

## 特利回生的体内外抗癌作用

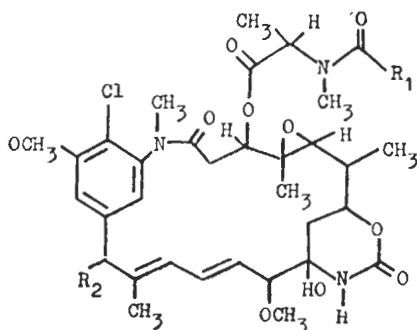
杨金龙、沈祖铭、陆丽娟、韩家娴、许承辉 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

李炳钧 (中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650021)

**提要** 特利回生(trewiasine, TWS)是美登素类化合物, 体内外研究表明有明显抗癌作用。TWS 2.5-10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  对艾氏癌和 P 388 白血病小鼠的生存时间分别延长 100-183% 和 58-81%。对 P 388 白血病小鼠的治愈率为 56-75%。TWS 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  即能抑制体外培养 P 388 细胞生长。TWS 能显著抑制肿瘤细胞蛋白质合成, 对 DNA 合成无明显抑制作用。

**关键词** 特利回生, 美登素, 白血病 P 388, Ehrlich 瘤, 植物性抗肿瘤药, [ $^3\text{H}$ ]亮氨酸, 蛋白质合成

特利回生(trewiasine, TWS)是大戟科特利回属滑桃树(*Trewia nudiflora* L)中分得的新化合物<sup>(1)</sup>, 结构与美登素(maytansine, MTS)相似。作者从西双版纳地区滑桃树种子中分得此化合物, 得率为 10  $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>(2)</sup>, 相当于美登木中提得 MTS 的 100-150 倍。滑桃树产于西双版纳地区, 为大乔木, 是一种速生树种, 其种子粒大, 易于收集, 资源远比美登木丰富。本文研究了 TWS 的体内外抗癌活性, 并对其作用机理作初步探讨。



Trewiasine

### 材料与 方法

化合物 TWS 由中国科学院云南热带植物

研究所提供, 从西双版纳滑桃树种子中提取。MTS 由云南热带植物研究所和上海药物研究所共同提供。

以少量 DMSO 溶解后用生理盐水稀释到所需浓度, DMSO 最终浓度  $<0.1\%$ 。临用时配制或低温保存。核素前体 [ $^3\text{H}$ ]胸苷和 [ $^3\text{H}$ ]亮氨酸均由中国科学院上海原子核研究所提供, 比活性为 1.54 和 2.11 TBq/mmol。用生理盐水稀释, 每实验样品加入量为 185 kBq/ml。

**动物和肿瘤** BDF<sub>1</sub> 小鼠, 体重 18-22 g 由中国科学院实验动物中心供应。小鼠肿瘤采用 P 388 白血病, Ehrlich 腹水癌(EC)和肉瘤 180(S-180), 均由本实验室长期保种传代。

**细胞株和培养液** P 388 白血病细胞由我室建株, 所用细胞为 132-176 代, 培养液为 RPMI-1640, 含 10-15% 小牛血清, 青链霉素 100-200 IU/ml。

**体内抗癌试验** 腹水型肿瘤<sup>(3)</sup>, 给小鼠接种肿瘤后次日 ip 药物, 每鼠 0.2 ml qd  $\times 7$  d, 每天记录小鼠死亡数。在接种瘤后 45 d 时对存活小鼠进行剖腹检查, 肉眼未发现癌性腹水以及瘤块时, 评定为长期存活或治愈, 生存时间按 45 d 计算。求得生存时间延长率  $\text{LSI} = (\text{T}/\text{C}-1) \times 100\%$ 。治愈小鼠以治愈率表示。实体型肿瘤在接种后 12-14 d 解剖, 称取瘤重, 求得瘤重抑制率。

**培养细胞生长抑制试验** 取对数生长期 P 388 细胞, 接种于试管或培养瓶中, 细胞数为  $5 \times 10^4/\text{ml}$ , 10 ml/瓶。在 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 37 $^\circ\text{C}$  培养 48 h 后, 加入药液。TWS 和 MTS 剂量均为 1 和 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。继续培养 24 和 48 h, 抽取细胞液, 进行活细胞计数。

**对细胞 DNA 和蛋白质合成的影响** P 388 细胞接种于 40 孔微量培养板中, 每孔  $10^5$  细胞。随即加入药液, 每孔 0.02 ml, 最终浓度为 10-1000 pg/ml。对照组加等量生理盐水。在 5%  $CO_2$  培养箱中 37°C 培养 23 h 后, 加入 [ $^3H$ ] TdR 和 [ $^3H$ ] Leu。温育 1 h 后, 用酸沉淀法<sup>(4)</sup>, 加入低渗液以及冰冷 20% TCA。将酸性细胞液滴在 49 型玻璃纤维膜上, 减压抽滤。取非酸性成分, 用液体闪烁仪测定其 cpm。

## 结 果

**对 EC 小鼠生存时间延长** 结果如表 1, 34 只对照带瘤小鼠, 平均生存时间为  $15.5 \pm SD 1.4$  d, 给小鼠 ip MTS 5 或 10  $\mu g/(kg \cdot d) \times 7$  d, LSI 为 61—74%, 与对照组相比, 有显著延长。2.5  $\mu g/kg$  剂量 MTS 对 EC 生长无抑制作用。以 TWS 2.5  $\mu g/kg$  给小鼠 ip, EC 小鼠生存时间即有显著延长, 5, 10 和 20  $\mu g/kg$  时均有较强的延长生存时间作用。

Tab 1. Effects of maytansine and trewiasine on the life span of Ehrlich carcinoma (EC)-bearing mice.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Drug $\mu g/(kg \cdot d) \times 7$ d	Mice	Life span (d)	LSI (%)
Control	34	$15.5 \pm 1.4$	—
MTS 2.5	8	$14 \pm 1$	10*
5.0	8	$27 \pm 10$	74***
10.0	8	$40 \pm 8$	161***
TWS 2.5	8	$44 \pm 4$	183***
5.0	8	$31 \pm 12$	100***
10.0	8	$42 \pm 10$	168***
20.0	8	$41 \pm 10$	167***

**对 P 388 白血病小鼠延长生命作用** 从图 1 可见, 2.5, 5 和 10  $\mu g/kg$  剂量 MTS 对 P 388 小鼠生命时间均有显著延长作用, 5-10  $\mu g/kg$  组的 LSI 为 85—93%, 2.5  $\mu g/kg$  组仅为 43.9%。TWS 在上述 3 组剂量时, 以 2.5 和 5  $\mu g/kg$  为佳, 10  $\mu g/kg$  略低, 延长率为 58%。

**对 P 388 白血病小鼠的治愈作用** 在表 2

中显示, MTS 2.5-10  $\mu g/kg$  对 P 388 小鼠生存时间即有延长, 治愈率为 50—81%。同剂量 TWS 的治愈率为 56—75%。

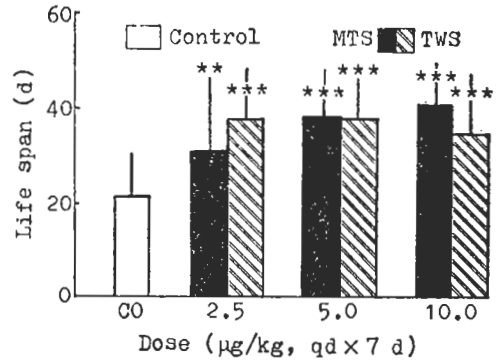


Fig 1. Life span increase (LSI) of leukemia P 388-bearing mice treated by maytansine or trewiasine. Control group  $n = 19$ , drug group  $n = 16$ ,  $\bar{x} \pm SD$ . \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Tab 2. "Cure" effect of MTS and TWS on leukemia P 388-bearing mice in 45 d. \*\*\* $p < 0.01$

Drug $\mu g/kg \times 7$ d	Mice	Number of "Cure"	"Cure" %
Control	19	0	0
MTS 2.5	16	8	50***
5.0	16	12	75***
10.0	16	13	81***
TWS 2.5	16	12	75***
5.0	16	10	62***
10.0	16	9	56***

**对小鼠 S-180 的抑制** 结果表明, MTS 和 TWS 对小鼠 S-180 均无明显生长抑制作用, 最高瘤重抑制率分别为 9.5% 和 16.8%。

**对体外培养 P 388 细胞生长的影响** 结果表明 1 pg/ml 浓度 MTS 和 TWS 对 P 388 细胞生长均无明显作用, 生长曲线与对照组相似。浓度增至 10 pg/ml 时(图 2) MTS 和 TWS 均有明显作用, 药物作用 24 h 时 MTS 组细胞数从  $17.0 \times 10^4/ml$  下降至  $10.3 \times 10^4/ml$ ; TWS 组从  $18 \times 10^4/ml$  下降至  $4.33 \times 10^4/ml$ 。

**对细胞 DNA 和蛋白质合成的影响** 从表 3 可见, TWS 主要作用在 P 388 细胞蛋白质

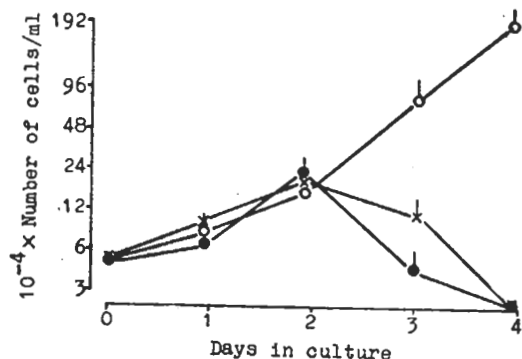


Fig 2. Growth inhibiting effect of trewiasine and maytansine on cultured P 388 cells. Control (○), TWS 10 pg/ml (●), MTS 10 pg/ml (×).  $\bar{x} \pm SD$  of 4 experiments

Tab 3. Effects of trewiasine on synthesis of macromolecules in leukemia P 388 cells. \* $p > 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Precursor	Concn (μg/ml)	cpm ( $\bar{x} \pm SD$ )	Test/Control (%)
$[^3H]$ TdR (into DNA)	0	5993 ± 1265	100
	10 <sup>-3</sup>	6250 ± 874	104.3*
	10 <sup>-2</sup>	6416 ± 1181	107.1*
	10 <sup>-1</sup>	7189 ± 1364	119.9*
	10 <sup>0</sup>	4312 ± 2434	72.9*
$[^3H]$ Leu (into Protein)	0	1972 ± 828	100
	10 <sup>-5</sup>	463 ± 145	23.5***
	10 <sup>-4</sup>	382 ± 30	19.4***
	10 <sup>-3</sup>	639 ± 148	22.4***
	10 <sup>-2</sup>	379 ± 40	19.3***

合成。即使药物浓度在 10 pg/ml 时, cpm 量也仅为对照组的 23.5%, 提示蛋白质合成有非常显著的抑制。TWS 对  $[^3H]$ TdR 参入 DNA 无明显作用, 在高剂量时 DNA 合成量为对照组的 73%。

## 讨 论

从本研究中可见, TWS 在体内抗肿瘤作用略高于 MTS。TWS 的主要作用是能延长 EC 以及 P 388 白血病小鼠生存时间。在利用小鼠比较不同剂量 TWS 和 MTS 的作用时发现, 在 2.5 μg/kg 小剂量时 TWS 已能显示疗效, 生存

时间延长率达 100% 以上, 而此剂量 MTS 对小鼠完全没有延长生命作用。TWS 和 MTS 对 P 388 白血病均非常敏感, MTS 2.5 μg/kg 能治愈 50% P 388 白血病小鼠, TWS 能治愈 75%。对 S-180 的抑制率, TWS 也略高于 MTS。TWS 和 MTS 在体外系统中 10 pg/ml 浓度对 P 388 细胞即有作用, TWS 强于 MTS。

TWS 的抗癌机理还不清楚, 从细胞形态观察中可见, TWS 能明显抑制细胞分裂, 阻滞细胞在早中期(未发表资料), 与 MTS 的作用相似<sup>(5)</sup>。从前体参入大分子的研究来看, TWS 的作用主要影响癌细胞蛋白质合成。TWS 对 DNA 合成无明显影响, 有关机理正在研究中。

MTS 是有效抗癌生物碱, 临床报道除对白血病有效外, 对某些实体瘤也有抑制作用<sup>(6,7)</sup>。由于 MTS 在美登木植物中含量颇低, 来源十分困难。我国虽也进入临床试用, 惟因药源短缺而中辍。滑桃树为大乔木, 我国资源丰富, 种子富油, 工业用于制造油漆, 从种子提取 TWS, 有利于资源综合利用。本实验证明 TWS 的抗癌作用略高于 MTS, 值得进一步研究。

## 参 考 文 献

- Powell RG, Weisleder D, Smith CR Jr. Novel maytansinoid tumor inhibitors from *Trewia nudiflora*: trewiasine, dehydrotrewiasine, and demethyltrewiasine. *J Org Chem* 1981; 46: 4398
- 李炳钧、许秀坤。滑桃树——一种美登素类化合物含量较高的国产原料植物。云南植物研究 1983; 5: 445
- 杨金龙、沈祖铭、韩家娟、胥彬。8-溴环磷腺苷的抗癌研究。科学通报 1979; 24: 670
- 杨金龙、韩家娟、许承辉, 等。罗丹明 6 GDN——氩离子激光对培养胃癌细胞(SGC-7901)的光辐射效应。肿瘤 1987; 7: 49
- Wolpert-DeFilippes MK, Bono VH Jr, Dion RL, Johns DG. Initial studies on maytansine-induced metaphase arrest in L1210 murine leukemia cells. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1735

6 Eagan RT, Creagan ET, Ingle JN, Frytak S, Rubin J. Phase II evaluation of maytansine in patients with metastatic lung cancer. *Cancer Treat Rep* 1978; 62 : 1577

7 Cabanillas F, Bodey GP, Burgess MA, Freireich EJ. Results of a phase II study of maytansine in patients with breast carcinoma and melanoma. *Ibid* 1979; 63 : 507

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Nov; 9 (6) : 508-511

### Antitumor activity of trewiasine *in vitro* and *in vivo*

YANG Jin-Long, SHEN Zu-Ming, LU Li-Juan, HAN Jia-Xian, XU Cheng-Hui

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

LI Bing-Jun (Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650021)

**ABSTRACT** Trewiasine (TWS) is a maytansinoid isolated from *Trewia nudiflora* seeds, a natural product from the Xishuangbanna area of China. This study demonstrates that TWS possesses a significant antitumor activity *in vitro* and *in vivo*. TWS 2.5-10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7$  d ip prolonged the life-span of Ehrlich carcinoma and leukemia P388-bearing mice by 100-183% and 58-81%, respectively. The cure rate of TWS for leukemia P388-bearing mice was 56-75%. TWS  $10^{-5}$ - $10^{-2}$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  inhibited

the growth rate of P388 cultured cells remarkably. TWS inhibited the incorporation of [ $^3\text{H}$ ] leucine into cell protein with T/C% by 19-24%, but it had no significant effect on the incorporation of [ $^3\text{H}$ ]thymidine into DNA in cell culture.

**KEY WORDS** trewiasine; maytansine; leukemia P388; Ehrlich tumor carcinoma; phytogetic antineoplastic agents; [ $^3\text{H}$ ]leucine; protein synthesis