

p -HPcZn 光敏损伤 CT DNA 研究

季 春^{1,2}, 包富荣^{1,2}, 卢 珊^{1,2}, 林 云^{1,2}, 周家宏^{1,2}, 魏少华^{1,2}, 沈 健^{1,2}

(1 南京师范大学 化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097; 2 江苏省生物医药功能材料工程研究中心, 江苏 南京 210097)

[摘要] 采用微弱化学发光方法, 研究了 β -四(羧基苯氧基)锌酞菁(p -HPcZn)光敏损伤 CT DNA 的能力. 结果表明, p -HPcZn 具有良好的光敏损伤 CT DNA 的能力. 其中 p -HPcZn 的单体与其聚集体相比, 单体更具有光敏性能.

[关键词] 酞菁, CT DNA, 光敏损伤, 微弱化学发光

[中图分类号] O657 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1292(2007)02-0090-03

光动力疗法(Photodynamic Therapy, PDT)是近年来发展起来的一种新型肿瘤临床疗法. 该疗法是通过光疗药物在肿瘤组织中的富集和对其进行定向光照射来实现对癌细胞的选择性杀伤. 自上世纪 70 年代末问世以来, 光动力疗法在临床癌症治疗研究过程中取得了许多令人瞩目的成就. 特别是在 90 年代, 美国、日本、加拿大和一些欧洲的国家已获准在临床治疗中应用. 目前有关光动力疗法的研究主要集中于开发新型的光疗药物^[1-3]. 在所研究的化合物中, 金属酞菁类化合物由于其光敏活性、吸收光谱和组织选择性等方面的独特优点, 使其成为第二代光疗药物中的研究热点, 一直受到从事光动力疗法研究的学者们的广泛关注^[4-6].

本文采用 DBU 液相催化法合成出 4 个周边取代羧基苯氧基的新型水溶性酞菁配合物 β -四(羧基苯氧基)酞菁(p -HPc)、 β -四(羧基苯氧基)钴酞菁(p -HPcCo)、 β -四(羧基苯氧基)镍酞菁(p -HPcNi)和 β -四(羧基苯氧基)锌酞菁(p -HPcZn), 通过对其光谱性质和光动力性质结果的比较, 发现 p -HPcZn 有较高光敏活性. 微弱化学发光是研究光疗药物光敏损伤 DNA 的一种有效研究技术, 可以通过检测 DNA 分子中的鸟嘌呤受损伤后所发出光的强度变化来分析光疗药物光敏损伤 DNA 的能力^[7-8]. 为更好地了解其光敏损伤效率, 本文以小牛胸腺脱氧核糖核酸(CT DNA)作为研究目标, 初步研究 p -HPcZn 对 CT DNA 的光敏损伤效率及其影响因素.

1 实验部分

1.1 试剂

p -HPcZn 用 DMSO 将 p -HPcZn 配制成 1.075×10^{-3} mol/L 的溶液, 测试溶液用逐步稀释法配制.

CT DNA: 35.6 mg CT DNA 溶于 32 mL 水中, 冰浴搅拌 12 h, 配制成 1.12 mg/mL 的溶液, 每次使用前稀释 20 倍, 浓度变为 0.056 mg/mL.

烷基多糖苷(APG): 0.025 4 g 溶于 50 mL 水中, 配制成 500 mg/L 的溶液, 测试溶液用逐步稀释法配制.

1.2 仪器

微乳化学发光光谱由中国科学院生物物理所设计的 BPCL 微弱发光测量仪测定; 紫外吸收光谱在 Varian 公司 Cary50 紫外可见光谱仪上测定; 光敏光源为上海亚明灯具厂生产的高压汞灯. 所有的实验均在室温下进行.

收稿日期: 2005-09-28

基金项目: 国家自然科学基金(20673058)、江苏省自然科学基金(BK2006216)和江苏省教育厅自然科学基金(06KJB150053)资助项目.

作者简介: 季 春(1983-), 硕士研究生, 主要从事有机合成和有机光化学的学习和研究. E-mail: jichun123456@163.com

通讯联系人: 魏少华(1964-), 博士, 副教授, 主要从事有机光化学和功能材料的教学与研究. E-mail: shwe@njnu.edu.cn

2 结果与讨论

2.1 *p*-HPcZn光敏损伤 CT DNA的微弱化学发光研究

图 1 为 1.075×10^{-4} mol/L 的 *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 后所检测的发光强度与光敏时间的关系曲线。可以看出, 在 *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 的过程中, 被损伤的 CT DNA 发光的强度随着光敏时间的延长, 先上升后下降, 存在一个最大值为 263 出现该现象是由于溶液中的 *p*-HPcZn 分子光敏产生各种活性氧, 损伤了 CT DNA 分子中的鸟嘌呤碱基, 生成可以发出微弱光的鸟嘌呤自由基。随着实验过程中光敏时间的增加, 生成的鸟嘌呤自由基的数目也逐渐增多, 但是生成的鸟嘌呤自由基太活泼, 稳定性低, 会通过抽氢等途径被进一步反应, 因此两种作用的效果使得图 1 的曲线出现最大值。另外, *p*-HPcZn 的浓度对其光敏损伤 CT DNA 效率的实验结果表明, 随着 *p*-HPcZn 在水溶液中浓度的降低, *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 的能力逐渐增强, 损伤后 CT DNA 的最大发光强度由 195 升高到 400 根据文献及本课题组在研究 ZnPdTs 的光敏产生活性氧的实验结果可知^[4, 9, 10], 出现上述现象是由于随着水溶液中 *p*-HPcZn 浓度的升高, *p*-HPcZn 分子形成聚集体的趋势也不断增强, 而聚集体的形成会使其分子的单重激发态的寿命增大, 降低其系间窜越的量子产率, 从而使其光敏产生各种活性氧的量子产率降低, 最终导致其光敏损伤 CT DNA 的能力也随之下降。

2.2 APG 对 *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 效率的影响

从文献可知, 表面活性剂能够有效地影响酞菁类化合物在溶液中的聚集趋势。为验证上述的实验结论, 本文选用非离子表面活性剂 APG 来研究其对 *p*-HPcZn 在溶液中聚集趋势和光敏损伤 CT DNA 程度的影响。紫外-可见吸收光谱的实验结果表明, *p*-HPcZn 在含 APG 的水溶液中主要是以单体形式存在 (如图 2 所示), 出现该现象是由于 *p*-HPcZn 分子结构中的羧酸基是阴离子水溶性基团, 可以在胶束体系中的亲水性表面上发生定位, 从而破坏了二聚体中的一个水分子与 *p*-HPcZn 分子形成的氢键, 在一定程度上阻止了 *p*-HPcZn 分子形成二聚体。

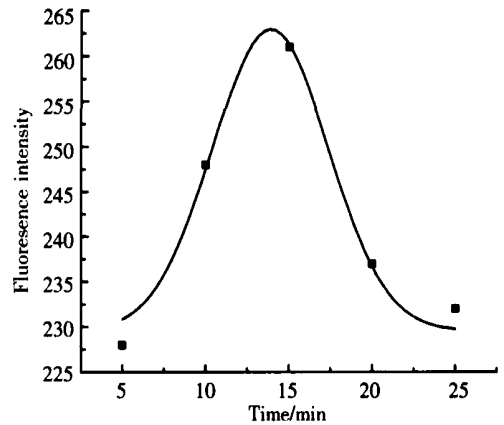
当向 *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 实验的溶液加入 APG 后, 可以发现此时 *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 的能力得到显著增强。另外, 随着溶液中 APG 的浓度增大, *p*-HPcZn 光敏损伤 CT DNA 的能力也逐渐提高, 因此说明 *p*-HPcZn 在溶液中聚集程度的确对其光敏损伤 CT DNA 存在着明显的影响, 即 *p*-HPcZn 的单体与其聚集体相比, 单体更具有光敏性能。

3 结论

微弱化学发光光谱和紫外可见吸收光谱的实验结果表明, *p*-HPcZn 具有良好的光敏损伤 CT DNA 的能力; 其单体与聚集体相比, 单体更具有光敏性能。上述的光敏特性预示 *p*-HPcZn 在光动力疗法领域中具有一定的临床应用前景。

[参考文献] (References)

- [1] 李步洪, 谢树森, 陆祖康. 光动力学疗法新型光敏剂的光谱特性研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2002 22(6): 902-904



图中点为实验数据, 曲线为拟合结果

图 1 CT DNA 的发光强度随光照时间的变化关系曲线
Fig.1 The curve for the relationship of CT DNA emission light intensity vs. illumination time

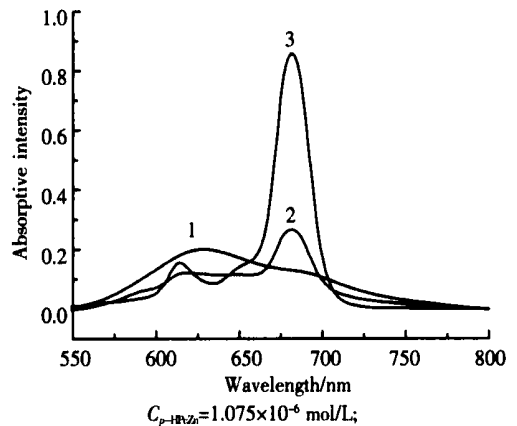


图 2 *p*-HPcZn 在不同质量浓度 APG 水溶液中的吸收光谱
Fig.2 Absorption spectra of *p*-HPcZn in different concentrations of APG solution

- Li Buhong Xie Shusen Lu Zukang Spectral properties of new photosensitizers for photodynamic diagnosis and therapy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2002, 22(6): 902– 904 (in Chinese)
- [2] 许德余. 光动力制癌药物的历史、现状、进展、问题和前景 [J]. 中国激光医学杂志, 2001, 10(1): 44– 47.
Xu Deyu The history, current status, progress, problems and prospects of the photodynamic cancer drugs[J]. Chinese Journal of Laser Medicine and Surgery, 2001, 10(1): 44– 47 (in Chinese)
- [3] 章申峰, 龚兴国. 光动力疗法对肿瘤的作用机制及其影响因素 [J]. 细胞生物学杂志, 2005, 27(4): 395– 399.
Zhang Shenfeng, Gong Xingguo The anti-cancer mechanism and influence factors of photodynamic therapy[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2005, 27(4): 395– 399. (in Chinese)
- [4] Wei Shaohua Zhou Jiahong Huang Deyin et al Synthesis and Type I/Type II photosensitizing properties of a novel amphiphilic zinc phthalocyanine[J]. Dyes and Pigments, 2006, 71(1): 61– 67
- [5] Gao Lindong Qian Xuhong Zhang Li Tetra-trifluoromethoxyl zinc phthalocyanine potential photosensitizer for use in the photodynamic therapy of cancer[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001, 65: 35– 38
- [6] 黄金陵, 黄剑东, 刘尔生, 等. 酞菁配合物的结构与其光动力抗癌活性 [J]. 物理化学学报, 2001, 17(7): 662– 671.
Huang Jinling Huang Jiandong Liu Ersheng, et al Some relationships between structures and photodynamic anti-cancer activities of phthalocyanines[J]. Acta Physico-chemica Sinica, 2001, 17(7): 662– 671. (in Chinese)
- [7] 李永新, 赵丹华, 卓淑娟, 等. 鲁米诺 – 四磺基锰酞菁 – 过氧化氢化学发光体系在蛋白质测定中的应用 [J]. 分析化学, 2003, 31(5): 638– 641.
Li Yongxin Zhao Danhua Zhuo Shujuan, et al Application of the chemiluminescence system of luminol-MnTSPc-H₂O₂ in the mensuration of protein[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2003, 31(5): 638– 641. (in Chinese)
- [8] 杨功俊, 徐静娟, 陈洪渊. 儿茶酚胺衍生物与 DNA 之间相互作用的光谱和电化学法研究 [J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(7): 1 235– 1 239.
Yang Gongjun Xu Junjuan Chen Hongyuan Studies on the interaction between catecholamine derivatives and DNA by means of spectroscopic and voltammetric methods[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2004, 25(7): 1 235– 1 239. (in Chinese)
- [9] 黄剑东, 刘尔生, 杨素苓, 等. 抗癌光敏剂 ZnPcSP 在溶液中的存在状态及其对活性的影响 [J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(12): 2 287– 2 291
Huang Jiandong Liu Ersheng Yang Suling et al Existence states and activities of ZnPcSP as photosensitizer against cancer in solutions[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2002, 23(12): 2 287– 2 291. (in Chinese)
- [10] 吕琳, 吴星, 袁诗海. 磺化酞菁镓、钒、铝、锌在水、醇、胶束中的聚合行为研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 1999, 19(5): 751– 754.
L Lin Wu Xing Yuan Shihai Dimerization of Aluminum, Zinc, Vanadium and Gallium phthalocyanine sulfonates in water, aqueous alcoholic solutions and micelles[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 1999, 19(5): 751– 754. (in Chinese)

[责任编辑: 丁蓉]

(上接第 89 页)

[参考文献] (References)

- [1] Feller W. Probability Theory and Its Applications[M]. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1957.
- [2] 杨纪龙, 叶尔骅. Polya 罐子模型的一个极限分布推广及其应用 [J]. 南京航空学院学报, 1988, 21(4): 112– 118
Yang Jilong Ye Erhua Generalization of a limit distribution of Polya urn model[J]. Journal of Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, 1988, 21(4): 112– 118 (in Chinese)
- [3] Athreya K B. On a characteristic property of Polya urn[J]. Stud Sci Math Hung, 1969(4): 31– 35
- [4] Consul P C, Mittal S P. A new urn model with predetermined strategy[J]. Biom Z, 1975, 17: 67– 75.
- [5] Dyczka W. Polya distribution connected with the problem of Bayes [J]. Demonstr Math, 1972(4): 145– 165.
- [6] Johnson N L, Kotz S. Two variants of Polya’ s urn models [J]. Am Stat, 1976, 30(4): 186– 188
- [7] Karlin S, Taylor H M. A First Course in Stochastic Processes [M]. New York: Academic Press, 1975.
- [8] Karlin S. Central limit theorems for certain infinite urn schemes [J]. J Math Mech, 1967, 17(4): 373– 401.
- [9] Kolchin V E. Uniform local limit theorems in the classical ball problem for a case with varying lattices[J]. Theory Prob Appl, 1967(12): 57– 67.

[责任编辑: 严海琳]