

极谱法测定辐射增敏剂的亲电子能力及其与增敏作用的关系

杨立锡 郑秀龙 李云华

(第二军医大学, 上海)

摘要 采用差示脉冲极谱法测定和比较了新型辐射增敏剂 CM、MISO、灭滴灵的半波电位 ($E_{1/2}$), 结果其 $E_{1/2}$ 值大小次序为 MISO > CM > 灭滴灵; 进一步证明了它们的还原能力与其辐射增敏作用密切相关。虽然 CM 的亲电子能力及其离体辐射增敏作用居中, 但其毒性小, 有一定的亲肿瘤组织作用, 治疗指数高, 初步临床结果表明它是一个低毒有效的辐射增敏剂。

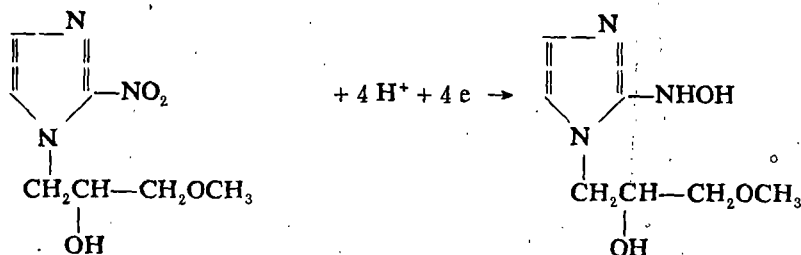
关键词 极谱法, 亲电子能力, 增敏作用

亲电子类辐射增敏剂的增敏作用大小与其亲电子能力强弱密切相关, 在一定范围内化合物的亲电子能力越强, 其辐射增敏作用就越大。因此, 亲电子类辐射增敏剂的亲电子性能是衡量其增敏作用强度的一项重要指标^[1]。常采用脉冲辐解技术测定化合物的还原电位来确定其亲电子能力^[1]。新型辐射增敏剂甲硝唑氨酸 (CM) 结构上含有亲电子的硝基基团^[2], 同时已证明它能明显地辐射增敏动物和人体实瘤^[3,4]、提高抑瘤生长作用, 但 CM 的辐射增敏作用是否也与其亲电子性能有关, 这是值得探讨的问题。为此, 采用差示脉冲极谱法测定了 CM 的还原电位, 并同时与灭滴灵及 MISO 进行了比较, 探讨它们的亲电子能力与其增敏作用的关系。

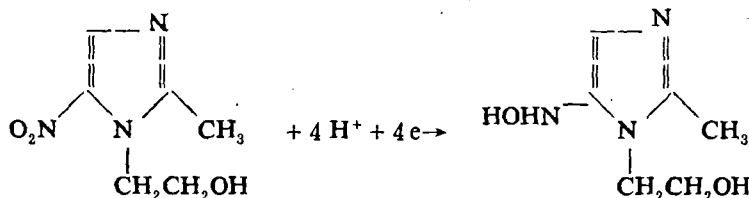
原 理

MISO、CM 和灭滴灵都是硝基咪唑类化合物, 具极谱活性, 可以在滴汞电极上被还原, 因此, 用极谱法测量这些活性物质在微电极上电解时所产生的电流, 计算当电流为极限电流的一半时的电位, 即半波电位用 $E_{1/2}$ 表示。它与被测物质的种类有关, 而与其浓度无关, 在一定的条件下是一个常数, 利用半波电位可以比较辐射增敏剂的还原能力, 可探讨其与增敏作用的关系^[1]。

MISO 在滴汞电极上的一般反应为:



灭滴灵在滴汞电极上的一般反应为:



CM 是灭滴灵的衍生物^[2], 也是有 5-硝基咪唑环, 其一般还原反应与灭滴灵的还原反应类同。

材料与方法

(1) 仪器 上海复旦大学科学仪器厂制造的 F-78 型脉冲极谱仪。

(2) 药物 CM, 本校合成; 灭滴灵, 武汉制药厂生产; MISO, 军科院二所产品。

(3) 测量条件 工作电极为悬汞电极, 铂丝为辅助电极, 银-氯化银作参比电极; 脉冲振幅为 50 mV, 扫描速度为 2 mV/s; 脉中间隔为 2 s; 阈值电压为 0.4 V; 灵敏度为 0.5; 测量前用亚硫酸钠(AR)除去样品溶液中的氧, 以排除氧的极谱波的干扰。

(4) 样品测定 分别取等摩尔药物(CM, MISO 和灭滴灵), 加 10 ml 甲醇溶解后, 用双蒸馏水或 0.05 mol/L $\text{NH}_4\text{OH}-\text{NH}_4\text{Cl}$ 缓冲液稀释成 10^{-5}mol/L 浓度(含 40% 甲醇), 取出此液适量置极谱测定池中, 照上述条件进行差示脉冲极谱法分析, 记录差示脉冲极谱图。

(5) 计算 根据公式: $E_p = E_{1/2} - \Delta E/2$, 计算各样品的半波电位, 式中 E_p 为峰电位, ΔE 为脉冲振幅^[5]。

结果与讨论

1. CM 与 MISO 亲电子能力及其与辐射增敏作用的关系

精密称取 0.01 mmol/L CM 和 MISO, 分别用甲醇溶解及用双蒸馏水配成 10^{-5}mol/L 浓度的供试样品按上述方法进行测量。图 1 和图 2 为 CM 及 MISO 的差示脉冲极谱图。结果表明: CM 和 MISO 的 $E_{1/2}$ 相应为 -0.635 V 和 -0.505 V, 可见 MISO 的还原电位比 CM 的高。这可能是因为 MISO 化学结构上的 2-硝基使整个咪唑环的吸电子能力比 CM 5-硝基咪唑环大的缘故。

曾采用羟磷灰石(HA)离心法研究了 CM 和 MISO 对乏氧 L_{7712} 细胞 DNA 链断裂的辐射增敏

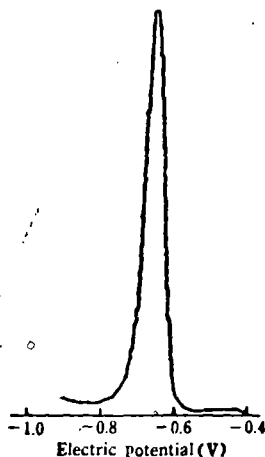


Fig 1. Differential pulse polarogram for CM

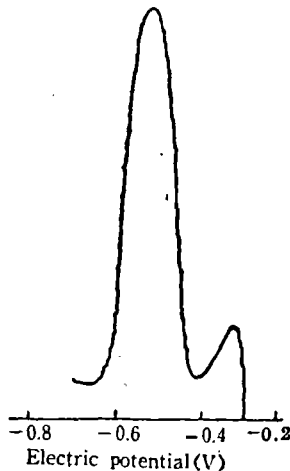


Fig 2. Differential pulse polarogram for MISO

作用, 结果 10 mmol/L CM 的辐射增敏比 (SER) 为 2.08^[6], 而 10 mmol/L MiSO 的 SER 值为 2.6^[7], MiSO 对乏氧细胞 DNA 单链断裂 (DNA ssb) 的辐射增敏作用比 CM 强, 这正与 MiSO 的 $E_{1/2}$ 大于 CM 的 $E_{1/2}$ 的结果相一致。

虽然在亲电子能力及离体分子增敏效应方面, MiSO 均大于 CM, 但 MiSO 的神经毒性较大, LD_{50} 为 1.34 mg/g, 治疗指数较低^[8], 而本文试验结果表明 CM 的神经毒性小, LD_{50} 为 4.41 mg/g, 治疗指数较高, 且有一定的亲肿瘤作用^[2]。因此, CM 的临床应用价值超过 MiSO, 有更大好的应用前景。

2. CM 与灭滴灵的亲电子能力及其与辐射增敏作用的关系

将 0.01 mmol/L CM 或灭滴灵分别溶解于甲醇中, 用 0.05 mol/L NH_4-NH_4Cl 缓冲液稀释成 10^{-5} mol/L 浓度, 然后测量 CM 与灭滴灵的差示脉冲极谱图。从图 3 可见 CM 的 $E_{1/2}$ 为 -0.665 V, 灭滴灵则为 -0.775 V, 两者相差 -0.11 V, 说明 CM 的还原电位比灭滴灵的还原电位高, 这与 CM 结构上的吸电子基团比灭滴灵的多有关。

在整体水平上, 曾比较研究了等剂量 (3.1 μ mol/g) CM 和灭滴灵对小鼠荷 S_{180} 肉瘤的辐射增敏作用^[3]。结果前者的辐射增敏作用大于后者。这与 CM 的还原能力比灭滴灵的强有密切关联。

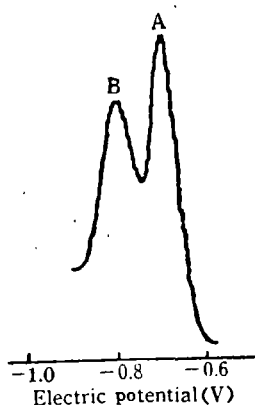


Fig 3. Differential pulse polarogram for CM and metronidazole (A: CM, B: metronidazole)

上述结果表明 CM 的亲电子能力和辐射增敏强度居中; CM 等三种辐射增敏剂的亲电子性能与其增敏作用成正相关, 与 Adams 等人提出的著名亲电子理论 (亲电子能力与辐射增敏作用间的构效关系) 相吻合^[9], 与 Warbman 的研究结果相一致, 他曾证明了四种不同类型的辐射增敏剂的敏化作用主要与其亲电子能力 (还原电位) 有关^[11]。

为了进一步寻找高效增敏剂, 不少学者曾从提高亲电子能力着手, 合成了一些还原电位很高的化合物, 如 SR-2537 ($E_{1/2} = -0.25$) 和 SR-2553 ($E_{1/2} = -0.23$) 等^[10]。按它们的高亲电子能力估算, 其辐射增敏作用均比 MiSO 约大 10 倍。然而, 它们对 EMT-6 肿瘤辐射增敏作

用均比 MiSO 差得多。在肿瘤中的药物浓度比 MiSO 低得多, 在体内消失速率也较快, $T_{1/2}$ 很短, 结果令人失望。可能与它们的亲电性太高及不能透过生物膜等多因素有关。因此, 认为在一定范围内, 增敏作用主要取决于还原电位, 随亲电子能力的增加而增加, 而超出该范围, 则可能相反; 不能简单地、无限地通过提高亲电性获得高效增敏剂, 必须考虑到其他一些影响敏化作用的因素。同时尤应重视低毒问题, 一些高效化合物往往伴随着高毒性, 使之难以用于临床。有些学者认为毒性主要与亲脂性有关, 但一些实验证明增敏剂的毒性与亲电子性能也有一定的相依关系^[8]。因此, 为获得新型高效低毒的辐射增敏剂, 在遵循亲电子理论的同时, 必须综合其他各种影响敏化作用和毒性的参数进行设计、研制才能有希望取得成功。CM 的亲电性能和体外辐射增敏作用略比 MiSO 差, 可是 CM 的治疗指数比 MiSO 高, 初步临床试用结果表明 CM 是一个低毒有效、临床使用价值较大的理想增敏药物。

用极谱法所测得的 $E_{1/2}$ 是一个特征常数, 能较准确地指示化合物的还原电位高低, 并可用

作为亲电子性能指标来比较一系列化合物的亲电子能力大小。通过用该法测定的还原能力来预计化合物的辐射增敏作用强弱,指导新型增敏剂的有效研制,能为增敏剂的深入研究提供可靠的客观指标。差示脉冲极谱法灵敏度高、分析时间短、操作简便、仪器价廉、易于推广,尤其在脉冲辐解技术不普及的条件下,在一般实验室里应用差示脉冲极谱法来研究辐射增敏剂有着重要的意义和价值^[1,5]。

参 考 文 献

- 1 Wardman P; Breccia A, Rimondi C, Adams G E. Radiosensitizers of Hypoxic Cells. Elsevier/North-Holland biomedical press, Amsterdam; 1979;95
- 2 Yang Li-Xi, Zheng Xiu-Long. J. Medical Colleges of PLA, 1987, 2:265
- 3 郑秀龙等. 第二军医大学学报, 1986, 7(2):91
- 4 马煌如等. 第二届全国辐射与环境生物物理会议论文集. 1987;115
- 5 李修禄. 药物分析. 第2版, 北京:北京人民卫生出版社, 1986;388
- 6 杨立锡, 郑秀龙. 生物化学与生物物理学报, 1983, 20(2):135
- 7 刘楠, 郑秀龙. 中国药理学报, 1985, 6:209
- 8 郑秀龙. 肿瘤放射治疗增敏药物的研究与应用. 上海:上海医科大学出版社, 1990;177
- 9 Adams G E, Dewey D L. Biophys Res, Commun., 1963, 12:473
- 10 Brown; J M, Sugahara T. Modification of Radiosensitivity in Cancer Treatment. Academic Press, Japan, Kyoto, 1984;139

(修改稿收到日期: 1991年8月12日)

MEASUREMENT OF POTENCY OF ELECTRONAFFINITY OF RADIOSENSITIZERS BY POLAROGRAPHY AND RELATIONSHIP WITH THEIR RADIOSENSITIZATION

Yang Lixi Zheng Xiulong Li Yunhua

(Second Military Medical College, Shanghai)

ABSTRACT Using the differential pulse polarography, the values of the half wave potential ($E_{1/2}$) of the new radiosensitizer CM, Misonidazole MISO and Metronidazole were measured, and also compared under the same condition. The results showed that the magnitude of the $E_{1/2}$ was as follows: MISO > CM > Metronidazole. The data demonstrates that their reduction ability correlates well with their radiosensitization. Although the electronaffinic potency of CM and its radiosensitization in vitro are in the middle, CM has properties of tumor-affinity to a certain extent, low toxicity and high therapeutic index, and the preliminary clinical results indicate that CM is a low toxic and efficient radiosensitizer.

KEYWORDS Radiosensitization, Polarography, Electronaffinity