

肉桂酸硫酯衍生物的合成及其辐射防护作用研究^[20]

董欣 宋金芳 章琦 黄振东 励杏娣

翁世芳 陈永明 王洪复

(上海医科大学放射医学研究所 上海 200032)

摘要 为了从肉桂酸硫酯衍生物中寻找更有效的辐射损伤防护药,改变对羟基肉桂酸和芥子酸的结构,由4'-乙氧羰基-氧基苯丙烯酸酐氯和二乙胺基乙硫醇,在碱催化下缩合,合成了4'-乙氧羰基-氧基-2-氯代苯丙烯酸二乙胺基乙硫醇酯盐酸盐,以及3,4,5-三甲氧基苯丙烯酸二乙胺基乙硫醇酯盐酸盐,经小鼠整体辐射后,早期给药试验证明:小鼠经⁶⁰Co γ 射线7.5~8.0Gy照射,30d存活率治疗组比对照组提高30%。还报道了化合物的质谱、红外及核磁共振光谱,讨论了有关化合物的ESR光谱。

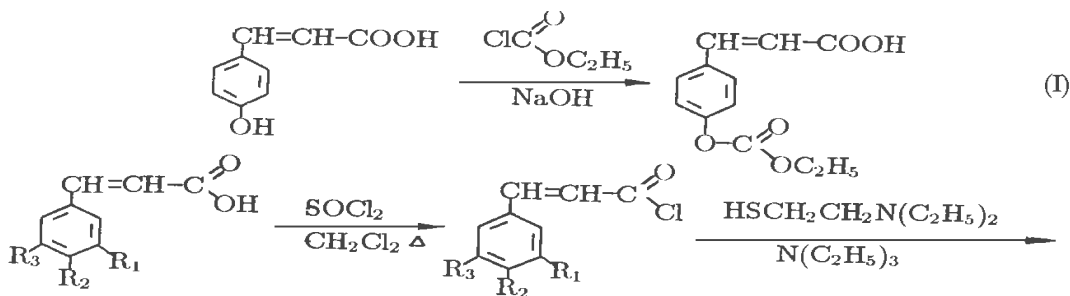
关键词 辐射防护药,肉桂酸硫酯衍生物,合成,辐射防护作用

为了寻找更有效的辐射损伤防护药,研究肉桂酸硫酯衍生物对辐射损伤的防护作用及机理,对天然存在的芥子酸,对羟基肉桂酸进行酯化,以引进具有“潜在硫醇”的氨硫基功能团。该化合物不同于文献熟知的硫代磺酸盐^[1]、硫代磷酸盐^[2]和硫代乙酸等其它代谢中能释放自由巯基的衍生物^[3,11]。羟基肉桂酸是酚型化合物,能清除多种活性自由基,最终形成低活性共轭自由基而终止,因而这类化合物有阻断自由基的致癌作用^[4,5,10]。氨硫基的引入,通过代谢可释放出自由基,增强对辐照形成的羟基自由基清除能力,并能增加细胞内游离巯基的浓度,从而使辐照所产生的细胞内大分子自由基,通过硫醇类氢原子转移而得到修复。

1 方法与结果

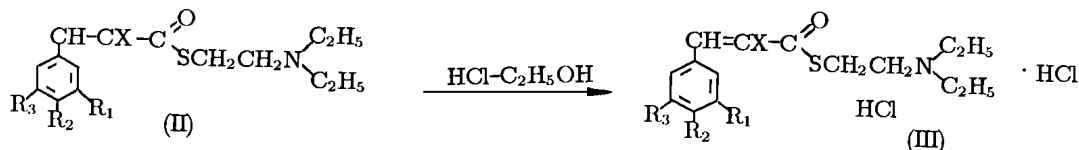
1.1 化合物的合成

1.1.1 合成路线:



[20] 卫生部科学研究基金资助课题

收稿日期: 初稿: 1996-02-02, 修回 1996-04-10



a: $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = OCOOC_2H_5$, $X = Cl$ 药物 8601; $R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3$, $X = H$

1.1.2 4'-乙氧羰基-氧基-苯丙烯酸(I) 参照文献^[6]方法, 将 10g 4-羟基苯丙烯酸 (0.0609mol) 溶于 130ml (0.134mol) 1mol/L 氢氧化钠水溶液中, 滴加 5.8ml 氯甲酸乙酯, 容器外用冰水冷却, 搅拌 22h, 用 3mol/L 盐酸中和, 析出白色沉淀, 滤集, 水洗, 得粗品 13g, 产率 90%, 熔点 172~178℃, 乙醇重结晶, 得 10g, 熔点 178℃。

1.1.3 4'-乙氧羰基-氧基-2-氯代苯丙烯酸二乙胺基代乙硫醇酯盐酸盐 取 1.2g (I) (0.005mol), 与 6ml 新鲜蒸馏的氯化亚硫酸酐和 3 滴干燥吡啶混合, 50℃ 左右加热, 反应瓶中放出大量二氧化硫及氯化氢气体, 15min 后升温至 100℃, 回流 22h, 减压下除去溶剂, 残存的氯化亚硫酸酐用少量无水苯稀释后除去, 得金黄色的针状结晶, 加 10ml 二氯甲烷使结晶溶解, 制得酰氯溶液, 供下步实验用。

将上述制得的酰氯溶液慢慢滴入含有 1ml (7.5mmol) 二乙基胺基代乙硫醇(制备方法同文献^[7])及 1ml (7.5mmol) 三乙胺和 5ml 二氯甲烷混合液中, 容器外冷却, 然后自然升至室温, 搅拌后放过夜 22h, 分别用水、10%的醋酸溶液、10%碳酸氢钠和饱和氯化钠溶液洗涤, 用二氯甲烷提取水溶液, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至 2ml, 上制备层析板分离。用氯仿及醋酸乙酯混合液 (2:3) 洗脱, 浓缩后得黄色油状物: 4'-乙氧羰基-氧基-2-氯代苯丙烯酸二乙胺基代乙硫醇酯(II)。

将饱和氯化氢乙醇溶液数滴加入到上述黄色油状物中, 有黄白色固体析出, 加无水乙醚使盐酸盐结晶完全析出, 过滤, 用无水乙醚洗涤, 干燥, 称重 0.71g, 为理论量的 33.65%, 熔点 138~142℃, 经丙酮和二氯甲烷混合溶剂重结晶后, 熔点 152~153℃。元素分析: $C_{18}H_{25}NCl_2O_4S$ 计算值(%) : C, 51.18; H, 5.97; N, 3.31。实测值: C, 50.96; H, 6.01; N, 3.20。红外光谱 IR (KBr) max cm^{-1} : 2940, 2650 [CH, H^+NR_2], 1765 (OCO_2), 1660 (CO), 1600, 1580, 1510 [芳环 C=C], 1420 [-S-CH₂-], 1280 (CN), 840 [HRC=CCIR 反式]。核磁共振谱 (¹HNMR) : (CDCl₃), δ . 3.7~1.49 t, 9H (3CH₃), 2.61~3.22 m. 6H [N(CH₂)₃], 3.47~3.51 m 2H [-S-CH₂-], 4.29~4.35 q 2H [-O-CH₂-], 7.277.88 d-d, 4H (芳环上 4 个 H, J=8.7Hz), 7.78, s. H(CH=C), 12.54 s. H(H^+Cl^-)。质谱 M/Z: 385.11[M-HCl], 370.09[M-CH₃]. HCl, 313 [M-N(C₂H₅)₂HCl], 296[M-CO₂C₂H₅. HCl], 253[M-S(CH₂)₂NEt₂. HCl], 164[C₆H₄CH=CClCO], 136[C₆H₄CH=CCl], 132[S(CH₂)₂NFt₂], 102[S(CH₂)₂N(CH₂)₂], 101 [C₆H₄CH=C], 100[(CH₂)₂NFt₂]。

1.2 药物 8601 的辐射防护作用

1.2.1 对 7.5~8.0Gy 照射小鼠的早期治疗效价 实验应用 ICR 小鼠, 上海医大放射医学研究所实验动物房繁殖, 合格证第 32~33 号。雄性, 体重 18~21g, 每次实验分为照射给药组 (治疗) 与照射不给药组 (对照), 每组 10 只, 共做 3 批实验。药物 8601 用注射用水溶解, 给药组分别于照射后 15min 内和 24、48h, 腹腔注射 1mg/0.2ml (50mg/kg) 药物 8601, 对照组于照射后腹腔注射 0.2ml 注射用水。照射源为 ⁶⁰Co γ 射线, 照射剂量为 7.5 和 8.0Gy, 剂量率为 1.

04Gy/min, 照射距离 170cm。结果显示:照射后 10、15、20 和 30d, 治疗组的存活率均明显高于对照组($p < 0.05$), 保护系数 $\bar{x}$: 1.41 ± 0.43 (见表 1), 治疗组 30d 的存活率(70%) 较对照组(40%) 提高 30%(见图 1)。

Tab. 1 The radioprotective effects of drug 8601 on mice irradiated with 7.5~8.0Gy

Experiments	Groups	Animal numbers	Days after irradiation				Protective coefficient
			10	15	20	30	
1	Treatment	10	10	10	10	10	2.02
	control	10	5	5	5	5	
2	Treatment	10	10	9	8	8	1.06
	Control	10	10	6	5	5	
3	Treatment	10	10	7	5	4	1.15
	control	10	9	4	3	2	
Sum	Treatment	30	30 ⁽²⁾	26 ⁽²⁾	22 ⁽²⁾	21 ⁽¹⁾	1.41±0.43
	Control	30	24	15	13	12	

1, 2 groups exposed to 7.5Gy, 3 groups exposed to 8.0Gy⁽¹⁾ Compared with the control $p < 0.05$ $p^2 < 0.01$

1. 2. 2 对照射小鼠 LD_{50/30} 的影响 将照射剂量分为 9.50、8.10、7.29 和 6.56Gy 4 组, 每照射组分给药(治疗)与不给药(对照)两组, 每组 10 只小鼠, 均为雄性, 体重 18~21g。给药组于照射后 15min 内、24 和 48h 3 次腹腔注射药物 8601、1mg/0.2ml 注射用水, 不给药组注射注射用水, 按不受分组限制的简化概率单位通式的方法计算 LD_{50/30}, 结果为: 治疗组 LD_{50/30} 为 7.41 ± 0.61 Gy, 对照组 LD_{50/30} 为 7.20 ± 0.39 Gy; DRF 为 1.03(1.00~1.06)。照射剂量进行相关后回归分析: 对照: 随之 $\gamma = -0.9383$; 治疗: $\gamma = -0.9871$; 经回归方程计算每下降组间照射剂量, 对照效价增长均为 21.6%; 治疗效价增长均为 26.5%, 两者相比 $p < 0.01$ 。

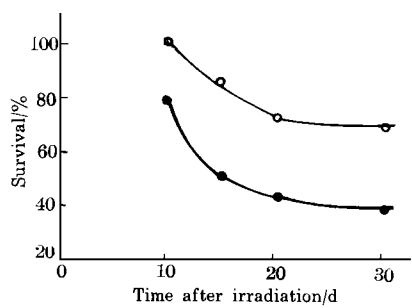


Fig.1 Survival rate of treatment and control groups
(○) Treatment (●) Control

Fig. 1 Survival rate of treatment and control groups
(○) Treatment (●) Control

2 讨 论

药物 8601^[7,8] 为 3, 4, 5-三甲氧基苯丙烯酸乙二胺盐。药理实验证明它具有升高辐照后小鼠的血小板量^[9], 但在小鼠整体致死剂量辐照试验中, 该药物对提高 30d 动物存活率上的保护效果不明显, 经电子自旋共振(ESR)波谱研究证明:它对 dTMP 和 DNA 的保护作用不明显。而药物 8601 在其母体分子中, 若引入氨硫基功能团, 使之在体内代谢水解释放出游离巯基, ESR 波谱研究证明:药物 8601 分别与 dTMP 和 DNA 二元分子混合(摩尔比为 1:10), 仍能显示很好的保护效应。整体效应实验证明:对 7.5~8.0Gy γ 射线照射小鼠早期给药可提高存活率 30%, 这主要是由于其分子中的芳香结构能与 DNA 的碱基通过 π 电子间的相互作用, 形成长链的堆集, 有利于实现电子的长程转移, 同时由于分子中氨硫基功能团的引入, 在

体内代谢水解, 释放出游离巯基, 增加细胞内的游离巯基的浓度, 从而使辐射所产生的细胞内大分子自由基, 通过硫醇类的氢原子转移, 而被修复。所以, 药物 8601 能清除辐照时产生的自由基, 增强机体对辐射损伤的修复能力。而尽管药物 8601 分子中也有芳香结构, 但无氨基功能团, 所以它清除自由基及对 dTMP 和 DNA 的保护作用比较小, 且不明显。本研究初步结果显示, 此类化合物通过抗自由基而获得抗辐射损伤的效果, 值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Foye W O. "Burger's Medicinal Chemistry" 4th ed M E Wolff Ed; Wiley: New York, 1981, part 3. Chapter, 37;20
- 2 Piper J R *et al.* J Med Chem, 1969, 12;326
- 3 Foye W O *et al.* J Med Chem, 1987, 30(1);57
- 4 童永彭等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(4);51
- 5 Steenken S, Neta P. J Phys Chem, 1982, 86;3661
- 6 莫若莹等. 药学报, 1985, 20(8);584
- 7 黄振东等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(2);45
- 8 黄振东等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1986, 4(3);39
- 9 盛民立等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(2);1
- 10 左志华等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1995, 13(3);140
- 11 Foye W O. Ann Pharmacother, 1992, 26(9);1144

SYNTHESIS AND RADIOPROTECTIVE ACTIVITY OF CINNAMIC ACID THIOESTER DERIVATIVE

Dong Xin Song Jinfang Zhang Qi Huang Zhendong

Li Xingdi Weng Shifang Chen Yongming Wang Hongfu

(Shanghai Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT In order to find more effective radioprotective agents from cinnamic acid thioester derivatives, the structure of p -hydroxycinnamic acid and sinapic acid into $4'$ -O-carbethoxy- $2'$ -chlorocinnamic acid diethylaminoethylthiol ester hydrochloride and 3, 4, 5-trimethoxyphenylpropenoic acid diethylamino ethylthiol ester hydrochloride has been changed. The main step of synthesise of these agents involved the condensation of $4'$ -O-carbethoxy-phenylpropenoic acid chloride with diethylaminoethylthiol under base catalyst. The protective test on mice irradiated with ^{60}Co γ -rays of $7.5 \sim 8.0\text{Gy}$ was shown that the animal survival rate was enhanced by 30% within 30 days after irradiation in comparison with the control group. The MS, IR and NMR spectra data of cinnamic acid thioester derivative have also been reported. The ESR spectra of the compound was discussed.

KEYWORDS Radioprotective agents, Cinnamic acid thioester derivative, Synthesis, Radioprotection