

DNA修饰电极上盐酸异丙嗪电化学行为及其电化学动力学性质

宋华, 顾玲*

(教育部轻化工助剂化学与技术重点实验室, 陕西科技大学, 西安 710021)

摘要 目的: 研究盐酸异丙嗪 (promethazine hydrochloride) 在 DNA 修饰碳糊电极 (DNA /CPE) 上的电化学行为及电化学动力学性质。方法: 用循环伏安法 (CV)、线性扫描伏安法 (LSV)、计时库仑法 (CC) 和计时电流法 (CA) 等多种电化学方法进行研究。结果: 在 pH = 6.8 的 C-L 缓冲溶液中, $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上氧化峰电位为 0.633 V, 比在碳糊电极 (carbon paste electrode, CPE) 上的峰电位正移了 30 mV, 峰电流显著降低。测得盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上电极反应动力学参数: 电荷转移系数 $\alpha = 0.80$ 扩散系数 $D = 8.936 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 电极反应速率常数 $k_f = 3.828 \times 10^{-2} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 而在 CPE 上 $\alpha = 0.86$ 扩散系数 $D = 1.099 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 。结论: 盐酸异丙嗪与 DNA 二者以嵌插作用结合, 形成了一种非电活性物质。

关键词: 盐酸异丙嗪; DNA 修饰电极; 电化学行为; 电化学动力学

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)05-0983-04

Electrochemical behavior and electrochemical kinetics of promethazine hydrochloride at a DNA modified carbon paste electrode

SONG Hua, GU Ling*

(Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry Ministry of Education, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract Objective To investigate the electrochemical behavior of promethazine hydrochloride and its electrochemical kinetics at a DNA modified carbon paste electrode (DNA /CPE). **Methods** Cyclic voltammetry (CV), linear sweep voltammetry (LSV), chronocoulometry (CC) and chronoamperometry (CA) were used in the present research. **Results** In a pH 6.8 C-L buffer solution, the electrochemical behavior of $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ promethazine hydrochloride was an irreversible electrochemical oxidation process on DNA /CPE and that oxidation peak potential was 0.633 V, in contrast to at the carbon paste electrode (CPE), the oxidation peak potential (E_p) shifted positively and the peak current (i_p) declined. **Conclusion** By the determination of electrochemical parameters by the DNA /CPE and CPE, it is deduced that a non-electroactive super-molecular compound is generated between DNA and promethazine hydrochloride.

Key words promethazine hydrochloride; DNA modified electrode; electrochemical behavior; electrochemical kinetics

盐酸异丙嗪作为一类吩噻嗪衍生物, 具有较强的抗过敏及显著的中枢安定作用, 能提高止痛、麻醉、镇静的效果, 主要用于治疗过敏性疾病, 是临床医学常用的抗精神病药物^[1]。研究 DNA 与药物分子的相互作用, 对进一步加强药品质量控制、临床疗效、药物体筛选、药理作用等有重要意义。

目前, 对于盐酸异丙嗪的研究主要集中在测定

研究。普遍采用的方法主要有分光光度法^[2]、高效液相色谱法^[3]、荧光法^[4]、化学计量学^[5]、共振光散射法^[6]、芯片电泳^[7]等。基于盐酸异丙嗪可在电极上发生氧化还原反应, 电化学法^[8]也成功应用于盐酸异丙嗪的测定研究。电化学方法灵敏快捷, 除了用于定量药品的检测, 尤其在了解药物与 DNA 的作用机理, 药物分子是如何阻碍 DNA 的复制和转录的

* 通讯作者, Tel: 15091802996, 15191454175, E-mail: gu@usst.edu.cn

机制探索方面体现了优越性和重要意义。本文以线性扫描伏安法 (LSV) 为主, 结合其他电化学方法, 研究了在模拟生理条件下, 盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上的电化学行为及电化学动力学性质。

1 仪器与试剂

LK98BII型微机电化学分析系统(天津兰力科化学电子高技术有限公司), 三电极体系: 碳糊电极为工作电极(自制), 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极, Pt电极为对电极。

盐酸异丙嗪(山西省临汾健民制药厂), 鲑鱼精 DNA(Sigma公司)置于冰箱避光保存, Clark-Lubs缓冲溶液(即 C-L缓冲液)、HAc-NaAc缓冲溶液、Britton-Robinson缓冲溶液(即 B-R缓冲溶液)以及 $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 缓冲溶液, 实验试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水, 实验均在室温下进行。

2 DNA修饰电极的制备

按一定比例准确称量石墨、甲基硅油放入研钵中, 充分研磨至混合均匀后, 装入 $\Phi = 3\text{ mm}$ 的塑胶套管中, 将电极表面一端压紧压实在称量纸上处理成光滑镜面, 另一端以铜丝作为导线引出。在 C-L空白底液中, 在 $-1.0\sim 1.0\text{ V}$ 电位范围内, 以 $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 的扫描速率进行循环伏安(CV)扫描, 活化 CPE。用微量注射器在活化后的 CPE 表面滴加一定量的 DNA 溶液, 然后在烘箱中干燥, 取出电极, 用蒸馏水充分淋洗后, 再用蒸馏水浸泡 4 h 活化待用。

3 实验方法

以 CPE 或 DNA /CPE 为工作电极, Pt 电极为辅助电极, 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极, 在含有一定浓度盐酸异丙嗪的 $\text{pH} = 6.8$ 的 C-L 缓冲溶液中, $0.2\sim 1.0\text{ V}$ 的电位范围内, 进行循环伏安(CV)、线性扫描伏安(LSV)、计时电量(CC)和计时电流(CA)测定, 记录相应的实验曲线。每次测定后, 将电极置于空白底液中进行 CV 扫描直至无峰, 恢复电极活性, 即可复用。

4 结果与讨论

4.1 DNA 修饰碳糊电极的循环伏安表征 图 1 是 $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KCl}$ 的支持电解质溶液分别在裸电极(a)、DNA 修饰电极(b)上的循环伏安图。由图 1 可以看出, DNA 修饰电极表面, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 的氧化还原峰电流急剧下降, 且反应可逆性变差。这是因为带负电的 DNA 分子的磷酸骨架排斥同样带负电荷的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, 使 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在电极表面的电子转移速率下降, 这些电信号的改变说明电极表面吸附了一定量的 DNA 分子。

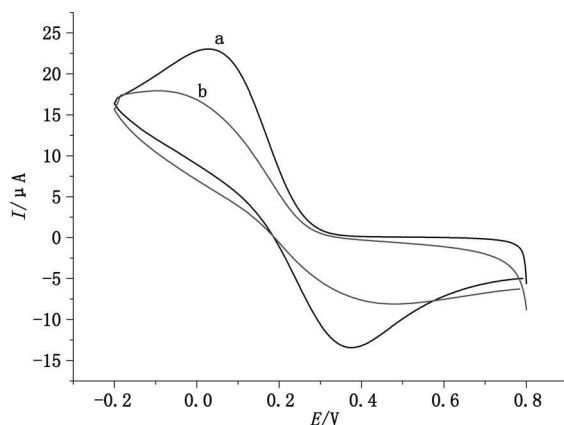


图 1 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在 CPE (a) and DNA /CPE (b) 上的 CV 图
Fig 1 CV of $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ at CPE (a) and DNA /CPE (b)

扫描速率 (scan rate): $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$

4.2 盐酸异丙嗪在 CPE 和 DNA /CPE 上的电化学行为 在 $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸异丙嗪的 $\text{pH} = 6.8$ 的 C-L 缓冲溶液中, 分别以 CPE 和 DNA /CPE 为工作电极, 在 $0.2\sim 1.0\text{ V}$ 的电位范围内, 以 $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 扫描速率进行 LSV 扫描。图 2 可见, 盐酸异丙嗪在 CPE 上出现一尖锐的氧化峰, $E_p = 0.603\text{ V}$, $i_p = -2.865\text{ }\mu\text{A}$; 在 DNA /CPE 上 $E_p = 0.633\text{ V}$, $i_p = -2.031\text{ }\mu\text{A}$ 。电极修饰后峰电流 i_p 降低 $0.834\text{ }\mu\text{A}$, 峰电位 E_p 正移 30 mV 。 i_p 降低表明, 盐酸异丙嗪与 DNA 相互作用时形成电活性较低的复合物, 根据峰电位的位移可以判断盐酸异丙嗪与 DNA 相互作用的模式^[9], 峰电位正移, 可初步推测盐酸异丙嗪与 DNA 主要以嵌插作用方式结合, 原因可能是一部分盐酸异丙嗪分子嵌插到 DNA 的双螺旋结构中, 其

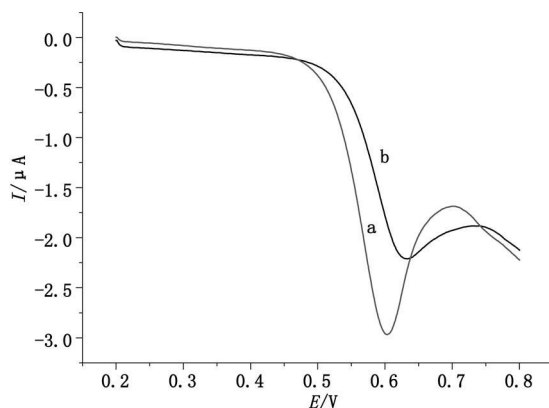


图 2 盐酸异丙嗪 ($1.0\times 10^{-4}\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 在 CPE (a) and DNA /CPE (b) 上的 LSV 图

Fig 2 LSV of $1.0\times 10^{-4}\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ propthazine hydrochloride in $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ C-L}(\text{pH} = 6.8)$ at CPE (a) and DNA /CPE (b)

扫描速率 (scan rate): $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$

电活性位点被包埋在 DNA 的螺旋结构中, 产生了非电活性物质, 本体浓度减少, 使电流变小。扫描速率在 20~ 200 mV · s⁻¹ 进行 LSV 测定, 随扫描速率增大, 峰电位正移, 峰电流增大, *i_p* 与 *v*^{1/2} 呈良好的线性关系, 线性方程为:

$$i_p = 0.666 + 8.510v^{1/2} \quad r = 0.9934$$

说明盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上的电极过程呈现扩散控制特征^[10]。

4.3 实验条件的优化

4.3.1 修饰剂 DNA 用量 对 DNA 的用量为 5~ 20 μL 进行研究, 结果表明在 DNA 修饰量为 10 μL 时, Δ*i_p* 电流为最大, 因此选择 10 μL 为最佳 DNA 用量。可能是 DNA 修饰量超过 10 μL 时, DNA 膜厚度增大, 阻碍了电子的自由移动, 因此电流逐渐减小。

4.3.2 缓冲溶液的选择 考察 C-L (pH 6.2~ 7.6)、HA c-NaAc (pH 3.6~ 5.6)、NH₃-NH₄Cl (pH 8.0~ 10.0)、B-R 缓冲液对盐酸异丙嗪的电化学行为的影响。实验得知在 pH 偏高的环境中, 盐酸异丙嗪出峰情况不好, 在偏酸性及中性的条件下, 盐酸异丙嗪均可出现明显的氧化峰且稳定。本实验考虑到药物的作用环境是在人体内的, 故选择 C-L 溶液作为该体系的缓冲溶液。

4.3.3 pH 的选择 在 pH 6.2~ 7.6 范围内以不同 pH 的 C-L 缓冲溶液配制 1.0 × 10⁻⁴ mol · L⁻¹ 的盐酸异丙嗪溶液, 以 DNA /CPE 为工作电极, 研究了盐酸异丙嗪电化学行为随 pH 变化情况。实验结果表明, 氧化峰电位 *E_p* 随 pH 的增加而减小, 表明盐酸异丙嗪的电化学氧化过程有质子参与; 在 pH 6.2~ 6.8 氧化峰电流 Δ*i_p* 随着 pH 的增加而增大; Δ*i_p* 在 pH 6.8~ 7.6 随着 pH 的增大而减小, 因此选择 6.8 为最佳 pH。

4.4 盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上的动力学

4.4.1 电荷转移系数 α 的测定 在 0.2~ 1.0 V 电位范围及 0.1~ 0.6 V · s⁻¹ 扫描速率范围内用 LSV 研究了扫描速率 *v* 对盐酸异丙嗪氧化峰电位 *E_p* (V) 影响。由实验结果得到 *E_p* - log*v* 关系的线性方程:

$$E_p = 0.0746 \log v + 0.7034 \quad r = 0.9929$$

由该直线斜率求得 ∂*E_p* / ∂(log*v*) = 74.6 mV, 据完全不可逆扩散控制过程方程式^[11]:

$$E_p = (b \log v) / 2 + \text{constant}$$

式中 *b* = 2∂*E_p* / ∂(log*v*) 为 Tafel 斜率, 已知 *E_p* - log*v* 直线斜率为 *b* / 2 即 *b* = 2 × ∂*E_p* / ∂(log*v*) = 149.2 mV。依据以上实验数据求得 *n*(1 - α) = 0.3959, 已知 *n* = 2 故 α = 0.80, 同时也可计算出裸电极的

α = 0.80

4.4.2 扩散系数 *D* 的测定 根据单位阶跃计时电量法 (CC)^[12]:

$$Q = \frac{2nFA D^{1/2}}{\pi^{1/2}} t^{1/2} + Q_{dl} + Q_{ads}$$

采用 CC 法测定扩散系数 *D*, 以 DNA /CPE 为工作电极, 以 K₃[Fe(CN)₆] 为模型化合物 (在 KCl 中 *D* = 7.6 × 10⁻⁶ cm² · s⁻¹) 求得 DNA /CPE 电极活化面积 *A* = 0.2068 cm²。在计时电量曲线上均匀地取点, 作 *Q* - *t*^{1/2} 曲线, 得到盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上的 *Q* - *t*^{1/2} 直线斜率为 1.316 × 10⁻⁵, 由此斜率计算得 *D* = 8.936 × 10⁻⁶ cm² · s⁻¹。同时计算盐酸异丙嗪在裸电极上的 *D* = 1.099 × 10⁻⁵ cm² · s⁻¹。

4.4.3 电极反应速率常数 *k_f* 的测定 在平板电极上对准可逆电极反应, CA 法满足下一关系式^[13]:

$$I(t) = nFAk_f c [1 - \frac{H t^{1/2}}{\pi^{1/2}}]$$

式中 *H* = *k_f* *D*^{1/2} + *k_b* *D*^{1/2}。由于盐酸异丙嗪电氧化过程不可逆, 只有正向氧化过程, *k_b* = 0, 则 *H* = *k_f* *D*^{1/2}。此式表明, 当 *t* → 0 时, *I*(*t*) 与 *t*^{1/2} 有线性关系, 直线斜率为 6.601 × 10⁻⁶。由线性部分的斜率和截距可以求出 *k_f* = 3.828 × 10⁻² cm² · s⁻¹。

4.4.4 反应级数 *n* 的测定 运用 LSV 法研究盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上氧化峰电流 *i_p* 与其浓度 *c* 的关系。根据化学动力学的原理^[14], 以 log*i_p* 对 log*c* 做图得到 log*i_p* - log*c* 关系图, 在浓度为 5.0 × 10⁻⁵ ~ 1.0 × 10⁻⁴ mol · L⁻¹ 范围内, 得到其线性方程为:

$$\log i_p = -1.236 \log c - 5.063 \quad r = 0.9961$$

斜率接近于 1, 表明该反应为一级反应。

5 结论

研究结果发现, 盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 电极上的反应过程受扩散步骤控制。且二者以嵌插作用方式结合。通过实验得到盐酸异丙嗪在 DNA /CPE 上的电化学动力学参数: α = 0.80, *D* = 8.936 × 10⁻⁶ cm² · s⁻¹, *k_f* = 3.828 × 10⁻² cm² · s⁻¹。本研究结果可能为盐酸异丙嗪的药理学和药动学研究提供必要的实验数据及理论指导。

参考文献

- ChP(中国药典). 2005. Vol III (二部): 512
- Q N Zong- hui(秦宗会), LIU Shao- pu(刘绍璞), KONG Ling(孔玲), et al. Spectrophotometric determination of promethazine hydrochloride with eosin Y (曙红 Y 分光光度法测定盐酸异丙嗪). Chin J Anal Chem (分析化学), 2003, 31(6): 702

- 3 LU Fang(刘芳). Content determination of main component and related substances in promethazine hydrochloride injection by RP-HPLC(RP-HPLC法测定盐酸异丙嗪注射液中主要和有关物质的含量). *China Pharm* (中国药房), 2010, 21(17): 1608
- 4 PAN Zi-hong(潘自红), CHEN Li-hua(陈丽华), HAN Yong-jun(韩永军). Spectrophotometric determination of micro promethazine hydrochloride with phloxine(荧光桃红分光光度法测定微量盐酸异丙嗪). *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 2010, 29(2): 115
- 5 NI Yong-nian(倪永年), QI Zheng-bao(齐正保). Differential kinetic spectrophotometric determination of chlorpromazine hydrochloride and promethazine hydrochloride by chemometric method(化学计量学差动力学光谱法同时测定盐酸氯丙嗪和盐酸异丙嗪). *Spectrosc Spect Anal* (光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1364
- 6 FENG Su-ling(冯素玲), PAN Zi-hong(潘自红), FAN Jing(樊静). Resonance light scattering technique for determination of trace promethazine hydrochloride in the presence of Eosin B(曙红 B 共振光散射法测定微量的盐酸异丙嗪). *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2008, 25(12): 1444
- 7 XUN Yi(徐溢), CHEN Rong(陈蓉), ZENG Xue(曾雪), et al. Detection of the chlorpromazine hydrochloride and promethazine hydrochloride by post-column chemiluminescence on CE-chip(盐酸氯丙嗪和盐酸异丙嗪制剂的芯片电泳柱后化学发光检测). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(12): 2044
- 8 LI Li-jun(李利军), YU Lai-bo(喻来波), CHENG Hao(程昊), et al. Study on the electrochemical behaviors and determination of promethazine at poly(L-threonine) lead modified electrode(聚 L-苏氨酸铅笔芯修饰电极对盐酸异丙嗪的电化学行为及测定研究). *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2008, 27(5): 517
- 9 Carter MT, Rodriguez M, Bard AJ. Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA. 2 tris-chelated complexes of cobalt(III) and iron(II) with 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine. *J Am Chem Soc*, 1989, 111(24): 8901
- 10 YAO Jun(姚军), LI Jiang-yuan(李将渊), LU Min(刘敏). Electrochemical behavior and determination of vitamin B₆ at poly-L-tryptophan modified electrode(盐酸吡哆辛在聚 L-色氨酸修饰电极上的电化学行为及其分析测定). *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2006, 26(7): 826
- 11 MA Yan-rong(马艳蓉), LI Li(李力), GAO Zuo-ning(高作宁). Electrochemical behaviors of uric acid at gold electrode modified with polymethylene blue and its electrochemical kinetics(尿酸在聚亚甲基蓝修饰金电极上的电化学及电化学动力学性质). *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2009, 21(2): 207
- 12 SUN Yu-qin(孙玉琴), LIANG Bing(梁斌), GAO Zuo-ning(高作宁), et al. Electrocatalytic oxidation of benzoyl hydrazine at a multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrochemical kinetics(苯甲酰肼在多壁碳纳米管修饰玻璃碳电极上的电催化氧化及其电化学动力学性质). *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 2008, 27(6): 31
- 13 REN Chao-chao(任超超), YOU Wei(犹卫), GAO Zuo-ning(高作宁). Electrocatalytic oxidation and electrochemical kinetics of tyrosin tartarate at multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode(酒石酸泰乐菌素在多壁碳纳米管修饰电极上的电催化氧化及电化学动力学性质). *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 2010, 35(2): 115
- 14 WU Hui-huang(吴辉煌). Electrochemistry(电化学). Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2004. 84

(本文于 2010年 6月 25日收到)