

溴代对竹红菌乙素光敏活性的影响⁽²⁰⁾

张红雨 张志义¹ 万 谦 王大辉

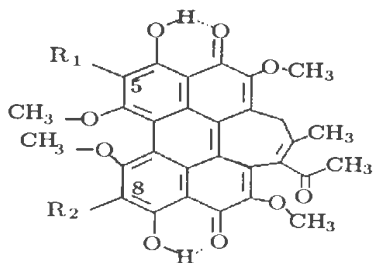
(中国科学院生物物理研究所 北京 100101)

摘要 在DMF-水体系中用自旋捕捉、消自旋等ESR技术测定了竹红菌乙素(HB)及其两种溴代物(5-Br-HB和5,8-diBr-HB)光敏产生 $^1\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 及负离子自由基的相对产额,发现单溴代未增加HB b_2 的产额,而二溴代使HB b_2 的产额增加20%左右,但同时降低其经电子转移产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和负离子自由基的能力。

关键词 竹红菌乙素(HB),竹红菌乙素溴代物(5-Br-HB和5,8-diBr-HB),光敏活性,ESR,自旋捕捉,消自旋

竹红菌素是近年来颇受重视的苝醌类光敏剂之一^[1,2],研究表明,它不但有优良的光敏性质如: b_2 量子产率高^[3],可产生损伤力极强的 $\cdot\text{OH}$,及在缺氧环境中可产生负离子自由基进行损伤等^[2,4],而且易纯化,不聚集,代谢快,副作用小,并且已有许多治疗皮肤病的临床报道^[5,6]。近来又发现它在光照条件下可有效地抑制爱滋病毒^[7],这些都说明竹红菌素是一种潜在的性能优良的光动力治疗药物。

竹红菌乙素(HB)是竹红菌素的主要成分之一。为了进一步提高其光敏活性,人们又制备了它的溴代物5-Br-HB和5,8-diBr-HB(结构如下所示),以期利用溴的重原子效应,增加其三重态量子产率,从而增加 $^1\text{O}_2$ 产额。文献[8,9]曾用化学方法测定HB溴代物的 $^1\text{O}_2$ 产额,发现其与HB相比并未有显著提高,并推测其原因是溴原子的拉电子效应使得HB溴代物易于与 O_2 发生电子转移,从而降低了能量传递的效率,最终使 $^1\text{O}_2$ 产额降低。



	R ₁	R ₂
HB	H	H
5-Br-HB	Br	H
5,8-diBr-HB	Br	Br

鉴于ESR方法在研究光敏产生各活性中间体($^1\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 及负离子自由基)方面的显著优点,本文拟用捕捉、自旋捕捉及消自旋等ESR技术测定HB及其两种溴代物光照产生 $^1\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 及负离子自由基的相对产额,以探明溴代对HB光敏活性的影响,这对寻找性能更优良的苝醌类光敏剂,研究光动力药物的构效关系都有重要意义。

⁽²⁰⁾ 国家自然科学基金资助项目

¹ 通讯联系人

收稿日期: 初稿: 1996-05-06, 修回 1996-06-14

1 材 料 与 方 法

1.1 材料

HB 按赵开弘等的方法制备, 5-Br-HB 和 5,8-diBr-HB 按姜颖等的方法制备^[8,10]。2,6,6-四甲基哌啶酮(TEMPONE)和2,2,6,6-四甲基哌啶酮-N-氧基(TAN)及5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧基(DMPO)均为Aldrich公司产品;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

$^1\text{O}_2$ 的测定用 Lion 的方法^[11], 即用 ESR 检测 TEMPONE 捕捉 $^1\text{O}_2$ 后生成的 TAN 自由基信号, 通过比较 TAN 信号的大小确定光敏剂的 $^1\text{O}_2$ 相对产额。用光敏剂负离子自由基使 TAN 消自旋的方法^[12], 间接检测负离子自由基的生成。用 DMPO 捕捉 $\text{O}_2^{\cdot-}$, 而后测定其自旋加合物[DMPO-OOH] $^{\cdot}$ 的 ESR 信号的方法^[13], 检测 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的生成。

1.3 仪器测试条件

ESR 测定在 Varian E-109 谱仪(X 波段, 调制频率 100kHz)上进行, 中心磁场 0.325T, 调制幅度 0.1mT, 微波功率 5mW, 时间常数 0.128s, 测定温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 记录一次微分谱。光照用 1kW 卤钨灯作光源, 用特制装置滤去红外线、紫外线, 只用可见光照射, 光强为 $300\text{W}/\text{m}^2$, 用国产 BTY-820 型光辐射仪测定。由于在光动力治疗或光敏杀虫等实际应用中一般不用单色光作光源, 故未采用单色光照射。同时由于 HB 及其溴代物的吸收光谱很相近(图 1), 用普通光源得出的结论也能说明问题。



Fig.1 Absorption spectrum of HB, 5-Br-HB and 5,8-diBr-HB
(a) HB (b) 5-Br-HB (c) 5,8-diBr-HB
DMF as solvent

2 结 果

2.1 $^1\text{O}_2$ 相对产额的比较

在空气饱和及光照条件下, 实验样品 $30\mu\text{mol/L}$ HB 和 50mmol/L TEMPONE 给出很强的 TAN ESR 信号, 其 a_N (16.02G), g (2.00539) 与商品 TAN 的 a_N (16.03G), g (2.00536) 一致, 而无光照或无光敏剂条件下则检测不到新产生的 TAN 信号, 说明光照 HB 有 $^1\text{O}_2$ 产生。在 5-Br-HB 及 5,8-diBr-HB 样品中也给出同样信号, 说明 HB 溴代物也能产生 $^1\text{O}_2$ 。而且, 如图 2 所示, TAN 信号随光照时间延长不断增大。由于 TAN 的 ESR 信号强度与其浓

度基本成正比, 因此以一定时间(5min)的 TAN 信号强度作为光敏剂的 $^1\text{O}_2$ 相对产额。如以 HB 为 1.0, 则 5-Br-HB 及 5,8-diBr-HB 的 $^1\text{O}_2$ 相对产额分别为 1.02 和 1.19。以上结果说明单溴代并未提高 HB $^1\text{O}_2$ 产额, 而二溴代使 HB $^1\text{O}_2$ 产额提高近 20%, 但并不象预期的那样显著。这与姜颖等的结果一致^[8], 而同 Diwu 等的结果有差别^[9]。

2.2 负离子自由基相对产额的比较

HB 在激发态可以与基态 HB 发生电子传递形成 HB 负离子自由基($\text{HB}^{\cdot-}$)^[4], 后者可与 TAN 消自旋, 使 TAN ESR 信号减小。在除氧密闭环境中, 通过监测 TAN 信号的衰减幅度间接测量光敏剂负离子基的产额。

如图 3 所示, HB 及其溴代物光照条件下都可与 TAN 消自旋, 且 HB 的消自旋速率显著高于 5-Br-HB 和 5,8-diBr-HB。若用一定时间(20min)内 TAN(0.1mmol/L) 信号被消减的百分率来表征 HB(1mmol/L)、5-Br-HB(1mmol/L) 和 5,8-diBr-HB(1mmol/L) 产生负离子自由基的能力, 则实验结果分别为 19%、11% 和 13%。百分率越大, 说明产生负离子的能力越强, 因此 HB 溴代物产生负离子自由基的能力不如 HB。

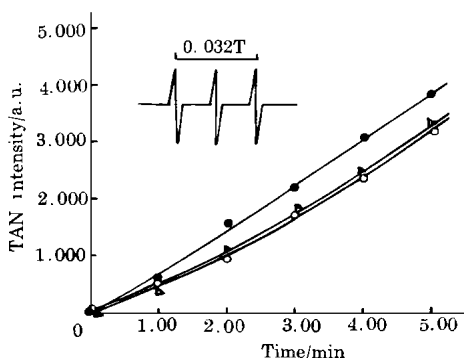
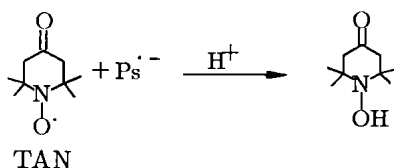
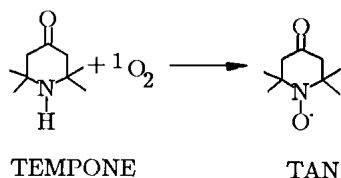


Fig.2 TAN ESR signal intensity as a function of irradiation time (•) 5,8-diBr-HB(30 μmol/L) (Δ) 5-Br-HB(30 μmol/L) (°) HB(30 μmol/L) and TEMPONE(50 μmol/L) Inset: a typical

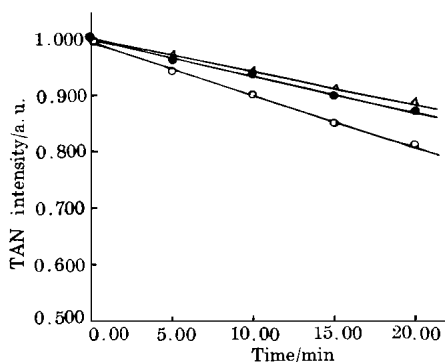


Fig.3 TAN ESR signal intensity as a function of irradiation time (Δ) 5-Br-HB(1 mmol/L) (•) 5,8-diBr-HB(1 mmol/L) (°) HB(1 mmol/L) and TAN(0.1 mmol/L)

2.3 $O_2^{\cdot -}$ 相对产额的比较

$HB^{\cdot -}$ 与 O_2 发生电子传递或激发态 HB 直接与 O_2 发生电子传递都可形成 $O_2^{\cdot -}$ [4] 实验用 DMPO 捕捉可测到较强的 $[DMPO - OOH]^{\cdot}$ 信号, 其 ESR 参数 ($a_N = 1.29 mT$, $a_H^{\beta} = 1 mT$, $a_H^{\gamma} = 0.125 mT$, $g = 2.0057$) 与标准一致 [13], 证明确实有 $O_2^{\cdot -}$ 产生, 用一定时间 (3.5 min) 内 $[DMPO - OOH]^{\cdot}$ 的信号强度来表征三种光敏剂产生 $O_2^{\cdot -}$ 的能力。

由图 4 可以看出 5-Br-HB (0.1 mmol/L) 和 5,8-diBr-HB (0.1 mmol/L) 产生 $O_2^{\cdot -}$ 的能力不如 HB (0.1 mmol/L)。这说明溴代并未提高 HB 与 O_2 发生电子传递的能力。

3 讨 论

溴代提高了 HB 激发后与 O_2 发生能量转移产生 $^1O_2$ 的能力, 说明溴的重原子效应仍能使 HB 的三重态浓度有一定程度的增加, 但并不显著。原因是: (1) 从理论上讲,

对系间窜跃量子效率已较高的物质, 重原子效应不会再使其有较大提高。HB 的 $S_1 \rightarrow T_1$ 系间窜跃量子效率为 0.76 [3], 已属很高, 因此溴代并不能显著提高其量子效率。(2) 溴的重原子效应不但增加 HB $S_1 \rightarrow T_1$ 态的系间窜跃量子效率, 而且增加 $T_1 \rightarrow S_0$ 的系间窜跃量子效率, 前一因素使 T_1 态浓度增加, 有利于提高 $^1O_2$ 产率 (因为 $^1O_2$ 是在 T_1 态产生的), 后一因素使 T_1 态浓度降低, 不利于提高 $^1O_2$ 产率, 因此总的结果是溴代并不能使 HB 的 $^1O_2$ 产率有显著提高。同时可看出, 溴代降低了 HB 经电子传递产生负离子自由基和 $O_2^{\cdot -}$ 的能力, 推测其原因是: 溴代使 HB 的分子轨道能级发生变化, 提高其氧化电位, 以至降低了 HB 的电子转移能力。考虑到竹红菌素倾向于定位在细胞膜中进行光敏损伤, 将进一步在模拟生物体系的非均相环境中继续研究溴代对 HB 光敏活性的影响。

致谢 中国科学院感光化学研究所安静仪教授在合成 HB 溴代物方面给予大力协助, 在此致以诚挚谢意

参 考 文 献

- 1 Diwu Z et al. Photochem Photobiol, 1990, 52(3):609
- 2 Wang N et al. J Photochem Photobiol, B Biol, 1992, 14:207
- 3 Diwu Z et al. J Photochem Photobiol, A Chem, 1992, 64:273
- 4 Zhang Z et al. Free Radical Biol Med, 1993, 14(1):1
- 5 王家璧等. 中国医学科学院学报, 1985, 7(5):349
- 6 梁睿媛等. 中华皮肤科杂志, 1982, 15:88

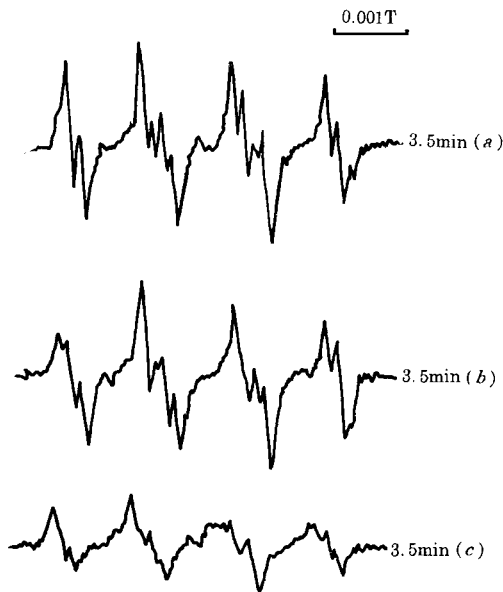


Fig. 4 ESR spectrum of $O_2^{\cdot -}$ trapped by DMPO
(a) HB (0.1 mmol/L) (b) 5-Br-HB (0.1 mmol/L)
(c) 5,8-diBr-HB (0.1 mmol/L) and DMPO
(80 mmol/L)

- 7 Hudson J B et al. Photochem Photobiol, 1994, 60(3):253
8 姜颖等. 科学通报, 1993, 38:797
9 Diwu Z et al. J Photochem Photobiol, A Chem, 1992, 66:99
10 赵开弘等. 有机化学, 1989, 9:252
11 Lion Y et al. Nature, 1976, 263:442
12 Moan J et al. Acta Chemica Scandinavica B, 1980, 34:519
13 Harbour J R et al. J Phys Chem, 1978, 82:1397

INFLUENCE OF BROMINATION ON ACTIVITY OF PHOTOSENSITIZATION OF HYPOCRELLIN B

Zhang Hongyu Zhang Zhiyi Wan Qian Wang Dahui
(*Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*)

ABSTRACT In this paper, ESR techniques of spin trapping and spin counteraction were used to determine the relative yields of $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\cdot-}$ and anion radical produced during photosensitization of hypocrellin B (HB) and its brominated products (5-Br-HB and 5,8-di-Br-HB). It was found that monobromination did not increase the yield of $^1\text{O}_2$ of HB and dibromination enhanced the yield of $^1\text{O}_2$ about 20%, but decreased its ability of generating $\text{O}_2^{\cdot-}$ and anion radical through electron transfer at same time.

KEYWORDS Hypocrellin B, Brominated HB, Photosensitization, ESR, Spin trapping, Spin counteraction