

# 乙氨芴酮的抗肿瘤作用及药理学研究

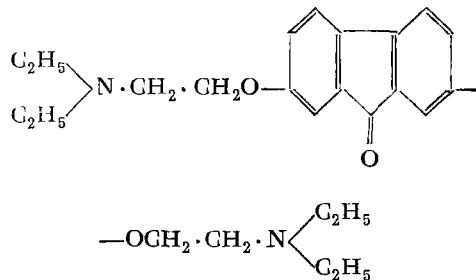
中国医学科学院药物研究所 药理室

现有抗肿瘤药多系细胞毒物质，这类物质在抑制肿瘤细胞繁殖的同时，也抑制骨髓等生长旺盛的正常组织内细胞的繁殖，其中许多药物还是免疫抑制剂，在治疗剂量下对机体免疫功能也有抑制作用<sup>(1~3)</sup>。因此寻找新型抗肿瘤药物乃是当务之急。

乙氨芴酮 (Tilorone) 是一种小分子的干扰素诱导剂，对多种病毒有抑制作用<sup>(4)</sup>，Adamson 曾报告它对某些动物肿瘤有明显疗效，但较系统的药理学及临床研究迄今未见报导<sup>(5)</sup>，本文报告我们关于乙氨芴酮实验药理学研究的结果。

## 材料及方法

乙氨芴酮化学上系 2,7-双-2-(二乙氨基)乙氧基-芴-9 酮，其结构式为：



我们的实验用药系由太原制药厂合成<sup>(6)</sup>，熔点为 229~232℃。

试验动物皆系我所动物房繁殖，除 615 纯种小鼠及供移植物抗宿主反应(G. V. H 反应) 试验所用的 CFW 与 C<sub>3</sub>H 杂交第一代乳鼠外，其余动物皆为杂种。小鼠体重为 18~23 克，大鼠体重为 50~70 克 (代谢试验用大鼠体重为 160~200 克)，性别未加选择。

**一、毒性试验：**按 Miller 与 Tainter 机率绘图法<sup>(7)</sup>求出对小鼠各种给药途径的半数致死量。用狗进行亚急性毒性观察，记录其体重变化，一般行为表现，以及血象、肝肾功能和尿沉渣的检查。麻醉狗的呼吸、血压及心电图检查按通常方法进行。心电图只记录标准第二导联。

**二、抗肿瘤作用：**肿瘤的接种方法、疗效标准及报告方法与以前相同<sup>(8)</sup>。所用瘤谱包括：瓦克癌 256、肉瘤 180 及小鼠白血病 L<sub>615</sub>。

**三、对机体免疫功能的影响：**用 615 纯种小鼠进行下列试验：

**1. 溶血空斑试验：**以绵羊红血球为抗原，每鼠用 4 亿红血球/0.2 毫升，尾静脉进行免疫。免疫后第 4 天取小鼠脾脏，用 Jerne 法<sup>(9)</sup>测定脾脏空斑形成细胞数。乙氨芴酮于免疫前半小时给药，同时设不给药对照组，将给药组每 10<sup>6</sup> 个脾细胞中空斑形成细胞数与对照组比较，以测验和评价两组间有无显著差别。

**2. 巨噬细胞吞噬试验：**用 0.2% 的肝糖元每鼠腹腔注射 2 毫升，以刺激巨噬细胞渗出。于第 3 天再向腹腔内注射洗过的鸡红血球 1~2 亿个/0.5 毫升，1 小时后取腹腔液涂片，用瑞氏染液或瑞氏姬姆萨混合液染色，显微镜下观察。用吞噬百分数 (即有吞噬功能的细胞数占细胞总数的百分数) 和吞噬指数 (即每个细胞吞入鸡血球的平均数) 两项指标表示巨噬细胞吞噬功能。

用 CFW 与 C<sub>3</sub>H 杂交第一代乳鼠进行。

**3. 移植物抗宿主反应(G.V.H 反应)试验:** 将乙氨基芴按 50 毫克/公斤剂量, 腹腔注射于 GFW 纯种的成年雄性小鼠, 连续给药 3 或 6 天, 以不给药对照鼠作为亲代供脾者, 取其脾脏, 制备成  $10^8$ /毫升的脾细胞悬液, 分别以 GFW (雄) 与 C<sub>3</sub>H (雌) 杂交第一代生后 8~10 天的乳鼠作为受者, 给每鼠腹腔注射 0.1 毫升脾细胞悬液, 于注射后第 8 天, 将乳鼠处死, 称脾重、体重并计算脾指数(S.I.):

$$\text{脾指数 S.I.} = \frac{S_1}{S_0}$$

$S_1$  为实验组 (不给药或给药组) 动物每 100 克体重中的脾重。

$S_0$  为对照组 (未注脾正常鼠) 动物每 100 克体重中的脾重。各给药组脾指数明显高于对照组时, 认为该药有增强细胞免疫机能的作用, 反之则为抑制。

**四、吸收、分布及排泄试验:** 乙氨基芴水溶液在 270 毫微米处有一吸收峰, 在一定范围内峰高与浓度成正比, 故采用分光光度法作定量测定。将生物样品用氯仿提取, 以 pH 8 的磷酸缓冲液洗涤后, 加 1% 盐酸水溶液再提取, 则乙氨基芴由氯仿层转入酸层, 吸取酸水溶液, 测定 270 毫微米处的吸光度。方法的特异性试验表明, 将上述酸水溶液以氯仿:丙酮:二乙胺 (8:2:0.2) 做为推进剂作板层分离 (硅胶) 时, 得  $R_f$  值为 0.51 的一点, 与乙氨基芴原药的点一致。

## 实验结果

### 一、毒性试验:

**1. 半数致死量:** 给药一次观察 14 天, 乙氨基芴对小鼠的半数致死量, 口服为  $800.0 \pm 48.0$  毫克/公斤, 腹腔注射为  $387.0 \pm 3.1$  毫克/公斤, 静脉注射为  $53.5 \pm 1.7$  毫克/公斤。静脉内给药时, 小鼠在死亡前出现呼吸困难、头震颤、眼球突出、进而抽搐

死亡。

**2. 亚急性毒性:** 选狗 6 只, 2 只为雄性, 4 只为雌性。给狗<sub>1</sub>静脉注射乙氨基芴 7.8 毫克/公斤, 连续 6 天后死亡。尸检见肝、肾等脏器呈瘀血状。病理学观察表明肺、肝、肾、胃肠、胰腺等器官明显瘀血, 脾白髓有小出血灶, 心脏未见实质性病变。查尿发现有大量革兰氏阴性杆菌及白血球, 夹杂少量红血球。给狗<sub>2</sub>相同剂量乙氨基芴, 连续 14 天, 所查各项指标未见明显变化 (表 1)。

表 1 乙氨基芴对狗的亚急性毒性观察  
(黄狗) 狗<sub>2</sub> 7.8 毫克/公斤 × 14 静脉注射

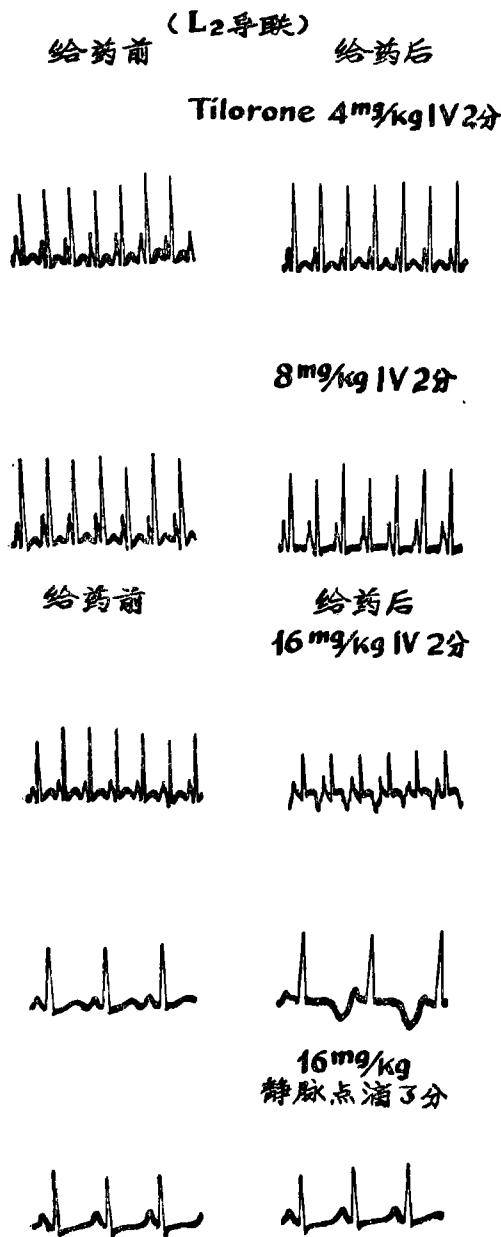
项 目	给药前	给药后天数	
		7	15
体重(公斤)	15.0	14.5	15.0
血红蛋白(克)	15.0	14.0	13.0
红血球(个/mm <sup>3</sup> )	679万	697万	768万
白血球(个/mm <sup>3</sup> )	10200	11100	10200
血小板(个/mm <sup>3</sup> )	18.6万	22万	19.5万
非蛋白氮(毫克/100 毫升)	34.0	31.0	29.0
B. S. P. (%)	20.0	32.0	22.0
尿沉渣		白血球 5—6	

给两只狗静脉注射乙氨基芴 3.9 毫克/公斤, 连续 14 天, 各项检查指标皆未见明显变化。口服给药时, 一只狗 (狗<sub>5</sub>) 每日喂以乙氨基芴 30 毫克/公斤, 连续 5 次。在给药后第 4 天, 动物呈现厌食, 第 5 天起未再进食, 第 6 天死亡。尸检发现心脏停止于收缩期, 胆囊内有胆汁瘀积, 其他脏器同狗<sub>1</sub>, 病理学所见也与狗<sub>1</sub>相似。口服给乙氨基芴 10 毫克/公斤, 连续 14 天的另一只狗 (狗<sub>6</sub>), 无论一般行为表现或其它生化指标皆未见明显异常。

**3. 乙氨基芴对麻醉狗呼吸、血压及心电图的影响:** 取狗 2 只, 用戊巴比妥钠麻醉。静脉注射乙氨基芴 4 毫克/公斤, 除血

压呈一过性下降外，对呼吸及心电图无明显影响。静脉注射 8 毫克/公斤时，呼吸频度加快，幅度变小，血压呈一过性下降，心电图显示 T 波变平。当剂量加大至 16 毫克/公斤时，呼吸明显受抑制，血压出现一过性下降，心电图显示 T 波倒置、QRS 波变小。当

### 图 1 麻醉狗的心电图



将相同剂量(16 毫克/公斤)的乙氨芴酮做静脉点滴时，呼吸、血压及心电图皆无明显变化(图 1)。

表 2 乙氨芴酮对大鼠瓦克癌<sub>256</sub>的疗效观察  
(每组 10 只动物)

组别	剂量 (毫克/ 公斤)	给药 途径	体重变化 (克)	瘤重 (克)	抑制率 (%)	P 值
对照治疗	—		+41.9	9.4		
	60×6	I.P	+16.5	1.6	83.0	<0.01
	40×6	I.P	+21.5	3.8	59.6	<0.01
对照治疗	—		+28.0	7.3		
	400×6	P.O	-6.2	0.3	96.3	<0.01
	200×6	P.O	+7.4	0.9	87.6	<0.01
对照治疗	—		+37.0	11.2		
	100×6	P.O	+13.6	2.8	75.0	<0.01
对照治疗	—		+43.3	8.5		
	60/日	I.P	+20.7	2.3	73.0	<0.01
	30/Bid	I.P	+36.3	3.3	62.0	<0.01

### 二、抗肿瘤作用：

1. 对瓦克癌<sub>256</sub>的作用：接种肿瘤后 24 小时，腹腔注射(I.P)乙氨芴酮 60 毫克/公斤及 40 毫克/公斤，连续 6 天，抑制率分别为 83% 及 60%，同样条件下，使大鼠口服(P.O)乙氨芴酮 400 毫克/公斤，200 毫克/公斤及 100 毫克/公斤，连续 6 天抑制率分别达到 96%、88% 及 75%。以相同剂量的乙氨芴酮分成每日两次(B:d)或三次腹腔注射时，其疗效并不比每日给药一次为好(表 2)。

2. 对瓦克癌<sub>256</sub>耐药(N-甲)瘤株的作用：接种肿瘤后 24 小时，每日腹腔注射乙氨芴酮 60 毫克/公斤，连续 7 天对肿瘤的抑制率为 56%(表 3)。可见乙氨芴酮与 N-甲酰溶肉瘤素间无交叉耐药。

3. 对小鼠白血病 L<sub>615</sub> 及肉瘤 180 的作用：如表 3 所示，乙氨芴酮在 60 毫克/公斤的剂量下，对肉瘤 180 的抑制率为 50%，但对小鼠白血病 L<sub>615</sub> 则无明显抑制作用。

表 3 乙氨芐酮对几种移植性肿瘤的疗效观察(腹腔注射)

肿 瘤	组别	剂 量 (毫克/公斤)	动 物 数	体 重 变 化 (克)	瘤 重 或 生 存 天 数	抑 制 率 或 生 命 延 长 率 (%)	P 值	
瓦克癌 256 耐 N-甲株	对照	—	8	+32.3	6.8(克)	56.0	<0.01	
	治疗	60×7	8	+16.5	3.0(克)			
肉瘤 180	对照	—	10	+3.8	1.4(克)	50.0	<0.01	
	治疗	60×8	10	+0.4	0.7(克)			
L 615	对照	—	5	+0.6	6.0(天)	23.3	>0.05	
	治疗	30/Bid	5	-0.4	7.4(天)			
	对照	—	5	+1.8	6.8(天)	9.0		
	治疗	60	5	-0.4	7.4(天)			

三、对机体免疫的影响：乙氨芐酮 50 毫克/公斤皮下给药一次，可使 L 615 纯种小鼠脾脏空斑形成细胞数增至对照组的 2.9 倍(表 4)。乙氨芐酮 60 毫克/公斤皮下给药二次(注射糖元前及注射鸡血球前 1 小时各一次)和四次(注射糖元当日及以后每日一次)，使小鼠腹腔内巨噬细胞的吞噬百分数分别为 64% 和 81%，对照组则为 45%。同

表 4 乙氨芐酮对 L 615 小鼠脾脏空斑形成细胞数的影响

组 别	动 物 数	剂 量 (毫克/公斤)	溶 血 空 斑 数 / $10^6$ 脾 细 胞	P 值
对照	10	—	121.0±15	
乙氨芐酮	10	50×1	351.0±23	<0.05

表 5 乙氨芐酮对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响

组 别	动 物 数	剂 量 (毫克/公斤)	平 均 吞 噬 百 分 数 (%)	P 值	平 均 吞 噬 指 数	P 值
对 照	6	—	45.0		2.57	
乙 氨 芐 酮	6	60×2	64.0	<0.05	3.44	<0.05
对 照	6	—	45.0		1.95	
乙 氨 芐 酮	6	60×2	81.0	<0.05	3.19	<0.05

表 6 乙氨芐酮对新生乳鼠 G.V.H 反应的影响

组 别	剂 量 (毫克/公斤)	动 物 数	平均体 重 (克)	平均脾 重 (毫克)	脾 重 (毫克)	脾 指 数 (S.I.)	P 值
					100 克体重		
正 常	—	11	6.8	42.5	625.0		
注 射 对 照	—	9	7.0	110.7	1580.0	2.53	
乙 氨 芐 酮	50×3	10	7.0	84.9	1220.0	1.95	<0.01
正 常	—	7	7.5	44.1	690.0		
注 射 对 照	—	7	7.8	122.1	1564.0	2.65	
乙 氨 芐 酮	50×6	6	7.6	90.9	1200.0	2.03	<0.01

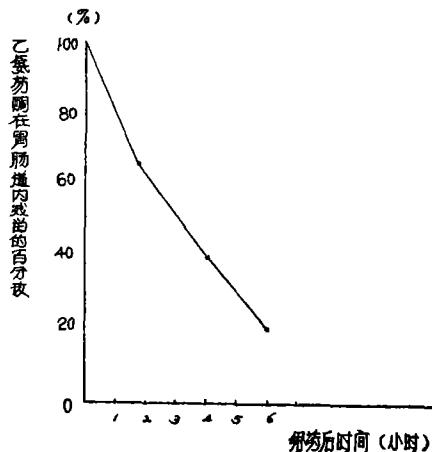
时吞噬指数也较对照组有不同程度的增高(表5)。乙氨芴酮可使新生乳鼠的G.V.H反应明显受抑制,对照组的脾指数为2.53及2.65,而连续给乙氨芴酮3次及6次的实验组脾指数则分别为1.95及2.03( $P<0.01$ )(表6)。

#### 四、乙氨芴酮在动物体内的吸收、分布及排泄:

**1. 自胃肠道的消失:**取大鼠8只,分为四组,饥饿过夜。次晨以乙氨芴酮200毫克/公斤灌胃。各组分别于给药后即刻、2小时、4小时及6小时处死。结扎消化道的两端,取出全部消化道,捣碎做成10%匀浆,经提取后进行测定。以即刻处死的含量作为100%,观察乙氨芴酮自胃肠道的消失速度。结果表明,2小时后消失34.9%,4小时后消失62.2%,6小时后81.7%的药物自胃肠道消失,如图2所示。

#### 图2. 乙氨芴酮自胃肠道的消失速度

(大鼠饥饿24小时后一次口服乙氨芴酮200毫克/公斤)



#### 2. 在动物体内的分布:

(1) 乙氨芴酮在正常大鼠组织中的分布:腹腔注射乙氨芴酮30毫克/公斤,16小时后脾中药物浓度最高,其次为肾、肝、肺、

卵巢、胰腺、心脏、胸腺、血浆、脑、脂肪和肌肉。在皮肤中也有分布。口服乙氨芴酮200毫克/公斤,6小时后肝中浓度最高,脾、肾、肺、胃及小肠次之,胸腺、脑、肌肉中的浓度则较低图3a,b。

(2) 乙氨芴酮在瓦克癌大鼠体内的分布:给移植瓦克癌256的大鼠,腹腔注射乙氨芴酮30毫克/公斤,16小时后脾中药物浓度最高,其次为肺、肝、肾、心。胸腺及肿瘤中浓度很低(图4)。

图3 乙氨芴酮在正常大鼠组织中的分布

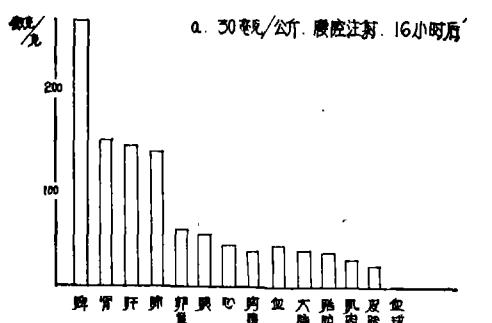


图3 乙氨芴酮在正常大鼠组织中的分布

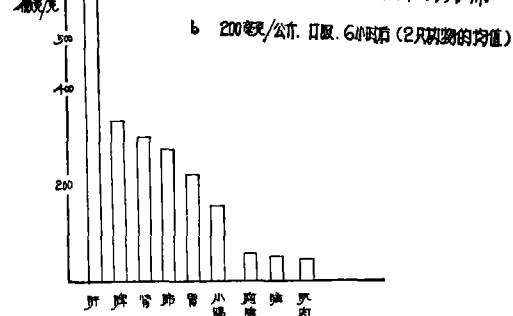
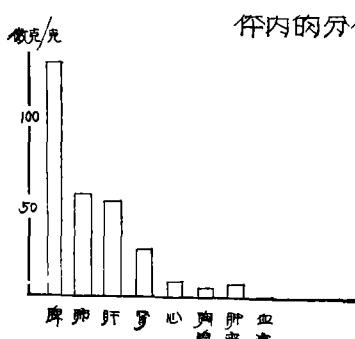
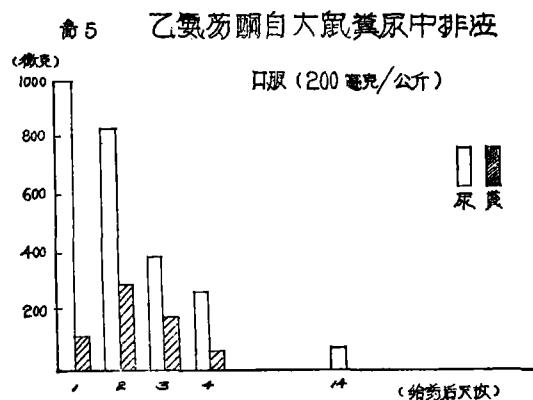


图4 腹腔注射乙氨芴酮在瓦克癌大鼠体内的分布



(3) 乙氨芴酮在狗组织中的分布：给狗口服乙氨芴酮 30 毫克/公斤，连续 4 天，第 5 天动物死亡。取各种组织做成匀浆，提取后测定药物浓度，结果发现脾中浓度最高，其次为肝、肾、肾上腺、大脑、延髓、胃及血清、胆囊中也有一定量的药物。

**3. 排泄：**取大鼠 3 只，一次口服乙氨芴酮 200 毫克/公斤，连续收集其粪便，测乙氨芴酮含量。结果表明，24 小时内经尿排出的乙氨芴酮量为口服总量的 2.6%，经粪排出量为 0.24%，说明乙氨芴酮主要经肾脏排泄。连续测定的结果显示，乙氨芴酮的排泄很慢。虽然给药后第 8 天起粪便中已无可测得之药物，但直到给药后第 14 天尿中仍排泄 88 微克的乙氨芴酮(图 5)，在给药后 26 天处死动物发现尸体中仍含有 1.345 毫克，在所测脏器中肝脏中浓度较高，其次为脾、肾及心脏，血液中无可测得之药物。



## 讨 论

Adamson 曾报告，乙氨芴酮可明显延长瓦克癌 256 大鼠的生存时间，我们的实验证明，乙氨芴酮除可明显抑制瓦克癌 256 的生长外，值得注意的是 N-甲酰溶肉瘤素耐药瘤株对乙氨芴酮却仍然敏感，说明乙氨芴酮与烷化剂之间无交叉耐药性。不同给药规程的实验结果表明，每日两次或三次给乙氨芴

酮的效果并不比每日一次的效果好，说明此药在体内代谢较慢，这一点已为乙氨芴酮在动物体内的残留试验所证实。

关于乙氨芴酮对小鼠的急性毒性，我们的结果与 Krueger 等<sup>(10)</sup>的结果基本一致。Kaufman 等<sup>(11)</sup>曾给三个志愿受试者服用乙氨芴酮，除一人发生呕吐外，一般只有轻度腹泻，未见其它毒性，但较深入的毒性研究还未见报告。

我们的实验证明：死于中毒剂量的狗，其病理变化主要为脏器的瘀血，麻醉狗的急性实验证明，静脉注射乙氨芴酮可引起一过性的血压下降，当剂量加大时心脏功能也受到损害，但改为静脉点滴时，血压及心电图皆无明显变化，这一点可供临床用药时参考。

我们采用不同方法测得乙氨芴酮在大鼠体内的分布趋势与 Wacker 等<sup>(12)</sup>报导的结果基本一致，但不完全相同。有趣的是在脑组织中也测得一定量的药物，说明该药可通过血脑屏障，用瓦克癌大鼠进行的分布实验表明肿瘤组织中药物浓度很低，说明该药对瓦克癌的治疗作用并非药物直接作用于肿瘤所致。乙氨芴酮在狗体内分布实验表明，胆汁中也有相当量的药物，且尸检时发现狗的胆囊中有 6 毫升胆汁瘀积，胆囊胀大呈球状。综合以上结果，可以认为乙氨芴酮可自狗的胆道排泄，入肠后可能有相当部分又被吸收，这似乎可以解释为什么它在动物体内排泄慢的原因。大鼠排泄实验表明，乙氨芴酮主要由尿路排泄，粪便中含量很少。

Wampler 等<sup>(13)</sup>发现乙氨芴酮不抑制骨髓，可提高机体抵抗力。Megel 等<sup>(14)</sup>的观察指出乙氨芴酮具有对体液免疫和细胞免疫的选择性作用。我们的实验证明乙氨芴酮选择性地作用于机体免疫反应，可使小鼠脾脏空斑形成细胞数明显增加，并兴奋吞噬细胞的功能，但对以 G.V.H 反应为指标的细胞

免疫则呈明显的抑制作用。鉴于单纯增强体液免疫和兴奋吞噬细胞的功能，在抗肿瘤作用中并不认为是关键性的环节，因此乙氨芴酮的抗肿瘤作用机理究竟如何还有待于进一步研究并加以阐明。

近年来大量工作证明病毒在肿瘤病因中占有重要地位。急性淋巴白血病人之所以不能持久缓介的原因之一可能也是因为病毒再诱发白血病的结果。因此从抗病毒物质中寻找新型抗肿瘤药已渐成为一重要的研究方向，而乙氨芴酮就是这一方面的新的一步。

## 总 结

乙氨芴酮是一种新型的抗肿瘤药物，对瓦克癌 256 有明显疗效，对肉瘤 180 也有一定抑制作用。它与 N-甲酰溶肉瘤素无交叉耐药性。乙氨芴酮对机体免疫反应具有选择性作用。毒性实验表明该药不抑制骨髓，对肝、肾功能无明显影响，但大剂量时可抑制狗的呼吸，使心电图发生改变。

乙氨芴酮在动物体内自消化道迅速吸收，主要经尿路排泄。其分布以脾、肺、肾、肝中浓度较高，脑中也有一定量的药物，说明它可通过血脑屏障，乙氨芴酮在瓦克癌

256 的肿瘤组织中药物浓度并不高，说明它的抗肿瘤作用机制较复杂。

## 参 考 资 料

1. Boronic M. e: al; Cancer Res 31:1140, 1971.
2. Hasegawa Y.: Chem Pharm Bull 18:2348, 1970.
3. Schwartz R. S.: Cancer Res 28:1452, 1968.
4. Krueger R. F. et al.: Science 169:1213, 1970.
5. Adamson R. H.: J Natl Cancer Inst 46:431, 1971.
6. 太原制药厂：未发表资料。
7. Miller T C et al: Proc Soc Exper Biol & Med 55:261, 1944.
8. 韩锐、王振纲、何适、朱天锡、籍秀娟、刘耕陶、张慧芸、范礼理、中华医学杂志 48:479, 1962.
9. Jerne N. K. et al: Science 140:405, 1963.
10. Krueger R. F. et al: Antimicrobial agents and chemotherapy 486, 1972.
11. Kaufman H. E.: Proc Soc Exper Biol & Med 137 (1):357, 1971.
12. Wacker A E et al: Naturwissenschaften 59 (11):520, 1972.
13. Wampler G. L.: Proc Am Assoc Cancer Res 13:120, 1973.
14. Megel H. et al: Proc Soc Exper Biol & Med 145:513, 1974.