

冬凌草甲素、博来霉素 A 5 和消瘤芥不同组合的抗肿瘤作用

张草沐、寿马钢¹、王绵英 (河南医科大学和河南省医学科学研究所, 郑州 450052)

提要 用冬凌草甲素(Orid), 博来霉素 A 5(BLM)和消瘤芥(NC)不同组合对移植瘤小鼠的生命延长率、体内肉瘤 180 细胞增殖抑制作用和体外艾氏腹水癌细胞的杀伤作用, 证明以 Orid + BLM + NC 和 Orid + BLM 组合方案的抗肿瘤作用最佳。

关键词 冬凌草甲素; 博来霉素 A 5; 消瘤芥; 合并用药; 预期寿命; 药物协同作用; 植物性抗肿瘤药

冬凌草甲素(oridonin, Orid)为唇形科香茶菜属植物冬凌草(*Rubdosia rubescens* Hemsl.)中的抗肿瘤成分⁽¹⁾。冬凌草、博来霉素 A 5(BLM)和消瘤芥(NC)合用治疗中、晚期食管癌(84人)的有效率为70%(缓解率31%)⁽²⁾, 而 BLM + NC(31人)的有效率仅为32%(缓解率4.5%), 本文报道Orid, BLM和NC不同组合的抗肿瘤作用的实验研究。

材 料

Orid为郑州化学制药厂生产, BLM为天

津河北制药厂生产, NC由上海制药十二厂生产。昆明种小鼠, C57BL×DBA/2杂交F1小鼠由本院动物室提供, 肉瘤180(S180), 艾氏腹水癌(EAC)及白血病P388均由本室提供。

方法和结果

各种组合对小鼠移植瘤的疗效比较 昆明小鼠分别ip接种S180和EAC瘤株, F1小鼠ip接种P388白血病瘤株, 次日按表1, 2剂量ip给药7d, 记录给药后体重, 60d存活鼠数及生命延长率(ILS%)。各种组合的实际疗效(ILS_{A+B}%)大于药物单独效应(ILS_A%或ILS_B%)的总合(Algebraic addition)为协同, 协同作用的评价用q值表达(见表1)。结果表明Orid + BLM, BLM + NC和Orid + BLM + NC对S180小鼠有协同作用, Orid + NC则拮抗(表1), Orid + BLM(同时给药)对S180, EAC和P388小鼠都有协同作用, 其疗效优于间隔

Tab 1. Effects of Orid, BLM and NC combinations chemotherapy on transplanted murine sarcoma. $\bar{x} \pm SD$. *p>0.05; **p<0.05; ***p<0.01

Dose, ip (mg/kg 7 d)			Mice	Survival days	Wt change on d 7 (g/mouse)	60-day survival mice	ILS (%)	Algebraic addition (%)		q	
Orid	BLM	NC						q ₁	q ₂		
0	0	0	16	15.5±2.8	+2.9±2.1	0					
7.5			8	15.9±2.9*	+1.8±1.6*	0	3				
	1.5		8	21±7*	+3.2±1.4*	0	36				
		0.5	8	17±4*	+4.3±1.2*	0	10				
	1.5	0.5	8	44±19**	+1.8±1.3*	4	183	46	14.7	4.8	
7.5		0.5	8	16.3±2.1*	+2.0±0.9*	0	5	13	0.2	-1.7	
7.5	1.5		8	56±7***	+0.9±1.2*	6	263	39	7.2	75.7	
7.5	1.5	0.5	8	57±7***	+1.1±2.4*	6	264	49			

ILS % Increase in life span %. Algebraic addition (%) is the algebraic addition of the values of ILS % determined for the 2 or 3 agents separately. $q_1 = (ILS_{A+B} - ILS_A) / ILS_B$, $q_2 = (ILS_{A+B} - ILS_B) / ILS_A$.

Tab 2. Effects of Orid and BLM combination chemotherapy on transplanted murine tumors. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$

Tumors	Dose, ip (mg/kg 7 d)		Mice	Survival days	Wt change on d 7 (g/mouse)	60-day survival mice	ILS (%)	Algebraic		q
	Orid	BLM						addition (%)	q ₁	
S 180	0	0	12	14.6±2.9	+0.6±1.7	0				
	7.5		9	20±5**	+0.9±1.9*	0	34			
		1.5	8	17±6*	+0.6±1.7*	0	17			
	7.5	1.5	9	52±12***	+0.2±1.0*	5	254	51	12.9	7.0
	7.5†	1.5	10	45±15***	+0.2±1.4*	4	188	51	9.1	5.0
EAC	0	0	10	23±5	+2.7±2.0	0				
	7.5		10	24±4*	+3.0±2.1*	0	4			
		1.5	10	28±13***	+3.0±2.3*	1	24			
	7.5	1.5	10	53±13***	+0.7±1.7*	6	130	28	5.3	26.5
	7.5†	1.5	10	33±16*	+0.8±1.8*	1	45	28	1.7	5.3
P 388	0	0	10	13.7±1.3	+0.4±0.5	0				
	7.5		10	15.5±2.7*	+0.1±0.57*	0	10			
		1.5	10	13.9±2.1*	+0.5±0.3*	0	2			
	7.5	1.5	10	30±18**	+0.2±0.6*	0	120	21	55.0	11.8

† 8 h interval.

8 小时给药组(表 2)。各组用药后体重变化不明显。

Orid + BLM 对小鼠体内 S 180 细胞增殖的影响 取小鼠 39 只 ip 接种 10^7 个 S 180 细胞, 30 只为对照组, 于接种后 1-10 d 各取 3 只小鼠计数全部腹水瘤细胞⁽³⁾, 绘制增殖曲线, 另 9 只小鼠分 3 组, 于接种后 d 4, d 5 连续两天 ip 给药, d 6 计数腹水细胞(图 1), 抑制率 = $(1 - \text{用药组活细胞数} / \text{对照组活细胞数}) \times 100\%$, Orid + BLM 的抑瘤率(83%)与单用 Orid(52%)和 BLM(44%)相比有显著统计学意义($p < 0.05$)。

联合方案对体外 EAC 的杀伤⁽⁴⁾ 无菌条件下取小鼠 EAC 细胞悬浮于含 10% 小牛血清 RPMI 1640 培养液中, 加入双抗, 调 pH 至 7.4, 等量分装, 使瘤液浓度为 5×10^5 细胞/ml, 药物按表 3 剂量加于含瘤液的培养瓶内, 每组 3 瓶, 置 37℃ 温孵 48 和 72 h 取出, 台酚蓝染色, 计数死亡率(蓝染率), 实验重复 2 次。Orid + BLM + NC 和 Orid + BLM 在两个时相的瘤细胞蓝染率明显大于单药及其它合并用药组(表 3),

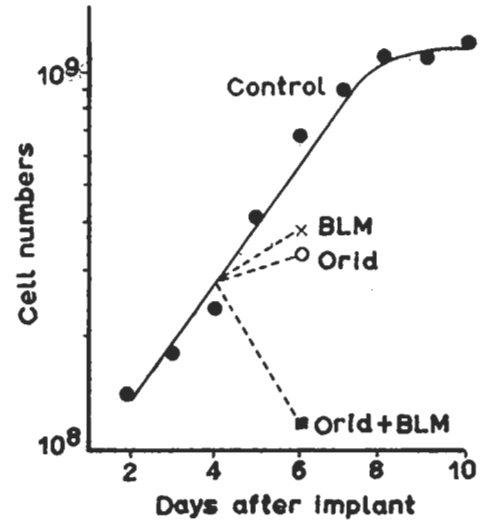


Fig 1. Effects of Orid and BLM on proliferation of S 180 cells. ● control, ○ Orid, × BLM, ■ Orid + BLM.

讨 论

本实验证明 Orid + BLM + NC 和 Orid + BLM 两种组合可明显提高带瘤小鼠的生存期, Orid + BLM 同时给药组获得 q 值最大, Orid +

Tab 3. Cytocidal effects of Orid, BLM and NC combinations on Ehrlich ascitic carcinoma.
 $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$

Concn ($\mu\text{g/ml}$)			Death rate (%)	
Orid	BLM	NC	48 h	72 h
0	0	0	4.5 \pm 1.2	6.0 \pm 2.3
	80		34 \pm 5 ***	38 \pm 20 **
	40		19 \pm 7 **	23 \pm 4 **
2			40 \pm 4 ***	43 \pm 11 **
1			20.69 \pm 0.24 ***	25 \pm 8 **
		64	40 \pm 5 ***	32.2 \pm 2.0 ***
		32	16 \pm 5 **	28.0 \pm 2.4 **
1		32	22 \pm 10 **	35.4 \pm 2.4 ***
1	40		43.6 \pm 2.0 ***	43 \pm 5 ***
	40	32	28 \pm 3 ***	33.2 \pm 1.4 ***
1	40	32	58 \pm 5 ***	79 \pm 6 ***

NC的 $q < 1$ 为减效, 同时对体外 EAC 的细胞毒和体内 S 180 细胞增殖抑制作用与前述结果相符, 各组在该剂量下对小鼠体重、活动状况未见不适。Orid 可抑制 ^3H TdR 参入 DNA⁽⁶⁾, 阻止细胞有丝分裂和引起 G 2 + M 期细胞堆积⁽⁶⁾。BLM 可与 Fe^{3+} 结合成 Fe^{3+} -BLM 复合物^(7,8), 在 NADPH-P 450 还原酶作用下形成 Fe^{2+} -BLM, 在氧的参与下释放出 O_2^- , 从而引起 DNA 损伤和脂质过氧化作用, 肺纤维化是该药的限制性毒性。NC 为烷化剂⁽⁹⁾, 化疗指数高, 但胃肠及骨髓毒性严重。鉴于这些特点, 药物的不同组合必然产生协同、相加或拮抗, 从中选择最佳方案指导临床用药, 减少化疗药物的用量和毒性。本实验与临床治疗食管癌报

道基本一致, 可以预期以 Orid + BLM + NC 和 Orid + BLM 最佳方案施于某些肿瘤患者将有意义。

致谢 叶启霞同志担任部分技术工作

参 考 文 献

- 1 河南省医学科学研究所药理药化组. 一种新的抗肿瘤物质——冬凌草素. 科学通报 1978; 23 (1): 53
- 2 王端林、高保罗、熊沐霖、梅其达、范魁生、左中孔. 冬凌草与化疗合用治疗食管癌增效作用的探讨. 中华肿瘤杂志 (待发表)
- 3 Fujimoto J. Intracellular distribution of (^{14}C) bleomycin and the cytotoxic effects of bleomycin in the mouse tumor. *Cancer Res* 1976; 36: 2248
- 4 Cooper EH, Bedford AJ, Kenny TE. Cell death in normal and malignant tissues. *Adv Cancer Res* 1975; 21: 59
- 5 王绵英、张覃沐、林 晨. 冬凌草甲素对小鼠白血病 L1210 细胞动力学的影响. 中国药理学报 1985; 6: 195
- 6 林 晨、宋平根、薛绍白、胡云英、张覃沐. 应用流式细胞光度术研究冬凌草甲素对 HeLa 细胞周期的影响. 科学通报 1984; 29: 1077
- 7 Burger RM, Peisach J, Horwitz SB. Mechanism of bleomycin action: *in vitro* studies. *Life Sciences* 1981; 28: 715
- 8 Scheulen ME, Kappus H, Thyssen D, Schmidt CG. Redox cycling of $\text{Fe}(\text{III})$ -bleomycin by NADPH-cytochrome P 450 reductase. *Biochem Pharmacol* 1981; 30: 3385
- 9 上海药物研究所. 抗癌新药消瘤芥(AT-1258)的研究. 中华医学杂志 1974; 54: 693

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Sep; 7 (5): 457-460

Antitumor effects of different combinations of oridonin, bleomycin A5 and nitrocapane

ZHANG Tan-mu, SHOU Ma-gang, WANG Mian-ying

(He-nan Medical University and He-nan Institute of Medical Sciences, Zhengzhou 450052)

ABSTRACT The antineoplastic effects of the combinations of oridonin (Orid, 7.5

mg/kg) + bleomycin A5 (BLM, 1.5 mg/kg) + nitrocapane (NC, 0.5 mg/kg) and

Orid + BLM on the tumor-bearing mice (sarcoma 180, Ehrlich ascitic carcinoma and leukemia P 388) were synergistic as compared with the same dose of either Orid, BLM, NC alone or other combinations. Orid + BLM + MC increased the life span (IS) by 264% in S 180-bearing mice and Orid + BLM in ILS by 129% in EAC-bearing mice and 120% in P 388-bearing mice. The inhibitory rate of S 180 *in vivo* treated with Orid (7.5 mg/kg), BLM

(1.0 mg/kg) and Orid + BLM were 52,44 and 83%, respectively. Orid (1 µg/ml) + BLM (40 µg/ml) + NC (32 µg/ml) and Orid + BLM had a greater cytotoxic effect on EAC cells *in vitro* than either drug alone or other combinations.

KEY WORDS oridonin; bleomycin A 5; nitrocapane; drug combinations; life expectancy; drug synergism; phytogetic antineoplastic agents

* * * * *