

乙双吗啉和丙双吗啉在体外对 $[^3\text{H}]$ 胸苷、 $[^3\text{H}]$ 尿苷和 $[^3\text{H}]$ 亮氨酸参入艾氏腹水癌细胞的影响

王绵英、刘腾先、李国栋、张章沐 (河南省医学科学研究所药理组, 郑州 450052)

提要 乙双吗啉在 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 时仅抑制 $[^3\text{H}]$ TdR 参入 DNA, 在 $100\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 对 3 种前体物 $[^3\text{H}]$ TdR, $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu 参入均呈抑制现象。对 DNA 模板的作用方式为递增型。丙双吗啉 $100\ \mu\text{g}/\text{ml}$, 对 3 种前体物的参入亦有抑制作用, 对 DNA 模板的作用方式为递减型, 与丙亚胺作用于 DNA 模板的方式相同。

关键词 乙双吗啉; 丙双吗啉; $[^3\text{H}]$ 胸腺嘧啶核苷; $[^3\text{H}]$ 尿苷; $[^3\text{H}]$ 亮氨酸; 脱氧核糖核酸; 核糖核酸; 蛋白质; Ehrlich 瘤癌

乙双吗啉(bimolane, AT-1727)和丙双吗啉(probimane, AT-2153)系中国科学院上海药物研究所合成的两种新型抗肿瘤药物^(1,2)。它们对动物移植性肿瘤有明显的、广谱的抗癌作用, 毒性小, 化疗指数高^(3,4)。丙双吗啉的水溶性较乙双吗啉为好, 对小鼠 L 1210 白血病细胞周期的作用, 二者亦有区别^(2,5)。为了进一步探讨两药的抗肿瘤作用机理, 采用核素前体参入术研究乙双吗啉和丙双吗啉对 $[^3\text{H}]$ TdR, $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu 在体外参入 ECA 细胞的影响。

材 料

昆明种小鼠 3 只, $20.0 \pm 2.0\ \text{g}$, ♀♂兼用, 按常规方法 ip 接种 ECA 细胞 10^7 个。 $[^3\text{H}]$ TdR, $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu 比活性分别为 0.67, 1.1 和 $2.0\ \text{BGq}/\text{mmol}$, 均系中国科学院上海原子能研究所生产。PRMI-1640 培养液为美国 Dexter 公司产品。PPO 和 POPOP 为上海试剂一厂产品, 用西安 262 厂生产的 F-353 双道液体闪烁计数器测定放射性。

方法和结果

取接种艾氏腹水癌细胞(ECA)后 d 7 小鼠 1 只, 无菌条件下取出腹水, 将细胞 $900 \times \text{g}$ 离心沉淀, 用生理盐水洗涤一次。悬浮于 RPMI-1640 培养液中(作 $[^3\text{H}]$ TdR 参入者用不含小牛血清的 Hanks 液), 含 2.5% 小牛血清供实验用。实验分对照和用药组, 每组 3 管, 用药组每管加含药的 RPMI-1640(或 Hanks 液)培养液及瘤细胞悬液(含 1×10^6 个细胞), 于 37°C 保温 1 h 后, 加入 $5\ \text{ml}$ ssc 溶液(KCl $0.015\ \text{mol}/\text{L}$ 柠檬酸钠 $0.15\ \text{mol}/\text{L}$), $900 \times \text{g}$ 离心 2 min, 细胞重复洗涤一次后每管加入不含药的 RPMI-1640(或 Hanks 液)培养液。依次于 0, 0.5, 1, 2, 4 h 每管分别加入 $[^3\text{H}]$ TdR ($37\ \text{MBq}/\text{ml}$), $[^3\text{H}]$ UR ($56\ \text{MBq}/\text{ml}$), $[^3\text{H}]$ Leu ($56\ \text{MBq}/\text{ml}$), 37°C 保温 15 min 后立即置入冰浴中终止其作用。随即用抽滤法将细胞转移至玻璃纤维纸片上。依次用蒸馏水 $5\ \text{ml}$, 5% 三氯乙酸 $5\ \text{ml}$, 90% 乙醇 $5\ \text{ml}$ 洗涤。纤维纸片晾干后进行放射性测量, 闪烁液含 PPO 0.3% 和 POPOP 0.03%, 以甲苯作溶剂。对照组除不含药外, 其余操作同上。实验结果以用药组参入计数相当于对照组参入计数的参入率%表示。结果见表 1。

从表 1 中看出, 乙双吗啉和丙双吗啉对 $[^3\text{H}]$ TdR, $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu 参入均有明显抑制作用。且呈剂量相关性。在等剂量时, 两药对 $[^3\text{H}]$ TdR 参入的抑制明显大于 $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu, 且对 $[^3\text{H}]$ TdR 参入的抑制作用产生得较早。乙双吗啉 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 对 $[^3\text{H}]$ UR 参入有明显抑制作用, 而对 $[^3\text{H}]$ Leu 参入的抑制不明显。丙双吗啉 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 仅抑制 $[^3\text{H}]$ TdR 参入,

Tab 1. Effects of bimolane (AT-1727), probomne (AT-2153) and razoxane (ICRF-159) on the incorporation of [³H]TdR, [³H]UR and [³H] Leu into Ehrlich ascites carcinoma cells *in vitro*. n = 3, $\bar{x} \pm SD$. *p < 0.05, **p < 0.05, ***p < 0.01

Drug	Dose μg/ml		% of control group				
			0 h	0.5 h	1 h	2 h	4 h
AT-1727	10	[³ H]TdR	35 ± 9***	58 ± 12**	81 ± 6*	127 ± 15*	
		[³ H]UR	87 ± 11*		39 ± 7***	93 ± 20*	109 ± 16*
		[³ H]Leu	204 ± 25**		125 ± 12*	136 ± 9*	135 ± 24*
	100	[³ H]TdR	10 ± 3***	12 ± 6***	20 ± 7***	41 ± 9**	
		[³ H]UR	21 ± 7***		34 ± 11***	29 ± 10***	141 ± 20*
		[³ H]Leu	19 ± 5***		15 ± 4***	7 ± 10***	19 ± 11**
AT-2153	10	[³ H]TdR	94 ± 5*	68 ± 13*	66 ± 20*	51 ± 10**	
		[³ H]UR	106 ± 6*		54 ± 10**	102 ± 11*	125 ± 20*
		[³ H]Leu	207 ± 28**		165 ± 25**	48 ± 30*	177 ± 20**
	100	[³ H]TdR	28 ± 10***	32 ± 5***	16 ± 7***	12 ± 11***	
		[³ H]UR	51 ± 11**		59 ± 10**	56 ± 8**	83 ± 6*
		[³ H]Leu	104 ± 4*		114 ± 10*	51 ± 8**	114 ± 10*
ICRF-159	50	[³ H]TdR	173 ± 26**	78 ± 19*	63 ± 14*	45 ± 7**	
		[³ H]UR	169 ± 17**		65 ± 14*	127 ± 21*	207 ± 23**
		[³ H]Leu	166 ± 20**		227 ± 14***	108 ± 13*	105 ± 15*
	100	[³ H]TdR	176 ± 11**	39 ± 23***	66 ± 10*	48 ± 10**	
		[³ H]UR	162 ± 17**		46 ± 15**	30 ± 13***	181 ± 18**
		[³ H]Leu	136 ± 16*		78 ± 11*	54 ± 17**	135 ± 10*

100 μg/ml 时, 乙双吗啉和丙双吗啉对 3 种前体物参入均有明显抑制作用, 且作用时间持续较长。两者对 DNA 模板的作用方式有所不同。乙双吗啉无论小剂量或大剂量对 DNA 模板的作用方式均呈递增型。丙双吗啉则均呈递减型。由于丙双吗啉是在丙亚胺(ICRF-159)结构的基础上改造成的, 在与丙亚胺比较时发现, 丙亚胺低于 50 μg/ml 时, 对 3 种前体物参入均无明显抑制作用。在 50 μg/ml 和 100 μg/ml 时其作用与丙双吗啉基本相同, 但丙双吗啉对 [³H]TdR 参入的抑制作用较丙亚胺为强。

讨 论

采用特异核素前体参入术研究抗肿瘤药物对 DNA、RNA 和蛋白质合成的影响具有特异性强、灵敏度高、快速、能相对定量等优点。

乙双吗啉作用后, [³H]TdR 参入曲线属递增型, 推测乙双吗啉可能是通过干扰代谢的方式抑制 DNA 合成的。丙双吗啉作用后 [³H]TdR

参入曲线属递减型, 推测丙双吗啉可能是直接打击了 DNA 模板而抑制 DNA 合成的⁽⁶⁾。丙亚胺对 DNA 合成抑制作用方式与丙双吗啉相似。

细胞动力学研究证明, 乙双吗啉能使 G 2 期细胞减少, G 2 期细胞堆积、延缓⁽⁷⁾。而丙双吗啉则使 Tc, TG 1, Ts 明显延长, 对 TG 2 部分延长, 直接杀伤周期中的及 G 0 期细胞。本文结果指出, 乙双吗啉和丙双吗啉干扰 DNA, RNA 和蛋白质合成, 推测这可能是延缓细胞在周期中运行的主要原因。

致谢 任云峰教授提供乙双吗啉和丙双吗啉。

参 考 文 献

- 1 任云峰、舒汉丽、张覃沐、林 晨. 乙双吗啉(AT-1727)之研究. 科学通报 1980; 25: 189
- 2 Ren YF, Shu HL, Cai JC, et al. MST-02, a new antitumor agent. In: Abstracts of 14th International Congress of Chemotherapy. Japan Conversion Services Inc. 1985: 18-33
- 3 张覃沐、陈正玉、林 晨. 抗癌新药乙双吗啉

- (AT-1727)的药理研究. 药学报 1980; 15 : 577
- 4 张覃沐、王绵英、王庆端、任云峰. 丙双吗啉的抗肿瘤作用、毒性及对小鼠免疫功能的影响. 中国药理学报 1987; 8 : 369
- 5 Zhang TM, Lin C, Wang MY. Effect of bimolane (AT-1727) on the cell cycle of L1210 leukemia cells in mice. *Kexue Tongbao*, 1986; 31 : 1285
- 6 Painter RB. Rapid test to detect agents that damage human DNA. *Nature* 1977; 256 : 650
- 7 于刚、张覃沐. 乙双吗啉 (AT-1727)对L 1210 细胞动力学的影响. 药学报 1984; 19 : 481

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jul, 9 (4) : 367-369

Effects of bimolane and probimane on the incorporation of [^3H]TdR, [^3H]UR and [^3H]Leu into Ehrlich ascites carcinoma cells *in vitro*

WANG Mian-Ying, LIU Teng-Xian, LI Guo-Dong, ZHANG Tan-Mu
(Department of Pharmacology, Henan Medical Institute, Zhengzhou 450052)

ABSTRACT By means of liquid scintillation spectrometry, the effects of bimolane (AT-1727) and probimane (AT-2153) on the incorporation of [^3H]TdR, [^3H]UR and [^3H]Leu into the Ehrlich ascites carcinoma cells were studied. The incorporation of [^3H]TdR, [^3H]UR and [^3H]Leu into ECA cells was quickly inhibited after being exposed to AT-1727 and AT-2153, and the rate of inhibition showed a close relationship to the dosage of the drugs. The inhibition recovered after the removal of AT-

1727, but the recovering was slow after the removal of AT-2153. This experiment showed that AT-1727 exerted an inhibitory action on DNA synthesis in tumor cells through interfering the metabolism of DNA while AT-2153 through the damage of DNA template of tumor cells.

KEY WORDS bimolane (AT-1727); probimane (AT-2153); [^3H]thymidine; [^3H]uridine; [^3H]leucine; DNA; RNA; proteins; Ehrlich tumor carcinoma