

硝基杂环化合物 N-6、N-8 对 5'-鸟苷酸的辐射敏化作用及其机理的研究

俞晨亮 朱幼南

(中国科学院上海原子核研究所)

摘要 本工作用磷钼蓝比色法研究发现,在缺氧的中性水溶液中,硝基杂环化合物 N-6、N-8 对 5'-鸟苷酸(5'-GMP)的 γ 射线辐解过程中无机磷的释放均有敏化效应,其中以 N-8 较佳,但它们的敏化效果都与敏化剂的浓度和辐照剂量有关,其化学增强比 $C.E.R = G(P_i)$ 有敏化剂 / $G(P_i)$ 无敏化剂,对于同一浓度的敏化剂,随剂量的增大而减小;而在同一剂量条件下,则随敏化剂浓度的增大而增大。敏化机制则是由于电子从 5'-鸟苷酸的 C' 自由基向硝基杂环化合物(一种亲电子敏化剂 S)转移形成阳碳离子继而水解的结果,从而增加了 γ 射线辐射诱发无机磷释放的产额 $G(P_i)$ 。

关键词 辐射敏化作用; 5'-鸟苷酸; 硝基杂环化合物; 化学增强比(C.E.R)。

前 言

硝基杂环化合物作为一种缺氧细胞辐射敏化剂已被广泛研究并进入临床试验阶段,它的主要作用是增强细胞中脱氧核糖核酸(DNA)的损伤^[1-3]。而 5'-鸟苷酸是 DNA 的组分之一,因此研究硝基杂环化合物对 5'-GMP 辐射损伤的影响,对进一步开展 DNA 的辐射敏化机理的研究以及寻找肿瘤的放射治疗的敏化剂都具有一定的意义。

本文主要研究了在缺氧水溶液体系中硝基杂环化合物 N-6、N-8 对 γ 射线引发 5'-鸟苷酸释放无机磷的敏化效应,并初步探讨了其敏化作用机制。

实 验 方 法

5'-GMP 用三羟甲基氨基甲烷(tris)调成 pH 7 的三次重蒸馏水溶液,配制成 1×10^{-3} M 浓度。取一定体积的溶液置于辐照管中通纯 $N_2(99.99\%)$ 或 N_2O 处理 20 分钟后封管,经一定剂量的 $^{60}Co\gamma$ 射线辐照。辐照后立即用钼酸铵-磷钼蓝法在 751 型分光光度计 710 nm 波长处测定所释放的无机磷。

辐射敏化效应用化学增强比来表示^[4]。它定义为在 γ 射线辐照下,有敏化剂存在释出的无机磷的 $G(P_i)$ 值与无敏化剂存在时释放的无机磷的 $G(P_i)$ 值之比: $C.E.R = \frac{G(P_i) \text{ 有敏化剂}}{G(P_i) \text{ 无敏化剂}}$

G 值-体系吸收 100 eV 辐照能量后所释放出的无机磷的分子数。

实 验 结 果

实验表明硝基杂环化合物 N-6 和 N-8 对 5'-鸟苷酸 γ 射线辐解释放无机磷均有敏化作用,其中以 N-8 较佳。图 1 指出这些敏化剂的敏化效果与它们的浓度之间的关系。图 2 给出了 N-6 和 N-8 两种敏化剂的敏化效果与吸收剂量的关系。从图 1 和图 2 可以看出,敏化剂的浓度一定时,其对 5'-鸟苷酸的辐射敏化作用随剂量的增大而减小,而在同一剂量条件下,其辐射敏化作用则随

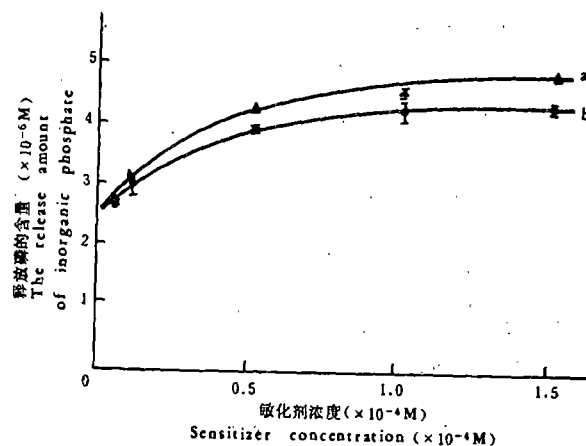


图 1 敏化剂浓度对 5'-GMP 释放无机磷的影响
(剂量 5×10^2 Gy)

a. N-8-5'-GMP b. N-6-5'-GMP

Fig 1 The influence of sensitizer concentration on inorganic phosphate released from 5'-GMP (dose 5×10^2 Gy)

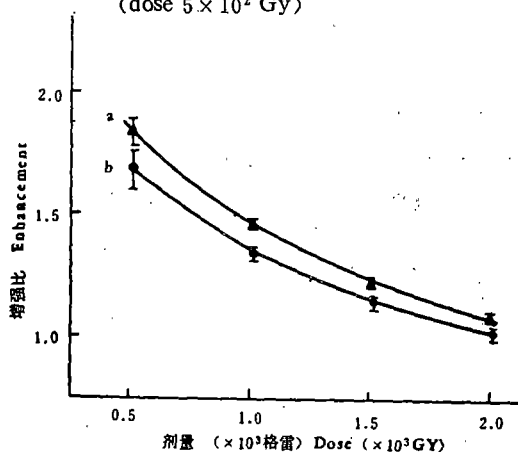


图 2 化学增强比与吸收剂量的关系
(敏化剂浓度 1×10^{-4} M)

a. N-8-5'-GMP b. N-6-5'-GMP

Fig 2 The relationship between chemical enhancement ratio and absorbed dose (sensitizer concentration 1×10^{-4} M)

敏化剂浓度的增大而增大。

表 1 给出了当敏化剂浓度为 1×10^{-4} M, 剂量在 5×10^2 Gy 条件下, 硝基杂环化合物 N-6 和 N-8 对氧化亚氮饱和溶液中 5'-鸟苷酸释放无机磷的化学增强比。由表 1 也可看出 N-8 比 N-6 的敏化作用较佳。

表 II 给出了氧化亚氮和氮气饱和溶液中, 5'-鸟苷酸释放无机磷的比值。

表 1 氧化亚氮饱和溶液中 5'-鸟苷酸释放无机磷的化学增强比

Chemical enhancement ratios for inorganic phosphate released from 5'-GMP in nitrous oxide-saturated solution

敏化剂 sensitizer	N-6	N-8
化学增强比 chemical enhancement ratio	1.63 ± 0.02	1.79 ± 0.03

(敏化剂浓度 1×10^{-4} M, 剂量 5×10^2 Gy)
(sensitizer concentration 1×10^{-4} M. Dose 5×10^2 Gy)

表 2 氧化亚氮和氮气饱和溶液中 5'-鸟苷酸释放无机磷产额的比值

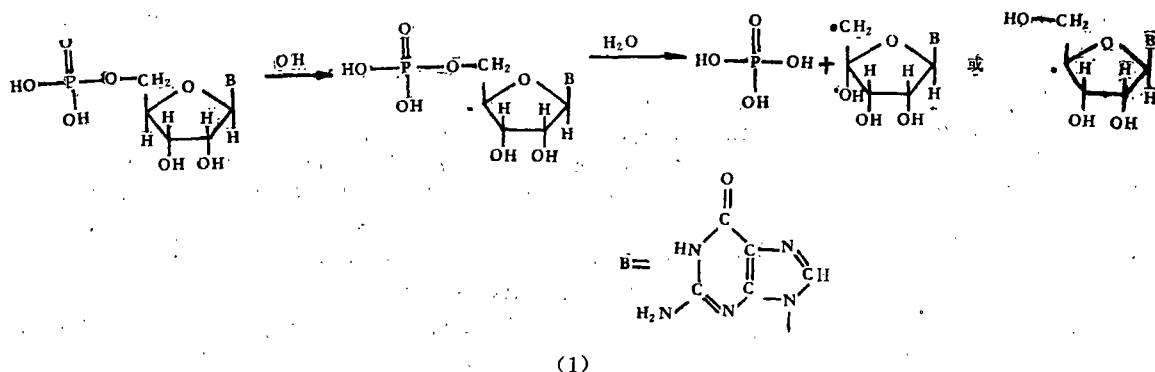
Ratios of inorganic phosphate yields in nitrous oxide and nitrogen saturated solution in the presence and absence of sensitizer

体系 system	无敏化剂 No sensitizer	有敏化剂 sensitizer	
		N-6	N-8
$\frac{G(P_i)N_2O}{G(P_i)N_2}$	1.73 ± 0.00	1.68 ± 0.07	1.70 ± 0.02

(敏化剂浓度 1×10^{-4} M, 剂量 5×10^2 Gy)
(sensitizer concentration 1×10^{-4} M. dose 5×10^2 Gy)

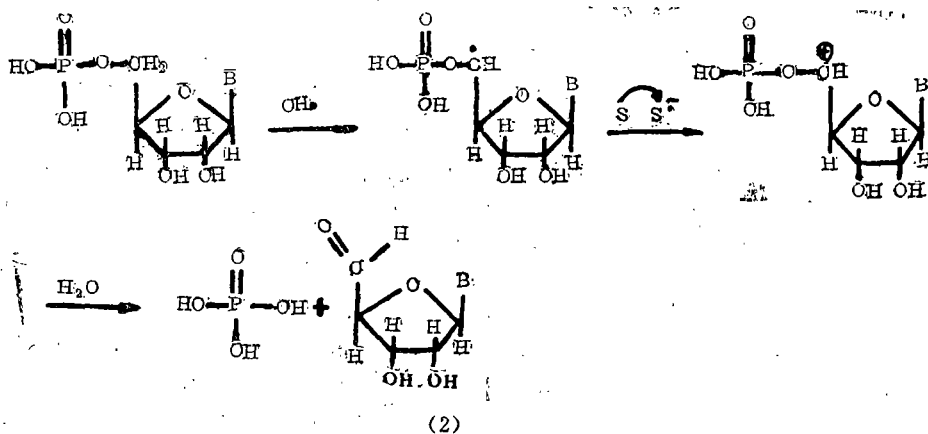
在前一篇文章中^[6]我们曾经指出, 在中性水溶液中, 水辐解产生的 OH 自由基是引发 5'-鸟苷酸释放无机磷的主要活性粒子, H 原子也有一定的作用。根据 OH 自由基的特性可以知道它在 5'-鸟苷酸的戊糖部分的五个位置上均能抽氢而产生 5'-鸟苷酸戊糖自由基。从以往的研究知道, 在 β 位置含有磷酸根基团的 α -巯氨基自由基能迅速水解而释放无机磷^[6], 反应(1)即具有这种性质。

从图 1 和图 2 可以看出, 在硝基杂环化合物 N-6 和 N-8 存在时, 5'-鸟苷酸释放无机磷的产额 $G(P_i)$ 明显增加, 而且如表 II 所示, 在相同的剂量时, 无论有敏化剂存在与否, 在氧化亚氮和氮气饱和的体系中, 两者释放无机磷的比值基本不变, 这不仅是 OH 自由基引发 5'-鸟苷酸释放无机磷的又一证据, 而且结合表 I, 一致证明由 OH 自由基引发 5'-鸟苷酸释放无机磷可被 N-6 和



N-8 所敏化。

已经知道, OH 自由基在 5'-鸟苷酸的戊糖部分上的 C_{5'} 位置抽氢所产生的 C_{5'} 自由基也能释放无机磷, 但它必须在氧化性粒子的催化之下^[7]。硝基杂环化合物 S (即 N-6 和 N-8), 可能就是起了这种作用。它们与 5'-鸟苷酸 C_{5'} 自由基发生电荷转移形成 5'-鸟苷酸 C_{5'} 阳碳离子自由基, 如反应(2)



这种阳碳离子自由基迅速地水解释放出无机磷, 从而呈现出敏化效应。

我们在前文中已经指出, 当体系中加入特丁醇的浓度达 1 M 时, 体系中的 OH 自由基已被清除 99% 以上, 但还有 G(P_i) 等于 1.1×10^{-2} 分子/100 ev 的无机磷释出, 并且已证明这些无机磷是由 H 原子攻击 5'-鸟苷酸的戊糖部分引起的。而且我们的实验结果指出在这一体系中存在 N-6 和 N-8 这两种敏化剂时, 所释出的无机磷的产额 G(P_i) 并没有增加。这表明由 H 原子引发 5'-鸟苷酸释放无机磷不是戊糖部分的 C_{5'} 位置, 即 H 原子没有在 5'-鸟苷酸的 C_{5'} 位置抽氢, 这说明 H 原子在 5'-鸟苷酸的戊糖部分的抽氢是有相当的选择性的。从上述的讨论中, 我们知道通过反应(1)释放无机磷是不受敏化剂影响的, 所以 H 原子引发 5'-鸟苷酸释放无机磷应该是通过它从戊糖部分的 C_{5'} 抽氢机理实现的。

综上所述, 可以得出结论: 硝基杂环化合物 N-6 和 N-8 对 5'-鸟苷酸 γ 射线所引发释放无机磷的敏化效应是通过这些敏化剂和 5'-鸟苷酸与 OH 自由基反应产物的相互作用而实现的, 即 5'-鸟苷酸的 C_{5'} 自由基与这些敏化剂之间发生电荷转移而呈现敏化效应, 而这些敏化剂并不引起 H 原子引发 5'-鸟苷酸释放无机磷的敏化作用。

参 考 文 献

- [1] C. L. Greenstock and G. W. Ruddock, *Radiat. Res.*, 66 472~484 (1976).
[2] D. W. Whillans and G. E. Adams, *Radiat. Res.*, 62, 407~421 (1975)
[3] G. E. Adams, J. F. Fowler and P. Wardman, *Brit. J. Canc.*, 37, Suppl. III, 1978.
[4] J. A. Raleigh, C. L. Greenstock and W. Kremers, *Int. J. Radiat. Biol.*, 23, 457 (1973).
[5] 朱幼南, 翁晨亮, 张加山“5'-鸟苷酸 γ -辐解机理的研究”, 本刊(待发表).
[6] Clenens Von Sonntag, in H. E. Edwards, S. Navaratnam, B. J. Parsons and G. O. Phillips, “*Radiation Biology and Chemistry*” pp. 94~96, Amsterdam-Oxford-New York, 1979.
[7] D. Schulte-Frohlinde, in E. R. L. Gaughran and A. J. Goudie, “*Sterilization by Ionizing Radiation*” pp. 360~362 Montréal, Québec, Canada, 1974.

STUDY OF RADIOSENSITIZATION AND ITS MECHANISM OF NITROHETEROCYCLIC COMPOUNDS N-6 AND N-8 ON GUANOSINE-5'-MONO-PHOSPHATE

Weng Chenlian Zhu Younan

(Institute of Nuclear Research, Academia Sinica P. O. Box, 8204, Shanghai, China.)

ABSTRACT The Radiosensitization of nitroheterocyclic compounds on nucleic acid constituent is discussed in this paper. In aqueous solution of 5'-GMP ($1 \times 10^{-3}M$), studies suggest that both nitroheterocyclic compounds N-6 and N-8 are demonstrated as radiosensitizers by raising the release of the inorganic phosphate (P_i) in the absence of oxygen. The degree of radiosensitization find expression in C. E. R. It is defined as the ratio of the yields of inorganic phosphate in the presence and absence of sensitizer, i. e. $C. E. R. = G(P_i) \text{ sensitized} / G(P_i) \text{ unsensitized}$. Studies suggest that the degree of radiosensitization of both compounds N-6 and N-8 decrease with increasing irradiation dose for same sensitizer concentration, and increase with increasing sensitizer concentration for same irradiation dose. The sensitization effect of compound N-8 is superior to compound N-6. The major mechanism of sensitization may be due to the electron transfer from the OH adduct ($\dot{GMP-OH}$) to nitroheterocyclics (N-6 and N-8). The hydrolysis of unstable carbonium ion ($GMP-OH^+$) lead to the release of P_i .

KEY WORDS Radiosensitization; Guanosine-5'-mono-phosphate (5'-GMP); Nitroheterocyclic compound; Chemical enhancement ratio.