

SH
国际原子能机构 1968 年 10 月座谈会会

群 昉 译

辐射损伤与巯基化合物

原子能出版社

辐射损伤与巯基化合物

国际原子能机构 1968 年 10 月座谈会会议录
群 昉 译

原子能出版社

1976

内 容 简 介

本书是1968年10月21—25日国际原子能机构召开的辐射对生物分子信息系统的损伤及巯基化合物防护作用原理讨论会的会议录，共有十七篇综合性论文。从分子、细胞和整体水平比较全面地阐述了SH和SS化合物放射防护作用原理的研究进展，并对今后如何加强这方面的研究提出了建议。同时，还对部分辐射致敏剂的作用作了简要论述。

Radiation Damage and Salphydryl Compounds
Proceedings of A Panel, Vienna, 21—25 October, 1968.
International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969.

*

辐射损伤与巯基化合物

国际原子能机构1968年10月座谈会会议录

群 昉 译

原子能出版社出版

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行·新华书店经售

☆

开本 $787 \times 1092 \frac{1}{32}$ • 印张 $7 \frac{1}{16}$ • 字数 156 千字
1976 年 9 月北京第一版 • 1976 年 9 月北京第一次印刷
印数 001—4,000 • 定价: 0.60 元
统一书号: 15175 • 070

前 言

长期以来就已知道巯基是蛋白质分子结构的重要部分，在蛋白质分子的功能中起重要作用。由于认识到含巯基的酶对辐射非常敏感以及有半胱氨酸存在时可防止辐射损伤，小分子巯基物质就成为过去二十年所发现的放射防护剂的最有希望的来源。

尽管放射防护剂的历史较短，却已发表了大量的文章。几乎所有的放射生物学工作者在他们科学事业的某个阶段都进行过放射防护的实验，希望简单地给以放射防护剂就能防止辐射对机体的损伤作用。至今虽已发现了许多新的防护化合物，但理想的防护剂（有高度防护作用，毒性低，有效防护作用期长等等）尚未实现，只有那些坚定的研究工作者仍继续致力于放射防护药的研究。

同时，生物科学中出现了一个新的领域，分子生物学，放射生物学工作者在这方面做出了重要的贡献。对脱氧核糖核酸的遗传作用，信息通过核糖核酸链传递到蛋白质，以及在分子水平的调节过程等问题的了解有了明显的进展。

这些成就以及分子和细胞辐射损伤的修复与恢复的最近发现，对放射防护化合物作用原理的研究提供了新的展望和概念。重要生物大分子的辐射损伤和放射防护的作用原理，可代表近代放射生物学的基本问题。这些研究将有助于更好地利用辐射于各种实际应用上，如肿瘤的放射治疗，对辐射的保健和安全方面也是很重要的。

1968年10月，国际原子能机构召开了一个辐射对生物分子信息系统的损伤，特别是关于巯基作用的讨论会，本书介绍了讨论会中许多论文的观点和结论。

目 录

前 言

含硫化合物对改变辐射损伤的情况	(1)
在其他溶质存在的情况下电离辐射	
对酶溶液的灭活作用	(21)
巯基和其他防护剂对电离辐射作用	
于大分子的防护机理	(32)
关于硫醇和二硫化合物的生化和放射防护	
效应在亚细胞和分子水平的研究	(58)
半胱胺和 AET 对水溶液中胸腺嘧啶	
辐射分解的影响	(73)
DNA 的修复和放射致敏作用	(81)
早期辐射毒素与 AET 保护作用的可能机理	(106)
氨基硫醇类放射防护剂的作用机理	(117)
含-SH 的放射防护剂对核酸代谢的作用	(126)
电离辐射对组蛋白巯基磷酸化和氧化	
还原状态的作用及其生化意义	(135)
对培养的哺乳动物细胞的放射防护作用	(142)
自然和人工辐射防护之间的相互作用	(152)
利用细胞毒剂引起的巯基水平改变来作为	
快速评价该药对肿瘤的最终治疗效果	(164)
大剂量 SH 或 SS 放射防护物质引起的休克	(173)
AET 的毒性和放射防护作用	(181)
防护剂与辐射敏感生化过程的变化	(200)

半胱胺的辐射防护作用和照射小鼠中

半胱氨酸代谢的某些方面·····	(208)
结论·····	(216)
总结与建议·····	(219)

含硫化合物对改变辐射 损伤的情况

A. 霍兰德 D. G. 多尔蒂

引 言

自从认识到电离辐射能产生有害的作用以后, 辐射防护的历史就和电离辐射的应用紧密地联系在一起。大约在二十世纪二十年代, 由于氧效应的发现, 辐射防护有了新的发展并于四十年代早期得到了再次证实。在电离辐射照射时, 由于氧的存在能加强辐射效应这一观察结果, 提出了某些可以去掉或与氧结合的化合物是否有防护作用的问题。氧效应不仅在研究机体的活存, 而且在研究细胞核、染色体畸变和遗传效应方面均证明是一个很好的工具。Gray 和他的同事们充分证明了用增加氧压来加强辐射效应, 而且, 增加氧压已成为 X 线控制恶性肿瘤的一个很好的方法。这个方法一直在进行研究, 并且得到了一些有意义的结果, 同时鼓励人们进一步设计在照射时增加氧压按放病人的装置。

与上述工作的同时, 进行了紫外线辐射(2600 Å)杀死细菌和其他生物体以及产生染色体畸变和突变的效应的研究。虽然紫外线辐射作用不同于电离辐射, 但是这两种类型的辐射均可观察到辐射损伤的恢复, 而且证明了恢复现象是细胞活存的最重要的方面。如果给予细胞和生物体一个机会, 则

它们对辐射损伤是能够恢复的，这是在辐射研究中最有成效的研究领域之一。也是在辐射对核酸、病毒和细菌效应的研究中有着特别大的影响的。

在二十世纪三十年代，对由辐射效应和其他有害因素作用下机体活存的外界因素的影响是很感兴趣的。许多微生物学家进行了对X线辐射防护的观察，指出，如果细菌在肉汤里照射则比在生理盐水溶液里照射对X线具有较大的抵抗力。这是早已观察到的人人皆知的微生物辐照效应。然而，直至下述的进展出现之前尚未见到进一步增加微生物抗力的尝试。

防 护 剂

Dale 报道了对辐射损伤系统防护的最早认识，他注意了硫和有关化合物对酶的X线反应的作用。此后，巯基化合物在生物组织中对电离辐射损伤的化学防护领域里担负了重大而有意义的作用。Patt 等^[1]证明，半胱氨酸是一个有效的防护剂，开创了对更多有效防护剂的继续研究。迅速继起的有谷胱甘肽（Patt 等^[2]，Chapman 等^[3]）和 β -巯基乙胺（MEA），至今仍为最有效的制剂之一（Bacq 等^[4]），并为业已确定的防护剂。1955年在巯基乙胺结构的研究过程中，Doherty、Burnett 和 Shapira^[5-7]发现了一个新类型的有效防护剂，即氨乙基异硫脲（AET）和它在中性 pH 中重新排列的产物巯基乙胍（MEG）^[8,9]。并指出最大的防护活性仅仅见于游离的碱基与硫醇或潜在硫醇两个基团的距离不超过三个碳原子的化合物^[7]。半胱氨酸、MEA 和 AET 的这些发现，促使人们必须寻找更有效的和毒性低的硫醇类防护剂。从文献

的调查可以看到硫醇类化合物寻找的数量和效果。作者 (D. G. D) 的一种汇集的文摘卡片中超过了 1500 篇, 每年在各种类型的生物系统中与巯基化合物有关的大约占 60%。多半在这些基本结构上进行了上千种的结构改变。但是, 没有一个单一化合物在降低毒性和增强作用两个因素上都得到改进的。由于这些化合物在放射治疗中的应用有一定的好处, 所以仍在大量地寻找防护剂。

在 Bacq 和 Alexander^[10]、Thomson^[11]和 Bacq^[12]的著作中, 总结了许多优秀的综述、学说的讨论和各化合物实验概况。另外许多综述收集了化合物对防护作用的试验和辐射防护学说的讨论^[13-22]。Van Bekkum^[23]和 Langendorff 等^[24]的两篇综述特别评述了关于辐射防护研究的技术问题。

前几年重点从寻找新化合物转向已知有效化合物的应用 (单药或复方), 对辐射防护有关的过程和器官两方面都有了某些了解, 并在防护范围内得到改进和扩大。以下的讨论绝不是全面的, 而只是有关近来的工作和局限在防护化合物和它的复方方面。无论哪方面, 我们实验室得到的结果也包括在内。

在过去的五年, 曾报告了大量有防护作用的新化合物, 大多数只是在致死 (LD_{100}) 的辐射水平显示有防护作用。在超致死辐射剂量时, 它们仅能轻微地提高防护作用, 其剂量降低系数 (DRF) 在 1.1—1.2 范围内。在 Hansen 和 Sörbo^[25]工作的基础上, 发展了一种最有效的化合物基团即硫代磷酸酯类。Akerfeldt^[26]合成了一系列硫代磷酸酯, 发现氨基乙基、胍基乙基、胍基丙基和二甲基氨基丙基-2-硫代磷酸酯 (dimethylaminopropyl-2-phosphorothioate) 均有好的防护作用。在氨基氮上以烷基取代能降低或取消其活性, 与巯基羟

胺类和巯基胍所发现的一样(Doherty等^[5-7,27])。Akerfeldt等^[28]获得了剂量降低系数为1.6的S-2氨基丙基硫代磷酸酯(S-2 aminopropylphosphorothioate)和2.16的S-(3氨基-2-羟)丙基硫代磷酸酯[S-(3 amino-2-hydroxy) propylphosphorothioate]。我们也制备了一系列的此类化合物,并发现与氨基硫醇相反,其毒性随碳链的增长而降低。这五种化合物的LD_{50/30}反应列于表1。其剂量反应曲线的斜

表1 氨基烷基硫代磷酸酯的LD_{50/30}^①

化 合 物	剂 量		LD _{50/30} ^② , 伦
	毫克/公斤	毫克分子/公斤	
2-氨基乙基-	480	2.68	1500 ± 30
甲基氨基乙基-	600	3.1	1338 ± 18
	300	1.55	991 ± 23
DL-2-氨基丙基-	800	4.15	1437 ± 15
D-2-氨基丁基-	480	2.3	1303 ± 22
3-氨基丙基-	1000	5.2	1450 ± 26

① 作成单钠盐。

② 对(C 578 BL × C 3 H) F₁小鼠的LD_{50/30}的值为750伦, 这些化合物的DRF₅₀为1.8—2.0。

率与用巯基乙胺所得到的反应曲线斜率相似。因此, 磷酸酯化硫醇基可以大大地降低毒性, 此外, 可能有助于化合物分布到辐射损伤的部位。Akerfeldt等^[28]也报告了两个新的有意义的无机防护剂: 剂量降低系数为2.3的酰胺基硫代磷酸二胺(diammonium amido phosphorothioate)和剂量降低系数为2.16的二酰胺基硫代磷酸二铵(diammonium thiodiamidophosphate)。另外一个有相当防护作用的无机化合物, 即次亚硫酸钠, 给小鼠静脉注射6克/公斤得到的剂量降低系数为1.6(Maldague和Duplan^[29])。

在合成方面目的在于改变这些防护化合物结构的主要努力,已经或多或少地在减少,但有意义的研究和新化合物还是偶有报道。Gorodetsky 等^[30]制备了一系列二芳基硫代酰肼类(diarylthiocarbohydrazides),并发现有金属螯合作用和可发生硫醇类型反应。最有效的防护剂是那些增加水溶性的取代物。Rose 和 Walpole^[31]观察了一组硫代乙醇酰肼类(thiol-glycolichydrazides)化合物,发现其中四种化合物不但对小鼠和猕猴的致死剂量具有某些辐射防护作用,也对氮芥的致死作用具有防护作用。Handrick 等^[32]试验了有关 2-氨基-1-烷基硫醇类(2-amino-1-alkanethiols), 1-氨基-2-烷基硫醇类(1-amino-2-alkanethiols), 2-噻唑啉类(2-thiazolines)和 2-噻唑啉-2-硫醇类(2-thiazoline-2-thiols)的 21 个化合物,观察到所有的硫醇和一些可能水解成硫醇的噻唑啉,在小鼠身上有一定的防护作用。(Sztanyik 等^[33]制备了一些 AET 环状同系物,企图使游离的硫醇基团含量与毒性和组织呼吸相关联,但没有发现比母体化合物更好的。Piper 等^[34]合成了一系列在 N, N' 上以多亚甲桥连接的 2-氨基乙基硫代磷酸酯或硫代硫酸酯,发现硫代磷酸酯类中 3-和 4-亚甲基团连接的是有活性的化合物,而在硫代硫酸酯类,不论什么架桥连接的均消失其活性。这与我们在多亚甲基架桥的巯基乙基和丙基胍的实验相似,即只有单亚甲基偶合的化合物有活性,两个以上的亚甲基偶合时则活性消失并大大地增加其毒性。Ferris 等^[35]报道了一系列 N-取代 2-巯基脒胺类化合物,这类化合物中 N-苯乙基取代的有好的活性, N-2-(2-噻吩基乙基)取代的活性次之。

Field 和 Kim^[36]研究了邻(2-氨基乙基双硫代)安息香[O-(2-aminoethyldithio) benzoic acid]的衍生物,包括间位

和对位的异构体及其他 N 和酯的衍生物,发现邻位取代物的电子效应或双硫化合物歧化反应的对抗能力与防护效应之间没有明显的关系。最有效的是两性离子,邻位取代化合物。Reber 等^[37,38]在两个种系的小鼠身上试验了一系列的 β -异硫脲基 N, N' 二芳丙脒类化合物(β -isothiuronium-S-propio-N, N'-diarglamidines),发现有轻微的保护作用。最有效的化合物是 3,3'-二硫代双丙脒(3,3'-dithiobispropioamidine),证明此化合物与胱胺可相比拟。De Vecchi^[39]报告了蛋氨酸氯化甲砒(methyl methionine sulphonechloride)的临床试验结果,其结论是此药具有辐射防护的特性。Bick 和 Jackson^[40]报告了 1,4-二硫代丁四醇(1,4-dithiothreitol)不能形成混合双硫键,在有袋动物组织培养的白细胞中可减少染色体断裂。我们试验了类似的化合物 1,4-二硫代赤藓醇(1,4-dithioerythritol),在小鼠身上发现它是有毒的和无效的。因此,近年来在硫醇类结构方面的研究,继续支持过去关于硫醇类化合物所必须的结构规律。

防护剂的旋光活性

硫醇类化合物的旋光活性问题是经常出现的,Devik^[41]报告了 D-半胱氨酸和 L-半胱氨酸在防护作用上两者是相同的。我们用配对的 (C 57 BL 16 $\times$ C 3 H) F₁ 小鼠分组,重复了这些实验,给小鼠腹腔注射 1.6 克/公斤,并一起照射, L-半胱氨酸的 LD_{50/30} 的值为 1034 伦,而 D-半胱氨酸为 1300 伦。D-同分异构体在 1425 伦照射时活存 10—20%,而 L-同分异构体在超过 1275 伦照射时没有活存的动物。同样的实验,用 200 毫克/公斤的 D-和 L-2-氨基丁基异硫脲得

到的 $LD_{50/30}$, D-化合物为 1350 伦, L-化合物为 965 伦。这些作用多半由于 D-化合物的代谢较慢, 因此在辐照期间的有效浓度较高。记住这些结果, 似乎有理由推想谷胱甘肽的 D-同分异构体可能是一个更有效的防护剂。此外, 如果证明 D-同分异构体是无效的, 则表明 L-化合物所获得的辐射防护作用与特殊酶反应或与结合部位有关联。我们合成了谷胱甘肽所有可能的同分异构体, 即 γ -D-谷酰基-D-半胱氨酰甘氨酸 (γ -D-glutanyl-D-cysteinylglycine), γ -D-谷酰基-L-半胱氨酰甘氨酸 (γ -D-glutamyl-L-cysteinylglycine), γ -L-谷酰基-D-半胱氨酰甘氨酸 (γ -L-glutamyl-D-cysteinylglycine) 和 γ -L-异谷胱甘肽 (γ -L-isotlutathione) (Doherty 和 Turner^[42]), 并且在小鼠身上进行了致死剂量 900 伦的照射试验。发现它们在毒性和防护作用方面与天然的谷胱甘肽完全是相同的, 这表明不涉及酶的途径。此外, γ -谷酰基半胱氨酸和半胱氨酰甘氨酸二肽成分是无活性的。

硫醇类相应的双硫化物

硫醇类比其双硫化合物相对有效, 这是辐射防护领域里的一个重要问题, 但不同时期报道的结果是相矛盾的。我们曾测定了较有效的防护剂的辐射剂量-效应曲线。辐射的 $LD_{50/30}$ 值, 在过去几年中至少是从雌雄 $(101 \times C3H)F_1$ 和 $(C57BL \times C3H)F_1$ 两个种系小鼠身上得到的。给药途径是腹腔注射和口服(禁食的动物)。从图 1 可以看出, AET 和 MEA 的剂量-效应曲线是相似的。表 2 综合了化合物的用量达到不引起化学毒性死亡的最大量时的数据。曾建立一个计算机程序以接受原始的死亡率数据, 并计算 $LD_{50/30}$ 值。显然,

表 2 氨基和胍基硫醇类及双硫化合物①的 LD_{50/30}

化 合 物	小鼠 品系	腹 腔 注 射			口 服	
		剂 量		LD _{50/30} ②, 伦	剂量, 毫克/公斤	LD _{50/30} , 伦
		毫克/ 公斤	毫克分 子/公斤			
巯基乙基胺 (MEA)	1C3	200	1.76	1390 ± 35	400	988 ± 52
2-氨基乙基二硫化化合物 (AED)	1C3	240	1.06	1220 ± 20	480	1032 ± 19
	BC3	240		1200 ± 20		
氨基丙基二硫化化合物 (APD)	1C3	100	0.40	800 ± 15		
	BC3	100		810 ± 25		
2-氨基乙基异硫脲 (AET) (2-巯基乙基胍)	1C3	360	1.28	1390 ± 22	640	1346 ± 10
					800	1342 ± 31
	BC3	360		1427 ± 19	640	1293 ± 18
胍基乙基二硫化化合物 (GED)	1C3	120	0.30	998 ± 15	240	934 ± 20
	BC3	120		1123 ± 20	240	1073 ± 18
3-氨基丙基异硫脲 (APT) (3-巯基丙基胍)	1C3	240	0.82	1290 ± 16	480	1355 ± 41
					640	1355 ± 26
	BC3	240		1268 ± 39		
3-胍基丙基二硫化化合物 (GPD)	1C3	120	0.28	868 ± 61	240	828 ± 38
	BC3	120		1000 ± 25	240	975 ± 32
对照	1C3			689 ± 8		
	BC3			753 ± 6		

① MEA 成盐酸盐, AED 和 APD 作成双盐酸盐, AET、APT、GED 和 GPD 作成双氢溴酸盐。

② 95%可信限。

在我们所用的小鼠种系中, 双硫化合物的剂量降低系数和相应的硫醇类是不同的。唯有胱胺能给出与硫醇相同(-SH)的克分子量, 但即使如此还不如 MEA 一样有效。其他双硫化合物的毒性要大两到三倍, 因此, 不能给予相同的剂量 (如硫醇)。如果从严格的克分子基础上来看, 即产生某一既定的防护效应所需的克分子数, 则可见胍基乙基双硫化合物比

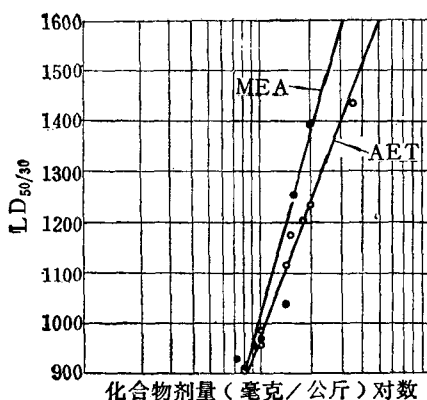


图 1 MEA 和 AET 剂量效应图

AET 更有效。虽然在所有的例子中，多数化合物是能够由口服途径给药，但 LD_{50} 值不如腹腔注射给药的高。

防护剂的复方

在过去五年内，越来越注意各种防护化合物伍用的应用，因为单一化合物要想具有进入和保护一个哺乳动物各种细胞系统所必须的特性，似乎是不大可能的。有效防护剂在体内和体外各种生物系统中的大量研究工作清楚地表明，对器官系统是有选择性分布的，以及对辐射损伤有不同的防护作用和不同的作用机理。防护剂的伍用似乎需选择或者在防护作用上能互相提高，或者能降低毒性和不良的副作用。要注意化合物类型的选择，对了解辐射防护重要过程是有价值的。但用如此贫乏的线索去寻找有效的伍用，在很大程度上必定是凭经验的。复方曾有硫醇类化合物同胺类和致缺氧物质

的伍用。Bacq^[12]曾写了二十世纪六十年代早期研究工作的一篇很好的综述。我们用谷胱甘肽 (GSH) 进行配伍 (Doherty^[43]), 致力于降低硫醇类的毒性, 同时由此增加辐射敏感部位的 -SH 有效浓度。用各种巯基胍胺和巯基乙胍 (MEG) 与谷胱甘肽伍用的毒性研究表明, 任何一防护剂腹腔给药的最大耐受量能增加三分之一, 即 AET 从 360 毫克/公斤增至 480 毫克/公斤, MEA 从 150 毫克/公斤增至 200 毫克/公斤。MEG 和 MEA 两者伍用时得到的 $LD_{50/30}$ 为 1700 伦, 比在低水平时单独应用 MEA 或 MEG 大约提高 200—300 伦。谷胱甘肽也降低 MEG 和 MEA 双硫化合物的毒性, 但不增加这些化合物的辐射 LD_{50} 值。MEA 或 MEG 和 GSH 形成混合双硫化合物, 其效果比单独硫醇类更低, 得到的 LD_{50} 值低于 1200 伦。因此, 形成混合双硫化合物在这些复方辐射防护中只起小的作用。将 GSH 加入到 MEG 中也能延长有效时间, 所得到的数值为 1 小时后 1450 伦; 2 小时后 1250 伦; 3 小时后 950 伦。用巯基丙基胍同样可降低毒性和增加防护效果, 而用 D-2-氨基丁基异硫脲或 3-氨基丙基-N'-甲基异硫脲只降低毒性, 不增加防护效果。

骨髓和防护剂

我们企图以骨髓预防和化学药的预先处理合并应用来进一步了解化学防护的作用, 因此我们用注射不同数目的同系骨髓细胞, 以及在超致死剂量下能恢复的适宜细胞数, 进行测定 LD_{50} 的实验 (Doherty^[44])。用 $LD_{50/30}$ 和 $LD_{50/90}$ 的反应作为定量衡量防护效果。从图 2 所见, 得到的似乎是一个双相反应, 初期植入的骨髓细胞数一直到 2×10^5 的量才有

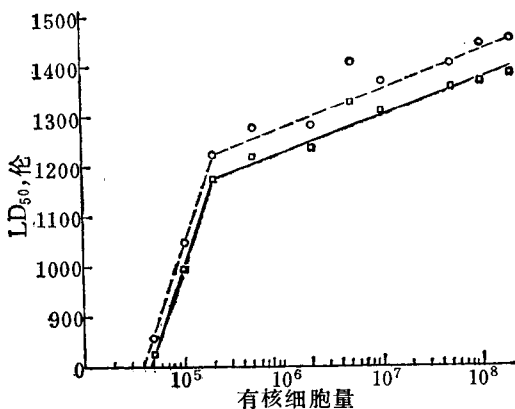


图 2 各种骨髓剂量对(C57BL×C3H) F_1 小鼠的
LD_{50/80}, LD_{50/90}效应
○—LD_{50/80}; □—LD_{50/90}。

效。超过 1200 伦无效，或者骨髓对肠道损伤的迟发效应的发生，无剂量效应关系。这些结果表明，超致死辐射恢复的适宜细胞剂量为 $2-5 \times 10^6$ 。照射前 15 分钟， 5×10^6 有核细胞剂量与 GSH、AET 或 GSH-AET 化学药预先处理相结合，测定了所有伍用的 LD₅₀ 值。骨髓加到 GSH-MEG 复方中，LD₅₀ 值由 700 伦增至 2400 伦。如果将单一处理和伍用所得到的效果作一比较，显然伍用效果的增加和单一处理效果增加的总和大致相同（表 3）。最大的误差是 AET 加同系骨髓，观察值比预期值低 300 伦。从这些结果似乎明显可见，GSH 和 AET 皆未对骨髓系统提供最大的防护作用。因此，为了增加化学防护作用，还必须寻找提高骨髓防护效果的制剂。

Maisin 等^[45-47]发现，AET、谷胱甘肽和血清素复方同样能增加防护效果，得到的 LD_{50/30} 的剂量降低系数为 2.0。