

10-羟基喜树碱在小鼠体内的分布、排泄和对免疫的影响

杨金龙 韩家娟 胥彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海)

提要 本文研究了10-羟基喜树碱(下简称羟喜)在小鼠体内的分布、排泄以及对免疫功能的影响。静脉注射 ^3H -羟喜 10mg/kg后,放射性在血液中的消失呈双相曲线, $t_{1/2\alpha}$ 为4.5分, $t_{1/2\beta}$ 为29分。各组织中的放射性分布以胆囊和小肠内容物最高,其次为癌细胞,骨髓、胸腺和脾脏中的量较低。放射性主要从粪便排出,24小时中排出30%,48小时排出48%。放射性从尿中排泄较少,48小时内仅有13%。

以小鼠网织细胞肉瘤相伴免疫方法观察了羟喜对机体免疫反应的影响。结果指出,羟喜对免疫有抑制作用,用肿瘤异系移植同样发现有影响。抑制程度与给药方案有关,以每4天给药1次或1次大剂量注射的抑制作用较小,这现象可能与药物在体内的分布有关。

关键词 10-羟基喜树碱; 肿瘤相伴免疫; 肿瘤异系移植; 免疫抑制作用; 分布; 排泄

喜树碱是从喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)中提得,具有较强的生物活性,我们曾报道过它的抗癌作用⁽¹⁾。近年来,又从喜树中找到另一抗癌成份10-羟基喜树碱(以下简称羟喜),得率仅为2—3/10万⁽²⁾。实验证明,羟喜对多种动物肿瘤有效⁽³⁾。本文报道 ^3H -羟喜在小鼠体内的分布、排泄以及它对机体免疫功能的影响。

材料与 方法

一、分布、排泄实验 ^3H -羟喜由本所合成室非定位标记法制备,比活性为 $56\mu\text{Ci}/\text{mg}$ 。使用时用少量10% NaOH溶解后,加灭菌生理盐水稀释到1mg/ml浓度, pH 8—9。

实验用体重18—22g雌性ICR小鼠,于每鼠腹腔接种肝癌腹水细胞 10^7 个(0.2ml内)。接种后第7天按体重给每鼠尾静脉注射 ^3H -羟喜 10mg/kg,分别于注射后1,4和24小时处死小鼠,抽出癌性腹水,离心后称重待测。取部分肝、胆、肾、肺、脾、心、胃、肠、肌、脑、

骨髓和胸腺等组织以及少量血、尿、肠内容物和粪,作放射性测定。血液标本是在给药后3,5,10,20,30分、1和3小时从眼后静脉丛抽取,每次取量20 μl 。尿、粪通过代谢笼收集,在给药后3,6,24和48小时各收集一次。

所取标本加入甲酸和过氧化氢,在70—80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中消化,消化毕加1滴辛醇。然后加进10ml含0.03% POPOP和0.4% PPO的二甲苯闪烁液,以NE-8812型液体闪烁仪测定,按道比法校正⁽⁴⁾。各组织和腹水癌细胞以每0.1g湿重的dpm表示,血和尿的放射性用dpm/0.1ml表示,并以注射总量求得尿、粪中排出率。

二、免疫试验 羟喜采用上海第十制药厂生产的静注用针剂,药液用生理盐水稀释。

在观察药物对肿瘤相伴免疫性影响的实验中,选用体重18—22g的小鼠50只,随机分成5组。其中3组给不同方案的羟喜,停药3天后此3组加另1组小鼠,以网织细胞肉瘤进行免疫;于尾部皮下注射 2×10^7 瘤细胞,14天后切除肿瘤,即剪去尾巴,第7天时以 2×10^6 细胞皮下注射进行攻击,以攻击细胞的生长情况表明免疫反应的强弱⁽⁵⁾。

研究药物对白血病L-615异系小鼠移植成活率影响的实验,选用N₆615和F₁(N₆615雄 \times ICR雌)小鼠。白血病L-615在N₆615种小鼠进行传代。取体重18—22g的F₁小鼠179只,每鼠接种白血病L-615细胞 5×10^4 — 1×10^6 个,随后分成6组,其中3组给不同方案的羟喜,另3组分别作对照。观察1个月,以肿瘤成活率表示药物对免疫功能的影响。

1979年10月16日收稿 1979年12月28日修回
部分资料曾在1978年12月全国抗癌药物会议(常州)上报告

结 果

一、羟喜在血液中的廓清 给5只小鼠静脉注射 ^3H -羟喜后不同时间从血液中测得的放射性,用半对数坐标纸作图(图1)。在3分钟时测得32435 dpm,但放射性很快减弱,10分钟时为12400 dpm。到20分钟时脉冲数略有上升,以后缓慢下降,1小时后维持在低水平。图1中可见 ^3H -羟喜在血液中的衰变呈双相曲线, $t_{1/2\alpha}$ 为4.5分, $t_{1/2\beta}$ 约为29分。

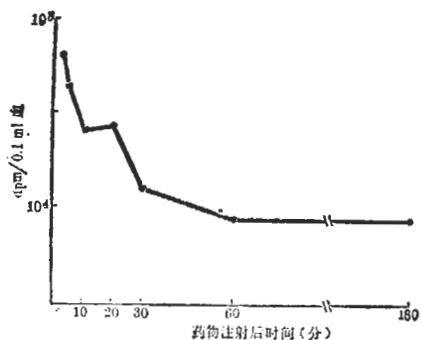


图1 小鼠静注 ^3H -羟喜后血液中的放射性

二、放射性在组织中的分布 给5只小鼠静脉注射 ^3H -羟喜后不同时间组织内放射性分布结果见表1。在1小时以胆囊和小肠内容物最高,分别达 909×10^3 和 862×10^3 dpm,其次为癌细胞 78×10^3 dpm。小肠、肝、骨髓、胃和肺组织的放射量在 $20-50 \times 10^3$ dpm之间,大肠、心、脑、肌、胸腺和脾组织中的放射性很低,其中以胸腺和脾脏的量最低。注射后4小时,胆囊的放射性显著上升,此时骨髓、肝和小肠内容物放射性下降,骨髓中的量与胸腺和脾相似。癌细胞中的放射性没有明显改变,心、肌和大肠组织中略有上升,到24小时,胆囊中的放射性水平近似1小时,除肠内容物和癌细胞的放射量维持较高水平外,其它都呈低水平,其中脑和脾组织的量最小。

三、放射性在粪、尿中的排泄 给6只小鼠静脉注射 ^3H -羟喜后,药物主要通过粪便排出。在24小时中总排出量为39%,其中30%

表1 静脉注射 ^3H -羟喜于小鼠后的分布

组 织	给药后的放射性(100 dpm/0.1g)		
	1小时	4小时	24小时
胆 囊	9091	51200	9794
小肠内容物	8624	913	418
癌 细 胞	776	774	436
小 肠	491	418	169
肝 脏	379	245	104
骨 髓	343	170	124
胃	314	262	114
肾	294	268	121
肺	278	230	81
大 肠	189	218	87
心	188	244	127
脑	184	197	29
肌	181	229	81
胸 腺	179	143	153
脾	152	165	39

从粪中排泄。24—48小时内排出22%,其中80%从粪中排出。放射性物质从尿中排出较少,6小时排出6%,24小时内排出9%。在24—48小时仅排出4%。注射后48小时内从尿、粪中的排出量近61%(表2)。

表2 小鼠静注 ^3H -羟喜后的放射性排出率(%)

时间(小时)	尿	粪	合 计
0—24	9	30	39
24—48	4	18	22
0—48	13	48	61

四、放射性在血中的浓度和排出量比较 给小鼠静脉注射 ^3H -羟喜后1,4和24小时,比较血、胆、尿、粪和癌细胞样本的放射量。从图2可见,血液中放射性随时间延长而下降,1小时为 424×10^2 dpm,24小时为 55×10^2 dpm。标记物离开血液后很快分布于各组织,以胆囊中的量为最高,高峰点在4小时,

然后很快从胆汁排于肠道，通过粪便排出体外。在1小时的粪中不能测到放射性，到4小时时显著增高，达 $5844 \times 10^2 \text{dpm}$ ，24小时还维持较高水平。随血浓度下降，尿中在1小时即有大量排出，放射性为 $3769 \times 10^2 \text{dpm}$ ，以后逐渐减少。在24小时内癌细胞的放射量一直维持较高水平。

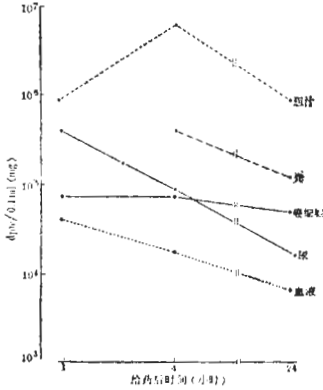


图2 小鼠静注 ^3H -羟喜后放射性排出和癌细胞中分布

五、羟喜对肿瘤相伴免疫性的影响 给未免疫小鼠接种网织细胞肉瘤时，10只小鼠的肿瘤全部生长，瘤重最小为882mg，平均瘤重 $1291 \pm 115 \text{mg}$ 。经过免疫后再接种的肿瘤有7只瘤重不到100mg，平均为 $113 \pm 59 \text{mg}$ 。在羟喜组中，以2mg/kg每天腹腔注射1次，连续9天组的瘤重最大，平均瘤重为 $389 \pm 104 \text{mg}$ 。12mg剂量每4天注射一次和40mg一次注射

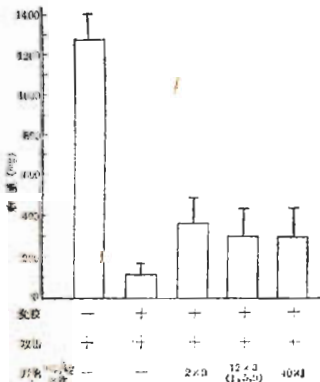


图3 羟喜对小鼠肿瘤相伴免疫性的影响

组的瘤重相似，分别为 272 ± 129 和 $207 \pm 173 \text{mg}$ 。表明第一种给药方案对免疫抑制最强，后两方案的抑制作用较小(图3)。

六、羟喜对异系移植肿瘤生长的影响 在 $\text{N}_6 615 \times \text{ICR}$ 杂交第1代 (F_1) 小鼠皮下接种 $5 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ L-615 白血病细胞，一般肿瘤成活率可控制在40—70%。从表3中可以看出，羟喜对免疫反应有一定抑制作用，以2mg/kg每天腹腔注射1次，连续9天的抑制作用最显著，肿瘤成活率比对照组增加44%；40mg/kg 1次注射和小剂量连续注射5针时，对免疫的抑制作用不显著。

表3 羟喜对L-615白血病异系小鼠移植成活率的影响

药物	剂量 (mg × 天)	鼠数	接种成活数	成活率 (%)	成活率增减 (%)	P值
生理盐水	—	26	16	61.5	+17	>0.05
羟喜	2 × 5	25	18	72.0		
生理盐水	—	47	25	53.2	+43.9	<0.05
羟喜	2 × 9	47	36	76.6		
生理盐水	—	18	11	61.1	+22.7	>0.05
羟喜	40 × 1	16	12	75.0		

讨 论

本实验发现给小鼠静脉注射 ^3H -羟喜后，在血液中的放射性廓清过程经历两个时相，初期廓清速度较快，在20分钟时略有上升，继之缓慢下降。此结果与VCR在大鼠和狗血液中的廓清曲线十分相似，惟后者回升时间在20—30分钟之间⁽⁶⁾。放射性在血液中的回升，可能与药物在体内的分布和排泄有关。药物离开血液后很快分布于各组织，在1小时，胆囊的放射性最高，相当于一般组织的20—50倍。由于胆汁排于小肠，故肠内容物和小肠的放射性也很高。药物在肠道内可以被吸收，因此血液中放射性的回升现象，很可能是由于肠-肝循环所致。

癌细胞中的放射强度仅次于胆囊和小肠内

容物,比肝脏的量要高一倍,可见药物对癌细胞有一定选择性。于第4小时,除癌细胞的放射强度未见减弱外,其它脏器如肝、骨髓、肺等组织放射性都有下降,但以骨髓的放射量下降最为明显,数值比心、脑、肌的量都低,与胸腺和脾脏的相似,相当于癌细胞放射量的19—22%。到24小时,各组织放射性已下降到低水平,脾脏中的量仅为第4小时的1/4。这些结果表明羟喜进入到免疫有关器官的量均比喜树碱低,推测药物对机体免疫功能的影响也可能较小,为此观察了羟喜对机体免疫功能的作用。从肿瘤相伴免疫性的结果来看,羟喜对小鼠免疫功能有一些抑制作用,但抑制程度比喜树碱小得多⁽⁵⁾;注射羟喜2mg/kg每天1次共注射9天,平均瘤重相当于对照组的1/4,瘤重增长倍数为2.4,在相同剂量下,喜树碱的瘤重接近对照组的一半,瘤重增长倍数为15。在肿瘤异系移植指标中也证明羟喜有一些免疫抑制作用,惟与治疗方案有关,其中以间歇或冲击给药方案较佳。羟喜与喜树碱对免疫抑制的差异很可能与药物在组织中的分布有关。当给小鼠静脉注射喜树碱后1小时,脾、骨髓中的放射性与肿瘤中的量相似,而给羟喜后1小时,癌细胞的量是脾和骨髓中量的2—5倍。给喜树碱后24小时,脾脏中的放射量还有增

加,而羟喜组明显下降。由此可见,药物对机体免疫功能的影响,除由药物本身的性质决定外,药物在体内的分布也起着重要作用。鉴于羟喜与喜树碱在体内分布的不同,导致两者排泄途径有很大差异,给小鼠静脉注射³H-羟喜后由于药物很快从胆汁排到肠道,因此放射性排泄的主要途径是粪便。24小时从粪便排出相当于总放射量的30%,尿中不到9%;而喜树碱的排泄以尿为主。临床研究证明羟喜对泌尿系统毒性很低,引起泌尿的病例不到5%,可能与此药的排泄主要通过粪便而不是尿有关。

羟喜对多种人体肿瘤有效,免疫抑制作用较低,引起泌尿等毒性反应也较少,是具有一定特点的抗癌生物碱。

参 考 文 献

- 1 上海药物研究所药理研究室肿瘤组. 中华医学杂志 1975年4月;55(4):274
- 2 徐任生、赵志远、林隆泽、胥传凤. 化学学报 1977年12月;35(3—4):193
- 3 中国科学院上海药物研究所. 中华医学杂志 1978年10月;58(10):598
- 4 陈瑞婷、花泽、杨金龙、韩家炯、张素胤、吕腓理、胥彬. 中华医学杂志 1977年8月;57(8):475
- 5 杨金龙、韩家炯、胥彬. 药学报 1979年1月;14(1):12
- 6 Castle MC, Margileth DA, Oliverio VT. *Cancer Res* 1976 Oct; 36(10):3684

Acta Pharmacologica Sinica 1980 Sep; 1(1):44—48

DISTRIBUTION AND EXCRETION OF 10-HYDROXYCAMPTOTHECIN AND ITS INFLUENCE ON IMMUNE RESPONSE

YANG Jin-long (C L Yang), HAN Jian-xian, XU Bin (B Hsu)

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

ABSTRACT ³H-hydroxycamptothecin was injected into the tail vein of mice in a dose of 10mg/kg. The decline of radioactivity in the blood showed a biphasic curve. The first biological half-life ($t_{1/2\alpha}$) was 4.5

minutes and the second ($t_{1/2\beta}$), 29 minutes. The highest radioactivities were found in the bile and intestinal contents, moderate in carcinoma cells, and lowest in bone marrow, thymus and spleen. The radio-

activity was excreted mainly via feces. The excretion amounted to 30% within 24 hours and 48% within 48 hours. The radioactivity in urine in 48 hours was 13% of the injected radioactivity.

The influence of 10-hydroxycamptothecin on cell-mediated immune response was investigated in mice bearing reticulum cell sarcoma with the method of concomitant tumor immunity. The results revealed that 10-hydroxycamptothecin had a slight depressive action on immune response. In experiments of heterotransplantation of

tumors, the immunosuppressive effect was also noticed. However, the degree of suppression depends upon the schedules of administration, among which the q 4 d schedule and the single large dose exhibited less inhibitory action. Such phenomenon appears to be related to the tissue distributions of the drug.

KEY WORDS 10-hydroxycamptothecin; concomitant tumor immunity; heterotransplantation of tumor; immunosuppressive effect; distribution; excretion