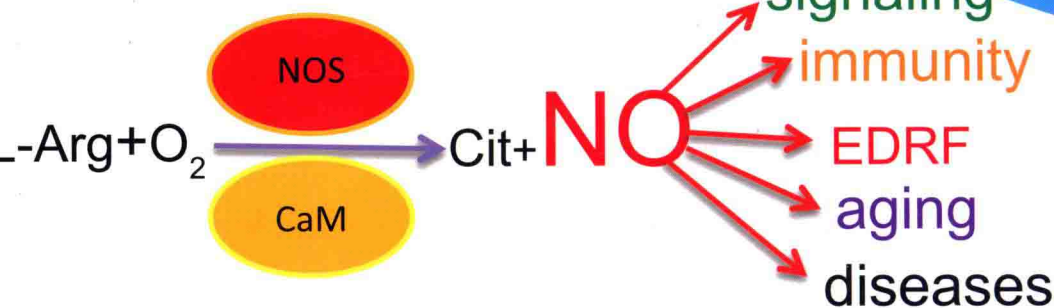
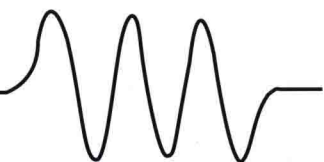
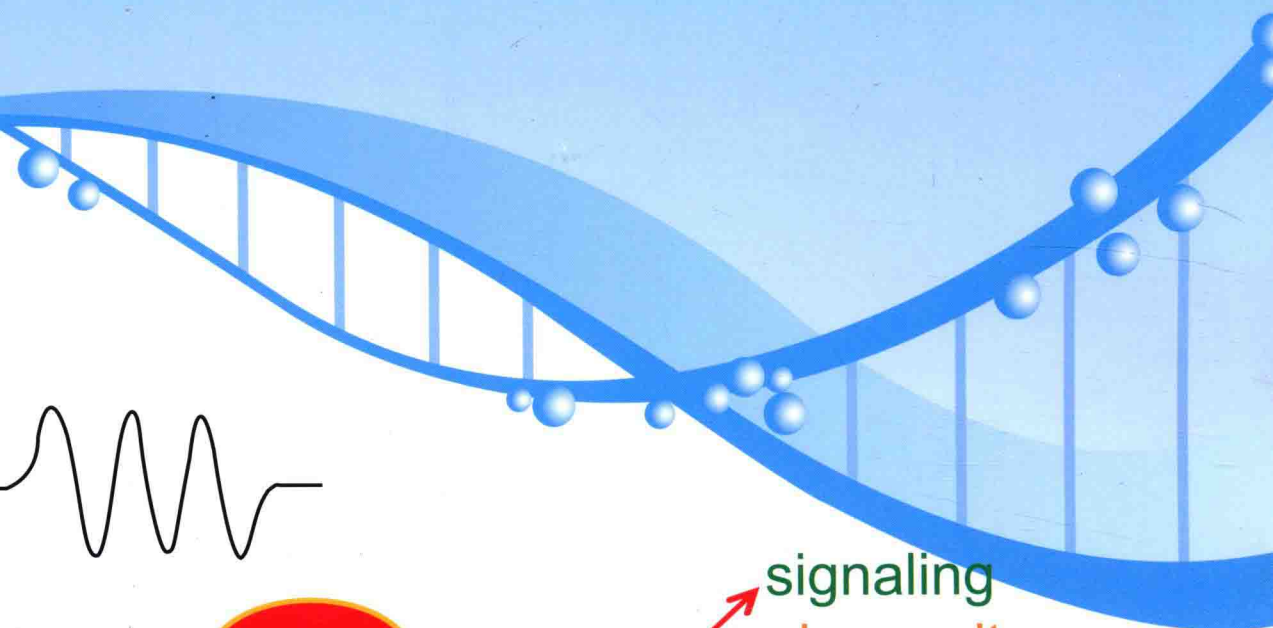




Nitric Oxide Free Radicals  
Biology and Medicine

# 一氧化氮自由基 生物学和医学

赵保路 著



# 一氧化氮自由基生物学和医学

## Nitric Oxide Free Radicals Biology and Medicine

赵保路 著

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

这是一本关于一氧化氮自由基生物学和医学的专著,着重从自由基的角度论述了一氧化氮的性质和特点,系统地阐述和介绍了一氧化氮自由基的一些基本理论和概念及最新研究结果。内容包括一氧化氮自由基的物理化学性质、一氧化氮自由基的产生和一氧化氮自由基的检测技术、一氧化氮自由基作为内皮细胞松弛因子、神经信号传导的逆信使和细胞免疫杀伤武器等重要生物功能、一氧化氮自由基在蛋白质亚硝基化和硝基化作用机理和生物功能、一氧化氮自由基在植物抗感病反应中的作用机理、一氧化氮和一些重大疾病如心脏病、神经退行性疾病、阿尔茨海默症,帕金森症、脑卒中和高血压等疾病的关系进行了探讨。介绍一氧化氮自由基在衰老和抗衰老中的作用及天然抗氧化剂在抗衰老方面的作用、一氧化氮自由基在临床治疗和健康食品中的应用现状和存在的问题。

本书可供自由基、生物、化学和医学专业的广大科研工作者及有关专业的大专院校的师生阅读和参考,也可以为从事自由基和抗氧化剂开发和应用的研究人员、技术人员学习和参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

一氧化氮自由基生物学和医学 / 赵保路著. —北京: 科学出版社, 2016.3  
ISBN 978-7-03-047323-3

I. ①一… II. ①赵… III. ①游离基-生物学 ②游离基-医学  
IV. ①Q5-05

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 026750 号

责任编辑: 李 悦 赵小琳 / 责任校对: 赵桂芬

责任印制: 徐晓晨 / 封面设计: 北京铭轩堂广告设计公司

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京教图印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016 年 3 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2016 年 3 月第一次印刷 印张: 25 1/2

字数: 600 000

定价: 148.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

## 作者简介

赵保路 中国科学院生物物理研究所研究员、博士生导师，河北师范大学兼职教授。1970年毕业于中国科学技术大学，1981年毕业于中国科学院研究生院，获硕士学位。长期从事自由基生物学和医学研究，完成多个国家科学基金项目，在国内外核心杂志发表 300 多篇研究论文，出版 6 部专著。曾在美国俄亥俄州立大学和加利福尼亚大学伯克利分校、英国食品研究所和中国香港大学从事研究工作。曾任中国科学院生物物理研究所副所长、亚洲自由基研究学会主席、中国生物物理学会自由基生物学和医学专业委员会主任、中国衰老和抗衰老委员会副主任、中国物理学会波谱学专业委员会理事、世界中医药学会联合会亚健康专业委员会理事、北京烟草学会常务理事，曾为 *Journal of Applied Sciences* (《应用科学杂志》)、*Biofactor* (《生物因子》)、*Journal of Biochemistry and Nutrition* (《临床生物化学和营养学杂志》)、《生物物理学报》、《波谱学杂志》、《中国烟草学报》编委。



## 前 言

这是一本关于一氧化氮自由基生物学和医学的专著，系统地阐述了一氧化氮自由基的性质和特点，总结一氧化氮自由基的一些基本理论、概念及研究结果。内容分一氧化氮自由基生物学和医学两篇，生物学篇主要介绍了一氧化氮的检测技术和一氧化氮的生物学功能；医学篇主要介绍一氧化氮与健康和一些重大疾病（如心脏病、神经退行性疾病、脑卒中等）及衰老的关系，以及临床和健康产品的应用概括。

作者 1987 年从美国回来就开始了—氧化氮自由基研究。先后完成多个与—氧化氮自由基相关的国家自然科学基金项目，建立了多种检测—氧化氮自由基的新方法和技术，探讨和研究了一氧化氮与一些重大疾病如炎症、心脏病、神经退行性疾病（脑卒中、AD、PD）的关系，最近几年又研究了一氧化氮与衰老、血脂、血糖和血压等代谢疾病的关系。取得了一系列结果，发表了许多文章，参加了一系列国际会议。在研究中建立的新方法、发现一些新现象、得到的新结果，根据这些新发现提出了一些新思想。这些研究结果是本书的主要组成部分，占全书内容的 85% 以上，以供广大从事自由基、生物、化学和医学专业的科研同行及从事自由基和抗氧化剂开发的技术人员和有关大学的师生参考。

2008 年作者曾出版《—氧化氮自由基》一书，受到读者欢迎，书店和出版社都早已卖光，很多读者、大学和企业打电话要求购买。此外，近年—氧化氮自由基研究进展很大，截至目前，已有超过 13 万篇论文在国际期刊发表。特别是一氧化氮对蛋白质的亚硝基化和硝基化研究、天然抗氧化剂对—氧化氮的调节作用及其对心脑血管健康和疾病的预防和治疗作用研究等都取得了非常引人关注的进展。*Cell* 2013 年发表了一篇《—氧化氮延缓线虫寿命》的研究报道，这是关于—氧化氮对衰老的作用，是最新研究发现。还有一氧化氮在临床和健康产品的应用也取得很大进展，引人注目。本书对《—氧化氮自由基》一书进行了全面修改，删除了陈旧的内容和文献，增加了大量新内容和新文献，本书也可以说是《—氧化氮自由基》的再版，但增加了五章全新的内容，因此，定名为《—氧化氮自由基生物学和医学》。

感谢科学出版社的鼓励和支持，使本书得以出版，感谢国家自然科学基金委对我们多年来的支持，使我们的科研工作得以顺利进行，并获得一些有意义的结果。感谢诺贝尔奖获得者、美国科学院院士 Ferid Murad 教授和刘耕陶院士多年来对我们工作的支持并为《—氧化氮自由基》一书写的序言，感谢忻文娟教授的支持。感谢中国科学院生物物理研究所陈畅教授、华中科技大学高中红教授和上海中医药大学卞卡教授分别以文字的形式提供的关于“—氧化氮介导的蛋白质巯基亚硝基化修饰”、“蛋白质酪氨酸硝基化”、“—氧化氮自由基和高血压”的最新研究进展；感谢北京科技大学张学纪教授提供了“生物传感器测量检测—氧化氮技术”最新资料和文献，香港大学沈剑刚教授提供了“脑缺血再灌注损伤修复过程活性氮是血脑屏障（BBB）完整性的精确靶位置”最新资料和文

献；感谢解放军总医院田亚平教授对“一氧化氮在临床的应用近况”的讨论和修改；感谢保健品协会和上海诺鼎生物科技公司张标博士参与我在2014年于北京召开的“一氧化氮自由基与心脑血管健康和疾病”研讨会并提供了关于“一氧化氮健康产品现状”的资料和对本书出版的支持；感谢中国科学院大学陆忠兵教授、中国科学院化学研究所刘杨教授、河北师范大学常彦忠教授、清华大学高军涛教授、中国科技大学刘强教授、厦门大学张杰教授和哈尔滨工业大学赵燕教授参与我在2014年于北京召开的“一氧化氮自由基与心脑血管健康和疾病”研讨会并提供关于“一氧化氮和天然抗氧化剂协同防护心脑血管健康和疾病”的最新研究成果；感谢我的研究生和博士后刻苦钻研，辛勤工作，出色完成了各项研究项目，取得可喜成果，成为本书的主要素材。他们是：沈剑刚博士、李海涛博士、魏涛涛博士、周广印博士、聂广军博士、张德良博士、张月亭博士、焦鸿丽博士、刘强博士、郭树红博士、谢渝湘博士、张杰博士、陆忠兵博士、曾海燕博士、张龙泽博士、石振华博士、徐超博士、底晓静博士、颜景奇博士、武兆飞博士、万丽博士、罗云峰博士、曹远林博士后、徐仰仓博士后、郭萍博士后。感谢陶毅和张俊静实习研究员，为我们实验室做了大量管理和技术工作，使科研得以顺利进行，为本书的出版做出了贡献。感谢张春爱副教授为本书提出很多宝贵建议和修改意见。

由于本人水平有限及篇幅所限，本书肯定存在不当之处，敬请广大读者提出宝贵意见。

赵保路

中国科学院生物物理研究所研究员

2015年12月15日

# 目 录

## 前言

### 第一篇 一氧化氮自由基生物学

1 一氧化氮自由基	3
1.1 一氧化氮自由基与诺贝尔和诺贝尔奖	3
1.2 一氧化氮自由基的性质	4
1.3 一氧化氮的产生和代谢	10
1.4 一氧化氮合酶	12
1.5 一氧化氮合酶序列的系统发育树	22
1.6 黄嘌呤氧化酶催化产生一氧化氮	22
1.7 光动力疗法产生的一氧化氮	25
参考文献	33
2 一氧化氮自由基的检测	38
2.1 ESR 自旋捕捉技术检测一氧化氮自由基	38
2.2 乙酸乙酯抽提法 ESR 检测一氧化氮自由基	44
2.3 一氧化氮自由基和活性氧自由基的同时检测	50
2.4 利用化学发光法检测一氧化氮自由基	52
2.5 其他方法测量一氧化氮自由基	55
2.6 ESR 成像技术测定一氧化氮自由基在组织内的空间分布	60
参考文献	64
3 一氧化氮自由基和神经信号转导	67
3.1 一氧化氮自由基在神经发育中的细胞信号转导作用	67
3.2 脑发育早期一氧化氮自由基对神经元发育的作用	69
3.3 一氧化氮自由基在金黄地鼠视皮层生后发育中的作用	72
3.4 一氧化氮自由基在学习和记忆中的作用	79
参考文献	85
4 一氧化氮介导的蛋白质巯基亚硝基化和酪氨酸硝基化修饰	89
4.1 蛋白质巯基亚硝基化修饰的概念	89
4.2 蛋白质巯基亚硝基化修饰的特点及检测方法	89
4.3 蛋白质巯基亚硝基化对蛋白质功能的调控	92
4.4 蛋白质巯基亚硝基化修饰在生理病理过程中的作用	94
4.5 蛋白质酪氨酸硝基化	96

参考文献 ..... 101

5 天然抗氧化剂对一氧化氮自由基的调节和保护作用 ..... 106

    5.1 一氧化氮自由基是一柄双刃剑 ..... 106

    5.2 天然抗氧化剂在心肌缺血再灌注体系中对一氧化氮自由基的调节作用 ..... 107

    5.3 天然抗氧化剂山楂黄酮对缺血再灌注脑组织产生一氧化氮自由基的促进作用和对缺血再灌注脑组织损伤的保护作用 ..... 110

    5.4 天然抗氧化剂 L-茶氨酸促进内皮细胞产生一氧化氮自由基 ..... 114

    5.5 抗氧化剂维生素 E 和维生素 C 对一氧化氮生物利用度的促进作用 ..... 118

    5.6 食用天然抗氧化剂可可多酚促进高血压患者血浆一氧化氮自由基产生增加和血压下降 ..... 119

    5.7 天然抗氧化剂与一氧化氮自由基协同保护和促进心脑血管的健康 ..... 121

    5.8 天然抗氧化剂与一氧化氮协同作用对心脑血管健康的意义和应用前景 ..... 134

    参考文献 ..... 135

6 一氧化氮自由基和细胞免疫反应 ..... 139

    6.1 巨噬细胞产生一氧化氮自由基 ..... 139

    6.2 淋巴细胞产生一氧化氮自由基与免疫 ..... 145

    6.3 一氧化氮自由基在免疫反应中的作用机制 ..... 148

    6.4 一氧化氮自由基和细胞因子 ..... 151

    6.5 天然抗氧化剂对炎症及其产生一氧化氮的影响 ..... 154

    参考文献 ..... 158

7 植物抗感病反应过程产生的一氧化氮自由基 ..... 161

    7.1 植物体内产生的一氧化氮自由基及其功能 ..... 161

    7.2 植物产生一氧化氮自由基的检测 ..... 168

    7.3 一氧化氮自由基在小麦条锈病抗感过程中的作用机制 ..... 170

    7.4 一氧化氮自由基在干旱胁迫下的产生和作用 ..... 181

    7.5 亚硝酸还原酶是高等植物一氧化氮自由基的重要来源 ..... 184

    7.6 一氧化氮自由基在植物分化和退分化中的作用 ..... 188

    7.7 植物中一氧化氮合酶的争论 ..... 191

    参考文献 ..... 193

第二篇 一氧化氮自由基医学

8 一氧化氮自由基和心脏病 ..... 201

    8.1 离体心脏缺血再灌注产生的一氧化氮自由基 ..... 201

    8.2 银杏黄酮对离体心肌缺血再灌注产生的一氧化氮自由基的清除作用 ..... 206

    8.3 知母宁抗离体心肌缺血再灌注损伤的一氧化氮自由基和氧自由基机制 ..... 209

    8.4 在体大鼠缺血再灌注心脏产生的一氧化氮自由基 ..... 212

    8.5 银杏黄酮对在体缺血再灌注心肌产生的一氧化氮自由基的调节作用 ..... 216



8.6	知母宁对在体大鼠缺血再灌注心肌产生的一氧化氮自由基的调节作用	219
8.7	缺血再灌注诱导心肌细胞凋亡的一氧化氮自由基信号通路	221
8.8	银杏黄酮和知母宁对一氧化氮自由基调节细胞凋亡的信号通路	226
8.9	一氧化氮与缺氧诱导因子(HIF-1)	229
	参考文献	231
9	一氧化氮自由基和神经退行性疾病	234
9.1	一氧化氮保护神经细胞	234
9.2	一氧化氮介导的神经毒性和细胞凋亡	235
9.3	一氧化氮诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡及茶多酚的影响	243
9.4	一氧化氮和阿尔茨海默病(AD)及尼古丁对 AD 的预防和治疗作用	248
9.5	一氧化氮与帕金森症	252
9.6	6-OHDA 通过一氧化氮-过氧亚硝基通路诱导细胞凋亡及茶多酚的保护作用	256
9.7	6-OHDA 通过一氧化氮-过氧亚硝基诱导大鼠帕金森症及茶多酚的保护作用	259
9.8	一氧化氮在铁失衡诱导神经退行性疾病中的作用	264
	参考文献	272
10	一氧化氮自由基与脑卒中	276
10.1	一氧化氮自由基与脑卒中	276
10.2	在脑缺血再灌注损伤修复过程中 RNS 是血脑屏障(BBB)完整性的精确靶位置	281
10.3	一氧化氮自由基在沙鼠脑缺血再灌注损伤的调节作用机制及山楂黄酮的保护作用	287
	参考文献	294
11	一氧化氮自由基与高血压	297
11.1	内皮细胞	297
11.2	一氧化氮自由基与内皮细胞松弛因子	302
11.3	一氧化氮自由基与血管扩张	303
11.4	一氧化氮自由基病理学:炎症和高血压	305
11.5	高血压的预防和治疗	308
	参考文献	309
12	一氧化氮自由基与衰老	313
12.1	衰老的自由基理论	313
12.2	一氧化氮合酶(NOS)在衰老中的作用	320
12.3	一氧化氮通过活性氮(RNS)硝基化蛋白质诱导衰老	321
12.4	一氧化氮抗衰老	322
12.5	天然抗氧化剂与一氧化氮协同作用对延缓衰老的意义和应用前景	326
12.6	从整体观念看待健康和长寿	336
	参考文献	337

<b>13 一氧化氮自由基在临床应用中的进展</b> .....	342
13.1 一氧化氮自由基在病理条件下的双重作用 .....	342
13.2 硝酸甘油治疗高血压、心绞痛 .....	343
13.3 一氧化氮对患肺动脉高压患者的治疗作用 .....	344
13.4 一氧化氮治疗新生儿原初肺动脉高血压 .....	346
13.5 一氧化氮对缺血性脑卒中的治疗 .....	346
13.6 吸入一氧化氮对患急性呼吸窘迫综合征的二期临床试验 .....	347
13.7 吸入一氧化氮对患急性肺损伤二期临床试验 .....	349
13.8 利用一氧化氮诊断哮喘病 .....	350
13.9 吸入一氧化氮对支气管扩张的治疗作用 .....	352
13.10 一氧化氮对败血症的治疗作用 .....	353
13.11 一氧化氮对患慢性伸肌无力症双盲临床试验 .....	353
13.12 一氧化氮对动脉粥样硬化的治疗作用 .....	354
13.13 西地那非治疗阳痿 .....	355
13.14 一氧化氮自由基在临床运用的问题和前景 .....	357
参考文献 .....	357
<b>14 一氧化氮自由基在健康产品应用概括</b> .....	360
14.1 健康产品的应用概括 .....	360
14.2 一氧化氮健康产品应用概括 .....	365
14.3 体内一氧化氮产生与年龄的关系 .....	371
14.4 一氧化氮健康产品的成分分析 .....	373
14.5 一氧化氮健康产品的功能 .....	376
14.6 饮食和运动与一氧化氮 .....	381
14.7 一氧化氮自由基健康产品存在的风险和问题 .....	383
14.8 一氧化氮自由基健康产品应用前景和展望 .....	385
参考文献 .....	386
<b>附录一</b> .....	390
<b>附录二</b> .....	391

# 第一篇 一氧化氮自由基生物学



# 1 一氧化氮自由基

## 1.1 一氧化氮自由基与诺贝尔和诺贝尔奖

1864年，诺贝尔发现极易挥发、爆炸性极强的硝酸甘油经硅藻土吸附后稳定性大大增加，并根据这一发现成功研制出了安全炸药。安全炸药的工业化生产给诺贝尔带来了巨大的荣誉和财富，使他得以创立世界科学界的最高奖项——诺贝尔奖。诺贝尔晚年患有严重心脏病，医生建议他服用硝酸甘油，但被诺贝尔拒绝了，因为早在研制炸药过程中，诺贝尔就发现吸入过量硝酸甘油蒸汽会引起剧烈血管性头疼。1896年，诺贝尔因心脏病发作逝世。如果他当时听从医生的话，及时服用硝酸甘油，也许可以活更长时间，为人类创造更多财富。

硝酸甘油可以有效降低血压，缓解心绞痛，它见效快，通过口腔黏膜吸收后几分钟内就可扩张冠状动脉，改善心脏供血，因此在100多年后的今天，硝酸甘油仍然是心脏病患者的常备药物。但是，它的作用机制却一致困扰了医学家和药理学家百余年。直到近年才通过3个获得诺贝尔生理学或医学奖的工作得以解释。那是因为硝酸甘油释放的一氧化氮(NO)可以松弛血管，增加心脏血液供应。

1998年，3位美国科学家因为研究NO而获得诺贝尔生理学或医学奖。他们是纽约州立大学的Robert Furchgott教授、加利福尼亚大学(简称加州大学)洛杉矶分校的Louis Ignarro教授和弗吉尼亚大学的Ferid Murad教授(图1-1)。早在20世纪70年代，Murad教授及其合作者就系统地研究了硝酸甘油及其他具有扩张血管活性的有机硝基化合物的药理作用，发现这些化合物都能使组织内环鸟苷酸(cGMP)、环腺苷酸(cAMP)等第二信使的浓度升高。这类化合物有一个共同性质，即可以在体内代谢生成一氧化氮。1977年，Murad教授等发现硝酸甘油等必须代谢为NO才能发挥扩张血管的作用，由此他认为NO可能是一种对血流具有调节作用的信使分子，但当时这一推测还缺乏实验证据。与此同时，纽约州立大学的Robert Furchgott教授在研究乙酰胆碱等物质对血管的影响时发现，在相近的条件下，同一种物质有时使血管扩张，有时对血管没有作用，有时甚至使血管收缩。他们经过深入研究，在1980年发现乙酰胆碱对血管的作用与血管内皮细胞是否完整有关，即乙酰胆碱只能使完整的内皮细胞血管扩张。由此他们推测内皮细胞在乙酰胆碱作用下产生了信号分子，这种信号分子作用于平滑肌细胞并使其舒张，从而扩张血管。Robert Furchgott教授称之为内皮细胞松弛因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)<sup>[1]</sup>。这篇论文在学术界引起了广泛关注。长期从事硝基化合物药理治疗和EDRF研究的Louis Ignarro教授与Furchgott教授合作，针对EDRF的药理作用和化学本质进行了一系列研究，发现EDRF与NO及许多亚硝基化合物一样能够激活可溶性鸟苷酸环化酶，增加组织中的cGMP水平。在此基础上，他们于1986年大胆推测，EDRF是NO或与NO密切相关的某种化合物<sup>[2]</sup>。这篇摘要立即在药理学界引起轰动。随后英国科学家

Salvador Moncada 等于 1987 年通过实验证明 EDRF 就是 NO<sup>[3]</sup>。Ignarro 也报道了同样结果<sup>[4]</sup>。此后，大量研究都证明了这一结论。

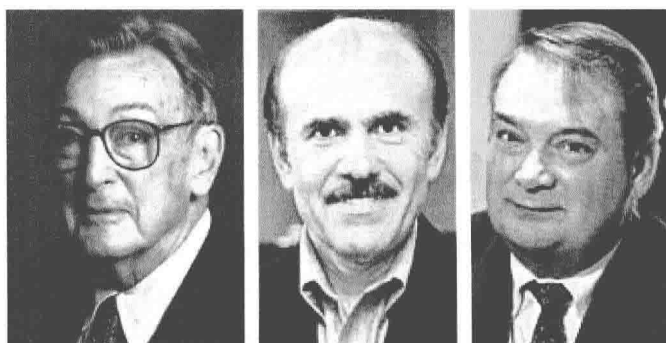


图 1-1 3 位研究 NO 自由基的诺贝尔生理学或医学奖获得者  
从左到右依次为 Robert Furchgott、Louis Ignarro、Ferid Murad

当 1998 年宣布 3 位美国科学家因为研究 NO 而获得诺贝尔生理学或医学奖时，在学术界，特别是在英国引起了轩然大波。*Nature* 专门发表了一篇题为《诺贝尔奖激起的关于 NO 的争论》文章，文中写道“没有人怀疑美国这 3 位科学家在研究 NO 作为心血管系统信号分子所作出的开创性的工作应当受到奖赏，但是很多人认为第四个人，就是伦敦大学生物医学院的 Moncada 也应当被授予诺贝尔奖”。因此可见 Moncada 在研究 NO 方面的贡献确实不小。

有趣的是，诺贝尔生理学或医学奖获得者 Murad 教授在中国上海中医药大学成立了上海高校 NO 及炎症医学 E-研究院 Murad 中药现代研究中心，作者有幸成为其中的一员。2006 年 11 月 10 日我们在上海中医药大学进行了学术交流，并在一起合影留念(图 1-2)。2007 年他为我的《一氧化氮自由基》专著出版发行作序。2008 年 10 月作者在北京负责组织召开了第 14 届国际自由基大会，Murad 教授应邀参加并作大会报告。2012 年 10 月在上海老年协会召开的健康报告会上作者与 Murad 教授一同被邀请作科普报告。



图 1-2 作者与 Murad 教授一起合影留念的部分照片

## 1.2 一氧化氮自由基的性质

NO 自由基被美国《科学》杂志选为 1992 年的明星分子，一时名声大震，关于 NO 的

文章像雪崩一样在世界各个有名的杂志上争相发表出来。归纳起来,有以下几方面的内容: NO 是内皮细胞松弛因子,能够松弛血管平滑肌,防止血小板凝聚,是神经传导的逆信使,在学习和记忆过程中发挥着重要作用;巨噬细胞等在吞噬和刺激时活化释放 NO 自由基作为杀伤外来入侵微生物和肿瘤细胞的毒性分子; NO 作为自由基可以损伤正常细胞,在心肌和脑组织缺血再灌注损伤过程中起着重要作用。作者自 1987 年以来也开展了对 NO 自由基的研究工作,取得一些进展。本节就 NO 自由基的物理化学性质作一个简单讨论<sup>[5]</sup>。

### 1.2.1 一氧化氮自由基的电子组态<sup>[6]</sup>

NO 是最小的几个分子之一。在 NO 分子中, N 原子外层有 5 个电子, O 原子外层有 6 个电子,形成共价键后, N 原子和 O 原子单轨道 2S 上和三重轨道 2P 上的各 3 个电子形成 8 个分子轨道,其中 4 个键合轨道 $[\sigma_{2s}, \pi_{2p}(2), \sigma_{2p}]$ 和 4 个反键轨道 $[\sigma_{2s}^*, \pi_{2p}^*(2), \sigma_{2p}^*]$ ,在这 8 个分子轨道上的电子组态如图 1-3 所示。在分子反键轨道 $\pi_{2p}^*$ 上含有一个未成对电子,因此它是一个典型的自由基。但由于 NO 的自旋和轨道角动量耦合非常紧密,用电子顺磁共振(ESR)检测不到 NO 自由基的信号。NO 的键级为 2.5,键长为 1.14Å。

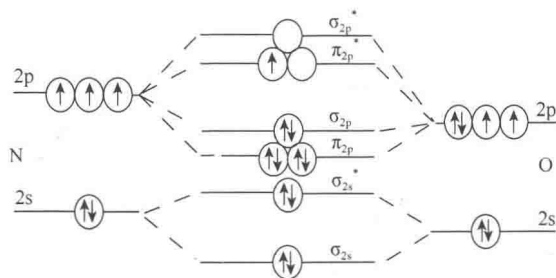


图 1-3 基态 NO 分子轨道电子组态示意图

### 1.2.2 水溶液中一氧化氮的状态

NO 是无色气体,与  $N_2$ 、 $O_2$ 、CO 相比,它在水中溶解度比较低,在 25°C 和一个大气压条件下,它在水中的溶解度大约为  $1.7 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 。在细胞环境中,NO 的浓度为  $0.45 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ,半衰期为 1~500s。但在有氧的条件下大大降低,估计在活组织中为 5~15s。

不像  $N_2O_3$ 、 $NO_2$ 、 $N_2O_5$ , 它与水不起化学反应。这一点对它的生理功能非常重要,保证它自由地在细胞之间的水溶液中穿越。在 37°C、水溶液的扩散系数为  $4.8 \times 10^5 \text{ cm}^2/\text{s}$  时,这一值与其他双原子气体分子类似。NO 作用的发挥取决于它扩散及影响周围细胞功能的能力。NO 在体内扩散的范围取决于它的产生速度、扩散常数、半衰期及其化学反应性等因素之间的平衡。在这些物理-化学条件约束下,NO 在体内产生后可扩散几百微米。在 0.5mm 的空间范围内,NO 的作用与产生 NO 的细胞量紧密相关而与这些细胞在此空间范围内的分布无关。在脑组织中,单个细胞产生的 NO 不仅可作为逆行信使而且可以通过扩散影响一定范围内数百万个突触<sup>[7]</sup>。

但是 NO 很容易与水溶液中的氧气发生复杂反应,因此要保证 NO 在水溶液中不发生反应就必须将水溶液中的氧气全部清除干净。NO 在水溶液中和一般底物不太容易反

应，除了胱氨酸和谷氨酸外，NO 同一般氨基酸及胞嘧啶反应性不大(表 1-1)。

表 1-1 NO 同一些底物在水溶液中的反应速率常数

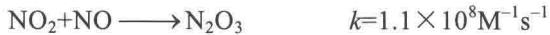
底物	速率常数/(M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
铁氰化物	5×10 <sup>2</sup>
胱氨酸	5×10 <sup>3</sup>
谷胱甘肽	10 <sup>4</sup>
酪氨酸	25
赖氨酸	<5
胞嘧啶	<0.005

### 1.2.3 一氧化氮的化学性质

NO 既可以得到一个电子被氧化，也可以失去一个电子被还原



NO 所含的氧很难分解出来，因此它不助燃。但在高温时，它就有氧化作用，如磷、镁等在其中能燃烧。在常温时，它与氧化剂能发生反应，如高锰酸、次氯酸等可把它氧化为硝酸。NO 不稳定，半衰期短，与氧气极易反应，生成 NO<sub>2</sub> 自由基。



NO 有很小的亲正电荷性(0.0024eV)，因此 NO 可以还原成 NO<sup>-</sup>，在生理条件通过质子化和二聚化然后脱水很快转化为 N<sub>2</sub>O。现在发现这一反应在体内可以被 NO 还原酶催化实现，这个酶实际上就是以前称之为细胞色素 P450 的蛋白质，它可以利用一个 NADH 使 NO 一电子还原。NO 不仅可以被还原生成 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>2-</sup>，还可以被五电子还原生成 NH<sub>3</sub>。NO 的氧化还原反应及其产物可以归纳为图 1-4。

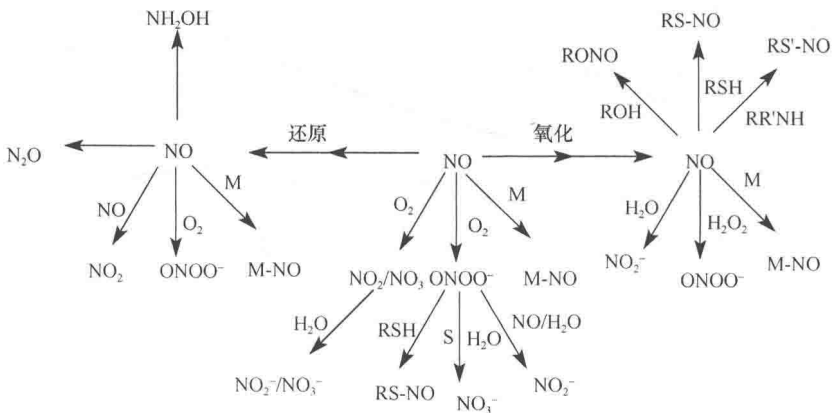


图 1-4 NO 在生物体系可能发生的氧化还原反应及其产物



### 1.2.4 一氧化氮与自由基的反应

NO 还可以与超氧阴离子自由基以极快的速率反应生成过氧亚硝基, 质子化后生成  $\text{NO}_2$  和类羟基自由基。多形核白细胞在吞噬过程中同时释放 NO 和超氧阴离子自由基, 在心肌缺血再灌注损伤时也是同时释放 NO 和超氧阴离子自由基, 这样, 在很多生理和病理过程就在体内产生大量过氧亚硝基。过氧亚硝基在碱性条件相当稳定,  $\text{pK}_a=7.40(37^\circ\text{C})$ , 在 302nm 有一个明显吸收峰, 半衰期为 1.9s。在略高于生理 pH 时, 它可以从生成位置扩散到较远的距离。一旦周围的 pH 略低于正常生理值时(病理条件往往如此), 立即产生氧化性和细胞毒性非常强的类羟基和  $\text{NO}_2$  自由基, 这对于免疫杀伤外来入侵微生物和肿瘤细胞具有重要意义, 同时也可能对正常细胞产生损伤。

NO 也很容易同其他氧自由基反应, 且反应非常迅速(表 1-2)。

表 1-2 NO 同氧自由基反应的速率常数

反应体系	速率常数/( $\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$\text{NO} + \text{O}_2^- \longrightarrow \text{ONOO}^-$	$k=5\times 10^9$
$\text{NO} + \text{NO}_2 \longrightarrow \text{N}_2\text{O}_3$	$k=2\times 10^9$
$\text{NO} + \cdot\text{OH} \longrightarrow \text{HNO}_2$	$k=1\times 10^{10}$
$\text{NO} + \text{ROO}\cdot \longrightarrow \text{ROONO}$	$k=1\times 10^9$

### 1.2.5 一氧化氮与过渡金属离子的结合

NO 与过渡金属反应是 NO 发挥生物活性的重要方式。NO 与过渡金属离子结合和离解的速率差别导致其与金属蛋白亲和程度的不同。NO 同含铁蛋白的结合是 CO 的 100 倍, 而且结合非常紧密(表 1-3)。NO 与氧合血红蛋白反应导致 NO 的氧化和产生亚硝酸盐, 这代表了含氮化合物在血液中代谢的主要途径。NO 与血红蛋白和肌红蛋白结合后在不同吸收带的消光系数如表 1-4 所示。

表 1-3 NO 和含铁蛋白结合速率常数

反应体系	速率常数/( $\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$\text{NO} + \text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5\text{NO}^{2+}$	$k=6.2\times 10^5$
$\text{NO} + \text{Fe}^{2+}(\text{TPPS}) \longrightarrow \text{Fe}^{2+}(\text{TPPS})\text{NO}$	$k=1.8\times 10^9$
$\text{NO} + \text{Fe}^{3+}(\text{TPPS}) \longrightarrow \text{Fe}^{3+}(\text{TPPS})\text{NO}$	$k=7.2\times 10^5$
$\text{NO} + \text{Mb}^{\text{II}} \longrightarrow \text{Mb}^{\text{II}}\text{NO}$	$k=1.7\times 10^7$
$\text{NO} + \text{Mb}^{\text{III}} \longrightarrow \text{Mb}^{\text{III}}\text{NO}$	$k=1.9\times 10^5$
$\text{NO} + \text{Hb}^{\text{II}} \longrightarrow \text{Hb}^{\text{II}}\text{NO}$	$k=2.57\times 10^7$
$\text{NO} + \text{Cyt}^{\text{III}} \longrightarrow \text{Cyt}^{\text{III}}\text{NO}$	$k=7.2\times 10^2$
$\text{NO} + \text{Cat}^{\text{III}} \longrightarrow \text{Cat}^{\text{III}}\text{NO}$	$k=3.0\times 10^7$