

甲 啶 铂 在 玻 碳 电 极 上 的 电 化 学 行 为 及 其 与 DNA 相 互 作 用 研 究

叶丽清¹, 闫莉莉¹, 向明武¹, 高云涛^{1*}, 贝玉祥²

(1. 云南民族大学 化学与生物技术学院, 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 昆明 650500;

2. 昆明贵研药业有限公司, 昆明 650106)

摘 要: 采用循环伏安法(CV)和差分脉冲伏安法(DPV), 研究了甲啶铂在多壁碳纳米管-离子液体修饰玻碳电极(MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE)上的电化学反应, 建立了甲啶铂的测定方法; 以紫外-可见光谱法和电化学方法相结合, 研究了甲啶铂与 DNA 的嵌插结合作用。结果表明: 甲啶铂在 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 上有一对氧化还原峰, 氧化峰电位 E_{pa} 与还原峰电位 E_{pc} 分别为 -0.07 V、-0.36 V, 峰电位之差为 $\Delta E=0.29$ V, $I_{pa}/I_{pc}=1.11$ 。在优化条件下, 甲啶铂的氧化峰电流与其浓度在 2.66~532 $\mu\text{mol/L}$ 范围内成良好的线性关系 ($r=0.9994$), 检出限为 1.33 $\mu\text{mol/L}$ 。方法操作简便, 准确可靠、灵敏度高, 可用于甲啶铂含量的直接测定。

关键词: 分析化学; 甲啶铂; 多壁碳纳米管; 离子液体; 玻碳电极; 电化学反应; 伏安法

中图分类号: O657.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2014)01-0063-07

Study on the Electrochemical Behavior of Picoplatin and Interaction of Picoplatin with DNA at Glassy Carbon Electrode

YE Liqing¹, YAN Lili¹, XIANG Mingwu¹, GAO Yuntao^{1*}, BEI Yuxiang²

(1. Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, College of Chemistry and Biotechnology, Yunnan University of Nationalities, Kunming 650500, China;

2. Kunming Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: The electrochemical behavior of picoplatin at multi-walled carbon nanotubes ionic liquids modified glassy carbon electrode (MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE) was investigated by cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry, and the method of picoplatin determination was established. The mode of intercalation between picoplatin with DNA was studied by electrochemical methods combined with UV-visible spectroscopy. The results show that one pair of redox peaks of picoplatin was obtained at MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE by cyclic voltammetry with -0.07 V of E_{pa} and -0.36 V of E_{pc} , $\Delta E=0.29$ V, and $I_{pa}/I_{pc}=1.11$. Under optimal conditions, the oxidization peak current was linearly related to the concentration of picoplatin in the range of 2.66~532 $\mu\text{mol/L}$ with the detection limit of 1.33 $\mu\text{mol/L}$. The method was convenient, accurate, credible and sensitive, it can be used in the direct determination of picoplatin.

Key words: analytical chemistry; picoplatin; multi-walled carbon nanotubes; ionic liquids; glassy carbon electrode; electrochemical behavior; voltammetry

甲啶铂(picoplatin)是顺式-二氯一氨, (2-甲基吡啶)合铂(II)的简称, 化学结构见图 1。

收稿日期: 2013-08-01

基金项目: 云南省创新团队计划(2011HC008)、云南省高校科技创新团队计划项目(2011UY09)。

第一作者: 叶丽清, 女, 硕士研究生, 研究方向: 电化学分析。E-mail: budian667@126.com

*通讯作者: 高云涛, 男, 博士, 教授, 研究方向: 分析化学。E-mail: yuntaogao@sohu.com

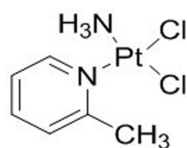


图 1 甲脒铂的分子结构

Fig.1 The structure of picoplatin

甲脒铂具有广谱、低毒、高效、抗交叉耐药性等特点,临床上主要用于治疗结直肠癌、卵巢癌、前列腺癌及小细胞肺癌等^[1-3]。文献报道的对于甲脒铂的测定方法主要有 ICP-MS^[4]、HPLC-UV^[5]等。闫莉莉等^[6]报道了新型抗癌药甲脒铂在多壁碳纳米管玻碳电极上的电化学行为及 DPV 测定方法,放茂良等^[7]研究了顺铂的电化学行为及测定方法。研究表明,铂类抗癌药具有良好的电化学行为,可用电化学方法测定。

DNA 是一种重要的生物大分子,是抗癌药物作用的主要靶标。药物分子与 DNA 的相互作用程度影响到 DNA 的复制、合成等性质^[8-9],因此研究药物分子与 DNA 的相互作用可为抗癌药物的初步筛选提供有用的信息,并有助于从分子水平上了解抗癌药物的作用机理,可为设计、合成低毒高效的抗癌药物提供理论和实验基础。药物分子与 DNA 相互作用的研究方法有紫外-可见光谱法^[10]、荧光光谱法^[11]、共振散射光谱法^[12]、电化学方法^[13]等。

本文作者曾经研究了卡铂的电化学行为及其测定^[14],在前述研究的基础上,本文以 1-辛基-2,3-二甲基咪唑六氟磷酸盐([ODMIM]PF₆)为分散剂,采用滴涂法制备了多壁碳纳米管-离子液体修饰玻碳电极(MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE),研究了甲脒铂在该电极上的电化学行为,建立了甲脒铂含量的测定方法。进一步地,采用电化学法与紫外-可见光谱法相结合,研究了甲脒铂与 ctDNA 的相互作用,通过电化行为的变化及吸收光谱的特性对二者作用机理进行了分析和讨论,为深入了解甲脒铂的药效机制提供依据。

1 仪器与试剂

MEC-12B 型多功能微机电化学分析仪(江苏江分电分析仪器有限公司);三电极系统:MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 为工作电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,铂片电极为对电极。

甲脒铂标准样品(含量≥99%,昆明贵研药业有

限公司),实验前用 0.05 mol/L Tris-HCl (分别配制 0.05 mol/L Tris-base 和 0.05 mol/L HCl 溶液,使用前调 pH=7.4)缓冲溶液配制成 1.06 mmol/L 标准储备液,置于冰箱 4℃ 保存;甲脒铂注射液(昆明贵研药业有限公司);多壁碳纳米管(MWNTs,中国科学院成都有机化学研究所);1-辛基-2,3-二甲基咪唑六氟磷酸盐([ODMIM]PF₆)离子液体(纯度>99%,郑州四季化工产品有限公司);小牛胸腺 DNA(Sigma 公司),0.02 mg/mL ctDNA 储备液,置于冰箱中 2~4℃ 保存;0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH=7.4);0.05 KCl 缓冲溶液(pH=7.0)。

其余试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

2 实验方法

2.1 修饰电极的制备

取 25 mg [ODMIM]PF₆,加 DMF 溶解配成 5 mL 溶液,超声分散得均一溶液。

称取 2.5 mg MWNTs,加入上述溶液中超声分散 30 min,得 0.5 mg/mL 均一悬浊液。

实验前玻碳电极在金相砂纸上打磨,再用 0.05 μm Al₂O₃ 抛光成镜面,依次用 1:1 HNO₃、无水乙醇和蒸馏水分别超声清洗 5 min,自然晾干。用微量进样器移取 5 μL 上述分散液,滴加在 GCE 表面,红外灯下烘干,即制得 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE。

2.2 循环伏安分析

准确移取一定量甲脒铂标准储备液,于 10 mL 容量瓶中,用 0.05 mol/L 的 KCl(pH=7.0)缓冲溶液稀释定容,摇匀转移至电解杯中。在 -0.8~0.8 V 扫描范围内,以 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 为工作电极,以扫速 0.05 V/s,进行循环伏安(CV)测试,记录 CV 曲线。

采用标准加入法加入 DNA 溶液,测定前向溶液中通入高纯 N₂ 除氧 10 min,以使实验过程中液面上始终保持 N₂ 气氛,然后再进行 CV 测定。

2.3 差分脉冲伏安分析

准确移取一定量甲脒铂储备液,于 10 mL 容量瓶中,用 0.05 mol/L 的 KCl 溶液(pH=7.0)稀释定容,摇匀转移至电解杯中。在 -0.8~0.8 V 扫描范围内,以 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 为工作电极,以脉冲间隔 250 ms、脉冲幅度 20 mV、脉冲宽度 250 ms,进行差分脉冲伏安(DPV)分析,记录 DPV 曲线。

采用标准加入法加入 DNA 溶液,测定前向电解杯中通入高纯 N₂ 除氧 10 min,以使实验过程中

液面上始终保持 N_2 气氛, 然后再进行 DPV 测定。

2.4 单链 DNA 的制备

将一定量的双链 DNA(dsDNA)于沸水浴中加热保温 30 min, 立即转入冷水中冷却 10 min, 即得变性(单链)DNA(ssDNA), 其浓度以核苷酸浓度表示。若非特殊说明, 本文中所指的 DNA 均为 ssDNA。

2.5 紫外-可见光谱

于 5 mL 容量瓶中, 准确加入 2 mL 甲脒铂储备液, 用 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH=7.4)稀释定容至 5 mL, 混匀。

于 10 mL 容量瓶中, 准确加入 1 mL ctDNA 储备液, 用 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH=7.4)稀释定容至 10 mL, 混匀。准确移取 3.0 mL 该溶液于 1 cm 比色皿中, 以试剂空白为参比, 扫描 200~600 nm 波长范围的吸收光谱, 然后用微量进样器逐次等量滴加一定体积的上述甲脒铂溶液, 混匀后充分反应 5 min, 扫描其紫外光谱, 记录吸光度。同时测定等浓度游离甲脒铂的吸收光谱。

3 结果与讨论

3.1 甲脒铂的电化学行为及测定

3.1.1 修饰电极的电化学阻抗分析

用交流阻抗法对不同电极进行了表征。图 2 为裸 GCE (a)、MWNTs-DMF/GCE (b)和 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE (c) 在 0.01 mol/L [Fe(CN)₆]^{3-/4-}和 0.1 mol/L KCl 溶液中的 Nyquist 图谱。

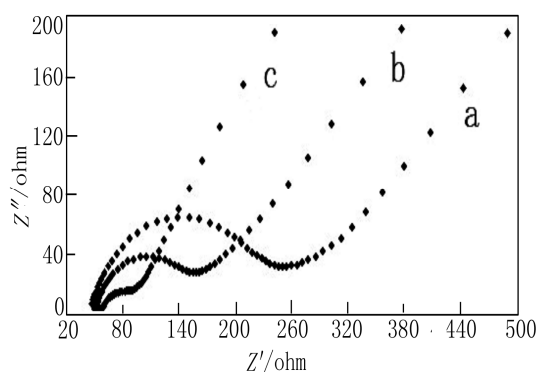


图 2 不同电极的交流阻抗图谱

Fig.2 Nyquist plots of different electrodes

(a GCE; b MWNTs-DMF /GCE; c MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE)

从图 2 可以看出, 谱线 a、b、c 在高频区均出现对应于电子转移过程的半圆弧, 半圆弧大表明在

电极表面的电子转移阻力大。裸 GCE 的反应电阻最大; 谱线 b 小于 a, 表明 MWNTs 的存在提高了 GCE 对 [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 电极反应的催化活性; 而谱线 c 明显小于 b 和 a, 说明与 DMF 相比, MWNTs-[ODMIM]PF₆ 修饰层使 GCE 表面电子传递反应的电阻大大减小, 提高了电荷转移速率。因此, MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 相比于 MWNTs-DMF /GCE 及 GCE 具有更好的导电性能和电化学活性。

3.1.2 甲脒铂在修饰电极上的电化学行为

在 -0.8~0.8 V 电位范围内, 以扫速 0.05 V/s, 对不同电极在含有 53.2 μmol/L 甲脒铂的 0.05 mol/L KCl 溶液(pH=7.0), 用 CV 法进行测定, 记录电化学响应曲线(图 3)。

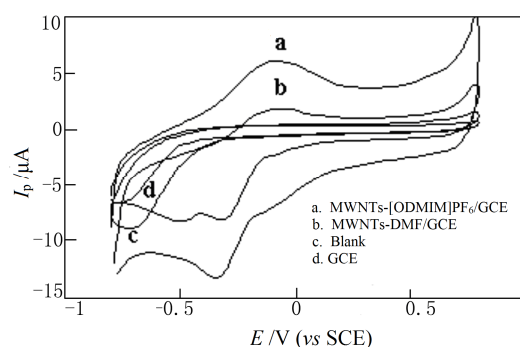


图 3 甲脒铂在不同电极上的循环伏安曲线

Fig.3 The cyclic voltammetry curves of picoplatin at different electrodes

从图 3 可以观察到, MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 在空白底液(曲线 c)中没有出现任何氧化还原峰, 说明该电极上不存在干扰测定的电活性物质; 在裸 GCE 上(曲线 d), 甲脒铂在 -0.151 V 处有一还原峰, 峰电流极小, 无氧化峰出现; 在 MWNTs-DMF/GCE 电极上(曲线 b), 甲脒铂出现了一对氧化还原峰, 峰电流小, 峰形较差; 在 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 上(曲线 a), 甲脒铂产生一对峰形良好的氧化还原峰, 氧化峰电位(E_{pa})为 -0.07 V、还原峰电位(E_{pc})为 -0.36 V, $\Delta E_p = 0.29$ V, $I_{pa}/I_{pc} = 1.11$, 说明甲脒铂在 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 上的电极过程具有准可逆特性。与 MWNTs-DMF/GCE 电极相比, 甲脒铂在 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 上的 I_{pa} 增大 3 倍, I_{pc} 增大约 2 倍, 说明离子液体与碳纳米管共同修饰的玻碳电极显著提高了其电流响应, 对甲脒铂有很好的协同催化效果。所以本实验选用 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 作为工作电极。

3.1.3 支持电解质及其酸度的选择

以 0.05 V/s 的扫速, 在 -0.8~0.8 V 电位范围内, 用循环伏安法考察了 0.05 mol/L 的 KCl 溶液、PBS 缓冲溶液、B-R 缓冲溶液对甲脒铂电化学行为的影响。结果发现, 浓度为 53.2 $\mu\text{mol/L}$ 的甲脒铂在 PBS 缓冲溶液和 B-R 缓冲溶液中峰形差; 而在 KCl 溶液中出现一对明显的氧化还原峰, 峰形对称性好, 峰电流大, 因此, 实验选择 0.05 mol/L 的 KCl 溶液为支持电解质。

在 pH=2.0~9.0 范围内, 考察了不同 pH 的 0.05 mol/L KCl 溶液对 53.2 $\mu\text{mol/L}$ 甲脒铂电化学行为的影响, 结果见图 4。图 4 中氧化峰电流随 pH 的变化曲线表明: 在 pH=2.0~4.5 范围内, 峰形差, 峰电流小; 在 pH=4.5~7.0 范围内, 甲脒铂的峰电流(I_p)随着 pH 的增加而增大, 在 pH=7.0 时峰电流最大, 峰形最好; 在 pH=7.0~9.0 范围内, I_p 随 pH 的增加而减小, 峰形变差。所以, 实验选择在 pH=7.0 的 0.05 mol/L KCl 溶液中进行。

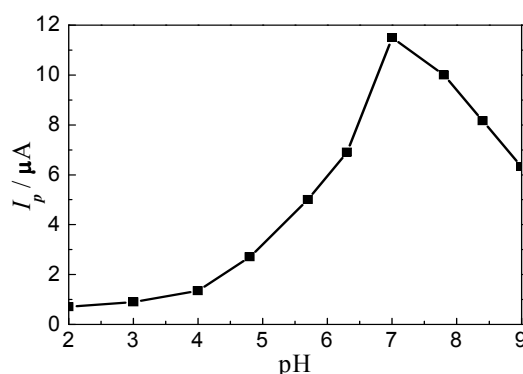


图 4 缓冲溶液 pH 对甲脒铂氧化峰电流的影响

Fig.4 The effect of buffer solution pH on oxidation peak current of picoplatin

3.1.4 扫描速度的选择及其对电极过程的影响

图 5 是以 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 为工作电极, 53.2 $\mu\text{mol/L}$ 甲脒铂在 0.05 mol/L KCl 溶液 (pH=7.0) 中于 0.01~0.10 V/s 扫速范围内的循环伏安图。由图 5 可见, 随着扫描速度的增加, 氧化峰电流(I_{pa})与还原峰电流(I_{pc})升高, 氧化峰电位正移, 还原峰电位负移。

在 0.01~0.10 V/s 扫描范围内, 氧化峰电流(I_{pa})与还原峰电流(I_{pc})均与扫速的平方根成正比, 线性关系式分别为 $I_{pa}=4.2167v^{1/2}+2.314$ ($r=0.9963$), $I_{pc}=8.0018v^{1/2}+2.031$ ($r=0.9935$)。根据文献[15], 说

明此时甲脒铂在电极表面的氧化和还原过程受扩散控制。当扫速过高, 背景较大, 峰形变差, ΔE_p 增大, 不利于电极反应的进行, 在扫速为 0.05 V/s, 信噪比最好。所以, 实验选择扫速为 0.05 V/s。

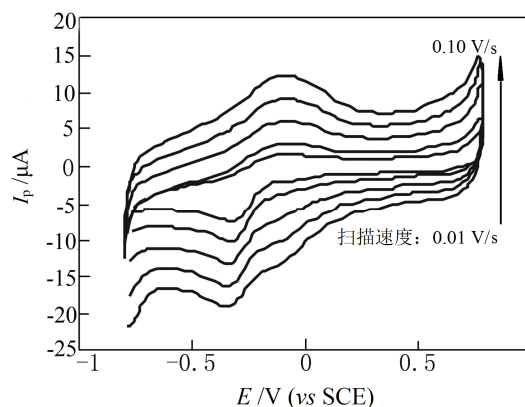


图 5 53.2 $\mu\text{mol/L}$ 甲脒铂在不同扫速下的循环伏安曲线

Fig.5 The cyclic voltammetry curves of 53.2 $\mu\text{mol/L}$ picoplatin at different scan rates

3.1.5 电极的稳定性和重现性

用同一支 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 对一定浓度甲脒铂溶液连续扫描 10 次, 得峰电流响应的 RSD 为 2.7%; 在相同溶液中, 电极平行修饰 6 次进行测定, 得到电流响应值的 RSD 为 4.1%。用同一支 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 连续扫描 60 圈后, 峰电流和峰电位基本不变(I_{pa} 约 9.2 μA , E_{pa} 为 -0.068 V、 E_{pc} 为 -0.35 V); 一周后进行 CV 扫描, 峰电流为初始电流值的 94.0%。以上结果表明, 所制备的 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 的重现性和稳定性均较理想。

3.1.6 线性关系及检出限

在选定的最佳条件下, 以“2.3”所述方法对不同浓度的甲脒铂溶液进行 DPV 测定。结果表明, 甲脒铂的氧化峰电流(I_{pa})随浓度(c)的增大而增大, 且在 2.66~532 $\mu\text{mol/L}$ 范围内呈良好的线性关系, 其线性方程为: $I_{pa}(\mu\text{A})=1.55c-8.913$, ($r=0.9994$, $n=9$)。其检出限为 1.33 $\mu\text{mol/L}$ 。

3.1.7 样品及其加标回收测定

取 3 组不同批号甲脒铂注射液(2 mL:5 mg), 分别精密移取 1 mL 于 50 mL 容量瓶中, 用 0.05 mol/L KCl 溶液(pH=7.0)稀释定容, 摇匀。再分别取定容后的溶液 1 mL, 置于 10 mL 比色管中, 稀释至刻度, 摇匀后转移至电解杯中, 按“2.3”所述方法进行 DPV 测定, 用标准加入法计算甲脒铂的含

量, 进行回收率测定, 结果测得样品的相对标准偏差为 2.4%~3.6%, 加标回收率在 97.9%~101.6%之间, 表明本方法具有较好的准确度和精密度, 可以用于甲啶铂药品的定量测定。

3.2 甲啶铂与 DNA 相互作用的光谱学研究

3.2.1 最佳测定波长的选择

以 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH=7.4)为作用介质, 分别测定甲啶铂与 ctDNA 的紫外吸收光谱, 测得甲啶铂的最大吸收峰在 267 nm 处, ctDNA 的最大吸收峰在 260 nm 处。

3.2.2 pH 值的选择

分别在 pH 为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.4、8.0、9.0 的 KCl 缓冲溶液中, 使 106.4 $\mu\text{mol/L}$ 甲啶铂与 0.02 mg/mL ctDNA 相互作用, 考察底液酸度对二者相互作用的影响。结果发现, 峰电流随着 pH 增加而降低, 在 pH=7.4 时, 峰电流达到最低值, 表明此时甲啶铂和 ctDNA 相互作用能力最强。因此, 选用 pH=7.4 的 KCl 缓冲溶液。

3.2.3 甲啶铂对 DNA 紫外光谱的影响

在 pH=7.4 的 0.05 mol/L KCl 溶液中, 固定 ctDNA 的浓度, 改变甲啶铂的浓度(50.0~60 $\mu\text{mol/L}$), 以等浓度的游离甲啶铂做参比, 扫描体系的紫外吸收光谱。观察到 DNA 在 260 nm 处的特征吸收峰基本不变, 随着甲啶铂的不断加入, 体系吸光度降低, 峰位置不变, 说明甲啶铂与 DNA 的相互作用可能为静电作用。

3.2.4 盐效应的影响

为进一步确证甲啶铂与 ctDNA 之间是否为嵌插作用, 向甲啶铂与 ctDNA 体系中加入 NaCl 溶液, 考察了 NaCl 浓度对甲啶铂与 ctDNA 相互作用的影响。由于 Na^+ 等盐类阳离子能中和 DNA 上带负电的磷氧基^[16], 若甲啶铂与 ctDNA 的相互作用模式为静电作用, 随着离子强度的增加, DNA 表面被一层带正电的 Na^+ 包围而影响甲啶铂与 ctDNA 的结合, 使吸光强度减弱; 而对于嵌插式作用模式, 离子强度的改变很难影响它们的相互作用。实验发现, 随着 NaCl 浓度的增加, 甲啶铂-ctDNA 体系的吸光度基本保持不变, 由此推断, 甲啶铂与 ctDNA 之间不是静电作用模式。

3.2.5 热变性研究

将 DNA 加热到一定温度时, DNA 的双螺旋就会发生裂解, DNA 碱基互补的主要作用力氢键结构将被破坏, 通常把 DNA 的双螺旋结构失去一半时的温度称为该 DNA 的溶解温度或熔点, 用 T_m 表示。

通常来说, 药物与 DNA 发生嵌插作用时, T_m 的改变在 10℃ 以上, 小分子与 DNA 的相互作用对 T_m 有影响, 而沟区结合或静电结合对 T_m 影响不明显。

图 6 为甲啶铂对 ctDNA 熔点影响的关系曲线。由曲线 a 可得出 ctDNA 的 T_m 为 74.0℃, 而加入甲啶铂后, 甲啶铂-ctDNA 体系 (曲线 b) 的 T_m 为 78.5℃, 升高了 4.5℃。由此推断甲啶铂嵌入双链 DNA 的碱基对中, 影响了 DNA 的双螺旋构象, 导致 DNA 稳定性升高。

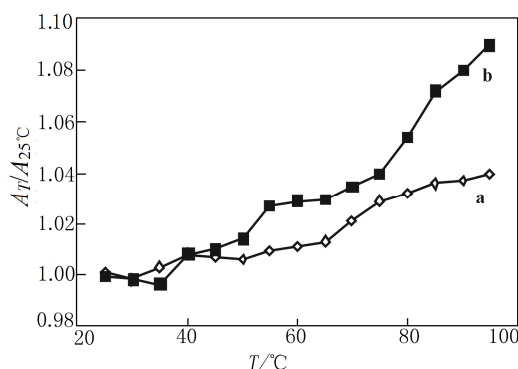


图 6 甲啶铂对 ctDNA 熔点的影响

(a. ctDNA; b. 甲啶铂-ctDNA)

Fig.6 The impact of picoplatin to ctDNA T_m

(a. ctDNA; b. picoplatin-ctDNA)

3.3 甲啶铂与 DNA 相互作用的电化学研究

3.3.1 DNA 对甲啶铂循环伏安行为的影响

循环伏安法研究小分子与 DNA 的作用方式, 峰电位正移时表明小分子与 DNA 为疏水的相互作用即嵌入结合, 而峰电位负移时为静电作用。在 0.05 mol/L 的 KCl 缓冲溶液 (pH=7.4) 中, 106.4 $\mu\text{mol/L}$ 的甲啶铂在 MWNTs-[ODMIM]PF₆/GCE 电极上有一对氧化还原峰, 峰电位分别为 $E_{pa} = -0.10$ V, $E_{pc} = -0.41$ V, $I_{pa}/I_{pc} = 1.1$ 。保持甲啶铂浓度不变, 向电解池中加入一定浓度的 DNA, 室温下反应 15 min, 测定体系循环伏安行为。实验中观察到氧化峰正移, 还原峰负移, 峰电流降低, 表明甲啶铂与 ctDNA 相互作用时, 形成了非活性的复合物, 该复合物不能在电极表面发生氧化反应, 导致峰电流降低。基于峰电位正移、峰电流下降的实验结果, 推测甲啶铂是以嵌插的方式与 DNA 发生了相互作用。

3.3.2 甲啶铂与 dsDNA 和 ssDNA 相互作用的比较

为进一步探讨甲啶铂与 ctDNA 的作用机理, 实验研究比较了甲啶铂分别与相同浓度的 dsDNA 和

ssDNA 相互作用的电化学行为。向 0.50 mL 浓度为 0.02 mg/mL 的 dsDNA 和 ssDNA 分别加入含有 106.4 $\mu\text{mol/L}$ 甲脒铂的 KCl 溶液(0.05 mol/L, pH=7.4 中, 室温下反应 15 min 后进行测定, 结果如图 7 所示。

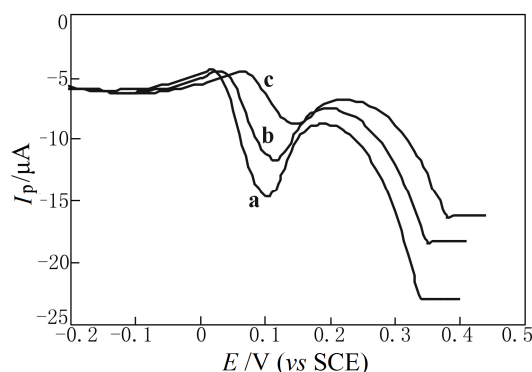


图 7 甲脒铂与 dsDNA 和 ssDNA 相互作用 DPV 曲线

(a. 甲脒铂; b. 甲脒铂+0.02 mg/mL dsDNA;

c. 甲脒铂+0.02 mg/mL ssDNA)

Fig.7 The DPV curve of picoplatin of picoplatin interacted with dsDNA and ssDNA

(a. picoplatin; b. picoplatin+0.02 mg/mL dsDNA;

c. picoplatin+0.02 mg/mL ssDNA)

图 7 表明, dsDNA 和 ssDNA 均能使甲脒铂的氧化峰电流降低, 氧化峰电位正移。dsDNA 使甲脒铂的氧化峰电位正移了 0.05 V, ssDNA 使甲脒铂的氧化峰电位正移了 0.01 V, dsDNA 使峰电流降低较 ssDNA 更明显。这是因为双链 DNA 具有双螺旋结构, 甲脒铂嵌插进 dsDNA 的双螺旋结构中, 形成了非电活性的复合物, 单位时间内转移到电极表面的甲脒铂分子减少, 从而导致了电流的降低; 而 ssDNA 不具有双螺旋结构, 所以峰电流降低程度较小, 峰电位正移较少。以上分析表明, 甲脒铂与 DNA 之间发生了嵌插作用。

4 结论

本文利用循环伏安法对抗癌药物甲脒铂进行了电化学行为研究, 发现甲脒铂在多壁碳纳米管离子液体修饰玻碳电极上有一对良好的准可逆氧化还原峰。根据不同浓度甲脒铂与 DPV 扫描氧化峰电流之间的关系, 建立了甲脒铂的差分脉冲伏安测定方法, 方法灵敏、快速、简便, 准确可靠, 可用于甲脒铂药品的定量测定。

应用紫外-可见光谱法, 结合电化学方法研究了甲脒铂与 ctDNA 之间的相互作用方式。结果表明, 甲脒铂与 ctDNA 之间相互作用模式为混合方式, 即嵌插作用和静电作用同时存在。

参考文献:

- [1] Fiebiger W G, Olszewski U, Ulsperger E, et al. In vitro cytotoxicity of novel platinum-based drugs and dichloroacetate against lung carcinoid cell lines[J]. Clinical & Translational Oncology, 2011, 13(1): 43-49.
- [2] Earhart R, Cheporov S V, Gladkov O A, et al. Preliminary results of a phase II study of picoplatin in combination with 5-fluorouracil and leucovorin(FOLPI) as a potential neuropathy-sparing first-line therapy for colorectal cancer(CRC)[J]. European Journal of Cancer Supplement, 2008, 6(12): 67-67.
- [3] De Jager R L, Roman L, Lopatkin N, et al. Results of a phase II study of picoplatin with docetaxel and prednisone in first-line treatment of castration-resistant prostate cancer(CRPC)[J]. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27(15s): 5140
- [4] Tang C H, Parham C, Shocron E, et al. Picoplatin overcomes resistance to cell toxicity in small-cell lung cancer cells previously treated with cisplatin and carboplatin[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 67: 1389-1400.
- [5] Housková J, Hrdá M, Syslová K, et al. HPLC method for monitoring of degradation products in picoplatin stability study[J]. Chromatographia, 2011, 73(S1): 131-135.
- [6] 闫莉莉, 高云涛, 王振峰, 等. 新型抗癌药甲脒铂在多壁碳纳米管玻碳电极上的电化学行为及 DPV 测定研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(8): 1431-1434.
- [7] 放茂良, 李乔丽, 刘琼, 等. 顺铂在玻碳电极上的电化学行为及其测定的研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(6): 1165-1167.
- [8] Fang M, Li Q, Liu Q, et al. Study on the electrochemical behavior and determination of cisplatin at glassy carbon electrode[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2011, 31(6): 1165-1167.

- [8] 付彩霞, 张怀斌, 李光. 核黄素与鲱鱼精 DNA 相互作用的荧光光谱[J]. 光谱实验室 2011, 28(4): 1727-1730.
Fu C, Zhang H, Li G. Interaction between riboflavin and herring sperm DNA by fluorescent spectrum[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2011, 28(4): 1727-1730.
- [9] 王兴明, 费丹, 黎泓波, 等. 刚果红与鲱鱼精 DNA 相互作用的光谱法和电化学研究[J]. 四川大学学报: 工程科学版, 2009, 41(5): 97-102.
Wang X, Fei D, Li H, et al. Spectroscopic and electrochemical study on the interaction between Congo Red and herring sperm DNA[J]. Journal of Sichuan University: Engineer Science Edition, 2009, 41(5): 97-102.
- [10] 于婷婷, 何平, 梁艳, 等. 咖啡酸乙酯与 DNA 相互作用的电化学及紫外光谱研究[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2088-2092.
Yu T, He P, Liang Y, et al. Electrochemical and UV spectroscopic studies on the interaction between ethyl caffeate and DNA[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2009, 29(12): 2088-2092.
- [11] 崔凤灵, 霍瑞娜, 张贵生, 等. 抗癌药物 4'-*o*-(α -L-夹竹桃糖基)柔红霉素与小牛胸腺 DNA 的相互作用的荧光光谱[J]. 应用化学, 2012, 29(2): 238-244.
Cui F, Huo R, Zhang G, et al. Fluorescence spectrometry on the interaction of 4'-*o*-(α -L-oleandrosyl)daunorubicin with calf thymus DNA[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2012, 29(2): 238-244.
- [12] 黄国霞, 阎柳娟, 李军生, 等. 共振散射光谱法研究槲皮素与 DNA 相互作用[J]. 广西工学院学报, 2010, 21(3): 19-22.
Huang G, Yan L, Li J, et al. Studies on the interaction of quercetin with herring sperm DNA by resonance scattering spectra[J]. Journal of Guangxi University of Technology, 2010, 21(3): 19-22.
- [13] 王桂香, 马升勇, 王文鑫, 等. 电化学方法研究芦丁与鲱鱼精 DNA 之间的相互作用[J]. 分析实验室, 2009, 28(1): 113-116.
Wang G, Ma S, Wang W, et al. Study on interaction of fish sperm DNA with rutin by electrochemical methods[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(1): 113-116.
- [14] 叶丽清, 普少平, 放茂良, 等. 卡铂在多壁碳纳米管玻碳电极上的电化学反应行为及测定的研究[J]. 贵金属, 2013, 34(4): 48-52.
Ye L, Pu S, Fang M, et al. Study on the electrochemical behavior and determination of carboplatin at multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode[J]. Precious Metals, 2013, 34(4): 48-52.
- [15] 高朋, 石谨, 黎拒难, 等. 碳糊电极阳极吸附伏安法测定氧氟沙星[J]. 应用化学, 2005, 22(5): 578-580.
Gao P, Shi J, Li J, et al. A nodic adsorptive voltammetric determination of ofloxacin at carbon paste electrode[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2005, 22(5): 578-580.
- [16] 汪佳蓉, 张国文, 杨佳, 等. 倍磷酸与 DNA 相互作用的光谱法研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 78-81.
Wang J, Zhang G, Yang J, et al. Spectroscopic study of interaction between Fenthion and DNA[J]. Food Science, 2009, 30(15): 78-81.

本刊声明

凡本刊登载的文章, 将同时被中国知网、万方数据-数字化期刊群及维普中文科技期刊数据库等全文收录, 并供本刊授权和合作媒体使用, 本刊支付的稿酬已包含作者著作使用费。作者向本刊投稿, 即视为同意将文章编入以上数据库。

《贵金属》编辑部

2014 年 2 月