

几类自由基清除剂的抗辐射作用研究进展

钱李仁 黄越承 蔡建明

(第二军医大学放射医学研究室 上海 200433)

摘要 电离辐射作用于体内水分子可产生自由基,引起脂质过氧化等物理化学反应。因而,清除自由基可以对电离辐射引起的机体损伤起到很大的防护作用,很多辐射保护剂剂具有较好的清除自由基效应从而发挥其辐射防护作用。本工作围绕近年来研究较多的几类重要抗氧化剂的自由基清除效应作一概述,主要包括了多糖类、酚类物质、激素类、维生素类等等。

关键词 自由基清除剂,抗辐射作用,抗氧化剂

中图分类号 R142, R979.6, Q691

电离辐射既可以作用于靶分子引起靶分子电离和激发而发生物理化学变化,生成生物分子自由基;又可以作用于生物分子的周围介质(主要是水),引起水分子的电离和激发,产生氧化活性很强的羟自由基($\cdot\text{OH}$)、水合电子和氢原子(H)等反应性很高的自由基,这些自由基再与生物大分子发生物理化学反应而产生新的次级自由基。这些自由基可作用于细胞膜上的脂质,使其氧化,从而破坏细胞膜的双分子层结构。还会导致DNA的碱基和脱氧核糖发生化学变化,引起碱基改变、破坏或脱落;脱氧核糖分解,磷酸二脂键断裂以及DNA核苷酸链的单链和双链断裂等^[1]。自由基对蛋白质也会产生多种损伤,可引起蛋白质分子发生交联、聚合、肽链断裂等^[2]。此外,自由基还可以引起细胞致死性突变及细胞癌变等生物学效应^[3]。长期以来,抗辐射化合物的自由基清除效应都受到研究者的极大关注。随着研究的深入,从清除自由基的角度出发,许多有效的抗辐射药剂被发现,但研究至今尚停留在理论或实验阶段,并未应用于临床。所以,寻找高效、低毒的自由基清除物质,始终是辐射防治药物研究的一条重要途径。本文对研究较多的几类重要抗辐射化合物的清除自由基作用研究进展做一文献综述,以期为抗辐射药剂的进一步研究与开发提供思路。

1 几种抗辐射化合物的清除自由基效应

1.1 多糖类

多糖是一类分子机构复杂庞大的糖类物质,它是由许多单糖分子通过糖苷键连接而成的,其广泛

存在于动物、植物、微生物等有机体中。许多研究表明,多种多糖具有清除自由基的抗辐射作用。文献[4]在研究蘑菇多糖提取物清除自由基效应中发现在八种蘑菇多糖提取物中有六种具有自由基的清除效应。文献[5]通过对蟾蜍卵细胞膜电位研究,发现枸杞多糖可以预防及消除自由基对蟾蜍卵细胞膜电位的影响。此外,Amagase等^[6]研究发现枸杞多糖不仅在体外具有很强的抗氧化效应,而且可以通过刺激内源性因素增强人体内的抗氧化效应;研究人员对50名55岁至72岁进行为期30d的随机双盲实验,将其随机分为枸杞组及安慰剂组。研究结果显示,实验前后枸杞组人员血清中超氧化物歧化酶(SOD)浓度上升8.4%,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)浓度上升9.9%,丙二醛(MDA)浓度下降8.7%;而安慰剂组人员血清中抗氧化标记物则无明显变化。因此,我们可以推测枸杞多糖清除体内自由基能力与其激活多种体内抗氧化因子有关。Zhang等^[7]还采用水煮-乙醇沉淀法从中药防风中提取多糖,并使用十六烷三甲基溴化铵作为沉淀剂将防风多糖分为酸性防风多糖(A-SPS)与中性防风多糖(N-SPS);他们发现防风多糖具有清除自由基与抑制脂质氧化功能,而其在清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)及1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)的作用最为明显,其中A-SPS清除效应更为显著,当其浓度达到8mg/mL时,DPPH及 $\cdot\text{OH}$ 的清除率可以达到70%。另外,研究人员使用超临界二氧化碳(SC-CO_2)作为洗脱溶剂将冬虫夏草提取物分为R, F1, F2, 及F3四部分,结果发现R部分有很强的清除自由基能力,并能通过细胞凋亡选择性地抑制结直肠癌细胞及肝脏癌细胞的生长;且发现这种

国家自然科学基金资助项目(30770503),全军医药卫生“十一五”攻关项目(06G60)资助

第一作者:钱李仁,男,1985年10月出生,2008年毕业于第二军医大学,现于第二军医大学放射医学研究室攻读放射医学专业硕士学位

通讯作者:蔡建明

收稿日期:初稿2009-07-13,修回2009-08-31

清除自由基及抗癌能力与多糖的含量有紧密的联系^[8]。鼓槌石斛多糖也具有抗氧化能力,可以通过螯合铁离子抑制 $\cdot\text{OH}$ 介导的脱氧核糖降解效应;还具有清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的效应,且效应与剂量相关^[9]。因此不难发现,多糖可以通过清除辐射产生的自由基,抑制体内脂质氧化反应,从而使机体的辐射防护能力得到增强。

1.2 酚类物质

酚类物质中酚羟基能与活性氧自由基反应,故有良好的自由基捕集功效。研究人员对不同小麦提取物的自由基清除能力及酚含量进行比较,结果发现中国黑小麦提取物的自由基清除能力最强,其酚类含量也最高,还发现麦麸的自由基清除能力及酚含量大概是粗面粉的两倍。因此,我们可以推测其清除自由基的能力很可能与酚类含量有关^[10]。紫米糠提取物中亲水性提取物酚含量明显高于亲脂性提取物,其自由基清除能力也更强^[11]。有研究人员对黑树莓覆盆子发酵前后的酚类化合物含量及其抗氧化活性进行比较,发现发酵的覆盆子中酚含量更高,而且清除 DPPH 的能力也更强^[12]。此外,精油中的酚类复合物的含量与其对 DPPH 自由基的清除能力也成正比^[13]。还有研究人员对几种不同草莓的瘦果和花托的自由基清除能力及酚含量进行研究,证明了在水果的不同亚种之间复合酚含量明显不同,其自由基的清除能力也不同^[14]。Atiqur 等^[15]还报道了槐叶决明的自由基清除能力及其酚含量,他们将槐叶决明叶子的甲醇提取物溶解在蒸馏水中,然后先后使用己烷,三氯甲烷,乙酸乙酯对其分离,再检测每一分离产物的 DPPH 清除能力,结果发现使用乙酸乙酯分离的产物部分自由基清除能力最强,而且它的酚含量(13.25%)也比其他产物的含量要高。从而可以看出,酚类物质具有很好的自由基清除能力。

1.3 激素类

Olas 等^[16]通过研究白藜芦醇对血小板中自由基的抑制效应发现,在白藜芦醇浓度为 6.25 和 12.5 mg/mL 时,能够刺激细胞产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$,但此效应无统计学意义,然而,当其浓度更高时(25、50 和 100 mg/mL),却能显著地抑制血小板中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产生。另外,性激素及皮质醇能够抑制人中性粒细胞所产生的自由基,但盐皮质激素醛固酮并无此效应^[17]。Békési 等^[18]发现,不仅仅类固醇激素的终产物影响自由基的代谢,其合成过程中的中间代谢物也具有同样效应,而且这些物质中的大部分都存在于血浆之中。还有报道性激素可以调节内生性抗氧化酶的表达,可以调节机体抗氧化系统及氧自由基

的平衡,从而能够降低自由基的毒性效应,起到保护机体的作用^[19]。

1.4 维生素类

同谷胱甘肽的保护效应相似,具有氧自由基清除能力的 V_c 可以显著减少 γ 射线导致的 30%~50% 的 DNA 损伤,保护电力辐射所导致的 DNA 损伤^[20]。 V_c 、 V_e 、维他命原 A 和硒的复合物对肝脏、心肌细胞膜和血浆中低密度脂蛋白的自由基氧化效应具有显著的抑制作用^[21]。Zhou 等^[22]研究不同浓度的 V_c 对紫外线所致的 DNA 损伤的效应,发现当 V_c 浓度在较低时可以减轻紫外线对 DNA 的损伤,而当其浓度增高时则促进了 DNA 的损伤,这主要是因为自由基的数量是有限的,当 V_c 过多时,自由基被清除后过剩的 V_c 是强还原剂,从而加剧了 DNA 的损伤。另外, V_e 对涉及草酸盐的自由基损伤保护效应比 SOD、过氧化氢酶及铁剂更为显著^[23]。还有研究人员发现具有自由基清除能力的 α -硫辛酸,能够防止 $\cdot\text{OH}$ 介导的牛血清蛋白氧化及聚合效应^[24]。

1.5 中草药及其提取物

黄连、牡丹、夏枯草及千里光具有很强的抑制脂质过氧化作用,并具有很强的清除过氧化物、 $\cdot\text{OH}$ 的能力^[25]。Schinella 等^[26]对 20 种草药的抗氧化能力进行研究,他们将所有草药提取物的测试浓度设定在为 100 mg/mL,发现绝大多数草药提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力很弱,而其中黄连和茯苓的清除能力最强。另外,有学者使用电子自旋共振光谱仪和化学荧光分析仪对草药海芙蓉的自由基清除能力进行研究,发现海芙蓉的水提取物对 DPPH、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 具有很强的清除能力,对 $\cdot\text{OH}$ 也具有一定的清除能力;同时还发现海芙蓉中的五倍子酸是其清除自由基的活性成分^[27]。草药如柳兰、伏地龙胆、草地老鹳草、肋柱花、假狼紫草、迷果芹、狼毒花也具有很强的 DPPH、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 清除能力^[28]。人参的水溶性提取物对辐射所致 DNA 损伤具有很好的保护作用,这种辐射保护作用与其自由基清除能力有着直接、间接的关系^[29]。

1.6 金属络合物及自由基螯合剂

锰超氧化物歧化酶(MnSOD2-PL)具有抗氧化、清除自由基的效应,研究人员 Epperly 等^[30]对患有口腔磷状细胞癌-VII (SCC-VII) 的小鼠进行口服或静脉注射 MnSOD2-PL 的基因治疗,24 h 后再对其头部及颈部进行 18 Gy 的照射,并对小鼠肿瘤及临近口腔黏膜的 GSH、一氧化氮及过氧化亚硝酸盐水平进行测定,结果显示外照射会降低正常组织及肿瘤中的 GSH、增加谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的

含量,而 MnSOD2-PL 可以抑制此效应,内照射会同时降低 GSH 及 GPX 的水平,但 MnSOD2-PL 对此效应无逆转作用;研究发现,静脉注射 MnSOD2-PL 的小鼠肿瘤中的一氧化氮及过氧化亚硝酸盐的水平也会显著降低。此外 CuSOD、ZnSOD 等金属络合物对辐射所致的组织损伤也同样具有保护作用^[31]。

1.7 其他

近年来发现富勒烯衍生物具有很强的清除自由基能力,有研究人员发现羧酸富勒烯 C₃ 对 γ 射线照射后 AHH-1、HIEC 细胞具有良好的辐射保护作用,其机理可能主要与其清除自由基的作用有关^[32]。单鹄声等^[33]还报道过富勒烯衍生物 C3 对 AHH-1 细胞也具有辐射保护效应。此外,有机酸迷迭香酸对紫外线等电离辐射也具有很好防护作用,其主要机理也是清除电辐射所产生的自由基^[34]。Tak 等^[35]还发现依布硒啉也具有清除辐射所致细胞中氧自由基的作用;近年来还发现 CBLB502,一种来自沙门氏菌

鞭毛能与 Toll 样受体 5 (TLR5) 结合并激活核因子- κ B 信号的多肽类药物,能够加强 SOD2 的表达,发挥很好的辐射保护作用^[36]。此外,近年来氢及含氢水的抗氧化、清除自由基效应也引起研究人员的重视,但其辐射保护作用仍需进一步深入研究^[37]。

2 结论

综上所述,已发现多糖类、酚类、维生素类、激素类等化合物由于能有效清除自由基,都具有较好的抗辐射生物学活性(见表 1)。自由基清除效应是辐射保护作用中最关键的作用机理,相关研究已经取得了很大进展。然而目前可以预防急性放射性生物损伤的药物几乎没有,WR-2721 是唯一被美国食品和药物管理局(FDA)批准上市的辐射保护药,但较强的毒副作用阻碍了它的广泛应用。因此,研制出更加理想的辐射保护药物是广大国内外放射医学工作者的主攻方向之一。随着自由基生物学研究的进一步深入,会有更多较理想的制剂被挖掘出来,为辐射防护开辟一条更为广阔的途径。

Table 1 The parameters of several representative radio-protective agents in scavenging free radicals

Samples		Maximum rate of clearance of free radicals	Dosage form	SOD	GSH	MDA
Lycium barbarum polysaccharide	Human	—	Granules	Increase 8.4%	Increase 8.4%	Decrease 8.7%
Sposknikovan	In vitro (DPPH, OH)	70%	Suspension by hot water extracting and ethanol precipitating	—	—	—
Cassia sophera	In vitro (DPPH)	IC ₅₀ =15.42 μ g / mL	Methanol extracts	—	—	—
Antiinflammatory steroids	In vitro	H ₂ O ₂ (decrease 11%~30%), O ₂ ⁻ (decrease 20%~40%), OH (decrease 10%~17%)	Suspension in dimethyl sulfoxide (DMSO)	—	—	—
V _c	Mice	—	Parenteral solution	—	—	Decrease 31% (brain)
V _e	Human	—	Parenteral solution	—	No significant change	Decrease 1.7mmol /mg protein
Limonium wrightii	Mice	IC ₅₀ =225 μ g/mL	Methanolic extracts	—	—	TBARS decrease 33%

参考文献

- 1 张德莉, 朱圣姬, 罗光富, 等. 三峡大学学报(自然科学版), 2004, **26**(6): 564-567
ZHANG Deli, ZHU Shengji, LUO Guangfu, *et al.* Journal of China Three Gorges University(Natural Sciences), 2004, **26**(6): 564-567
- 2 刘兆红, 岳炳辉. 上海畜牧兽医通讯, 2005, **3**(3): 57
LIU ZhaoHong, YUE Binghui. Shanghai Journal of Anim Husb Vet Med, 2005, **3**(3): 57
- 3 王崇道, 强亦忠. 中华放射医学与防护杂志, 2002, **22**(6): 461-463
WANG Zongdao, QIANG Yizhong. Chin J Radiol Med Prot, 2002, **22**(6): 461-463
- 4 LIU F, OOI V E, CHANG S T. Life Sci, 1997, **60**(10): 763-71
- 5 ZHANG X. Zhongguo Zhong Yao Zazhi (in China), 1993, **18**(2): 110-2, 128
- 6 Amagase H, Sun B, Borek C. Nutr Res, 2009, **29**(1): 19-25
- 7 ZHANG Zeqing, TIAN Yingjuan, ZHANG Jing, *et al.* Zhong Yao Cai (in China), 2008, **31**(2): 268-272
- 8 WANG B J, WON S J, YU Z R, *et al.* Food Chem Toxicol. 2005, **43**(4): 543-552
- 9 ZHAO Yaping, Young-Ok Son, So-Soon Kim, *et al.* Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2007, **40**(5): 670-677
- 10 LI W, SHAN F, SUN S, *et al.* J Agric Food Chem, 2005, **53**(22): 8533-8536
- 11 JANG S, XU Z. J Agric Food Chem (in China), 2009, **57**(3): 858-862
- 12 JU H K, CHO E J, JANG M H, *et al.* J Pharm Biomed Anal, 2009, **49**(3): 820-827
- 13 WANG H F, WANG Y K, YIH K H. J Cosmet Sci, 2008, **59**(6): 509-522
- 14 Jose'Cheel, Cristina Theoduloz, Jaime A. Rodriguez, *et al.* Food Chemistry, 2007, **102**(1): 36-44
- 15 Atiqur Rahman M, Mizanur Rahman Md, Mominul Islam Sheik, *et al.* African Journal of Biotechnology, 2008, **7**(10): 1591-1593
- 16 Olas B, Zbikowska H M, Wachowicz B, *et al.* Acta Biochim Pol, 1999, **46**(4): 961-966
- 17 Békési G, Kakucs R, Várbiro S, *et al.* Steroids, 2000, **65**(12): 889-894
- 18 Békési G, Rác K, Hrabák A, *et al.* Horm Metab Res, 2004, **36**(3): 155-163
- 19 PAJOVIĆ S B, SAIČIĆ Z S. Physiol Res, 2008, **57**(6): 801-811
- 20 CAI L, Koropatnick J, Cherian M G. Chem Biol Interact, 2001, **137**(1): 75-88
- 21 Konovalova G G, Lisina M O, Tikhaze A K, *et al.* Bull Exp Biol Med, 2003, **135**(2): 143-146
- 22 ZHOU Dianfeng, KE Weizhong, CHEN Nianfeng, *et al.* Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi (in China), 2005, **25**(12): 2012-2015
- 23 Thamilselvan S, Khan S R, Menon M. Urol Res, 2003, **31**(1): 3-9
- 24 Perricone N, Nagy K, Horváth F, *et al.* Arch Gerontol Geriatr, 1999, **29**(1): 45-56
- 25 LIU F, Ng T B. Life Sci, 2000, **66**(8): 725-735
- 26 Schinella G R, Tournier H A, Prieto J M, *et al.* Life Sci, 2002, **70**(9): 1023-1033
- 27 Aniya Y, Miyagi C, Nakandakari A, *et al.* Phytomedicine, 2002, **9**(3): 239-244
- 28 Myagmar B E, Aniya Y. Phytomedicine, 2000, **7**(3): 221-229
- 29 Lee T K, Johnke R M, Allison R R, *et al.* Mutagenesis, 2005, **20**(4): 237-243
- 30 Epperly M W, Wegner R, Kanai A J, *et al.* Radiat Res, 2007, **167**(3): 289-297
- 31 Seyed Jalal Hosseini-mehr. Drug Discovery Today, 2007, **12**(19/20): 794-805
- 32 黄越承, 单鹄声, 刘汉臣, 等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2009, **27**(2): 115-120
HUANG Yuecheng, SHAN Husheng, LIU Hanchen, *et al.* J Radiat Res Radiat Process, 2009, **27**(2): 115-120
- 33 单鹄声, 蔡建明, 黄越承. 中华航海医学与高压氧医学杂志, 2008, **15**(4): 193-196
SHAN Husheng, CAI Jianming, HUANG Yuecheng. Chinese Journal of Nautical Medicine and Hyperbaric Medicine, 2008, **15**(4): 193-196
- 34 Sánchez-Campillo M, Gabaldon J A, J. Castillob, *et al.* Food Chem Toxicol, 2009, **47**(2): 386-392
- 35 Tak J K, Park J W. Free Radical Biology and Medicine, 2009, **15**;46(8): 1177-85
- 36 Lyudmila G, Vadim I, Thomas C, *et al.* Science, 2008, **320**(5873): 226-230
- 37 Ohsawa I, Ishikawa M, Kumiko Takahashi, *et al.* Nature Medicine, 2007, **13**(6): 688-694

The research progress of several kinds of free radical scavengers

QIAN Liren HUANG Yuecheng CAI Jianming

(Department of Radiation Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Ionization radiation can generate free radicals in biological system, which could induce lipid peroxidation, biomacromolecule and biomembrane damage, lost of cell function, cell cycle disturbance, genetic mutation and so on. The scavenging free radicals can protect organism from radiation damage. Many radio-protective agents, such as amylase, hydroxyl-benzene derivatives, hormone, vitamin, have great abilities to protect organism from radiation via scavenging free radicals. In this paper, we mainly review the free radical scavenging effects of several kinds of radio-protective agents.

KEYWORDS Free radical scavenger, Radio-protective effect, Antioxidant

CLC R142, R979.6, Q691