

硒化合物对羟基自由基作用的研究

鲍俊华 苏 熾 徐辉碧
(华中理工大学 化学系, 武汉 430074)

本文选用硒代蛋氨酸(Se-Met)和无机硒化合物, 采用自旋捕集技术, 在温和条件下进行硒化合物与羟基自由基作用的 ESR 研究。实验结果表明, 硒化合物对羟基自由基具有清除作用。

关键词: 硒化合物 羟基自由基 自旋捕集

引言

在现代生物学和医学领域里, 活性氧自由基被认为参与多种疾病病理过程^[1]。羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是一种目前所知活性氧中最活泼的自由基, 它主要通过发生加成和脱氢反应与多种生物分子相互作用, 造成氧化性损伤, 使细胞损伤坏死及突变^[2,3]。由于一些含硒化合物具有较好的抗氧化性, 并有人报告具有防癌及抗癌作用^[4], 从而推测硒化合物的抗癌机制与清除活性氧有关, 但此方面实验证据非常有限。张罗平等采用 ESR 技术, 在低温紫外辐照的条件下, 直接证实了某些硒化合物能清除磷脂的过氧自由基^[5,6]。但硒化合物对在生物体内能引起脂质过氧化的氧化引发剂-羟基自由基的作用, 至今一直未见报道。本文报道采用自旋捕集技术, 研究硒化合物与羟基自由基的直接作用。

实验部分

DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide)由长春应用化学研究所提供。硒代蛋氨酸为 Sigma 产品。其他试剂均为国产化学试剂。

在避光及氮气中, 混合磷酸缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$, $0.2\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)、 Fe^{2+} -EDTA 溶液(Fe^{2+} , $2\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, EDTA, $4\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), 不同浓度硒化合物溶液及 DMPO ($0.2\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) 于 37°C 恒温 30 秒, 再加入过氧化氢溶液 ($0.35\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)。混匀后, 室温反应 15 分钟, 在 JES-FE1XG 型 (日本电子) 电子自旋共振仪上记录 ESR 谱。X-波段, 调制频率 100kHz , 微波功率 6mW , 调制幅度 1.00G , g 值由锰标标定 (随机校对标准)。

结果与讨论

一. 羟基自由基的捕集

图 1 为在磷酸缓冲溶液体系里, 加入 Fe^{2+} -EDTA 溶液, DMPO 溶液和过氧化氢溶液, 利用 Fenton 反应产生 $\cdot\text{OH}$ 所得 ESR 谱图。它显示 DMPO 的 $\cdot\text{OH}$ 自旋加合物的强度比为 $1:2:2:1$ 四重分裂谱线, 其超精细分裂常数为 $A_N=A_H=14.90\text{G}$, $g=2.0055$ (注: Mn^{2+} 标, $g_3=2.0319$, $g_4=1.9815$, DMPO-OH $g_1=2.0184$, $g_2=2.0098$, $g_3=2.0011$, $g_4=1.9925$), 此值与文献报道相一致^[7,8,9]。

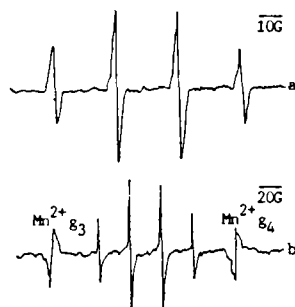


图 1 DMPO-OH 谱图

Fig.1 ESR spectra of the DMPO-

hydroxyl radicals adduct

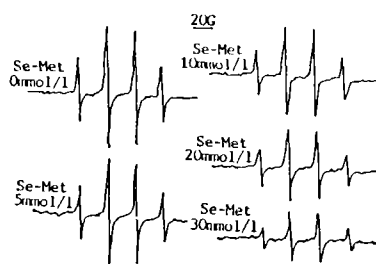
a. scanning width of magnetic field $\pm$ 50Gb. scanning width of magnetic field $\pm$ 100G

图 2 硒代蛋氨酸对羟基自由基的清除作用

Fig.2 ESR spectra of the DMPO-

hydroxyl radicals adduct with increase in the amount of seleno-methionine

二. 硒代蛋氨酸和亚硒酸钠对羟基自由基的清除作用

结果(图 2-3)表明, 硒代蛋氨酸及亚硒酸钠对 DMPO-OH 信号的线型和线宽, 以及 g 值均无影响。但使 DMPO-OH 信号强度明显下降, 而且随着硒化合物的浓度增加, ESR 信号衰减程度增大, 即清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力增强。图 4 为硒代蛋氨酸和亚硒酸钠的浓度与清除 $\cdot\text{OH}$ 的大小 (ΔY) 的关系曲线。可看见, 两种硒化合物浓度在 $0 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ 之间, 对 $\cdot\text{OH}$ 有明显的清除作用。且硒代蛋氨酸清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力比亚硒酸钠强 (约为 1.6~2.2 倍)。动物实验表明, 有机硒化合物的防癌效果比亚硒酸钠好^[10], 这与本实验的结果一致。由于两条曲线线型相似, 因此可以设想硒代蛋氨酸与亚硒酸钠清除 $\cdot\text{OH}$ 机理可能相同, 关于硒化合物清除 $\cdot\text{OH}$ 的电子传递机理有待进一步研究。

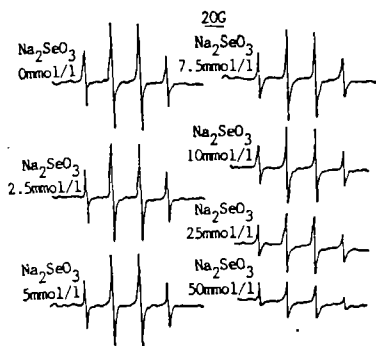


图 3 亚硒酸钠对羟基自由基的清除作用

Fig.3 ESR Spectra of the DMPO-hydroxyl

radicals adduct with increase in the amount of sodium selenite

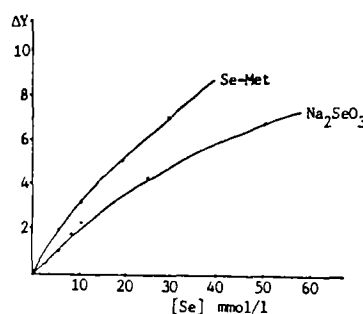


图 4 硒代蛋氨酸和亚硒酸钠清除羟基自由基效果曲线

Fig.4 Scavenging effect of seleno-methionine and sodium selenite

$$\Delta Y = 2Y_{\max}(\cdot OH) - 2Y_{\max}(\cdot OH + Sc)$$

$2Y_{\max}$ 为谱图第二峰高度

由于在各种代谢过程中有 $\cdot OH$ 参与, 但 $\cdot OH$ 又能引起细胞和组织损伤。本实验结果提示, 利用低浓度的硒化合物抑制 $\cdot OH$ 造成的氧化损伤, 在保护生物体方面具有一定意义。

参 考 文 献

- [1] Floyd, R.A., *Free Radicals and Cancer*, Marcel Dekker Inc New York (1982).
- [2] Land, F.J., Ebert, M., *Trans. Faraday. Soc.*, **63**, 1181(1967).
- [3] Garrison, W.M., *Curr. Topics in Rad. Res.*, **4**, 45(1968).
- [4] 魏华臣, 国外医学肿瘤分册, **6**, 351-354(1985).
- [5] Zhang Luoping, Xu Huibi, Liu Zhengxian, *J. Mol. Sci.*, **3**, 235-242(1985).
- [6] 徐辉碧等, 华中工学院学报, **15**(II), 55-58(1987).
- [7] Czapski, G., Belski, B.H., *J. Phys. Chem.*, **67**, 2180(1963).
- [8] Janzen, E.G. et al., *Can. J. Chem.*, **56**, 2237(1978).
- [9] Kalyanarmen, B. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **799**, 270-275(1984).
- [10] 徐辉碧, 生物微量元素-硒, 华中工学院出版社(1984).

A STUDY ON SCAVENGING EFFECT OF SELENIUM COMPOUNDS UPON HYDROXYL RADICAL WITH SPIN TRAPPING

Bao Junhua Su Chang Xu Huibi

(Department of Chemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

The direct interaction of selenium compounds(selenomethionine and sodium selenite) with hydroxyl radicals were studied in a moderate conditions by means of spin trapping technique. The experimental results show that the selenium compounds can scavenge hydroxyl radicals.

Keywords: selenium compound hydroxyl radical spin trapping