

# 磺酰胺基取代的咪唑化合物对荷 H22 肝癌小鼠的放射增敏效应

严敏芬 金一尊 童顺高 许立明

(上海医科大学放射医学研究所 上海 200032)

**摘要** 研究全新放射增敏剂—磺酰胺基取代的咪唑化合物(化学名: 1-取代-4-磺酰胺基咪唑, 简称 IVb<sub>0</sub>)对荷 H22 肝癌小鼠的放射增敏作用。实验结果表明: 与空白对照组相比, 照射前腹腔注射 IVb 0.58~0.14g/kg 后, 肿瘤体积变小, 肿瘤相对增长速度明显减小, 肿瘤抑制率增加, 肿瘤生长延迟天数也有一定程度增加, 表现出 IVb 对肿瘤生长的抑制作用, 其中以照射前注射 0.29g/kg 剂量组最明显(肿瘤抑制率为 48%)。而单纯照射组、单纯用药(高、中、低剂量)组和空白对照组相比, 则没有明显的抑制肿瘤作用。与单纯照射组相比, 照射加用药 0.29g/kg, 肿瘤相对增长速度明显减小, 肿瘤抑制率增加, 肿瘤生长延迟天数也有一定程度增加。由此可见, IVb 对 H22 肝癌具有放射增敏作用。

**关键词** 1-取代-4-磺酰胺基咪唑化合物(IVb), 放射增敏剂, H22, 肿瘤抑制率, 肿瘤相对增长速度, 肿瘤生长延缓

目前, 肿瘤的放射治疗中尚有不少影响疗效的因素, 肿瘤组织中乏氧细胞的存在是主要因素之一, 因为乏氧细胞对射线的敏感性差。使用放射增敏剂以提高放疗效果, 日益受到了重视。现在, 临床试用的增敏剂很多包括合成药物和中草药, 但尚未得到一种可在临床上应用的理想放射增敏剂<sup>[1~3]</sup>。本实验室根据 Adams<sup>[4]</sup>的亲电子理论设计并合成的 1-取代-4-磺酰胺基咪唑化合物, 是一类化学结构全新的化合物, 从分子水平已研究了它们的放射增敏特性, 其中有几个化合物的增敏作用大于 MISO。IVb 作为该类化合物的代表, 进行整体实验。以前的实验证明<sup>[9]</sup>, IVb 对荷 S180 肉瘤和 ESC 艾氏腹水瘤小鼠有放射增敏效应, 本文研究其对荷 H22 肝癌小鼠肿瘤生长的抑制作用, 意在寻找高效、低毒的放射增敏剂。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及分组

实验采用昆明种清洁级小鼠。由上海医科大学动物部提供, 体重 18~22g。将选出的荷瘤小鼠随机分为 8 组。设空白对照组; 单纯照射组; 照射加用药(高、中、低剂量)组; 单纯用药(高、中、低)组。每组 8 只, 雌雄各半, 每笼 4 只。

### 1.2 药物及设备

IVb, 白色结晶状粉末。MW289.36, mp217~219°C, 上海医科大学放射医学研究所合成。<sup>137</sup>Cs-cammacell-40 型低剂量率研究辐射装置, 上海医科大学放射医学研究所(加拿大 Nurdion 国际公司制造)。剂量率: 1.011Gy/min; 照射野直径: 30cm; 照射距离: 35cm。

### 1.3 肿瘤模型

H22 肝癌小鼠由中科院上海药物研究所动物部提供。将荷 H22 瘤株小鼠处死, 抽取腹水,

用生理盐水以 1:5 稀释, 每只小鼠的右后肢接种 0.05mL (约  $1\sim 5\times 10^6$  个肝癌细胞) 腹水稀释液。所用器械、操作过程, 均采取无菌条件, 实验在超净台上进行。接种 7d 左右待瘤体长大后, 挑选瘤体  $200\sim 300\text{mm}^3$  的小鼠。

#### 1.4 实验方案

IVb 用生理盐水稀释, 配成 100mmol/L、50mmol/L、25mmol/L 3 种浓度, 按用药剂量腹腔注射一定体积。空白对照组: 腹腔注射生理盐水 0.5mL; 单纯照射组: 将小鼠固定于特制的盒子里, 在清醒状态下, 对肿瘤局部进行一次性<sup>137</sup>Cs $\gamma$  射线照射, 剂量为 10Gy; 照射加用药(高、中、低剂量)组: 于照射前 1h 分别腹腔注射 IVb 0.58g/kg、0.29g/kg 和 0.14g/kg, 照射条件同单纯照射组; 单纯用药(高、中、低剂量)组: 注射剂量同上。

#### 1.5 观察指标及统计处理

自分组处理后, 每 2d 逐一测量每只小鼠肿瘤的长(b)、宽(a), 按  $V=1/2a^2b$  计算肿瘤体积<sup>[6]</sup>, 连续测 10~20 次。(1) 肿瘤相对生长速度 ( $V_t/V_0$ ) 即测量时的体积 ( $V_t$ ) 与处理前原初体积 ( $V_0$ ) 的比值<sup>[7]</sup>。(2) 肿瘤抑制率为 (空白对照组肿瘤体积-实验组肿瘤体积)/空白对照组肿瘤体积。(3) 肿瘤生长延迟为是指受照射肿瘤从一个特定大小(A) 生长到某一特定大小(B) 所需的时间 ( $T_x$ ), 然后与对照组 ( $T_{\text{对照}}$ ) 相比较<sup>[8]</sup>, 有效的放射增敏化合物之  $T_x$  大于  $T_{\text{对照}}$ ,  $T_{\text{延迟}}=T_x-T_{\text{对照}}$ , 即表示它能使肿瘤生长延缓。实验数据用方差分析。

## 2 结果

### 2.1 各实验组肿瘤体积的变化

图 1 比较了空白对照组、单纯照射组、照射加用药组、单纯用药组的差别。结果表明, 自实验后第 6d 开始, 单纯用药的高剂量组、单纯照射组、照射加用药组与空白对照组相比, 肿瘤体积变小, 以照射加中剂量用药组减小最为明显; 单纯用药的中、低剂量组与空白对照组相比肿瘤体积略有变大, 但不明显; 照射加用药组与单纯照射组相比, 中剂量组肿瘤体积减小较明显, 高、低剂量组肿瘤体积减小不明显。

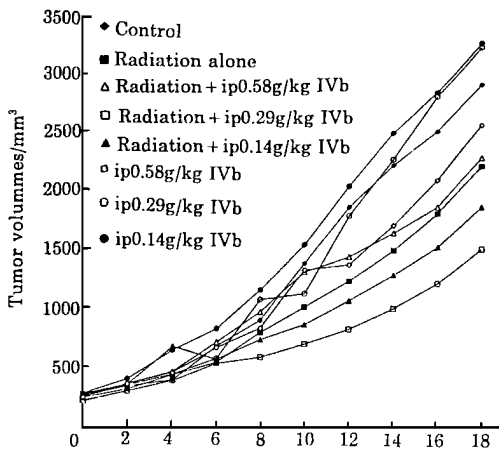


Fig. 1 Comparison of tumor volumes among different treatment groups

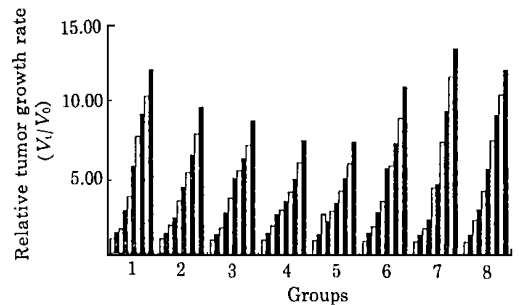


Fig. 2 Comparison of relative tumor growth rate  
The bars mean the relative growth rate of tumor at 0~18d

(1) control, (2) radiation alone, (3) radiation + ip 0.58g/kg IVb, (4) radiation + ip 0.29g/kg IVb, (5) radiation + ip 0.14g/kg IVb, (6) ip 0.58g/kg IVb, (7) ip 0.29g/kg IVb, (8) ip 0.14g/kg IVb

## 2.2 肿瘤相对增长速度

实验后不同时间(0~18d)各实验组肿瘤相对增长速度的比较如图 2。与空白对照组相比,照射加用药组肿瘤相对增长速度显示出不同程度减慢( $p \leq 0.05$ ),其中以照射加中剂量用药组减慢最明显( $p \leq 0.01$ );与单纯照射相比,照射加中剂量用药组对肿瘤的抑制明显( $p < 0.05$ ),而照射加高、低剂量用药组对肿瘤的抑制不明显( $p > 0.05$ )。处理结果如表 1 所示。

Tab. 1 Relative growth rate, inhibition rate and growth delay of IVb

Groups	Relative growth rate ( $\bar{X} \pm s$ )	Inhibition rate/%	Growth delay/d
Control	12.7 $\pm$ 4.99		
Radiat alone	10.0 $\pm$ 3.54	24	3.6
Radiat + ip 0.58g/kg IVb	8.5 <sup>(1)</sup> $\pm$ 2.50	22	4.5
Radiat + ip 0.29g/kg IVb	7.2 <sup>(2)(3)</sup> $\pm$ 2.20	48	6.2
Radiat + ip 0.14g/kg IVb	7.4 <sup>(1)</sup> $\pm$ 3.10	36	6.2
ip 0.58g/kg Ivb	10.0 $\pm$ 2.56	12	2.2
ip 0.29g/kg IVb	13.0 $\pm$ 4.34	-11	0
ip 0.14g/kg IVb	11.7 $\pm$ 3.73	-12	0

$n=8$  <sup>(1)</sup>  $p \leq 0.05$ , <sup>(2)</sup>  $p \leq 0.01$ , vs Radiat alone <sup>(3)</sup>  $p < 0.05$  vs control

## 2.3 肿瘤抑制率

$V_t/V_{比}$  值的变化仅表明肿瘤相对增长速度的快慢,肿瘤抑制率的变化则是各实验组与空白对照组治疗效果的比较。各实验组肿瘤抑制率如表所示,结果表明照射前加中剂量用药的抑制率最明显约 48%。

## 2.4 肿瘤生长延迟

根据肿瘤生长相对曲线,可算出各实验组肿瘤长大到原初体积一定倍数时所需时间。此值越大所需的时间越长,表明对肿瘤抑制作用越明显。空白对照组肿瘤生长到原初体积 8 倍时需 12.5d,各实验组长到原初体积 8 倍时的时间与空白对照组的差值则为肿瘤的延迟天数,表中所列结果表明各实验组(除单纯用药中、低剂量组)肿瘤体积长到原初体积 8 倍所需时间均有不同程度延长,即肿瘤生长延迟天数有一定增加,以照射加中、低剂量用药组延迟天数最长,表现 IVb 对肿瘤有一定程度的放射增敏作用。

## 3 讨 论

1963 年 Admas<sup>[4]</sup>提出了著名的亲电子理论,认为硝基咪唑化合物具有较强的亲电子能力,因而可使受射线损伤形成的生物靶分子自由基不能重新获得电子而修复,结果导致生物分子固定性的损伤,从而达到放射增敏的目的,但是硝基在体内代谢产生的亚硝基等具有较大的毒性,因此给临床应用带来了不可克服的困难。磺酰胺基取代的咪唑化合物是以磺酰胺基(—SO<sub>2</sub>—NH—)替代硝基(NO<sub>2</sub>),徐鸣等<sup>[9]</sup>报道 IVb 具有亲电子性能,从物化水平(ESR)研究,已经表明 IVb 具有较好的放射增敏效应(SER=2.36)。经脉冲辐射测定其单电子还原电位( $E_{1/7}$ )在-400mV 左右,证实其具有亲电子性能,并与 MISO( $E_{1/7} = -389mV$ )相接近。

通过小鼠急性毒性实验得 IVb 的腹腔注射 LD<sub>50</sub>=5.8g/kg,取其 1/20 即 0.29g/kg 为低剂量进行实验,但由于受溶解度限制,因此高剂量组根据其最大溶解度调整为 0.87g/kg。在预初实验发现照射前用药 0.29g/kg 对肿瘤抑制最明显,所以本次实验用药剂量调整为 0.14g/kg、0.29g/kg、0.58g/kg。实验分为 8 组,从肿瘤体积,肿瘤相对生长速度,肿瘤抑制率等几方面比较了各实验组的放射增敏作用。单纯照射、单纯用药对肿瘤生长没有明显抑制作用,照射前给药对肿瘤有明显抑制作用,在实验后观察的 20d 内,肿瘤生长速度减慢,肿瘤抑制率增加。实

验结果说明了 IVb 具有放射增敏作用,这与 IVb 的分子水平研究结果相一致,尤其以中剂量效果为最明显,提示 IVb 可能有最佳治疗浓度。实验结果显示 IVb 对肿瘤无直接抑制作用。本实验室的初步研究表明 IVb 的毒性较小,因此对 IVb 的进一步深入研究可望在临床中作为放射增敏剂应用。

## 参 考 文 献

- 1 郑秀龙,金一尊,沈瑜编. 肿瘤治疗增敏药. 上海科学技术文献出版社,1996. 1~25
- 2 郑秀龙,金一尊编. 肿瘤放射治疗增敏药物的研究与应用. 上海医科大学出版社,1990. 1~16
- 3 舒融. 国外医学 *cdot* 放射医学核医学分册,1995,19(6):273~275
- 4 Adams G E, Asquith J C, Dewey D L *et al*. *Int J Radiat Biol*,1971, **19**,575
- 5 Chapman J D, Raleigh J A, Borsa J *et al*. *Int J Radiat Biol*,1972, **21**:475
- 6 赵芳,孟祥顺,赵岚等. 辐射研究与辐射工艺学报,1996, **14**(3):177~181
- 7 Denekamp J. *J Radiat oncol Biol Phys*, 1979, **5**:1165~1174
- 8 Cividalli A, Arcangeli G, Cruciani G *et al*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1998, **40**(5):1163~1170
- 9 徐鸣,金一尊,迟传金等. 辐射研究与辐射工艺学报,1997, **15**(1):1~5

## RADIOSENSITIZATION OF THE MOUSE H<sup>22</sup> HEPATOMA BY SULFONAMIDE IMIDAZOLE

YAN Minfenquad JIN Yizunquad TONG Sungao XU Liming

(Shanghai Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

**ABSTRACT** The purpose of the present study was to investigate whether the sulfonamide-imidazole(IVb) had radiosensitization effects on H<sup>22</sup> tumor. Mice with H<sup>22</sup> epatoma were randomized into eight groups: control; radiation alone; radiation+ip 0.58g/kg IVb; radiation+ip 0.29g/kg IVb; radiation+ip 0.14g/kg IVb; ip 0.5g/kg IVb alone; ip 0.29g/kg IVb alone; ip 0.14g/kg IVb alone. IVb was diluted with normal saline and administered to the mice before irradiation. The dose of radiation is 10Gy. Each group was treated mentioned above<sup>[1]</sup>. The volume of mice's tumors was measured every two days<sup>[2]</sup>. We calculated relative tumor growth rates<sup>[3]</sup>, tumor inhibition rates and days of tumor growth delay<sup>[4]</sup>. At the doses of 0.58g/kg, 0.29g/kg and 0.14g/kg IVb with  $\gamma$ -ray radiation, the relative growth rates decreased and the tumor inhibition rates, the days of tumor growth delay increased, respectively. Among the three doses, the inhibition effects on tumors was most significant at the dose of 0.29g/kg. There was no effect when IVb was administered alone. The results indicated that IVb has some radiosensitization effects on H<sup>22</sup> hepatoma in vivo.

**KEYWORDS** 1-substituted-4-sulfonamide-imidazole, Radiosensitizer, H<sup>22</sup>, Tumor relative growth rate, Tumor inhibition rate, Tumor growth delay