

# 槐果碱对动物肿瘤的抑制作用

李雪梅\* 李兰珍\* 陈绍励\* 邱相寰\*\* 余月华\* 潘达鑫\*\* 邹莉玲\*\* 杨紫兰\*\*

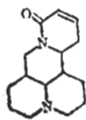
(江西中医学院病理教研组\*、微生物教研组\*\*, 南昌 330006)

韩玉昇 (上海第二医学院电镜室, 上海 200025)

**提要** 槐果碱对多种动物移植瘤有 31-56%的抑癌率, 能中等度抑制瘤细胞核分裂相, 并对瘤细胞膜、细胞质有明显改变, ig 连续给药 10 d 可使小鼠 U14, S180 肿瘤组织核酸含量轻度降低, 对狗骨髓无明显影响, 毒性低; 用药过程中不抑制机体巨噬细胞吞噬功能及相伴免疫作用。临床已证实对恶性葡萄胎有效。

**关键词** 槐果碱; 植物的抗肿瘤药; 致死量 50; 肿瘤相伴免疫

从豆科槐属苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 中提得的槐果碱(sophocarpine)<sup>(1)</sup>曾名西豆根甲碱, 系我院药厂提供, mp 80-1°C(含水物), 54-5°C(无水物)。结构式:  
治疗恶性葡萄胎 112 人, 治愈 97 人 (87%), 且无付反应<sup>(2)</sup>。本文报道槐果碱抗癌实验研究。



## 方法与结果

**槐果碱对动物移植瘤的疗效** 用大鼠瓦克瘤 256(W256)、小鼠肉瘤 37(S37)、宫颈癌 14

1982年7月19日收稿 1983年8月23日修回  
1982年2月在中华医学学会全国肿瘤基础理论专题学术会议(上海)宣读

\*\* 现在组织胚胎教研组

(U14)、肉瘤 180(S180)、艾氏腹水癌(EAC)、淋巴瘤 1 号(Lio 1)、白血病 615(L615)。抗癌实验和疗效评价方法按常规进行。

1. 对五种实体瘤的作用 接种瘤细胞后 24 h, ig 40-60 mg/kg qd × 8-13 d, 结果: 槐果碱对小鼠实体瘤 U14, S180, S37, Lio 1 的抑癌率是 31-56% (p < 0.01), 对 W256 的抑癌率是 27% (表 1)。

2. 不同给药途径对实体瘤的作用 从 ig, ip, im, sc, 瘤内注射等不同途径给药, 结果证明, ig 槐果碱 45-60 mg/kg × 8-10 d 对 U14 的抑癌率是 33-45%, 而 ip 的抑癌率是 5-10%, 但对 S180 不同给药途径的疗效均相接近, 抑癌率是 31-39%, 对 W256 的疗效无论直接注射瘤组织局部或 ig 时, 抑癌率是 20-27% (表 2)。

3. 对腹水型移植瘤及小鼠白血病的作 用 小鼠接种瘤细胞后 24 h, 对 W256(A) ip 槐果碱 30-60 mg/kg × 6 d, 与对照组比较, 生命延长率是 36-55% (p < 0.05), 对 S180(A)、EAC ip 25 mg/kg × 7 d 的生命延长率是 26-50%; 而对 Lio 1, EAC, L615, ig 60 mg/kg × 5-13 d 的生命延长率是 0-21% (表 3)。

Tab 1. Effects of sophocarpine ig on solid tumors.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$ 

Tumor	Dose (mg/kg × d)	Rats or mice		Body wt (g)		Tumor wt (g)	Inhibition (%)
		Before	After	Before	After		
W 256 (Rats)	Control	10	10	88±7	94±9	6.2±2.4	
	40×9	8	8	91±5	96±11	4.5±1.2	27*
U 14 (mice)	Control	9	9	18±2	23±4	2.9±0.9	
	60×8	8	8	18±2	19±3	1.6±0.9	45***
S 180 (mice)	Control	10	10	19±1	18±2	2.6±0.7	
	60×9	10	9	19±1	20	1.8±0.4	31***
Lio 1 (mice)	Control	8	7	17±2	16±2	1.6±0.9	
	60×13	8	8	18±2	17±2	0.70±0.10	56***
S 37 (mice)	Control	10	9	18±2	20±3	1.9±1.2	
	40×9	9	8	18±2	18±2	1.3±0.6	32***

Tab 2. Effects of sophocarpine on transplanted tumor.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$ 

Tumor	Dose (mg/kg × d)	Route	Mice or rats		Body wt (g)		Tumor wt (g)	Inhibition (%)
			Before	After	Before	After		
U 14 (mice)	Control		9	9	18±2	23±4	2.9±0.9	
	60×10	ig	8	8	18±2	19±3	1.6±0.9	45***
	60×8	ig	11	11	20±2	23±3	2.1±0.9	
	60×8	ip	10	10	20±2	24±4	1.4±0.6	33**
S 180 (mice)	60×8	ip	10	10	19±1	23±2	2.0±0.8	5*
	Control		9	9	18±1	23±2	2.90±0.10	
	45×10	ip	8	8	18±1	20±3	2.6±1.0	10*
	30×9	ip	10	10	19±1	18±2	2.6±0.6	
W 256 (rats)	60×9	ip	10	9	19±2	18±2	1.9±0.8	27*
	60×9	ip	10	8	18±2	17±3	1.6±0.4	38***
	60×9	ig	10	9	18±2	20±3	1.8±0.9	31**
	Control		10	10	20±1	19±2	1.8±0.6	
S 180 (mice)	50×9	im	9	9	19±1	18±2	1.1±0.8	39***
	Control		10	10	20±1	19±2	1.8±0.8	
	50×9	sc	10	10	19±2	18±3	1.2±0.7	33**
	Control		10	10	88±7	94±9	6.2±2.4	
W 256 (rats)	40×9	ig	8	8	91±5	96±11	4.5±1.7	27*
	Control	Intra	10	10	59±8	60±9	4.0±1.0	
	60×6	tumor	9	9	61±8	60±9	3.2±0.9	20*

### 毒性试验

1. 大鼠急性 LD<sub>50</sub> 按照 Finney<sup>(3)</sup> 法计算。一次给药观察 14 d 的 LD<sub>50</sub> 及 95% 可信限, ip 是 124(113-135) mg/kg, ig 是 196(179-214) mg/kg, im 是 137(127-147) mg/kg, ip 者神经系统反应剧烈, 兴奋性增加, 强直性痉挛, 甚者常呼吸先停止而后心跳停止; im 者神经系

统反应较慢而缓和; ig 者给药后安静, 神经系统反应慢。

### 2. 狗亚急性毒性

2.1 iv 组 2 犬 iv 30 mg/kg, 另组 2 犬 iv 45 mg/kg, qd × 23 d。动物在给药前、中、后测定体重, 血相, 肝、肾功能及 ECG, 并观察一般行为表现, 停药后处死作病理检查。结果

Tab 3. Effects of sophocarpine on ascitic tumors and L615.  $\bar{x} \pm SD$  \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ 

Tumor	Dose (mg/kg × d)	Route	Rats or mice		Body wt (g)		Survival time (d)	Prolongation (%)
			Before	After	Before	After		
W 256 (rats)	Control		8	0	60 ± 12	68 ± 10	6.4 ± 1.9	
	60 × 6	ip	8	0	60 ± 9	61 ± 8	9.9 ± 3.6	55**
	Control		10	0	69 ± 12	70 ± 12	6.7 ± 0.7	
	30 × 6	ip	10	0	65 ± 13	67 ± 14	9.1 ± 3.3	36**
Lio 1(A) (mice)	Control		7	0	20 ± 2	29 ± 4	19.0 ± 6.6	
	60 × 13	ig	8	0	19 ± 2	24 ± 3	23.8 ± 7.6	21*
EAC (mice)	Control		10	0	20 ± 2	24 ± 2	19.8 ± 4.8	
	60 × 8	ig	8	0	20 ± 2	25 ± 1	19.8 ± 7.3	0
	Control		10	0	18 ± 1	28 ± 1	15.0 ± 3.7	
	25 × 7	ip	10	0	18 ± 2	23 ± 2	22.5 ± 5.6	50**
S 180 (mice)	Control		10	0	18 ± 2	24 ± 2	12.5 ± 4	
	25 × 7	ip	10	0	18 ± 1	21 ± 2	15.7 ± 3.3	26*
L 615 (mice)	Control		11	0	19 ± 1	18 ± 2	5.0 ± 0.7	
	60 × 5	ig	11	0	19 ± 2	17 ± 2	6.0 ± 0.7	20*

30 mg/kg 组在每次 iv 后有短时间流涎外, 其它各项指标无改变; 45 mg/kg 组食渐减、体重下降, d 14 血小板下降, 每次给药后发抖、阵发性强直性痉挛并发呼吸困难或呼吸暂停, 兴奋略减时呼吸逐渐恢复, 反应强烈时 ECG 出现 P-R 间期明显缩短, 偶见 QRS 波前无 P 波及 ST 段压低; 其中 1 狗于 d 23 给药后发生强直性痉挛时呼吸停止。死亡狗和停药后处死狗病理解剖发现肝、肾细胞轻度浊肿, 脂肪性变, 肺组织呈局限性代偿性肺气肿。

2.2 im 组 1 犬 im 40 mg/kg, qd × 15 d, 每次给药后轻度流涎、恶心, 给药过程中血小板渐降, 白细胞偏高, 停药后 10 d 开始恢复, 停药后 16 d 血相恢复正常, 其它检查指标在正常范围。另 1 狗 im 80 mg/kg, qd × 10 d, 每次给药后流涎、恶心、呕吐、发抖, 30-40 min 后症状加剧, 阵发性痉挛并发呼吸困难, 1-1.5 h 后症状渐减, 狗呈现萎靡、食少, 血小板下降, 处死狗进行病理解剖学检查, 变化同前。

3. 槐果碱对麻醉狗血压、呼吸、ECG 改变 狗 2 条 ip 戊巴比妥钠麻醉后, iv 20 mg/kg, 对血压、呼吸与 ECG 无影响; iv 40 mg/kg, 使血压下降 10-15 mm Hg 后迅即恢复, 其它无影

响; 当 iv 60 mg/kg 时血压下降 10-20 mm Hg, 于 2 min 内恢复, 呼吸略深快, ECG 无影响; iv 100 mg/kg 时血压下降 40-50 mm Hg, 30-40 min 内恢复、呼吸浅慢, 心率减慢, ECG 是 T 双峰由前峰高转为后峰高, ST 段压低。狗 iv 缓滴槐果碱 100 mg/kg, 则呼吸、血压、ECG 均无明显改变。

4. 对家兔局部组织刺激 给家兔股四头肌两侧不同部位分别 im 等容量生理盐水及槐果碱 80 mg/kg × 5 d, d 6 杀死作病理解剖检查无异常发现, 80 mg/kg 给兔滴眼 bid × 5 d, 未见结膜流泪、充血等刺激反应。

#### 槐果碱对癌细胞作用 参照常方法<sup>(4)</sup>。

1. 对 S 180(A) 瘤细胞核分裂影响 给小鼠接种瘤细胞后次日, ip 30 mg/kg, qd × 4 d 停药后 24 h, 抽腹水涂片、固定、用 Feulgen 染色, 观察核分裂指数(计数 1000 个瘤细胞), 结果证明槐果碱组的瘤细胞核分裂指数相当于对照组的 48%。

2. 对 EAC 瘤细胞浓度与总数的影响 瘤细胞接种后次日开始 ip 30 mg/kg, qd × 7 d, 停药后 3 h 测定瘤细胞总数与浓度。结果证明, 接种 d 8 的 EAC 小鼠每 ml 腹水活细胞浓度对照组为  $33 \pm 8 \times 10^8$ /ml, 给药组为  $14.0 \pm$

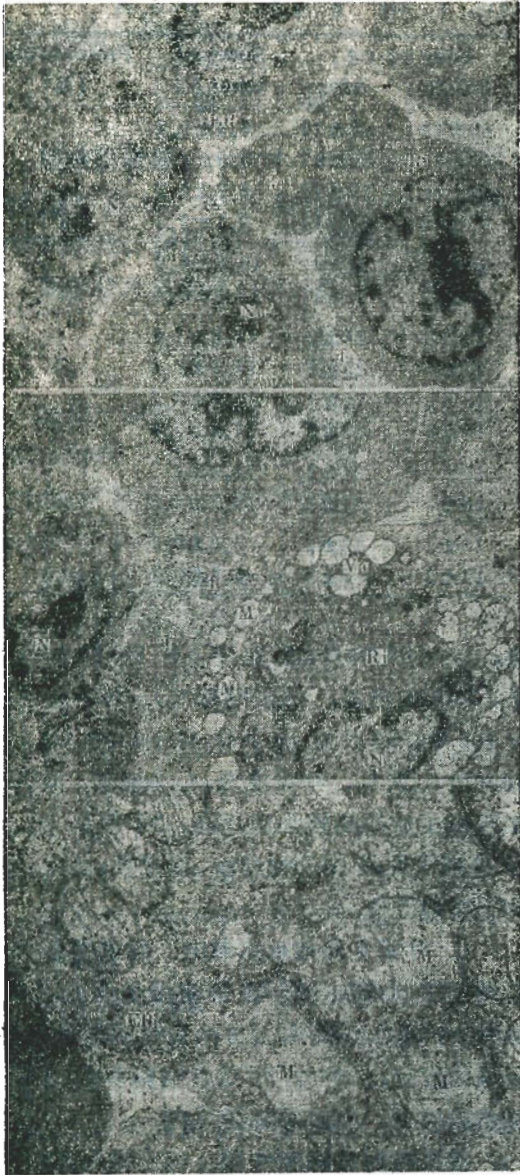


Fig 1. S180 ascites sarcoma cell. ER = endoplasmic reticulum; f = microvilli of cell membrane; f' = microvilli of plasmalemma; M = mitochondria; N = nucleus; Nu = nucleolus; Ri = ribosome. Control mice  $\times 6760$  (A); Treated mice  $\times 8060$  (B), 4 h after ip sophocarpine 30 mg/kg, f and f' were destroyed or diminished;  $\times 36400$  (C), M showed swelling, dissolution and even disappearance of inner cristae. Vacuoles, lipid droplets and lysosomes increased. Ri decreased.

$1.0 \times 10^5/\text{ml}$  ( $p < 0.01$ ). 瘤细胞总数, 对照组每鼠  $71 \pm 20 \times 10^3$ , 给药组  $39 \pm 23 \times 10^3$  ( $p < 0.05$ ).

3. 体外抑癌实验(台盼蓝染色法)<sup>(4)</sup> 槐果碱用 Hank's 液稀释后加入  $3 \times 10^6/0.1 \text{ ml}$  EAC 腹水细胞, pH 调至 7.0-7.4, 置 37°C 水浴内孵育, 计数瘤细胞蓝染率。结果证明: 槐果碱组的蓝染率随药物浓度增加和作用时间延长而增多, 形态呈现瘤细胞肿胀变形、细胞核固缩、溶解, 甚至消失, 但是随药物浓度降低而变化减轻。

**槐果碱对小鼠 S180(A)瘤细胞超微结构的影响** 小鼠 ip 接种 S180(A)瘤细胞后 d 4, 对照组 ip 生理盐水, 实验组 ip 槐果碱 60 或 30 mg/kg, 4 h 后抽腹水, 电镜观察。瘤细胞膜表面细长的微绒毛给药组较对照少, 细胞浆内大小不一的圆形或椭圆形的线粒体呈不同程度肿胀、崩溃、甚至形成空泡, 溶酶体增多, 核糖体减少, 细胞核改变不明显(图 1)。

**槐果碱对动物移植瘤及正常组织中核酸含量的影响** 核酸提取照文献<sup>(5)</sup>, DNA 测定用二苯胺法, RNA 测定用苔黑酚法。

1. 正常小鼠 18 只, 随机分为对照组与给药组, ig 槐果碱 60 mg/kg  $\times 7 \text{ d}$ , 此时脾组织 DNA 抑制 23%, RNA 抑制 22%。

2. 小鼠 U14 12 只和 S180 鼠 7 只, 随机分为对照组与槐果碱组, ig 或 ip 槐果碱 60 mg/kg  $\times 7-10 \text{ d}$ , U14 肿瘤组织 DNA 抑制 24-41%, RNA 抑制 7-28%; S180 肿瘤的 DNA 未减少, RNA 减少 23%。但均  $p > 0.05$ 。提示槐果碱对肿瘤核酸含量影响不明显。

**槐果碱对巨噬细胞吞噬功能的影响** 按照文献进行

1. 槐果碱对恶性葡萄胎患者皮泡巨噬细胞吞噬功能的影响 测定 18 人用药者的皮泡巨噬细胞吞噬功能: 平均吞噬率  $48.0 \pm 2.0\%$ , 平均吞噬指数是  $0.70 \pm 0.03$ , 临床用药在 1-3 月以上者, 其中 5 人在治疗过程中测定 2 次以上(相隔一个月), 结果证明: 先后两次的平均吞噬率分别是  $50 \pm 6\%$  及  $50 \pm 8\%$ , 平均吞噬指数分别是  $0.8 \pm 0.4$  及  $0.7 \pm 0.5$ ,  $p > 0.05$ 。

2. 槐果碱对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能

Tab 4. Effects of sophocarpine on the concomitant tumor immunity in S 180-bearing mice. A = S180 tumor cell challenge (control). B = S 180 tumor cell immune + challenge. C, D = immune + challenge + sophocarpine. n = 10. \*p > 0.05 \*\*p < 0.05

Group	Dose (mg/kg × d)	Tumor wt (g)	Multiple of tumor growth	Thymus coefficient	Spleen coefficient
A	—	3.8 ± 0.9	—	0.0018	0.0116
B	—	2.1 ± 0.4	—	0.0017	0.0133
C	120 × 1	2.5 ± 0.6	0.32	0.0014*	0.010*
D	60 × 6	1.9 ± 0.5	0	0.0011**	0.014

的影响。取 CFW 小鼠 55 只, ip 0.2% 肝糖原 2 ml 刺激巨噬细胞渗出液, 随机分为对照组、槐果碱组、环磷酰胺组。结果: 槐果碱组的吞噬率是 27 ± 7% 和吞噬指数 0.30 ± 0.10 均低于对照组 (33 ± 6%, 0.53 ± 0.20) 而高于环磷酰胺组 (12 ± 4%, 0.21 ± 0.10), p < 0.05-0.01。

以上实验提示: 槐果碱在人治疗过程中对巨噬细胞吞噬功能无明显影响, 而对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的抑制作用没有环磷酰胺明显。

#### 槐果碱对小鼠肿瘤相伴免疫功能的影响

取 C57BL 鼠 40 只, 用小鼠 S180 相伴免疫 (concomitant tumor immunity, CTI) 为指标并参照文献<sup>(6-7)</sup>观察 T 淋巴细胞免疫功能。结果: 攻击对照组小鼠肿瘤全部生长, 瘤重 3.8 ± 0.9 g; 免疫攻击组 (未给药) 小鼠的瘤重 2.1 ± 0.4 g; 免疫攻击组 (ip 槐果碱) 小鼠平均瘤重大于免疫攻击组 (未给药), 而小于攻击对照组; 瘤重增大倍数最高仅为 0.32 倍。实验说明: 槐果碱一次大剂量 100 mg/kg 冲击给药或者最大耐受量 60 mg/kg × 6 d, 连续给药对相伴免疫

功能均影响不大, 同时对胸腺系数及脾系数影响也不大 (表 4)。

## 讨 论

本实验证明槐果碱对多种动物实体瘤有中等度抑癌作用, 与临床报道对恶性葡萄胎有 87% 的治愈率<sup>(2)</sup>是一致的。槐果碱毒性低、对重要器官功能和骨髓无明显影响, 用药过程中不抑制机体免疫功能, 这些都是本药的显著优点。临床不少恶性葡萄胎患者在化学治疗中因为毒性大、免疫功能受损被迫中断治疗者在改用槐果碱后得以治愈。

槐果碱治疗量 ip 能中等度抑制癌细胞核有丝分裂并使瘤细胞总数和浓度下降, 说明存在一定程度直接杀伤癌细胞作用, 临床也报道了向瘤组织内直接注射槐果碱可使瘤结节干枯脱落。电镜发现 ip 槐果碱对 S 180(A) 癌细胞的变化主要在细胞膜及线粒体变性。槐果碱对小鼠 S180 瘤组织中核酸含量轻度下降。以上提示, 槐果碱的抗癌机理比较复杂。

致谢 肖 纯、叶 敏同志参加部分实验工作。

## 参 考 文 献

- 1 Orechhoff A, Proskurnina N, Konovalowa R. *Ber Dtsch Chem Ges* 1935; 68:431
- 2 江西省妇女保健院. 中医杂志 1980; 21:47
- 3 Finney DJ. *Probit analysis*. 2nd ed. London: Cambridge Univ Press, 1952; 236-45
- 4 Cooper EH, Bedford AJ, Kenny TE. *Adv Cancer Res* 1975; 21:59
- 5 Schneider W. *Methods Enzymol* 1957; 3:680
- 6 杨金龙、韩家娟、胥 彬. 药学报 1979; 14:12
- 7 Deckers PJ, Pardridge DH, Wang BS, Mannick JA. *Cancer Res* 1979; 36:3690

**INHIBITORY EFFECTS OF SOPHOCARPINE ON ANIMAL TUMORS**

LI Xue-mei\*, LI Lan-zhen\*, CHEN Shao-li\*, QIU Xiang-huan\*\*\*, YU Yue-hua\*,  
PAN Da-xin\*\*, ZOU Li-ling\*\*, YANG Zi-lan\*\*

(Dept Pathology\* and Microbiology\*\*, Jiang-xi Traditional Chinese Medical College, Nanchang 330006)

HAN Yu-sheng (Dept Electron Microscopy, Shanghai Second Medical College, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** Sophocarpine, an alkaloid isolated from *Sophora alopecuroides* L., is a new type of drug for choriocarcinoma.

In mice, rats and 615 inbred mice, the transplanted tumors of S180, U14, Lio 1, W256, and L 615 were inhibited moderately by sophocarpine. The rates of inhibition were 31-56% based on the tumor weights. No side effect was noted.

When sophocarpine was given ip to mice inoculated with S180 ascites sarcoma or Ehrlich ascites carcinoma or W256, the mitotic indices of cancer cells were moderately or slightly reduced.

The mitochondria of S180 sarcoma cells showed swelling and dissolution vacuolations were found inside the cytoplasm of tumor cells; The microvilli of the cell membrane were dimi-

nished.

When normal mice or S180, U14 solid tumor-bearing mice were given ig sophocarpine 60 mg/kg qd × 10 d, the contents of RNA and DNA in tumor or spleen decreased slightly.

In dogs iv sophocarpine 30 mg/kg qd × 23 d, no toxicity was seen. When the dose was increased to 45 mg/kg, mild reversible thrombopenia was observed.

Studies on the phagocytic reaction of macrophage and concomitant tumor immunity during sophocarpine treatment on mice showed no marked influence on immune activity.

**KEY WORDS** sophocarpine; phytogetic antineoplastic agents; lethal dose 50; toxicity; concomitant tumor immunity