</sup>	0*	2.1	36*							

\* P>0.05 \*\* P<0.05 \*\*\* P<0.01 <sup>4</sup>引自 Griswold(?) 用 Swiss 小鼠 ip 7d 观察 14d 死亡数的试验资料

表 3 Ocaphane 与酪氨酸甲基氮芥异构体作用的比较

药名	小 鼠												大 鼠		
	小						大						大 鼠		
	小鼠亚急性 LD <sub>50</sub> 及 95% 可信限 (mg/kg)		HS		ECS		B-22		S-180		W-25		大 鼠		
剂量 (mg/kg)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	剂量 (mg/kg)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	剂量 (mg/kg)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)	剂量 (mg/kg)	抑制率 (%)	对照组瘤重 (g)	抑制率 (%)
ocaphane	3.2 (2.7—3.9)	46** 60***	1.3 1.3	1.9 1.9	21** 41***	1.5 2	0.9 0.9	27* 52***	1.5 2	1.7 1.7	6* 25*	1	5.6	99***	
A.T-786	3.5 (3.1—4.2)	38** 53**	1.3 1.3	1.9 1.9	38* 0*	1.5 2	0.9 0.9	35* 47***	3	1.3	38*	0.8	7.7	99***	
A.T-916	3.2 (2.6—3.9)	20* 54***	1.3 1.3	1.9 1.9	57*** 72***	1.5 2	0.9 0.9	17* 26*	1.5 4	2.4 2	8* 20*	1	7.7	99***	

\* P&gt;0.05 \*\* P&lt;0.05 \*\*\* P&lt;0.01

癌(K-2A)和腹水肝癌(HA)则无明显的疗效,  $\text{HN}_2$ 的作用与此类似。

**二、苯丙氨酸甲基氮芥异构体对小鼠亚急性毒性和实体瘤疗效的比较** 毒性试验按等比级数递增 ip 剂量分为 4—5 组, 一般每组 10 鼠, qd 共 7 d, 观察 21 d 内小鼠死亡数, 用机率单位法<sup>(6)</sup>求出  $\text{LD}_{50}$ , 从表 2 可见 AT-581 的亚急性毒性较小, 而 AT-290 和 AT-582 毒性相似。它们分别以最高 ip 耐受量 qd, 共 7 d, 对 8 株实体瘤的疗效比较, 发现 AT-581 的疗效较好, 它对 3 株腹水癌实体型有 46—78% 抑制率, 对小鼠梭形细胞肉瘤(SS), 脑瘤 22 (B-22) 和肉瘤 37 (S-37) 也有 52—56% 的抑制率。而 AT-290 和 AT-582 的抑制率一般都在 40% 以下。但它们对大鼠 Walker-256 (W-256) 均有 96—99% 抑制率。

**三、AT-581 和  $\text{HN}_2$  作用的比较** 对大小鼠的急性毒性, 以机率和对数剂量作图, 求出 AT-581 的急性  $\text{LD}_{50}$  (ip 1 次观察 14 d) 分别为 5.5 和 4.9 mg/kg, 而  $\text{HN}_2$  的急性  $\text{LD}_{50}$  分别为 1.1 和 2 mg/kg, AT-581 的毒性较  $\text{HN}_2$  显著地低。它们的疗效除表 2 所示  $\text{HN}_2$  较差外, 还平行应用 2 株大鼠肿瘤进行比较。试验于接种 Jensen 肉瘤(JS) 后 5 d 开始给药, 分别 ip AT-581 1.2 mg/kg 和  $\text{HN}_2$  0.3 mg/kg, 相当于两药的最适治疗量, qd 共 7 d, 一般每周测量肿瘤的长宽径 2 次, 按公式  $\frac{1}{2} \times \text{长} \times \text{宽}^2 (\text{mm}) = \text{mg}$  重量计算瘤重<sup>(8)</sup>。它们都能明显抑制 JS 生长, 但 AT-581 对宿主生存时间可延长 39%, 比  $\text{HN}_2$  组的 17% 为高。于接种 W-256 后 d 6 开始给药, 分别 ip AT-581 1 和 1.4 mg/kg 及  $\text{HN}_2$  0.3 mg/kg, 给药后 4 d 即见肿瘤明显缩小, 它们的抑制作用基本类似。但 AT-581 对宿主生存时间可延长 71—78%, 而  $\text{HN}_2$  无明显延长生命作用(图 1)。它们的共同缺点是停药 1 周左右肿瘤又继续长大, 缓解期较短。

**四、AT-581 与其苯环对位羟基化的酪氨酸异构体作用的比较** 表 3 表明 ip AT-581 与

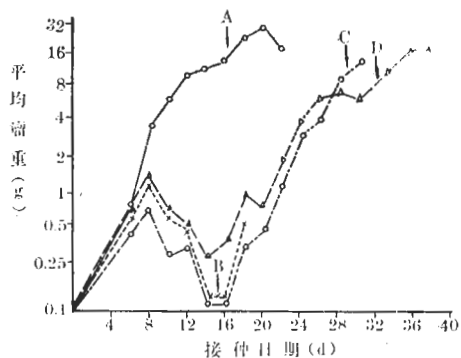


图 1 大鼠 ip ocaphane 和  $\text{HN}_2$  对 W-256 疗效的比较

- A 为对照组(7鼠)  
 B  $\text{HN}_2$  0.3 mg/kg 组(6鼠)  
 生存期延长率 0%  
 C ocaphane 1 mg/kg 组(6鼠)  
 生存期延长率 78%  
 D ocaphane 1.4 mg/kg 组(6鼠)  
 生存期延长率 71%  
 ↓为平均死亡日期

酪氨酸邻位(AT-786)和间位(AT-916)甲基氮芥对小鼠的亚急性  $\text{LD}_{50}$  均极相近, 应用近似的治疗量比较它们对 5 株实体瘤的作用, 部分实验进行平行对比。结果它们的疗效也较类似, AT-916 对艾氏实体癌(ECS)稍佳, 但对 B-22 则较差, 为了比较其优劣, 选用大鼠作治疗指数的比较。

**五、对大鼠 JS 治疗指数的比较** 于接种 JS 后次日分别 ip 5 个化合物不同治疗量, 获得肿瘤重量的抑制率, 按机率单位法求其  $\text{LD}_{50}$ , 并与其对正常大鼠亚急性 ip  $\text{LD}_{50}$  (qd 共 7 d, 观察 21 d) 相比, 得出化疗指数, 结果 AT-581 稍高于其他 4 个化合物(表 4)。综上所述还是 AT-581 疗效较好。

**六、AT-581 的抗癌作用选择性及其毒性的进一步研究** AT-581 ip 1.5 mg/kg 对小鼠 K-2A 和 HA 的生存时间可延长 166—343%, 以 4—6 mg/kg ig 对 ECS, K-2S 和 HS 也有 67—80% 的抑制率。若于接种后 d 5 开始 ip, qd 共 7 d, 对这 3 株实体型的疗效稍有下降, 但 2 mg/kg 组仍有 30—64% 抑制率, 对网织细胞肉瘤(L-2)接种后 d 7 开始 ip 也有 33% 抑制

率。对大鼠 JS 接种后 d 5 开始 ip AT-581 0.8-1.4 mg/kg 也有 40-75% 抑制率, 以 1.4 mg/kg 瘤内注射的抑制率可达 90%。大鼠接种纤维肉瘤 M-57 后 d 12, 瘤重达 2-3 g 开始 ip 或瘤内注射 1.4 mg/kg 均见肿瘤明显缩小, 后再长大, 到达开始用药时的重量约需 30-40 d, 其中以瘤内注射的疗效较佳。AT-581 的毒性试验表示, 给大鼠 ip 的急性 LD<sub>50</sub> 为 5.5 mg/kg, ig 7d 观察 21 d 的亚急性 LD<sub>50</sub> 为 6.4 mg/kg。用 6.5-11 kg 的狗 10 只, iv 分为 3 组,

qd 共 10 d, 结果 iv 0.125 mg/kg 组仅见白细胞和血小板略有降低, 其他检查未见明显改变。iv 0.25 和 0.5 mg/kg 组的毒性表现与一般氮芥类药物类似, 主要有呕吐, 食量减少、便血、体重减轻及白细胞和血小板的明显减少, 给高剂量组还可产生全血球的降低。其中 3/4 狗停药后 2-3 d 内死亡, 尸检内脏器官均有散在性出血点, 以肝和肠病变最显著, 肠粘膜并可见小圆的溃疡性坏死灶。未死狗停药后可逐步恢复正常。

表 4 JS 大鼠 ip 苯丙氨酸和酪氨酸甲基氮芥异构体的作用

药名	大鼠亚急性 LD <sub>50</sub> 及 95% 可信限 (mg/kg)	剂量 (mg/kg)	鼠数	抑制率 (%)	治疗指数 (LD <sub>50</sub> /ID <sub>50</sub> )
AT-290	1 (0.6-1.8)	0.3	8	15	2
		0.5	10	55	
		0.8	8	99	
Ocaphane	2.3 (1.8-3.2)	0.6	8	34	3.5
		0.8	6	71	
		1	8	93	
		1.2	8	98	
		1.4	8	97	
AT-582	1.3 (0.6-1.5)	0.4	8	50	3
		0.6	8	70	
		1	8	96	
AT-786	1 (0.5-1.2)	0.3	8	7	2
		0.5	8	66	
		0.8	8	85	
AT-916	1.7 (1.2-2.5)	1	8	51	1.7
		1.3	7	93	
		1.6	7	93	

表 5 Ocaphane 和 nitrocaphane 的 LD<sub>50</sub>

	小 鼠		大 鼠	
	急性 LD <sub>50</sub> 及 95% 可信限 (mg/kg)		亚急性 LD <sub>50</sub> 及 95% 可信限 (mg/kg)	
	ip	ig	ip	ip
ocaphane	4.9 (3.9-6.1)	32 (28.1-36.8)	3.2 (2.7-3.9)	2.3 (1.8-3.2)
nitrocaphane	15.1 (13.9-16.3)	50 (45.1-56.1)	9.4 (8.3-10.6)	5.6 (4.7-6.3)

表 6 小鼠 ip ocaphane 和 nitrocaphane 对 5 株肿瘤疗效的比较

瘤名	药*	剂量 mg/kg	鼠数		体重 变化 (g)	平均瘤重(g)或 平均生存时间 (d)	抑制率或 生命延长率 (%)	P 值
			实验	解剖				
ECS	A		19	19	0.3	1.1 g		
	B	1.5	10	10	-1.1	0.5 g	55	<0.01
	B	2	10	10	-1.4	0.4 g	64	<0.01
	C	3.4	10	10	-2	0.2 g	82	<0.01**
	C	4.5	10	10	-2.2	0.05 g	96	<0.01**
HS	A		10	9	4.9	1.4 g		
	B	2	10	10	3.5	0.6 g	56	<0.01
	C	4	10	10	-0.4	0.3 g	82	<0.01**
S-37	A		15	15	1.1	2 g		
	B	2	10	10	-1.4	1.2 g	43	<0.05
	C	4	10	10	-1.9	1 g	50	<0.05
S-180	A		15	15	0	2.5 g		
	B	2	10	10	-2.1	2 g	20	>0.05
	C	4	10	10	-3.1	1.4 g	44	<0.05
L-2 A	A		30		1.4	11 d		
	B	1.5	10		-1.5	42 d	287	<0.01
	C	3.5	10		-1.2	44 d	304	<0.01

\* A 为给生理盐水对照组, B 为 ocaphane, C 为 nitrocaphane

\*\* nitrocaphane 和相仿治疗量 ocaphane 与对照组作 F 测验比较  $P < 0.01$

**七、AT-581 和 AT-1258 毒性和疗效的比较** 它们的毒性比较结果见表 5, 显然 AT-1258 的毒性较低, 其  $LD_{50}$  值为 AT-581 的 2—3 倍。它们对 5 株小鼠肿瘤疗效比较结果见表 6, 一般 AT-1258 的疗效均比 AT-581 高, 尤以对 ECS 和 HS 的抑制率更明显地高 ( $P < 0.01$ ), 对大鼠 JS 生长 5—6 d 后开始 ip, AT-1258 有明显的消瘤作用, 停药后肿瘤逐步缩小最后消失, 连续观察 3 个月未见肿瘤复发, 治愈率 62—86%。为比较其治疗指数, 选用对它们较敏感的 ECS, 将多次不同治疗量 ip 得到的瘤重抑制率, 以反应机率和对数剂量作图, 求其  $ID_{50}$  和  $ID_{90}$ , 并分别与其对正常小鼠的亚急性  $LD_{50}$  和  $LD_{10}$  相比较, 求出化疗指数 ( $LD_{50}/ID_{50}$ ), 结果 AT-1258 为 7.2, 而 AT-581 为 2。其安全限 ( $LD_{10}/ID_{90}$ ), 两者

分别为 2 和 0。以上资料均说明 AT-1258 对上述肿瘤有较强的选择性作用。

## 讨 论

甲基氮芥上一个 H 原子为氨基酸取代的衍生物, 一般认为是属于脂肪族氮芥类化合物, 它们在体内与  $HN_2$  的作用较相似, 故本文与  $HN_2$  作了一些比较。上述资料表明邻位苯丙氨酸甲基氮芥(AT-581)的抗瘤谱较广, 毒性较低, 且对生长至一定大小的较晚期肿瘤仍有一定的疗效。一般认为氮芥类化合物的细胞毒与氮芥基 Cl 原子的化学活性有关, 为了减少 Cl 原子的化学活性, 于 AT-581 苯环上引入亲电性基团硝基, 希望通过共轭效应和诱导效应降低氮芥基的化学活性。本实验证实了 5 硝基取代物 AT-1258 的毒性较低, 稍增剂量其

抗癌选择性也明显提高。对大鼠 JS 生长至 1.6 g 以上开始给药, 也有明显消瘤作用, 达到部分治愈。文献<sup>(9)</sup>报道一些较强的抗癌药可治愈小鼠 Ridgeway 骨肉瘤, 但多数情况还需合并化疗, 单用 AT-1258 能治愈 JS 是值得重视的。AT-581 和 AT-1258 还可 po, 且小鼠 ig 急性 LD<sub>50</sub> 较 ip 约高 4—5 倍, 而要达到相同疗效时 ig 剂量只为 ip 剂量的 2—3 倍, 表明 po 是值得推荐的给药途径。

从苯丙氨酸甲基氨基异构体的构效关系看出, 对位(AT-290)和间位(AT-582)异构体的毒性和疗效较类似, 以邻位异构体(AT-581)疗效较强, 此与溶肉瘤素异构体的作用略有不同<sup>(10,11)</sup>。一般认为苯丙氨酸对位易被体内羟化酶发生对位羟基化, 本资料表明 AT-581 与对位羟基化衍生物 AT-786 和 AT-916 作用较类似, 推测它在体内发生羟基化是可能的。AT-582 的作用较差, 可能与苯丙氨酸间位氨基基上的甲基阻碍其对位羟基化有关。

*Acta Pharmacologica Sinica* 1981 Jun; 2 (2) : 121—128

## ANTITUMOR ACTION OF PHENYLALANINE DERIVATIVES OF MECHLORETHAMINE

ZHOU Jin-xu, LIANG Hui-zhen, XU Bin

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** The antitumor action and toxicity of 6 phenylalanine derivatives of mechlorethamine were compared in mice and rats. Ocaphane, *o*-[bis-(2-chloroethyl)-amino-methyl]-phenylalanine dihydrochloride (AT-581) was more potent than AT-290, AT-582, and mechlorethamine. Ocaphane showed a broader antitumor spectrum and less toxicity than the other compounds. The antitumor actions and toxicities of *o*-(AT-786) and *m*-(AT-916)

tyrosine isomers of mechlorethamine were similar to ocaphane in mice. The toxicities of AT-786 and AT-916 in rats were higher, and thus their therapeutic indices in rats bearing Jensen sarcoma were less than that of ocaphane.

Nitrocaphane (AT-1258) was synthesized by introduction of a nitro group to position 5 of the benzene ring of ocaphane. Nitrocaphane was less toxic and more effective than ocaphane. The therapeutic

### 参 考 文 献

- 1 任云峰、高怡生. 化学学报 1962 年 6 月; 28(3):173
- 2 任云峰、高怡生. 化学学报 1964 年 8 月; 30(4):369
- 3 任云峰、杨进顺. 药化学报 1965 年 4 月; 12(4):267
- 4 吴德政、陈瑞婷、胥 彬. 药化学报 1962 年 10 月; 9 (10):611
- 5 Inch WR, McCredie JA. *Can J Biochem Physiol* 1963 Feb; 41(2):417
- 6 Litchfield JT Jr, Wilcoxon F. *J Pharmacol Exp Ther* 1949 Jun; 96(2):99
- 7 Griswold DP, Laster WR Jr, Snow MY, Schabel FM Jr, Skipper HE. *Cancer Res Part 2*, 1963 May; 23(4):271
- 8 Mayo JG, Laster WR Jr, Andrews CM, Schabel FM Jr. *Cancer Chemother Rep* 1972 Apr; 56 (1):183
- 9 Schabel FM Jr. *Cancer chemotherapy*. 1st ed. Chicago; Year Book Med Publ, 1975:323—55
- 10 Gireene MO, Baker BR, Greenberg J. *Cancer Res* 1960 Sep; 20(8):1160
- 11 Connors TA, Ross WCJ, Wilson JG. *J Chem Soc* 1960 Jul; 2994

index (LD50/ID50) of nitrocaphane in mice bearing Ehrlich carcinoma (solid form) = 7, and its margin of safety (LD10/ID90) = 2. About 62—86% of the rats bearing Jensen sarcoma could be cured by nitrocaphane alone.

**KEY WORDS** phenylalanine derivatives of mechlorethamine; ocaphane; nitrocaphane; tyrosine derivatives of mechlorethamine; transplanted tumors in mice and rats; therapeutic index; toxicity

\*

\*

\*

\*

\*

\*