

# 稀土离子对超氧阴离子自由基生成的抑制作用<sup>1)</sup>

庞 欣 王东红 彭 安

(中国科学院生态环境研究中心, 环境水化学国家重点实验室, 北京, 100085)

## 摘 要

利用肾上腺素在碱性条件下自氧化产生超氧阴离子自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 的性质, 研究了稀土硝酸盐对生成  $O_2^{\cdot-}$  的抑制作用. 稀土硝酸盐与超氧化物歧化酶 (SOD) 具有相似的性质, 对肾上腺素自氧化生成的  $O_2^{\cdot-}$  有明显的抑制作用. 抑制率在 16.3%—78.4% 之间, 而且体系中稀土硝酸盐的浓度与其对  $O_2^{\cdot-}$  的抑制率之间有明显的剂量效应关系.

**关键词:** 稀土硝酸盐, 超氧阴离子自由基, 抑制作用.

80 年代以来, 稀土作为微量元素肥料已被广泛应用于农业生产<sup>[1]</sup>. 并有大量的研究工作认为: 稀土对提高作物产量, 改善作物品质都起到了积极的作用<sup>[2]</sup>. 近年来, 又有报道认为, 稀土元素对提高植物的抗氧化酶活性以及降低脂质过氧化产物丙二醛的含量有十分重要的作用<sup>[3, 4]</sup>. 也有部分报道认为, 稀土硝酸盐可以抑制超氧阴离子自由基的生成<sup>[5, 6]</sup>. 那么, 搞清稀土元素对清除植物和动物体内的超氧阴离子自由基的作用, 将直接证明稀土元素对植物和动物的保护及刺激作用. 从而明确稀土元素对提高作物产量, 改善作物品质的机理; 并有希望将稀土化合物开发为清除超氧阴离子自由基的药物. 王春霞等人<sup>[5]</sup>运用脉冲辐解法生成超氧阴离子自由基的研究中, 已观察到稀土硝酸盐具有清除超氧阴离子自由基的作用.

本研究利用肾上腺素在碱性条件下自氧化生成超氧阴离子自由基的性质, 来验证并比较稀土元素与超氧化物歧化酶 (SOD) 在纯化学条件下, 对生成超氧阴离子自由基的抑制作用. 肾上腺素在 pH 较高的条件下 (pH 9.3), 可发生链式蔓延反应生成超氧阴离子自由基, 并受 SOD 的抑制<sup>[7]</sup>. 这虽然与生物体内的生化反应尚有很大的差别, 但可从另一侧面对该问题进行探讨.

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

U-3010 型分光光度计, 日本 HITACHI 公司.

1) 国家自然科学基金资助重大项目, 批准号 29890280-1.

肾上腺素: Fluka 公司; SOD: Sigma 公司; 稀土硝酸盐溶液: 用 pH 9.3 的  $\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$  缓冲溶液配制成浓度分别为  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3$  溶液. 以上所有试剂均为优级纯.

### 1.2 稀土硝酸盐及 SOD 对氧自由基清除作用的测定

将  $0.1\text{ml } 60\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  的肾上腺素溶液加入到  $2.9\text{ml}$  含有不同浓度稀土硝酸盐的  $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$  (pH 9.3) 缓冲溶液中, 立即在 U-3010 紫外分光光度计上测定  $480\text{nm}$  下吸光度随时间的变化.

### 1.3 稀土硝酸盐对生成超氧阴离子自由基的效率

$$\eta\% = (A_0 - A_R) \times 100\% / A_0$$

式中,  $A_R$  为不同浓度稀土硝酸盐存在下, 一定反应时间时反应体系的吸光度,  $A_0$  为肾上腺素存在时的吸光度.

## 2 结果和讨论

### 2.1 超氧阴离子自由基的生成

在碱性条件下, 肾上腺素可自氧化而引发链式蔓延反应, 产生超氧阴离子自由基. 当肾上腺素的浓度较大时, 肾上腺素红于  $480\text{nm}$  处的特征吸收增加量和超氧阴离子自由基的产生率有较高的相关性. 本研究利用这一特性对稀土元素清除自由基的作用进行研究, 从图 1 可以看出, 随反应时间的延长, 反应体系的吸光度值逐渐增大, 表明反应体系中肾上腺素红的浓度逐渐增大, 也同时表明生成的  $\text{O}_2^{\cdot-}$  逐渐增多. 由于该反应体系属于瞬时反应, 体系在反应  $5\text{min}$  后逐渐趋于平缓,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  的量不再增加, 因此, 下述实验选择的反应时间均在  $5\text{min}$  之内.

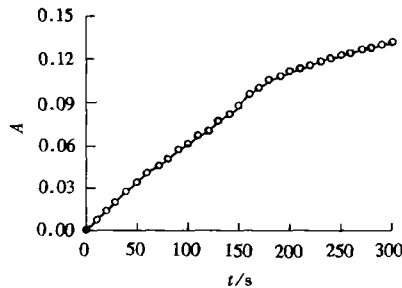
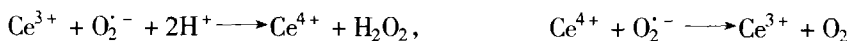


图 1 碱性条件下肾上腺素的自氧化曲线

Fig. 1 Adrenalin oxidation itself in alkaline solution

### 2.2 稀土硝酸盐对生成 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的抑制作用

将不同的稀土硝酸盐 (同一浓度) 加入反应体系时, 均能明显地抑制  $\text{O}_2^{\cdot-}$  的生成. 当浓度为  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  时, 以  $\text{Ce}^{3+}$  为例, 反应  $1\text{min}$  后, 对  $\text{O}_2^{\cdot-}$  生成的抑制率为  $59.5\%$ .  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  对肾上腺素自氧化生成超氧阴离子自由基的抑制作用明显强于  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  (抑制率为  $21.4\%$ ), 这与  $\text{Ce}^{3+}$  的氧化还原反应有关<sup>[6]</sup>. 王金胜等人的研究结果认为<sup>[5]</sup>, 铈离子是催化  $\text{O}_2^{\cdot-}$  歧化反应的催化剂, 极少的量可以清除大量的  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , 从而产生较大的生物效应:



但为何在反应  $1\text{min}$  时,  $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3$  (抑制率为  $48.2\%$ ) 与  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  对肾上腺素自氧

化生成的超氧阴离子有如此相似的作用, 还有待进一步的研究.

为进一步确定稀土化合物对生成  $O_2^-$  的抑制作用, 在相同条件下, 研究了不同浓度的  $Ce(NO_3)_3$  对生成  $O_2^-$  的抑制率. 表 1 表明, 随着  $Ce^{3+}$ ,  $La^{3+}$  浓度的增大, 它们对生成  $O_2^-$  的抑制率也逐渐增大, 表现出了比较明显的剂量效应关系, 并且  $Ce^{3+}$  的作用显著高于  $La^{3+}$ . 这与王春霞<sup>[6]</sup>等人的研究取得了一致的结果. 由于稀土硝酸盐在碱性条件下容易发生沉淀反应, 因此, 在该反应体系中稀土硝酸盐的浓度不能过高. 当稀土硝酸盐的浓度大于  $10^{-4} mol \cdot l^{-1}$  时, 是否还可增强对生成超氧阴离子自由基的抑制作用, 还有待利用其它 pH 较低的反应体系进行研究. 但  $Nd^{3+}$  对生成  $O_2^-$  的抑制作用却未能表现出这种关系, 原因尚不清楚.

表 1 不同浓度的  $Ce(NO_3)_3$ ,  $La(NO_3)_3$  和  $Nd(NO_3)_3$  对肾上腺素产生  $O_2^-$  (反应 1min 时) 的抑制率

Table 1 The inhibition rate of  $O_2^-$  by different condition of  $Ce(NO_3)_3$ ,  $La(NO_3)_3$  and  $Nd(NO_3)_3$

浓度/ $mol \cdot l^{-1}$	抑制率/%		
	$Ce(NO_3)_3$	$La(NO_3)_3$	$Nd(NO_3)_3$
$10^{-6}$	33.7	16.3	50.7
$10^{-5}$	59.5	21.4	48.7
$10^{-4}$	78.4	32.8	52.9

### 2.3 稀土离子与 SOD 对生成 $O_2^-$ 抑制作用的比较

从图 2 可看出,  $Ce(NO_3)_3$  ( $10^{-4} mol \cdot l^{-1}$ ) 和 SOD ( $46 ng \cdot ml^{-1}$ ) 从起始阶段就可使反应体系的吸光度下降. 在反应 1min 时, 体系中加入  $10^{-4} mol \cdot l^{-1}$  的  $Ce(NO_3)_3$ , 其吸光值是对照的 21.6%, 比 SOD 对生成超氧阴离子自由基的抑制作用还明显. 因此, 可以说  $Ce(NO_3)_3$  和 SOD 有相似的作用, 都可使肾上腺素自氧化产生的  $O_2^-$  浓度降低. 但在反应的后期, SOD 对  $O_2^-$  的抑制作用可以稳定地维持在 50% 左右, 而加入  $Ce(NO_3)_3$  的体系, 在反应 180s 后, 其作用逐渐弱于 SOD, 至反应 300s 时, 其抑制率仅有 17.6%. 说明  $Ce(NO_3)_3$  虽然有清除  $O_2^-$  的能力, 但反应效果不如 SOD 稳定, 属于瞬时反应.

程驿等人<sup>[9]</sup>通过模拟实验和动物细胞实验也发现, 稀土元素具有清除  $O_2^-$  的作用. 并提出稀土元素之所以能清除  $O_2^-$ , 是稀土离子与过氧化物-自由基发生加合物的相互作用, 其中还包括键合作用、电子转移和磁偶极-偶极相互作用等. 至于稀土元素为什么在植物和动物体内具有清除  $O_2^-$  的作用, 还有待进一步的研究.

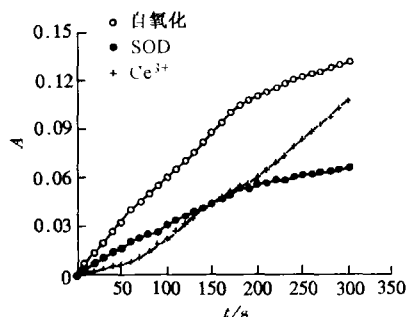


图 2  $Ce(NO_3)_3$  和 SOD 对肾上腺素自氧化反应的抑制作用

Fig. 2 The inhibition effect of  $Ce(NO_3)_3$  and SOD on adrenalin oxidation itself

### 3 结论

三种稀土硝酸盐均可清除肾上腺素自氧化体系产生的活性氧。当浓度在  $10^{-6}$ — $10^{-4} \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  时, 反应 1min, 其抑制率在 16.3%—78.4% 之间。Ce<sup>3+</sup> 对生成超氧阴离子自由基的清除效率高于 La<sup>3+</sup> 和 Nd<sup>3+</sup>。实验还表明: 稀土硝酸盐在体系中的浓度与其对肾上腺素自氧化生成 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的抑制率有明显的剂量效应关系。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] 倪嘉缙主编, 稀土生物无机化学. 北京: 科学出版社, 1995, pp18—38
- [ 2 ] 王宪泽, 农用稀土的效果、影响因素及其作用的生理基础. 稀土, 1994, 15 (1) :47—49
- [ 3 ] 严重玲, 洪业汤, 林鹏等, 酸雨胁迫下稀土元素对菠菜膜保护系统作用. 生态学报, 1999, 19 (4): 543—545
- [ 4 ] 周青, 黄晓华, 屠昆岗等, La 对 Cd 伤害大豆幼苗的生态生理作用. 中国环境科学, 1998, 18 (5) :442—445
- [ 5 ] 王金胜, 郭春城, 程玉香, 铈离子清除超氧化物自由基的机理. 中国稀土学报, 1997, 15 (2) :152—154
- [ 6 ] 王春霞, 刘亚力, 李凤梅等, 稀土硝酸盐对生成超氧阴离子自由基的抑制作用. 中国稀土学报, 2000, 18 (3) :286—288
- [ 7 ] 方允中, 超氧化物歧化酶的测定与纯化. 自由基与酶——基础理论及其在生物学和医学这中的应用. 方允中, 李文杰主编, 北京: 科学出版社, 1989, pp96—109
- [ 8 ] 杨春林, 博士学位论文, 中国科学院生态环境研究中心, 1987
- [ 9 ] 程驿, 具有潜在药用意义的稀土离子生物效应的研究. 博士后研究工作报告, 北京大学医学部, 2000

2000 年 12 月 18 日收到.

## INHIBITION EFFECTS OF RARE EARTH NITRATES ON SOPEROXIDE ANION RADICAL

*Pang Xin      Wang Donghong      Peng An*

(State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry,

Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085)

#### ABSTRACT

The inhibition effect of rare earth nitrates on the production of O<sub>2</sub><sup>-</sup> by adrenalin oxidation itself was studied. The results indict that rare earth nitrates have the same characters as SOD. They can obviously inhibit the production of O<sub>2</sub><sup>-</sup>. The inhibition rate is between 16.3%—78.4%. The inhibition effect increases with the increase of rare earth nitrates concentration. The distinguish dose-effect relationship was observed in the experiment.

**Keywords:** rare earth nitrate, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, inhibition effects.