

# 简 报

## 辅酶 Q<sub>10</sub>, 甘露醇及别嘌呤醇清除活性氧自由基的 ESR 研究

周 明 支启华

(中日友好医院心脏外科, 北京 100029)

于德山 韩家康

(中日友好医院临床医学研究所生物物理室)

**关键词** 电子顺磁共振 (ESR), 再灌注损伤, 氧自由基清除剂

药物清除氧自由基的 ESR 研究近年来在国内已有报道,但以中药有效成分为多见<sup>[1,2]</sup>,我们选择了在心脏直视手术时用于临床心肌保护的几种有效药物:辅酶 Q<sub>10</sub>, 甘露醇及别嘌呤醇,用 ESR 技术测定其清除活性氧自由基的作用,以了解它们防治心肌缺血再灌注损伤的机理。

### 1 材料与方 法

**1.1 羟基自由基(OH·)产生体系:**FeSO<sub>4</sub>·(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (6.25×10<sup>-4</sup>mol/L), 0.31% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0.1mol/L DMPO (5, 5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide), (为 Sigma 公司产品),以及 pH 为 7.4 的 66.7mmol/L 磷酸缓冲液 (PBS),以上 4 种试剂各取 10μl 混匀后 1 min 在 JES-RE1X 型 ESR 仪(日本)上测定,测试条件为:功率 10mW,中心磁场 3250G,扫描宽度 100 G,调制幅度 1G,放大 1000 倍,时间常数为 0.3s。

**1.2 超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)产生体系:**0.32 mmol/L 黄嘌呤,0.0934u/ml 黄嘌呤氧化酶,0.1mol/L DMPO, 0.16mmol/L DETAPAC (二亚乙基三胺五乙酸),以及 pH 为 8.0 的 66.7mmol/L 磷酸缓冲液 (PBS),以上五种试剂各取 10μl 混匀后 1min 在上述 ESR 仪上测定,测试条件基本同上,时间常数改为 0.1s。

**1.3 临床所用别嘌呤醇片剂**(纯度作为 100%),碾碎后用相应的 PBS 溶解并稀释成所需浓度,辅酶 Q<sub>10</sub> 和甘露醇同样用相应的 PBS 稀释成不同浓度,在上述氧自由基产生体系中替换相应的 PBS,测定药物清除氧自由基的作用。

### 2 结 果

#### 2.1 辅酶 Q<sub>10</sub> 清除氧自由基的作用

CoQ<sub>10</sub> 具有明显的羟基自由基清除作用,而且其清除作用的大小与药物的浓度成正比关系,当 CoQ<sub>10</sub>

浓度为 100μg/ml 时可完全清除羟基自由基的 ESR 信号,随着 CoQ<sub>10</sub> 浓度的递减 OH· 的 ESR 信号逐渐增大(图 1),在 CoQ<sub>10</sub> 浓度为 12.5μg/ml 时可以得到稳定的 OH· 被部分清除的 ESR 信号,重复性良好,但 CoQ<sub>10</sub> 没有清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的作用。

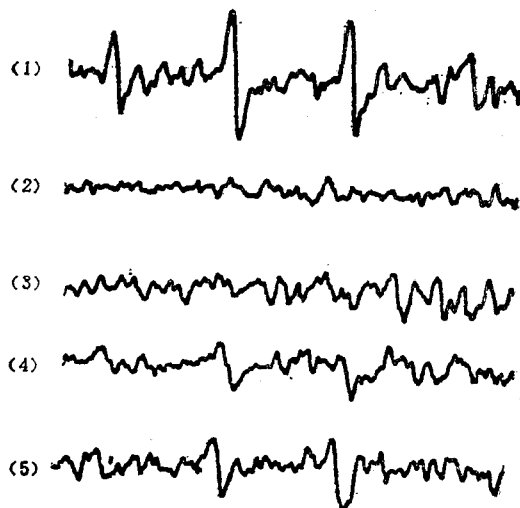


图 1 CoQ<sub>10</sub> 清除羟基自由基的作用  
(1) 对照 (2),(3),(4),(5) 分别为 CoQ<sub>10</sub> 终浓度 100μg/ml, 50μg/ml, 25μg/ml, 20μg/ml

#### 2.2 甘露醇清除氧自由基的作用

甘露醇也具有明显的羟基自由基清除作用和一定的浓度效应,当甘露醇浓度为 8mg/ml 时可以明显地减弱 OH· 的 ESR 信号,随着甘露醇浓度的递减,OH· 的 ESR 信号逐渐增大(图 2),但甘露醇也没有清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的作用。

#### 2.3 别嘌呤醇清除氧自由基的作用

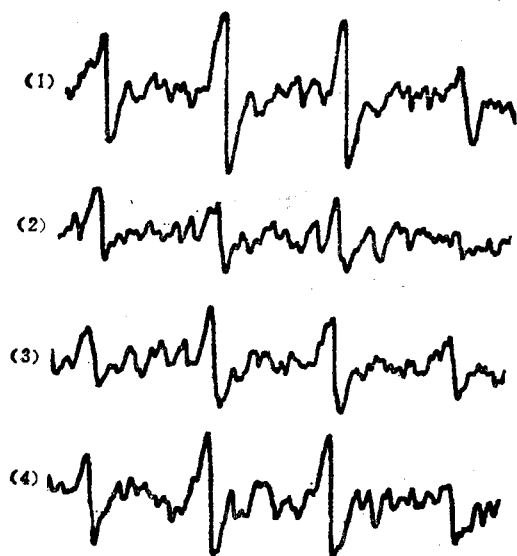


图 2 甘露醇清除  $\text{OH}^\cdot$  的作用

(1) 对照 (2),(3),(4) 分别为甘露醇终浓度 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml

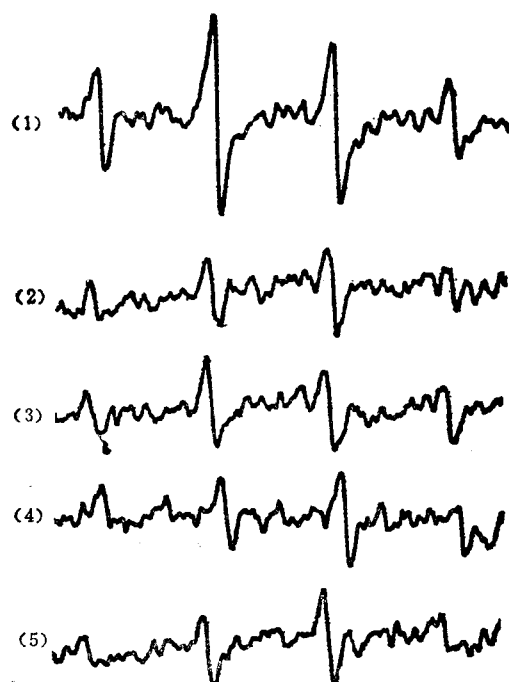


图 4 别嘌呤醇清除  $\text{OH}^\cdot$  的作用

(1) 对照 (2),(3),(4),(5) 分别为别嘌呤醇终浓度 25mg/ml, 12.5mg/ml, 6.25mg/ml, 5mg/ml

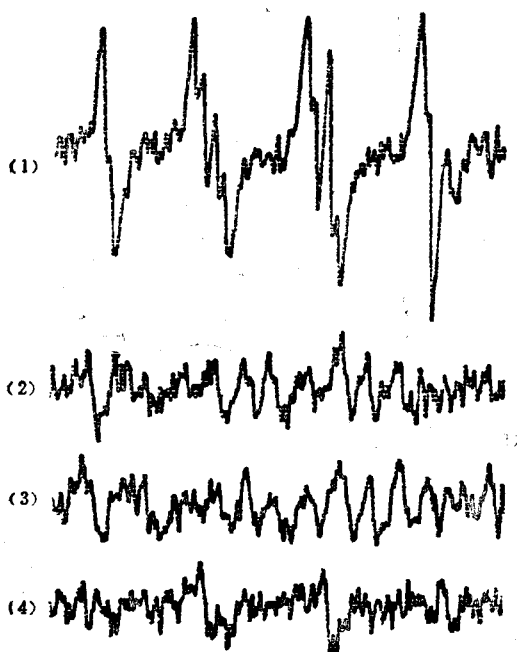


图 3 别嘌呤醇清除  $\text{O}_2^\cdot$  的作用

(1) 对照 (2),(3),(4) 分别为别嘌呤醇终浓度 20mg/ml, 10mg/ml, 5mg/ml

别嘌呤醇可以清除由黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶体系产生的  $\text{O}_2^\cdot$  ESR 信号,但没有明显的浓度效应(图 3);我们的实验也观察到别嘌呤醇可以部分地减弱由 Fenton 反应所产生的  $\text{OH}^\cdot$  ESR 信号(图 4)。

### 3 讨 论

$\text{CoQ}_{10}$  早在 70 年代就有人应用于临床治疗心力衰竭的病人<sup>[3]</sup>,主要是因为  $\text{CoQ}_{10}$  是细胞线粒体呼吸链的重要成分参与细胞的呼吸,从而促进氧化磷酸化,使缺血心肌的 ATP 储备增加;但近年来发现  $\text{CoQ}_{10}$  作为磷脂酶的拮抗剂具有膜稳定和抗氧化作用,而且有研究表明  $\text{CoQ}_{10}$  可诱导产生一种自由基形成的强力抑制剂: DT 黄递酶 (DT diaphorase)<sup>[4]</sup>。除此以外我们的实验观察到  $\text{CoQ}_{10}$  还具有直接的  $\text{OH}^\cdot$  清除作用,而且其清除能力的大小与  $\text{CoQ}_{10}$  的药物浓度成正比,这一点尚未见有类似的文献报道。

甘露醇具有清除  $\text{OH}^\cdot$  的作用早有报道<sup>[5]</sup>,我们用 ESR 技术进一步证实了这一作用,而且还观察到其清除  $\text{OH}^\cdot$  的作用有一定的浓度效应。

别嘌呤醇是黄嘌呤氧化酶的抑制剂<sup>[6]</sup>,我们用 ESR 技术观察到别嘌呤醇可以明显地减少由黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶体系所产生的  $\text{O}_2^\cdot$ ,说明了别嘌呤醇的作用主要在于抑制黄嘌呤氧化酶的活性。同时,我们的实验还观察到别嘌呤醇也具有部分清除由 Fenton 反应所产生的  $\text{OH}^\cdot$  作用,这一点尚未见有其它类似的报道,我们考虑其原因可能有以下几点:

a. 我们选用的别嘌呤醇是临床用药,只有片剂,

可能其纯度不够,有些杂质会干扰 ESR 信号。

b. 是否与所选择的羟基自由基产生体系有关,我们只选用了 Fenton 反应体系,因为条件所限未做其它体系作对照。

c. 别嘌呤醇是否确实具有一定的  $\text{OH}\cdot$  清除作用尚有待于深入研究探讨。

由此可见,上述临床上有效的氧自由基清除剂其作用机制并不相同,  $\text{CoQ}_{10}$  和甘露醇主要是  $\text{OH}\cdot$  清除剂,而别嘌呤醇主要是黄嘌呤氧化酶抑制剂;但也可能具有一定程度的氧自由基直接清除作用,所以在临床应用上采用几种药物联合使用可在不同环节阻断氧自由基的毒性作用,从而更有利于对组织的保护,如何更好地发挥这些药物的协同作用是一个值得进一步研究的课题。

另外,在实验中我们选用了化学反应体系产生氧自由基,为了更接近于生理条件下的实际状况,我们将

进一步用活细胞受刺激后产生活性氧自由基的方法,来做这些药物的氧自由基体外清除试验,将更有助于说明问题。

## 参 考 文 献

- 1 林童俊. 中国药理学报, 1990; 11(6): 534
- 2 但宁, 李小洁, 赵保路等. 中国药理学报, 1989; 10(5): 443
- 3 Folkers K, Nakamura R, Littarru P *et al.* *Int J Vitam Nutr Res*, 1970; 40: 380
- 4 Greenberg S M, Frishman W H. *Med Clin North Am*, 1988; 72: 243
- 5 Magovern G J, Bolling S F, Casale A S *et al.* *Circulation*, 1984; 70 (Suppl I): 91
- 6 Akizuki S, Yoshida S, Chambers D E *et al.* *Cardiovasc Res*, 1985; 19: 686

# 紫外辐照对柑桔电学频率特性等参量的影响

郑瑞伦 吴兴源 刘昌信

(西南师范大学物理系, 重庆 630715)

**关键词** 紫外辐射, 柑桔, 频率特性

由于化学药物保鲜柑桔的不足, 人们已对物理方法保鲜产生兴趣。保鲜的基本目的在于防止柑桔腐烂和使其营养成分保持不变。从生理角度讲, 就是要延缓它的代谢过程。众所周知, 由于新陈代谢作用, 柑桔的结构和成分不断变化, 必然要在果实和果汁的物理性质上反映出来。从物理角度讲, 要保鲜, 就要使它的结构、成分尽可能保持不变, 使其物理参量的变化减慢。由于电学频率特性等参量与柑桔果实和果汁的结构成分密切相关, 而过氧化物酶活性又是呼吸代谢过程强弱的重要指标, 因此, 可以通过紫外辐照柑桔, 柑桔电学频率特性等参量随贮藏时间变化的研究, 探讨紫外辐照对柑桔呼吸代谢的影响, 从而为物理保鲜柑桔的最佳途径提供依据。再通过物理参量与生理参量的对比分析, 为研制物理检测柑桔仪器提供依据。本文介绍了我们的实验方法与结果, 并对结果作了简单分析。

## 1 方法与结果

材料是同批采摘、色泽形状大小几乎相同的锦橙,

分别于 1987, 1988, 1989 年 11 月上旬按如下方式处理 (每种处理方式用果 80 个): 紫外线照射 40min, 60min; 每月定期紫外照射 40min, 60min; 用 250ppm 的 2, 4-D (二氯苯氧乙酸) 和 500ppm 的多菌灵水溶液浸果 0.5min; 用上述药物处理后隔日再紫外辐照 40min。紫外辐照是在自制光波辐照箱内进行<sup>[1]</sup>, 箱内照度均匀, 用 WF-2 型照度计测得照在果实上的照度均为 140 lx, 处理时果蒂向上, 紫外光的有效波长为 2650 Å。用电磁场理论可以计算出紫外线透入果皮并衰减到 1/e 的深度为 0.15cm。处理后的实验果与对照果放入同一贮藏室内 (温度 15—16℃, 湿度 80% 左右), 每月定期观察果实腐烂情况并随机抽样 (果实 8 个) 进行测量, 测量果实电学频率特性等物理量以及过氧化物酶活性等生理参量。电导率是用 DDS-11 型电导仪测定; 果汁介电常数是通过对折射率  $n$  测定后再用公式  $n = (\epsilon_0/\epsilon_r)^{1/2}$  求出 ( $\epsilon_0$  为真空介电常数)。这里利用了生物体的磁导率与真空磁导率近似相等的条件<sup>[2]</sup>。过氧化物

收稿日期: 1991-03-11

修回日期: 1991-06-14