

合成芥子酸胺盐衍生物的 辐射防护机理研究*

黄振东 王礼嫻 董欣

(上海市放射医学研究所)

林念芸

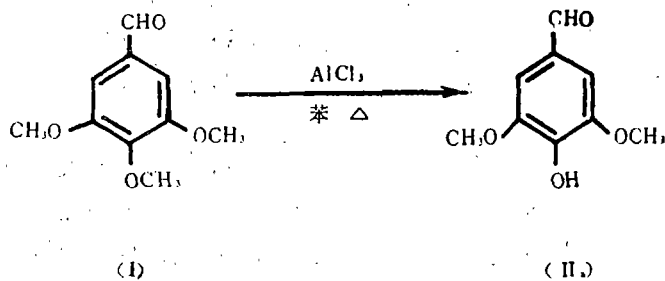
(中国科学院上海原子核研究所)

摘要 为了寻找有效的辐射损伤防护药,改进及新合成芥子酸及胺盐衍生物,用ESR波谱研究电子从靶分子脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dTMP)向芥子酸长程转移的保护机理。经辐照小鼠的试验表明:辐照损伤引起的外周血小板下降症可以被芥子酸胺盐衍生物保护。并报道了芥子酸类衍生物的红外及核磁共振光谱。

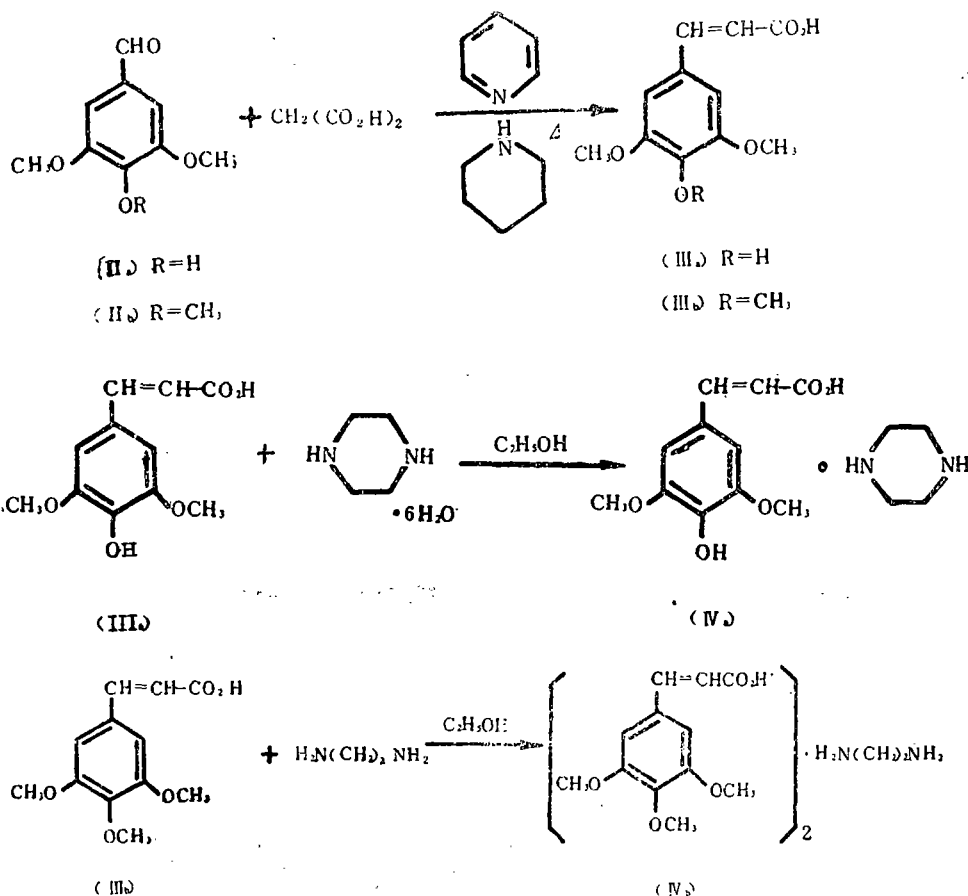
关键词 辐射防护药;芥子酸合成;电荷转移;ESR波谱;提高血小板。

前言

出血综合症是急性放射病加剧和恶化的表现之一,它明显地加重病程,并是放射病的主要死亡原因之一,而且血小板减少在出血综合症的发生中起着重要作用^[1]。寻找预防辐射损伤药物,尤其是防止辐射对机体的损伤性出血,提高血小板的药物具有重要意义。关于防治辐射损伤出血综合症的药物及措施甚少^[1],1978年南京药学院^[2]报道了咖啡酸胺盐用作预防出血和止血药物,保护辐射损伤引起的血小板下降效应;1983年林念芸等^[3]报道了咖啡酸对DNA及其组份的辐射保护机理的电子自旋共振研究,顾瑞琦^[4]报道了芥子硷(油菜子中提纯品)能减轻X射线对麦芽种子的生长抑制作用,而后林念芸等^[5]又报道了芥子碱及进口试剂芥子酸的保护机理。在食品工业上酚羟基取代苯丙烯酸,常作为抗氧化剂用于抑菌防腐食品的添加剂,延长罐头搁架时间^[6],天然产物(咖啡酸,阿魏酸)尚有抑制化学致癌作用^[8]。从已知的辐射防护药物电子转移,抗氧化等机理出发,有目的地设计并合成新的防护药物具有重大的实际应用价值。E. Späth^[9]报道全合成芥子碱,从焦橐酚羧酸起始,经七步工艺合成路线,合成芥子酸;我们报道简易方法,从制药工业中易得到的原料中间体:3,4,5-三甲氧基苯甲醛起始,用三氯化铝选择脱甲基来制备丁香醛新方法,经用Doebner^[10]改良法,将丁香醛与丙二酸缩合,共二步工艺路线合成芥子酸,并与相应的有机胺反应,制成水溶性的胺盐衍生物,合成路线:



* 中国科学院上海原子核研究所李学鹏,屠铁城,董继荣同志参加了ESR波谱实验工作。



由于芥子酸与咖啡酸同属羟基肉桂酸衍生物，所以它对 dTMP 的辐射保护也是基于电荷转移保护机理并与其胺盐类衍生物保护小鼠辐射损伤所引起的血小板下降症相一致，生物试验证明：小鼠在 500 伦照射前，用芥子酸胺盐及其衍生物胺盐保护后，照射后外周血小板计数显示出：用药组的小血小板计数值高达对照组动物的血小板计数值的三倍，有明显统计意义；即防止血小板下降效应，而且芥子酸及其衍生物的胺盐比咖啡酸胺盐效果更佳。有关药物的抗辐射效应及系统药理工作将另文发表。

实 验 部 分

化合物的熔点用显微熔点测定仪测定，熔点未经校正；红外光谱仪用 Perkin-Elmer 783 型，溴化钾压片测定 ($I. R. V_{max}^{KBr}$)；核磁共振仪 (NMR) 用 Bruker 100 MHz, FT 仪器；ESR 波谱测定用 Varian E-112 波谱的 x 波段测定，实验条件同文献[3]方法。

3,5 二甲氧基 4 羟基苯甲醛(丁香醛)(II.)

取 20 g 的 3,4,5 三甲氧基苯甲醛 (I.) (0.101 克分子)，溶于苯 (600 ml) 中，置三颈瓶内，配置磁力搅拌器，回流冷凝管 (氯化钙管保护)，在室温下边搅拌边加入研细的 34 g 无水三氯化铝 (0.254 克分子)，反应物慢慢地置于油浴在通风橱中加热回流，反应中放出大量盐酸气体，反应液呈黄绿色，约 9 小时后达反应终点，用薄板层析检查反应液中不再有起始原料。放冷后，将反应液倒入 400 ml 的冰水，分出有机相苯层，水层用苯多次抽提直至抽提液无色为止。合并苯液

经水, 饱和氯化钠洗涤后, 经无水硫酸镁干燥。蒸去苯后得淡粉红色晶体, 用水重结晶, 骨碳脱色得白色结晶, 重 10.5 g, 收率为理论量的 57%, 熔点 110~112℃(文献[11]熔点 109℃, 按文献[11]法用浓硫酸脱甲基多次重复, 产率低于 10%, 多数原料聚合成黑色树脂状产物)。化合物(Ⅱ_a)的 I.R. $V_{\max}$: 3380~3200(OH), 2840(CH), 1675(CO), 1255 cm⁻¹(芳醚)。

3,5,二甲氧基, 4 羟基苯丙烯酸(芥子酸)(Ⅲ_a)

参照文献[10]方法, 将 5.5 g(0.0302 克分子)(Ⅱ_a)与 6.3 g 丙二酸(0.066 克分子)相混于三颈瓶内, 加 17 ml 干燥吡啶和 0.4 ml 六氢吡啶, 配置磁力搅拌器及回流冷凝管(氯化钙管保护), 油浴 60℃加热 10 小时, 放置过夜后, 倒入冰水中, 慢慢地用浓盐酸酸化, 析出淡黄色晶体, PH=2, 过滤后, 用水洗至洗涤液 PH=6~7 为止, 经无水酒精重结晶后得 5 g 淡黄色针状结晶, 为理论量 73.8%。熔点 188~190℃, 文献[12]熔点 193.6~195.5℃。

[分析] C₁₁H₁₂O₅ 计算值: C, 58.92; H, 5.39. 实测值: C, 58.96; H, 5.66; I.R. $V_{\max}$: 3390(OH), 2840(CH₃O), 1690(CO), 1270(芳醚), 976 cm⁻¹(CH=CH); ¹HNMR: (CD₃COCD₃), δ 3.48, br.s, 1 H(4-OH); [文献 13]OH 质子未观察到] 3.9, s, 6 H(OCH₃); 6.4, d, J₂₋₃=16 Hz, 1 H, H₂; 6.98, s, 2 H, H_{2'}, 6'; 7.6, d, J₃₋₂=16 Hz, 1 H, H₃。

3,4,5—三甲氧基苯丙烯酸(Ⅲ_b)

取 50 g 工业级的 3,4,5—三甲氧基苯甲醛(Ⅱ_b) (0.255 克分子)与 58.4 g 丙二酸(0.56 克分子)相混于三颈瓶内, 加入 150 ml 无水吡啶和 4 ml 的六氢吡啶同上法仪器装置, 90℃油浴加热 6 小时, 同上法处理, 产品经水重结晶骨碳脱色为白色针状结晶, 重 39.5 g, 为理论量的 65%, 熔点 126~128℃, 文献[14]熔点 126~127℃。

[分析] C₁₂H₁₄O₆ 计算值: C, 60.49; H, 5.92. 实测值: C, 60.35; H, 6.06; I.R. $V_{\max}$: 2840(CH₃O), 1690(CO), 1635(C=C), 1285 cm⁻¹(CH=CH)反式。¹HNMR: (CDCl₃), δ 3.88, s, 9 H(CH₃O); 6.35, d, J₂₋₃=16 Hz, 1 H, H₂; 6.77, s, 2 H, H_{2'}, 6'; 7.7, d, J₃₋₂=16 Hz, 1 H, H₃。

芥子酸哌嗪盐(Ⅳ_a)

取 1.12 g 芥子酸(0.005 克分子)加热煮沸溶于 14 ml 无水酒精后, 乘热过滤到三颈瓶中, 配置磁力搅拌器, 乘热加入 1.068 g 六水哌嗪(0.0055 克分子)酒精溶液(4 ml), 搅拌 10 min 后便结出淡黄色结晶, 放冷至冰箱过夜, 滤得结晶, 抽干后用无水酒精洗, 干燥后重 1.36 g, 为理论量的 87.7%, 熔点 148~150℃。

[分析] C₁₅H₂₂N₂O₅ 计算值: C, 58.05; H, 7.14; N, 9.02. 实测值: C, 57.74; H, 7.17; N, 8.67. I. R. $V_{\max}$: 3370 (OH), 3280 (NH), 2840 (CH₂), 1695 (CO), 1220 cm⁻¹ (CN)。

3,4,5—三甲氧基苯丙烯酸乙二胺盐(Ⅳ_b)

参照上法, 取 2.4 g(Ⅲ_b) (0.01 克分子)溶于 7 ml 无水酒精中, 过滤后与 0.33 g 新鲜蒸馏的乙二胺(0.0055 克分子)反应, 放冷析出白色结晶, 经无水酒精洗涤后, 干燥得 2.48 g, 为理论量的 92.5%, 熔点 160~162℃。

[分析] C₂₅H₃₀N₂O₁₀ 计算值: C, 58.19; H, 6.76; N, 5.22. 实测值: C, 58.40; H, 7.03; N, 4.90. I. R. $V_{\max}$: 3470(NH), 2950(CH₃), 2840(CH₂), 1630(CO), 1290(芳醚), 1220 cm⁻¹(CN)。

芥子酸及 dTMP 二元系统的电子自旋共振波谱测定方法及实验条件同文献[3]。

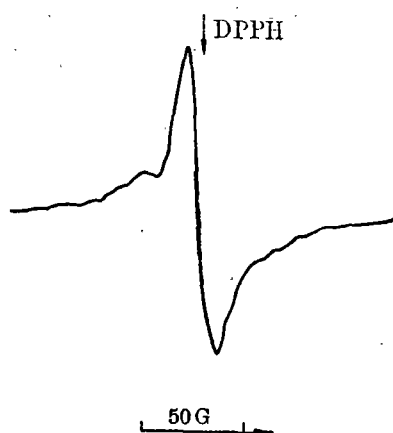


图1 芥子酸 77 K 辐照, 77 K 测定的波谱
Fig. 1 ESR Spectrum from Sinapic Acid irradiated and observed at 77 K



图2 芥子酸 77 K 辐照升至室温退火后的 ESR 波谱
Fig. 2 ESR Spectrum from Sinapic Acid irradiated at 77 K, recorded after annealing at room temperature

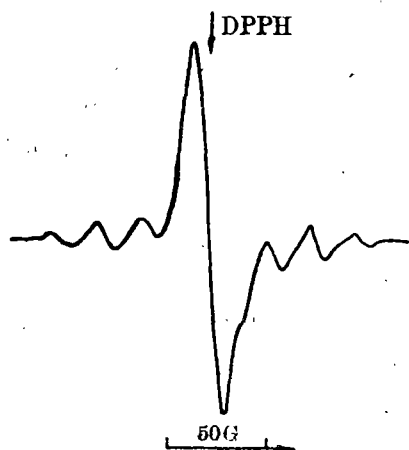


图3 芥子酸—dTMP 分子混合物(克分子比为 1:10)77 K 辐照测定的 ESR 波谱
Fig. 3 ESR Spectrum from Sinapic Acid-dTMP with molar ratio of Sinapic Acid to dTMP (1:10) irradiated and observed at 77 K

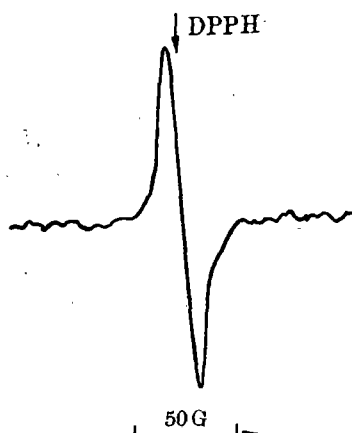
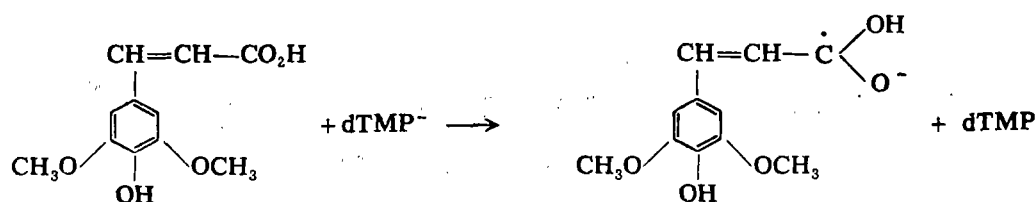


图4 芥子酸—dTMP 分子混合物(克分子比为 1:10) 77 K 辐照, 升至室温退火后测定的 ESR 波谱。
Fig. 4 ESR Spectrum from Sinapic Acid-dTMP with molar ratio of Sinapic Acid to dTMP (1:10) irradiated at 77 K observed after annealing at room temperature

讨 论

如图1所示, 77 K 辐照并测定的芥子酸 ESR 波谱显示与咖啡酸相似的对称单峰, g 值为 2.0043, 在单峰两侧出现四个低峰。主要显示羧酸阴离子自由基的超精细谱, 低温辐照的芥子酸 ESR 波谱 升至室温退火后还显示羧酸阴离子自由基分解产物羰基自由基($\phi \text{CH}=\text{CH}-\dot{\text{C}}=\text{O}$)的特征(见图2)。图3为芥子酸—dTMP 二元系统(克分子比为 1:10)77 K 辐照并测得的 ESR 波谱显示类似于 芥子酸羧酸阴离子自由基的波谱, 此二元系统辐照后升至室温退火后所测的 ESR 波谱(图4)显示单峰特征, 从中见不到 dTMP 在室温下显示的以胸腺嘧啶 5 位自由基为特征的 ESR 波谱的痕迹^[3]。由于芥子酸与咖啡酸同属羟基肉桂酸的衍生物, 其 77 K 辐照并测定的上述二元体

系的 ESR 波谱表明电子从靶分子(dTMP)向芥子酸的长程转移:



综上所述,芥子酸对 dTMP 有较强的保护效应,并证实在辐射作用时,电子从靶分子 dTMP 向芥子酸长程转移的保护机理,这种保护机理也可用来解释芥子酸胺盐衍生物对生物体辐射损伤的保护效应(防止辐射损伤引起的血小板下降)。

参 考 文 献

- [1] [苏] T. K. 扎拉克扬主编,金为翘,王洪复,陈思白,盛民立,黄振东译,急性放射病出血综合症,原子能出版社,1983年,北京, P 6; p 122.
- [2] 南京药学院编,药物化学,人民卫生出版社, P 101(1978); 南京药学院止血药科研组,血凝酸胺实验及临床研究总结, (1972).
- [3] 林念芸,李学鹏,屠铁城,谢继东,辐射研究与辐射工艺学报, 1(1), 1(1983).
- [4] 顾瑞琦,植物生理学报, 9, (3), 307(1983).
- [5] 林念芸,顾瑞琦,辐射研究与研究工艺学报, 3(1)61,(1985).
- [6] S. Gupta, P. S. Sukhija, I. S. Bhatia, Milchwissenschaft, 34(4) 205 (1979). C. A. 91, 54705 f.
- [7] J. D. Baranowski, C. W. Nagel, J. Food Sci. 47(5), 1587-9(1982).
- [8] O. F. Nygaard, M. G. Simic, Radioprotectors and Anticarcinogens, P. 461, Academic Press, New York, 1983.
- [9] E. Späth, Monatsh. Chem., 41, 271(1920).
- [10] B. S. Furniss, A. J. Hannaford, V. Rogers, P. W. G. Smith and A. R. Tatchell, Vogel's Text-book of Practical Organic Chemistry including Qualitative Organic Analysis, 4th Ed. P. 799, Longdon, 1978.
- [11] I. A. Peal and D. L. Beyer, J. Am. Chem. Soc., 74, 4263 (1952).
- [12] H. P. Kung and W. Y. Huang, J. Am. Chem. Soc., 71, 1836 (1949).
- [13] The Sadtler Standard Spectra, Sadler Research Laboratories, Inc. Nuclear Magnetic Resonance Spectra No. 9723, 1970. Researchers, Editors & Publishers Printed in The United States of America.
- [14] M. W. Klohs, M. D. Draper and F. Keller, J. Am. Chem. Soc., 77, 2243 (1955).

(1986年1月9日收到)

STUDIES ON RADIOPROTECTION MECHANISM BY SYNTHETIC SINAPIC ACID AMINE SALT DERIVATIVES

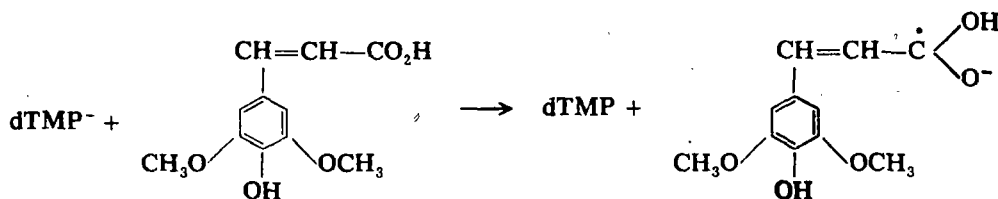
Huang Zhentong Wang Likang Dong Xin

(Shanghai Institute of Radiation Medicine)

Lin Nianyun

(Institute of Nuclear Research, Academia Sinica, Shanghai, China)

ABSTRACT In order to find more effective radioprotector, an improved new method to synthesis sinapic acid and its amine salt derivatives has been reported, and the study of ESR spectra from sinapic acid-dTMP with molar ratio 1:10 irradiated and recorded at 77 K has confirmed the long range electron transfer from thymine of dTMP to sinapic acid:



also, the radioprotective effect of sinapic acid amine salt derivatives on irradiated mice (500 rad.) has been shown in increasing peripheral platelet count with significance of statistics. The I. R and NMR spectra of sinapic acid derivatives also have been reported.

KEY WORDS Radioprotector, Synthesis of Sinapic Acid, Charge Transfer, ESR, Platelet Increasing.