

研究简报

Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤及鸟苷相互作用的研究

张荣丽 朱俊杰 赵广超 陈洪渊*

(南京大学化学系, 配位化学研究所, 南京 210093)

在中性磷酸盐缓冲液中, 用电化学和荧光光谱法研究了 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤和鸟苷的相互作用。结果表明鸟嘌呤和鸟苷与 Cu(bpy)₂²⁺ 的配位比均为 1:1, 配位常数分别为 4.62×10^4 L/mol 和 1.96×10^4 L/mol。紫外光谱电化学实验进一步表明, 鸟嘌呤或鸟苷与 Cu(bpy)₂²⁺ 发生了相互作用。

关键词: 鸟嘌呤 鸟苷 Cu(bpy)₂²⁺ 电化学 荧光光谱
现场光谱电化学 ~~铜~~ bpy 配合物 相互作用

脱氧核糖核酸(DNA)中的各种碱基是按一定规则配对的, 遗传信息是由碱基的精确顺序决定的。碱基配对的特异性是 DNA 结构和功能的精髓^[1], 研究碱基的电化学性质和金属配位化合物与碱基的作用有重要的生物学意义。嘌呤类碱基是组成核酸的两类碱基之一。这类分子在不同电极上表现出不同的反应活性^[2-4]。我们曾研究过鸟嘌呤在粗热解石墨电极上的分子定向作用^[5]以及铜(I)与鸟嘌呤的相互作用^[6]。在研究金属配合物与 DNA 相互作用过程中, 为了寻找配合物与 DNA 的结合方式和部位, 我们对配合物与 DNA 的碱基及其衍生物的相互作用展开了研究, 以期寻找到配合物与 DNA 作用的确切位置和结合方式。本文报道用电化学、荧光光谱及紫外光谱电化学方法研究 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤和鸟苷的相互作用。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

BAS-100B 型电化学分析仪(BAS Co. USA)。LS-50B 型荧光/发光光谱仪(Perkin Elmer Co. USA)。UV-265 型紫外可见光光度计(日本岛津公司)。ASD-1 型多功能电化学仪(安徽师大化学系, 山东电讯七厂)。0.5 mm 的铂盘电极, 饱和甘汞电极, 铂丝电极。

支持电解质为 0.2 mol/L, pH 7.0 的磷酸盐缓冲液。鸟嘌呤和鸟苷为上海生化试剂厂产品。实验所用试剂均为分析纯。实验用水为二次石英亚沸蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 电化学实验

收稿日期: 1997-08-28。 收修改稿日期: 1997-12-28。

国家自然科学基金和江苏省自然科学基金资助课题。

* 通讯联系人。

第一作者: 张荣丽, 女, 35 岁, 徐州医学院访问学者, 研究方向: 生物光谱及电化学。

在一定量的铜配合物[Cu(bpy)₂²⁺]和一定量的鸟嘌呤或鸟苷存在的 0.2 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲溶液中通氮除氧 15 min, 插入三电极在 0.05 V ~ -0.40 V 范围内进行电化学实验。实验时, 液面保持氮气氛。

1.2.2 荧光光谱实验

用 0.05 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液制备含一定量的铜配合物及不同量的鸟嘌呤或鸟苷系列溶液, 选择 290 nm 为激发波长, 在 300 nm ~ 400 nm 之间, 记录其荧光发射光谱。

1.2.3 光谱电化学实验

在自制的光谱电化学池(池厚 0.4 mm)中, 以铂网(46 根丝/cm)作为工作电极, 镀 AgCl 的银丝作为准参比电极, 铂片电极作为对电极, 在 0.1 V ~ -0.5 V 范围改变电位, 以快扫描方式在 210 nm ~ 400 nm 波长范围记录紫外吸收光谱。

2 结果与讨论

2.1 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤和鸟苷相互作用的电化学行为

在 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液溶液中, Cu(bpy)₂²⁺ 在铂电极上的电位 0.05 V ~ -0.40 V 范围内有一对可逆的氧化还原峰, 它对应的是一个单电子氧化还原过程^[7]。

图 1 是在有无鸟嘌呤或鸟苷存在时, Cu(bpy)₂²⁺ 的循环伏安图。随着鸟嘌呤或鸟苷的加入, Cu(bpy)₂²⁺ 的氧化和还原峰电流均降低, 同时峰电位有不同程度的正移。其中, 阴极峰电位基本不变, 而阳极峰电位正移, 电极反应可逆性变差, 表观式量电位($E^{\circ'}$)均发生了正移, $\Delta E^{\circ'}$ 分别正移了 34 mV 和 10 mV。比较图 1A 和图 1B, 可以发现鸟嘌呤与 Cu(bpy)₂²⁺ 的相互作用要比鸟苷与 Cu(bpy)₂²⁺ 的作用强些。根据文献^[8], 由峰电位差与鸟嘌呤(或鸟苷)浓度间的实验数据求得 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤和鸟苷的配位比均为 1:1, 配位常数分别为 3.2×10^4 L/mol 和 1.4×10^4 L/mol。

2.2 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤和鸟苷相互作用的荧光光谱性质

在 290 nm 的激发波长下, Cu(bpy)₂²⁺ 的磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)在 325 nm 处有一较弱的荧光发射光峰(图略), 随着鸟嘌呤或鸟苷浓度的增加, Cu(bpy)₂²⁺ 的荧光强度不断减弱。根据文献^[9] Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤或鸟苷形成配合物的配位常数与溶液荧光强度的关系:

$$F_0/F - 1 = K[L]^n \quad (1)$$

(1)式中, F_0 为无鸟嘌呤或鸟苷时溶液的荧光强度, F 为加不同浓度鸟嘌呤或鸟苷后溶液的荧光强度, $[L]$ 为鸟嘌呤(或鸟苷)的浓度, n 为配位比。将(1)式取对数, 则可获得下述公式:

$$\ln(F_0/F - 1) = \ln K + n \ln [L] \quad (2)$$

按(2)式处理实验数据, 结果见表 1。

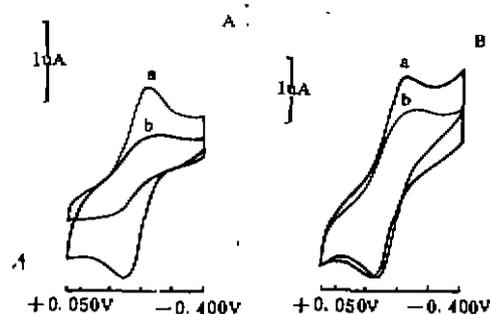


图 1 Cu(bpy)₂²⁺ 的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of Cu(bpy)₂²⁺ (scan rate: 100 mV/s)

A: (a) 1.0 mmol/L Cu(bpy)₂²⁺;

(b) a+0.20 mmol/L guanine

B: (a) 1.0 mmol/L Cu(bpy)₂²⁺;

(b) a+0.20 mmol/L guanosine

表 1 实验结果
Table 1 Experimental Results

base groups	linear regression equations	r	n	K
guanine	$\ln(F_0/F-1) = 10.74 + 1.045 \ln[L]$	0.9998	1.045	$4.62 \times 10^4 \text{ L/mol}$
guanosine	$\ln(F_0/F-1) = 9.882 + 1.060 \ln[L]$	0.9998	1.060	$1.96 \times 10^4 \text{ L/m}$

实验所得的 n 与 K 值, 与电化学方法的结果基本一致。

2.3 $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ 与鸟嘌呤和鸟苷相互作用的光谱电化学表征

$\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ 在 pH 7.0 磷酸盐缓冲溶液中表现出良好的光谱电化学特性^[7], 当加入鸟嘌呤或鸟苷后, 这种特性发生了相应变化, 特别是鸟嘌呤与 $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ 作用较强, 因而使其光谱电化学特性改变较大。

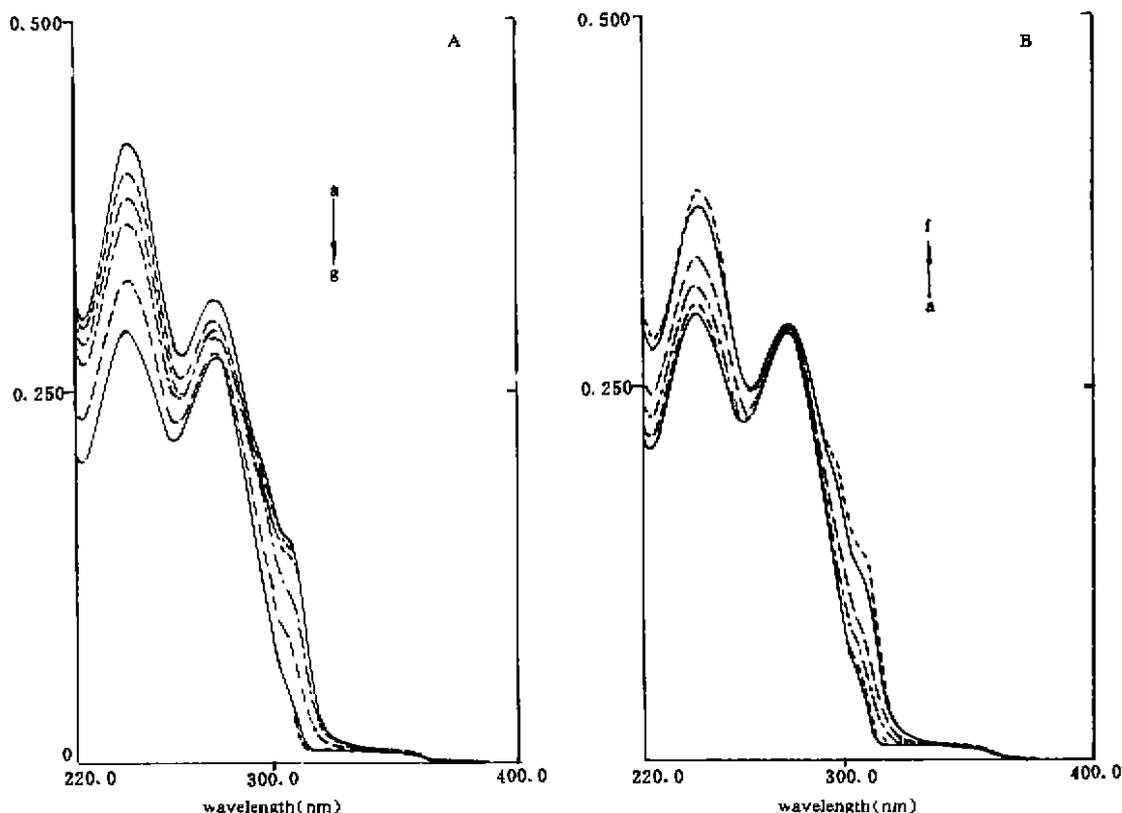


图 2 不同条件下, $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ -鸟嘌呤的紫外光谱图

Fig. 2 UV spectra of $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ -guanine under different conditions

A. potentials; a) 0, b) -0.10, c) -0.20, d) -0.30, e) -0.35, f) -0.40, g) -0.50V

B. relaxation times; a) 0, b) 30, c) 120, d) 240, e) 600, f) 900 s

(after electrolysis at potential of -0.50 V for 15 min)

图 2 是不同电位下 $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ -鸟嘌呤的紫外光谱图(A)和单电位阶跃-开路计时吸收光谱图(B)。当电位从 0 向 -0.5V 变化时, $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ -鸟嘌呤的两个吸收峰及肩峰不断下降, 而并无新的峰出现, 这与 $\text{Cu}(\text{bpy})_2^{2+}$ 紫外光谱变化完全不同^[7]。当电位向相反方向变化时, 则紫外

光谱又恢复到与原来相近的形状,说明这仍是一个电化学可逆过程。图 2B 是在 -0.50V 电位下,电解一段时间后开路,随着时间的增加,其还原后的紫外光谱又逐渐恢复到原来的形状。这表明 Cu(bpy)₂²⁺-鸟嘌呤仍像 Cu(bpy)₂²⁺ 那样^[7],能被空气中的 O₂ 氧化。这一氧化过程符合假一级动力学方程,由 243 nm 处的吸光度数据可以获得其反应速率常数 $k = 4.6 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$,与 Cu(bpy)₂²⁺ 氧化速率常数 $7.07 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ^[7] 相比有所降低,进一步说明 Cu(bpy)₂²⁺ 与鸟嘌呤之间是存在相互作用的。

同样可以求得 Cu(bpy)₂²⁺-鸟苷被空气中 O₂ 氧化的反应速率常数 $k = 5.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 。由于鸟苷与 Cu(bpy)₂²⁺ 的作用较弱,故未能对其光谱电化学特性产生较大影响(图略)。值得注意的是,这个光谱特性的变化与 DNA 存在时的情形相类似^[7],它们都使 Cu(bpy)₂²⁺ 的光谱电化学图中的等吸收点消失,且使其在还原过程中产生的新峰不明显。这一发现将对 Cu(bpy)₂²⁺ 可能与 DNA 的哪一部位结合提供有益的信息。

参 考 文 献

- [1] Stryer, L. 著(美),唐有祺、张惠珠、吴相珏等译校生物化学第 24 章,北京大学出版社,1990 年 5 月,第一版
- [2] Dryhurst, G. *Electrochemistry of Biological Molecules* Academic Pr.; New York 1977, p81.
- [3] Bowling, R.; Parkard, R.; Mccreery, R. L. *J. Electrochem. Soc.*, 1988, 135, 1605.
- [4] Yao, T. S. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1978, 51(10), 2973.
- [5] 朱世民、翟文川、陈洪渊,化学学报,1993,51,549.
- [6] 孙贤祥、陈洪渊,无机化学学报,1983,9,104.
- [7] Zhao, G. Z.; Zhu, J. J.; Chen, H. Y. *Chemical Research in Chinese Universities*. 1997, 13(2), 117.
- [8] 董绍俊、张东波,化学学报,1988,46,335.
- [9] 王雪梅,光谱法和现场光谱电化学法研究 β -环糊精对药物分子的包络作用,南京大学博士论文,第 25 页.

STUDY ON INTERACTION OF Cu(bpy)₂²⁺ WITH GUANINE AND GUANOSINE

Zhang Rongli Zhu Junjie Zhao Guangchao Chen Hongyuan

(Department of Chemistry, Coordination Chemistry Institute, Nanjing University, Nanjing 210093)

The interaction of Cu(bpy)₂²⁺ with guanine and guanosine in phosphate buffer (pH 7.0) was studied by electrochemistry, fluorescence and UV-spectroelectrochemistry. From the electrochemical and fluorescence data it was obtained that the complex ratio of copper complex to guanine or guanosine was 1 : 1, and the complex constants of Cu(bpy)₂²⁺ with guanine and guanosine were $4.62 \times 10^4 \text{ L/mol}$ and $1.96 \times 10^4 \text{ L/mol}$, respectively. At the same time, the UV-spectroelectrochemical features further proved that there was interaction of Cu(bpy)₂²⁺ with guanine or guanosine.

Keywords: guanine guanosine Cu(bpy)₂²⁺ electrochemistry fluorescence spectroelectrochemistry