

# 乙双吗啉对 Lewis 肺癌瘤体大小、转移及环磷酸腺苷水平的影响

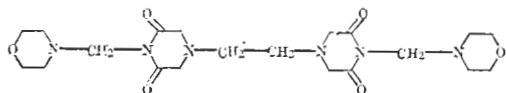
黄孔威 傅乃武 (中国医学科学院肿瘤研究所, 北京 100020)

任云峰 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 乙双吗啉轻度抑制 Lewis 肺癌原发瘤的生长, 对 Lewis 肺癌的自发性肺转移有明显抑制作用。应用“cAMP 依赖蛋白激酶结合法”测定了 Lewis 肺癌组织和小鼠血浆中 cAMP 的含量。乙双吗啉可增加 Lewis 肺癌原发瘤组织中的 cAMP 水平。正常 C57BL/6 小鼠血浆中 cAMP 水平与 Lewis 肺癌 C57BL/6 小鼠血浆中 cAMP 水平比较无显著差异。乙双吗啉对 Lewis 肺癌 C57BL/6 小鼠血浆 cAMP 水平无明显影响。

**关键词** 乙双吗啉; Lewis 肺癌; 环磷酸腺苷; 肿瘤转移

双内酰胺亚胺化合物(ICRF154 和 ICRF159)是近来发现的既有抗癌作用又有抗转移作用的新型抗癌药<sup>(1,2)</sup>。任云峰等在 ICRF154 的基础上合成了乙双吗啉(AT1727), 其化学名称是 1,2-双[N<sup>4</sup>-吗啉甲基-3,5-二氧嘧啶]乙烷。



乙双吗啉对小鼠肉瘤 S37 和 S180 等有明显抑制作用, 尚未见报道其对肿瘤转移的影响。Lewis 肺癌是研究自发性转移的较好模型。本文报道它对 Lewis 肺癌的影响。

## 材料与 方法

**动物和瘤株** 用 C57BL/6 鼠或 CDF<sub>1</sub> (C57BL/6 ♀ × DBA/2♂) 小鼠, 体重 18-22 g。Lewis 肺癌 sc 接种, 在接种后 48 h 开始给药, 第 16 d 处死小鼠, 秤瘤重, 取肺置 Bouins 液固定, 在 XTD-1 体视显微镜下(16-25)倍观察肺转移灶数目及计算肺转移率和肺转移灶抑制率。

**药物和试剂** 乙双吗啉为中国科学院药物研究所合成, 以 0.5% CMC 配成混悬剂; [<sup>3</sup>H]cAMP 为中国科学院原子能研究所提供, 比放射性为 27 Ci/mmol, 用新华一号层析纸纯化; 标准 cAMP 为西德 Konty NY 出品; 蛋白激酶为中国医学科学院基础医学研究所提供, 实验时以 pH 7.5 的 Tris 缓冲液调配, 加进适量牛血清蛋白。

**Lewis 肺癌组织中 cAMP 的提取** 接种 Lewis 肺癌的小鼠 16 d 后断头处死, 立即取一小块肿瘤于干冰中, 冻成凝块后秤取约 30 mg 癌组织, 加预冷的 6% 三氯醋酸 1 ml, 低温研磨 30 s 匀浆液以 1460 × g 离心 5 min, 取上清液, 用上清液 4 倍量的水饱和乙醚摇匀, 静置

分层后, 弃去乙醚, 如此6次, 余液在70℃水浴上蒸干, 置冰箱内保存待测, 测定时加0.5 ml pH 7.5 Tris 缓冲液溶解, 吸50 μl, 按cAMP 依赖蛋白激酶结合法测定cAMP 量。

**血浆cAMP 样品的制备** 小鼠断头取血约0.5 ml 置预冷的有1 滴0.5 M EDTA-2 Na 的试管中, 0.5 h 以内以1460×g 离心, 吸取血浆置另一试管; 存冰盒内待测, 测时吸50 μl。

## 结 果

**乙双吗啉对 Lewis 肺癌的影响** 小鼠 ip 乙双吗啉 5, 15, 20 mg/kg 后 10-12 d, 对 Lewis 肺癌原发瘤无明显影响, 肺转移率有所减少, 肺转移灶抑制率 31-65%, 但无显著差异, 当剂量增至 25 mg/kg 时, 对原发瘤有轻度抑制作用, 抑制率 41% 用药组与对照组比较有显著差异, 此剂量下使肺转移率明显降低, 肺转移灶数目显著减少, 肺转移灶抑制率 93%, 用药组与对照组比较有非常显著差异, 可见此药对转移的影响比对原发瘤的影响更为敏感。(表 1)

**乙双吗啉对 Lewis 肺癌原发瘤组织中 cAMP 含量的影响** 对照组 Lewis 肺癌组织中 cAMP 含量是  $1.7 \pm 0.6$  pmol/mg, 乙双吗啉 25 mg/kg ip 后, Lewis 肺癌原发瘤组织中

cAMP 含量是  $3.4 \pm 1.7$  pmol/mg 用药组比对照组升高 100%。( $p < 0.05$ )

**乙双吗啉对 Lewis 肺癌小鼠血浆 cAMP 含量的影响** 正常 C57BL/6 小鼠血浆 cAMP 含量是  $230 \pm 58$  pmol/100 ml, Lewis 肺癌对照组小鼠血浆 cAMP 含量是  $227 \pm 80$  pmol/100 ml, 两者比较无显著差异( $p > 0.05$ )。ip 乙双吗啉 25 mg/kg 12 d 的 Lewis 肺癌小鼠血浆 cAMP 含量是  $268 \pm 88$  pmol/100 ml 与上述两组比较均无显著差异( $p > 0.05$ )

## 讨 论

前有报道, ip 乙双吗啉 25 mg/kg 对小鼠 S37 和 S180 的抑制率达 99-100%。<sup>(4)</sup> 本研究发现, 乙双吗啉在此剂量下对 Lewis 肺癌原发瘤的抑制率只是 41%。看来, 乙双吗啉对 Lewis 肺癌原发瘤的抑制作用不及对 S 37 和 S 180 等肉瘤的抑制作用。本研究同时发现, 乙双吗啉对 Lewis 肺癌自发性肺转移的抑制作用比较敏感, 当其对原发瘤只表现轻度抑瘤作用时, 对肺转移率及肺转移灶数目有较高的抑制效力。证实此药与 ICRF 154 和 ICRF 159 类抗癌药一样, 既有抑制原发瘤作用, 又有抗肿瘤转移作用。乙双吗啉使 S 37 和 S 180 的残余肿瘤表

Tab 1. Effects of ip bimolane on Lewis lung carcinoma in C 57BL/6 mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \*  $p > 0.05$ , \*\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.01$

Doses (mg/kg)	Days	Mice Initial	Mice End	Changes of body wt(g)	Primary tumor wt (g)	Inhibition rates of tumor (%)	% of mice with lung metastases	Number of metastases	Inhibition in lung metastases
—	—	9	9	$+0.7 \pm 0.8$	$3.4 \pm 1.1$		100	$8.7 \pm 3.9$	
5	10	9	8	$+1.4 \pm 1.2$	$4.2 \pm 1.3$	-22*	75	$6.0 \pm 3.4$	31%*
—	—	10	10	$+2.9 \pm 0.8$	$4.4 \pm 1.1$		100	$47.5 \pm 4.9$	
15	10	9	9	$+1.9 \pm 0.6$	$3.9 \pm 1.1$	11.3*	100	$16.4 \pm 1.9$	65%*
—	—	6	6	$+2.3 \pm 1.4$	$3.0 \pm 1.6$		100	$5.5 \pm 2.0$	
20	12	6	6	$+1.7 \pm 0.6$	$1.9 \pm 0.8$	36.7*	33	$2.3 \pm 2.1$	58%*
—	—	13	13	$+2.3 \pm 1.8$	$3.8 \pm 0.9$		100	$32.4 \pm 10.7$	
25	11	13	13	$-0.3 \pm 1.3$	$2.2 \pm 0.7$	41**	37	$2.3 \pm 1.5$	93%***

面苍白、边缘无充血，只有少量血管存在，而对照组的肿瘤红润、周围有大量血管分布<sup>(3)</sup>。本次实验中发现乙双吗啉对 Lewis 肺癌原发瘤表面血管分布亦有同样现象。这就提示，其抗转移作用机制可能与 ICRF159 的原理相似，也是影响肿瘤组织周围血管的形成<sup>(2)</sup>。

瘤细胞内 cAMP 水平低于正常细胞<sup>(4,5)</sup>，人和动物肿瘤组织的 cAMP 水平低于正常组织<sup>(6,7)</sup>。有些抗癌药可直接影响环核苷酸的代谢<sup>(7,8)</sup>。本研究初步发现乙双吗啉可使 Lewis 肺癌组织 cAMP 含量升高，这是否会跟其抗癌和抗转移作用有关，值得研究。

本研究亦发现 Lewis 肺癌小鼠血浆 cAMP 水平与正常宿主 C57BL/6 小鼠血浆 cAMP 水平之间比较无显著差异，提示恶性肿瘤细胞恶

性增殖及分化不良行为表现在与细胞内 cAMP 水平降低有关，而血浆中未必反映出这种变化。

### 参 考 文 献

- 1 Creighton AM, Helimann K, Whitecross S. *Nature* 1969; 222:384
- 2 Salsbury AJ, Burrage K, Hellmann K. *Br Med J* 1970; 4:344
- 3 任云峰、舒汉丽、张覃沐、陈正玉、林 晨. 科学通报 1980; 25:189
- 4 Kemp RG, Hsu PY, Duquesnoy RJ. *Cancer Res* 1975; 35:2440
- 5 Heidrick ML, Ryan WL. *Ibid* 1971; 31:1313
- 6 Derubertis FR, Chayoth R, Field JB. *J Clin Invest* 1976; 57:641
- 7 杨金龙、韩家娟、沈祖铭、胥 彬. 中国药理学报 1981; 2:248
- 8 Keller R. *Life Sci* 1972; 11:485

*Acta Pharmacologica Sinica* 1984 Mar; 5 (1): 69-71

## EFFECTS OF BIMOLANE ON SIZE, METASTASES AND cAMP LEVELS OF LEWIS LUNG CARCINOMA

HUANG Kong-wei, FU Nai-wu (*Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100020*) REN Yun-feng (*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031*)

**ABSTRACT** Bimolane (AT1727), 1,2-bis(4-morpholinomethyl-3,5-dioxopiperazinyl)-ethane, is a derivative of ICRF154. It was first synthesized by Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. It slightly inhibited tumor growth and markedly inhibited the spontaneous pulmonary metastases of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice.

Adenosine cyclic-3', 5'-monophosphate (cAMP) was assayed by cAMP-dependent protein kinase binding assay in tumor tissue

and plasma. Bimolane elevated moderately the cAMP levels in primary tumor tissue of Lewis lung carcinoma. The cAMP level of plasma in normal C57BL/6 mice was not significantly different from that in C57BL/6 mice bearing Lewis lung carcinoma. Bimolane did not change the cAMP levels of plasma in C57BL/6 mice bearing Lewis lung carcinoma.

**KEY WORDS** bimolane; Lewis lung carcinoma; cAMP; neoplasm metastasis