

知母宁(*Chinonin*)对辐照 DNA 电子自旋转移的初步研究

丘泉发 梅宁毅 张建辉 李冕丰

(中山大学, 广州 510275)

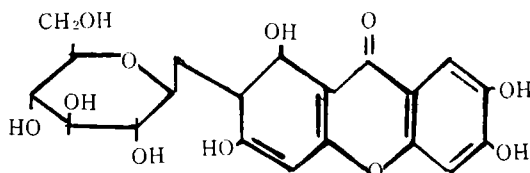
李明

(南方制药厂, 深圳 518026)

摘要 研究受 ^{60}Co γ 射线照射的知母宁、小牛胸腺 DNA 和它们的分子混合物(知母宁和 DNA 中的核苷酸摩尔比为 1:1)的 ESR 波谱, 从波谱特征(g 因子、峰宽、峰高等)变化, 说明辐照 DNA 的电子自旋向知母宁分子转移, 计算出自旋转移比率(TR 值)为 5.63, 推断知母宁通过电子自旋转移修复 DNA 分子使 DNA 的自由基消失。

关键词 知母宁, DNA, 电子自旋转移, ESR

知母宁是从百合科植物知母(*Anemarrhena asphodeloides bunge*)分离纯化而来的中药成分。它的化学结构式(经由中国科学院上海有机化学研究所、上海药物研究所和福建物质结构研究所确定)如下:



众所周知的天然抗氧化剂维生素 E, 其抗氧化作用主要机制是分子结构上的酚羟基能进行自旋捕集, 因此也称它为天然的自旋捕集剂^[1,2]。根据知母宁分子结构含有四个酚羟基, 本文初步研究了重要的生物大分子 DNA 受辐照引发的电子自旋向知母宁分子转移情况。

1 材料与 方法

1.1 试剂

知母宁(含量 98%), 由南方制药厂生物化学研究所提供。小牛胸腺 DNA (纯品)由华美公司提供。

1.2 样品制备和辐照

将 DNA、知母宁分别称量后溶于重蒸蒸馏水中, 按 DNA 中的核苷酸与知母宁的摩尔比 1:1 配制二元体系的分子混合物溶液, 在 -40°C 左右温度下真空干燥后将样品置入内径约 3 mm 的玻璃管中, 除氧(真空抽气)后密封。

收稿日期: 初稿 1994-10-28, 修改稿 1995-01-23

上述样品在常温下用 ^{60}Co γ 射线辐照至总吸收剂量 124 kGy, 辐照工作由广东省辐照中心协助完成。

1.3 ESR 测量

用 JES-FEIXG 谱仪(日本 JEOL 公司生产)对样品进行 ESR 测量。测量的条件: 磁场强度 336 ± 10 mT, 调幅 0.63 mT, 微波功率 1 mW。用锰($\text{Mn}^{2+}/\text{MgO}$)标准测定样品的 g 因子, 在样品量和测量条件相同情况下, 用 ESR 谱峰相对高度比较样品的相对自旋浓度(自由基相对产额)。

2 结果与分析

2.1 辐射引发的电子自旋从 DNA 向知母宁分子进行转移

如图 1 所示, 在常温辐照后测定的小牛胸腺 DNA 的 ESR 波谱含有胸腺嘧啶 5 位自由基八重峰特征^[3,4,5], 其谱线总宽度 13.5 mT(见图 1a), 知母宁单独辐照后测定的 ESR 波谱为较对称的单峰(见图 1b)。DNA 与知母宁分子混合物受辐照后测定的 ESR 波谱是一个较对称的波谱, 峰宽 $\Delta H_p = 0.8$ mT, $g = 2.0032$ (见图 1c)。通过计算机将图 1b、图 1c 进行差谱分析, 其差谱特性仍为知母宁型(见图 1d), 可见图 1c 不是 DNA 与知母宁两图谱的简单叠加。

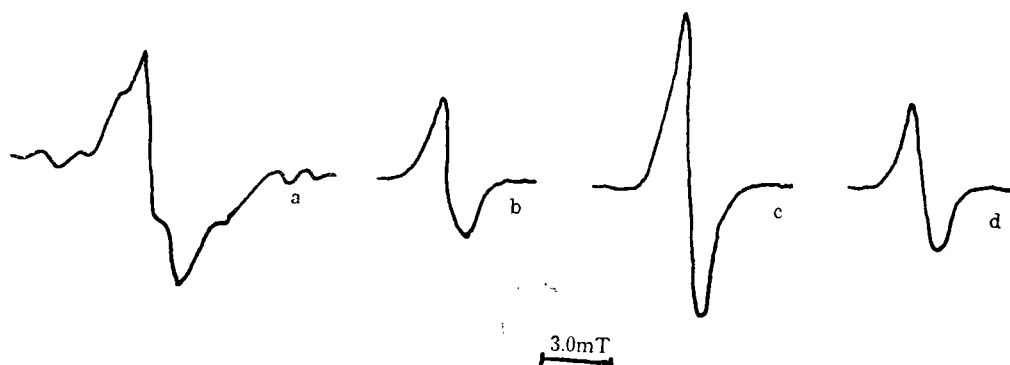


Fig 1. The ESR spectra of γ -irradiated DNA, chinonin and their mixture (the nucleotide and chinonin in the mol ratio of 1:1) at the normal temperature
(a) DNA (b) chinonin (c) molecular mixture of DNA and chinonin
(d) division between spectra (c) and (b)

比较上述各种共振图谱的特性看出: 分子混合物的波谱和知母宁的波谱相类似(谱形、峰宽和 g 因子基本相同), 而与 DNA 图谱截然不同, 并不见胸腺嘧啶 5 位自由基八重峰的痕迹(DNA 自由基图谱消失)。并且分子混合物 ESR 谱峰高度超出知母宁 ESR 谱峰高度(在样品量和测量条件一致的情况下比较图 1b 和图 1c)。由此可说明, 在 DNA-知母宁二元体系中, 辐射引发的 DNA 电子自旋向知母宁分子进行了转移(DNA 的自由基图谱消失, 明显地转化为知母宁信号)。

2.2 辐照 DNA 电子自旋转移至知母宁的效率

在 DNA-知母宁二元体系中(DNA 中的核苷酸与知母宁摩尔比为 1:1), 假定它的 ESR 波谱全是由知母宁形成的, 在测量条件和样品量相同的情况下, 分子混合物类似知母宁的谱峰高度与单独知母宁的谱峰高度之比, 可称为自旋转移比率(Transfer ratio, 简作 TR)^[7,8]。本文测量计算出 TR 值为 5.63。

Tab 1. The ESR signal amplitude (relative arbitrary unit) of irradiated DNA, chinonin, and their "molecular mixture" (the nucleotide and chinonin in the mol ratio of 1:1)

Sample	DNA	Chinonin	DNA-Chinonin
ESR signal amplitude (relative arbitrary unit)	5.34	1.12	6.31

3 讨 论

许多抗辐射作用的药物(巯基化合物、半胱胺和半胱氨酸、没食子酸丙酯、咖啡酸类、芥子碱类等)对重要生物大分子(脱氧核糖核酸和蛋白质等)受辐照后的电子自旋转移研究,已有不少文献报道^[4~10]。但知母宁对辐照 DNA 电子自旋转移未见报道。

本文结果(图 1、表 1)显示,在 DNA 与知母宁二元体系的分子混合物中,辐照引发的 DNA 自旋向知母宁分子进行了转移,自旋转移的效率(在 DNA 中的核苷酸与知母宁的摩尔比 1:1 情况下)TR 值为 5.63,说明一个知母宁分子至少可从 DNA 分子上转移 5.63 个非偶电子(核苷酸上的电子自旋)。由此,认为知母宁是天然的去自由基清除剂和抗氧化剂(因为在某种程度上去自由基清除剂与抗氧化剂属于同义词^[11]),同时它也有可能是一种天然的辐射保护剂;因为知母宁分子结构的酚羟基具有亲电子能力,而且苯环是已知良好的能量陷阱,所以在混合物中知母宁可使生物分子受辐照引发的自由基进行一定的转移,从而保护了生物分子。在这些方面,将进行更多的研究。

参 考 文 献

- 1 王钢, 邹燕勤, 孙伟等编. 自由基与中医中药, 南京大学出版社, 1993, 65~67
- 2 莫简, 吕问, 孙淑芬等编. 医用自由生物学导论, 人民卫生出版社, 1989, 50~53
- 3 Swenberg C E, Myers L S, Miller J H. *Adv. Space Res.*, 1994, 14(10): 181
- 4 屠铁城, 林念芸, 李学鹏. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1985, 3(1): 57
- 5 林念芸, 李学鹏, 屠铁城. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1983(1): 1
- 6 林念芸, 顾瑞琦. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1985, 3(1): 61
- 7 孙存普, 党进军. *中国人民解放军军事医学科学院报*, 1983, 6: 589
- 8 盛沛根, 王华黎, 沈枝安. *中国科学 B 辑*, 1982, 4: 317
- 9 Shin Wenchuan, Chang Chenlian, Yao Minjen et al. *Scientia Sinica*, 1966, 15(2): 211
- 10 Ormerod M G, Alexander P. *Radiat. Res.*, 1963, 18: 459
- 11 郑荣梁主编, 自由基生物学, 高等教育出版社, 1992, 47~67

THE STUDY OF ELECTRON SPIN TRANSFER FROM γ -IRRADIATED DNA TO CHINONIN

Qiu Quanfa Mei Ningyi Zhang Jianhui Li Mianfeng Li Ming¹

(Zhongshan University, Guangzhou 510275)

¹(999 Enterprise Group Medical and Pharmaceutical Research Institute, Shenzhen 518026)

ABSTRACT The electron spin resonance (E. S. R) spectra of γ -irradiated DNA, chinonin and their mixture (the nucleotide and chinonin in mol ratio of 1:1) were investigated at normal temperature. Based on g value, the shape and width and signal amplitude of ESR spectra, We may concluded that the electron spin may transfer from DNA to chinonin with a transfer ratio of 5.63.

KEYWORDS Chinonin, DNA, Electron spin transfer, ESR