

丙双吗啉对(AT 2153)乏氧的人肺腺癌细胞系 (SPC-A-1)的辐射增敏活性研究*

马承武 薛永泉 罗祖玉

(复旦大学, 上海)

摘要 一种属于哌嗪二酮类衍生物的抗癌新药—丙双吗啉(AT₂₁₅₃, MST-02)是由任云峰等^[1]合成的,它对多种肿瘤有显著作用,对小鼠肉瘤S₃₇也有辐射增强作用。本工作利用细胞集落形成技术,研究丙双吗啉对乏氧条件下离体培养的人肺腺癌细胞系(SPC-A-1)的辐射增敏效应,在药物浓度为0.1 mmol·dm⁻³时,增敏比(SER)为1.22, C_{1.6}值为0.29 m mol·dm⁻³。丙双吗啉是一种具有潜在能力的辐射增敏剂。

关键词 哌嗪二酮类衍生物(AT 2153, MST-02), 增敏比(SER), SPC-A-1细胞系, 集落形成技术

前 言

丙双吗啉(AT 2153, MST-02)是在ICRF 159基础上合成的一种新药^[1],它和乙双吗啉(AT₁₇₂₇)结构相似,同属哌嗪二酮类衍生物,除抗癌作用外,近年来,对它们是否具有辐射增敏活性,开展了研究。本室^[2,3]及其他学者^[4-7],曾研究了乙双吗啉的辐射增敏效应。同时,证明了乙双吗啉和丙双吗啉均无致突作用^[1,8]。

丙双吗啉是否和乙双吗啉一样,亦具有一定的辐射增敏效应?本文在乏氧条件下,照射离体培养的人肺腺癌细胞(SPC-A-1),以细胞集落形成率为指标,对丙双吗啉的辐射增敏活性及其不同浓度下的增敏比(SER),进行了初步探讨。

材 料 和 方 法

丙双吗啉由中国科学院上海药物研究所任云峰等合成,实验时用三蒸水将其溶解,再用培养液稀释成所需浓度。细胞系、照射源、通氮气及细胞集落培养条件,均同于林万敏等^[3]文中“材料和方法”。每次实验的每个实验点接种3—5个培养皿,每个集落以大于50个细胞为计数标准。图中曲线为3次以上独立实验的平均值,误差以 $\bar{X} \pm SE$ 表示。

(1) 慢性细胞毒性实验 由于细胞集落培养时间为10天,必须考虑残留于培养液中的丙双吗啉对集落形成率的影响程度,为此,首先要寻找出安全的药物浓度,本实验采用的药物浓度范围为0—0.02 m mol·dm⁻³。

(2) 急性细胞毒性实验 为了选择增敏实验中丙双吗啉的合适浓度,而设计此项实验。在不同

* 国家自然科学基金资助项目

浓度的药物与细胞作用 2 小时后,将细胞悬液中的药物浓度稀释到慢性毒性可以忽略不计的程度,然后进行细胞集落培养。实验采用的药物浓度范围 $0-1.0 \text{ m mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 。

(3) 增敏实验 根据急性毒性实验所选定的药物浓度,在细胞悬液中加入丙双吗啉,机械振荡 1 h,使两者充分作用。按不同照射剂量组分装细胞悬液于各玻璃瓶内,用 $0.5 \text{ L/瓶} \cdot \text{分钟}$ 的流量通入高纯氮(99.999%),半小时后即造成乏氧环境,然后以累加方式 X 射线照射。通氮和照射都在振荡条件下进行。将受照后的细胞悬液稀释成所需的细胞浓度,分装于培养皿中,再加入适量的培养液,进行集落培养,此时培养皿中的药物浓度相当于慢性毒性可以忽略的水平。稀释前,药物和细胞作用时间为 2 h,与急性毒性实验一致。

比较四种不同浓度的丙双吗啉 (0.1 、 0.2 、 0.25 、 $0.3 \text{ m mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) 的增敏活性,从药物浓度与增敏比的函数关系,求得丙双吗啉对 SPC-A-1 细胞的 $C_{1.0}$ 值。

实验数据以多靶—击模型 $S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$ 编制的曲线拟合程序,在 Commodore-64 微机上作拟合处理^[9]。丙双吗啉的增敏活性以增敏比(SER)表示, $SER = D_0(\text{对照组})/D_0(\text{实验组})$ 。

结 果

(1) 丙双吗啉对 SPC-A-1 细胞的慢性毒性和急性毒性实验。图 1 和图 2 分别表示慢性毒性和急性毒性实验的结果,随着药物浓度的增加,细胞相对集落形成率降低,曲线的斜率增大。从图 1 的曲线变化可知,当丙双吗啉的浓度小于 $8 \times 10^{-4} \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时,细胞的相对集落形成率大于 90%,从而可以认为残留在培养基中的药物低于此浓度时,其毒性可忽略不计。在急性毒性和增敏实验中,残留在培养基中的丙双吗啉浓度均低于 $8 \times 10^{-4} \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 。

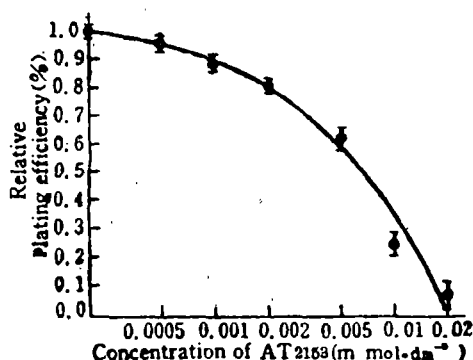


Fig 1. Chronic cytotoxicity of AT₂₁₅₃ on SPC-A-1 cells.

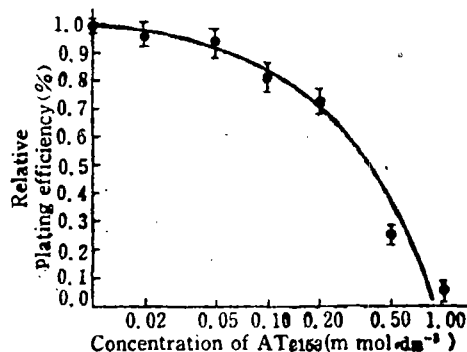


Fig 2. Acute cytotoxicity of AT₂₁₅₃ on SPC-A-1 cells.

图 2 急性毒性曲线表明,当药物浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时,相对集落形成率为 80%,因而选定在此浓度下进行丙双吗啉增敏实验。

(2) 丙双吗啉对 SPC-A-1 细胞的增敏实验 图 3 为 SPC-A-1 细胞在乏氧条件下照射的剂量—存活率曲线,比较加药组(实验组)与未加药组(对照组)的两条曲线,可以看到在经 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的丙双吗啉作用 2 h 的实验组,细胞剂量效应曲线的斜率明显增大,肩区变小,根据计算机拟合的结果,两条曲线的参数列于表 1,由表 1 得出 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的丙双吗啉对 SPC-A-1 细胞的增敏比 $SER = 1.59/1.30 = 1.22$ 。

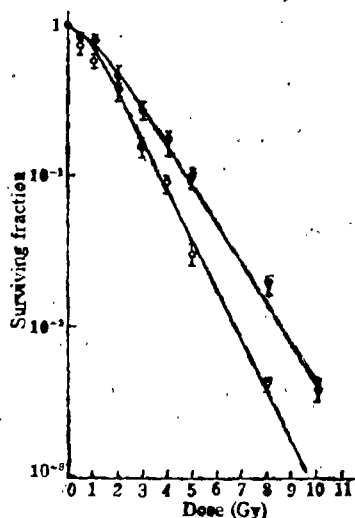


Fig 3. Dose-survival curves of hypoxic SPC-A-1 cells irradiated with x-rays ● in N_2 (Control) and ○ in N_2 Plus 0.1 mmol dm^{-3} AT₂₁₅₃ (Experimental).

Tab 1. Parameter of dose-survival curves of hypoxic SPC-A-1 cells irradiated with X-rays

Groups	Mean lethal dose Do(GY)	Extrapolation number N
ln N_2	1.59	1.609
ln $N_2 + 0.1 \text{ mmol dm}^{-3}$ AT ₂₁₅₃	1.30	1.735

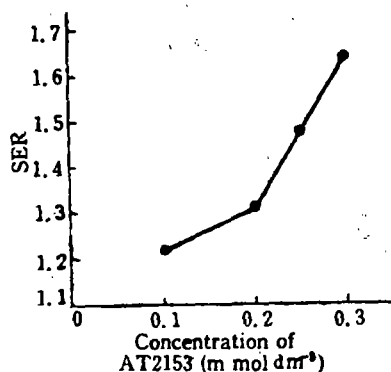


Fig 4. Sensitivity Enhancement Ratio (SER) as a function of concentration of AT₂₁₅₃

从图4显示的不同浓度的丙双吗啉与SER的函数关系, 可知丙双吗啉对SPC-A-1细胞的 $C_{1.6}$ 值为 $0.29 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 。

讨 论

丙双吗啉作为抗癌的一种新药, 已应用于临床, 对多种肿瘤都有一定的治疗作用。然而对它的辐射增敏活性研究, 仅有关于小鼠肉瘤S₃₇的报道^[1]。

林万敏等^[2,3]曾研究了乙双吗啉对人肺腺癌细胞的增敏效应, 在药物浓度为 $0.15 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时, 增敏比为1.33。刘泰福、蒋国良等^[4-7]在临床试验中, 证实乙双吗啉对鼻咽癌病人原发灶完全消失的增敏比为1.23。

本文以X线照射乏氧的离体人肺腺癌细胞, 当丙双吗啉的浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时, 其增敏比为1.22, $C_{1.6}$ 值为 $0.29 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, 何少琴等(个人通讯)作了丙双吗啉对人胃癌细胞系(SGC-7901)的增敏实验, 其增敏比与本文接近。上述结果说明, 尽管实验条件、材料和方法不尽相同, 但是作为哌嗪二酮类衍生物, 丙双吗啉和乙双吗啉都具有相似的增敏活性。

另外, 罗祖玉、朱安奇等^[10]曾根据对18种增敏剂分子的量子生物学计算, 提出可以将它们的分子表面静电势分布归为两大类, 即: 偶极型与非偶极型, 他们提出凡是具有偶极型的化合物, 可能有较好的增敏效果。丙双吗啉是ICRF-159的衍生物, 计算证明, 后者的分子表面静电势分布呈偶极型, 说明它有增敏活性。

目前对丙双吗啉辐射增敏效应的研究甚少, 不管是体外或体内实验以及药物作用机理, 都有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Y. F. Ren et al., Proc. of 14th Int. cong. of chemotherapy, Kyoto, 1985.
[2] Lin Wanmin, Ma Chengwu, et al., Proc. of the 2nd China-Japan Bilateral Symposium on Radiosensitization, Xian, China, 139-141 Oct. 1986.
[3] 林万敏, 马承武等, 辐射研究与辐射工艺学报, 5(3), 58 (1987).
[4] Liu Taifu, Jiang Guoliang, Proc. of Seminar on Advances in Radiation Oncology (Nov. 1984).
[5] Jiang Guoliang, Proc. of Seminar on Advances in Radiation Oncology (Nov. 1984).
[6] Zhang Zhiyi, Liu Taifu et al., Chinese Medical J., 96, 601 (1983).
[7] Zhang Zhiyi, Liu Taifu, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 10, 2305 (1984).
[8] 马承武等, 辐射研究与辐射工艺学报, 6(2), 63 (1988).
[9] 林万敏, 王兆霖等, 辐射研究与辐射工艺学报, 5(2), 13 (1987).
[10] Luo Zuyu, Zhu Anqi et al., Proc. of the 2nd China-Japan Bilateral Symposium on Radiosensitization, Xian, China, 91-96 Oct., (1986).

(稿件收到日期: 1988年3月11日)

RADIOSENSITIZATION OF AT2153 ON HUMAN LUNG ADENOCARCINOMA CELL LINE SPC-A-1

Ma Chengwu, Xue Yongquan and Luo Zuyu

(Dept. of Physiology and Biophysics, Fudan University, Shanghai)

ABSTRACT A new antitumour agent of diketopiperazine derivative, dl-1,2-bis (4-morpholinemethyl-3,5-dioxopiperazin-1-yl)propane (AT 2153, MST-02) was synthesized by Y. F. Ren et al^[1]. It exhibited significant activities against several kinds of cancer and radiopotentiating effect on Sarcoma S 37 in mice.

The radiosensitizing effect of AT 2153 was studied with hypoxic Human Lung Adeno-carcinoma cell line SPC-A-1 in vitro. Using colony-forming technique, its SER is 1.22 at the concentration of 0.10 mmol dm⁻³, and the C 1.6 is 0.29 mmol dm⁻³. It might be a potent radiosensitizer.

KEY WORDS Diketopiperazine derivative (AT 2153, MST-02), Sensitization enhancement ratio(SER), SPC-A-1 cell line, Colony-forming technique