

四环素-铁(III)配合物与 DNA 相互作用的吸收光谱研究

文美琼^① 李露

(楚雄师范学院化学与生命科学系 云南省楚雄市鹿城南路 461 号 675000)

摘要 用紫外光谱方法研究了四环素(TC)-Fe(III)配合物与脱氧核糖核酸(DNA)的相互作用。吸收光谱研究表明,四环素(TC)-Fe(III)配合物能与小牛胸腺 DNA 以嵌插方式相互作用。

关键词 四环素(TC), 铁(III), 配合物, 脱氧核糖核酸, 嵌插。

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2008)02-0226-03

1 前言

核酸是生物体的重要物质,遗传信息的携带者和基因表达的物质基础。随着分子生物学和分子药理学的发展,人们能够从基因水平上理解某些疾病的发病机理,并通过分子设计来寻找有效的治疗药物,于是 DNA 与其靶向分子之间相互作用的研究已成为化学与生命科学的热门课题之一,靶向分子成为了很重要的药物选择对象。

四环素是一种天然抗菌素,具有良好的抗菌作用,可用于治疗斑疹伤寒,洛矶山热,恙虫病,支原体属感染等。由于其副作用,其抗生素作用已逐渐被其他药物所取代。近年来,随着对四环素药理作用研究的深入,发现其还有许多非抗生素作用,如抗炎作用、免疫调节作用,抑制金属蛋白酶活性,抑制一氧化氮作用,清除自由基作用等,这些作用大大扩展了其临床药理学范围^[1]。如在对抗炎症和抑制肿瘤细胞迁移方面,尤其显示出广阔的前景,在内风湿性关节炎、骨关节炎及血管增生等治疗方面亦具有巨大潜力^[2,3]。因此对四环素的研究引起人们新的关注。

四环素分子结构中由于存在羟基、氧和氮等不同的电子给体,易于与人体中的微量金属离子形成不同形式的配合物,配合物形式可为 L:M 为 1:1; 2:1; 3:1; 1:2 等^[4]。

铁是组织代谢不可缺少的物质,是血红蛋白和肌红蛋白组成成分,在体内参与氧的储存运输,维持生物体正常的生长、发育和免疫功能。铁硫蛋白中的铁还可作为电子传递体,参与生物体的各种氧化还原作用。很多含铁酶还控制着重要的氧化、水解和转化过程。

本文在 pH=7.6 的溶液中使四环素与人体必需金属离子 Fe(III)形成配合物,研究了此配合物与脱氧核糖核酸(DNA)的相互作用,并进一步探讨了它们的键合机理,得出了一些有意义的结论。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

UV-754 型紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂); UV-2401 紫外分光光度计(日本岛

^① 联系人, 电话: (0878) 3100507; E-mail: ynmq@yahoo.com.cn

作者简介: 文美琼(1963—), 女, 云南省楚雄市人, 副教授, 主要从事分子光谱分析研究。

收稿日期: 2007-12-04; 接受日期: 2007-12-24

津公司), pH S-3 型酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司), 小牛胸腺 DNA(华美生物工程公司), DNA 浓度由 260nm 处的吸光度确定, 该波长处的摩尔吸光系数采用 $6600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 四环素标准品(华美生物工程公司), Tris(生化试剂, 中国医药上海化学试剂公司), 其余试剂均为分析纯, 实验用水为纯净水(杭州娃哈哈有限责任公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 四环素-Fe(III) 配合物的形成

准确称取一定量四环素, 溶解后配成储备液, 用时稀释; 铁标准溶液的配制是准确称取一定量的干燥过的三氯化铁, 溶解后配成储备液, 移取一定量稀释到要求浓度。取同浓度同体积的四环素和 Fe(III), 使之在 pH=7.6 的 Tris-HCl 溶液中形成 1:1 型四环素-Fe(III) 配合物。

2.2.2 四环素-Fe(III) 配合物与 DNA 作用

保持四环素、Fe(III) 浓度不变, 加入不同浓度的 DNA, 作用 2h 后测定四环素-Fe(III)-DNA 的吸收光谱, 并与四环素-Fe(III) 配合物的吸收光谱作比较; 测定 DNA 在配合物中的吸收光谱, 并与 DNA 的吸收光谱作比较。

3 结果与讨论

3.1 四环素与 Fe() 的相互作用

图1是四环素存在与不存在 Fe(III) 时的吸收光谱。虚线是四环素的吸收光谱, 可以看出四环素在 275nm 及 359nm 处有两个吸收带。图1中实线是四环素在同浓度 Fe(III) 中的吸收曲线, 可以看出四环素在 275nm 处的吸收带蓝移至 270nm 处, 359nm 处的吸收带红移至 370nm 处。吸收光谱的改变, 说明四环素与 Fe(III) 生成了配合物。据观察, 此配合物为棕黄色, 稳定时间在 3h 以上。

3.2 四环素-Fe() 配合物与 DNA 的相互作用

将 DNA 加到四环素-Fe(III) 配合物中, 可根据配合物和 DNA 吸收光谱的较大改变而明显观察到 DNA 能与四环素-Fe(III) 配合物发生作用。

图2中虚线是 1:1 型四环素-Fe(III) 配合物的吸收光谱曲线, 实线是在配合物中加入不同浓度的 DNA 后的吸收光谱曲线。可看出加入 DNA 后, 随 DNA 浓度的增大, 配合物吸收带 370nm 处的吸光度值开始下降, 产生了减色效应, 这些事实说明 1:1 型四环素-Fe(III) 配合物与 DNA 发生了作用。

图3中虚线是 DNA 在缓冲溶液中的吸收光谱曲线, 实线是 DNA 在四环素-Fe(III) 配合物中的吸收光谱曲线。可以看出: 加入配合物后, DNA 在 260nm 附近吸收峰产生了减色效应, 且出现负吸收带, 这些事实进一步说明四环素-Fe(III) 配合物确实与 DNA 发生了作用。

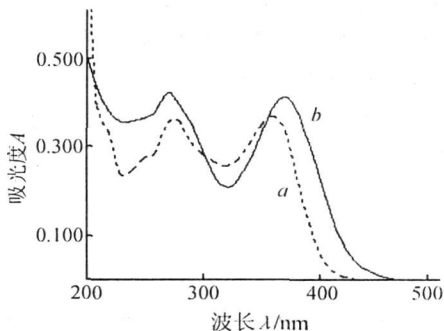


图1 四环素-Fe(III) 吸收光谱

a—— $2.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{TC}$;
b—— $a + 2.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Fe}^{3+}$;
 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Tris-HCl buffer (pH = 7.6)}$ 。

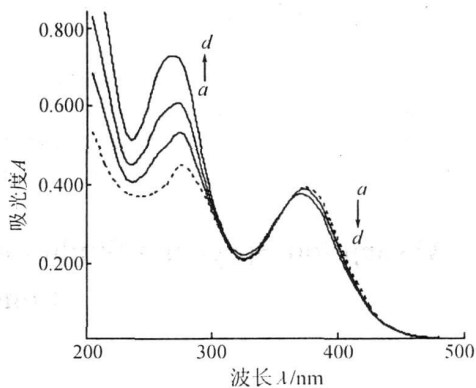


图2 四环素-Fe(III) 与 DNA 作用的吸收光谱

a—— $2.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{TC} +$
 $2.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Fe}^{3+}$;
b—— $a + 1.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{DNA}$;
c—— $a + 3.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{DNA}$;
d—— $a + 5.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{DNA}$;
 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Tris-HCl buffer (pH = 7.6)}$ 。

3.3 DNA 与四环素-Fe() 配合物作用机理探讨

一般而言, 靶向分子与 DNA 的作用有非共价结合(包括静电结合、嵌插结合、沟槽结合), 共价结合以及剪切作用^[5]。图 2 中加入 DNA 后, 配合物最大吸收带 370nm 处有减色效应, 说明配合物与 DNA 发生了嵌插作用^[6], 因为插入配体与 DNA 碱基对可发生 π 电子堆积, 作用配体的 π^* 空轨道与碱基的 π 轨道发生偶合, 偶合后的 π^* 轨道因部分填充电子, 使 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁几率减小, 从而产生减色效应; 图 3 中 DNA 在配合物中的减色效应进一步说明配合物与 DNA 发生了嵌插作用。因为有机小分子与 DNA 相互作用的大小与小分子距 DNA 碱基对之间的距离的三次方成反比, DNA 出现较大的减色效应意味着有机小分子与 DNA 碱基对之间的距离很小, 也即有机小分子可能已嵌入到 DNA 碱基对中^[7], 发生了嵌插作用。

4 结论

本文用紫外光谱方法研究了四环素-Fe(III) 配合物与 DNA 的相互作用。紫外光谱表明四环素-Fe(III) 配合物能与 DNA 作用, 且是以嵌插方式进行作用的。

参考文献

- [1] 刘玉, 李华, 刘阳等. 四环素治疗炎症性关节病作用机制[J]. 中国药师, 2004, 7(9): 732—733.
- [2] 赵业婷, 姚三巧, 赵金桓等. 四环素类药物的非抗生素特性及其临床前景[J]. 中华内科杂志, 2005, 44(9): 710—712.
- [3] 李兵, 吴智宏, 丘贵兴等. 四环素类抗生素治疗骨关节炎的作用机制及应用前景[J]. 中国矫形外科杂志, 2007, 15(3): 197—199.
- [4] 陆继新, 赵鹏, 张贵珠等. 四环素类药物在体内存在状态的研究[J]. 分析科学学报, 1998, 14(1): 19—22.
- [5] 张容颖, 庞代文, 蔡汝秀等. DNA 与其靶向分子相互作用研究进展[J]. 高等学校化学学报, 1999, 20(8): 1210—1217.
- [6] 李红, 乐学义, 吴建中等. 铜(II) 邻菲咯啉蛋氨酸配合物与 DNA 相互作用的研究[J]. 化学学报, 2003, 61(2): 245—250.
- [7] 李文有, 朱守田, 何锡文等. 光谱法研究 Ge-132 与 DNA 的作用机理[J]. 化学学报, 2002, 60(1): 105—108.

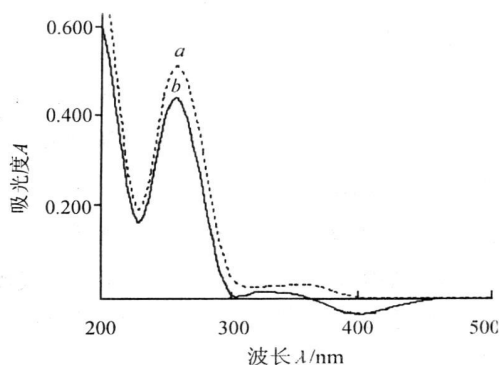


图 3 DNA 在缓冲溶液和在配合物中的吸收光谱曲线

a—— $7.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DNA;
b—— $7.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DNA + $7.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TC + $7.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Fe(III);
 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl buffer (pH= 7.6)。

Absorption Spectrum Studies on Interaction of Tetracycline(TC) -Fe(III) Complex with DNA

WEN Mei-Qiong LI Lu

(Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Teachers College, Chuxiong, Yunnan 675000, P. R. China)

Abstract The interaction of tetracycline(TC) -Fe(III) complex with DNA was studied by ultraviolet absorption spectrometry. The absorption spectrum indicate that tetracycline(TC) -Fe(III) Complex can interact with calf thymus DNA by way of intercalation.

Key words Tetracycline(TC), Fe(III), Complex, DNA, Intercalation