

两个硼化甲基葡萄糖苷的合成及其生物分布*

王福泉 王祥云

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

合成了 6-脱氧-2, 3, 4-三-O-乙酰基- α D-甲基葡萄糖苷氧代十二硼烷四丁基铵盐和双(6-脱氧-2, 3, 4-三-O-乙酰基- α D-甲基葡萄糖苷) 硫代十二硼烷铯盐, 并用红外(IR)、核磁共振($^1\text{H NMR}$)、元素分析等方法做了表征。测定了它们在脱去乙酰基后在荷肝癌细胞(H22)昆明小鼠体内的分布。

关键词 硼化糖苷 硼中子俘获治疗 生物分布

中图分类号 Q · 503 O · 629.13

硼中子俘获治疗(boron neutron capture therapy, BNCT)目前已进入临床实验阶段。用反应堆产生质量合格的超热中子束在技术上已经成熟, 研制特异性高的BNCT 药物已成为其成败的关键。关于药物的亲肿瘤性质与药物的分子结构的关系, 以及药物的摄取机制问题, 不但是BNCT 药物研制者所关注的焦点, 也是研制高疗效、低毒副作用的肿瘤化疗药物必须解决的问题。葡萄糖是细胞生命活动的主要能量来源。由于肿瘤细胞的繁殖速度比正常细胞快得多, 对糖类的需求也增加。癌变细胞膜对糖的跨膜运输能力有明显提高。正电子发射断层显像(PET)药物 $^{18}\text{F-FDG}$ 已用于各种肿瘤诊断。BNCT 药物研制者也期望用糖类作为BNCT 药物载体。

由于 $[\text{B}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$ 含硼量较高, 具有良好的水溶性, 很高的热力学和动力学稳定性, 许多研究者将注意力集中在将它结合到一些亲肿瘤的有机分子上, 如卟啉、糖类、氨基酸、嘌呤、嘧啶、核苷酸等。 $[\text{B}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$ 的衍生物通常可在酸性介质中通过取代硼笼上的氢得到, 但常混有副产物^[1]。 $[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}]^{2-}$ ^[2]以及 $[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{OH}]^{2-}$ ^[3]能与卤代烷及酰卤反应, 可以用来制备含十二硼烷的衍生物。其中 $[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}]^{2-}$ 的葡萄糖、半乳糖及甘露糖衍生物已被合成并对其进行了动物体内分布研究, 表明这些衍生物可在肿瘤细胞富集^[4]。除此之外, 迄今为止还合成了少数其他硼化糖衍生物^[5~8], 有关它们的体内分布未见报道。本文对文献[4]报道的 $[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}]^{2-}$ 葡萄糖衍生物的合成方法作了改进, 合成一种新的 $[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{OH}]^{2-}$ 葡萄糖衍生物, 并研究其生物分布, 旨在为糖类衍生物可否用作BNCT 药物载体提供实验依据。

* 国家科委“九·五”攀登B 项目“核医学和放射医学中先进技术的基础研究”子课题

收稿日期: 1998-05-20 收到修改稿日期: 1999-02-15

王福泉: 男, 28 岁, 放射化学专业, 博士生(导师王祥云)

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

683 型红外光谱仪, Perkin Elmer 公司产品; Dm x-300 核磁共振仪, Bruker 公司产品; 1106 型元素分析仪, Carlo Erba 公司产品; 721 型分光光度计, 上海第三分析仪器厂产品。十二硼烷二钠盐 ($\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{12}$), 由本实验室合成; 其他试剂均为分析纯。

1.2 动物实验

雄性昆明小鼠(体重 18~ 22 g)由中国科学院动物研究所提供。小鼠肝癌细胞 Hepatoma 22 A (简称 H22) 由中日友好医院临床医学研究所病理生理室提供。通过右腋皮下给每只实验小鼠接种 H22 肝癌细胞 7×10^6 个。接种 10 d 后, 在注射部位长出大小约为 (0.5~ 0.8) cm \times (0.5~ 0.8) cm 的肿瘤, 重量为 80~ 500 mg, 大部分在 100~ 200 mg 之间。采用腹腔注射方式给药, 注射剂量按每克体重注射 35 μg B 的硼化糖苷化合物。为增加硼化糖苷化合物的溶解度, 注射前应预先用甲醇钠脱去乙酰基, 并用水重结晶 3 次。注射后在 0.5、1、2、3 h 取出各脏器, 置于滤纸干燥后称重, 经消化后用 1, 1'-二萘醌亚胺比色法分析其中的硼含量^[9]。每一个实验点做 5 只动物, 取平均值。

1.3 6-脱氧-2, 3, 4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷氧代十二硼烷四丁基铵盐的合成

6-碘-6-脱氧-2, 3, 4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷 ($\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_8\text{I}$) 按文献[10]方法合成, 闭式-羟基十二硼烷铯盐 ($\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{OH}$) 按文献[11]方法合成, 合成路线分别示于图 1 和图 2。产物经 IR、 ^1H NMR 及元素分析鉴定, 测定结果分别与相应的文献或理论值一致。

将 200 mg $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_8\text{I}$ (化合物(1))、200 mg $\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{OH}$ (化合物(2)) 和 136 mg KOH 溶于 20 mL 二甲亚砜 (DM SO), 于 85 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 48 h, 减压蒸馏除去有机溶剂, 冷却至室温, 加入 10 mL 甲醇, 过滤, 用少量水洗涤, 将滤出物溶于少量水中, 加入 216 mg $[\text{N}(\text{C}_4\text{H}_9)_4]\text{Br}$, 析出沉淀。过滤, 用水重结晶 3 次, 得到 301.1 mg 产品(化合物(3)), 产率为 67.5%。合成路线见图 3。

产物经 IR 鉴定 (σ/cm^{-1}): 2937, 2847 (B—H), 1060 (B—B), 1736 (RCOOR)。产物经 ^1H NMR 鉴定 (δ): 2.07~ 2.02 (CH_3COO —), 4.90~ 4.83 (— CH_2 —), 3.77~ 3.48 (— OCH_3), 2.04~ 1.87 (B—H)。元素分析实验值(理论值)(%): C, 56.64(57.14); H, 10.81(10.81); N, 2.38(2.96)。

1.4 双(6-脱氧-2, 3, 4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷) 硫代十二硼烷铯盐的合成

$\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ 按文献[12]方法合成。按照文献[8]方法, 将 0.3 g $\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ 、0.075 g $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_8\text{I}$ 溶于 30 mL 乙腈中, 回流 48 h。然后冷却至室温, 加入乙酸乙酯, 过滤。滤液经减压蒸馏得到粗产品, 用水重结晶几次, 得到产品 $\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{S}(\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_8)_2$ [化合物(4)]。

产物经 IR 鉴定 (σ/cm^{-1}): 2837 (B—H), 1075 (B—B), 1746 (RCOOR)。经 ^1H NMR 鉴定 (δ): 2.03~ 1.94 (CH_3COO —), 4.97~ 4.95 (— CH_2 —), 3.73~ 3.42 (— OCH_3), 2.0~ 1.2 (B—H)。元素分析实验值(理论值)(%): C, 33.62(34.22); H, 5.21(5.42); S, 3.07(3.51)。

$\text{C}_8\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ 及化合物(4)的合成路线示于图 4。

2 结果与讨论

表 1 和表 2 分别给出了本文合成的硼化-O-糖苷(化合物(3), 指脱去乙酰基后的糖苷, 下同)和硼化-S-糖苷(化合物(4))在每克荷瘤小鼠组织中硼的滞留量(μg)随时间的变化。从表

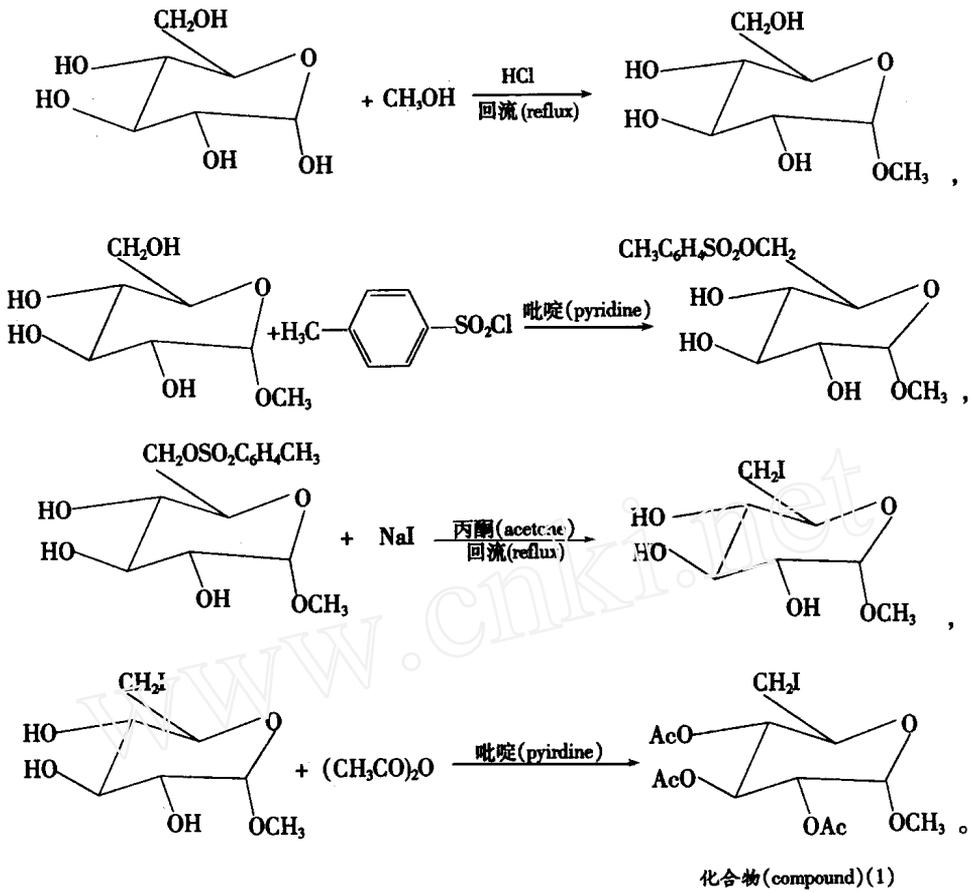


图 1 6-碘-6-脱氧-2,3,4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷的合成路线

Fig. 1 Scheme for synthesis of 6-iodo-6-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-methylglucoside

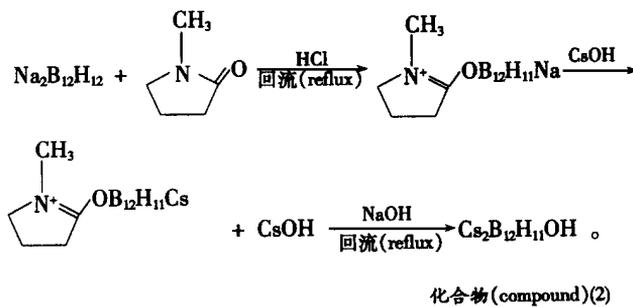


图 2 闭式-羟基十二硼烷铯盐的合成路线

Fig. 2 Scheme for synthesis of cesium hydroxyundecahydro-closo-dodecaborate (2-)

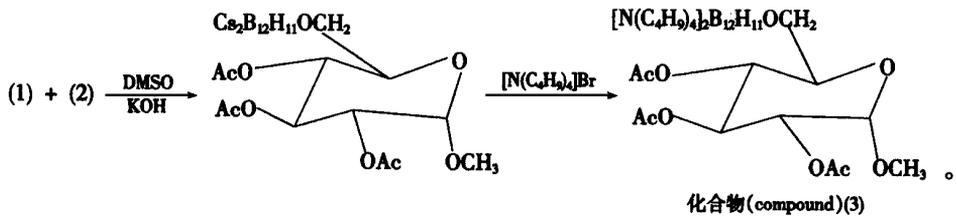


图 3 6-脱氧-2,3,4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷氧代十二硼烷四丁基铵盐的合成路线
 Fig 3 Scheme for synthesis of tetrabutylammonium 6-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-methylglucoside-oxo-undecahydro-closo-dodecaborate (2-)

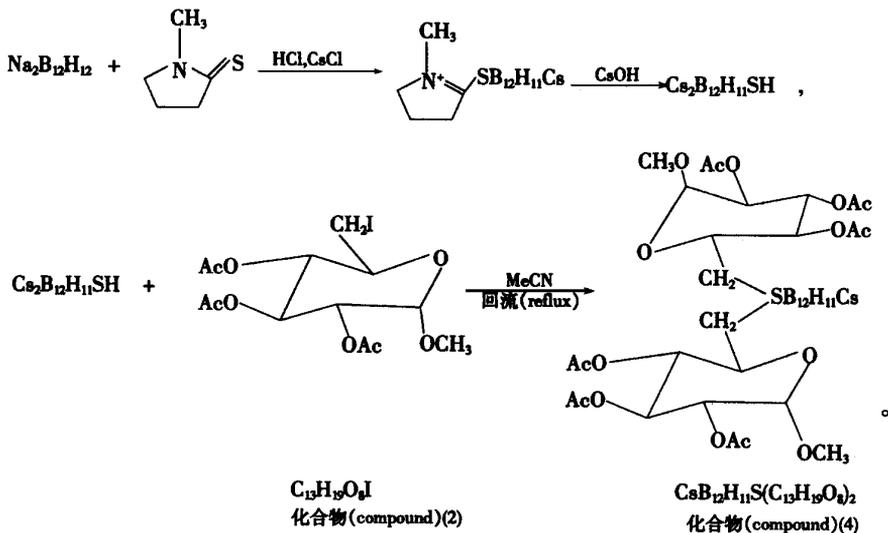


图 4 双(6-脱氧-2,3,4-三-O-乙酰基- α -D-甲基葡萄糖苷)硫代十二硼烷铯盐的合成路线
 Fig 4 Scheme for synthesis of cesium bis(6-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-methylglucoside)sulfido-undecahydro-closo-dodecaborate (1-)

1 和表 2 看出, 两种化合物在生物分布方面有如下共同特征: (1) 硼在肝组织中滞留的量最高, 在血液中的最低; (2) 在注射 1 h 后, 各组织中滞留的硼量均达到最大值, 之后逐渐减少; (3) 药物从肿瘤和血液中消除很快, 但从肝和肺中清除较慢; (4) 在注射后 1 h, 硼在肿瘤中与在血液中的浓度比 $R(T/B)$ 分别为 1.82 和 1.87, 都高于目前公认治疗脑神经胶质瘤最好的 BNCT 药物 BSH (即巯基十二硼烷十二钠盐) (BSH 药物的 $R(T/B) = 0.6 \sim 1.4^{[13]}$)。在肿瘤组织中, B 的滞留量比较高, 1 g 肿瘤组织中约含有 10 μ gB。文献中, BSH 的给药量一般按体重计为每公斤 85~170 mg, 比本文高 2~4 倍。如果增大给药量, 肿瘤中硼量可望进一步提高。以硼滞留量大小计, 化合物 (3) 在各组织中为: 肝, 肺, 肿瘤, 血; 对化合物 (4) 为: 肝, 肿瘤, 肺, 血。

表1 含B₁₂H₁₁O的α-D甲基葡萄糖苷在荷H22肝癌小鼠体内的生物分布

组织 (tissue)	0.5 h		1.0 h		2.0 h		3.0 h	
	<i>m</i> (B)	\bar{m} (B) $\pm s$						
肝脏 (liver)	12.61		25.60		19.62		12.57	
	10.84		23.75		17.05		10.26	
	8.67	9.2 \pm 2.3	23.95	23.4 \pm 1.0	17.27	17.2 \pm 1.2	9.50	10.7 \pm 1.4
	7.31		23.08		18.64		11.85	
	6.57		20.67		13.47		9.27	
肿瘤 (tumor)	2.05		8.25		3.96		2.18	
	3.35		13.80		3.57		1.97	
	2.92	2.67 \pm 0.58	10.59	11.0 \pm 2.5	4.12	3.79 \pm 0.35	2.26	2.33 \pm 0.43
	2.36		12.99		3.36		2.96	
	2.66		9.13		3.92		2.27	
血液 (blood)	2.79		7.02		3.53		1.87	
	2.65		6.53		3.62		1.35	
	2.53	2.42 \pm 0.44	6.03	6.03 \pm 0.73	3.58	3.33 \pm 0.34	1.23	1.48 \pm 0.31
	1.80		5.31		2.91		1.17	
	2.31		5.28		3.01		1.74	
肺 (lung)	5.26		13.54		6.36		4.97	
	4.76		12.78		5.73		4.65	
	3.85	4.31 \pm 0.58	12.01	12.6 \pm 1.0	6.54	6.09 \pm 0.36	4.07	4.39 \pm 0.38
	4.65		14.27		6.37		4.47	
	3.03		10.35		5.44		3.81	

注 (note): *m* (B) 指每克组织中的B含量(μg), 下表同(*m* (B) in this and subsequent table represents B content (μg) in 1 g tissue)

表2 含B₁₂H₁₁S的α-D-甲基葡萄糖苷在荷H22肝癌小鼠体内的生物分布

组织 (tissue)	0.5 h		1.0 h		2.0 h		3.0 h	
	<i>m</i> (B)	\bar{m} (B) $\pm s$						
肝脏 (liver)	12.73		23.67		18.43		12.74	
	11.74		21.89		16.95		12.31	
	10.56	10.5 \pm 1.8	19.67	20.6 \pm 1.4	15.73	16.3 \pm 1.5	10.86	11.4 \pm 1.4
	9.68		20.55		16.15		11.54	
	7.99		17.31		14.26		9.28	
肿瘤 (tumor)	3.52		12.63		4.47		2.06	
	2.96		10.87		5.64		2.46	
	3.74	3.80 \pm 0.69	12.53	11.3 \pm 1.1	5.49	4.80 \pm 0.61	2.94	2.69 \pm 0.39
	3.92		10.43		4.56		2.79	
	4.85		10.09		3.82		3.22	
血液 (blood)	2.64		6.34		3.12		1.65	
	2.97		5.61		2.86		1.82	
	2.63	2.40 \pm 0.58	5.07	5.28 \pm 0.55	2.97	2.68 \pm 0.20	1.52	1.47 \pm 0.16
	1.62		5.32		2.65		1.47	
	2.12		4.08		1.79		0.89	
肺 (lung)	5.76		5.31		4.03		5.15	
	4.23		6.73		5.45		4.68	
	4.89	4.51 \pm 0.69	7.65	6.13 \pm 0.98	6.03	4.91 \pm 0.95	3.79	4.10 \pm 0.71
	4.38		5.76		4.28		3.68	
	3.28		5.21		4.76		3.21	

BSH 与化合物(1)的作用产物是含两个糖基的铈盐(4),文献[4]的产物为 S-糖苷十二硼烷阴离子 $[C_6H_{11}O_5SB_{12}H_{11}]^{2-}$ 。因为在我们的合成实验中,BSH 是过量的(见下文)。造成产物不同的主要原因可能是我们用的是碘代糖苷比他们用的溴代糖苷活性高,易于生成铈盐。本文新合成的化合物(3)只含一个糖基,众所周知,硫醚与卤代烷很容易生成铈盐,而醚只有在高酸条件下才能生成铈盐 R_2OH^+ 。看来 S-糖苷与 O-糖苷也有类似的差别,因 $[B_{12}H_{11}OH]^{2-}$ 的羟基要比 BSH 中的巯基的亲核性差一些,同时也可能由于 B—O 键长比 B—S 键长短 40 pm 所造成的空间位阻影响^[6],因而制备硼化-O-糖苷的反应需要在碱性介质中进行。

文献[4]报道了葡萄糖、半乳糖及甘露糖的 S-糖苷十二硼烷阴离子 $[C_6H_{11}O_5SB_{12}H_{11}]^{2-}$ 在荷黑色素瘤小鼠中的分布,注射后 1 h 的 R (T/B) 分别为 2.7(葡萄糖)和 8.9(半乳糖),比本文结果好得多,可能主要是所用的癌细胞株不同所致。

文献[4, 8]采用 HPLC 从反应混合物中分离产物 S-糖苷十二硼烷阴离子。该方法分离的量有限,且分离速度较慢,因而不适用于大量制备。本文对于分离产物的方法做了如下改进:利用产物(4)与原料 BSH 在乙酸乙酯中溶解度的差异,令反应物中 BSH 过量,然后用乙酸乙酯将产物与未反应的 BSH 分离,得到满意的结果。这一方法可用于较大量的制备。

3 结 论

本文所合成的两种化合物在体内的分布实验结果表明,用葡萄糖作为选择性输送¹⁰B 到肿瘤部位的载体有一定的效果,值得进一步研究。

致谢: 本工作得到北京大学生命学院郭振泉教授的指教与帮助, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- Gmelin Handbuch der anorganischen Chemie, Band 54, Borverbindungen, Teil 20 Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1979 216
- Gabel D, Moller D, Harfst, et al Synthesis of S-alkyl and S-acyl Derivatives of Mercaptoundecahydrododecaborate, a Possible Boron Carrier for Neutron Capture Therapy. Inorg Chem, 1993, 32: 2276
- Peymann T, Lork E, Gabel D. Hydroxoundecahydro-*closo*-dodecaborate (2-) as a Nucleophile, Preparation and Structural Characterization of O-Alkyl and O-Acyl Derivatives of Hydroundecahydro-*closo*-dodecaborate (2-). Inorg Chem, 1996, 35: 1355
- Peymann T, Presse D, Gabel D. Synthesis of S-glycosides of Mercaptoundecahydro-*closo*-dodecaborate (2-) In: Larsson B, Crawford J, Weinreich R. eds Advances in Neutron Capture Therapy, (II). Chemistry and Biology. Amsterdam-Lausanne-New York-Oxford-Shannon-Singapore-Tokyo: Elsevier 1997. 35
- Maurer J L, Berichier F, Serino A J, et al Glycosylcarborane Derivatives and the Determination of the Absolute Configuration of a Diastereomeric Triol From X-ray Diffraction J Org Chem, 1990, 55, 838
- Maurer J L, Serino A J, Hawthorne M F. Hydrophilically Augmented Glycosyl Carboranyl Derivatives for Incorporation in Antibody Conjugation Reagents Organometallics, 1988, 7: 2519
- Tjark W, Anisuzzan M A K M, Soloway A H. Synthesis of 1, 3-Di-acetyl-5-O-benzoyl-2-(O-carboran-1-ylmethyl)-ribofuranose: a General Precursor for the Preparation of Carborane-containing Nucleosides for Boron Neutron Capture Therapy. Nucleosides Nucleotides, 1992, 11: 1765
- Gabel D, Harfast S, Moller D, et al Preparation and Purification of B₁₂H₁₁S-containing Compounds for Boron Neutron Capture Therapy. In: Kabalka G W ed Current Topic in the Chemistry of Boron Cam-

- bridge, U K: The Royal Society of Chemistry. 1996, 161
- 9 Kaczmarzyk A, Messer J R, Peirce C E. Rapid Method for Determination of Boron in Biological Materials. *Anal Chem*, 1997, 43(2): 271
- 10 Raymond AL, Schroeder E. Synthesis of Some Iodo-sugar Derivatives. *J Am Chem Soc*, 1948, 70: 2785
- 11 Knoth W H, Sauer J C, England D C, et al. Chemistry of Boranes. XIX Derivatives. Chemistry of $B_{10}H_{10}^{2-}$ and $B_{12}H_{12}^{2-}$. *J Am Chem Soc*, 1964, 86: 3973
- 12 Michihiro K, Katsutoshi A, Koichiro N, et al. A Convenient Preparation of $B_{12}H_{11}SH^{2-}$ for Boron Neutron Capture Therapy. *Chem Express*, 1987, 2(3): 173
- 13 Haselsberger K, Radner H, Pend G. Systemic Hyaluronidase: A Promising Adjuvant for BNCT of Glioblastoma With $Na_2B_{12}H_{11}SH$ (BSH). In: Larsson B, Crawford J, Weinreich R, eds. *Advances in Neutron Capture Therapy, II. Chemistry and Biology*. Amsterdam-Lausanne-New York-Oxford-Shannon-Singapore-Tokyo: Elsevier. 1997. 202

SYNTHESIS OF BORONATED METHYL GLUCOSIDE COMPOUNDS AND STUDIES OF THE IR BIODISTRIBUTION

Wang Fuquan Wang Xiangyun

(Department of Technical Physics, Peking University, Beijing 100871)

ABSTRACT

Two boronated methylglucosides, cesium bis (6-deoxy-2, 3, 4-tri-O-acetyl- α -D-methylglucoside) sulfido-undecahydro-*closo*-dodecaborate (1-) and tetrabutylammonium 6-deoxy-2, 3, 4-tri-O-acetyl- α -D-methylglucosido-oxo-undecahydro-*closo*-dodecaborate (2-), are synthesized and characterized by IR, 1H NMR and element analysis. After removal of the acetyl groups by basic hydrolysis, their biodistribution is studied with mice bearing hepatoma H22. The results show that they can be concentrated to $10 \mu g B$ in 1 g tumor. The boron concentration in blood is relatively low ($R(T/B) = 1.8$) and can be quickly cleared.

Key words Boronated glucoside Boron neutron capture therapy Biodistribution