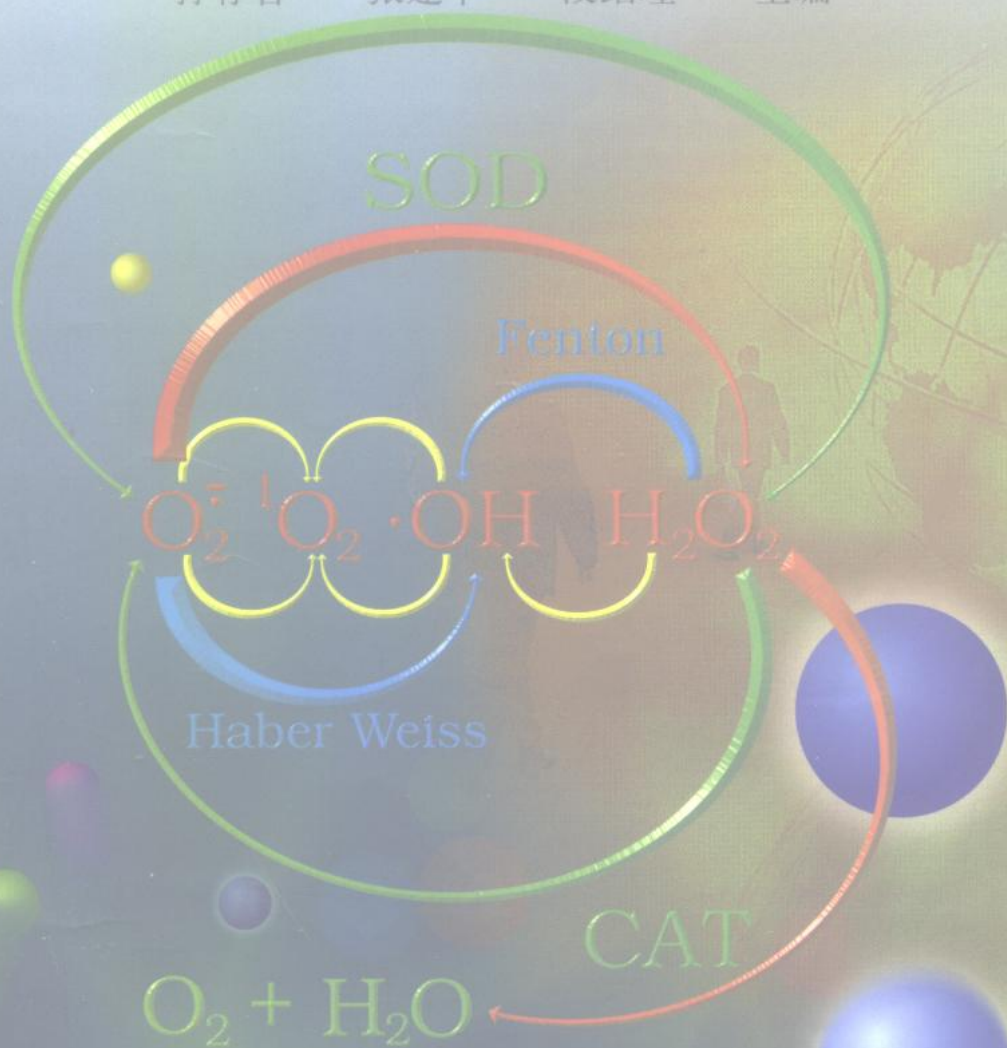


自由基生物学导论

孙存普 张建中 段绍瑾 主编



中国科学技术大学出版社

内容提要

“自由基生物学导论”是运用自由基的理论和研究方法讲述自由基、活性氧在诸多生命现象中的重要作用以及与人类生活环境和健康的密切关系。全书共 15 章。第 1 章，绪论；第 2 至第 5 章介绍自由基、活性氧、脂质过氧化以及抗氧化酶的基础知识；第 6 章讲述 NO 在机体内的作用；第 7 章，机体代谢中的自由基；第 8 章，细胞凋亡与自由基；第 9 章，植物学中的氧自由基；第 10 至 14 章讲述自由基与环境、衰老和各种伤病的关系；第 15 章介绍自由基清除剂和抗氧化剂，讨论对自由基异常的生命现象人们所采取的干预措施。本书适合作为有关专业的研究生和大学教材，亦可供生物学、医学等专业的教师、研究人员和医务工作者阅读。

图书在版编目 (CIP) 数据

自由基生物学导论 / 孙存普等编著. - 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999.4
ISBN 7-312-01079-2

- I. 自…
- II. 孙…
- III. 游离基 - 生物学 - 概论
- IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 00248 号

中国科学技术大学出版社出版发行
(安徽省合肥市金寨路 96 号 邮编 230026)
中国科学技术大学印刷厂印刷
全国新华书店经销

开本: 787×1092/16 印张: 18.75 字数: 466 千字
1999 年 4 月第 1 版 1999 年 4 月第 1 次印刷
印数: 1—3000 册 定价: 24.00 元

前 言

自由基生物学是研究生物体内自由基产生与清除、利用与危害等反应规律及其调控作用的一门属于亚分子生物学范畴的新兴学科。近十余年来,人们逐步揭示了自由基、活性氧以及活性氮在许多生命现象中的重要作用。人们进一步运用自由基的基础理论和研究方法,在生物学、医学、药学以及农林学等众多生命科学领域中回答了许多未解之谜,取得了显著的科学成就。这使得自由基生物学广泛地渗透到生物物理学、生物化学、分子生物学、细胞生物学、毒理学、免疫学、卫生学、临床医学、预防医学以及军事医学等多种学科中;并且涉及到衰老、癌变、心脑血管病变、放射损伤、创伤、烧伤、炎症、糖尿病、中毒等近百余种人类疾病与机体损伤的病理过程;同时也惊奇地发现自由基在多种生理过程中的重要作用。例如,被美国“Science”杂志评为1992年明星分子的一氧化氮(NO)自由基,居然是多种生理功能的信使分子。研究NO生理功能的先驱美国药理学家菲希戈特、穆拉德和伊格纳罗三人同时获得1998年诺贝尔医学奖。自由基生物学的发展有几个突出的阶段,SOD的发现,是自由基生物学诞生的里程碑;抗氧化剂的广泛深入研究,使自由基生物学成为医药学和食品营养学的理论基础和重要分支;NO生理功能的发现,开拓了生物医学界一个全新的领域——“气体类”信使分子的研究。我们相信,随着科学技术的发展,自由基生物学将为人类生命科学展现出更有科学意义的前景。

本书编写的基础是我国第一部正式的研究生教材,即1990年有关专家在中国科学技术大学研究生院(北京)化学部为研究生开设的自由基生物学课程,1991年编写了较完整的教材,授课50学时。根据8年的教学经验,对原教材进行了认真的修改和补充,形成这本共十五章的专著。第一章绪论,概括叙述“自由基生物学”的诞生背景和发展现状。第二章至第五章介绍学习本课程所必备的化学和生物学知识,包括自由基、活性氧的基本性质,脂质过氧化有关的化学历程以及抗氧化酶的性质、分子结构与催化功能。第六章介绍一氧化氮在机体内的作用。第七章讲述机体代谢中的自由基,生物体内自由基的产生、清除、利用和危害,讨论生物体内自由基的生成、反应和调控的规律。第八章讲述最近的研究结果,细胞凋亡及其与自由基的关系。第九章是自由基植物学。第十章至第十四章讲述自由基与环境、衰老和伤病的关系,包括环境与自由基,放射生物学与自由基,肿瘤与自由基,衰老与自由基以及自由基与其它伤病。第十五章是自由基清除剂与抗氧化剂,讨论人们对自由基异常的生命现象所采取的调控或干预措施。各章分别由授课教师执笔撰写,最后由孙存普和张建中汇总、编辑。由于我们的水平有限,难免有错误和不当之处,恳请读者批评指正。

编写过程中承蒙研究生院化学部主任胡照林教授的支持和帮助,宋延杆同志曾为本书出版过程中的文字处理、图表绘制等技术工作付出了辛勤劳动,在此一并致谢。

编 者

1998年12月于北京

略语表

A 腺嘌呤	ELAM-1 内皮细胞粘附因子-1
AA 花生四烯酸	eNOS 固有型 (III 型)NO 合酶
Ach 乙酰胆碱	EPA 廿碳五烯酸
ADP 腺苷二磷酸	EPR 电子顺磁共振
AIDS 艾滋病	EQ 乙氧奎
AMP 腺苷一(单)磷酸	FAD 黄素腺嘌呤二核苷酸
Arg 精氨酸	FMN 黄素单核苷酸
Asp 天冬氨酸	FP(fp) 黄素蛋白
ATP 腺苷三磷酸	G 鸟嘌呤 葡萄糖 G 值 高斯
BHA 叔丁基对甲氧酚	GABA γ -氨基丁酸
BHT 二叔丁基对甲酚	Gal 半乳酸
BSA 牛血清蛋白	GAS 谷胱甘肽合成酶
BSP 海藻硫酸多糖	GAPDH 磷酸甘油醛脱氢酶
C 胞嘧啶	GC 鸟苷酸环化酶
cAMP 环腺苷一(单)磷酸	GLC 气液色谱
CAT 过氧化氢酶	Gly 甘氨酸
cGMP 环鸟苷一磷酸	G6PD 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
cNOS 固有型 (I 型)NO 合酶	GSH 谷胱甘肽
Chl 叶绿素	GSH-R 谷胱甘肽还原酶
CuDIPS Cu^{2+} -3,5- 二异丙基水杨酸酯	GSH-Px 谷胱甘肽过氧化物酶
Cys 半胱氨酸	GSSG 氧化型谷胱甘肽
Cyt 细胞色素	GST(Non-Se-GSH-Px) 谷胱甘肽转硫酶
DABCO 1,4- 二氮杂二环 [2,2,2] 辛烷	GTP 鸟苷三磷酸
DDC 二乙基二硫代氨基甲酸盐 (钠)	Hb 血红蛋白
DG 甘油二酯	HETE 羟基廿碳四烯酸
DHA 廿二碳六烯酸	His 组氨酸
DMPO 5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide	HIV 艾滋病毒
DMSO 二甲基亚砷	HO 血红素加氧酶
DNA 脱氧核糖核酸	5-HPETE 5- 氢过氧廿碳四烯酸
DTPA 二乙三胺五乙酸	HPLC 高压液相色谱
DTT 二硫苏糖醇	5-HT 5- 羟色胺
EDTA 乙二胺四乙酸	Hyp 羟脯氨酸
EDRF 内皮细胞松弛因子	IHP 肌醇六磷酸

IL-1 白细胞介素 -1
 INF 干扰素
 iNOS 诱导型 (II 型)NO 合酶
 L·(R·) 脂质自由基 (烷基自由基)
 L-Arg L-精氨酸
 L-Citr L-瓜氨酸
 LDL 低密度脂蛋白
 LET 线性能量传递
 IgG 免疫球蛋白 G
 LH 脂质
 LO·(RO·) 脂质氧化物自由基 (烷氧自由基)
 LOO·(ROO·) 脂质过氧自由基 (烷过氧自由基)
 LOOH(ROOH) 脂质氢过氧化物
 LPO 脂质过氧化物
 LPS 脂多糖
 LT 白三烯
 LTP 长时程效应
 Ly 赖氨酸
 Lym 淋巴细胞
 MAO 单胺氧化酶
 Mb 肌红蛋白
 MDA 丙二醛
 Me 甲基
 MFO 混合功能氧化酶
 MPO 髓过氧化物酶
 mRNA 信使 RNA
 MT 金属硫蛋白
 M ϕ 巨噬细胞
 NAD⁺ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (氧化型)
 NADH 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (还原型)
 NADP⁺ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (氧化型)
 NADPH 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (还原型)
 NANC 非胆碱能
 NBT²⁺(NBT) 氮兰四唑
 NEM 乙基马来酰胺
 NMDA N- 甲基 -D- 天冬氨酸
 Non-Se-GSH-Px(GST) 谷胱甘肽转硫酶
 NOS 一氧化氮合酶
 ODC 鸟氨酸脱羧酶
 OXPHOS 线粒体氧化磷酸化
 PAF 血小板激活因子
 PBN α - 苯 - 叔丁基硝酮
 PC 磷脂酰胆碱
 PCD 程序性死亡
 PE 磷脂酰乙醇胺
 PG 没食子酸丙酯 前列腺素
 PGI₂ 前列腺环素
 PI 磷脂酰肌醇
 PKC 蛋白激酶 C
 PLC 磷脂酶 C
 PMA 佛波醇肉豆蔻酸酯
 PMN 多形核白细胞
 Pro 脯氨酸
 Pro-heme 蛋白 - 血红素
 PS 磷脂酰丝氨酸
 PSI 光系统 I
 PSII 光系统 II
 Q 泛醌 醌类
 Q₁₀ 泛醌 10
 R· 自由基 (通称) 烷类自由基
 RCR 呼吸控制比率
 RH 氢给予体
 RNS 生物活性氮, 活性氮介质
 RNA 核糖核酸
 RNR 核糖核苷酸还原酶
 RO· 烷氧自由基
 ROH 有机氢氧化物
 ROO· (烷) 过氧自由基
 ROOH (烷) 氢过氧化物
 ROS 活性氧
 SDS 十二烷基磺酸钠
 SOD 超氧化物歧化酶
 T 胸腺嘧啶
 TBA 硫代巴比妥酸
 TEMPO 2,2,6,6- 四甲基哌啶 -1- 氧
 TNB(t-NB) 特丁基亚硝基
 TNF 肿瘤坏死因子
 TPA(PMA) 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate
 t-RNA 转移 RNA
 UDP 尿核苷二磷酸
 VC(Vc) 维生素 C
 VD3 维生素 D3
 VE(Ve) 维生素 E
 VLDL 非常低密度脂蛋白
 X.d 黄嘌呤
 X.o 黄嘌呤氧化酶

目 次

前言	(i)
略语表	(iii)
第一章 绪论	(1)
§1-1 自由基生物学的诞生	(1)
§1-2 自由基在生物体内的作用	(2)
§1-3 自由基生物学的研究内容	(4)
§1-4 我国自由基生物学的发展	(4)
参考文献	(5)
第二章 自由基和自由基反应	(6)
§2-1 自由基的物理和化学特性	(6)
§2-2 自由基的产生	(7)
§2-3 自由基反应	(9)
§2-4 自由基链反应的特点	(14)
§2-5 生物体系中自由基的基本类型	(15)
参考文献	(17)
第三章 活性氧	(18)
§3-1 生命和氧	(18)
§3-2 活性氧的电子结构	(21)
§3-3 超氧阴离子自由基 O_2^-	(22)
§3-4 羟基自由基 $\dot{O}H$	(28)
§3-5 单线态氧 1O_2	(37)
§3-6 过氧化氢 H_2O_2	(42)
§3-7 臭氧和氮的氧化物	(44)
参考文献	(47)
第四章 脂质过氧化	(48)
§4-1 脂质过氧化的含义	(48)
§4-2 脂质过氧化化学	(48)
§4-3 脂质过氧化水平的分析方法	(58)
参考文献	(65)
第五章 抗氧化酶	(66)
§5-1 超氧化物歧化酶	(66)
§5-2 过氧化氢酶	(81)
§5-3 谷胱甘肽过氧化物酶	(85)
§5-4 谷胱甘肽转硫酶	(90)
参考文献	(92)

第六章	一氧化氮自由基 (NO[·])	(94)
§ 6-1	引言	(94)
§ 6-2	NO 生物活性的发现及其理化性质	(95)
§ 6-3	NO 的合成、代谢和体内分布	(97)
§ 6-4	NO 的生物作用机制	(99)
§ 6-5	NO 的生物信使功能	(100)
§ 6-6	细胞毒性因子——NO	(105)
§ 6-7	生物组织内一氧化氮的研究方法	(108)
§ 6-8	结束语	(110)
	参考文献	(111)
第七章	机体代谢中的自由基	(112)
§ 7-1	血液中的自由基	(112)
§ 7-2	花生四烯酸和前列腺素代谢过程中的自由基	(124)
§ 7-3	线粒体	(128)
§ 7-4	微粒体的酶系统在代谢过程中产生的自由基	(131)
§ 7-5	自由基和胶原蛋白	(137)
§ 7-6	氧化应激态	(141)
	参考文献	(146)
第八章	细胞凋亡和自由基	(149)
§ 8-1	细胞凋亡的概念	(149)
§ 8-2	细胞凋亡和氧化应激	(150)
§ 8-3	一氧化氮自由基和细胞凋亡	(157)
§ 8-4	细胞凋亡与细胞内 ATP 水平	(157)
	参考文献	(158)
第九章	植物学中的氧自由基	(160)
§ 9-1	植物体内氧自由基的产生与转化	(160)
§ 9-2	氧自由基与植物的化学发光	(165)
§ 9-3	氧自由基对植物生长和细胞结构的伤害	(167)
§ 9-4	氧自由基对植物生命物质的损伤作用	(170)
§ 9-5	植物体内氧自由基的清除作用	(172)
§ 9-6	植物学中几个分支学科对氧自由基的研究和应用	(175)
	参考文献	(178)
第十章	环境与自由基	(180)
§ 10-1	吸烟毒性和自由基	(180)
§ 10-2	除草剂对动植物的毒害	(184)
§ 10-3	卤代烃的毒性和自由基	(186)
§ 10-4	其它空气污染和自由基	(188)
§ 10-5	金属毒性和自由基	(189)
§ 10-6	某些药物的毒副作用和自由基	(190)
	参考文献	(192)
第十一章	自由基与放射生物学	(194)
§ 11-1	放射生物效应的原发反应——机体外源性自由基的产生	(194)
§ 11-2	放射生物效应的继发反应——机体内源性自由基的失衡	(200)
§ 11-3	靶生物分子的放射自由基反应——关键生物分子的辐射化学改变	(202)

§ 11-4	对射线诱发生物自由基的调控与化学修饰	(206)
§ 11-5	研究放射生物自由基的主要方法	(209)
	参考文献	(210)
第十二章	自由基与肿瘤	(211)
§ 12-1	自由基与化学致癌	(212)
§ 12-2	自由基致、促癌机理的探讨	(224)
§ 12-3	肿瘤的抗氧化酶系统改变	(229)
§ 12-4	肿瘤发生、发展与自由基变化	(230)
§ 12-5	自由基与抗肿瘤药物	(231)
	参考文献	(233)
第十三章	与氧自由基有关的其它疾病	(236)
§ 13-1	心肌缺血再灌注损伤和氧自由基	(236)
§ 13-2	自由基与脑损伤	(240)
§ 13-3	炎症和氧自由基	(243)
§ 13-4	氧自由基和肺损伤	(246)
§ 13-5	氧自由基对眼组织的损伤	(247)
§ 13-6	其它疾病和氧自由基	(249)
	参考文献	(253)
第十四章	自由基与衰老	(256)
§ 14-1	Harman 衰老自由基理论的确立	(254)
§ 14-2	衰老的自由基学说现状	(264)
	参考文献	(273)
第十五章	抗氧化剂	(275)
§ 15-1	概述	(275)
§ 15-2	抗氧化剂及其分类	(276)
§ 15-3	几种重要的体内抗氧化剂	(277)
§ 15-4	抗氧化剂研究的进展	(283)
	参考文献	(288)

第一章 绪 论

自由基作为一类化学实体在本世纪初就已被人们所认识。生物体系中自由基的存在, 50年代才得到确认, 这是与电子顺磁共振(EPR)波谱技术的发展联系在一起的, 但是自由基反应在生命过程中的重要意义当时并不清楚。随着分析方法特别是近代生物物理检测技术的发展, 许多生命现象的自由基机制逐步被揭示, 1个具有生命力和广阔前景的新兴学科——自由基生物学正在形成。自由基生物学是以现代自由基的理论、观点和方法研究自由基在生物和人体的产生、反应及其与各种生命现象的关系的科学。应当说自由基生物学是一门比自由基化学更为复杂, 内容更加丰富的交叉学科, 它涉及物理、化学、生物、医学等多种学科领域, 是1个更能激励人们去探索、去开拓、前途无量的科学领域。

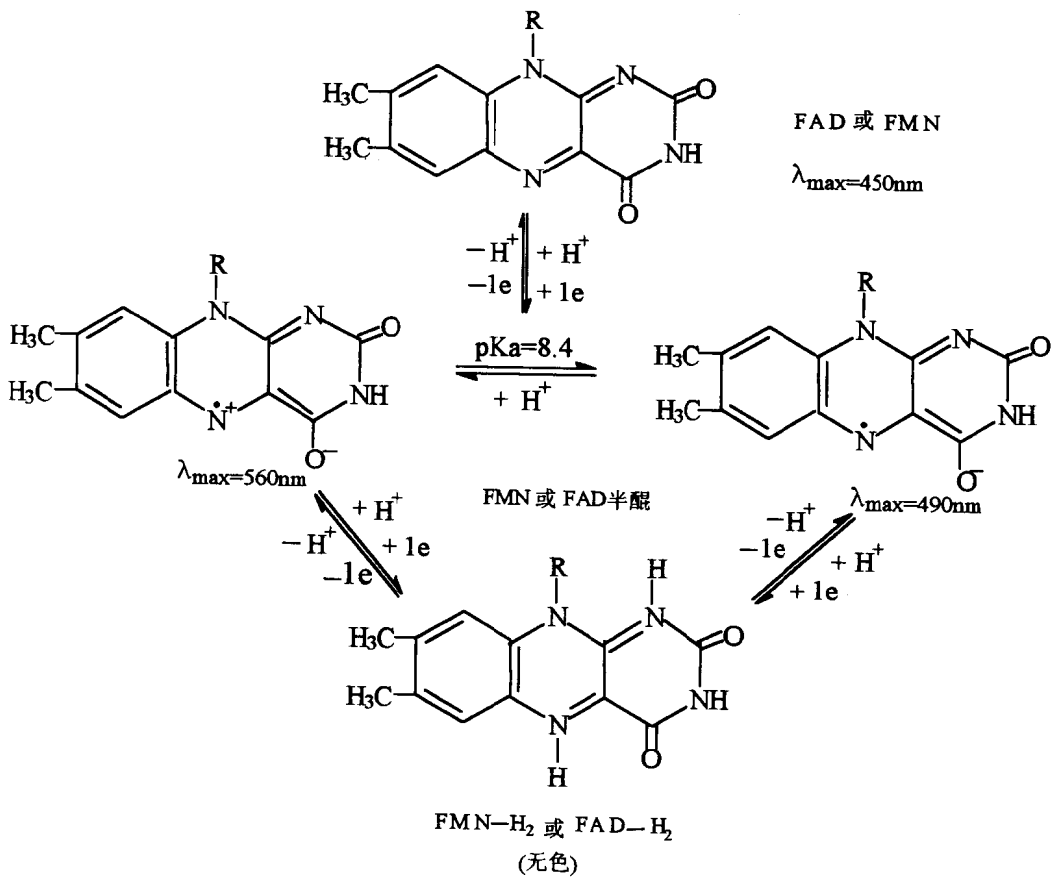
§1-1 自由基生物学的诞生

自由基系含有未成对电子的原子、原子团或分子。氢原子可视为最简单的自由基。具有未成对电子的过渡金属离子, 一般不列入自由基的范围, 但亦有人将它们看成一类特殊的自由基。

1900年, M. Gomberg第一次制得了三苯甲基自由基, 从而确定了自由基的概念。又经过了近30年, 即1929年, 又制得了寿命更短的甲基自由基和乙基自由基, 使自由基的存在得到了进一步的确认。在三苯甲基发现后的许多年中, 科学家们仅仅把自由基看成1种化学新奇物。到了1937年才认识到自由基可作为1类化学实体参加化学反应, 这就是M.S. Kharasch第一次发现所谓“过氧化物效应”, 解释了溴化氢和不对称烯烃“反-马尔柯夫尼可夫”加成的原因, 创立了化学领域的新分支——“新的有机化学”, 即我们现在所称谓的自由基化学。“新的”系指自由基反应是1个新的概念。

自由基化学的发展为自由基生物学的建立奠定了基础。最早进入自由基生物学领域的是放射生物学。辐射诱发生物自由基造成放射病, 为自由基生物学提供了最早和最直接的证据。多年来, 大量的实验证明, 生命过程中的许多重要反应, 如多种酶催化的氧化还原反应、光合作用、生物发光等多与自由基有关。继而又发现多种疾病、生命的衰老亦涉及到自由基反应。1968年McCord和Fridovich发现了超氧化物歧化酶(SOD)及其重要的生物学作用是自由基生物学发展史上的里程碑, 接着对SOD和其它抗氧酶的深入研究以及活性氧学说的建立又对自由基生物学的形成起了巨大的作用。特别是进入80年代后, 随着现代检测分析技术的迅速发展, 在生物和医学领域内有关自由基反应的研究更是突飞猛进, 专门的学术期刊和专著相继创刊和出版, 于是自由基生物学也很快成为一门内容丰富、体系完整的学科。

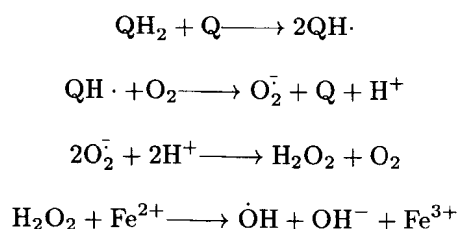
1 1 0 7 0 2 4



辅酶 NAD^+ (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸) 和 NADP^+ (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸) 传递氢的作用亦被证明为自由基历程。

在某些药理过程中亦与自由基有密切关系。一些抗衰老，抗肿瘤以及抗脂质过氧化的药物，例如以后将要详细讨论的维生素 C 和维生素 E 以及许多中药的有效成份都是自由基清除剂。

对于涉及自由基的病理过程，虽然其反应机制大多尚不十分清楚，但确实证明有自由基参与。例如在对兔心肌缺血再灌注的研究中，根据实验，有人提出所产生的氧自由基是来自心肌线粒体或微粒体呼吸链上泛醌 (Q) 的氧化还原反应



§ 1-3 自由基生物学的研究内容

自由基生物学的任务是回答下面三类问题：

第一，生物体内自由基是如何产生的？自由基反应是如何启动和进行的？体内自由基的产生和清除是如何失衡的？

第二，生物异常自由基是如何损伤生物大分子、细胞和生物组织的？

第三，生物体内自由基失衡与机体损伤如何进行调控？如何提高抗氧化剂或自由基清除剂对自由基损伤的防治效果？

因此，自由基生物学涉及的内容是非常广泛的，生物和医学领域中的许多分支都涉及自由基机制。自由基生物学作为一门独立的学科和一门课程可概括成如下几个部分。

1. 自由基分子生物学和自由基生物化学。包括，(1) 活性氧的重要作用；(2) 生物大分子的过氧化作用；(3) 生物体系的自由基的产生与清除；(4) 自由基对机体的损伤及机体对自由基的利用。

2. 自由基病因学与自由基病理学。包括，(1) 衰老的自由基学说；(2) 自由基与肿瘤；(3) 自由基与放射生物学；(4) 某些疾病与自由基的关系。

3. 自由基药理学与自由基毒理学。研究自由基清除剂、抗氧化剂及某些毒物的生物作用。

4. 自由基生物学方法学。在自由基生物学的研究工作中，可根据实验条件和研究的课题选择不同的手段。通常可分为四类：(1) 利用近代物理方法对自由基直接进行分析和鉴定，这当然应首推电子顺磁共振方法，其次是脉冲射解和化学诱导动态核极化(CIDNP)方法；(2) 分析自由基反应的产物，化学发光是经常使用的技术，化学分析、荧光和其它光谱手段亦被普遍采用；(3) 测量受自由基及其反应产物进攻后的生物大分子，例如蛋白、核酸的损伤；(4) 通过分析抗氧化酶的含量或活性来观测自由基的行为和水平。

作为自由基生物学的一部分，植物生命现象中的自由基行为也引起普通植物学和农、林学界的重视，人们称之为“自由基植物学”。与人体和动物相比，由于植物在生命过程、细胞结构和功能以及实验技术方面的特殊性，自由基植物学的起步更晚，发展亦相对缓慢。不过，因为发展农、林业在我国的重要地位，近年来关于农林科学的基础研究得到有关科学家的关注，有了较快的发展。从研究植物中的SOD开始，逐渐涉及植物中自由基的产生、转化和清除，其中包括自由基特别是活性氧在植物生理和病理过程中的作用，研究的中心是活性氧与植物的光合、呼吸、衰老和病虫害的关系，这将在本书第九章讲述。

§ 1-4 我国自由基生物学的发展

我国自由基生物学的研究工作应该说开始于50年代，这就是以辐射生物学和防原子医学为内容的军事医学研究工作。主要研究辐射作用于生物体所产生的自由基对生物分子的影响及其生物学效应，并寻求有效的防护和治疗措施。在这期间，我国学者在辐射机制和防

护药物的研究方面做了不少卓有成效的工作，这些工作虽属于辐射生物学的领域，但在广义上也属于自由基生物学的范畴。50至60年代可以说是我国自由基生物学的萌芽时期。

SOD发现后的10年，我国的自由基生命科学的进展几乎完全停顿。1978年后，我国自由基生物学的开拓者从SOD的提取和应用开始，在活性氧、脂质过氧化、抗氧化剂等自由基生物学的主要领域展开了研究工作，并同时引进国外的研究成果，在短短的3—5年内，掀起了自由基生物学和自由基医学研究的热潮，取得了一批研究成果，发展了一批研究人员，于1986年举行了第一届全国自由基生物学与自由基医学学术会议，成立了自由基生物专业委员会，方允中教授称这一时期为我国自由基生物学的初建时期。

从1986年至今，我国的自由基生物学的研究进入了蓬勃发展的新时期。到1991年共举办了3次全国性的学术会议，与会代表第1次不足100人，到第3次增加到400多人，宣读论文由70多篇增加到540篇，而且质量有显著的提高。同时，在此期间又频频举办SOD、脂质过氧化、微量元素等专科学术研讨会，创办了不定期刊物“Advances in Free Radical Biology and Medicine”，出版了一批学术专著和教材，在一些高等学校开设了自由基生物学课程，涌现了一大批专门从事自由基生物学理论和应用研究的科学家。

目前，在自由基生物学领域中自然形成了几个重点研究方向。(1) 氧应激效应(Oxidative stress)及金属离子的作用，铁离子的定域化及铁离子库的生物学意义；(2) 自由基与疾病的关系；(3) 抗氧化剂特别是某些中药及其有效成分清除自由基的研究；(4) SOD及其模拟物结构和功能的研究；(5) 体内NO行为的研究。

必须指出，尽管人们已经确认自由基参与了动植物和人体许多生理和病理过程，并在其中起着重要的作用，但一般来说，目前对这些作用的本质和细节还远远没有搞清楚。例如在正常的生理过程中，生物体维持自由基生成与清除的详细的调控机制是什么？自由基水平的消长与生物体机能异常的因果关系是什么？我们的任务就是通过大量的科学实验，在分子和亚分子水平上研究自由基对蛋白、核酸等生物大分子及细胞成分的结构和功能的影响及其动力学过程，全面和准确地了解生物体系本身的调控机制，进而采取人为的干预措施，解决医学和农牧业中的有关实际课题。

(张建中 孙存普)

参 考 文 献

1. 方允中, 李文杰. 自由基与酶, 北京: 科学出版社, 1989.
2. 张建中, 孙存普, 段绍瑾. 自由基生物学导论, 北京: 中国科学技术大学研究生院教材, 1991: 第一章.
3. 方允中, 郑荣梁, 沈文梅. 我国自由基生命科学发展的回顾、自由基生命科学进展, 第一集, 北京: 原子能出版社, 1993.
4. Barry Halliwell et al. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Second Edition Clarendon Press, Oxford, 1989.
5. 赵保路等. 心肌缺血再灌注损伤和活性氧自由基. 生理科学, 1989: 9,193.
6. Pryor W.A. *Free Radicals in Biology*, Vol.1.1, New York, San Francisco, London: Academic Press, 1976.

第二章 自由基和自由基反应

所有化合物或单质都含有两个或两个以上的电子，电子的排列方式决定了分子的稳定性。一般讲，一稳定的化合物，其电子都是成对地存在。所谓成对，即 2 个电子的自旋方向相反，以致总的自旋角动量为 0。1 个分子可由于物理或化学的某种原因破坏了电子的成对性，或发生键的均裂，生成了含有未成对电子的产物，即自由基。生成的自由基或三重态，三重态可看成含 2 个未成对电子的特殊的自由基，通常是不稳定的，容易自行结合成稳定的分子，或与其它分子反应生成另一种自由基。自由基具有平常分子所没有的特性。

含有 1 个未成对电子的自由基通常用一园点“·”表示，例如甲基自由基·CH₃，羟基自由基·OH 等。

§2-1 自由基的物理和化学特性

1. 自由基的一般特性

由于未成对电子的存在，总自旋角动量不为 0，具有磁矩，表现有顺磁性，其固有磁矩 μ 为

$$\mu = g \frac{e}{2mc} S$$

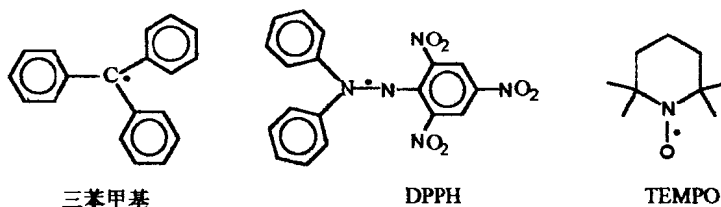
e 和 m 分别为电子的电荷和质量， c 为光速， S 为未成对电子的内禀自旋角动量， g 为未成对电子的 g 因子。因为自由基具有这种特性，每个自由基分子相当于一个小磁体，在磁场中采取与磁场平行或反平行的两种取向，前者能量较低，后者能量较高，能量差为 ΔE ，若在合适的方向外加辐射场且能量恰好等于 ΔE ，就产生能量吸收，即为电子顺磁共振现象，EPR 方法是鉴定自由基的最好的方法。

大部分有机物质的自由基都有特征的颜色，表现特征的吸收光谱，可有助于自由基的鉴别。

2. 自由基的化学特性

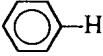

一般自由基表现出极活泼的化学性质，这是与未偶电子的存在有关的。由于存留时间非常短，制备和分离极为困难，除非采用特殊方法，亦难于进行直接检测。但这仅是一般情形，也有些自由基相当稳定，在通常条件下能稳定几分钟，几小时，甚至像普通化合物一样可长期存在。显然这种稳定性绝不是来自未成对电子，而来源于本身的化学结构。例如由于自由基分子的空间因素和共轭效应使三苯甲基，二苯基苦基肼基 (DPPH) 以及作为

自旋标记化合物的氮氧自由基的未成对电子不能发挥应有的电子成对作用而能相对稳定。



键的离解能 D 作为稳定能的概念是自由基稳定性的一种量度。表 2-1 列出了某些自由基的稳定能。注意测量键能有多种方法，不同的方法可能不会得到完全相同的数值，在不同教科书和手册上的数据会不尽相同。

表 2-1 某些自由基的稳定能 D

化合物	自由基	$D(\text{R}-\text{H})\text{KJ/mol}(25^\circ\text{C})$
H—H	$\cdot\text{H}$	435
HO—H	$\cdot\text{OH}$	497
HO ₂ —H	$\cdot\text{OOH}$	376
CH ₃ —H	$\cdot\text{CH}_3$	439
E _t —H	$\cdot\text{CH}_2\text{CH}_3$	410
		469
Cl—Cl	$\cdot\text{Cl}$	243
Cl—H	$\cdot\text{Cl}$	431

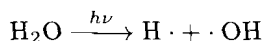
§2-2 自由基的产生

具有成对电子的分子或离子变成有不成对电子的自由基通常通过下列途径。

1. 辐射分解

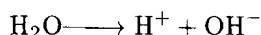
辐射分解的能源有紫外线， γ 和 X 射线，后二者属高能辐射，它们相对可见光和紫外线波长要短几个数量级，能量极大，几乎能使所有的靶分子发生电离。除使靶分子的共价键断裂外，还可引起其它反应，甚至原子核也会受到影响。紫外和可见光就可以使某些分子的共价键断裂，即所谓发生光化学反应，有机化合物中的大多数键，一般键能为 250 KJ/mol—450 KJ/mol。光照使这种键断裂时，就需要这样大小的光能，采用可见或紫外光照射就能达到这个要求。如需要，可加进另一种物质——“光敏剂”以促进能量的转移。在很多情况下，只有被分子吸收辐射才能产生化学反应。例如 Cl—Cl 键的离解能为 243 KJ/mol，而 Cl₂ 可吸收 487.5 nm 的辐射，后者的光子能量为 247 KJ/mol，故 Cl₂ 可被 487.5 nm 的辐射光解。

共价键的断裂有两种方式，均裂和异裂。发生均裂时，原来的共用电子对均裂为 2 个不成对电子，分属于 2 个原子团，即形成自由基： $A:B \longrightarrow A\cdot + B\cdot$ 。例如



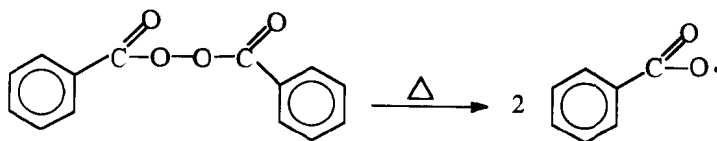
即水通过均裂而产生氢自由基和羟基自由基。

发生异裂时，原来的共用电子对由共价键一侧的原子或原子团独占，形成离子： $A:B \longrightarrow A^+ + B^-$ ，例如水分子在通常条件下发生电离，产生氢离子和羟基负离子 OH^- ：



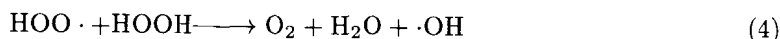
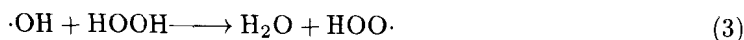
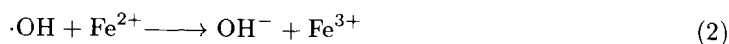
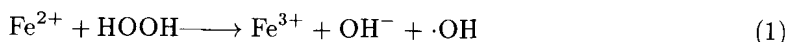
2. 热解

使共价键断裂需要足够的能量，除光和高能辐射外，还可通过提高温度的方法使共价键断裂而产生自由基。此过程称为热解。产生用于反应的自由基最方便的温度范围为 $50^\circ C - 150^\circ C$ ，也就是需要具有键强度为 $100 KJ/mol - 150 KJ/mol$ 的化合物。在化学上最常见的热解产生自由基的化合物有过氧化物，偶氮化合物以及金属有机化合物等。例如在实验室和工业上常作为聚合反应引发剂的过氧化苯甲酰，就是一种易受热分解产生自由基的化合物。

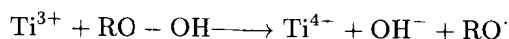


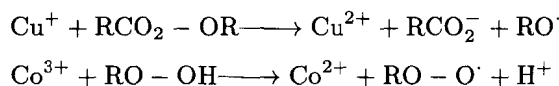
3. 单电子氧化还原

这一类产生自由基的反应在生物体系中最为普遍。在生理、病理和药理过程中，包括许多酶促和非酶体系的氧化还原反应都涉及单电子转移过程，产生自由基。在化学上，这种共价键的氧化还原断裂提供了一种在室温下产生自由基的方便方法，不需要加热或光照。过渡金属离子是有用的氧化还原剂，例如 Fenton 试剂，即亚铁离子和过氧化氢混合物，是在 1894 年第一次用于有机化合物的氧化，对此反应 Haber-Weiss 提出的原始机制是：



只有反应 (1) 和 (2) 是重要的，每个过氧化氢分子氧化两个 Fe^{2+} 离子成为 Fe^{3+} 离子，反应式 (1) 是决定性的步骤，其活化能仅 $41.8 KJ/mol$ ，反应式 (3) 和 (4) 构成了一个链式过程，只有当 $[H_2O_2]/[Fe^{2+}]$ 比率高时才是重要的。古往今来，此体系已扩展到有机过氧化物，氢过氧化物以及可以氧化为较高价态的其它金属如铜、钛、钴等离子构成的系统。例如

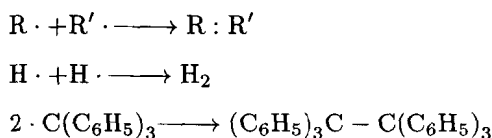




§ 2-3 自由基反应

1. 自由基 - 自由基化合反应

两个自由基很容易相互结合，2个未偶电子配对，形成1个非自由基产物

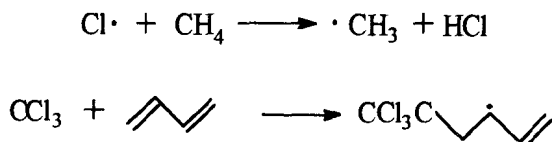


两自由基的化合导致键的生成，因而在能量上是有利的。已知这种过程非常迅速，仅需少量的活化能或不需活化能。但由于在溶液中，自由基的浓度非常低，之间的反应取决于它们浓度的平方，这一过程通常并不像转移反应对溶剂那么重要。但是在自由基比较稳定的情况下，化合反应往往占优势，例如苄基自由基对体系中存在的其它分子的进攻不活泼，因而存留在溶液中，直到它和相似的自由基碰撞而偶联生成二聚体为止。所谓笼蔽效应有利于偶联的发生。即由母体分子共价键的均裂最初产生的自由基对是被溶剂分子包围着的，形成所谓溶剂笼，在扩散到笼外以前一些自由基将要再结合或歧化形成共价键。

2. 取代反应



即自由基与别的分子反应产生一新的自由基，故亦称自由基转移反应，例如



自由基取代反应中最重要的一类是夺氢反应，也称氢抽提反应，就是自由基与有机化合物中的活泼氢结合，生成一种新自由基



烷基、烷氧基、苯基及过氧自由基均可发生夺氢反应。当然卤原子的夺氢反应更是有机化学中一类特别重要的反应。

(1) 烷基自由基的夺氢反应 烷基自由基的大量工作集中在甲基自由基。在溶液中和在气相中它们的相对活性是相同的。对于甲基自由基，从氢给予体 RH 夺取氢原子的反应与