

# 三尖杉酯碱及有关生物碱对白血病 p388, L615 小鼠和正常小鼠组织合成 DNA 的影响

徐煜庭\* 杜丛之 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

**提要** 本文观察了4种三尖杉酯碱对 [ $^3\text{H}$ ]TdR 掺入白血病 P388, L615 小鼠和正常小鼠脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 合成的影响。结果表明在 0.2 LD<sub>50</sub> 剂量时, 一次 ip 或 iv 给药, 明显抑制白血病小鼠和正常组织 DNA 合成, 时相曲线相似, 作用较快, 一般在 24 h 基本恢复。

**关键词** 三尖杉酯碱; 高三尖杉酯碱; 异三尖杉酯碱; 脱氧三尖杉酯碱; 白血病 P388 和 L615 小鼠; DNA 合成

三尖杉酯碱(简写 H), 高三尖杉酯碱(HH), 异三尖杉酯碱(IH)及脱氧三尖杉酯碱(DH)对动物移植性肿瘤有明显抑制作用<sup>(1,2)</sup>。H 及 HH 已经临床证明对急性非淋巴性白血病有良好的治疗效果<sup>(3,4)</sup>。本实验观察这4种药物对 [ $^3\text{H}$ ]胸腺嘧啶核苷([ $^3\text{H}$ ]TdR) 掺入移植性白血病小鼠及正常组织内 DNA 的影响, 以探讨其作用原理及比较药物对肿瘤组织和正

常组织(如骨髓细胞和肠粘膜)作用的动态过程, 进一步阐明药物作用的选择性, 为设计药物治疗方案提供资料。

## 材料和 方法

实验用 18-24 g 的 615 和 DBA/2 纯种小鼠。试验一般用接种后 5-8 d 的白血病小鼠, 1次 ip 或 iv 给药, 于给药后不同时间 ip 5-20  $\mu\text{Ci}$  [ $^3\text{H}$ ]TdR, 注射后 1 h 处死, 抽取腹水或制备脾匀浆。两侧股骨用生理盐水反复将骨髓冲出研磨, 合并一组骨髓悬液。取幽门下约 10 cm 的小肠经生理盐水洗涤后, 分离粘膜, 将一组小鼠的肠粘膜混合。按文献(5)法提取 DNA,

1980年9月20日收稿 1981年5月22日修回

\* 现在无锡市药品检验所

以 0.4% PPO, 0.02% POPOP, 1% 甲醇, 2% 乙二醇, 6% 萘的二氧化六环溶液为闪烁液, 进行放射测定。用二苯胺法<sup>(6)</sup>测定组织、瘤细胞中 DNA 含量。以 cpm/mg DNA 表示比活性, 以治疗组与对照组的比活性比值 T/C 的 % 表示作用强度。

4 种酯碱由本所植物化学室与实验药厂从海南粗榧树皮中分离提取制得的枸橼酸盐水溶液。<sup>[3H]</sup>TdR 由北京原子能研究所生产, 比活性为 22 Ci/mmol

4 种酯碱的小鼠 LD<sub>50</sub> 已由本实验室测定<sup>(1)</sup>。

## 结 果

**一、4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入白血病小鼠腹水细胞 DNA 的剂量效应** 8 d 的 P388 小鼠 39 只, 均分成 13 组, 1 组为对照, 其余 12 组分别以 0.02, 0.05, 0.2 LD<sub>50</sub> 剂量 1 次 ip 4 种酯碱。如表 1 所示, 药后 1 h [<sup>3H</sup>]TdR 掺入瘤细胞显著下降, 作用强度与剂量有关, 同时也提示在 0.05-0.2 LD<sub>50</sub> 等毒性剂量时, 4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入 P388 腹水细胞的影响基本相同。

**二、4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入白血病 P388 小鼠腹水细胞 DNA 的时间效应** 给病鼠 1 次 iv 0.2 LD<sub>50</sub> 的剂量, 分别于给药后 0.5, 1, 4, 24 h 每鼠 ip 5 μCi [<sup>3H</sup>]TdR, 每组 3 鼠, 测定腹水细胞中的比活性, 求出作用强度。如表 2 所示, 4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入腹水细胞 DNA 的时相曲线基本相似, 药后 30 min 就显示药物的作用, 24 h 为 71-87%, 最大抑制作用发生于 1 或 4 h。IH, DH 作用较强, 最大 T/C% 分别为 5 与 8%, H, HH 作用相对较弱, 最大 T/C% 为 28 与 39%。

**三、4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TDR 掺入白血病 L615 小鼠脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 的时间效应** 给白血病 L615 小鼠分别 1 次 ip 0.2 LD<sub>50</sub> 的剂量, 于药后 30 min, 1, 4, 24 h ip 5 μCi/鼠, 每组各 3 鼠, 测定组织中比活性。

表 1. Effect of ip harringtonine and its allied alkaloids on incorporation of [<sup>3H</sup>]TdR into DNA of leukemia P388 cells (cpm/mg DNA). Control 34998 cpm/mg DNA

	0.02 LD <sub>50</sub>	0.05 LD <sub>50</sub>	0.2 LD <sub>50</sub>
Harringtonine	7609	2106	2337
Homoharringtonine	6447	3602	2063
Isoharringtonine	6633	3364	2797
Deoxyharringtonine	4674	4140	3191

结果表明 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入病鼠脾、肠粘膜 DNA 最强作用时间为药后 30 min 至 4 h。H, HH, DH 抑制 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入病鼠脾组织 DNA 的最大作用强度 (T/C%) 分别为 62, 28, 15, 16; 抑制 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入病鼠肠粘膜 DNA 的最大作用强度则分别为 45, 37, 36 和 24%, 4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入病鼠骨髓细胞 DNA 作用较弱或无影响(表 3)。

**四、4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入正常 615 系小鼠、脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 的时间效应** 正常 615 系小鼠, 1 次 ip 0.2 LD<sub>50</sub> 的剂量, 分别于给药后 30 min, 1, 4, 24 h 每鼠 ip 5 μCi [<sup>3H</sup>]TdR, 每组 3 鼠, 测定组织中比活性, 以不给药组为对照组, 结果如表 3 所示, 4 种酯碱对 [<sup>3H</sup>]TdR 掺入正常 615 系小鼠脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 都有明显抑制, 其中 DH 作用似乎更为显著, 除 HH 对

表 2. Effect of iv 0.2 LD<sub>50</sub> of harringtonine and its allied alkaloids on incorporation of [<sup>3H</sup>]TdR into DNA of leukemia P388 cells, expressed in T/C%

	30 min	1 h	4 h	24 h
Harringtonine	63	28	39	74
Homoharringtonine	53	39	63	87
Isoharringtonine	12	9	5	82
Deoxyharringtonine	24	8	16	71

表 3. Effect of harringtonine and its allied alkaloids on DNA biosynthesis in normal mice and mice bearing leukemia L615, expressed in T/C%.

Time	ip drugs 0.2 LD <sub>50</sub>	Spleen		Intestinal mucosa		Bone marrow	
		615	L615	615	L615	615	L615
½ h	Harringtonine	37	90	33	50	31	91
	Homoharringtonine	39	56	52	50	99	158
	Isoharringtonine	40	30	47	36	22	94
	Deoxyharringtonine	12	21	10	32	21	63
1 h	Harringtonine	22	62	35	46	38	78
	Homoharringtonine	32	54	32	37	47	121
	Isoharringtonine	18	15	35	45	23	75
	Deoxyharringtonine	8	19	26	24	19	66
4 h	Harringtonine	25	109	37	45	41	111
	Homoharringtonine	45	28	31	37	41	97
	Isoharringtonine	80	52	60	72	121	79
	Deoxyharringtonine	18	16	75	31	51	93
24 h	Harringtonine	194	125	121	170	135	139
	Homoharringtonine	122	135	105	109	131	161
	Isoharringtonine	139	135	187	93	143	167
	Deoxyharringtonine	111	104	118	104	94	133

骨髓细胞最强作用为 4 h 外, 其余作用最强时间为 30 min 至 1h, 24 h 全部恢复, 并出现反跳现象。

**五、4 种酯碱对 [<sup>3</sup>H]TdR 掺入 DBA/2 系小鼠骨髓细胞 DNA 的作用** 将正常 DBA/2 系小鼠 20 只, 均分成 5 组, 其中一组为对照组, 其余 4 组分别 1 次 iv 0.2 LD<sub>50</sub> 剂量, 药后 1 h ip [<sup>3</sup>H]TdR 5 μCi/鼠, 测定每组小鼠骨髓细胞中 DNA 比活性。结果表明对照组比活性为 1482, H 组为 745, HH 组为 942, IH 组为 585, DH 组为 256 cpm/mg DNA。给药组分别为对照组的 50, 64, 40, 17%。提示在等毒性剂量时, DH 对正常 DBA/2 系小鼠 DNA 作用最强。

**六、4 种酯碱对 [<sup>3</sup>H]TdR 掺入白血病 P388 小鼠骨髓细胞 DNA 的作用** 将接种 P388 后第 8 d 小鼠 20 只, 均分为 5 组, 其中 1 组为对照组, 余组分别 1 次 iv 0.2 LD<sub>50</sub> 的剂量, 给药后 1 h ip 20 μCi [<sup>3</sup>H]TdR/鼠, 经 1 h

后测定骨髓细胞 DNA 中比活性。结果表明对照组骨髓细胞比活性为 471, H, HH, IH, DH 分别为 470, 586, 237 和 163 cpm/mg DNA, 分别相当于对照组的 100, 125, 50 和 35%。表明 DH, IH 对 [<sup>3</sup>H]TdR 掺入小鼠白血病骨髓细胞 DNA 有一定抑制作用, 而 H, HH 却无影响。

## 讨 论

4 种三尖杉酯碱对 [<sup>3</sup>H]TdR 掺入 HeLa 细胞、L1210 细胞 DNA 有抑制作用<sup>(7,8)</sup>。本实验结果进一步表明这 4 种三尖杉酯碱对白血病小鼠 P388 腹水细胞或白血病 L615 小鼠脾组织 DNA 也有抑制作用。作用强度的次序与它们对动物肿瘤的疗效次序相符, 从而提示药物抑制瘤细胞 DNA 合成的作用在一定程度上反映了药物对肿瘤的作用。本文中应用的小鼠白血病 L615 是一株全身播散性的移植性白血病, 我们在观察药物对白血病 L615 小鼠脾、

肠粘膜、骨髓细胞作用的时候,亦观察了药物对正常 615 小鼠脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 的作用。结果表明 4 种酯碱对 [ $^3\text{H}$ ]TdR 掺入白血病 L615 小鼠脾、肠粘膜、骨髓(H除外)细胞 DNA 作用的时相一效应曲线与正常 615 系小鼠相应组织的时相一效应曲线基本相似,但在作用强度方面却存在某些差异,如H抑制 [ $^3\text{H}$ ]TdR 掺入正常小鼠脾、肠粘膜、骨髓细胞 DNA 的作用似乎比 L615 的相应组织明显。4 种酯碱对正常 615 系小鼠骨髓与 L615 小鼠骨髓作用的差异似乎更为明显。这种差异不仅出现在 4 种酯碱对正常 615 系小鼠与 L615 骨髓细胞 DNA,而且也发生在药物对正常 DBA/2 系小鼠与带有 P388 的 DBA/2 宿主骨髓细胞 DNA 作用的差异。实验中发现 DNA 恢复期间曾出现反跳现象,这可能与细胞中内源性胸腺嘧啶磷酸盐库的减少,非增殖细胞丢失以及干细胞或静止细胞进入增殖期有关。从上述实验结果来看,4 种酯碱在治疗剂量内不

论对 [ $^3\text{H}$ ]TdR 掺入白血病细胞 DNA 或正常组织 DNA 都有类似的作用形式,由此可见 4 种酯碱对组织的作用是非特异性的。

### 参 考 文 献

- 1 中国医学科学院,药物研究所. 中华肿瘤杂志 1979 年 9 月; 1(3):176
- 2 Smith CR, Powell RG. *Cancer Treat Rep* 1976 Aug; 60(8):1157
- 3 中国人民解放军 187 医院白血病研究小组. 中华医学杂志 1978 年 3 月; 58(3):163
- 4 福建省白血病协作组. 中华内科杂志 1978 年 5 月; 17(3):162
- 5 Schneider WC. *J Biol Chem* 1946 Aug; 164(2): 747
- 6 Dische Z. Color reactions of nucleic acids components. In: Chargaff E, Davidson JN, eds. *The nucleic acids*, vol 1. New York: Academic Press, 1955: 285—306
- 7 Huang MT. *Mol Pharmacol* 1975 Sep; 11(5):511
- 8 潘震昆、韩锐、王永潮. 生物化学与生物物理学报 1980 年 3 月; 12(1):13

*Acta Pharmacologica Sinica* 1981 Dec; 2 (4) : 252—256

## EFFECT OF HARRINGTONINE AND ITS ALLIED ALKALOIDS ON DNA SYNTHESIS IN MICE BEARING LEUKEMIAS P388, L615 AND NORMAL MICE

XU Yu-ting, DU Chong-zhi

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

**ABSTRACT** The incorporation of [ $^3\text{H}$ ]TdR into DNA in mice bearing leukemias P388, L615 and in normal mice after ip or iv harringtonine, homoharringtonine, isoharringtonine and deoxyharringtonine were determined.

All the 4 alkaloids caused initial inhibitions of [ $^3\text{H}$ ]TdR incorporation in leukemic cells, cells of spleen, intestinal mucosa and bone marrow, but differed in rates and extents of inhibitions. The

reduction of incorporation of [ $^3\text{H}$ ]TdR usually started at 30 min after a single ip or iv of these 4 alkaloids. Maximal inhibitions were observed in  $\frac{1}{2}$ —4 h after ip or iv and recovered after 24 h. The effects of deoxyharringtonine and isoharringtonine on the DNA biosynthesis in leukemias L615 and P388 seem to be more significant than those of harringtonine and homoharringtonine. The extents of inhibition of incorporation of [ $^3\text{H}$ ]TdR

in the cells of spleen and intestinal mucosa of normal mice caused by the alkaloids (except harringtonine) were similar to those in L615. But the inhibitory effects of the alkaloids on the biosynthesis of DNA in bone marrow of normal mice were

greater than those of the leukemic mice.

**KEY WORDS** harringtonine; homoharringtonine; isoharringtonine; deoxyharringtonine; leukemia P388 and L615 mice; DNA synthesis

\* \* \*

\* \* \*