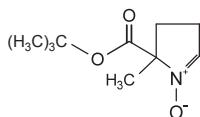


BMPO (货号: B568-10)**. 概述**

自旋捕捉技术是当今检测和鉴别不稳定自由基的最可靠的手段之一。顺磁共振波谱(ESR)捕捉剂能够成功的检测体内或体外生成的超氧自由基和羟自由基等。BMPO是同仁化学研究所(DOJINDO)自主开发生产的新型高效、高稳定型自由基捕捉剂。它在捕捉自由基能力上优于PBN、DMPO等一般捕获剂，与自由基的结合能力更强，半衰期($t_{1/2}=23\text{ min}$)更长，ESR谱图能够明显的区别不同的自由基结构如：GS和·OH。BMPO检测结果可靠性高、重复性强。由于具有高水溶性的特点，更利于水相体系自由基的研究，尤其是生物体系的自由基研究。

. 常规参数

名称: 5-tert-Butoxycarbonyl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide
性状：白色粉末
纯度： 99.0%
分子量：199.25 , C₁₀H₁₇NO₃
保存条件：-20℃，注意防潮
运输要求：室温

**. 操作步骤**

常规检测步骤 (*本数据仅供参考，具体参数可能因仪器厂家的不同而适当调整)

检测芬顿(Fenton)反应所产生的羟自由基：

1. 将1.5 mg的BMPO溶解于5 ml的超纯水。
2. 取15 μl的BMPO溶液，75 μl的1 mM的H₂O₂和75 μl的100 μM的FeSO₄加入到50 μl的超纯水中。
3. 放置一段时间(例如1 min)将溶液转入ESR样品管中检测。
4. 通过峰值计算相对强度。

检测黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶体系(XO)所产生的超氧自由基：

1. 溶液A：将1 mg的BMPO溶解于1 ml的浓度为50 mM的PBS溶液(pH 7.4)。
2. 溶液B：用50 mM的PBS溶液(pH 7.4)配制含有1 mM DTPA和0.4 mM黄嘌呤的混合溶液。
3. 溶液C：用50 mM的PBS溶液(pH 7.4)配制含有0.1 U/ml的黄嘌呤氧化酶溶液。
4. 取15 μl溶液A，135 μl溶液B和10 μl溶液C混合。
5. 放置一段时间(例如8 min)将溶液转入ESR样品管中检测。
6. 通过峰值计算相对强度。

. 实验例

(*本数据仅供参考，具体参数可能因仪器厂家的不同而适当调整)

*本数据均由Bruker公司ESR仪器检测得出，由于BMPO的分子结构在平面上差异较大，使得图中BMPO-OH的两种异构体的超精细结构常数较大能够被ESR分辨出来。本实验中BMPO-OH的两种立体异构体与BMPO-O[•]OOH的构成相似，两种BMPO结合物的适宜条件为：

构象异构体 (conformer) :

$$a_N = 13.47 \text{ G}, a_H^\beta = 15.31 \text{ G}, a_H^{\gamma_1} = 0.62 \text{ G}$$

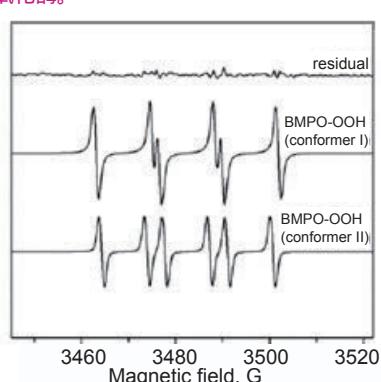
构象异构体 (conformer) :

$$a_N = 13.56 \text{ G}, a_H^\beta = 12.3 \text{ G}, a_H^{\gamma_1} = 0.66 \text{ G}$$

超氧化物检测操作流程

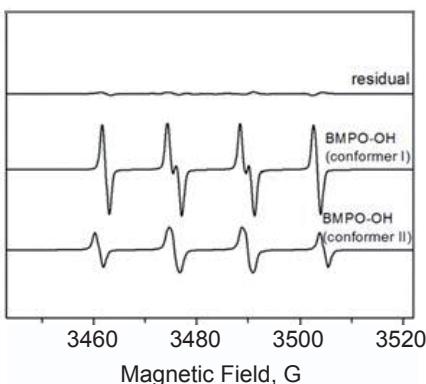
1. 用100 mM的PBS溶液(pH 7.4)制备浓度为25 μM的DTPA，作为过渡金属螯合剂。
2. 用100 mM PBS (pH 7.4)配制1 mM次黄嘌呤溶液。
3. 配制1 U/ml的黄嘌呤氧化酶溶液。
4. 将10 mg的BMPO溶于200 μl的PBS溶液中。(终浓度约为250 mM)。
5. 向EP管中加入70 μl缓冲液。
6. 继续添加20 μl浓度为250 mM的BMPO和100 μl步骤2中准备的1 mM的次黄嘌呤溶液。
7. 加入10 μl黄嘌呤氧化酶触发反应，将EP管漩涡震荡后转移到扁平池。
8. 上样并调整参数，获得图谱。

溶液终浓度为：25 mM BMPO，0.5 mM次黄嘌呤和0.05 U/ml的黄嘌呤氧化酶。

**羟自由基操作流程**

1. 分别准备1 mM的FeSO₄，10 mM的H₂O₂和250 mM的BMPO水溶液。
2. 向EP管中加入140 μl的超纯水。
3. 继续加入20 μl浓度为250 mM的BMPO和20 μl浓度为1 mM的FeSO₄。
4. 加入20 μl浓度为10 mM的H₂O₂，触发反应。
5. 混合并迅速转移至扁平池中。
6. 上样并调整参数，获得图谱。

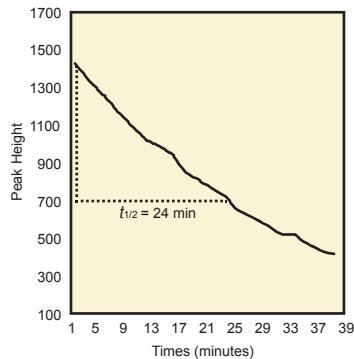
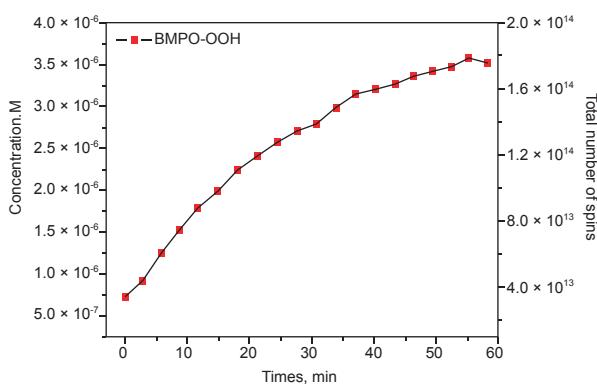
溶液终浓度为：25 mM BMPO，0.1 mM FeSO₄和1 mM H₂O₂



*建议实验人员做背景图片，以在ESR图谱中排除自选杂质的干扰。

V. 相关参考数据

超氧化物信号强弱随时间的变化曲线和半衰期时间



*BMPO检测超氧阴离子O₂^{·-}的半衰期(pH=7.4)更长。因此更适合长时间观察样品的实验。(如检测生物酶反应)

. 参考文献

1. Highly Catalytic Niobium Carbide (MXene) Promotes Hematopoietic Recovery after Radiation by Free Radical Scavenging, *ACS Nano*, 2019, 13(6), 6438-6454
2. Peroxymonosulfate enhanced visible light photocatalytic degradation bisphenol A by single-atom dispersed Ag mesoporous g-C₃N₄ hybrid, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2017, 211, 79-88
3. Synergetic Activation of Peroxymonosulfate by Co₃O₄ Modified g-C₃N₄ for Enhanced Degradation of Diclofenac Sodium under Visible Light Irradiation, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2017, 218, 810-818
4. Tailored synthesis of active reduced graphene oxides from waste graphite: Structural defects and pollutant-dependent reactive radicals in aqueous organics decontamination, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2018, 229, 71-80
5. Mitochondria-targeted TPP-MoS₂ with dual enzyme activity provides efficient neuroprotection through M1/M2 microglial polarization in an Alzheimer's disease model, *Biomaterials*, 2020, 232, 119752
6. Impact of humic acid on the degradation of levofloxacin by aqueous permanganate: Kinetics and mechanism, *Water Research*, 2017, 123, 67-74
7. Quinone group enhances the degradation of levofloxacin by aqueous permanganate: Kinetics and mechanism, *Water Research*, 2018, 143, 109-116
8. Enhanced Fenton-like degradation of pharmaceuticals over framework copper species in copper-doped mesoporous silica microspheres, *Chemical Engineering Journal*, 2015, 274, 298-306
9. MOF-templated synthesis of CoFe₂O₄ nanocrystals and its coupling with peroxymonosulfate for degradation of bisphenol A, *Chemical Engineering Journal*, 2018, 353, 329-339
10. Mechanism of Catalytic Ozonation in Fe₂O₃/Al₂O₃@SBA-15 Aqueous Suspension for Destruction of Ibuprofen, *Environ. Sci. Technol.*, 2015, 49(3), 1690-1697
11. Mechanism for enhanced degradation of clofibric acid in aqueous photocatalytic ozonation over MnO_x/SBA-15Qiangqiang, *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 286, 276-284