

# 中氮茛萘醌类化合物与 CT-DNA 相互作用的电化学

李 静, 杜江燕, 王炳祥, 龚美娟, 罗 鹏

(南京师范大学化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097)

[摘要] 用电化学方法研究了 4 个中氮茛萘醌化合物与小牛胸腺 DNA (CT-DNA) 作用前后在玻碳 (GC) 电极上的电化学行为. 实验结果表明, 中氮茛萘醌化合物在 pH 为 7.2 的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线中有两对氧化还原峰, 该氧化还原反应主要由溶液中化合物的扩散过程控制; 加入 CT-DNA 后化合物的氧化还原式电位明显正移, 表明化合物与 CT-DNA 的相互作用以嵌入方式为主.

[关键词] 中氮茛萘醌化合物, CT-DNA, 相互作用, 电化学行为

[中图分类号] O646 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2007)01-0064-04

## Interaction Between Indolizine-Naphthoquinones and CT-DNA by Cyclic Voltammetry

Li Jing, Du Jiangyan, Wang Bingxiang, Gong Meijuan, Luo Peng

(School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract** The interaction of four indolizine-naphthoquinones and CT-DNA was studied by cyclic voltammetry at glass carbon electrode. The results indicated that there were two couples of redox peaks and the redox reaction was controlled mainly by diffusion from the curve of  $I_p$  vs scan rate. The currents and peaks of indolizine-naphthoquinones decreased and shifted to the positive direction by adding CT-DNA in pH = 7.2 PBS solution. It can be suggested that the interaction between indolizine-naphthoquinones and DNA may be in the intercalative mode in the pH = 7.2 phosphate buffer solution.

**Key words** indolizine-naphthoquinones, CT-DNA, interaction, electrochemical action

## 0 引言

萘醌类化合物是一类广泛存在于自然界的小分子化合物, 具有多种生物活性, 其中一些化合物显示出独特的抗肿瘤作用, 如: 紫草素、胡桃醌、兰雪醌、维生素 K3 等<sup>[1]</sup>. 目前对萘醌类化合物抗肿瘤作用的机理研究较为活跃, 主要涉及以下 3 个方面<sup>[2-5]</sup>: (1) 萘醌类作为拓扑异构酶抑制剂 (topoisomerase inhibitor), 可干扰肿瘤细胞 DNA 的复制、转录及分裂过程; (2) 诱导 DNA 的光敏损伤, 可用于前期肿瘤的光敏疗法试剂; (3) 对药物分子化学结构-生物活性关系 (QSAR) 进行研究, 从而对药物分子合成进行优化设计及结构修饰, 合成活性高、毒副作用低的萘醌类抗肿瘤新药.

本文通过电化学手段研究了中氮茛萘醌化合物与小牛胸腺 DNA (CT-DNA) 作用前后在玻碳 (GC) 电极上的电化学行为, 以期对药物分子尤其是抗肿瘤药物分子与 DNA 的相互作用研究提供有用的信息.

收稿日期: 2006-03-15 修回日期: 2006-05-20

基金项目: 江苏省高校自然科学基金项目 (06KJB150054)、国家自然科学基金 (60571055) 资助项目.

作者简介: 李 静 (1984-), 女, 硕士研究生, 主要从事生物电化学的学习与研究. E-mail: keai\_lee@163.com

通讯联系人: 杜江燕 (1962-), 女, 博士, 副教授, 主要从事生物电化学的教学与研究. E-mail: dujiangyan@njnu.edu.cn

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

CT-DNA( 42% GC 含量, 北京华美生物工程公司 )使用前未经进一步提纯. 溶液用二次水配制, 浓度由紫外分光光度计标定 (  $\epsilon_{260} = 6600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  ).  $A_{260} / A_{280} \approx 1.9$  表明 CT-DNA 内不存在干扰测定的蛋白质. 溶液置于 4℃ 冰箱保存, 使用时间不超过 4 d

文中所用的中氮茛萘醌类化合物均按文献方法合成<sup>[6]</sup>, 且经进一步提纯. 该类化合物难溶于水, 用 DM SO 配制成浓度为  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的溶液, 室温下避光保存. 其他试剂均为分析纯, 所有溶液均用二次蒸馏水配制.

循环伏安测量用 M 273 型恒电位仪 (美国 EG& G 公司) 和传统的三电极电化学池进行. 铂丝为对电极, 饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极, 文中所有的电位均相对于 SCE, 工作电极为 GC 电极.

1.2 实验样品结构式

本文所用的 4 种中氮茛萘醌化合物结构式见图 1.

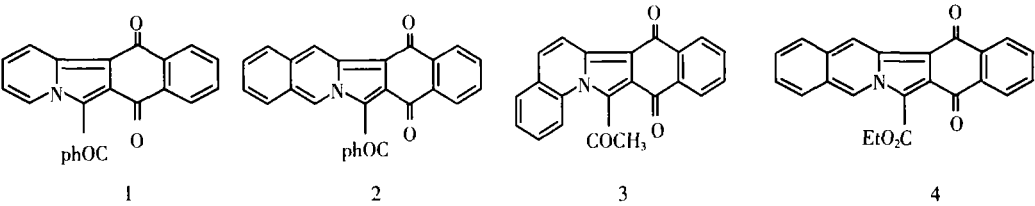


图 1 4 种中氮茛萘醌化合物结构式

Fig.1 Structural formulas of the Indolizine-naphthoquinones (INQ) compounds 1,2,3,4

1.3 循环伏安实验

工作电极依次用 03# 砂纸、0.3 和 0.05  $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$  粉末抛光至呈镜面, 二次蒸馏水中超声清洗 5 min 通高纯  $\text{N}_2$  5 min 以除去溶液中的氧. 室温条件、氮气氛围保护下进行循环伏安测量.

2 结果与讨论

2.1 中氮茛萘醌化合物在 GC 电极上的电化学行为

由图 2 与图 3 可知, 化合物 1 和 2 在  $\text{pH} = 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线上均有两对氧化还原峰, 其中化合物 1  $\Delta E_{p1} = 490 \text{ mV}$ ,  $\Delta E_{p2} = 420 \text{ mV}$ ,  $i_{pa} / i_{pc} \approx 1$ , 化合物 2  $\Delta E_{p1} = 387 \text{ mV}$ ,  $\Delta E_{p2} = 379 \text{ mV}$ ,  $i_{pa} /$

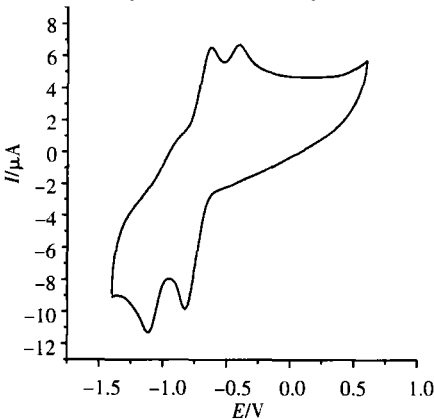


图 2  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  化合物 1 在  $\text{pH} 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中的 CV 曲线

扫描范围:  $-1.4 \sim 0.6 \text{ V}$ , 扫描速率:  $100 \text{ mV/s}$

Fig.2 The cyclic voltammogram of  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  compound 1 in phosphate buffer solution ( $\text{pH} 7.2$ ) at the glassy carbon electrode, scan range:  $-1.4 \sim 0.6 \text{ V}$ , scan rate:  $100 \text{ mV/s}$

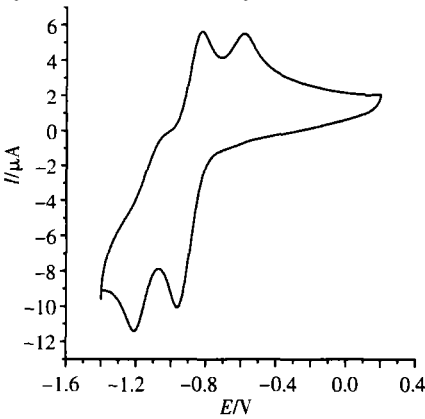


图 3  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  化合物 2 在  $\text{pH} 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中的 CV 曲线

扫描范围:  $-1.2 \sim 0.2 \text{ V}$ , 扫描速率:  $100 \text{ mV/s}$

Fig.3 The cyclic voltammogram of  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  compound 2 in phosphate buffer solution ( $\text{pH} 7.2$ ) at the glassy carbon electrode, scan range:  $-1.2 \sim 0.2 \text{ V}$ , scan rate:  $100 \text{ mV/s}$

$i_{pc} \approx 1$  表明它们在 GC 电极上可进行准可逆的电化学反应. 该类化合物氧化还原反应的两对峰可能分别归属于中氮茛和 1, 4- 萘醌的氧化还原反应.

在  $pH = 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中, 其余条件不变, 随着扫描速率增大, 氧化还原峰整体峰形基本保持不变, 但氧化还原峰电流依次增强, 并且氧化峰电位正移, 还原峰电位负移, 表明随着扫描速率的增大, 化合物的氧化还原反应的可逆性有所降低. 图 4 图 5 显示了化合物 1 的氧化峰电流及化合物 2 的还原峰电流分别与电位扫描速率的平方根呈线性关系 (线性相关系数  $R = 0.999\ 6\ 0.999\ 8$ ), 这在一定程度上说明该氧化还原反应主要由溶液中化合物的扩散过程控制.

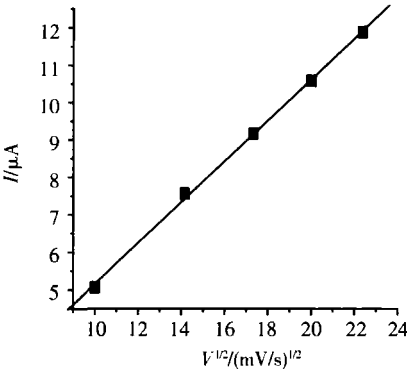


图 4  $1.0\times10^{-3}$  mol/L 化合物 1 在  $pH\ 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中循环伏安曲线所得的  $I_p$  与  $\nu^{1/2}$  的关系曲线  
扫描范围:  $-1.4\sim0.6\ V$   
扫描速率: 100, 200, 300, 400, 500 mV/s

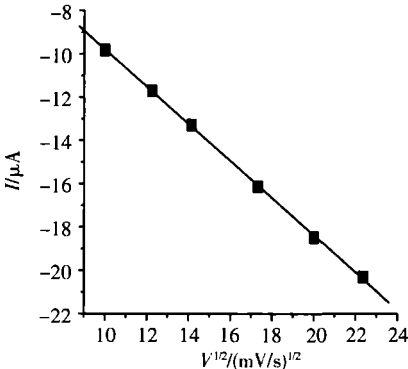


图 5  $1.0\times10^{-3}$  mol/L 化合物 2 在  $pH\ 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中循环伏安曲线所得的  $I_p$  与  $\nu^{1/2}$  的关系曲线  
扫描范围:  $-1.2\sim0.2\ V$   
扫描速率: 100, 150, 200, 300, 400, 500 mV/s

Fig.4 The relationship between  $I_p$  and  $\nu^{1/2}$  of compound 1 in phosphate buffer solution ( $pH\ 7.2$ ) at the glassy carbon electrode, scan range:  $-1.4\sim0.6\ V$ , scan rate: 100, 200, 300, 400, 500 mV/s

Fig.5 The relationship between  $I_p$  and  $\nu^{1/2}$  of compound 2 in phosphate buffer solution ( $pH\ 7.2$ ) at the glassy carbon electrode, scan range:  $-1.2\sim0.2\ V$ , scan rate: 100, 150, 200, 300, 400, 500 mV/s

2.2 加入 CT-DNA 后中氮茛萘醌化合物在 GC 电极上的电化学行为

在  $pH = 7.2$  的 PBS 缓冲溶液中加入小牛胸腺 DNA (CT-DNA) 后, 化合物的峰电流及峰电位发生了明显变化 (图 6 7). 随着 CT-DNA 浓度增加, 氧化还原峰电流减小, 氧化还原式电位  $E^{o'}$  ( $E^{o'} = (E_{pa} + E_{pc}) / 2$ ) 正移 (如图 6 中, 曲线 a- b- c 的  $E^{o'}$  依次正移 23 mV、20 mV), 同时较负的一对氧化还原峰消失.

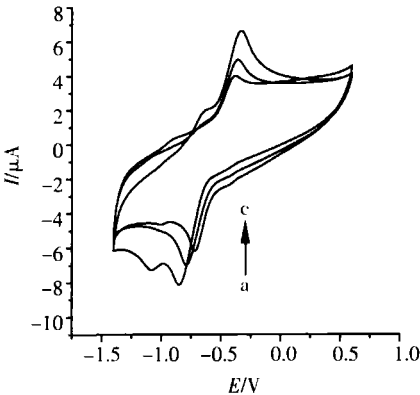


图 6  $1.0\times10^{-3}$  mol/L 化合物 1 在含 (a)  $6\times10^{-5}$  mol/L, (b)  $1.2\times10^{-4}$  mol/L, (c)  $1.8\times10^{-4}$  mol/L CT-DNA 的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线  
扫描范围:  $-1.4\sim0.6\ V$ , 扫描速率: 100 mV/s

Fig.6 The cyclic voltammograms of  $1.0\times10^{-3}$  mol/L compound 1 in phosphate buffer solution ( $pH\ 7.2$ ) with (a)  $6\times10^{-5}$ , (b)  $1.2\times10^{-4}$ , (c)  $1.8\times10^{-4}$  mol/L CT-DNA at the glassy carbon electrode, scan range  $-1.4\sim0.6\ V$ , scan rate=100 mV/s

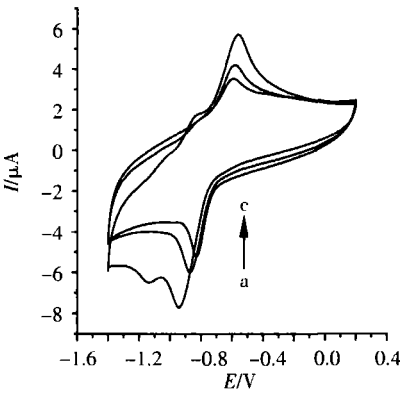


图 7  $1.0\times10^{-3}$  mol/L 化合物 2 在含 (a)  $6\times10^{-5}$  mol/L, (b)  $1.2\times10^{-4}$  mol/L, (c)  $1.8\times10^{-4}$  mol/L CT-DNA 的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线  
扫描范围:  $-1.2\sim0.2\ V$ , 扫描速率: 100 mV/s

Fig.7 The cyclic voltammograms of  $1.0\times10^{-3}$  mol/L compound 2 in phosphate buffer solution ( $pH\ 7.2$ ) with (a)  $6\times10^{-5}$ , (b)  $1.2\times10^{-4}$ , (c)  $1.8\times10^{-4}$  mol/L CT-DNA at the glassy carbon electrode, scan range  $-1.2\sim0.2\ V$ , scan rate=100 mV/s

Bard<sup>[7-10]</sup>等对一些电活性分子与 DNA 之间的不同的相互作用方式对电活性分子的循环伏安行为影响进行研究,发现当与 CT-DNA 作用方式为嵌插堆积作用时,引起其氧化还原式电位正移;当作用方式为静电作用时,引起氧化还原式电位负移.化合物与 DNA 作用使其氧化还原式电位 ( $E^{\circ'}$ ) 正移,根据文献报道,此时化合物与 CT-DNA 之间的相互作用以嵌入方式为主.

加入 CT-DNA 后化合物的氧化还原峰电流明显减小,究其原因可能有: (1) 化合物与 CT-DNA 结合,使其扩散系数减小; (2) 当化合物分子嵌入到 CT-DNA 的双链中时,化合物的氧化还原活性中心可能被包埋.加入 CT-DNA 后化合物的还原峰电流及电位的变化较之氧化峰更加明显,可能是由于化合物还原态酚羟基上的 H 均可参与到与碱基的氢键作用,使得还原产物与 DNA 的结合更稳定,导致还原峰电流及电位的变化更加明显.此外加入 CT-DNA 后,较负的一对氧化还原峰消失,其原因有待进一步的研究.

化合物 3、4 的性质与化合物 1、2 类似,实验结果也与化合物 1、2 基本相同.

### 3 结论

本文用电化学方法研究了 4 个中氮茚萘醌化合物与 CT-DNA 作用前后在玻碳电极上的电化学行为.实验结果表明,中氮茚萘醌化合物在 pH 为 7.2 的 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线中有两对氧化还原峰,该氧化还原反应主要由溶液中化合物的扩散过程控制;加入 CT-DNA 后化合物的氧化还原式电位明显正移,表明化合物与 CT-DNA 的相互作用以嵌入方式为主.

### [参考文献]

- [1] 管鹏健,徐德锋,李绍顺. 萘醌类化合物抗肿瘤活性进展[J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(4): 249-256
- [2] Rajeshwar P V, Cprw in H. Elucidation of structure-activity relationships for 2-or 6-substituted-5, 8-dimethoxy-1, 4-naphthoquinones[J]. Bioorg & Med Chem, 2004, 12(22): 5997-6009.
- [3] Park H J, Lee H J, Lee E J et al. Cytotoxicity and DNA topoisomerase inhibitory activity of benz[*f*] indole-4, 9-dione analogs[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2003, 67(9): 1944-1949.
- [4] Ting C Y, Hsu C T, Hsu H T, et al. Isodiospyrin as a novel human DNA topoisomerase I inhibitor[J]. Biochem Pharm, 2003, 66(10): 1981-1991.
- [5] Silva M N, Ferreira V F, Souza M C B V. An overview of the chemistry and pharmacology of naphthoquinones with emphasis on beta-lapachone and derivatives[J]. Quimica Nova, 2003, 26(3): 407-416.
- [6] 王炳祥,何婷,胡宏纹. 二铬酸氢吡啶合钴( )存在下吡啶叶立德与 1, 4-萘醌的反应[J]. 化学学报, 2003, 61(6): 889-892.
- [7] Michael T C, Marisol R, Allen J B. Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA 2 tris-chelated complexes of cobalt( ) and iron( ) with 1, 10-phenanthroline and 2, 2'-bipyridine[J]. J Am Chem Soc, 1989, 111(24): 8901-8911.
- [8] Michael T C, Allen J B. Voltammetric studies of the interaction of tris(1, 10-phenanthroline) cobalt( ) with DNA[J]. J Am Chem Soc, 1987, 109(24): 7528-7530.
- [9] Xu X H, Allen J B. Immobilization and hybridization of DNA on an aluminum( ) alkanebisphosphonate thin film with electrogenerated chemiluminescent detection[J]. J Am Chem Soc, 1995, 117(9): 2627-2631.
- [10] Marisol R, Allen J B. Electrochemical studies of the interaction of metal chelates with DNA 4 voltammetric and electrogenerated chemiluminescent studies of the interaction of tris(2, 2'-bipyridine) osmium( ) with DNA[J]. Anal Chem, 1990, 62(24): 2658-2662.

[责任编辑: 顾晓天]