

不同类型抗癌药对小鼠脑内接种艾氏腹水癌的作用

周金煦 何康华 陶莉仙 胥彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 小鼠 ic 接种 EAC 2×10^5 以上癌细胞生长良好, 成活率近 100% 且无自发消退, MLS 为 $9 \pm (SD) 2 d$ 。本文报道 47 个已知抗癌药的疗效试验, 并初筛了 10 个类似物, 发现溶肉瘤素及本所合成的 3 个它的类似物(甲氧芳芥, 邻脂苯芥和消瘤芥)ip 治疗量对 ic 接种 EAC 有明显的抑制作用。并在抗代谢类药物中, 首先发现 6-MP 和其水溶性衍生物溶癌呤 ip 也具有明显的疗效。初筛三嗪类化合物 AT-2052 也有一定的抑制效能。

关键词 脑内接种; 艾氏腹水癌; 敏感性; 溶肉瘤素; 甲氧芳芥; 消瘤芥; 6-MP; 溶癌呤

脑瘤和脑膜白血病的化学治疗曾引起一些学者的重视⁽¹⁾, 六十年代中亚硝脲类药物的发现, 为脑瘤的化疗开创了新的路线, 目前已用小鼠白血病 L1210 或神经系肿瘤脑内(ic)接种的常规方法⁽²⁻⁴⁾, 筛选抗脑瘤和脑转移瘤的新药。由于该类肿瘤要求特定的纯系小鼠, 在饲养和供应上均有许多困难。本文采用国内保种的小鼠艾氏腹水癌(EAC)细胞 ic 接种法, 较国外报道的接种方法⁽⁵⁾生长规则, 是个较好的筛选模型。我们观察了多种抗癌药的治疗作用, 发现溶肉瘤素和 6-MP 及其类似物都有一定的疗效。

方法和材料

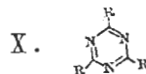
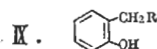
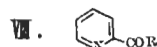
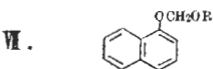
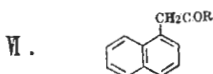
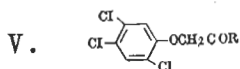
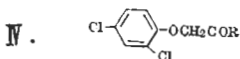
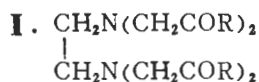
合成药和植物提取物多数为我所合成室和植化室提供, 部分新的化合物的结构式见表 1, 临床常用的抗癌药除亚硝脲类和抗癌氨酸

由上海医药工业研究院合成, 顺二氯二氨铂, VP-16-213 和 VM-26 由美国 Bristol Myers 药厂提供外, 均为市售的粉针剂或片剂, 用前配制成水溶液或 Tween 乳剂供 ip, AT-16 和 AT-584 水不溶制配成混悬液供 ig。实验采用小鼠 EAC 接种后 7-8 d 瘤细胞, 计数后以生理盐水稀释, 给体重 18-22 g 的健康小鼠作侧脑室注射⁽⁶⁾, 每鼠 0.02 ml, 相当瘤细胞数 $2 \times 10^6 - 8 \times 10^6$ 。然后分组给药, 每组 8-10 鼠, 对照组鼠数为实验组数的开方乘每组鼠数。一般接种后 24 h 开始给药, qd $\times 7 d$ 。凡给药组中位生存时间(MLS)延长 2 d 以上, 与对照组比较 $P < 0.05$ 者, 作为有效指标。个别药物停药后取脑组织称重, 与对照组比较。

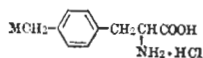
结 果

小鼠 ic 接种 EAC 细胞生长良好, 100% 成活, 4 组小鼠分别 ic 接种 2×10^5 , 8×10^5 , 14×10^5 和 20×10^5 瘤细胞的 $MLS \pm SD$ 为 10 ± 2 , 9 ± 2 , 8 ± 1 和 $7 \pm 1 d$ 。给 2×10^5 组与其他各组比较, 除 20×10^5 组外其他 3 组无明显差异。故本实验用每鼠接种 $2 \times 10^5 - 8 \times 10^5$ 瘤细胞。对照组 252 只小鼠的 MLS 为 $9 \pm 2 d$ 。小鼠死前数日可见脑部肿块日渐膨隆外突, 将

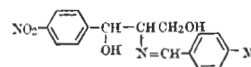
表 1. Structure of 26 new compounds

Hydrazine derivatives, R = NHNH₂Nitrogen mustard derivatives, $M = -N \begin{cases} CH_2CH_2Cl \\ CH_2CH_2Cl \end{cases}$

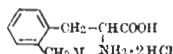
AT-290



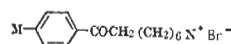
AT-16



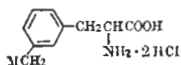
ocaphane (AT-581)



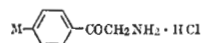
AT-584



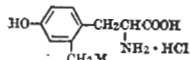
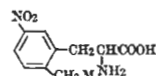
AT-582



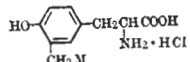
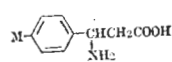
AT-805



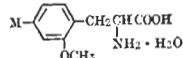
AT-786

nitrocaphane
(AT-1258)

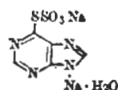
AT-916

isosarcosysin
(Ho-14)

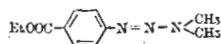
methoxy-sarcosysin



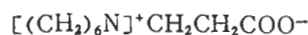
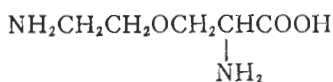
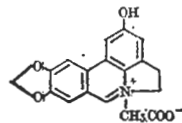
Other type derivatives,

tisupurine
(AT-1438)

AT-2052



AT-2026

oxalysine
(I-677)lycobetaine
(AT-1840)

脑壳顶起半圆形小丘，且食量明显减少，体重日见减轻。部分鼠死前还有较典型的神经系统受压迫和激惹症，表现四肢抽搐，平衡失调，导致在笼内打滚，截瘫和昏迷等症状。病理检

查见癌细胞沿着脑室周围浸润生长，侵入脑实质中的癌细胞集落可见散在的细胞分裂象，尤以集落周边部分有丝分裂较活跃，其间有微小毛管交错穿插(图1A)。癌细胞小集落常常

表 2 Effects of 11 antitumor drugs on intracerebrally inoculated EAC in mice

	Time after implantation	Medication			No. of mice T/C	MLS (d) $\bar{x} \pm SD$		Prolongation (%)
		Route	Dose mg/kg	No. of doses		Treated	Control	
sarcolysin	24 h	ip	4	7	20/48	13±3.4	8.5±1.7	35***
	2 h	ip	5	7	20/43	14±3.9	10±2.2	40***
	24 h	ip	5	7	10/23	15±2.4	10±1.1	50***
	24 h	ip	6	7	20/33	15±1.8	9±2	67***
	2 h	ic	0.25	1	10/20	11±1.5	9±1.8	22**
methoxy-sarcolysin	24 h	ip	12	7	19/33	15±1.8	9±1.9	67***
ocaphane	2 h	ip	2	7	10/20	11±2.1	9±1.5	22**
	24 h	ip	2	7	20/40	12±3.1	10±2.8	20**
	2 h	ic	0.2	1	10/20	10±3.1	9±1.5	10*
	2 h	ic	0.25	1	10/26	11.5±3.2	10.5±1.6	10*
nitro-caphane	2 h	ip	4	6	10/10	14±3.2	9.5±2.2	47***
	24 h	ip	4	7	18/30	14±6.3	10±1.8	40**
BCNU	24 h	ip	8	7	24/49	17±2.2	10.5±3.2	62***
	24 h	ip	10	7	32/52	17±7.6	11±2.5	55***
CCNU	24 h	ip	8	7	16/34	14.5±3.1	10±3.6	45***
	24 h	ip	10	7	24/54	17±4.6	10.5±1.7	62***
Me-CCNU	24 h	ip	8	7	16/28	14±4.2	10±3.6	40**
	24 h	ip	10	7	8/16	14±2.4	10±1.4	40**
	24 h	ip	12	7	16/36	14.5±2.8	11±3.6	43**
procarbazine	24 h	ip	150	7	32/60	18±2.9	10±2.4	80***
	24 h	ip	300	q 4 d×3	8/10	16.5±3.2	12±3.8	38***
6-MP	24 h	ip	40	7	32/59	15±3.7	10±2.6	50**
tisupurine	24 h	ip	200	7	24/43	16±3.9	10±2.5	60***
AT-2052	24 h	ip	50	7	16/30	14±3.8	10.5±3.7	33***

Compared with control * $P > 0.05$ ** $P < 0.05$ *** $P < 0.01$

也在小脑延髓池和蜘蛛膜下腔周围附着生长(图 1B), 但此处向脑实质浸润范围较小。为了测量 ic 肿瘤重量, 解剖观察体重 20.4 ± 2.8

g 正常小鼠 46 只的全脑重量为 398 ± 28 mg, 一般 ic 肿瘤生长 6-8 d, 可使小鼠脑重明显增加, 多数约需增重 150 mg 即相当原脑正常重

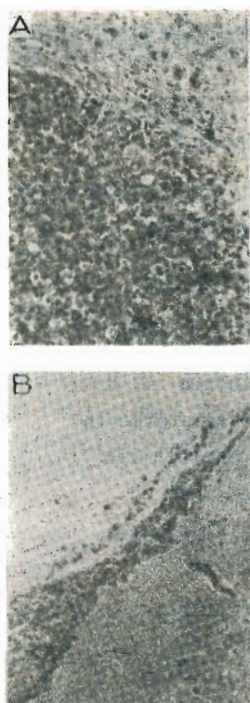


图 1. Infiltrating growth of Ehrlich ascites carcinoma cells.

A) into peripheral brain tissue of lateral ventricle;
B) into subarachnoid space after ic inoculation of the tumor cells

量 140% 就可导致小鼠死亡。但也有少数脑肿块未见明显增大就发生死亡，这可能与癌细胞侵犯重要生命中枢有关。

试验 47 个抗癌药，10 个胍类和 2 个其他类型化合物。苯丙氨酸氮芥类似物溶肉瘤素 4-6 mg/kg 和甲氧芳芥 12 mg/kg ip，对 ic 接种 EAC 小鼠的 MLS 可延长 40—67%，于接种后 2 h 溶肉瘤素 0.25 mg/kg 1 次 ic 注射也可延长 MLS 22%。邻脂苯芥和消瘤芥分别 ip 2 和 4 mg/kg 可延长 MLS 20-47%，1 次 ic 注射邻脂苯芥 0.2-0.25 mg/kg 也有轻度的作用。卡氮芥(BCNU)及其衍生物环己亚硝脲(CCN-U) 和甲基-CCNU 8-12 mg/kg 也可延长小鼠 MLS 40-62%。抗代谢类药物 6-MP 及其水溶性衍生物溶瘤呤分别 ip 40 和 200 mg/kg，对 ic 接种 EAC 小鼠也可延长 MLS 50-60%。ip 甲基苄胍 150 mg/kg 可延长 MLS 80%，剂量

增倍 $q4d \times 3$ 次的延长率为 38%。初筛三嗪类化合物 AT-2052 也有一定疗效(表 2)。溶肉瘤素 4-5 mg/kg 和甲氧芳芥 10 mg/kg ip $q4d \times 7d$ ，停药次日解剖脑重，并分别减去正常鼠脑重获得脑瘤净重，它们也有 70—86% 抑制率(表 3)。37 个不同类型的已知抗癌药给治疗量及筛选 11 个化合物则均无效(表 4)

讨 论

本文表明 4 个苯丙氨酸氮芥类似物，3 个亚硝脲类药物，甲基苄胍，6-MP 和溶瘤呤 ip 治疗量对小鼠 ic 接种 EAC 有明显的抑制作用，其中亚硝脲类和甲基苄胍的疗效与文献^(7,8)报道对脑瘤的作用基本一致，亚硝脲类药物已为临床广泛使用⁽⁹⁾。溶肉瘤素对小鼠 EAC 颞沟裂接种无效^(6,10)，而本实验表明它有肯定的疗效，可能与接种部位不同及他们所用剂量不足有关。本所合成的溶肉瘤素 3 个类似物甲氧芳芥、邻脂苯芥和消瘤芥对此 ic 肿瘤也有一定的疗效。但 AT-290 和 AT-582 则无效，可能与它们对 sc 接种的 EAC 不太敏感有关。消瘤芥无论对 sc, ip 或 ic 接种的 EAC 疗效均明显较同类物邻脂苯芥为佳⁽¹¹⁾。也表明药物对 ic 肿瘤的疗效，除与其通过血脑屏障的

表 3. Effect of 2 drugs on tumor weights of intracerebrally inoculated EAC in mice

	Dose (mg/kg)	No. of mice	Tumor weight (mg) $\bar{x} \pm SD$
control	0	23	157 ± 50
sarcolysin	4	10	46 ± 22*
	5	21	22 ± 28*
methoxy-sarcolysin	10	20	47 ± 26*

* Compared with control $P < 0.01$

表 4. Unresponsiveness of 48 compounds against intracerebrally inoculated Ehrlich ascites carcinoma in mice

Compound	Daily dose (mg/kg)	Compound	Daily dose (mg/kg)
endoxan	25—50 150*	mitomycin C	1.5
mechlorethamine	0.25 1*	oxalysine(I-677)	200
ethyleniminoquinone	2	lycobetaine(AT-1840)	20
Thio-TEPA	2	camptothecin	1
isosarcoclysin(Ho-14)	12	11-methoxy-camptothecin	2
AT-290	1.2	hydroxy-camptothecin	2
AT-582	1.2—2	harringtonine	1.5
AT-786	2	homoharringtonine	1.5
AT-916	1.5	colchicine	0.5
AT-16	175	vincristine	0.2
AT-584	30	vinblastine	0.35
AT-805	15	podophyllotoxin	2
razoxane(ICRF 159)	20	VP-16-213	1
cis-diaminedichloroplatinum	1.25	VM-26	3
hydroxyurea	150	hydrazine derivative I	200
5-Fu	20—25	" II	150
6-TG	1—1.5	" III	200
cytarabine	40	" IV	100
cyclocytidine	500	" V	200
methotrexate	0.6—1	" VI	100
actinomycin K	0.04	" VII	50
bleomycin	10	" VIII	500
daunorubicin	2.5—5	" IX	100
AT-2026	500	" X	30

* injected ip only once at 24 h after implantation

浓度外，还与该瘤本身对药物的敏感性有关。6-MP 对小鼠 sc 接种的脑神经瘤有一定的抑制作用⁽¹²⁾，但尚未见它对 ic 接种的肿瘤有效的报道。Nelson 等用 $[8-^{14}C]$ 6-MP 表明该药可通过小鼠血脑屏障⁽¹³⁾，但由于 6-MP 在肌内放射性比脑内高 3—7 倍，忽视了 6-MP 有发挥疗效的可能性。本文表明 6-MP 治疗量 ip 对 ic 肿瘤有效，但临床多 po 给药，不易迅速达到较高的血药浓度，以利于其穿透入脑内，可能也是其未能显效的原因之一。溶癌呤研究

的成功，为临床提供更多的给药途径，它对小鼠 ic 接种 EAC 也有明显的疗效。小鼠 ic 注射溶癌呤的 LD₅₀ 较甲氨蝶呤约高 30 倍以上⁽¹⁴⁾，因此是较安全的鞘内注射药物。临床应用稀醋酸调节 pH 后作鞘内给药也获得较好的疗效。值得深入研究。由于 6-MP 对脑神经组织瘤还是敏感的，且其同类物 6-MPR 对 ic 接种的脑室管膜瘤有效⁽⁴⁾，改进剂型临床 iv 6-MP 治疗脑瘤值得试验。6-MP 与溶癌呤又是治疗急性白血病的常用药物之一，所以脑膜

白血病和脑瘤用溶癌呤 iv 或鞘内注射是值得推荐的治疗方法。

对小鼠 EAC 有效的许多抗癌药, 对此肿瘤 ic 接种却无明显的疗效, 这可能与它们不能或仅微量通过血脑屏障有关。脑瘤的血脑屏障问题争论颇多, 本文资料间接地说明脑瘤未完全破坏其血脑屏障, 故对脑瘤的疗效还与药物能否通过血脑屏障有关。

致谢 梁惠珍、陆丽娟和席时芳同志参加部分工作。

参 考 文 献

- 1 Takakura K, Sano K. Sites of action of chemotherapeutic drugs on brain tumor metabolism. In: Kirsch WM, Grossi-Paoletti E, Paoletti P, eds. *The experimental biology of brain tumors*. 1st ed. Springfield: Thomas, 1972:429—56
- 2 Abbott BJ. *Cancer Treat Rep* 1976 Aug; 60(8): 1007
- 3 Schabel FM Jr, Johnston TP, McCaleb GS, Montgomery JA, Laster WR, Skipper HE. *Cancer Res* 1963 Jun; 23(5):725

- 4 Geran RI, Congleton GF, Dudeck LE, Abbott BJ, Gargus JL. *Cancer Chemother Rep Part 2*, 1974 Dec; 4(4):53
- 5 Donelli MG, Rosso R, Garattini S. *Int J Cancer* 1967 Sep; 2(5):421
- 6 周金煦、胥彬. 生理学报 1959年6月; 23(6):37
- 7 Carter SK. *Cancer Chemother Rep Part 3*, 1972 May; 3(1):33
- 8 Kumar ARV, Renaudin J, Wilson CB, Boldrey EB, Enot KJ, Levin VA. *J Neurosurg* 1974 Mar; 40(3):365
- 9 WHO Expert Committee. *WHO Tech Rep Ser* 1977; (605):66
- 10 Resso R, Donelli MG, Innocenti IR-D, Garattini S. *Eur J Cancer* 1967 Jun; 3(2):125
- 11 周金煦、梁惠珍、胥彬. 中国药理学报 1981年6月; 2(2):121
- 12 Gellhorn A, Peterson ER, Kells A, Hirschberg E, Murray MR. *Ann NY Acad Sci* 1954 Dec; 60(2):273
- 13 Nelson JA, Cserr HF, Chu SH. *Cancer Res* 1974 Aug; 34(8):1889
- 14 上海药物研究所、上海生物化学研究所、上海第十二制药厂、溶癌呤临床试用协作组. 中国科学 1977年5月; (3):281

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Dec; 2(4): 256—261

EFFECTS OF VARIOUS ANTITUMOR AGENTS ON INTRACEREBRALLY INOCULATED EHRLICH ASCITES CARCINOMA IN MICE

ZHOU Jin-xu, HE Geng-hua, TAO Li-xian, XU Bin

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

ABSTRACT After intracerebral transplantation of more than 2×10^5 cells of Ehrlich ascites carcinoma in mice, nearly all the mice got the tumor grown well in their brains and no regression was observed. The median lifespan (MLS) was $9 \pm$ (SD) 2 d. We studied the effects of 47 antitumor drugs and 12 analogues on the carcinoma. Among them 3 nitrosourea derivatives (BCNU, CCNU and MeCCNU) and procarbazine responded to the model of the cerebral tumor. Sarcolysin and its 3 derivatives (methoxysarcolysin, ocaphane

and nitrocaphane) exhibited significant inhibition on the tumor. Among the anti-metabolic drugs, both 6-MP and its water soluble derivative tisupurine (AT-1438) injected ip exerted remarkable therapeutic effect on the tumor. Preliminary screening tests showed that a triazine derivative (AT-2052) possessed an inhibitory action on the tumor.

KEY WORDS intracerebral inoculation; Ehrlich ascites carcinoma; sensitivity; sarcolysin; methoxysarcolysin; nitrocaphane; 6-MP; tisupurine