

脉冲辐解研究 α -生育酚清除 三氯过氧自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$)机理

赵亚平¹ 钱素平² 于文利¹ 姚思德² 王文锋² 王大璞¹

¹上海交通大学化学化工学院 上海 200240)

²中国科学院上海原子核研究所辐射化学开放实验室 上海 201800)

摘要 采用脉冲辐解技术研究了 α -生育酚清除三氯过氧自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$)的反应机理和动力学。空气饱和的异丙醇与水的混合溶液(含 10^{-2} M 四氯化碳, CCl_4), 经脉冲辐解产生 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 。在上述体系中加入 α -生育酚, 记录到 α -生育酚自由基在 340nm 和 430nm 2 个特征瞬态吸收峰。结果表明, α -生育酚与 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 通过氢转移进行反应, 生成了 α -生育酚自由基, 其氢转移反应速率常数为 $2.65 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。

关键词 α -生育酚, 三氯过氧自由基, 脉冲辐解, 速率常数

中图分类号 O6.332, O644.18, O644.22

四氯化碳(CCl_4)是一种公认的毒性物质, 误食后能引起肝脏、肺脏、肾脏和肾上腺等器官的损伤, 引发多种疾病, 其毒性机理可能与其代谢产生的自由基有关。 CCl_4 在体内接受细胞色素 P-450 给出的一个电子而被激活, 产生毒性的三氯自由基($\cdot\text{CCl}_3$), $\cdot\text{CCl}_3$ 遇氧分子(O_2)形成毒性更大的三氯过氧自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$)。已有不少关于 CCl_4 通过 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 途径而引起肝病的报道^[1]。

α -生育酚(α -TH)是维生素 E 的主要活性成分, 与生育功能密切相关。近年来的研究表明, 它还具有抗癌和抗心血管疾病等生理功能, 机理可能与其抗氧化功能有关^[2,3]。已经发现, α -TH 能够有效清除单线态氧^[4]、过氧亚硝基^[5]、超氧阴离子^[6]。最近的一些文献显示^[7,8], 增加体内 α -TH 水平可有效降低 CCl_4 对肝脏的损伤, 机理可能是 α -TH 清除了 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$, 但尚未见 α -TH 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 相互反应的报道。

本工作采用脉冲辐解技术产生 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 自由基, 研究了 α -TH 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 的反应机理并测定了反应的速率常数。

1 材料和方法

1.1 实验装置

1.1.1 脉冲辐解装置 脉冲辐射源为中国科学院上海原子核研究所辐射化学开放实验室 10MeV 直线加速器, 电子脉冲宽度为 8ns, 单脉冲剂量为 10-40Gy 可调。检测系统由纳秒级时间分辨吸收光谱及数据终端组成(中国科学院上海原子核研究所研制), 分析光源为 500W 氙灯, 有效光程为 20mm, 分析光与速流垂直相置, 经电动快门后进入单色仪分光, 由 R955 光电倍增管检测后送入 HP54510B 数字示波器记录, 数据转换至计算机存储, 并以专用自编软件

上海青年启明星计划基金(99QA14034)资助

第一作者: 赵亚平, 男, 1962年11月出生, 1999年毕业于无锡轻工大学, 副教授, 天然产物, 博士后

收稿日期: 初稿 2001-12-19, 修回 2002-04-04

进行数据处理获取瞬态吸收光谱和动力学常数。以 N_2O 饱和的 10^{-2}M 硫氰酸钾(KSCN)水溶液作化学剂量计,校正脉冲电子束,取 $\epsilon(\text{SCN})^{-\cdot} \cdot 480\text{nm} = 7600\text{M} \cdot \text{cm}^{-1}(1)$,具体装置及原理参照以前的文献^[9]。

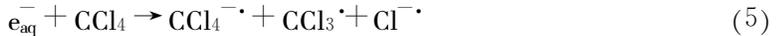
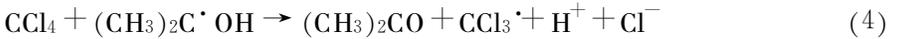
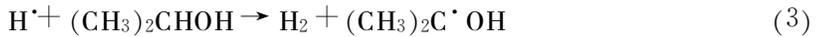
1.2 材料和试剂

$\alpha\text{-TH}$ 购自美国 SIGMA 化学试剂公司,直接用 3 次蒸馏水配成母液。异丙醇,丙酮和 CCl_4 , A·R 级购自上海试剂公司。根据实验要求将异丙醇,丙酮和 CCl_4 按适当比例配成母液,然后以 3 次蒸馏水稀释至合适的浓度,所有实验均在室温下进行。

2 结果

2.1 $\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$ 的脉冲辐解生成^[10]

含 2M 异丙醇和 10^{-2}M CCl_4 的水溶液在空气饱和条件下进行脉冲辐解,水脉冲辐解后主要产生羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、氢自由基(H^{\cdot})以及水合电子(e_{aq}^{-})(反应 1)。 $\cdot\text{OH}$ 、 H^{\cdot} 与异丙醇反应产生异丙醇抽氢自由基(反应 2、3),该自由基可被 CCl_4 氧化产生三氯甲基自由基(CCl_3^{\cdot})(反应 4); e_{aq}^{-} 与 CCl_4 反应生成 $\text{CCl}_4^{\cdot-}$ 阴离子自由基,该阴离子自由基脱去氯离子生成三氯甲基自由基(反应 5),所有的三氯甲基自由基与 O_2 反应生成 $\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$ (反应 6),具体反应历程如下



2.2 $\alpha\text{-TH}$ 和 $\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$ 的反应

图 1 是对空气饱和的含 2M 异丙醇、 10^{-2}M CCl_4 及 2.5mmol/L $\alpha\text{-TH}$ 的水溶液进行脉冲辐解所获得的瞬态吸收谱。从图 1 可见,在产生 $\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$ 的体系中加入 2.5mmol/L $\alpha\text{-TH}$ 辐解后产生了新的瞬态产物,该产物在 300—500nm 有瞬态吸收,其最大吸收峰在 340nm 和 430nm 处。图 1 插图是 430nm 处的瞬态吸收随时间的变化。在 20 μs 以前有明显的生成过程,改变 $\alpha\text{-TH}$ 的浓度发现,在 430nm 处的生成速率随 $\alpha\text{-TH}$ 的浓度增加而增加,说明该生成过程应该是 $\alpha\text{-TH}$ 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$ 的反应产生的瞬态产物的形成过程。

图 2 为不同 $\alpha\text{-TH}$ 浓度下辐解后在 430nm 处观察到的瞬态吸收随时间的变化,该反应可表示如下



反应的动力学过程如下

$$-\frac{d[\text{product}]}{dt} = k[\alpha\text{-TH}][\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}]$$

因为 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 由辐解产生, 单脉冲所产生的 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 浓度在 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 左右, 所以 $[\alpha\text{-TH}] \gg [\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot]$ 。因此, 在反应过程中 $\alpha\text{-TH}$ 的浓度变化可以忽略不计, 这样 $k[\alpha\text{-T}]$ 可视为表观速率常数(k_{obs}), 即

$$k_{\text{obs}} = k[\alpha\text{-TH}]$$

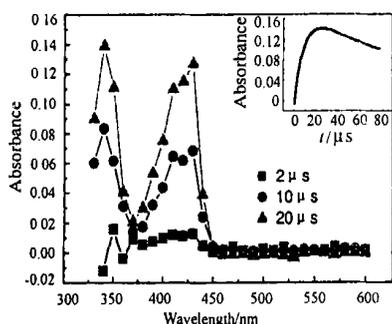


Fig. 1 Time-resolved transient absorbance spectrum of pulsed aqueous solution containing 2 M 2-propanol, 10^{-2} M CCl_4 and 2.5 mmol/L $\alpha\text{-TH}$. Inset is the build-up transient absorbance trace observed at 430 nm

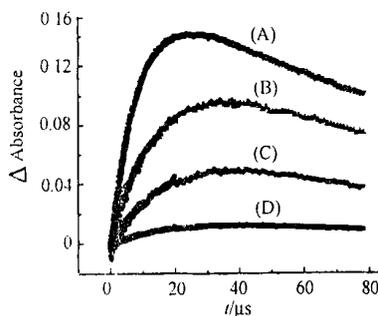


Fig. 2 The build-up transient absorbance traces of the pulsed aqueous solutions containing 2 M α -propanol, 10^{-2} M CCl_4 and (A) 2.5 mmol/L $\alpha\text{-TOH}$, (B) 2.0 mmol/L $\alpha\text{-TOH}$, (C) 1.0 mmol/L $\alpha\text{-TOH}$, (D) 0.5 mmol/L $\alpha\text{-TOH}$ observed at 430 nm

对不同浓度 $\alpha\text{-TH}$ 在 430 nm 处的生成过程分别进行准一级动力学模拟, 求出其对应的 k_{obs} , 再由 k_{obs} 对 $\alpha\text{-TH}$ 浓度作图得到一条直线, 该直线斜率为 $\alpha\text{-TH}$ 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 反应的绝对速率常数。图 3 所示, 为通过 430 nm 生成过程求得的不同浓度 $\alpha\text{-TH}$ 对应的准一级表观动力学常数对 $\alpha\text{-TH}$ 所作线性图, 计算得 $\alpha\text{-TH}$ 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 反应的速率常数为 $2.65 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。观察 340 nm 和 430 nm 吸收的瞬态产物的生成和衰减, 可以判断这是同一个自由基的两个特征吸收, 所以具有 340 nm 特征吸收的瞬态产物也是 $\alpha\text{-TH}$ 自由基($\alpha\text{-T}^\cdot$)。

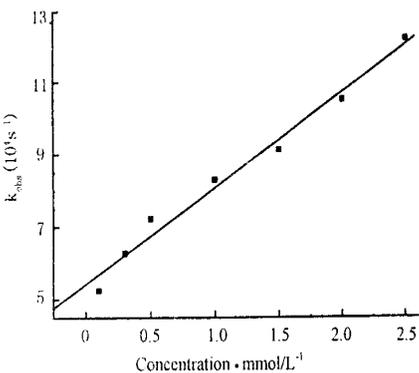


Fig. 3 The dependence of k_{obs} on $[\alpha\text{-TH}]$

3 讨论

根据文献[11]报道, 酚类抗氧化剂与自由基反应生成酚氧自由基, 其瞬态吸收在 300—500 nm 之间, 最大吸收峰的位置与分子结构和自由基种类有关。如苯丙苷类与羟基反应的最大瞬态吸收在 460 nm^[12], 而表儿茶素(分子中含 5 个酚羟基)与羟基反应的最大瞬态吸收在 330 nm 和 410 nm。 $\alpha\text{-TH}$ (分子中含 1 个酚羟基)也是一种酚类抗氧化剂, 它与 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 反应后在 340 nm 和 430 nm 出现的最大吸收峰可归结为 α -生育酚的酚氧自由基。由此推知 $\alpha\text{-TH}$ 与 $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ 可能是通过氢转移机理进行反应的。该机理也被

量子计算结果所证实^[13]。研究结果表明, α -TH 能快速清除 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$, 该结果提示了体内 α -TH 可通过清除 CCl_4 代谢产生的毒性自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$)途径来起到保护肝脏免受损伤的功能。

参 考 文 献

- 1 Sundari P M, Wilfrd G, Ramakrishna B. *Biochim Biophys Acta*, 1997, **1362**(2):169-176
- 2 KartalÖzer, Angelo Azzi. *Toxicology*, 2000, **148**(2):179-185
- 3 Martin A, Zulueta J, Hassaun P *et al.* *Free Radical Biol Med*, 1995, **20**(1):99-105
- 4 Kaiser S, DiMascio P, Murphy M E *et al.* *Arch Biochem Biophys*, 1990, **277**(1):101-108
- 5 Hogg N, Joseph J, Kalyanaraman B. *Arch Biochem Biophys*, 1994, **314**(3):153-158
- 6 Csallany A S, Ha Y L. *Lipids*, 1992, **27**(3):195-200
- 7 McLean A E M. *Br J Exp Pathol*, 1967, **48**(8):632-635
- 8 Mark A Tirmenstein, Xiaokang Ge, Cathyr Elkins *et al.* *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, **26**(8):825-835
- 9 罗勤慧, 沈孟长. 自由基生命科学进展, 1999, **5**:43-50
LUO Q H, SHEN M C, *Sci Adv Free Radi Life Sci*, 1999, **5**:43-50
- 10 Tessa J Hill, Edward J L, David J McGarvey *et al.* *J Am Chem Soc*, 1995, **117**(32):8322-8326
- 11 沈生荣, 赵玉芳, 杨贤强等. 茶叶科学, 1997, **17** 增刊:113-118
SHEN S R, ZHAO Y F, YANG X Q *et al.* *J Tea Sci*, 1997, **17** (Suppl):113-118
- 12 石益民, 王文锋, 康小红等. 中国科学(C), 1999, **29**(5):503-508
SHI Y M, WANG W F, KANG X H *et al.* *Sci China(C)*, 1999, **29**(5):503-508
- 13 何东, 王志中, 莫凤奎. 中国药物化学杂志, 1996, **21**:157-161
HE D, WANG Z Z, MO F K. *Chinese J Med Chem*, 1996, **6**(21):157-161

PULSE RADIOLYSIS STUDY OF THE INTERACTION OF α -TOCOPHEROL AND TRICHLOROMETHYL PEROXYL RADICAL $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$

ZHAO Yaping¹ QIAN Suping² YU Wenli¹ YAO Side² WANG Wenfeng² Wang Dapu¹
{ *School of Chemistry and Chemical technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240* }
{ *Laboratory of Radiation Chemistry, Shanghai Institute of Nuclear Research, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800* }

ABSTRACT The antioxidant activity of natural α -tocopherol (α -TH) is investigated towards trichloromethylperoxyl free radical ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$) by means of a pulse radiolysis technique. $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ was generated from a pulsed solution containing 2-propanol (2M) and CCl_4 (10^{-2} M) in the presence of air. The observed spectrum showed two transient absorption peaks at 340nm and 430nm, which were assigned to α -TH radical. The rate constant was calculated to be $2.65 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, which suggested a quick interaction between α -TH and $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$. The reaction between α -TH and $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ may go on via hydrogen transfer mechanism.

KEYWORDS α -tocopherol, Trichloromethyl peroxyl radical, Pulse radiolysis, Rate constant

CLC O6.332, O644.18, O644.22