

高三尖杉酯碱的解毒研究

陈瑞婷、陆志祥、程京立¹、胥 彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 小鼠 ip HHT 2 mg/(kg·d) × 5 d, 死亡率约 50%。鲨肝醇、黄芪多糖、刺五加多糖、EDTA-Na 等 10 药分别与 HHT 联合给予小鼠, 不能降低小鼠的死亡率。SPB 50 或 100 mg/(kg·d) 先 3 d ig, sc 或

ip, 然后与 HHT 联合给予, 几乎不引起小鼠死亡。此给药方案对小鼠脑瘤 B 22, 白血病 P 388 和 Friend 白血病的疗效影响不大。

1987年6月12日收稿 1988年3月3日接受

¹上海第二医科大学附属仁济医院

关键词 高三尖杉酯碱; 苯巴比妥; 脑瘤; 白血病 P 388; 解毒剂

抗肿瘤药高三尖杉酯碱(homoharringtonine, HHT)在临床应用 中副反应表现在造血系统、胃肠道、心脏和血压方面^(1,2), 防止治疗期间的不良反应或有助于提高 HHT 的疗效。为此, 我们选择了一些药物, 开展对 HHT 的解毒研究。

方法和结果

11 种药物对 HHT 毒性的影响

1. LD₅₀ 的测定 采用体重 18-22 g 正常昆明种小鼠 40 只, 每组 10 只, ip 不同剂量 HHT 5 d, 停药后观察 7 d, 用 Finney 概率单位法测得其 LD₅₀ 为 1.99(1.71-2.31)mg/kg。

2. 7 种药物与 HHT 同时给药的毒性观察 甘氨酸 300 mg/kg sc, 甘草酸铵 500 mg/kg sc, 黄芪多糖 200 mg/kg sc, 刺五加多糖 100 mg/kg sc, 鲨肝醇 15 mg/kg ig, 千金藤素 50 mg/kg sc 或苯巴比妥钠(SPB) 50 mg/kg ig、ip 或 100 mg/kg ig, 分别单独或与 HHT 2 mg/kg ip 同时给予已分组的正常♀小鼠, 共 5 d, 停药后观察 7 d 的死亡率。结果 7 种药物单独给予时, 除甘草酸铵可使 10% 小鼠死亡外, 其余各药均不致引起动物死亡。合并用药组小鼠的死亡率为 65-100%, 均超过 HHT 组。

3. 先给予其他药物再联合给予 HHT 的毒性观察 正常♀小鼠, 分组后, 先 3 d 分别给予甘氨酸(glycine)、人参皂甙(ginsenoside)、鲨肝醇(batyl alcohol)、氯丙嗪(chlorpromazine)、EDTA-Na、丙亚胺(razoxane)或 SPB, 与 HHT 联合用药组, 在 d 4 开始同时 ip HHT 2 mg/(kg·d), 再连续给药 5 d, 停药后观察 7 d 内小鼠死亡数。从表 1 可见, 在合并用药组中, SPB 3 种给药途径均能显著减少小鼠的死亡率; 其余各药均不能降低小鼠死亡数。

SPB 对 HHT 抗肿瘤作用的影响

1. 对小鼠移植瘤的疗效 取 18-22 g 昆明种或 DBA/2 小鼠进行试验。肿瘤细胞接种于小鼠腹腔或腹部皮下。实体瘤在停药后 1 d 处死小鼠, 称瘤重, 计算抑瘤率; 腹水型肿瘤

Tab 1. Influence of 7 agents on toxicity of homoharringtonine (HHT). The agents were initiated 3 d before HHT administration. SPB; sodium phenobarbital. %: mortality.

Drug (mg/kg)	Route × injection	Mice	%
HHT (2)	ip × 5	38	50
Glycine (300)	sc × 8	10	0
Glycine (300), HHT (2)	sc × 8, ip × 5	10	100
Ginsenoside (10)	ig × 8	10	0
Ginsenoside (10), HHT (2)	ig × 8, ip × 5	10	100
Batyl alcohol(15)	ig × 8	10	0
Batyl alcohol (15), HHT (2)	ig × 8, ip × 5	10	80
Chlorpromazine (2)	ip × 8	8	0
Chlorpromazine (2), HHT (2)	ip × 8, ip × 5	8	75
EDTA-Na (50)	sc × 8	20	0
EDTA-Na (50), HHT (2)	sc × 8, ip × 5	19	47
Razoxane (5)	sc × 8	10	0
Razoxane (5), HHT (2)	sc × 8, ip × 5	10	60
SPB (50)	ip × 8	18	0
SPB (50), HHT (2)	ip × 8, ip × 5	13	15
SPB (50)	ig × 8	18	0
SPB (50), HHT (2)	ig × 8, ip × 5	13	8
SPB (50)	sc × 8	10	0
SPB (50), HHT (2)	sc × 8, ip × 5	10	0
SPB (100)	ig × 8	23	0
SPB (100), HHT (2)	ig × 8, ip × 5	28	7
SPB (100)	sc × 8	10	0
SPB (100), HHT (2)	sc × 8, ip × 5	15	7

Tab 2. Effects of sodium phenobarbital (SPB) and homoharringtonine(HHT) on antitumor activity of leukemia P 388 or Friend leukemia-bearing mice. SPB was initiated 3 d before tumor implantation and ip × 9 d. HHT × 6 d. $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$

Tumor	Drug (mg/kg)	Mice	Survival time(d)
P 388 leukemia	Saline	10	9.9 ± 1.6
	SPB (50)	9	10.0 ± 6.6
	HHT (1)	10	15.2 ± 0.9*
	SPB (50), HHT (1)	10	16.7 ± 1.2*
Friend leukemia	Saline	13	14.7 ± 4.0
	SPB (50)	10	16.0 ± 2.6
	HHT (1)	10	21.3 ± 7.9*
	SPB (50), HHT (1)	10	22.3 ± 9.5*
	HHT (0.5)	10	25.5 ± 7.2*
	SPB (50), HHT (0.5)	9	20.6 ± 14.1

小鼠观察接种后 45 d 内平均生存天数⁽³⁾。给 SPB 的组在接种肿瘤前 3 d, 开始 ig 或 ip Sip

Tab 3. Effects of sodium phenobarbital (SPB) and homoharringtonine (HHT) on antitumor activity of brain tumor B 22 and Friend leukemia-bearing mice. SPB ip or ig $\times 10$ d and was initiated 3 d before tumor implantation. HHT ip $\times 7$ d. $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$

Tumor	Drug(mg/kg)	Mice	Route	Tumor weight(g)
Brain tumor B 22	Saline	50	ip	2.0 ± 0.4
	SPB(50)	34	ip	1.9 ± 0.4
	SPB(50), HHT(1)	34	ip, ip	$1.2 \pm 0.4^*$
	HHT(1)	34	ip	$1.2 \pm 0.4^*$
Friend leukemia	Saline	10	ip	1.8 ± 1.0
	SPB(50)	10	ip	2.2 ± 0.9
	SPB(50), HHT(1)	10	ip, ip	$0.6 \pm 0.5^*$
	HHT(1)	10	ip	$0.5 \pm 0.3^*$

50-100 mg(kg·d); HHT 在 d 4 接种肿瘤后给予, 剂量为 0.5-1 mg/(kg·d), ip 6-7 d. 结果见表 2 和表 3. HHT 对脑瘤 B 22、白血病 P 388 和 Friend 白血病的腹水型和实体型均有明显疗效, 合用 SPB 后仍有抗肿瘤作用。

2. 对 [^3H]Leu 和 [^{35}S]Met 参入肿瘤细胞的作用

2.1 体外试验 取接种 7 d 的白血病 P 388 或 Ehrlich 腹水瘤细胞, 用生理盐水洗去腹水, 瘤细胞以 Eagle's 溶液制成细胞悬液, 计数细胞后, 分装于试管中, 每管分别加入 HHT 1 或 10 $\mu\text{mol/L}$, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 15, 30, 60, 120 和 180 min 后, 加入 37 kBq [^3H] Leu 或 [^{35}S]Met, 再温育 30 min, 取出置冰浴中, 加入冰冷 10% TCA, 然后将沉淀液移至滤膜上, 抽滤, 再用 5% TCA, 无水乙醇各洗 2 次, 烘干滤膜, 置入液闪计数杯内, 加二甲苯闪烁液 (0.4% PPO, 0.01% POPOP) 用 YST-78 型自动液体闪烁计数器测定放射性。结果见图 1. HHT 1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度即呈现明显的抑制作用, 浓度增大, 作用更明显。HHT 对白血病 P 388 细胞和 Ehrlich 腹水瘤细胞的抑制强度相似, 但对 2 种标记前体物的作用似有差异, 对 [^{35}S]Met 的参入影响稍大。

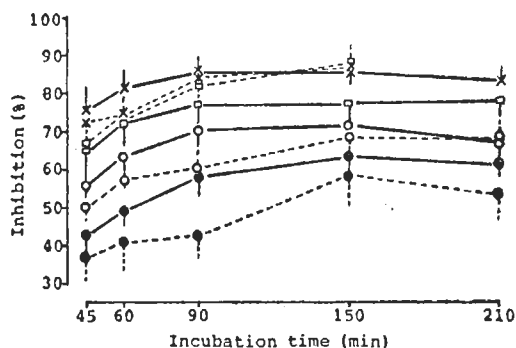


Fig 1. Effect of homoharringtonine 10 and 1 $\mu\text{mol/L}$ on [^3H] leucine (\circ , \bullet) or [^{35}S] methionine (\times , \square) incorporation into leukemia P 388 cells (---) or Ehrlich ascites carcinoma cells (—) *in vitro*.

2.2 半体内试验 取接种 7 d 的白血病 P 388 小鼠, 分 4 组, 各组分别 ip SPB 50 mg/kg, HHT 1 mg/kg, ip SPB 50 mg/kg 加 HHT 1 mg/kg, 对照组 ip 生理盐水, 3 h 后分别取瘤细胞, 洗去腹水和制备细胞悬液, 计数, 然后取一定量悬液, 加 [^3H]Leu 37 KBq/ 10^5 细胞, 温育 30 min 后同上法处理测放射性。结果 SPB 组 [^3H]Leu 的参入增加 $8 \pm 3\%$, HHT 组和 SPB 加 HHT 组分别出现 $42 \pm 10\%$ 和 $43 \pm 18\%$ 的抑制作用。所以 SPB 不影响 HHT 对肿瘤细胞蛋白质合成的抑制作用。

讨 论

在肿瘤化疗中鲨肝醇、千金藤素、氟丙嗪等常被用于防治抗癌药物引起的白细胞减少和胃肠道等反应; 刺五加提取物能减轻抗癌药物的毒性⁽⁴⁾; 我们实验室以前曾观察到甘草酸铵能显著对抗喜树碱的毒性⁽⁵⁾。本实验中这些药物单独应用于小鼠, 除甘草酸铵有 10% 死亡率外, 其余均不引起小鼠死亡, 但与 HHT 合用, 明显增加小鼠死亡率。在研究黄芪多糖的免疫作用时, 发现它对环磷酰胺的毒性无明显对抗作用⁽⁶⁾, 在我们的工作中, 黄芪多糖亦不能对抗 HHT 的毒性。HHT 在临床应用中个别病例出现窦性心动过速或短暂的奔马律。根据

Herman 等的报道⁽⁷⁾, 认为 EDTA 和丙亚胺能减轻阿霉素和柔毛霉素的心脏毒性; 但此两药与 HHT 合用, 虽未增加小鼠死亡率, 亦无对抗作用。值得注意的是 SPB 与 HHT 同时开始给药, 不能减少小鼠死亡率。若 SPB 先 3 d 给予, 再联合用药, 几乎不引起小鼠死亡, 说明能明显对抗 HHT 的毒性。可能是由于其诱导肝脏增生药物代谢酶, 并因此加速药物代谢的缘故^(8,9)。此给药方案对大剂量 HHT 的抗肿瘤作用影响不大。所以本实验结果为临床安全使用 HHT 提供了一定依据。至于在降低死亡率的同时, 对 HHT 其他毒性的影响有待研究。

参 考 文 献

- 1 上海市白血病防治研究协作组。三尖杉类酯碱化疗方案治疗急性非淋巴细胞性白血病的临床疗效分析。上海医学 1983; 6 : 319
- 2 Neidhart JA, Young DC, Derocher D, Metz EN. Phase I trial of homoharringtonine.

Cancer Treat Rep 1983; 67 : 801

- 3 符 彬、张素胤、陈瑞婷, 等。抗癌药物筛选中几种肿瘤模型敏感性的研究。科学通报 1975; 20 : 242
- 4 齐笑庸、张乃忠、王均衡, 等。刺五加对小鼠外周血白细胞数及骨髓系祖细胞集落形成的影响。中华血液学杂志 1983; 4 : 357
- 5 上海药物研究所药理研究室肿瘤组。喜树碱抗癌作用的实验研究。中华医学杂志 1975; 55 : 274
- 6 中国科学院上海药物研究所、上海第二医学院病理解剖教研组、电镜室。黄芪多糖的免疫促进作用。科学通报 1979; 24 : 764
- 7 Herman EH, Mhatre RM, Lee IP, Waravdekar VS. Prevention of the cardiotoxic effects of adriamycin and daunomycin in the isolated dog heart (36432). *Proc Soc Exp Biol Med* 1972; 140 : 234
- 8 Remmer H, Merker HJ. Drug-induced changes in the liver endoplasmic reticulum: Association with drug-metabolizing enzymes. *Science* 1963; 142 : 1657
- 9 Shuster L, Jick H. The turnover of microsomal protein in the livers of phenobarbital-treated mice. *J Biol Chem* 1966; 241 : 5361

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep; 9 (5) : 477-480

Study on antidotes of homoharringtonine

CHEN Rui-Ting, LU Zhi-Xiang, CHENG Jing-Li, XU Bin

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

ABSTRACT In 38 normal mice after ip homoharringtonine (HHT) 2 mg/(kg·d) × 5 d with the observation period of 7 d, about 50% of mice died. HHT in combination with glycine or monoammonium glycyrrhizinate (MAG), batyl alcohol cepharanthine, astragalus polysaccharides (APS), polysaccharides of *Acanthopanax senticosus* (PAS), ginsenoside, chlorpromazine increased the mortality of mice. EDTA-Na and razoxane had no influence on the toxicity of HHT.

HHT and sodium phenobarbital (SPB) injected simultaneously to mice also increased the mortality of mice. When SPB was administrated 3 d before HHT, the toxicity of HHT diminished. This regimen showed no marked influence on the antitumor activity of HHT at the dosage of 1 mg/kg.

KEY WORDS homoharringtonine; phenobarbital; brain neoplasm; leukemia P388; antidotes