

文章编号:1671-6833(2003)01-0038-09

类胡萝卜素抗氧化性质的研究

赵文恩

(郑州大学化工学院,河南 郑州 450002)

摘 要:类胡萝卜素有多种生物学作用,包括抑癌防衰、减低一些疾病发生.其重要原因之一是它们的生物抗氧化剂特性.猝灭 $^1\text{O}_2$ 、清除自由基、抑制脂类过氧化与细胞呼吸爆发的抗氧化作用.采用 H_2O_2 - NaOCl 体系产生的 $^1\text{O}_2$ 的发光法研究 $^1\text{O}_2$ 的猝灭作用,脉冲辐解法研究与 $\text{Cl}\cdot$ 的反应,测定自由基引发的亚油酸甲酯氢过氧化物生成和脂质体过氧化产物硫代巴比妥酸反应物生成研究抑制脂质过氧化,通过依赖于鲁米诺的化学发光法与无细胞模拟体系研究对巨噬细胞呼吸爆发的影响.研究表明:类胡萝卜素通过物理过程猝灭 $^1\text{O}_2$,与 $\text{Cl}\cdot$ 发生反应生成加合物与自由基正离子,可抑制自由基引发的脂质过氧化,可清除巨噬细胞呼吸爆发所释放的活性氧自由基,降低细胞依赖于鲁米诺的化学发光,保护宿主细胞与组织,增强细胞免疫反应活性.

关键词:类胡萝卜素;猝灭单线态氧;清除自由基;抑制脂质过氧化;抑制细胞呼吸爆发

中图分类号:Q 562;O 629.4

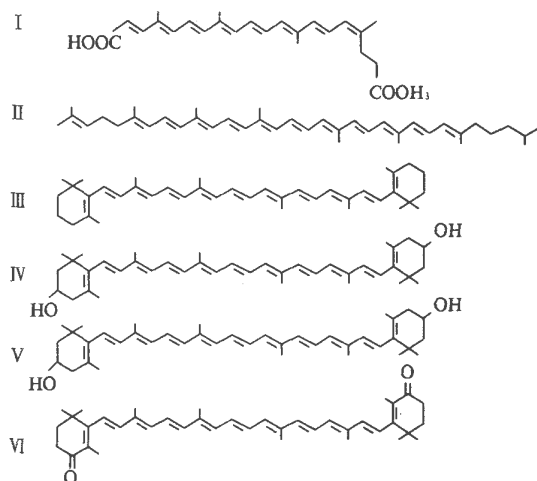
文献标识码:A

0 引言

类胡萝卜素是存在广泛的具共轭双键系的萜烯基团类天然色素,除作为色素使用外,还具有多种生物学作用^[1,2],可作为维生素A前体、机体免疫力的增强剂、细胞增生与肿瘤转化的抑制剂;可以降低某些疾病发生的危险,如老年性白内障与眼睛黄斑退化所致失明,某些癌症等.研究表明,叶黄素(LUT)和玉米黄质(ZEA)以高浓度存在于人眼底黄斑中,可作为近紫外蓝光的吸收剂行使保护功能,光线到达眼睛的视杆细胞与视锥细胞之前必先通过高浓度LUT和ZEA层.富含LUT和ZEA的饮食在减少与衰老关联的黄斑退化和白内障等严重眼疾发生中起重要作用^[3,4].类胡萝卜素可减少发生某些心血管病的危险^[5].在以番茄为主料的饮食上进行的流行病学的研究表明,番茄摄食与一些消化道癌危险反向关联.番茄红素(LYC)的摄取与前列腺癌及心肌梗塞危险负相关.在患胰腺癌、膀胱癌与形成颈上皮内癌的人的血清中,LYC水平明显要低.在一些鱼类和家禽肉蛋、食品与饮料着色上,它们发挥着其他色素无法替代的重要作用.它们已被联合国粮农组织和世

界卫生组织(FAO/WHO)、联合国食品添加剂专家委员会(JECFA)认定为A类营养素,在50多个国家和地区被作为营养与着色双重功能的食品添加剂应用于食品、医药与化妆品工业.2002年元月在夏威夷还召开了第13届类胡萝卜素国际会议.

这里探讨几种类胡萝卜素的抗氧化作用特性(图1).



I. 胭脂树橙; II. 番茄红素; III. β -胡萝卜素; IV. 叶黄素;
V. 玉米黄质; VI. 鸡油菌黄质

图1 几种类胡萝卜素分子结构

Fig. 1 Structures of carotenoids tested

类胡萝卜素具多种生物学功能的最重要原因

收稿日期:2002-11-10;修订日期:2002-12-28

基金项目:河南省科技攻关项目(0124160306)

作者简介:赵文恩(1950-),男,山西省运城市人,郑州大学教授,博士,主要从事生物化学及生物化工方面的研究.

之一是其生物抗氧化剂特性,它们可猝灭单线态氧,清除自由基,阻止脂质过氧化.在人血液中已发现有三四十种类胡萝卜素存在,主要有LYC, α -与 β -胡萝卜素 (α -, β C), β -隐黄质 (β -CRYP), LUT, ZEA 等,因而可防止体内过量产生的活性氧自由基所致的伤害.

1 类胡萝卜素猝灭单线态氧($^1\text{O}_2$) [9]

b_2 可通过多种方法产生,在 $\text{H}_2\text{O}_2\text{-NaOD}$ 体

系中 $^1\text{O}_2$ 产率超过 70%, 甚至为 100%. 依据其单分子近红外发光谱带为 1270 nm, 双分子发光谱带为 634 nm 与 703 nm, 用超微弱发光测量仪在 710 nm 处直接检测 $^1\text{O}_2$ 发光, 研究类胡萝卜素对 $^1\text{O}_2$ 猝灭, 如图 2 所示.

β C 存在下, $^1\text{O}_2$ 的双分子发光峰降低, 随 β C 浓度增加, 发光峰值逐渐减小. 这种变化发生很快, 与单独 H_2O_2 及 NaOD 对 β C 的氧化漂白的化

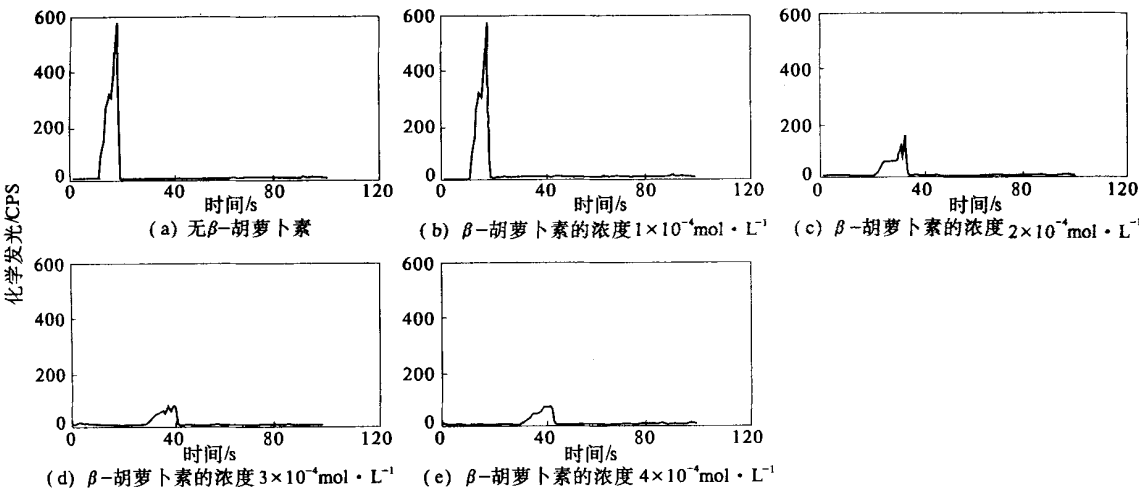


图 2 β -胡萝卜素对单线态氧($^1\text{O}_2$) 710 nm 处双分子发光的猝灭

Fig. 2 Quenching of the singlet oxygen emission at 710 nm by β -carotene

学性反应无关, 表明 β C 对 $^1\text{O}_2$ 发生物理猝灭过程. 其他类胡萝卜素 LUT、鸡油菌黄质 (CAN), 胭脂树橙 (BIX) 以及生育酚 (VE) 与抗坏血酸 (VC) 也显示出同样的作用. 比较及计算猝灭速度常数, 可知各类胡萝卜素与两种维生素的猝灭能力不同, CAN 表现出较强的猝灭能力, 其次是 BIX, β C, 而 LUT 的猝灭能力较弱, 两种维生素的能力更弱, 尤其是抗坏血酸, 按以下顺序递减: CAN, BIX, β C, LUT, 生育酚, 抗坏血酸 (表 1). 从类胡萝卜素的分子结构上看, 共轭双键数与猝灭能力有关, 两个紫罗酮环本身影响不大, 如 BIX 分子中以羧基与甲酯基取代了 β C 的两个紫罗酮环, 猝灭效率变化不大. 但紫罗酮环上基团取代却对猝灭影响很大, 如 CAN 以 4 与 4' 位羰基取代氢, 猝灭效率增强, 而以羟基取代如 LUT (3 与 3' 位羟基的 α C), 猝灭效率却较低, 很可能羰基形式延长了共轭双键系, 从而对电子共振体系产生影响, 也依赖于功能基团所致的氧化还原电势的不同. 对于 α -生育酚与抗坏血酸猝灭 $^1\text{O}_2$ 的分子结构基础, 还不清楚.

表 1 类胡萝卜素与生育酚及抗坏血酸对单线态氧猝灭常数及其在血浆中浓度

Tab. 1 Singlet oxygen quenching constants and content in plasma of carotenoids, α -tocopherol and ascorbic acid		
化合物	$K_q / (10^9 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	含量 / ($10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
鸡油菌黄质	17.0	
β -胡萝卜素	12.7	0.3~0.6
胭脂树橙	16.5	
叶黄素	7.1	0.1~0.3
α -生育酚醋酸酯	0.018	15~40
抗坏血酸	0.000019	30~150

说明: 血浆中含量数值引自其他文献; α -生育酚醋酸酯的含量指的是 α -生育酚; K_q 为单线态氧猝灭速率常数.

2 类胡萝卜素与 $\text{CD} \cdot \text{OO} \cdot$ 的反应

类胡萝卜素可与多种自由基发生反应而清除后者, 例如超氧化物阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot -}$) [7] 及三氯甲基过氧基 ($\text{CD} \cdot \text{OO} \cdot$) [8]. 通过对含 CD_4 空气饱和的异丙醇/ H_2O 反应液脉冲辐解产生 $\text{CD} \cdot \text{OO} \cdot$, 研究 β C, BIX 及 LYC 与 $\text{CD} \cdot \text{OO} \cdot$ 自由基反应. 可以看到 (图 3), BIX 与 $\text{CD} \cdot \text{OO} \cdot$ 反应, 其在 500 nm 处特征强吸收消失产生负吸收, 而 650 nm

左右出现一较宽带生成谱,500nm 处的本底漂白过程,表明 β IX 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 发生反应,导致后者消耗,650nm 左右处为新出现的反应产物吸收.图 3 中插图即为 β IX 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应在 500 和 650nm 两处随时间变化的瞬态吸收谱.

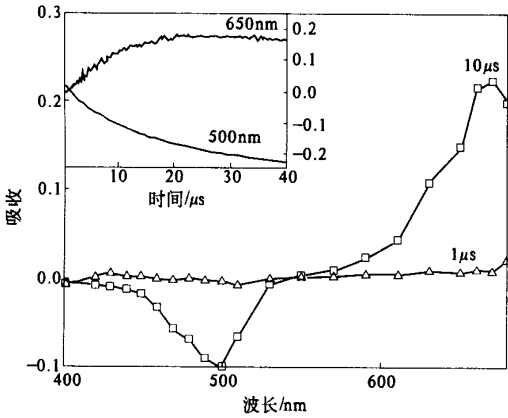
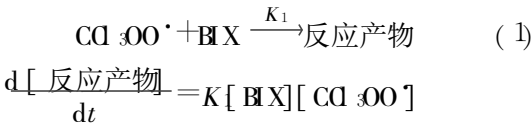


图 3 含胭脂树橙与 CD_4 的空气饱和水/异丙醇液辐解后瞬态吸收光谱

Fig.3 Transient absorption spectra observed after pulse radiolysis of β IX and $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ in aqueous and i-propylalcohol solution saturated with air

反应表示如下:

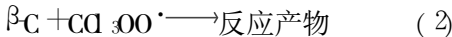


因为 $[\beta\text{IX}]$ 比瞬态粒子产量大得多,反应过程中可忽略 $[\beta\text{IX}]$ 变化,进行准一级动力学模拟:

$$K_{\text{obs}} = K[\beta\text{IX}]$$

通过 K_{obs} 对 $[\beta\text{IX}]$ 作线形图求得反应速率常数为 $1.78 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

β C 体系表现出与 β IX 相同的反应动力学行为.即 β C 在 450nm 处的特征强吸收成负吸收,为 β C 的消耗漂白过程;650nm 处出现宽带吸收,为 β C 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应生成的瞬态产物正吸收(图 4 中的插图(a)),即



插图(b)为不同浓度 β C 在 650nm 处随时间变化的吸收谱,图 4 是 K_{obs} 对 $[\beta\text{C}]$ 所作线形图,求得 β C 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应速率常数为 $7.8 \times 10^7 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

在LYC 体系中只能看到本底的漂白过程,即原初在 500nm 处的强吸收消失产生负吸收(图 5),表明反应发生了.600nm 以上较长波长范围却未检测到产物吸收,说明LYC 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 的反应产物在此范围没有特征吸收,由 500nm 的漂白过程计算

出反应速率常数为 $4 \times 10^7 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

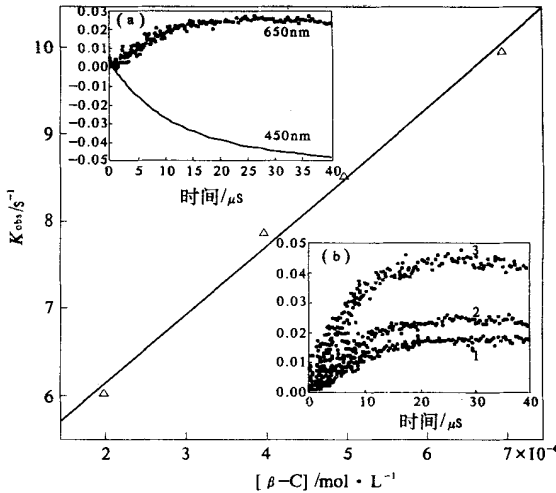


图 4 不同浓度 β 胡萝卜素(β -C)与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 生成反应 K_{obs}

Fig.4 The dependence of K_{obs} from forming process of reaction of β -C with $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ on concentration of β -C

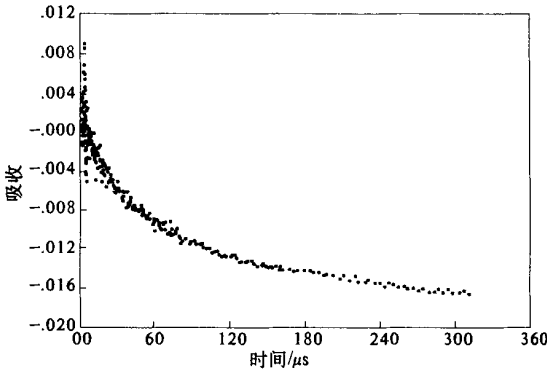


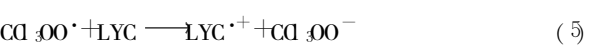
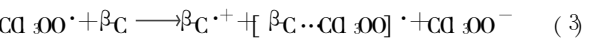
图 5 $2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 番茄红素与 $2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CD}_4$ 在空气饱和液中经脉冲电子辐解时 500 nm 的瞬态吸收

Fig.5 The transient absorption at 500 nm observed upon pulse radiolysis of $2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LYC and $2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CD}$ in i-propylalcohol (1:1, volume ratio) aqueous solution with air

试验结果表明: β IX, β C 和 LYC 都能与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应,反应动力学行为与速率常数各不相同.Hill 等^[9]通过脉冲辐解研究 2% TritonX-100 水液不均一的胶束环境中类胡萝卜素(未包括 β IX 与 LYC)与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应,表明包括 β C 在内的类胡萝卜素形成两种反应产物——近红外区有吸收的类胡萝卜素自由基正离子与长波长位置有吸收的加合物自由基,而虾青素不直接形成自由基正离子,由加合物衰减形成.Wilson^[10]曾报道在 50/50 水-叔丁醇作溶剂的体系中 β C 与 $\text{CD} \cdot\text{OO}^{\cdot}$ 反应得到两峰的瞬态光谱图(约为 920, 780 nm).根据

所知类胡萝卜素自由基正离子在近红外区有峰吸收,由辐射剂量测算自由基正离子产率仅为50%,认定近红外的峰吸收为自由基正离子的吸收,长波长的为加合物自由基^[9].采用与Willson报道基本相同的均相环境脉冲辐解试验条件, βC 与 $\text{CD}\cdot\text{OO}\cdot$ 反应在长波长位置所出现产物的吸收应是加合自由基的生成吸收, βC 自由基正离子的吸收峰在近红外区,这里无法看到,或者对已看到的长波长产物吸收影响很小. BIX 与 $\text{CD}\cdot\text{OO}\cdot$ 反应表现出与 βC 相同的反应动力学行为,与其它所知类胡萝卜素一样,长波长位置产物的吸收亦应是加合自由基的生成吸收,其自由基正离子的吸收亦应在近红外区,本试验无法看到,但确是存在的.

研究包括LYC在内的类胡萝卜素激光光解时发现生成在可见光与近红外区有吸收的两种瞬态中间产物,一是类胡萝卜素加合物,其中LYC加合物的最大吸收为860nm,在700nm处仍有较强的正吸收,另一是类胡萝卜素自由基正离子,LYC自由基正离子最大吸收为975nm.LYC与 $\text{CD}\cdot\text{OO}\cdot$ 反应后在600~700nm未看到有吸收出现,可排除生成加合物的可能性.而LYC自由基正离子吸收处基本在近红外光区,这里受检测手段限制无法看到.因此像与超氧阴离子自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 反应一样^[9], βC 、 BIX 和LYC通过不同途径与 $\text{CD}\cdot\text{OO}\cdot$ 进行反应,前两种类胡萝卜素反应形成加合自由基与自由基正离子,LYC通过电子转移途径只生成自由基正离子,



另从类胡萝卜素分子结构看(图1), βC 与 BIX 都有9个共轭双键,而LYC却有11个共轭双键,两端还各有一非共轭双键.更长的共轭双键形成离域 π 结构使其碳骨架上富含电子,更易发生电子转移反应,因而LYC反应不形成自由基加合物,只形成自由基正离子.末端环状基团结构对反应不起决定性作用.

3 类胡萝卜素对脂质过氧化的抑制作用

类胡萝卜素的抗氧化性质还体现在其捕获自由基保护生物分子免遭伤害,例如抑制脂类过氧化^[11~13].在以亚油酸甲酯作脂质氧化反应物的反应体系中,加自由基产生剂{2,2'-偶氮二(2,4-二甲基戊腈)}(AMVN)引发脂质过氧化.类胡萝卜素可捕获自由基,阻断脂质过氧化的连锁反应,抑制亚油酸甲酯氢过氧化物形成. βC 、 BIX 与LUT抑制亚油酸甲酯氢过氧化物形成都显示出按依赖于浓度的方式作用(结果未示出).例如在4h的氧化期间, βC 存在下氢过氧化物的增长未达到200%,而无 βC 存在的对照不足3h已接近200%,表明抑制作用显著.

在 $41.7\times10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 类胡萝卜素浓度下,比较 βC 、LUT、ZEA与 BIX 对亚油酸甲酯氢过氧化物形成的抑制作用活性图(图6a),可看到,ZEA与LUT活性近似相等,都高于 βC 与 BIX ,后两者活性近似相等.而在较高浓度($83.3\times10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)之下,比较CAN、LUT、 βC 与 BIX 的抑制作用活性,如图6(b)所示,CAN极为显著地抑制氢

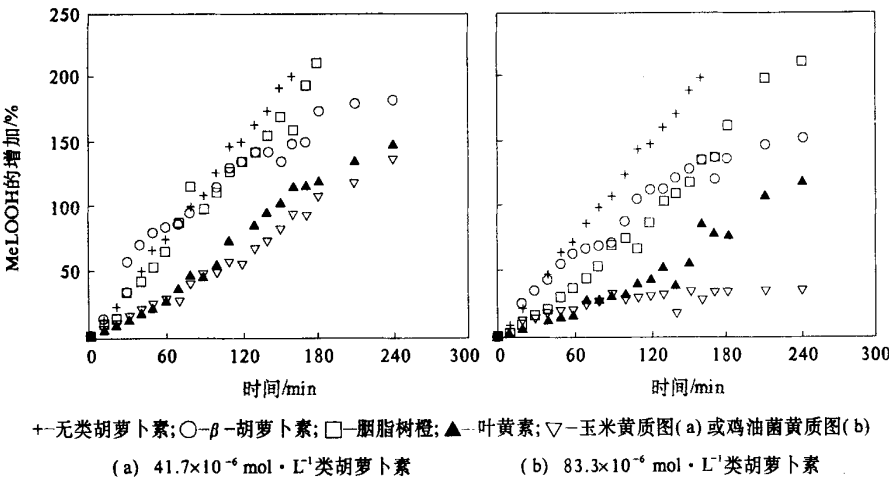


图6 类胡萝卜素对AMVN引发的亚油酸甲酯氢过氧化物形成的抑制

Fig.6 Inhibition of AMVNinduced hydroperoxide formation of methyl linoleate by carotenoids

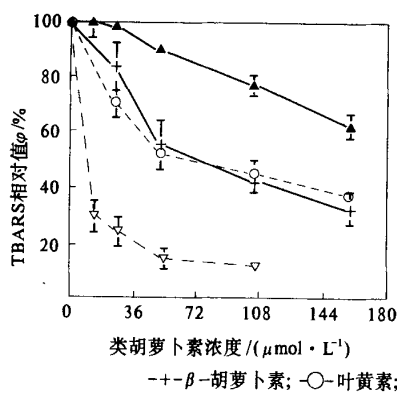
过氧化物的形成,其次才是LUT、 β C 与 β X 抑制能力较低,后两者活性仍近似.综合以上结果可知,在此试验系统条件下,类胡萝卜素抑制亚油酸甲酯氧化的活性按 $CAN > ZEA \approx LUT > \beta C \approx \beta X$ 顺序递减.与此同时类胡萝卜素逐渐消耗(结果未示出),表明类胡萝卜素因捕获生成的过氧自由基,阻断脂类氧化过程而消耗减少,CAN 与 βX 要慢于 βC 与 LUT.

使用鸡蛋磷脂酰胆碱制成人工模拟膜—脂质体,研究类胡萝卜素存在下过氧自由基介导的脂质体脂质过氧化^[13].类胡萝卜素或在脂质体膜上,或在水分散液中.在膜上时,用自由基产生剂 2,2'-偶氮二(2-脒基丙烷盐酸)(AAPH)引发脂质过氧化,在水分散液中时用 Fe^{2+} 启动脂质过氧化,测定硫代巴比妥酸反应物(TBARS)来确定脂质氧化程度.用 $30\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AAPH 引发的脂质过氧化中,前者 $98.4 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与后者 $148 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ βC 存在下,脂质过氧化都受到显著抑制,抑制的氧化速率与未受抑制氧化速率之比分别为 0.38 与 0.51,且抑制 TBARS 的积累没有诱导期(结果未示出).

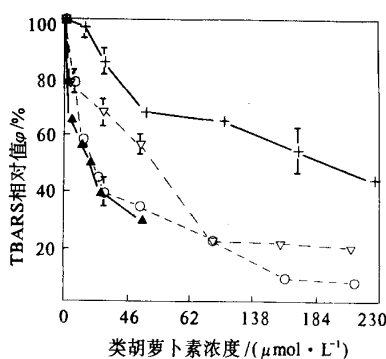
类胡萝卜素对 PC 脂质体的脂质过氧化之抑制作用与它们存在的介质环境密切相关.如图 7(a) 所示,当类胡萝卜素掺入到脂质体膜上时,其

抑制脂质过氧化能力按 $CAN > LUT \approx \beta C > \beta X$ 顺序递减.类胡萝卜素在水分散液中时图 7(b),抑制脂质过氧化能力变为 $\beta X > LUT > CAN > \beta C$,表明由于处在脂相与水相极为不同环境中,抑制作用能力发生很大变化.这一方面是因为与其内在的捕集自由基能力有关,另一方面还与其所具亲脂亲水性有关,如具羧基与甲酯基非环式的 βX 亲水性较强,更易溶于水,故在水相中要比在膜脂上作用能力强,因而在水分散液中它是 4 种类胡萝卜素中作用能力最强的,在膜脂中却成了能力最弱的. CAN 尽管水溶性差,但因其本身抗氧化性强,如猝灭单线态氧,清除超氧阴离子自由基等,捕集自由基能力强,在水相中时作用能力也要比 βC 强.

在体内,类胡萝卜素存在于脂肪组织、生物膜以及血浆中低密度脂蛋白的脂区域.在膜中,它们常与生育酚等共同承担抗氧化防御作用,对抗自由基的攻击.而在血液中,它们与生育酚、抗坏血酸等抗氧化剂构成组织完善的抗氧化防卫系统,对抗水环境中自由基的攻击.摄取富含类胡萝卜素的饮食可提高血液中类胡萝卜素水平,有助于增加膜磷脂对抗氧化损伤作用,保障生物膜结构完整性.



(a) 类胡萝卜素在脂质体膜上



(b) 类胡萝卜素在水分散液中

图 7 类胡萝卜素对 PC 脂质体脂质过氧化的抑制作用

Fig. 7 Inhibitory effect of carotenoids on lipid peroxidation of PC liposomes

4 对巨噬细胞呼吸爆发的影响

巨噬细胞是一种免疫细胞,接触溶解的或颗粒的刺激后,耗氧出现很大增加,称为“呼吸爆发”.研究表明,这时细胞产生了 $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} , 1O_2 , 与 NO 及 ONOO $^-$ 这样的活性氧代谢物,不仅可杀伤入侵的微生物与肿瘤细胞,还会引起一些有害的影响,包括杀伤宿主细胞.在鲁米诺存

在下可给出极明显的化学发光,这种发光可用作研究巨噬细胞呼吸爆发的简便手段.

体外研究结果表明: βC 可增强巨噬细胞灭杀肿瘤活性^[19],还增强人体中性粒细胞杀菌活性,保护本身免于自己的氧化代谢物伤害^[13],降低吞噬细胞诱发的细胞姐妹染色单体的交换率^[19].关于类胡萝卜素对巨噬细胞呼吸爆发的影响知之甚少,这里使用大鼠腹水巨噬细胞对之进行探

讨^[17,18].

在鲁米诺存在下,巨噬细胞经佛波醇 12-豆蔻酸 13-乙酸酯(PMA) 刺激后产生呼吸爆发,出现极明显发光.图 8 显示,类胡萝卜素(β C、LUT、BIX、CAN) 在刺激开始加到细胞体系中,可显著降低巨噬细胞依赖于鲁米诺的化学发光,CAN 与 BIX 比 β C 与 LUT 表现出更强的抑制活性.PMA 刺激 2 min 后类胡萝卜素仍能明显降低这种发光(结果未示出).追踪 PMA 刺激与加 L-精氨酸(L-Arg) 后类胡萝卜素吸收光谱的变化,来探讨其对细胞发光影响原因.加 L-Arg 是因为刺激的巨噬细胞通过氧化 L-Arg 之胍基合成 NO,NO 可与 $O_2^{\cdot-}$ 形成 ONOO^[19].如图 9 所示,PMA 刺激与加入 L-Arg 后的吸收光谱发生很大变化.当巨噬细胞被刺激时,色素吸收峰都分别降低,显示其被消耗了.L-Arg 加入后,吸收峰或降低(如 LUT 与 β C) 或发生蓝移(如 BIX 与 CAN),这表明其分子结构发生变化,吸收光谱蓝移预示着有新的物质形成,该物质在短波区有吸收,即就是原有色素分子被消耗,新的物质出现.试验结果提示,类胡萝卜素是通过与呼

吸爆发期间以及加 L-Arg 后产生的氧代谢物发生反应,即清除了呼吸爆发产生的活性氧与 NO 自由基,使细胞的化学发光值降低的.

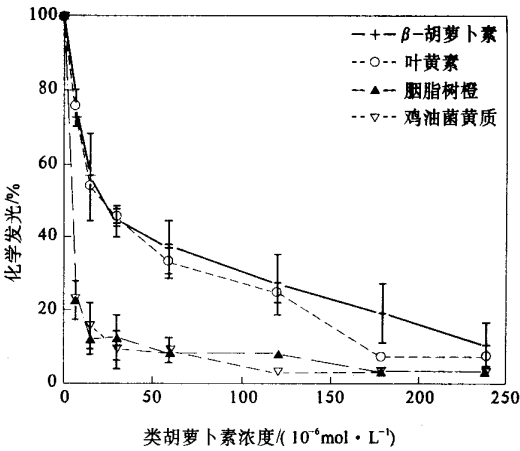


图 8 在刺激开始时类胡萝卜素对巨噬细胞依赖于鲁米诺化学发光的影响
Fig. 8 Influence of carotenoids on the luminal dependent chemiluminescence of macrophages at the beginning of the stimulation

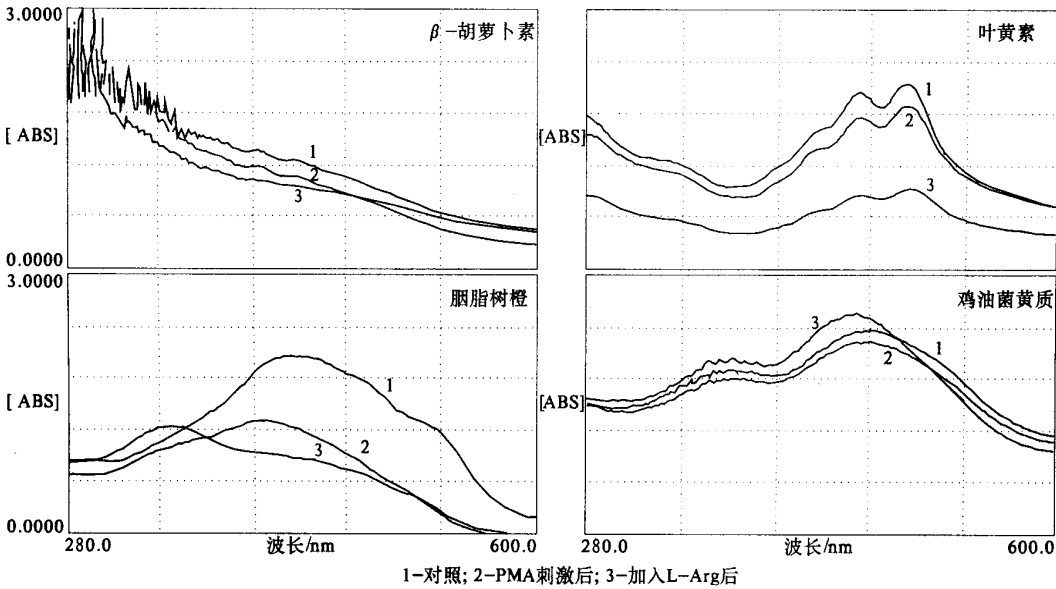
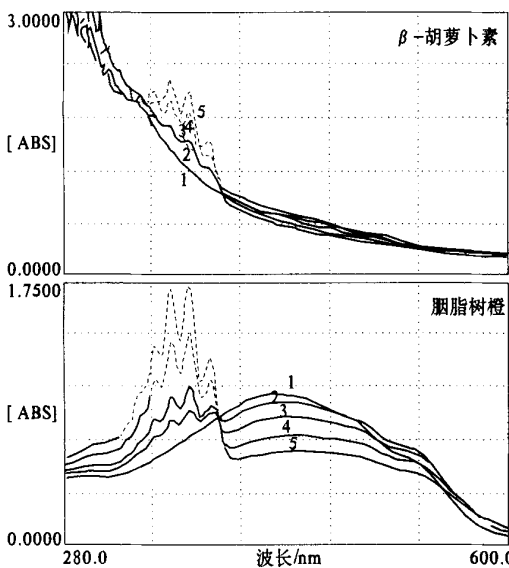


图 9 巨噬细胞刺激期间与加 L-Arg 后类胡萝卜素吸收光谱的变化
Fig. 9 The change in absorption spectrum of carotenoids during the stimulation of macrophages and after addition of L-arginine to the system

为了进一步证实类胡萝卜素可清除被刺激的巨噬细胞所放出的各种氧代谢物,通过化学模拟系统来分别研究类胡萝卜素与这些氧代谢物的反应性,评价这种清除作用赋予巨噬细胞的生理意义.图 10 显示,类胡萝卜素可降低黄嘌呤/黄嘌呤(C)

氧化酶反应体系产生的 $O_2^{\cdot-}$ 所致鲁米诺化学发光,说明类胡萝卜素是 $O_2^{\cdot-}$ 的有效捕集剂,其中 CAN 显示了很大的捕集清除活性.通过检测 Fe^{2+} 与 H_2O_2 反应所生成 OH^{\cdot} 的 ESR 信号,表明类胡萝卜素能清除 OH^{\cdot} (结果未示出).类胡萝卜素可与

NO 反应导致其在 400 与 540 nm 之间峰吸收下降(图 11),而在 300 到 395 nm 之间伴随新吸收峰出现,且随 NO 浓度增高,吸收峰下降值与新峰上升值成比例相应变化,说明类胡萝卜素与 NO 反应,生成新物质.类胡萝卜素也可与 ONOO⁻ 反应而使其原来 400 到 500 nm 的特征吸收降低(图 12),在较短波长范围(365 nm 及 290-300 nm)吸收增加,甚至形成新吸收峰.LUT 甚至从 280 到 490 nm 吸收都有所升高,表明反应发生导致新物质形成,ONOO⁻ 被清除.类胡萝卜素在清除活性氧自由基同时,也保护生物膜免遭伤害,类胡萝卜素抑制 AAPH 诱导的 PC 脂质体脂质过氧化终产物 TBARS 形成.



1-无NO的对照; 2~5-22.4~133.8 $\times 10^{-6}$ mol \cdot L⁻¹的NO浓度

图 11 类胡萝卜素与不同浓度一氧化氮反应后吸收光谱的变化

Fig. 11 The change in absorption spectrum after reaction of carotenoids with different concentrations of nitric oxide

以上研究类胡萝卜素对呼吸爆发期间及加入 L-Arg 后巨噬细胞所放出的各种有害氧化代谢物的清除作用,以及对细胞膜系脂质过氧化的抑制作用,有助于深刻理解类胡萝卜素对巨噬细胞呼吸爆发的影响,结果也解释了其对细胞依赖于鲁米诺发光抑制作用之原因,即清除细胞放出的这些活性氧自由基,保护细胞免于损害.体外的试验表明, β C 能提高巨噬细胞的杀肿瘤活性^[19],还能提高中性粒细胞(PMN)杀菌活性,并保护 PMN 自身免于自由基的损害作用^[13], β C 与 CAN 一起可抑制接触了反应活泼的氧化代谢物后巨噬细胞受体的丧失^[20],这种受体与抗原识别以及一些化学介体的分泌有关,如干扰素、肿瘤坏死因子、前列腺素

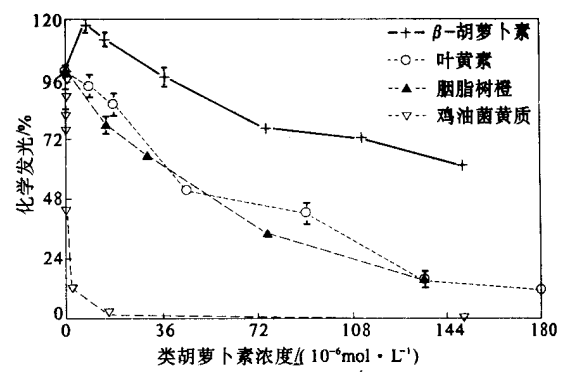
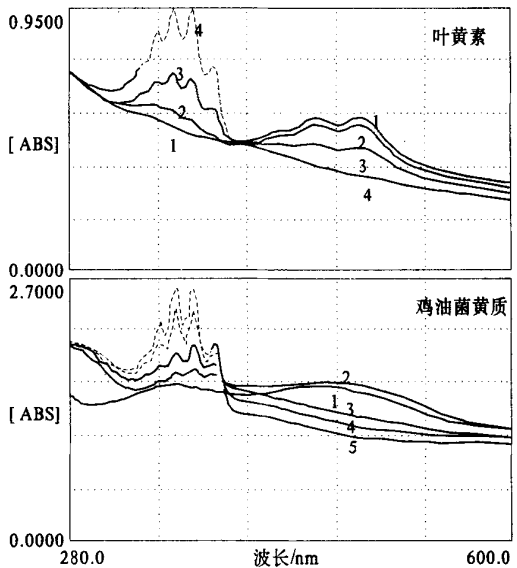


图 10 类胡萝卜素对黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶反应系鲁米诺发光的抑制

Fig. 10 Inhibitory effect of carotenoids on luminescence of the reaction system of xanthine/xanthine oxidase



与白介素 I. 已经表明老年人的自然杀伤细胞活性可通过补给 β C 得到增强^[21]. 看来,类胡萝卜素对巨噬细胞呼吸爆发的抑制正是它们一方面在体内保护宿主细胞与组织免于巨噬细胞过量产生的毒性氧化代谢物的有害作用,另一方面增强细胞特异免疫反应产生的一种方式.对后一方面的作用理解,还需进一步研究,尤其应从信号传导与基因表达上进行探讨.

由以上讨论可知,类胡萝卜素是非常重要的生物抗氧化剂,对人们的生活与身体健康有着极为重要的作用,它与人们的关系越来越密切,正逐渐成为人们生活中不可缺少的组成部分.因此对其基础理论与开发应用研究应受到更多关注与更

大重视,国外在此方面表现尤为突出.

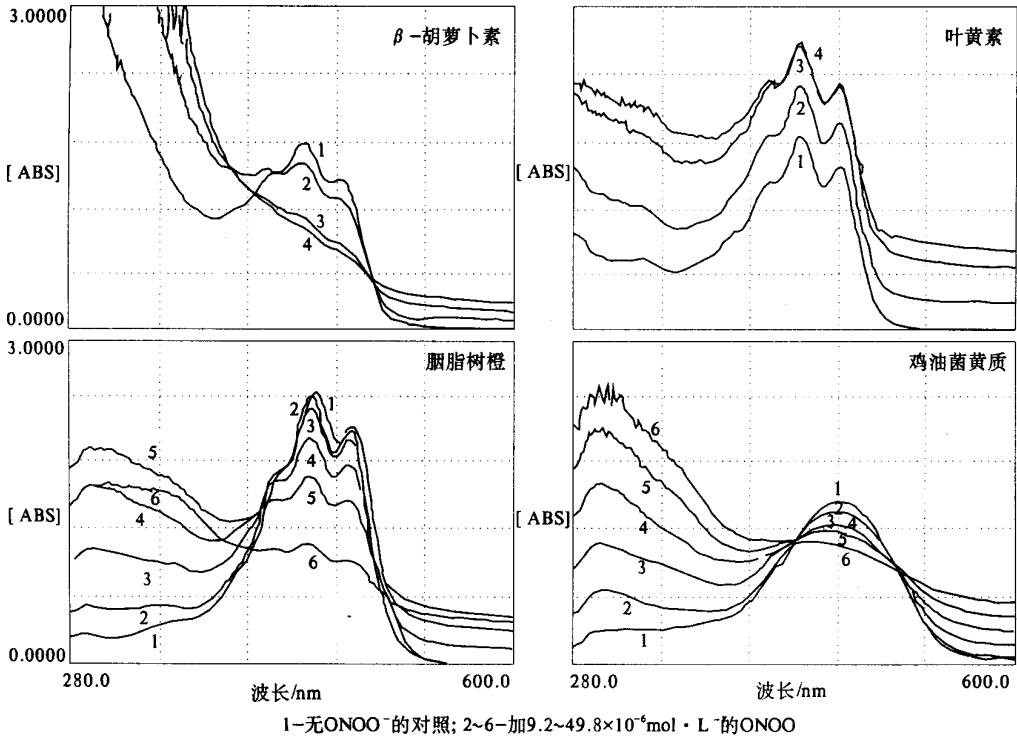


图 12 过氧亚硝基对类胡萝卜素的漂白作用
Fig. 12 Bleaching of carotenoids by peroxynitrite

参考文献:

[1] ROCK C L . Carotenoids : biology and treatment [J] . *Pharmacol Ther* , 1997 , 75 (3) : 185 ~ 197 .

[2] 赵文恩, 韩雅珊, 戴蕴青 . 类胡萝卜素的生物学性质 [J] . *生物学杂志* , 1998 , 15 (3) : 1 ~ 3 .

[3] SNODDERL D M , Evidence for protection against age - related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins [J] . *Am J Clin Nutr* , 1995 , 62 (s) : 1448 ~ 1461 .

[4] SOMMERBURG O G , SIEMS W G , HURST J S , et al . Lutein and zeaxanthin are associated with photoreceptors in the human retina [J] . *Curr Eyes Res* , 1999 , 19 (6) : 491 ~ 495 .

[5] GAZIANO J M , MANSON J E , RIDKER P M , et al . β -Carotene and heart disease [J] . *Circulation* , 1990 , 82 (8) : 796 ~ 802 .

[6] 赵文恩, 韩雅珊, HIROTA S , 等 . 类胡萝卜素对 H_2O_2 -NaOH 体系产生的 $^1\text{O}_2$ 的猝灭作用 [J] . *生物物理学报* , 1997 , 13 (1) : 137 ~ 142 .

[7] CONN P F , LAMBERT C , LAND E J , et al . Carotene - oxygen radical interactions . *Free Rad Res* [J] , 1992 , 16 (6) : 401 ~ 408 .

[8] 赵文恩, 姚思德, 王 强 , 等 . 脉冲辐解研究类胡萝卜素与 $\text{ClO} \cdot \text{OO} \cdot$ 反应 [J] . *中国科学 (B 辑)* , 2002 , 32 (4) : 355 ~ 359 .

[9] HILL T J , LAND E J , MCGARVEY D J , et al Interactions between carotenoids and the $\text{ClO} \cdot \text{OO} \cdot$ radical [J] . *J Am Chem Soc* , 1995 , 117 (32) : 8322 ~ 8326 .

[10] WILSON R I . Free radical protection : why vitamin E , not vitamin C , β carotene or glutathione ? [A] . PORTER R , WHELAN J . *Biology of Vitamin E* : Gba Foundation Symposium No 101 [C] ; London : Ht man Books , 1983 . 19 .

[11] 赵文恩, 韩雅珊, 王其顺 . 类胡萝卜素对亚油酸甲酯氧化的抑制作用 [J] . *生物物理学报* , 2000 , 16 (3) : 627 ~ 633 .

[12] 赵文恩, 韩雅珊, 乔旭光 . 类胡萝卜素对磷脂酰胆碱脂质体过氧化的抑制作用 . *中国农业大学学报* , 1999 , 4 (5) : 11 ~ 15 .

[13] LIM B P , NAGAO A , TERAJO J , et al . Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical - mediated phospholipid peroxidation [J] . *Biochim Biophys Acta* , 1992 , 1126 (2) : 178 ~ 184 .

[14] LESLIE C A , DUBEY D P . Carotene and natural killer cell activity [J] . *Fed Pro* , 1982 , 41 (4) : 331 ~ 335 .

[15] ANDERSON R , THERON A J . Physiological potential of ascorbate , beta - carotene and alpha - tocopherol individually and in combination in the prevention of tissue

- damage, carcinogenesis and immune dysfunction mediated by phagocyte — derived reactive oxidants[J]. *World Rev Nutr Diet*, 1989, 6(1): 18~24.
- [16] WEITBERG A B, WEITZMAN S A, CLARK E P, et al. Effects of antioxidants on oxidant — induced sister chromatid exchange formation[J]. *J Clin Invest*, 1985, 75(6): 1835~1841.
- [17] ZHAO W, HAN Y, HIROTA S. Suppressive effect of carotenoids on the luminol dependent chemiluminescence of the stimulated rat macrophages[J]. *Chin Med Sci J*, 1999, 14(2): 121~124.
- [18] ZHAO W, HAN Y, ZHAO B, et al. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1381(1): 77~88.
- [19] MARLETTA M A, YOON P S, LYENGAR R, et al. Macrophage oxidation of L — arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate[J]. *Biochemistry*, 1988, 27(24): 8706~8711.
- [20] GRUNESYS, VOLK H, FALCK P, et al. The influence of phagocytic stimuli on the expression of HLA — DR antigens: role of reactive oxygen intermediates[J]. *Eur J Immunol*, 1986, 16(2): 212~215.
- [21] SANTOS M S, MEYDAN S N, LEKA L, et al. Natural killer cell activity in elderly men is enhanced by β — carotene supplementation[J]. *Am J Clin Nutr*, 1996, 64(5): 772~777.

The Antioxidant Properties of Carotenoids

ZHAO Wen — en

(College of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The carotenoids are one of the most important group of natural pigments. In addition to the provitamin A activity of some carotenoids, these pigments have recently been believed to exert the prevention of or protection against serious human diseases such as cancer, coronary heart disease, age — related macular degeneration and cataracts. The antioxidant properties of carotenoids have been implicated in the molecular basis for disease prevention, primarily because of the putative role of oxidative stress in disease initiation and progression. The scavenging effects on reactive oxygen species by carotenoids have been investigated by detecting the dim light emission of H_2O_2 — NaOCl system at 710 nm, observing the reaction with $\text{CD}3\text{OO}^{\bullet}$ generated by pulse radiolysis, measuring free radical — mediated production of methyl linoleate hydroperoxides and the thiobarbituric acid — reactive substance accumulation in free radical — induced lipid peroxidation on PC liposomes, and examining the luminol — dependent chemiluminescence of stimulated rat macrophages and the ability to scavenge the oxygen metabolites generated from free — cell systems. Carotenoids can quench singlet oxygen by physical process, react readily with $\text{CD}3\text{OO}^{\bullet}$, forming an adduct and carotenoid radical cation, inhibit the oxidation of methyl linoleate and lipid peroxidation of PC liposomes, and suppress the luminol dependent chemiluminescence of activated rat macrophages by scavenging the reactive oxygen species. Carotenoids in vivo protect host cells and tissues from harmful effects of oxygen metabolites overproduced by macrophages and enhance the generation of specific immune responses.

Key words: carotenoids; quenching singlet oxygen; scavenging free radicals; inhibiting lipid peroxidation; suppressing the respiratory burst of the macrophages