

SRCL 辐射化学研究的现状与展望

林念芸 张加山 姚思德

(中国科学院上海原子核所辐射化学开放研究实验室 上海 201800)

摘 要 本文介绍了中国科学院辐射化学开放研究实验室(SRCL)在 DNA、组蛋白和富里烯等的辐射和光化学与物理的前沿研究方面的现状及展望. 应用脉冲辐解和激光光解技术协同 ESR 研究了 DNA、组蛋白和富里烯等辐解和光解的原初过程及其后续效应机理, 电荷转移、激发能转移和氢原子转移等的动态过程, 中草药中存在的天然抗氧化剂对 DNA 辐射损伤的保护效应及清除氧自由基的机理, 新型低毒放射增敏剂的研究等, 取得了具有我国特色的多方面研究成果.

关键词 DNA, 组蛋白, 富里烯, 抗氧化剂, 脉冲辐解, 激光光解, 电荷转移, 激发能转移, 氢原子转移.

1 辐射化学学科的特点和优势

二次大战后, 辐射化学已成为一门独立的学科, 并以惊人的速度发展. 尤其是 60 年代初, 脉冲辐解先进实验手段问世以来, 辐射化学的基础和应用研究取得了举世瞩目的丰硕成果, 使辐射化学、近代化学、生命科学和基础医学的前沿研究推进到更高水平.

辐射化学是研究射线和物质相互作用时所产生的瞬态粒子(正、负离子, 电子, 自由基, 激发态和超激发态等)的形成、结构和演变过程. 当前只有美国和日本能够在皮秒(10^{-12} s)时域内研究其超快速反应过程, 一些著名的辐射实验室开展纳秒(10^{-9} s)时域内的脉冲辐解和激光光解协同研究. 我国只有辐射化学开放研究实验室(SRCL)同时开展纳秒时域内的脉冲辐解和激光光解研究. 脉冲激光化学的研究, 国外已跨入飞秒(10^{-15} s)时域, 并已对辐射化学与激光化学的原初反应过程作出了新的贡献.

辐射研究是一门新兴的涉及许多边缘学科的综合性的学科, 是各类边缘学科中最富活力的学科之一. 它采用快速、超快速检测技术, 着重研究化学与生物动态学紧密相关的一些最活跃的前沿领域. 它是以分子水平的物理与化学动态过程研究为基础. 与光和辐射生物学前沿学科及其它有重大应用前景的

新兴学科相互渗透, 如日本“人类前沿科学计划”中所注意的若干前沿课题. 以电子和激发能转移为例, 它涉及现代化学、分子生物学、光和辐射生物学、放射医学以及材料科学等学科中最基本的问题, 如生命活动中广泛存在的氧化还原过程、光合作用反应中心的超快速电子转移过程, 新型化合物及新材料的研制, 尤其是抗肿瘤药物、功能材料以及人工光电转换器件等仿生学研究中都和电子与激发能转移密切相关. 辐射化学研究的特点和优势, 是采用脉冲电子辐射和激光光解研究辐射和激光作用的原初过程及其后续效应机理, 它可造成一个所希望的单一的氧化性或还原性体系, 建立起简单的模型体系, 从而可获得用其它方法所无法获得的早期快速和超快速反应过程的本质与微结构变化的信息, 对推动化学与生物动态学研究的发展发挥了不可替代的作用, 并作出了巨大的贡献, 其中最突出的莫过于用脉冲辐解、激光光解协同研究有机体系、光合作用反应中心模型体系电子转移速率常数与自由能变化间的关系, 定量地证明了 Marcus 理论关于速率常数与自由能变化相关的逆转效应. 这一系列开创性的成果确定了 Marcus 理论的权威, 为该理论获诺贝尔化学奖作出了划时代的贡献. Marcus 理论对于研究生命活动中的电子转

移、阐明至关重要的能量转移、氧化还原过程的广泛指导作用已被举世公认。

2 SRCL 的几项前沿研究成果

上海原子核研究所从事辐射化学基础和应用研究已有三十多年的历史。1960 年该所建立辐射化学研究室,开展水和水溶液辐射化学、化学剂量学、高分子辐射化学及工艺学、核燃料后处理的萃取体系的辐射化学研究。70 年代末,辐射化学基础研究侧重以 DNA 的辐射物理与化学研究为重点方向。1988 年自行研制成功纳秒级的激光光解动态吸收光谱实验装置,1989 年建成我国第一个具有国际先进水平的纳秒级脉冲辐解实验室,同年经中科院组织专家对辐射化学开放实验室进行论证后,正式批准向国内外开放。三十多年来,尤其是 SRCL 开放后,负责国家自然科学基金“八·五”重点项目“辐射对生物组织损伤的分子机制研究”等多项研究,并在与多所著名大学与国家实验室的合作研究中在辐射化学与分子辐射生物、光生物学等领域的基础研究方面取得了多方面系统性的研究成果,其中有一项属国际领先成果,另有八项已取得突破性进展。

2.1 激发能、电荷及氢原子三转移的时间分辨研究

DNA 的辐射损伤是细胞钝化和诱发生物体致畸、致突和致癌等的主要原因之一,它的辐射损伤及其修饰作用机制是各国辐射生物学家、基础医学家们所专注的重大研究课题。我们从 1979 年起,开展了 DNA 的辐射物理与化学的研究,侧重于 DNA 及其组份的早期损伤及其快速的保护与敏化效应机理的研究。研究成果有:(1)首次发现并详细论证电荷转移保护机理,并协同靶分子和修饰剂的分子轨道理论研究,综合国际上关于电子转移敏化机理,总结提出判别电荷转移保护与敏化机理的理论判据:如体系中靶分子(TH)

的电子亲和势(EA)小于修饰剂(p. s)的电子亲和势,即 $E. A_{p. s} > E. A_{TH}$,体系便可发生电子自靶分子向修饰剂的转移;在这一必要的前提条件下,如果修饰剂的电离电位(IP)小于靶分子,即 $I. P_{p. s} < I. P_{TH}$,则体系便呈现保护效应,反之体系将呈现敏化效应。(2)发现激发能转移保护与敏化机理。(3)发展了氢原子转移修复机理。可将其简明地概括为“DNA 辐射保护与敏化效应的三转移机理”。其特点为着重考虑靶分子的早期损伤及其快速修饰过程,因而能较全面反映 DNA 辐射保护与敏化效应的特点,能较为满意地解释多种实验事实。在此基础上,进而从分子水平上研究有关抗辐射、抗癌、抗衰老的多功能保护剂和高效低毒放疗增敏剂。近几年来,利用脉冲辐解与激光光解的综合优势,把“三转移”机理的研究推进到微观动态的水平。

2.1.1 DNA 碱基激发三重态及其有关激发能转移、电荷转移机理的动力学研究

依据“三转移机理”之一,激发能转移的成果与经验以丙酮为光敏剂通过激发能转移途径首次发现、鉴别 DNA 碱基中胞嘧啶及其两个衍生物、鸟苷、腺嘌呤及其两个衍生物激发三重态的瞬态吸收谱,继而研究了嘌呤碱激发三重态与丙酮,嘧啶碱激发三重态分别与四氰乙烯、硫辛酸经由电子转移反应生成碱基阳离子,演变为碱基抽氢自由基的反应历程,并从理论与实验结合上阐明了激发态的产生及有关激发能转移与电荷转移反应机理,把激发能转移与电荷转移机理研究推进到微观动态及量化新水平,加之,前已发现的胸腺嘧啶新的激发三重态,使得 DNA 四个碱基的光物理与光化学研究跻身于国际领先地位。

2.1.2 嘧啶碱基及寡聚胞苷酸氧化性加成自由基的快速电荷转移还原

由于嘧啶碱基加成自由基可与组蛋白的氨基酸残基反应生成很难修复的致癌交联产物,这是辐射与化学致癌的共同根源之一,所

以采用电荷转移保护剂对其氧化性羟基加成自由基通过电荷转移进行还原是防止辐射与化学致癌的重大措施. 沿用本室三转移机理中卓有成效的电荷转移保护剂羟基肉桂酸衍生物成功地实现了对嘧啶碱基及寡聚胞苷酸氧化性羟基加成自由基的快速电荷转移还原, 其速率常数($10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)远高于国外用维生素 C 还原羟基加成自由基的速率常数($< 10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$). 这一新成果既拓宽了羟基肉桂酸衍生物的电荷转移保护效应又展现了宽广的应用前景.

2.1.3 电荷转移保护机理的新证据及敏化机理的新进展

电荷转移保护机理的发现及保护与敏化机理的判据是综合一系列 ESR 研究协同分子轨道理论计算的成果, 而与理论判据直接有关的供、受电子性能必须用现代方法进行精确测定. 脉冲辐解是其中最佳者, 为此用以系统地测定了羟基肉桂酸衍生物的单电子氧化及还原电位、多种类型亲电子增敏剂的单电子还原电位, 并分别与胸腺嘧啶进行比较. 从而获得准确有力的证据支持前已提出的电荷转移保护与敏化的判据: 电荷转移保护与敏化的共同点乃其电子亲和性能均强于胸腺嘧啶; 羟基肉桂酸衍生物保护剂的供电子性能明显强于胸腺嘧啶. 由于准确地测定了自行合成的丁胱亚磺酰亚胺(BSO)、两个系列新型磺胺类增敏剂及甲硝唑衍生物(CM)的单电子还原电位, 为拥有中国特色的低毒的辐射增敏剂的临床应用开辟了广阔的道路.

2.1.4 把氢原子转移机理扩展于天然酚类抗氧化剂、辐射保护剂的研究

与兰州大学、华东师大合作, 用脉冲辐解、ESR 研究了类黄酮中的茶多酚、槲皮素和马先蒿中的苯丙苷清除活性氧自由基, 尤其是辐射与化学致癌毒性最强的羟基自由基, 发现它们均能快速清除羟基自由基(速率常数不低于 $10^{10} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$), 其中苯丙苷类清除羟基自由基的速率常数随其所含酚羟基数量增

加而增大. 苯丙苷含有羟基肉桂酸的结构, 因而和羟基肉桂酸衍生物同属于多功能保护剂. 总之, 苯丙苷与黄酮类抗氧化剂均可望成为有广泛应用前景的抗癌、抗辐射、抗衰老药剂.

2.2 电子沿多肽链和组蛋白与嘧啶碱之间长程电子转移机制

用 ESR 协同脉冲辐解在国际上首次对电子沿组蛋白 H3 的长程转移进行了系统的研究: 沿用羟基肉桂酸衍生物为电子受体获得了组蛋白 H3-羟基肉桂酸衍生物系列分子混合物自旋转移比随组蛋白所含氨基酸残基与羟基肉桂酸摩尔比的增高而增高的线性关系, 这是电子沿蛋白质多肽链长程转移的定量证据. 为进一步获取电子沿多肽链转移的证据, 在国际上首次获得组蛋白及 H3 以酰胺羰基阴离子自由基特征的完整 ESR 波谱, 明显优于 1992 年国外的最新报道, 并与脉冲辐解测定的组蛋白各亲电子组份及羟基肉桂酸衍生物分别与水合电子的反应速率常数与其在混和物内含量所预测的相一致; 还着重研究了 H3-咖啡酸二元分子混合物自旋转移比的酸度效应, 从而揭示了多肽酰胺羰基与咖啡酸酚羟基所形成的氢键是 H3 与电子受体间电子转移的通道. 在研究了 H3-芥子酸程序升温过程中 ESR 波谱的变化特征后, 得到 77K 时分子混合物内已基本实现电子自 H3 向芥子酸转移的结论. 由此可见, H3-羟基肉桂酸衍生物分子混合物内长程电子转移机制是通过多肽链与氢键的隧道效应.

电子自组蛋白向嘧啶碱的长程转移是研究组蛋白与 DNA 之间电子转移的基础. 用 ESR 首次获得组蛋白-胸腺嘧啶、组蛋白-胞嘧啶二系列分子混合物自旋转移比与自旋转移百分数随组蛋白所含氨基酸残基与嘧啶碱摩尔比增高而增高的趋势; 分别获得自旋转移比随摩尔比线性增长的关系, 和自旋百分数随摩尔比增长并趋向极限值的两种关系, 二者均指出电子自组蛋白向胸腺嘧啶的转移

高于向胞嘧啶的转移. 长期以来, 国际上关于 DNA 中胸腺嘧啶和胞嘧啶孰为亲电子中心一直存在着争议, 本工作为这一问题的解决提供了重要的旁证.

2.3 C_{60} 激发三重态与 C_{60} 阳离子研究的最新成果

与复旦大学合作用脉冲辐解研究了含 C_{60} 的四种溶液, 取得了 C_{60} 激发三重态与 C_{60} 阳离子的最新成果. 脉冲电子辐照 C_{60} 的苯溶液时, 观测到 C_{60} 激发三重态的完整的动态吸收光谱(峰值为 750nm), 明显优于国外著名实验室最近发表的结果, 并详细研究其衰减动力学. 脉冲电子辐照含亲电子增敏剂(四氯化碳, 氟里昂)的 C_{60} 苯溶液时, 观测到 C_{60} 阳离子(C_{60}^+) 在可见光区新的特征吸收(峰值为 650nm), 并与国外的分子轨道理论(CN-DO/S) 计算结果(654nm) 相一致. 同时观测到 C_{60} 激发三重态的衰减与 C_{60}^+ 增长的同步过程, 有力地确证了四氯化碳和氟里昂分别从 C_{60} 激发三重态夺取电子生成 C_{60}^+ , 并测得其夺取电子的反应动力学参数. 当辐照 C_{60} 的四

氯化碳溶液时, 立即在 650nm 处出现 C_{60}^+ 的特征吸收, 与前两种苯溶液不同, C_{60}^+ 产生于四氯化碳阳离子(CCl_4^+) 向 C_{60} 的空穴转移. 目前除 C_{60} 继续深入研究外, 还在研究 C_{70} 的辐射和光物理与化学行为.

3 SRCL 的展望

辐射化学开放研究实验室已拥有纳秒级电子脉冲辐解与激光光解动态吸收光谱装置, 并已研制成功亚纳秒级单电子计数检测瞬态荧光装置, 和配有毫秒级快扫描装置的大型顺磁共振谱仪, 并具备把其改成纳秒级时间分辨 ESR 的技术条件. 正在调试自由电子激光装置, 预计在“八·五”期间首先提供皮秒级电子束, 而后再提供皮秒级激光, 在配置超快速检测系统后, 便可以综合研究超快速生命与化学过程, 包括生物大分子及其聚集体辐射(光)作用机制的动态研究, 光合作用反应中心超快电子转移动态学.

Present Status and Perspective of Radiation Chemistry in SRCL

Lin Nianyun Zhang Jiashan Yao Side

(Shanghai Institute of Nuclear Research, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

Abstract Several novel achievements of the frontier research on radiation chemistry of DNA, histones and fullerence etc. in SRCL are introduced. Using pulse radiolysis and laser flash photolysis techniques in combination with ESR studies charge transfer, excitation transfer and H-atom transfer process have been explored. The polyfunctional protection effect including radioprotection and scavenging oxy radical exerted by several kinds of naturally occurring phenolic antioxidants distributed among chinese herbs have been studied.

Key Words pulse radiolysis, laser flash photolysis, histone, charge transfer, excitation transfer, H-atom transfer, antioxidant, DNA, fullerence.