

# 二苄基二硫代氨基甲酸铜的合成及药效研究

吴超君

吉林省人民医院, 吉林长春, 130021;

**摘要:** 目的: 本研究旨在探讨二苄基二硫代氨基甲酸铜的合成及其对三阴性乳腺癌的药效。方法: 首先合成二苄基二硫代氨基甲酸钠, 并进一步转化为二苄基二硫代氨基甲酸铜。利用 MTT 法评估其对紫杉醇耐药的 MDA-MB-231 细胞系的抗肿瘤活性及协同能力, 并测定  $IC_{50}$  值。结果: 实验结果表明, 二苄基二硫代氨基甲酸铜对耐药三阴性乳腺癌细胞具有显著的抑制作用, 并能协同紫杉醇治疗耐药细胞。结论: 二苄基二硫代氨基甲酸铜在三阴性乳腺癌治疗中展现出潜在应用价值。

**关键词:** 二苄基二硫代氨基甲酸铜; 三阴性乳腺癌; 化学合成; 抗肿瘤活性

**DOI:** 10. 69979/3029-2808. 25. 04. 013

三阴性乳腺癌 (Triple Negative Breast Cancer, TNBC) 不表达雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体 2, 且治疗选择有限。当前 TNBC 的治疗主要依赖于手术、放疗和化疗, 尽管化疗药物如紫杉醇和蒽环类药物在一定程度上能够抑制肿瘤生长, 但其疗效受到耐药性的显著影响, 且导致患者频繁复发, 给临床治疗带来了重大挑战。研究表明二苄基二硫代氨基甲酸铜独特的化学结构以及潜在的药理活性<sup>[1]</sup>, 可能通过调节细胞信号通路及诱导细胞凋亡机制, 发挥抗肿瘤作用。相较于传统化疗药物, 二苄基二硫代氨基甲酸铜在体外实验中展现出良好的抗肿瘤活性, 且对 TNBC 细胞系的抑制效果显著, 其开发可能为 TNBC 患者提供新的治疗选择。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂、仪器和设备

不锈钢高压反应釜购自博耜(南京)仪器有限公司; 紫外分光光度计购自上海元析仪器有限公司; 1640 培养基购自 Gibco 公司; Fetal Bovine Serum 购自 Bio-Channal 公司; 紫杉醇 (Paclitaxel) 购自 MCM 公司; 双抗 (青霉素/链霉素混合液)、磷酸盐缓冲液 PBS、0.25% 胰蛋白酶购自 Hyclone 公司; 噻唑蓝购自中国源叶; 二甲基亚砜 (DMSO) 购自 Sigma-Aldrich 公司; 细胞培养

箱购自美国 NBS 公司; 超净工作台购自苏净仪器自控设备有限公司; 低/高速台式离心机购自上海安亭科学仪器厂; 酶标仪购自伯乐生命医学产品有限公司。

### 1.2 合成过程

#### 1.2.1 二苄基二硫代氨基甲酸钠的合成

在 250ml 的圆底烧瓶中移取乙腈 (150ml), 向其中加入二苄胺 11.8g (0.06mol), 在冰水浴 (0-4℃) 中充分搅拌, 向其中加入二硫化碳 6.96g (0.09mol) 和 50% 氢氧化钠溶液 4.7ml, 磁力搅拌充分反应 16 小时后抽滤。将滤液旋蒸后析出固体物用乙醚多次洗涤, 室温干燥后得产物 13.04g。粗产品用乙腈重结晶提纯, 得到二苄基二硫代氨基甲酸钠 11.1g, 化学结构通过质谱 (MS) 手段进行确认合成。

#### 1.2.2 二苄基二硫代氨基甲酸铜的合成

在烧杯中加入 8ml, N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), 1mmol (0.295g) 二苄基二硫代氨基甲酸钠, 1mmol (0.171g) 二水合氯化铜和 2ml 的 H<sub>2</sub>O 充分搅拌使其全部溶解。将溶液转入 25ml 的聚四氟乙烯内衬的不锈钢高压反应釜中, 在 80℃ 反应 72 小时, 反应结束后以 10℃/分的速度冷却至室温, 反应釜内壁有固体物质析出。将反应釜内溶液过滤, 固体经无水乙醇多次洗涤后, 室温干燥 12 小时, 得墨绿色的晶体 (图 1)。

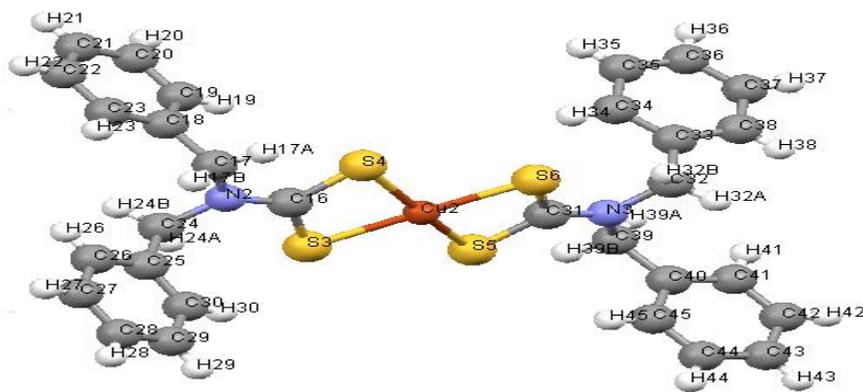


图1 二苄基二硫代氨基甲酸铜化学式结构图

## 1.3 细胞培养

### 1.3.1 MDA-MB-231 细胞的培养和耐药细胞的建立

MDA-MB-231 细胞系由 American Type Culture Collection (ATCC) 提供, 耐药细胞的建立采用逐步加量的方法, 以 PTX 对亲本 MDA-MB-231 细胞的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为基础, 选择其 0.1 倍的浓度作为初始剂量。后将紫杉醇浓度逐渐提高, 具体步骤为每周提高浓度, 观察细胞的生长情况。每次浓度提高后, 待细胞稳定生长时, 方可再次增加紫杉醇浓度, 以确保细胞逐渐适应药物的存在, 最终获得具有耐药特性的 MDA-MB-231 细胞系 PTX-231。

### 1.3.2 使用 MTT 法检测细胞生长及药物敏感性

应用 MTT 法完成细胞增殖及细胞毒性评估及耐药指数 (resistance index, RI) 测定, 该值为耐药细胞  $IC_{50}$  与野生型细胞  $IC_{50}$  的比值, 并利用此方法比较二苄基二硫代氨基甲酸铜和紫杉醇对 MDA-MB-231 细胞及其耐药细胞 PTX-231 的抑制情况。

### 1.3.3 协同作用实验

通过测定 PTX 的  $IC_{50}$ , 并在  $IC_{25}$  至  $IC_{50}$  范围内使用单药浓度, 与二苄基二硫代氨基甲酸铜进行联合处理, 可更直观评估二苄基二硫代氨基甲酸铜对化疗增敏潜在作用。将细胞分为 4 组, 分别是: 对照组; PTX 单药组; 二苄基二硫代氨基甲酸铜单药组; 二苄基二硫代氨基甲酸铜 + PTX 联合用药组, 实验对不同浓度配比下的联合用药组进行细胞活力检测。

## 2 结果

### 2.1 二苄基二硫代氨基甲酸铜的合成结果

通过离心和洗涤步骤, 将固体产物与反应残留物有效分离确保产品纯净度。产率的测定结果显示, 二苄基

二硫代氨基甲酸铜的总产率达到了 37.5%, 在有机合成中属于较为理想的范围, 表明反应条件及原料配比合理。最终产物经核磁共振和红外光谱分析表征, 确认了其化学结构及组成。

### 2.2 耐药细胞的培养及对比效果

观察细胞外型, 耐药细胞较野生型略长, 并且细胞之间连接较多。应用 MTT 法检测原代细胞的  $IC_{50}$ , 并进行培养耐紫杉醇细胞, RI 大于 5, 细胞耐药可用 (表 1)。用二苄基二硫代氨基甲酸铜进行  $IC_{50}$  的检测, RI 小于 5, 未对其产生耐药 (表 2)。

表 1 对紫杉醇的耐药性

MDA-MB-231	PTX-231	RI
$IC_{50}(\bar{x} \pm S, \mu M)$	$IC_{50}(\bar{x} \pm S, \mu M)$	6.39
$32.6 \pm 1.8$	$208.5 \pm 12.7$	

表 2 对二苄基二硫代氨基甲酸铜的耐药性

MDA-MB-231	PTX-231	RI
$IC_{50}(\bar{x} \pm S, \mu M)$	$IC_{50}(\bar{x} \pm S, \mu M)$	2.21
$26.4 \pm 2.36$	$58.26 \pm 3.19$	

### 2.3 对比二苄基二硫代氨基甲酸铜与紫杉醇的效果

选取紫杉醇 (PTX) 作为对照药物, 采用 MTT 法测定各药物对 MDA-MB-231 细胞及其耐药细胞 PTX-231 的细胞增殖抑制效果。在亲本细胞 MDA-MB-231 中, 二苄基二硫代氨基甲酸铜的  $IC_{50}$  值为  $26.4 \mu M$ , 而紫杉醇  $61.7 \mu M$ , 表明二苄基二硫代氨基甲酸铜的抑制效果相对较强。在耐药细胞 PTX-231 中, 二苄基二硫代氨基甲酸铜的  $IC_{50}$  值为  $58.26 \pm 3.19 \mu M$ , 显著优于紫杉醇在耐药细胞中的  $IC_{50} 208.5 \pm 12.7 \mu M$ , 表明其可抑制紫杉醇耐药细胞 (表 3)。细胞形态学分析显示, 二苄基二硫代氨基甲酸铜处理后, MDA-MB-231 细胞表现出细胞体

积缩小、凋亡等明显的形态变化；耐药细胞 PTX-231 在相同药物处理下，细胞形态变化不明显，提示其耐药机制具有一定的复杂性。

表 3 对 PTX-231 对比

紫杉醇	二苄基二硫代氨基甲酸铜
IC <sub>50</sub> ( $\bar{x}\pm S, \mu\text{M}$ )	IC <sub>50</sub> ( $\bar{x}\pm S, \mu\text{M}$ )
208.5 ± 12.7	58.26 ± 3.19

## 2.4 与 PTX 协同作用实验

为了进一步探究二苄基二硫代氨基甲酸铜与紫杉醇 (PTX) 联合作用对肿瘤细胞增殖的影响，分别使用两种化合物单独、联合处理细胞，并观察其对细胞生长的抑制程度。如图 2 所示，联合用药组较单药处理组表现出更显著的细胞生长抑制效果，提示二苄基二硫代氨基甲酸铜与 PTX 间可能存在协同增敏作用 (如图 2)。

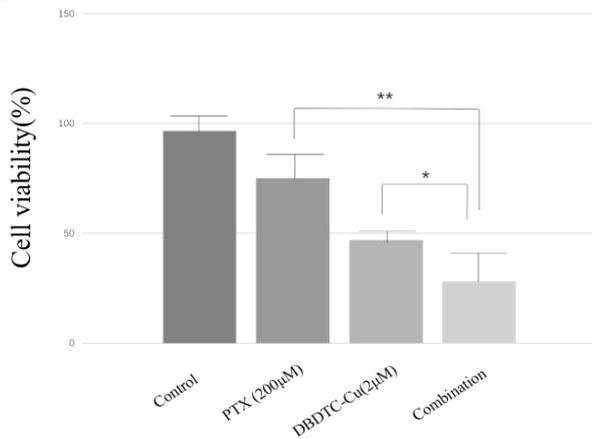


图 2 联合使用有协同作用

## 3 讨论

### 3.1 二苄基二硫代氨基甲酸铜的药效和机制分析

研究表明，双硫仑类药物对 MDA-MB-231 细胞的生长具有显著抑制作用，显示出其作为抗癌药物的潜力<sup>[2]</sup>。二苄基二硫代氨基甲酸铜的药效机制可能与其对细胞内信号通路的调节及诱导细胞凋亡相关，可能能够影响 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK 等多条关键信号通路，且抑制信号通路的活性，降低细胞增殖速率，从而引发细胞周期停滞与凋亡<sup>[3-5]</sup>。该化合物可能对活性氧 (ROS) 产生亦有一定影响，促进 ROS 的积累可能导致细胞内氧化应激增加，进一步诱导细胞凋亡。氧化应激已被证实多种抗癌药物的作用机制中发挥关键角色，可完成 caspase-3 和 caspase-9 等效应分子的激活，导致细胞的程序性死亡<sup>[6-8]</sup>。在耐药细胞 PTX-231 中，二苄基二硫代氨基甲酸铜的 IC<sub>50</sub> 值显著高于亲本细胞，提示耐药机

制存在。耐药细胞可能通过上调细胞膜转运蛋白的表达、改变药物靶点或增强药物排出能力等多种机制逃避药物的作用<sup>[9-10]</sup>，因此二苄基二硫代氨基甲酸铜在耐药细胞中显示出的较低药效可能与此类耐药机制密切相关。

### 3.2 在三阴性乳腺癌治疗中的应用前景及可能的副作用

二苄基二硫代氨基甲酸铜在 TNBC 治疗中展现出较高的潜力，同时在体外实验中也显示出一定的细胞毒性，可能对正常细胞也具有抑制作用，须进行进一步的体内研究，以确定其在动物模型中的药代动力学以及毒理学特征。

## 4 结论

二苄基二硫代氨基甲酸铜能够有效抑制 MDA-MB-231 细胞增殖，显示出良好的抗肿瘤活性，表明二苄基二硫代氨基甲酸铜在临床前研究中有望成为 TNBC 的潜在治疗药物。药效机制研究显示，二苄基二硫代氨基甲酸铜可能通过影响关键信号通路调节细胞增殖及凋亡，多重作用机制提高了该化合物的抗肿瘤效能，同时也为临床应用提供新的思路，其在紫杉醇耐药细胞 PTX-231 中的相对低敏感性，提示该化合物在应对化疗耐药性方面具有一定的优势。但其临床应用的安全性仍需进一步研究，潜在的副作用和毒性反应必须通过体内模型进行系统评估。综上，本研究数据清晰地支持了二苄基二硫代氨基甲酸铜的潜在价值，为后续深入的机制研究与临床前评价提供了重要支撑。

### 参考文献

- [1] 孙祥云, 康碧莲, 于庆红, 等. 二乙基二硫代氨基甲酸对肝星状细胞脂滴蛋白 Perilipin 5 表达及活化的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(08): 785-788.
- [2] Sylvers-Davie KL, Davies BSJ. Regulation of lipoprotein metabolism by ANGPTL3, ANGPTL4, and ANGPTL8[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2021, 321(4): E493 - E508.
- [3] 赵增兵, 成兰兴, 杨舒程, 等. 催化剂二丁基二硫代氨基甲酸铝的合成及表征[J]. 应用化工, 2022, 51(11): 3254-3256.
- [4] 吴俊斌, 廖建波, 吴超飞, 等. 带 ORS 的 ICP-MS

测定沉积物中重金属总量及形态含量方法的优化[J].  
中国测试,2016, 42(5): 50-55.

[5] ZHEN H B, XU Q, HU Y Y, et al. Characteristics of heavy metals capturing agent dithiocarbamate (DTC) for treatment of ethylene diamine tetraacetic acid-Cu (EDTA-Cu) contaminated wastewater[J]. Chemical Engineering Journal,2012, 209: 547-557.

[6] Shimizu K, Nishimuta S, Fukumura Y, et al. Liver-specific overexpression of lipoprotein lipase improves glucose metabolism in high-fat diet-fed mice[J]. PLoS One, 2022, 17(9): e0274297.

[7] 刘景龙, 韩倩, 杨超. 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵螯合-浊点萃取-氢化物发生原子荧光光谱法测定饮用水中痕量汞[J]. 理化检验-化学分册, 2024, 60(06): 570-575.

[8] 杨春蓉, 张徽, 黄伟, 等. 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐联合紫杉醇对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖侵袭能力的影响[J]. 生物医学工程学杂志, 2010, 27(05): 1105-1109.

[9] Wu SA, Kersten S, Qi L. Lipoprotein Lipase and Its Regulators: An Unfolding Story[J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(1): 48-61.

[10] 张可桂, 丁徐朋, 杨文忠, 等. 二硫代氨基类衍生物对 Cu<sup>2+</sup>和 Ni<sup>2+</sup>的吸附作用[J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2022, 44(04): 373-379.

基金项目: 吉林省自然科学基金(YDZJ202201ZYTS253)二苄基二硫代氨基甲酸铜对三阴性乳腺癌细胞的影响研究

作者简介: 吴超君, 女, 硕士, 副主任药师, 主要研究临床药学, 药物临床试验方向。