

· 研究简报 ·

一种快速判断癌疗药物电性的方法^①

李庆阁 赵一兵 许金钧 陈国珍 梁基选
(化 学 系) (抗癌中心)

在诸多的癌症疗法中,电化学疗法由于可以结合局部用药,显示出很大的优越性。最近提出的一种新的电化学疗法,即是在通电的同时,加入化疗药物^[1]。应用此法,须知药物在生理环境中的电性,即在 pH7.4 的水溶液中,药物的正负电性。目前,药物电性判断尚无通用的方法,电泳技术虽然可行,但需专门的仪器,操作较复杂,且易受温度、介质、浓度、pH 值等因素的影响,对于临床应用显得不适合。本文设计了一种简便的方法,即让药物溶液分别通过阴、阳离子交换树脂,比较过柱前后溶液荧光强度的变化,从而达到快速判断的目的。

1 原 理

在 pH7.4 条件下,未知电性药物 M,通过阴、阳离子交换树脂时,发生如下反应:



式(1)和(2)分别表示带负、正电荷的药物通过阴、阳离子交换树脂时的情况。 $[M]^{-}$ 交换于 R[H]上,流出液中不含 M,荧光强度应等于空白溶液的荧光强度;通过 R[OH]时,因不被交换,过柱前后荧光强度不变。对于 $[M]^{+}$ 也有类似情况。因此比较柱前和柱后溶液的荧光强度,即可达到判断药物电性的目的。

2 实 验

2.1 试剂与仪器

强酸性阳离子交换树脂、强碱性阴离子交换树脂(皆经过预处理);盐酸阿霉素、甲氧嘌呤、长春新碱、氟尿嘧啶、环磷酰胺(皆注射用剂,实验时用 0.05 mol/l, pH7.4 的 Tris-HCl 去离子水缓冲溶液配制成适当浓度)。

岛津 RF-5000 型荧光光度计,普通离子交换柱。

2.2 实验步骤

制柱 将经过预处理的两种树脂填充于普通离子交换柱(1.5 cm × 15 cm),驱除气泡,用二次去离子水淋洗至中性。

过柱 空白缓冲溶液及五种药物溶液分别经过阴、阳离子柱,控制流速约为 10 ml/min,按两种方式收集馏份,一是收集不同阶段的馏份并编号,二是收集已流过柱体积 2 倍后的馏份。

① 本文 1992-10-27 收到

荧光测定 选定每种药物溶液的 λ_{ex} 和 λ_{em} ，盐酸阿霉素 $\lambda_{ex}=505.0\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=550.0\text{ nm}$ ；甲氨喋呤 $\lambda_{ex}=312.0\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=518.8\text{ nm}$ ；长春新碱 $\lambda_{ex}=260.4\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=534.0\text{ nm}$ ；氟尿嘧啶 $\lambda_{ex}=276.8\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=355.2\text{ nm}$ ；环磷酰胺 $\lambda_{ex}=414.4\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=600\text{ nm}$ 。激发和发射狭缝宽度皆为 5 nm ，测定过柱前后药物溶液及空白缓冲溶液的荧光强度，根据变化情况判断电性。

3 结果与讨论

图 1 给出了环磷酰胺及空白溶液经过阴、阳离子交换树脂后激发光谱的变化。由图可见，空白溶液过柱前后荧光强度几乎无变化，环磷酰胺溶液经过阳离子交换柱后荧光强度接近空白溶液，经过阴离子柱后则无变化。由此说明环磷酰胺在 pH 7.4 生理条件下被阳离子树脂交换，因而是带正电荷，其余 4 种药物也得到完全相同的结果(荧光光谱图略)。

图 2 给出了盐酸阿霉素过柱后，收集不同阶段馏份的荧光强度变化情况，可以看出柱前荧光强度最高，经过阴离子交换柱后，随着时间的延长荧光强度渐增，说明前期馏份因为稀释而导致荧光强度降低，随着药物馏份浓度渐大，荧光强度逐渐提高，即盐酸阿霉素未被阴离子柱交换，所以判断盐酸阿霉素在 pH 7.4 生理条件下是带正电荷的，其余 4 种药物也得到完全相同的结果(荧光光谱图略)。

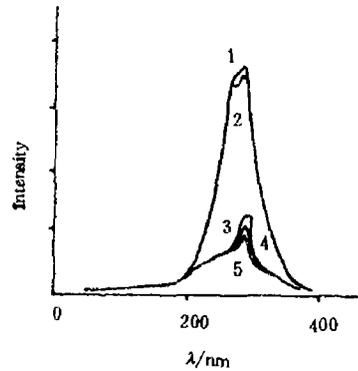


图 1 阳、阴离子交换前后环磷酰胺(CPA)和 Tris-HCl 缓冲溶液的激发光谱
1. CPA; 2. 阴离子柱后 CPA; 3. 阳离子柱后 CPA; 4、5. 阴离子柱前后 Tris-HCl 缓冲溶液(重叠)
Fig. 1 Excitation spectra of cyclo-phosphamide (CPA) and Tris-HCl (0.05 mol/l, pH7.4) before and after cation or anion resin

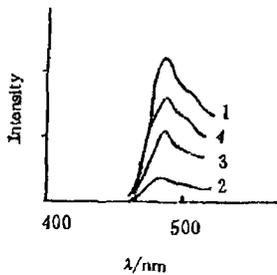


图 2 不同收集时间阿霉素的发射光谱
1. 阴离子柱前; 2、3、4. 阴离子柱后(按时间顺序)

Fig. 2 Emission spectra of adriamycin in different collection time

表 1 五种化疗药物的电荷
Tab. 1 The electric charge of five chemotherapeutants

药 物	电 荷
阿霉素	+
甲氨喋呤	+
长春新碱	+
氟尿嘧啶	+
环磷酰胺	+

表 1 给出了上述方法判断 5 种药物电性的结果,与作者进行细胞电泳测得的结果相符。

Purdum 等^[2]发现癌细胞比同类正常组织细胞电泳率高,在用大鼠肝癌细胞为材料进行电泳时,观察到癌细胞恶性程度越高,其电泳率亦越高。癌细胞恶性程度与其表面所带负电荷的多少存在着平行关系,负电荷的存在,有利于促进癌细胞的扩散和转移。电化学疗法再结合加入带正电荷的药物,可以在一定程度上阻止癌细胞的扩散和转移,促使肿瘤组织发生代谢紊乱,并造成肿瘤组织内外环境的改变,从而达到抑制肿瘤生长的目的。本法测定的结果为电化学治疗结合局部用药的疗效提供了说明。

以上 5 种药物都具有芳环结构^[3],因而其水溶液都可能有一定程度的荧光,据此我们设计了荧光检测的方法,如果能从药物分子结构出发直接给出结果更为简便,但这些药物常常不具备可以利用的参数,有些尚不

知结构^[4],直接判断在临床上相当困难。图 3 给出了甲氨喋呤的结构简式。该分子 2,4 位存在两个-NH₂,1,3,5,8 位各有一个杂 N 原子,另有一个-N(CH₃)-和 CO-NH-基,这些 N 原子在水溶液中都有可能结合 H⁺而带正电荷,但分子中尚有两个-COOH,因而又有解离 H⁺而带负电荷的趋势。显然,仅从结构上难以直接作出判断。若已知该药物的等电点,即可推知该药在 pH 7.4 时的电性,但文献上未看到这样的数据^[4]。其它药物也常有类似情况,因而一种简便的实验判断法显得很有必要。

荧光检测具有很高的灵敏度,广泛应用于药物的临床测定^[5]。本法中,荧光检测仅用作指示药物的有无,并无定量要求,因而其它的指示方法同样适用,如分光光度法、目视比色法等。尤其是分光光度适用对象极为广泛,仪器价廉、操作简便,更易于普及应用。当然,其它针对某一特殊药物的指示方法也同样适用于本法。

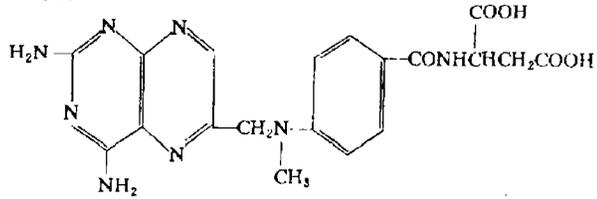


图 3 甲氨喋呤的结构简式

Fig. 3 Structure formula of methotrexate (P-[2,4-diamino-6-pteridinyl]N-methyl-L-glutamic acid)

参 考 文 献

- 1 任如龙等. 直流电治疗恶性肿瘤. 日本医学介绍, 1991, 12(1): 41~42
- 2 Purdom I. et al. A correlation between electrical surface charge and some biological characteristics during the stepwise progression of a mouse sarcoma. *Nature*, 1958, 181: 1586~1589
- 3 沈克福等主编. 实用药物分离鉴定手册. 北京: 人民军医出版社, 1986: 487~488, 686~689, 543, 393, 1 055
- 4 陈和谦主编. 群编药物学. 北京: 人民卫生出版社, 1974: 659~696
- 5 陈国珍等编著. 荧光分析法(第二版). 北京: 科学出版社, 1990: 541~553

(下转第 289 页)

