

②
175-178

紫杉醇注射液抗肿瘤作用的研究

R979.1

萧珍 王迎进

(陕西省药品检验所, 710061, 西安; 第一作者 43 岁, 女, 主管药师)

摘要 实验结果表明, 体外试验中紫杉醇注射液能明显杀伤卵巢 AO 10/17 细胞及肺癌 A549 细胞, 在一定范围内有明显的量效关系, IC₅₀ 约为 11.72 μg/mL; 体内试验中能明显抑制 S₁₈₀ 实体瘤的生长, 能明显提高 ARS 腹水瘤小鼠的生命延长率, 研究结果证实紫杉醇注射液确有抗癌作用。

关键词 紫杉醇注射液; 细胞毒作用; 肿瘤抑制率

分类号 R979.1

抗肿瘤作用 药理作用

抗癌药

紫杉醇是从红豆杉属植物中分离到的一个具有独特抗肿瘤活性的二萜类化合物, 与秋水仙碱、长春碱、长春新碱和鬼臼乙叉苷等属同类抗癌药, 但作用机制却不同。本文主要观察了紫杉醇注射液对体外、体内几种肿瘤的药理作用。

1 材料与仪器

1.1 药物

紫杉醇注射液〔批号: (96)LGB001~003〕由陕西绿贵宝天然产品有限责任公司提供; 注射用环磷酰胺(上海华联制药公司, 批号: 960413); 注射用硫酸长春新碱(广州明兴制药厂, 批号: 940915)

1.2 动物

ICR 品系小白鼠, 18~22 g, 雌雄各半由西安医科大学动物中心提供。

1.3 瘤株

荷瘤小鼠 S₁₈₀、ARS 均由第四军医大学提供; 瘤株卵巢瘤细胞 AO_{10/17}, 肺癌细胞 A₅₄₉, 由西安医科大学提供。

1.4 仪器

Olympus 显微镜 BHT(日本制造); PB303 电子天平(瑞士制造); HL-2920P 酶标自动分析仪(中国 262 工厂制造); SHEL·LAB-2300 二氧化碳培养箱(美国 SHELDON 制造)。

2 方法与结果

2.1 紫杉醇注射液体外抗肿瘤试验^{**}

2.1.1 对卵巢癌细胞株 AO_{10/17} 的细胞毒作用(MTT 法) 取瘤株 AO_{10/17}, 复苏后在含 10% 小牛血清的完全 RPMI 1640 培养液中, 定期传代, 待细胞生长至对数增长期, 以胰酶 EDTA 消化, Hank's 液洗两次, 悬浮于 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液中, 调整细胞浓度 0.3×10^6 /mL, 取 96 孔平底培养板, 每孔加入上述细胞悬液 100 μL 待用。实验设溶剂对照组, 阳性对照组(长春新碱)和紫杉醇药物作

* 收稿日期: 1996-10-24

** 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编. 1993. 137~139

用组。紫杉醇和长春新碱分 6 个浓度,均以 46.86 $\mu\text{L}/\text{mg}$ 的起始浓度对倍稀释。其浓度分别为 46.86, 23.43, 11.72, 5.86, 2.93, 1.47 $\mu\text{L}/\text{mg}$, 每个剂量设同种浓度下的溶剂对照。按上述剂量给培养板每孔加入受试物 100 μL , 另选 6 孔加入 100 μL 新鲜培养液作为本底, 每个剂量做 3 个平行样。于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% 二氧化碳条件下作用 4 h, 形成紫蓝色结晶, 弃上清液, 用新鲜完全培养液洗两次, 加入 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ DMSO 溶解形成的深蓝色颗粒, 用 HL-2920P 酶标自动分析仪, 在 570 nm 波长下读取光密度(OD), 根据下列公式, 计算杀伤百分率。

$$\text{杀伤百分率} = \left(1 - \frac{\text{实验光密度}}{\text{本底光密度}}\right) \times 100$$

实验结果见表 1(3 次试验结果), 结果分析, 溶剂对照组有一定的细胞毒性作用, 3 次实验中最高抑制率可达 19.20%。紫杉醇的杀瘤率减去相对应溶剂的杀瘤率等于紫杉醇本身的杀瘤率为 65.19%, 由表中可以看出, 紫杉醇的半数杀瘤率浓度(IC50)约为 11.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 1 紫杉醇注射液对 AO 10/17 瘤株的细胞毒作用

Tab. 1 The Cytotoxic Effect of Paclitaxel Injection AO 10/17 Cell in Vitro

组 别	不同浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的杀伤率/%					
	46.86	23.43	11.72	5.86	2.93	1.47
溶剂对照组	16.10	17.23	18.56	13.00	0	0
紫杉醇组	80.14	71.11	60.53	50.28	44.3	26.10
长春新碱组	43.00	39.56	28.01	17.32	14.31	11.52
溶剂对照组	18.54	19.51	16.58	13.40	0	0
紫杉醇组	82.92	80.49	71.16	59.25	45.12	28.29
长春新碱组	45.20	38.70	42.65	27.02	13.80	10.00
溶剂对照组	19.20	16.61	17.34	15.20	0	0
紫杉醇组	84.39	75.20	72.30	45.41	22.56	16.42
长春新碱组	58.42	45.69	32.58	25.60	23.41	14.00

2.1.2 对肺癌瘤株 A549, 复苏后以 MTT 法测定紫杉醇的细胞毒作用, 分组剂量及测定方法同 1, 结果见表 2(3 次试验结果)。试验结果显示, 紫杉醇注射液的细胞毒作用呈明显的量—效关系, IC50 约为 11.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 2 紫杉醇注射液对 A549 瘤株的细胞毒作用

Tab. 1 The Cytotoxic Effect of Paclitaxel Injection A549 Cell in Vitro

组 别	不同浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的杀伤率/%					
	46.86	23.43	11.72	5.86	2.93	1.47
溶剂对照组	21.23	22.61	17.03	10	0	0
紫杉醇组	82.30	81.05	70.4	47.52	45.08	38.30
长春新碱组	51.41	43.56	39.62	28.51	17.38	14.00
溶剂对照组	27.56	19.67	16.05	9.40	0	0
紫杉醇组	85.51	82.21	65.32	49.56	43.00	32.00
长春新碱组	58.28	49.41	42.08	36.50	26.32	16.41
溶剂对照组	31.06	21.47	19.26	14.36	10.00	0
紫杉醇组	85.53	79.65	67.58	50.40	45.20	30.05
长春新碱组	63.47	50.21	42.41	30.83	18.27	11.51

2.2 体内抗肿瘤试验

2.2.1 对小鼠 S_{180} 实体瘤的影响 取接种 7~10 d 的 S_{180} 实体瘤小鼠 1 只, 于无菌操作下取瘤块, 将瘤

体剪成小块,用玻璃匀浆器研碎,加灭菌生理盐水稀释成 1:4 的瘤细胞悬液。另取 ICR 小鼠 60 只,经右侧腋窝 Sc 接种液 0.2 mL/只。接种后次日随机分为 6 组,每组 10 只,♀♂ 各半。分生理盐水阴性组,溶剂对照组,紫杉醇大、中、小给药组和环磷酰胺阳性组,iv, qd, 0.2 mL/10 g 体重,连续 4 d,于接种后第 9 d 处死各组动物,称体重,分离瘤体并称重,计算瘤体比(每 100 g 体重所含瘤重求抑瘤率。疗效评价按下式):

$$\text{肿瘤抑制率} = \frac{\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100$$

实验共 3 次,结果见表 3。

表 3 紫杉醇注射液对 S₁₈₀ 瘤株的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The Effect of Paclitaxel Injection on Murine S₁₈₀ Sarcoma in Vivo

组别	动物数/个	剂量/mg · kg ⁻¹	瘤体比/g · g ⁻¹ · 10 ⁻²	抑制率/%	P 值
阴性对照组	10	—	8.35 ± 2.16	—	
溶剂对照组	10	—	8.36 ± 2.20	—	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	3.38 ± 1.84	59.59	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	4.58 ± 1.36	45.13	<0.01
紫杉醇小剂量组	10	0.5	4.91 ± 1.17	41.17	<0.01
环磷酰胺组	10	20	3.34 ± 1.15	60.02	<0.01
阴性对照组	10	—	8.12 ± 2.23	—	
溶剂对照组	10	—	7.74 ± 1.79	4.68	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	2.93 ± 0.93	63.92	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	4.01 ± 1.37	49.38	<0.01
紫杉醇小剂量组	10	0.5	4.95 ± 1.77	39.04	<0.01
环磷酰胺组	10	20	2.91 ± 0.77	64.16	<0.01
阴性对照组	10	—	8.17 ± 2.59	—	
溶剂对照组	10	—	8.70 ± 2.21	—	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	3.11 ± 1.63	61.93	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	4.51 ± 1.16	44.80	<0.01
紫杉醇小剂量组	10	0.5	3.99 ± 1.55	51.16	<0.01
环磷酰胺组	10	20	3.06 ± 1.32	62.55	<0.01

结果显示,紫杉醇各剂量对 S₁₈₀ 实体瘤的瘤体重均有抑制作用,有明显的量效关系,最大抑制率达 63.92%。同时显示,溶剂对照组 S₁₈₀ 实体瘤无明显抑制作用。

2.2.2 对 ARS 荷瘤小鼠腹小瘤的生命延长率的影响 取接种后 6~8 d ARS 荷瘤小鼠 1 只,处死后于无菌条件下抽取腹水 5 mL,加灭菌生理盐水按 1:3 稀释,另取 ICR 品系小鼠 60 只,体重 18~22 g,♀♂ 各半,每鼠 ip 接种 0.2 mL。24 h 分组与给药(除阳性对照组选用长春新碱以外)方法均同 2.21。接种后观察和记录动物死亡时间,计算生存天数用下式计算生命延长率。

$$\text{生命延长率} = \frac{\text{对照组平均生存天数} - \text{给药组平均生存天数}}{\text{对照组平均生存天数}} \times 100$$

实验共重复 2 次(共 3 次)结果见表 4。

表 4 紫杉醇注射液对 ARS 腹水瘤生命延长率的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The Effect of Paclitaxel Injection on Prolonged Life of Murine ARS Ascites in Vivo.

组 别	动物数/个	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	生存天数/d	生命延长率/%	P 值
阴性对照组	10	—	12.87±3.45	—	
溶剂对照组	10	—	13.10±2.98	—	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	21.69±4.85	68.53	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	20.32±4.83	57.89	<0.01
紫杉醇小剂量组	10	0.5	17.65±3.25	37.14	<0.01
长春新碱组	10	0.2	20.25±3.58	49.42	<0.01
阴性对照组	10	—	14.65±4.23	—	
溶剂对照组	10	—	14.02±3.96	—	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	22.00±4.93	50.31	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	20.89±5.02	42.59	<0.05
紫杉醇小剂量组	10	0.5	18.72±4.31	27.18	<0.05
长春新碱组	10	0.2	20.25±4.02	38.23	<0.01
阴性对照组	10	—	13.25±3.28	—	
溶剂对照组	10	—	12.68±4.01	—	>0.05
紫杉醇大剂量组	10	2.0	22.15±5.19	61.17	<0.01
紫杉醇中剂量组	10	1.0	20.47±5.04	54.49	<0.01
紫杉醇小剂量组	10	0.5	18.04±4.36	36.15	<0.05
长春新碱组	10	0.2	20.18±3.95	52.30	<0.01

结果显示,紫杉醇各剂量均能显著提高 ARS 荷瘤小鼠的生命延长率,最高延长率为 68.53%。

3 讨 论

综上所述实验结果表明,紫杉醇注射液在体内、体外均有明显的抗肿瘤作用,且抗癌谱广,属细胞毒类抗癌新药。有文献报道^[3-4]紫杉醇为抗癌作用机理独特的抗癌药物,它通过诱导和促进微管蛋白聚合,抑制细胞分裂而达到抗肿瘤作用,这就为紫杉醇的抗癌理论基础和临床应用,为开发天然抗肿瘤药物新途径提供了科学依据。

参 考 文 献

- 1 王一理,司履生.使用 WEHI 细胞和 MTT 试验检查单核细胞的细胞毒性.西安医科大学学报,1992,13(3),241~244
- 2 徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学.北京:人民卫生出版社,1991.1 423~1 433
- 3 魏昌华,姚春芳,恽榴红.新型抗癌药——紫杉醇.中国药学杂志,1996,31(5),259~263
- 4 俞培忠,李幼萍,吴锦霞.紫杉醇的提取分离和检测方法的研究进展.中国药学杂志,1996,31(7),390~393

责任编辑 徐象平

A Study on Antitumor Effect of Paclitaxel Injection

Xiao Zhen Wang Yingjin

(Shaanxi Institute for Drug Control, 710061, Xi'an)

Abstract Paclitaxel injection can inhibit the development of ovarian tumoric cell AO 10/17 and pulmonary tumoric cell A 549 in vitro with the dose-dependent manner, IC₅₀ is about 11.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$. It also inhibites the development of murine S180 sarcoma and increases the prologed life rate of murine ARS ascites in vivo, the results show that it has the antitumor effects.

Key words injection paclitaxeli; cytotoxicity; inhibition rate of tumor