

脉冲辐解测定若干放射增敏化合物的单电子还原电位

左志华 姚思德 李虎成 金一尊¹ 林念芸

(中国科学院上海原子核研究所辐射化学开放研究实验室, 上海 201800)

(¹上海医科大学放射医学研究所, 上海 200032)

摘要 采用脉冲辐解技术, 在 pH = 7 的缓冲溶液中测定了几种放射增敏化合物, 如咪唑类的 Miso、911、CMNa、SMU-1、SMU-2, 磺胺类的 SMD、SNN、S₃, 及 BSO 的单电子还原电位值 $E_1^{\cdot-}$, 作为初步评价亲电性化合物的辐射保护与敏化作用的指标之一。

关键词 单电子还原电位, 电子亲和性, 放射增敏化合物, 脉冲辐解

放射增敏化合物的发现和研制一直是放射生物学、放射医学的重要研究内容。基于电荷转移保护与敏化机制^[1], 检测一个(类)化合物能否作为放射增敏剂的重要证据就是比较它(们)与靶分子的亲电子能力, 而最简便的实验方法则是测定它们的单电子还原电位($E_1^{\cdot-}$)。

自从 Meisel 和 Czapski^[2]采用脉冲辐解方法测定氧气的单电子还原电位之后, 许多化合物的单电子还原电位已在国外一些脉冲辐解实验室进行了测定。本文报道了采用本所自行研制的纳秒级脉冲辐解动态吸收光谱装置, 通过观测电子转移反应的动态过程及平衡, 测定了几种新型放射增敏化合物, 如咪唑类的 Miso、911、CMNa、SMU-1、SMU-2, 磺胺类的 SMD、SNN、S₃, 及 BSO 的单电子还原电位值。

1 实验方法

1.1 实验试剂

CM 钠盐由第二军医大学提供, 其余测定化合物均由上海医科大学放射医学研究所提供。所用的参比物蒽醌-2-磺酸(AQS)、杜醌(DQ)、甲基紫精(MV²⁺)由英国 MRC 实验室馈赠; 磷酸盐为上海新华化工厂生产的分析纯试剂; 2-异丙醇经过蒸馏纯化, 所有溶液均用三重蒸馏水配制, 所用氮气为 99.99% 的高纯氮。

1.2 实验装置

实验所用加速器为 8 MeV 电子直线加速器, 电子脉冲宽度为 8 ns, 脉冲电流为 2—3 A。剂量为 12 Gy 的单脉冲辐照到 20 mm 光程装有样品的石英样品池内, 样品受辐射后产生短寿命的瞬态产物。来自 500 W 氙灯的分析光以垂直于射线束的方向通过样品池, 光信号经 44 W 的单色仪及 IP 28 的光电倍增管后转换成电信号, 并由 100 MHz 瞬态记录仪采集, 输入备有数据处理软件 SUN-286 计算机。

1.3 实验

国家自然科学基金重点资助课题

收稿日期: 初稿 1993-11-04, 修改稿 1994-03-01

所有样品辐照前先通高纯氮气 20 min 以除去样品池中的氧气。样品含有 $2 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲溶液, 使得溶液 $\text{pH} = 7.0 \pm 0.2$; 以及含有 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 2-异丙醇, 以清除 $\text{H} \cdot$ 和 $\text{OH} \cdot$ 自由基, 并使得水合电子 e_{aq}^- 及异丙醇抽氢自由基 $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{OH}$ 等还原性瞬态粒子的产额 $G = 6.2$, 浓度约为 $5\text{--}7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

实验检测到的瞬态产物的吸光度 OD 与其浓度 c 之间关系可由比耳-郎伯尔公式表示:

$$\text{OD} = c \times \varepsilon \times L \quad (1)$$

其中 ε 为摩尔吸光系数, L 为光程。

2 结果与讨论

2.1 授体 $\text{D}^{\cdot-}$ 与受体 A 之间的电子转移

图 1(A) 为 $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的咪唑类化合物 SMU-1 与 $2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的蒽醌-2-磺酸盐 AQS 二元混合物经脉冲辐解后在 510 nm 处检测到的瞬态产物吸收曲线。因为 SMU-1 的浓度远大于 AQS 浓度, 所以水合电子 e_{aq}^- 和异丙醇抽氢自由基 $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{OH}$ 首先主要与 SMU-1 反应生成其阴离子自由基反应 (2, 3)。

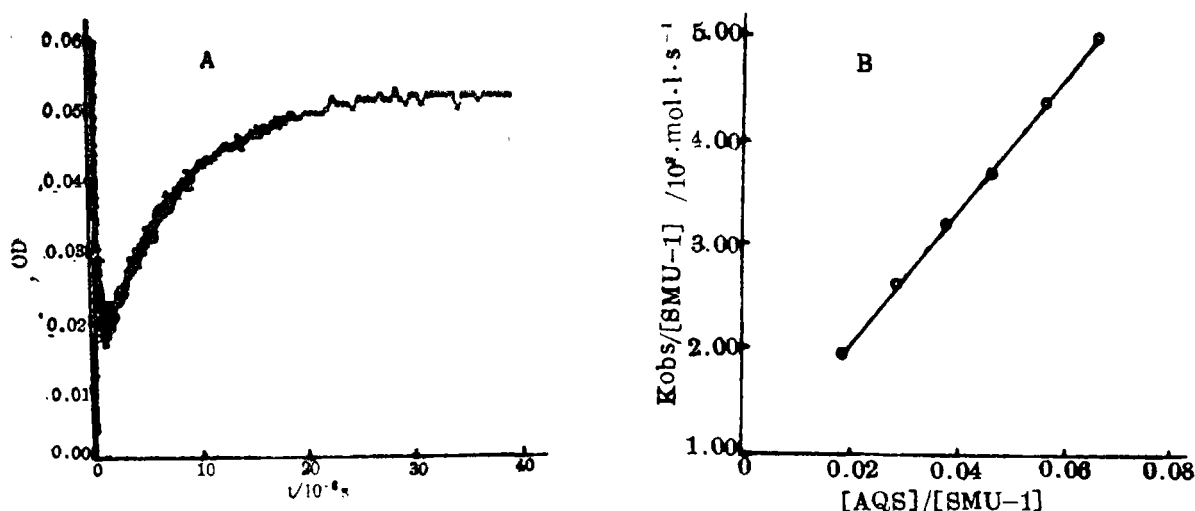
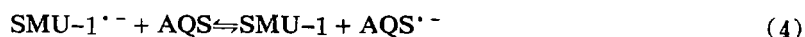
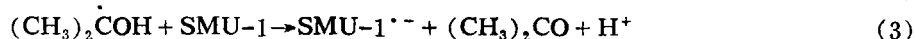


Fig 1. Electron transfer and equilibrium between SMU-1 radical anions and AQS

(A) Observed trace showing change in absorption at 510 nm upon electron transfer from $\text{SMU-1}^{\cdot-}$ to AQS to reach equilibrium

(B) A plot of the dependence of $k_{\text{obs}}/[\text{SMU-1}]$ on $[\text{AQS}]/[\text{SMU-1}]$. The straight line has a slope of k_+ and an intercept of k_- .



反应 (2, 3) 遵循扩散控制原则 (速率常数 k 在 $1\text{--}10 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围), 因此反应在一二个微秒时间 $[t = 1/(10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \times k)]$ 内就可完成。因为在 510 nm 处 SMU-1 几乎无吸收, 而 AQS 阴离子自由基 $\text{AQS}^{\cdot-}$ 在此处有吸收峰, 所以图 1(A) 所示的上升曲线表明在脉冲之后的几十个微秒内生成了 $\text{AQS}^{\cdot-}$, 并在 40 微秒附近达到最大值, 由此可以确定存在着自 $\text{SMU-1}^{\cdot-}$ 向 AQS 的电子转移生成 $\text{AQS}^{\cdot-}$ 的反应过程, 而且该过程是相互可逆的, 最终将达到平衡反应 (4)。

同样也在 510 nm 处检测到其它咪唑类化合物 911、SMU-2，磺胺类化合物 SMD、SNN、S₃，BSO 的阴离子自由基与 AQS 之间，甲基紫金 MV²⁺ 阴离子自由基与咪唑类化合物 Miso 之间的相互可逆的电子转移反应过程，在 445 nm 处检测到甲硝唑钠盐 CMNa 阴离子自由基与杜醌 DQ 之间相互可逆的电子转移反应过程。这些反应可概括为反应 (5)



为了测定反应 (5) 的正负反应速率常数 k_+ 和 k_- ，对该反应进行动力学分析可得到如下表达式

$$\ln ([A^{\cdot-}]_{\infty} - [A^{\cdot-}]_t) = B - k_{obs} \times t$$

(6)

由式 (1)

$$\ln [(OD^{A^{\cdot-}})_{\infty} - (OD^{A^{\cdot-}})_t] = B' - k_{obs} \times t$$

(7)

其中 $[A^{\cdot-}]_{\infty}$ 和 $(OD^{A^{\cdot-}})_{\infty}$ 分别为平衡时 $A^{\cdot-}$ 的浓度和吸光度， $[A^{\cdot-}]_t$ 和 $(OD^{A^{\cdot-}})_t$ 分别为 t 时刻 $A^{\cdot-}$ 的浓度和吸光度， $B、B'$ 为常数， k_{obs} 为表观反应速率常数，它来源于

$$k_{obs} = k_+[A] + k_-[D]$$

(8)

$$k_{obs}/[D] = k_+ \times ([A]/[D]) + k_-$$

(9)

其中 $[D]$ 和 $[A]$ 分别表示授体和受体的浓度。因此可由 (7) 式，将图 1(A) 中所示曲线中平衡时刻的吸光度值 (也即是最大值) 减去各时刻 t 时的吸光度值，对得到的一系列值进行一级动力学分析，即取它们的对数值对时间 t 作图，所得直线的斜率即是表观一级反应速率常数 k_{obs} 。

由 (9) 式可知 $k_{obs}/[D]$ 值与 $[A]/[D]$ 值之间存在着线性关系，固定 D 的浓度不变 ($10^{-3} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)，改变 A 的浓度 ($1-10 \times 10^{-5} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)，分别测定不同浓度比下的表观一级反应速率常数 k_{obs} ，通过 $k_{obs}/[D]$ 对 $[A]/[D]$ 作图，可以分别从直线的斜率和截距得到 k_+ 和 k_- 。图 1 B 即为以 $k_{obs}/[\text{SMU-1}]$ 对 $[\text{AQS}]/[\text{SMU-1}]$ 作的直线图，通过该直线的斜率和截距可分别求得 $k_+ = 6.1 \times 10^9 \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ ， $k_- = 7.4 \times 10^7 \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

表 1 列出了其它放射增敏化合物与参比物之间的电子转移反应正、负反应速率常数 k_+ 、 k_- 。

Tab 1. Rate constants of electron transfer and equilibrium constants for reaction (5) and the calculated values of their one-electron reduction potentials

D	A	$k_+ / \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$	$k_- / \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$	K	$\Delta E / \text{mV}$	$E^{\circ}_1(D/D^{\cdot-}) / \text{mV}$
Miso	MV ²⁺	1.92×10^8	1.70×10^9	0.113	-56.0	-391, 3 ⁽¹⁾
911	AQS	1.15×10^9	1.28×10^8	8.98	56.4	-431, +2
CMNa	DQ	6.71×10^8	2.09×10^7	32.1	88.9	-464, +2
SMU-1	AQS	6.06×10^9	7.43×10^7	81.5	113	-488, +2
SMU-2	AQS	6.99×10^9	3.90×10^7	179.1	133	-508, +2
S ₃	AQS	6.96×10^9	7.02×10^7	99.1	118	-493, +2
SMD	AQS	2.58×10^9	6.69×10^7	38.6	93.6	-469, +2
SNN	AQS	3.54×10^9	3.05×10^8	11.6	62.7	-438, +2
BSO	AQS	4.69×10^9	1.01×10^8	46.4	98.3	-473, +2

(1) 考虑到体系的离子强度，经 $59 \log f \pm$ 校正；依照 Debye-Huckle 公式：
 $\log f \pm = -0.5 |Z_1 Z_2| I^{1/2} (1 + 3.29 a_1 I^{1/2})^{-1}$
其中 Z_1 和 Z_2 为 D、A 的离子电荷数， a_1 为离子大小，一般为 0.5 nm， I 为离子程度。

2.2 单电子还原电位 E°_1 的测定

反应 (5) 的平衡常数 K 可由正、负反应速率常数之比值表示

$$K = k_+/k_- \quad (10)$$

25℃时, D、A 的单电子还原电位之差 ΔE 可以由下式求出

$$\Delta E(\text{mV}) = E_1^\circ(A/A^{\cdot-}) - E_1^\circ(D/D^{\cdot-}) = 59 \log K \quad (11)$$

因而只要知道 K 值及 D、A 中一个化合物的单电子还原电位值, 就可由 (11) 式求得另一化合物的电位值。由 2.1 所得结果, 可求得反应 (4) 的平衡常数为 82, 因为 AQS 的单电子还原电位 $E_1^\circ(\text{AQS}/\text{AQS}^{\cdot-}) = -375 \text{ mV}^{[4,5]}$, 由式 (11) 可求得 SMU-1 的 $E_1^\circ(\text{SMU-1}/\text{SMU-1}^{\cdot-}) = -488 \text{ mV}$ 。甲基紫金 MV 的 $E_1^\circ(\text{MV}^{2+}/\text{MV}^{\cdot+})$ 值为 $-447 \text{ mV}^{[3]}$, 杜醌 DQ 的 $E_1^\circ(\text{DQ}/\text{DQ}^{\cdot-})$ 值为 $-244 \text{ mV}^{[4]}$, 因此, 在利用表 1 中所列的 k_+ 和 k_- 值求得平衡常数 K 后, 其它放射增敏化合物的单电子还原电位均可以求得, 见表 1 中的 $E_1^\circ(\text{S}/\text{S}^{\cdot-})$ 栏。

2.3 辐射敏化“电荷转移机理”的佐证

因为胸腺嘧啶(T)的阴离子自由基 $\text{T}^{\cdot-}$ 质子化反应速率极快, 且其 pKa 值为 $7.2^{[6]}$, 在 pH 7 时 $\text{T}^{\cdot-}$ 与其质子化产物 $\text{TH}^{\cdot}$ 并存, 因而对其 $E_1^\circ(\text{pH}=7 \text{ 时})$ 的测定带来很大的困难, 但 Steenken 测定了它的 $E_1^\circ(\text{pH}=8.6 \text{ 时})$ 值为 $-1100 \text{ mV}^{[7]}$, 由此可推算出其 $E_1^\circ(\text{pH} 7 \text{ 时})$ 值为 -1077 mV , 小于表 1 中的各类增敏化合物的 E_1° 。可见磺胺、咪唑类辐射敏化剂(S) 均可从胸腺嘧啶(即靶分子)阴离子自由基夺取电子



上述过程协同以下反应可达到辐射敏化的效果



分子轨道计算认为通过电子转移机制的敏化过程之前提条件为: 化合物的电子亲合势大于靶分子的电子亲合势, 这是“三转移”机理的重要内容^[1]。本文的结果支持了这一观点。

参 考 文 献

- 1 Lin N Y. Radiat. Phys. Chem., 1986, 28(2): 211
- 2 Meisel D, Czapski G. J. Phys. Chem., 1975, 79: 1503
- 3 Wardman P. J. Phys. Chem. Ref. Data, 1989, 118, (4): 1637
- 4 Wardman P, Clark D E. Chem. Soc., Faraday Trans., 1976, 172: 1377
- 5 Meisel D, Neta P. J. Am. Chem. Soc., 1975, 97: 5198
- 6 Hayon E. J. Chem. Phys., 1969, 51: 4881
- 7 Steenken S, Telo J P, Novais H M, Candeias L P. J. Am. Chem. Soc., 1992, 114: 4701

DETERMINATION OF ONE-ELECTRON REDUCTION POTENTIALS OF SOME RADIOSENSITIVE COMPOUNDS BY PULSE RADIOLYSIS

Zuo Zhihua Yao Side Li Hucheng Jin Yizun¹ Lin Nianyun
(Laboratory of Radiation Chemistry, Shanghai Institute of Nuclear
Research, Academia Sinica, Shanghai 201800)
(¹Institute of Radiation Medicine, The First Shanghai Medical
University, Shanghai 200032)

ABSTRACT One-electron reduction potential (E_1°) is one of the important parameters of radiosensitive compound with high electron affinity. In this work one-electron reduction potentials of some radiosensitizers such as Miso, 911, CMNa, SMU-1, SMU-2, SMD, SNN, S_3 and BSO, were determined pulse radiolytically by using anthraquinone-2-sulfate (AQS), duroquinone (DQ) and methyl viologen (MV^{2+}) as references.

• **KEYWORDS** Pulse radiolysis, Electron affinity, Radiosensitive compound, One-electron reduction potential