

2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素 对 dTMP 的辐射保护效应研究

童永彭 林念芸 张加山

(中国科学院上海原子核研究所, 上海)

摘要 本文研究了水溶液中 2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素对 dTMP 的辐射保护效应, 结果表明羟基肉桂酸衍生物对 dTMP 均有显著的保护作用, 而且其酸类衍生物的保护效应优于其相应的内酯。

关键词 2,4-二羟基肉桂酸; 7-羟基香豆素; 辐射保护效应。

前 言

2,4-二羟基肉桂酸及 7-羟基香豆素存在于 *Lanreola* 科的叶和皮^[1], 土豆和橄榄之中^[2]。关于这类羟基肉桂酸的衍生物的辐射保护效应早有报道, 不论是在分子水平还是在植物和动物的实验中都显示出明显的保护效果^[3-6]。为了进一步研究这类物质在水溶液中对生物靶分子的保护效应及其机理, 本文研究了以 2,4-二羟基肉桂酸及其内酯为保护剂对 DNA 的重要组分脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dTMP)的保护效应。

实 验 部 分

1. 化学试剂

7-羟基香豆素: 西德 ROTH 化学公司产品, 熔点 230~231℃; dTMP: 美国 SIGMA 化学公司产品, 含量 98%。2,4-二羟基肉桂酸(D)是经由 7-羟基香豆素(U, 伞型酮)水解而得到^[7], 熔点 228~229℃, 氢氧化钠为 G.R. 级。全部溶液均用三次重蒸馏水配制。

2. 样品制备和辐照

配制成含和不含 7-羟基香豆素(U)和 2,4-二羟基肉桂酸(D)的 $\sim 2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ dTMP 溶液, 用氢氧化钠调节 pH 至 7.0。取一定体积的溶液置于辐照管中用纯氮(99.99%)或氧化亚氮(纯度 98%)鼓泡 20 min 封管, 用 ^{60}Co 射线辐照至不同的吸收剂量。辐照位置的剂量率为 55.8 Gy/min。是用硫酸亚铁剂量计标定, 取 $G_{\text{Fe}^{3+}} = 15.5$ 离子/100 eV, 辐照温度 25℃。

3. 分析方法

取一定体积的辐照过的溶液, 用磷钼蓝比色法^[8]测量 dTMP 辐照后所释出的无机磷。用 HITACHI 638-50 型高效液相色谱仪(HPLC)测量辐照前后 dTMP 的变化量。色谱柱为 Waters ODS 3.9 $\times$ 300 nm, 流动相为 0.05 mol·dm⁻³ K₂H₂PO₄/甲醇 = 90/10(V/V), 检测波长: $\lambda = 260 \text{ nm}$ 。各次实验经重复多次, 误差 $< \pm 5\%$ 。

结 果 与 讨 论

实验结果分别示于图 1, 2 和 3。从图 1 中可见, 在氮饱和情况下, 含 2,4-二羟基肉桂酸

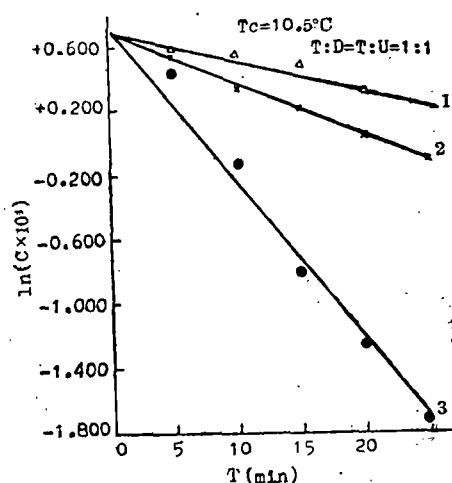


图 1 dTMP 溶液辐射损伤曲线
1. $T + D(N_2)$; 2. $T + U(N_2)$
3. $T(N_2)$

Fig 1. Radiation damage curves of dTMP Solution

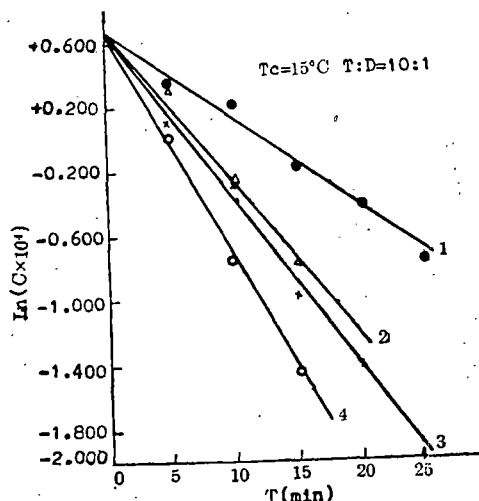


图 2 dTMP 溶液辐射损伤曲线

1. $T + D(N_2)$; 2. $T + D(Air)$;
3. $T(N_2)$; 4. $T(Air)$

Fig. 2 Radiation damage curves of dTMP Solution

和7-羟基香豆素的体系中，dTMP 的损伤要比不含这两者的体系中少的多。而且 2,4-二羟基肉桂酸对 dTMP 辐射损伤的保护效应优于 7-羟基香豆素。这一结果表明在本工作所研究的 dTMP 浓度范围内，2,4-二羟基肉桂酸及其内酯这类肉桂酸类衍生物能够有效地跟 dTMP 竞争水辐能产生的活性粒子。如果把不存在和存在这两种添加剂时 dTMP 损伤 15% 时的剂量比定义为剂量修饰因子 (DMF)，则在 dTMP 和保护剂浓度比 (初始) 为 1:1 时，2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素的 DMF 值分别为 6.7 和 3.6。如图 2 所示，即使 dTMP 与 2,4-二羟基肉桂酸的浓度比为 10:1 时，其 DMF 亦达 2.0。说明这类化合物是 dTMP 的优良辐射保护剂。这和本实验室以前关于 AET (St-2 氨基) 异硫脲氢 (溴酸) 对 dTMP 的辐射保护作用研究结果^[9]在相同的条件下比较，2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素对 dTMP 显示出更高的辐射保护效果。

图 3 指出 2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素对 dTMP 辐射释放无机磷的保护作用。从中可以看出，这两者对 dTMP 辐射释放无机磷也有良好的保护作用。本实验室的研究工作已经证明^[10]在水溶液中，辐射引发 dTMP 释放无机磷是通过水的辐解活性粒子 $\cdot OH$ 自由基和 H 原子作用于 dTMP 的戊糖部分的结果。因此本工作表明，2,4-二羟基肉桂酸和 7-羟基香豆素能够有效地跟 dTMP 的戊糖部分竞争水辐解产生的 $\cdot OH$ 自由基和 H 原子。

总之这些结果表明羟基肉桂酸及其内酯对 dTMP 具有良好的辐射保护性能。而且其酸类衍生

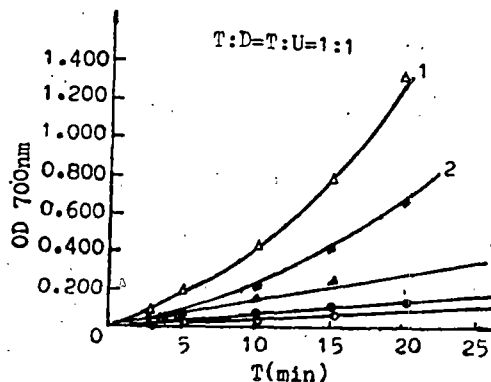


图 3 无机磷释放曲线

1. $T(N_2O)$; 2. $T(N_2)$; 3. $T + U(N_2O)$;
4. $T + U(N_2)$; 5. $T + D(N_2)$

Fig. 3 Inorganic phosphate release curves of dTMP irradiated solution

物比相应的内酯具有更高的保护效果。这一结果对于设计抗放药物可能是有意义的。和 AET 等其它辐射保护剂比较,这类衍生物对 dTMP 具有较高的保护性能。这一类保护剂在酸性条件下溶解度远小于在中性和碱性。因此对于处于酸性的肿瘤组织,这类保护剂所能达到的浓度比正常组织要低,这对于辐射治疗肿瘤是有利的。同时羟基肉桂酸是酚型化合物,能清除多种活性自由基而形成低活性共轭自由基^[11]而最终终止。因而这类化合物具有阻断自由基的致癌作用^[12],而且它们广泛存在自然界中^[13],动物实验表明它们是低毒类。7-羟基香豆素 ¹⁴C 标记在小的鼠体内代谢实验表明^[14]: 约在 4~10 小时,有 90% 原物排出体外,80% 从尿中原物排出,这表明血液对它的吸收较好,在代谢过程中不变,无积累效应,因此这类化合物很可能成为有应用前景的抗放药物。

本文的 HPLC 全部测试工作均由周瑞菊老师所做,在此表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- [1] S. R. Bhattacharjee and D. K. Mullick, J. Indian. Chem. Soc., 37(7), 420(1960).
- [2] Vazquez Roncero, A., et al., Grasas Aceites(Seville), 25(5), 269(1974).
- [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] 林念芸,李学鹏,屠铁城,董继东,辐射研究与辐射工艺学报,4(4),29(1986).
- [5] 顾瑞琦,中国科学, B 辑,2,146(1986).
- [6] 黄振东,王礼嫻,董欣,林念芸,辐射研究与辐射工艺学报,4(3),36(1986).
- [7] Ann. Chim(Rome), 49, 2089(1959).
- [8] 郁向荣,沙逸仙,化学通报,9,45(1965).
- [9] 王高栋,翁晨亮,沈光华,林念芸,核科学与工程,2,62(1982).
- [10] 王高栋,王在兰,张加山,辐射研究与辐射工艺学报,3(3),14(1985).
- [11] S. Steenken and P. Neta, J. Phys. Chem., 86, 3661(1982).
- [12] Leew. Wattenberg, et al., Isbn 0-12-523360-4.
- [13] Kiyoshi Hata et al., Yakugaku Zasshi, 80, 1800 (1960).
- [14] Von Sumere C. F., et al., Arch. Int. Physiol. Biochem., 79, 665(1971).

(稿件收到日期:1987年5月29日)

STUDY OF RADIOPROTECTION OF 2,4-DIHYDROXY CINNIMIC ACID AND 7-HYDROXYCOUMARIN NO DEOXYTHYMIDINE-5' -MONOPHOSPHATE SOLUTION

Tong Yongpeng Lin Nianyun Zhang Jiashan
(Institute of Nuclear Research, Academia Sinica, Shanghai China)

ABSTRACT We have studied 2,4-dihydroxy cinnimic acid and 7-hydroxycoumarin (umbelliferon) radioprotection on dTMP solution in this paper. The results showed that both the protectors exhibited powerful radioprotection, and the former exhibited even more powerful than that of the latter.

KEY WORDS 2,4-Dihydroxy cinnimic acid; 7-Hydroxycoumarin; Radioprotection.