

2008-02-28

Electrochemical Behavior of 6-substituted Purines and its Interaction with DNA

Bao-yi LU

You-zhi ZHENG

Hong LI

Recommended Citation

Bao-yi LU, You-zhi ZHENG, Hong LI. Electrochemical Behavior of 6-substituted Purines and its Interaction with DNA[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2008 , 14(1): 34-39.

DOI: 10.61558/2993-074X.1859

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol14/iss1/8>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

文章编号: 1006-3471(2008)01-0034-06

6 取代嘌呤的电化学行为及与 DNA 的相互作用

陆宝仪, 郑有志, 李红*

(华南师范大学化学与环境学院, 广东 广州 510006)

摘要: 应用循环伏安法和微分脉冲伏安法研究了 6 糠氨基嘌呤 (6-KT) 和 6 巯基嘌呤 (6-MP) 在汞电极上的电化学行为及与小牛胸腺 DNA 的相互作用. 结果发现, 6-KT 和 6-MP 的循环伏安曲线均显示两对分别表征为扩散控制和吸附控制的氧化还原波. 扩散控制波的氧化峰电流随 6 取代嘌呤浓度在 $0.1 \sim 50.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系. 依据预吸附时间和溶液 pH 值对吸附控制波的还原峰电位和峰电流的影响, 讨论了 6-KT 和 6-MP 在汞电极上的吸附机理. 作者认为, 6-KT 乃通过部分插入作用与 DNA 结合, 而 6-MP 与 DNA 间的相互作用为静电模式.

关键词: 6 糠氨基嘌呤; 6 巯基嘌呤; DNA; 电化学行为

中图分类号: O 646

文献标识码: A

6 糠氨基嘌呤 (6-KT) 和 6 巯基嘌呤 (6-MP) 是嘌呤类的衍生物, 其结构如图 1 所示. 6-KT 是重要的植物激素, 基于其侧链上的环状结构, 具有较高的促进细胞分裂活性^[1]. 6-MP 是一种治疗急性白血病和绒毛膜上皮癌的重要抗肿瘤药物, 其药理作用被认为与腺嘌呤上 6 氨基被巯基取代及影响 RNA 和 DNA 的合成有关^[2]. 目前, 研究嘌呤类衍生物的方法主要有高效液相色谱法、紫外光谱法、荧光光谱法、拉曼光谱法以及核磁共振技术^[3-9].

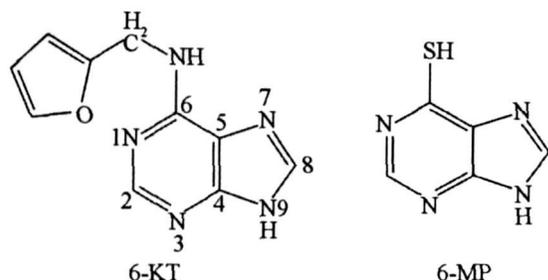


图 1 6 糠氨基嘌呤 (6-KT) 和 6 巯基嘌呤 (6-MP) 分子结构示意

Fig 1 Structure of the 6-furfurylam inopurine (6-KT) and 6-mercaptopurine (6-MP)

由于嘌呤碱基在合适的电位条件下容易发生氧化或还原, 因此电化学法也成为研究嘌呤类衍生物的重要方法之一^[10-15]. 虽然这些嘌呤类衍生物在 Au, Hg, Pt, C 等电极上的伏安性能或吸附行为已有一些研究, 但有关 6 取代基结构对嘌呤类衍生物的电化学行为及其与 DNA 作用的影响却较少见诸文献报道. 为此, 本文首先研究 6 取代基结构对 6-KT 和 6-MP 在汞电极上电化学行为的影响, 探讨它们的反应机理, 进而研究其与 DNA 的相互作用.

1 实验部分

主要仪器: 797VA 伏安极谱仪 (瑞士 Metrohm), pH S-3C 精密酸度计 (上海雷磁).

药品: 6 糠氨基嘌呤 (6-KT, 上海伯奥生物科技有限公司); 6 巯基嘌呤 (6-MP, 上海国药集团化学试剂有限公司); 三羟甲基氨基甲烷 (Tris, 上海伯奥生物科技有限公司); 小牛胸腺 DNA (华美公司), 其浓度以核苷酸计, 在 260 nm 波长下测定, 摩尔吸光系数取 $6600 \text{ L/mol} \cdot \text{cm}^{[16]}$; 支持电解质为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris / $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl (pH = 7.3) 缓冲溶液. 实验用水为二次重蒸水.

实验使用仪器配套的电解池, 工作电极为悬汞

电极, 几何面积 0.08 cm^2 , 预吸附时间由配套软件控制, 对电极为大面积铂丝, 参比电极为 Ag-AgCl ($3.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$).

除非特别说明, 6 取代嘌呤浓度均为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 循环伏安扫描速率为 $40 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. 测定前均通入高纯氮气 10 min . 实验温度为 $(26 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$.

2 结果与讨论

2.1 6 取代嘌呤的电化学行为

图 2 分别示出 6-KT 和 6-MP 在汞电极 (未经预吸附) 上于 $-0.1 \sim -1.4 \text{ V}$ 电位区间内的循环伏安 (CV) 曲线. 从图可见, 在不同扫描速率下的 CV 曲线均出现一对明显的氧化还原波 I_1 , 峰电位基本不受扫速影响 ($5 \sim 80 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$), 其条件电位 (即还原峰电位与氧化峰电位之和的一半) 分别为 -0.990 V (6-KT) 和 -1.010 V (6-MP). 后者较前者负移了 20 mV , 这可能是由于巯基较糠氨基具有更强的供电子能力, 从而导致 6-MP 更难被还原. 若以 6-KT 或 6-MP 的还原峰电流对扫速平方根作图, 均可得到一条直线 (见图 2 插图), 说明该电极过程主要受扩散控制. 当改变 6-KT 或 6-MP 浓度测定其在汞电极上的 CV 曲线发现, 无论是 6-KT 还是 6-MP, 其波 I_1 对应的氧化峰电流均随浓度的增加而增大, 且在 $0.1 \sim 50.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好线性关系, 相关系数大于 0.99 , 结果如图 3 所示.

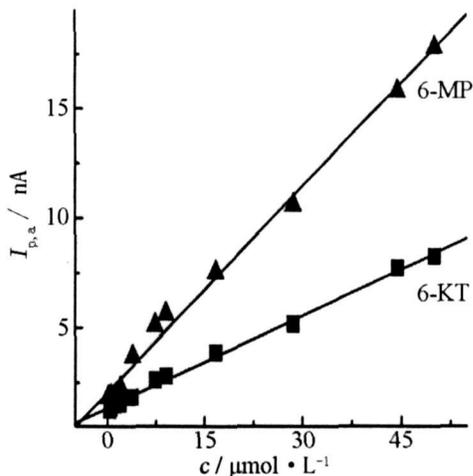
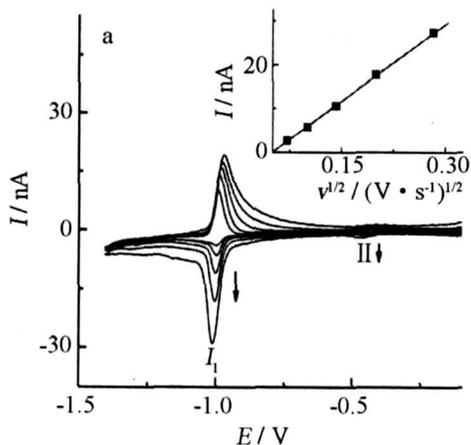


图 3 6-KT 和 6-MP 在汞电极上预吸附 100 s 后其 CV 的氧化峰电流 I_1 随浓度的变化曲线

Fig 3 Plots of anodic peak current I_1 for 6-KT and 6-MP on the Hg electrode with accumulating time of 100 s as a function of its concentration

图 4 示明, 当 6-KT 和 6-MP 在汞电极上经过预吸附 500 s 后, 二者原先在 $-0.7 \sim -1.4 \text{ V}$ 电位区间出现的氧化还原波基本不变, 不同的是在更负的电位下还出现一明显的后置波 I_2 , 这主要是由于反应物强吸附引起. 若取其后置波 I_2 峰电流对扫速作图, 也可得到线性关系良好的直线, 进一步表明当反应物 6-KT 和 6-MP 在汞电极上经预吸附一定时间后, 其电极过程也呈现出明显的表面电化学反应过程特征.

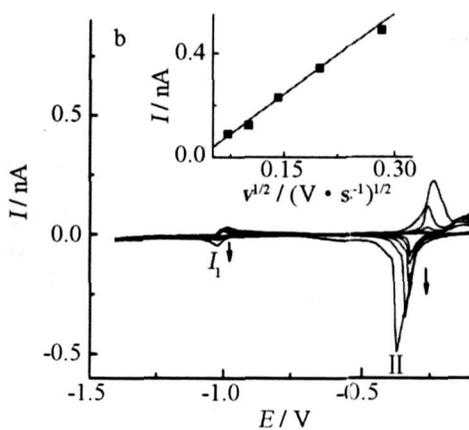


图 2 6-KT (a) 和 6-MP (b) 在未经预吸附的汞电极上循环伏安曲线 扫速 $/\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: 1) 5, 2) 10, 3) 20, 4) 40, 5) 80

插图为还原峰 I_1 电流对扫速的平方根变化关系图

Fig 2 Cyclic voltammograms of 6-KT (a) and 6-MP (b) on the Hg electrode without accumulation scan rate $/\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: 1) 5, 2) 10, 3) 20, 4) 40, 5) 80, inset is plots of cathodic peak I_1 vs square root of scan rate

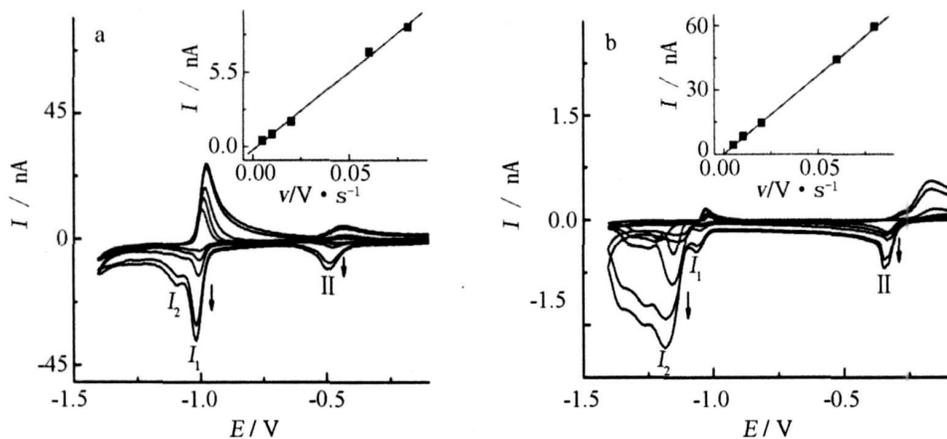


图 4 6-KT(a)和 6-MP(b)在汞电极上预吸附 500 s后的循环伏安图

扫速 /mV · s⁻¹: 1) 5, 2) 10, 3) 20, 4) 60, 5) 80, 插图为还原峰 II 电流随扫速变化关系

Fig 4 Cyclic voltammograms of 6-KT(a) and 6-MP(b) on the Hg electrode with accumulating time of 500 s

scan rate/mV · s⁻¹: 1) 5, 2) 10, 3) 20, 4) 60, 5) 80, inset is plots of cathodic peak II currents vs scan rate

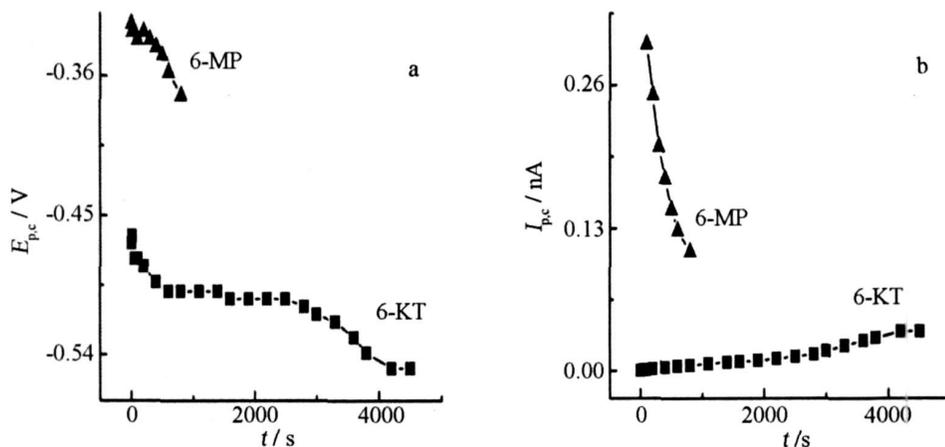


图 5 6-KT和 6-MP的 CV还原峰电位 (a)和峰电流 (b)随预吸附时间的变化关系

Fig 5 Plots of the CV cathodic peak potentials (a) and peak currents (b) for 6-KT and 6-MP as a function of accumulating time

从图 2和图 4还可以看到, 6-KT和 6-MP在 0 ~ -0.7 V 电位区间内有另一对氧化还原波 II 当二者在汞电极上预吸附 500 s后, 其还原峰电流也随扫速的增加而增大, 并与扫速呈良好线性关系 (见图 4插图), 表明波 II 电极过程主要受表面吸附控制. 然而, 对未经预吸附的汞电极 (如图 2所示), 6-MP的氧化还原波较 6-KT的强得多, 表明前者在汞电极上的吸附较后者快速得多, 这可能与 6-MP上的巯基与汞表面间的特殊相互作用有关.

图 5 5 示明, 随着预吸附时间的延长, 6-KT和 6-MP的还原峰电位均发生负移, 但峰电流的变化规律却是: 前者的还原峰电流逐渐增大, 而后者迅速

减小. 对此, 作者试作解释如下: 6-KT嘌呤环上的 1, 3, 7, 9 位 N 和 6 位 C 原子上的 N 均有可能通过与 Hg 之间的作用固定到电极表面^[6-7, 17]. 当它在汞电极上的预吸附时间被延长时, 由于其相邻分子间可以通过 N6-H...N7, N3...H-N9 或 C8-H...O 形成分子间氢键^[17], 这种作用促进了它在汞电极上的进一步吸附富集, 因此其还原峰电流会随预吸附时间的延长而不断增大; 而 6-MP 主要靠分子中的 S 原子与 Hg 之间强的静电作用固定到电极表面, 形成自组装单分子层^[11-12], 这是一个很快的电极过程, 且由于它的分子尺寸比 6-KT 小, 可以通过分子间的氢键作用进一步增加所形成单层的紧密

性, 从而阻碍了它与汞电极之间的电子传递^[18], 因此, 随着预吸附时间的延长, 6-MP 的氧化还原峰电位差增大, 峰电流下降.

上面已提到, 6-KT 和 6-MP 在 0 ~ -0.7 V 电位区间于汞电极上的电极过程由表面电化学控制, 据此, 二者在电极上的吸附应符合如下关系式^[19]:

$$I_p = \frac{nFQv}{4RT} \quad (1)$$

式中 $Q = nFA\Gamma$ 为线性伏安扫描的峰面积, n 为电子转移数, v 为扫描速率, I_p 为峰电流, F 为法拉第常数, Γ 为吸附量. 即如图 4 插图所示, 该 6-KT 与 6-MP 的峰电流确与扫速成正比, 据图, 由斜率和峰面积分别求得二者的电子转移数均为 1.

图 6 给出 6-KT 和 6-MP 在 0 ~ -0.7 V 电位区间内的还原峰电位随溶液 pH 值的变化可以看到, 当预吸附时间为 500 s 时, 两种取代嘌呤的还原峰电位在实验的 pH 范围内均随 pH 值的增大而负移, 表明相关的电极反应确有 H^+ 参与.

2.2 6 取代嘌呤与 DNA 间的相互作用

图 7 示出预吸附时间为 100 s 在 -0.7 ~ -1.2 V 电位区间内 6-KT 和 6-MP 分别与 DNA 作用前后的微分脉冲伏安曲线. 由于 DNA 分子中碱基的电化学活性位点深藏在分子的双螺旋中, 因此未变性的 DNA 分子通常不产生电还原信号^[20]. 但因 DNA 在汞电极上有一定的富集作用, 所以在 -0.960 V 处出现一弱的还原波 (见图 7 曲线 1). 如图可见, 分别当向 2 种 6 取代嘌呤溶液加入 1:1 的 DNA 后, 二者的还原峰电流都随之大幅度减小,

同时 6-KT 的峰电位正移约 24 mV, 但 6-MP 峰电位变化不大. 峰电位的移动可以作为判断 DNA 与电化学活性分子作用模式的依据之一, 参照文献 [21], 如果 6-KT 与 DNA 之间的作用方式是插入结合, 将会引起其峰电位正移, 同时导致反应活性分子的相对摩尔质量和黏度增大, 从而使 6-KT 扩散速率减慢, 还原峰电流减小. 但对 6-MP 大多认为是通过静电结合的方式与 DNA 作用, 所以于其溶液加入 DNA 后, 还原峰电位基本不变, 这与文献 [22-23] 所述一致. 造成 6-KT 和 6-MP 与 DNA 作用方式的不同, 可能与 6 取代基的组成及分子大小有关.

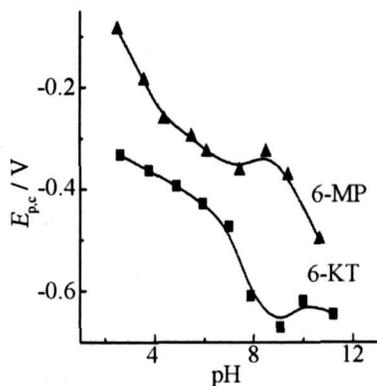


图 6 6-KT 和 6-MP 在汞电极上预吸附 500 s 后 CV 还原峰电位随溶液 pH 值变化曲线

Fig 6 Plots of the CV cathodic peak potentials as a function of solution pH for the 6-KT and 6-MP on the Hg electrode at accumulating time of 500 s

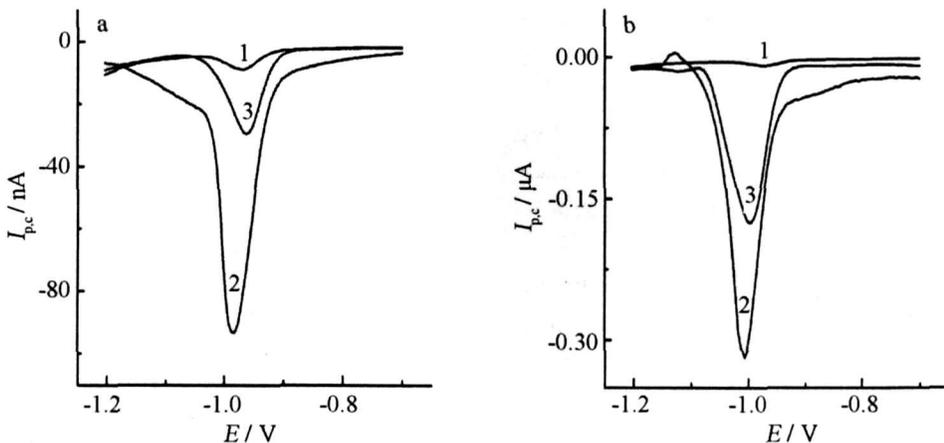


图 7 6-KT (a) 和 6-MP (b) 在汞电极上经预吸附 100 s 后与 DNA 作用的微分脉冲曲线. 曲线: 1) DNA, 2) 6-KT (a) 或 6-MP (b), 3) 6-KT/DNA (a) 或 6-MP/DNA (b), DNA 浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

Fig 7 Differential pulse voltammograms showing interaction between 6-KT (a) or 6-MP (b) and DNA on the Hg electrode with accumulating time of 100 s. curve: 1) DNA, 2) 6-KT (a) or 6-MP (b), 3) 6-KT/DNA (a) or 6-MP/DNA (b), DNA concentration: $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

3 结 论

1) 6-**KT**和 6-**MP**在汞电极上呈现两对分别由扩散控制和吸附控制的氧化还原波.

2) 扩散控制波的氧化峰电流随着 6-**KT**和 6-**MP**浓度的增加而增大,且在 $0.1 \sim 50.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈现良好的线性关系.

3) 6取代基结构对 6-**KT**和 6-**MP**在汞电极上的电化学行为存在明显的影响. 吸附控制波的峰电位随着溶液 pH值和预吸附时间的延长而负移, 6-**KT**的还原峰电流随预吸附时间的延长而增大,而 6-**MP**的还原峰电流则随着预吸附时间的延长而减小,由此提出了它们不同的吸附机理.

4) 6-**KT**通过部分插入作用与 DNA结合,而 6-**MP**与 DNA间的相互作用为静电模式.

参考文献 (References):

- [1] Barciszewski J, Rattan S I S, Siboska G, et al. Kinetic — 45 years on [J]. *Plant Sci* 1999, 148, 37-45.
- [2] Nelson J A, Carpenter J W, Adamson M L. Mechanism of Action of 6-thioguanine, 6-mercaptopurine and 8-azaguanine [J]. *Cancer Res* 1975, 35, 2872-2877.
- [3] Cao X N, Lin L, Zhou Y Y, et al. Study of the interaction of 6-mercaptopurine with protein by microdialysis coupled with LC and electrochemical detection based on functionalized multi-wall carbon nanotubes modified electrode [J]. *J Pharmaceut Biomed* 2003, 32, 505-512.
- [4] Zhou C F, Du X S, Li H. Studies of interactions among cobalt(III) polypyridyl complexes, 6-mercaptopurine and DNA [J]. *Bioelectrochemistry* 2007, 70, 446-451.
- [5] Shen X C, Jiang L F, Liang H, et al. Determination of 6-mercaptopurine based on the fluorescence enhancement of Au nanoparticles [J]. *Talanta* 2006, 69, 456-462.
- [6] Wu H, Wang H G. Studies of the influence of the surfactant sodium dodecyl sulfate on the fluorescence properties of kinetin [J]. *Anal Chim Acta* 1996, 329, 161-164.
- [7] Yang H F, Liu Y L, Liu Z M, et al. Raman mapping and in situ SERS spectroelectrochemical studies of 6-mercaptopurine SAMs on the gold electrode [J]. *J Phys Chem B* 2005, 109, 2739-2744.
- [8] Chu H, Yang H F, Huan S Y, et al. Orientation of 6-mercaptopurine SAMs at the silver electrode as studied by Raman mapping and in situ SERS [J]. *J Phys Chem B* 2006, 110, 5490-5497.
- [9] Lakomska I, Pazderski L, Sitkowski J, et al. Multinuclear NMR spectroscopy and antiproliferative activity in vitro of platinum(II) and palladium(II) complexes with 6-mercaptopurine [J]. *J Mol Struct* 2004, 707, 241-247.
- [10] Madueño R, Sevilla J M, Pineda T, et al. A voltammetric study of 6-mercaptopurine monolayers on polycrystalline gold electrodes [J]. *J Electroanal Chem* 2001, 506, 92-98.
- [11] Sevilla J M, Pineda T, Madueño R, et al. Characterization of 6-mercaptopurine monolayers on Hg surfaces [J]. *J Electroanal Chem* 1998, 442, 107-112.
- [12] Madueño R, Pineda T, Sevilla J M, et al. The kinetics of the dissolution of 6-mercaptopurine self-assembled monolayers on Au(111) and Hg electrodes [J]. *J Electroanal Chem* 2005, 576, 197-203.
- [13] Cao X N, Lin L, Zhou Y Y, et al. Amperometric determination of 6-mercaptopurine on functionalized multi-wall carbon nanotubes modified electrode by liquid chromatography coupled with microdialysis and its application to pharmacokinetics in rabbit [J]. *Talanta* 2003, 60, 1063-1070.
- [14] Liu C H (刘彩红), Li H (李红), Zhu W (朱伟). The interaction of $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$ with 6-mercaptopurine on a rotating platinum disk [J]. *Acta Phys Chim Sin (in Chinese)*, 2004, 20(4): 440-444.
- [15] Ballesteros Y, Gonzalez de la Huebra M J, Quintana M C, et al. Voltamperometric determination of kinetin with a carbon paste modified electrode [J]. *Microchem J* 2003, 74, 193-202.
- [16] Reichmann M E, Rice S A, Thomas C A, et al. A further examination of the molecular weight and size of deoxy pentose nucleic acid [J]. *J Am Chem Soc* 1954, 76, 3047-3053.
- [17] Holdema-Natkaniec K, Natkaniec I, Kasperkowiak W, et al. The INS-IR and DFT studies of hydrogen bonds in 6-furfuryl and 6-benzylaminopurines [J]. *J Mol Struct* 2006, 790, 94-113.
- [18] Madueño R, Pineda T, Sevilla J M, et al. An electrochemical study of 6-thioguanine monolayers on a mercury electrode in acid and neutral solutions [J]. *J Electroanal Chem* 2004, 565, 301-310.
- [19] Bard A J, Faulkner L R. *Electrochemical methods* [M]. New York: John Wiley & Sons, 1980. 522.
- [20] Li H (李红), Ji L N (计亮年), Li W S (李伟善),

- et al Progress in electrochemical studies of deoxyribonucleic acid [J]. Chinese J Inorg Chem (in Chinese), 2003, 19(3): 225-231.
- [21] Zhao Y D (赵元弟), Pang D W (庞代文), Wang Z L (王宗礼), et al Electrochemical deoxyribonucleic acid sensors [J]. Chinese J Anal Chem (in Chinese), 1996, 24(3): 364-368.
- [22] Lu J X (卢继新), Zhang G Z (张贵珠), Huang Z N (黄志娜), et al Study on the mechanism of the interaction between mercaptopurine metal complexes and calf thymus DNA [J]. Acta Chim Sinica (in Chinese), 2002, 60(6): 967-972.
- [23] Ye B X (冶保献), Muhetaer T (木合塔尔·吐尔洪), Qu S (曲松). Electrochemical studies of interaction between anticancer drug 6-mercaptopurine and DNA [J]. J Anal Sci (in Chinese), 2004, 20(4): 364-366.

Electrochemical Behavior of 6-substituted Purines and its Interaction with DNA

LU Bao-yi ZHENG You-zhi LI Hong*

(School of Chemistry and Environment South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The electrochemical behavior of 6-furfurylam inopurine (6-KT) and 6-mercaptopurine (6-MP) on a mercury electrode has been investigated using cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry. It is found that there are two pairs of redox waves for 6-KT and 6-MP on the mercury electrode controlled by diffusion and adsorption, respectively. The anodic peak currents of the diffusion-controlled wave increase with the adding concentration of 6-substituted purines. A good linear relationship for 6-KT and 6-MP is revealed in the concentration range from 0.1 to 50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Based on the effects of accumulating time and pH values on the cathodic peak potentials and currents of adsorption-controlled waves, their adsorption mechanism is discussed. The experimental results show that there are interactions of 6-KT and 6-MP with DNA via the intercalative mode partly and electrostatic action, respectively.

Key Words: 6-furfurylam inopurine; 6-mercaptopurine; DNA; electrochemical behavior