

β -环糊精-4-苄氧基苯酚包合物与 DNA 的相互作用*

龙俊, 段雷雨, 王兴明, 杨欢
(西南科技大学材料科学与工程学院化学系, 四川 绵阳 621010)

摘要: 以溴化乙锭 (EB) 为分子探针, 生理 pH = 7.4 环境下, 分别采用荧光光谱法、化学热力学法和黏度法等手段研究了 β -环糊精-4-苄氧基苯酚 (β -CD-PBP) 包合物与鲱鱼精 DNA (hsDNA) 的相互作用。利用摩尔比法测定 β -环糊精 (β -CD) 与 4-苄氧基苯酚 (PBP) 的包合比 $n_{\beta\text{-CD}}: n_{\text{PBP}} = 1: 1$, 其包合常数 $K_f = 7.39 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。 β -CD-PBP 包合物与 hsDNA 的结合比 $n_{\text{DNA}}: n_{\beta\text{-CD-PBP}} = 1: 9$, 结合常数为 $K_{300.15\text{K}} = 2.86 \times 10^3 \text{ L/mol}$, $K_{310.15\text{K}} = 2.69 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 。热力学函数 $\Delta_r H_m^\ominus = 1.44 \times 10^5 \text{ J/mol}$, $\Delta_r G_{m300.15\text{K}}^\ominus = -1.97 \times 10^4 \text{ J/mol}$, $\Delta_r S_m^\ominus = 549.32 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$, 结果表明 β -CD-PBP 包合物与 DNA 作用是熵驱动, β -CD-PBP 与 hsDNA 的作用方式为静电和部分嵌插的作用方式。

关键词: 4-苄氧基苯酚; 作用方式; β -环糊精; 鲱鱼精 DNA

中图分类号: O629.74 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2013) 06-0086-07

Interactions between β -Cyclodextrin-4-Benzoyloxyphenol Inclusion Compound and Herring Sperm DNA

LONG Jun, DUAN Leiyu, WANG Xingming, YANG Huan

(Department of Chemistry, School Materials Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract: Ethidium bromide (EB) was used as molecule probe, the interaction between β -cyclodextrin-4-Benzoyloxyphenol (β -CD-PBP) and herring-sperm DNA was studied in physiological buffer solution (pH = 7.4) by fluorescence spectroscopy, thermodynamic analysis and viscosity method. Based on the mole ratio method and linear method, the parameters were determined as follows: the binding ratio $n_{\beta\text{-CD}}: n_{\text{PBP}} = 1: 1$ and binding constant $K_f = 7.39 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. The binding ratio was $n_{\text{DNA}}: n_{\beta\text{-CD-PBP}} = 1: 9$, the thermodynamic parameters were $\Delta_r H_m^\ominus = 1.44 \times 10^5 \text{ J/mol}$, $\Delta_r G_{m300.15\text{K}}^\ominus = -1.97 \times 10^4 \text{ J/mol}$, $\Delta_r S_m^\ominus = 549.32 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$. $\Delta_r S_m^\ominus$ was the primary driven power of this interaction, the binding constants were $K_{300.15\text{K}} = 2.86 \times 10^3 \text{ L/mol}$, $K_{310.15\text{K}} = 2.69 \times 10^4 \text{ L/mol}$. These results indicated that the interaction between β -CD-PBP and herring-sperm DNA belonged to electrostatic and part intercalation.

Key words: 4-benzoyloxyphenol; inclusion complex; β -cyclodextrin; herring-sperm DNA

除了少数的病毒 RNA 之外, DNA 也是生物体含有遗传信息的物质, 而且是生物体内非常重要的生物大分子, DNA 在生物体内发挥着特别重要的作用, 特别是在基因的表达方面, 因此它是生物遗传信息的基本载体。关于 DNA 的化学研究领域中,

小分子化合物与 DNA 大分子的相互作用的研究是非常重要的, 并且一直受到人们的关注。这是因为癌症的化学治疗方法最有效的方法就是直接针对肿瘤细胞的 DNA^[1-2], 在医学中已经有人用这种方法来杀死癌细胞, 如一些小分子抗癌药物顺铂, 核

* 收稿日期: 2013-07-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973634)

作者简介: 龙俊 (1988 年生), 男; 研究方向: 化学生物学; 通讯作者: 王兴明; E-mail: xmwang_xkd@163.com

酸剪切试剂以及具有核酸结构的荧光探针, 还有一些功能小分子在特定碱基序列检测中被用作杂交指示剂^[3-4]。因此, 对小分子与 DNA 之间作用的研究, 在医药学、生物学等领域都有着举足轻重的作用。目前研究小分子与 DNA 之间相互作用的手段^[5]: 分光光度法、荧光法、光散射技术、电化学分析法以及生物学法。

超分子化学是一门迅速发展起来的热门学科, 超分子作用是一种以非共价键结合的分子间识别的相互作用力。在超分子化学中有三类物质很受关注, 分别是环糊精、冠醚以及杯芳烃, 它们均是生物模型的分子化学, 其中环糊精是其中最重要的一支。

环糊精 (CD) 是一类含有 6 个及以上的 *D*-吡喃葡萄糖单元经过 α -1, 4 糖苷键首尾相连的键合作用形成的大环化合物。环糊精尤其具有内疏水外亲水的特殊结构能使客体分子的一些物理及化学性质发生部分改变。环糊精自身的结构以及性能与酶具有的微环境相类似, 因此能够成为研究小分子与 DNA 相互作用的有效途径之一^[6-7]。本文研究了 4-苄氧基苯酚 (PBP) 和 β -CD 形成的包合物与 DNA 的相互作用。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

β -环糊精 (β -CD, AR, 成都科龙化工试剂厂); 溴化乙锭 (EB, AR, Sino-American biotec 公司产品); 鲑鱼精 DNA (hsDNA) (上海海洋生物技术有限公司); 4-苄氧基苯酚 (PBP, $w \geq 99\%$, 成都西亚化工股份有限公司); 寡聚核苷酸 (碱基序列为 5' - AATCTCTCGG - 3', 大连宝生物工程有限公司); Tris (0.25 mol/L)-HCl 缓冲液 (pH = 7.4) 临时配制; 水为二次重蒸水, 其它试剂均为分析纯。

F96-荧光分光光度计 (上海分析仪器公司); Nicolet 380 智能傅里叶变换红外光谱仪 (美国热电尼高力公司); D/max-RB X 射线衍射仪 (日本理学公司); pHs-3B 型酸度计 (成都方舟科技开发公司); HH-601 超级恒温水浴 (金坛金南仪器厂); AL204 型电子分析天平 (上海梅特勒-托利多仪器); PHG-9075A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海齐欣科学仪器有限公司); 乌贝路德黏度计。

1.2 实验方法

1.2.1 荧光光谱法 所有样品先用配制好的 Tris-HCl 缓冲液 (pH = 7.4) 溶解配制成高浓度溶液摇

匀, 然后静置, 在使用的时候再稀释成所需浓度。荧光滴定中精确量取 3.00 mL 待测溶液加到 1 cm 厚的比色皿中, 并用注射针每次加入相同量 10 μ L 溶液, 因加入体积过小, 可以忽略体积变化对荧光光谱的影响, 测定和记录每次滴定后溶液的荧光光谱。实验中, 发射光谱的扫描狭缝均为 5 nm, 扫描间隔均为 1 nm, 所有实验的激发波长均为 $\lambda_{ex} = 441$ nm。

Scatchard 法^[8]: 配制一系列不同比例的小分子与 DNA 的混合溶液, 其中 DNA 的浓度是不变的, 每次比例均为 R_i ($R_i = [\text{小分子}] / [\text{DNA}]$, $R_i = 0, 0.4, 0.8, 1.2$), 使用荧光探针 EB 分别滴定上述所配制溶液并记录荧光光谱变化值^[9]。

1.2.2 黏度法 在室温下进行, 使用乌氏贝德黏度计进行黏度法测量, 将配制好的 DNA 溶液加入已经干燥好了的黏度计中, 将黏度计垂直固定好, 然后浸泡在水浴中以保持温度恒定, 记录 DNA 流下的时间, 此过程中始终保持 DNA 浓度不变, 试验中每次使用小分子滴定结束后, 待溶液混合均匀后记下溶液流下的时间, 平行测量 3 次, 取平均值, 分析结果发现溶液流下时间均大于 180 s。以小分子浓度为横坐标, 以 η/η_0 为纵坐标作黏度变化图, η 为混合溶液相对黏度值, η_0 为 DNA 的相对黏度值。

1.2.3 包合物的制备 应用摩尔比法得出包和比, 将 4-苄氧基苯酚与 β -环糊精按 1: 1 的计量关系称取并溶解在 Tris-HCl 缓冲液中, 混合均匀, 静置 24 h 让它们充分作用, 得到 β -环糊精-4-苄氧基苯酚包合物。

2 结果与讨论

2.1 荧光光谱法研究 β -环糊精与 PBP 的包和作用

在研究超分子化学中主体与客体相互作用最常用的一种方法是荧光光谱法。倘使 β -CD 包和了 PBP, β -CD 会使得 PBP 的部分理化性质发生一些变化, 因此会造成 PBP 的荧光光谱峰强度的变化或者造成红移等现象。当 PBP 浓度保持不变的情况下, 向 PBP 溶液中逐渐滴加 β -CD 溶液, 记下 PBP 的荧光光谱变化的过程, 如图 1 所示, 584 nm 出的峰为 PBP 在激发波长为 441 nm 时的特征荧光峰, 当 β -CD 溶液的不断加入, 584 nm 处的荧光峰强度明显减弱, 再随着 β -CD 浓度的增加, 会观察到荧光光谱峰强减小的幅度明显逐渐降低, 导致峰强度减小是因为 PBP 与 β -CD 形成了包合物, 在起始阶段 β -CD 浓度很低, 那么需要多少 β -CD 就能

全部包和 PBP 然后形成 β -CD-PBP 包合物, 然而随着 β -CD 浓度的增加到一定值后, β -CD 与 PBP 之间已经接近包和比, 那么被 β -CD 包和的 PBP 将不随 β -CD 的加入而增加, 故后面荧光值强度减小幅度会逐渐变小。为了得到 β -CD 与 PBP 的包和比, 使用了摩尔比法, 固定 PBP 浓度, 在 584nm 处平行测定加入 β -CD 后引起的荧光值变化, 作出摩尔比图如图 2 所示, 由图可知 β -CD 与 PBP 之间结合比例为 1: 1, 即包和比为 $n_{\beta\text{-CD}}: n_{\text{PBP}} = 1: 1$, 再利用双倒数曲线, 即可以计算出 β -CD 包和 PBP 之间的包和常数为 $K_f = 7.39 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

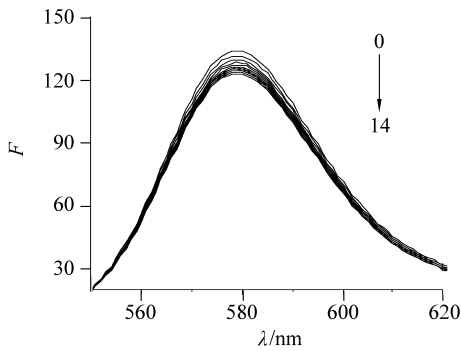


图 1 β -CD 对 PBP 荧光光谱的影响

Fig. 1 Fluorescence spectra of PBP in different concentrations of β -CD

$$c_{\text{PBP}} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol/L}, c_{\beta\text{-CD}} = 7.50 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

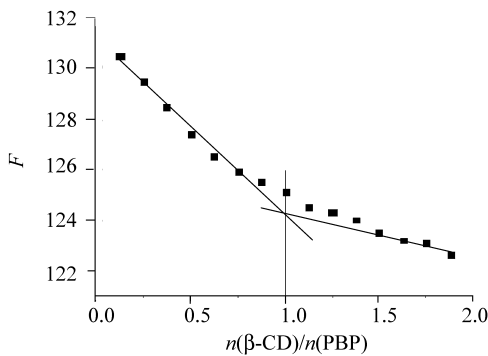


图 2 PBP 对 β -CD 的摩尔比图

Fig. 2 Mole ratio plots of β -CD-ST

$$c_{\text{PBP}} = 2.00 \times 10^{-5} \text{ mol/L}, c_{\beta\text{-CD}} = 7.500 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

2.2 荧光光谱法研究 β -CD-PBP 包合物与 DNA 的相互作用

在研究小分子与 DNA 作用中使用荧光光谱法^[10-11], 若对象小分子能够嵌入至 DNA 碱基对中, 则导致小分子的荧光发射光谱减弱; 若小分子与 DNA 的作用方式为静电方式, 会导致小分子的荧光发射光谱增强, 原因是在嵌插作用过程中, β -

CD-PBP 中 PBP 的芳香发色团嵌入到 DNA 碱基对之后出现 π 电子的堆积效应造成的, 然而静电作用使得 β -CD-PBP-DNA 表面的电子密度增加从而导致荧光光谱增强。往 β -CD-PBP 溶液中逐渐滴加 DNA 溶液, 然后扫描 β -CD-PBP 的荧光光谱变化的过程 (图略), 观察荧光值变化并记下在逐渐滴加 DNA 后 β -CD-PBP 在 584 nm 处的荧光强度, 作出摩尔比图, 结果如图 3 所示, 从图 3 易可知由于加入 DNA 后, 得知 β -CD-PBP 在 584 nm 处的荧光值不断减少, 说明 β -CD-PBP 与 DNA 之间相互发生了作用然后形成了一种新的复合物^[12], 因此 β -CD-PBP 可能嵌插入了 DNA 之中。再根据图 3 所示, β -CD-PBP 与 DNA 之间的结合比为 $n_{\text{DNA}}: n_{\beta\text{-CD-PBP}} = 1: 9$ 。

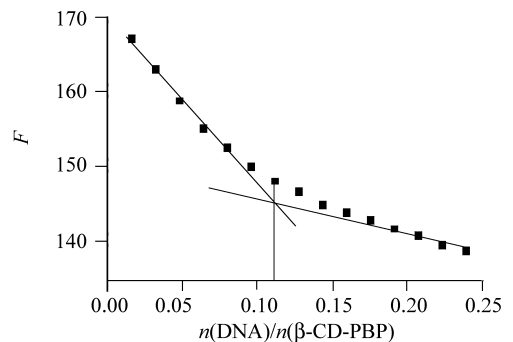


图 3 β -CD-PBP 对 DNA 的摩尔比图

Fig. 3 Mole ratio plots of β -CD-PBP-DNA

$$c_{\beta\text{-CD-PBP}} = 2.00 \times 10^{-6} \text{ mol/L}, c_{\text{DNA}} = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

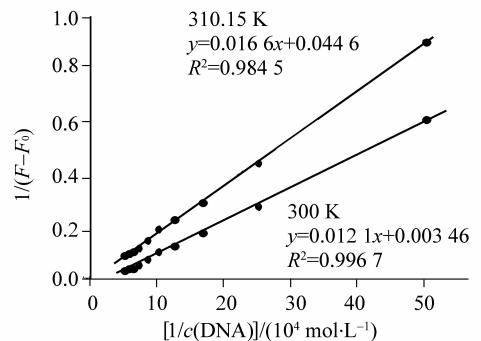


图 4 双倒数图

Fig. 4 Double reciprocal plots

$$c_{\beta\text{-CD-PBP}} = 2.00 \times 10^{-6} \text{ mol/L}, c_{\text{DNA}} = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

2.3 β -CD-PBP 包合物与 DNA 的相互作用间的热力学研究

研究小分子与 DNA 的相互作用之间作用强度与作用力大小通常采用热力学或者动力学方法来研究。本文采用了热力学法进行研究, 按照荧光光谱

法测算出 β -CD-PBP 与 DNA 之间的结合常数, 还可以得到各热力学函数。然后在 300.15 K 以及 310.15 K 下分别测定 DNA 对 β -CD-PBP 包合物产生的荧光光谱影响, 作出双倒数图 4。从图中可以清楚看出双倒数曲线具有很好的线性关系, 通过两条直线的斜率与截距计算出 300.15 和 310.15 K 温度下的结合常数分别为 $K_{300.15K} = 2.86 \times 10^3 \text{ L/mol}$, $K_{310.15K} = 2.69 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 。然后依据热力学函数公式计算得到各热力学函数值为 $\Delta_r H_m^\ominus = 1.44 \times 10^5 \text{ J/mol}$, $\Delta_r G_{m300.15K}^\ominus = -1.97 \times 10^4 \text{ J/mol}$, $\Delta_r S_m^\ominus = 549.32 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ 。分析得到的热力学函数值得知, $\Delta_r G_{m300.15K}^\ominus = -1.97 \times 10^4 \text{ J/mol}$ 为负值, 表明 β -CD-PBP 与 DNA 相互作用是一个自发的过程, $\Delta_r H_m^\ominus$ 大于零说明 β -CD-PBP 与 DNA 的作用过程是吸热的, 温度越高越有利于反应的进行, 同时这个结果也被 310.15 K 下的结合常数大于 300.15 K 时的结合常数所验证, 同样 $\Delta_r S_m^\ominus$ 大于零说明了这个自发反应过程的推动力为熵驱动。于是由热力学数据研究得知 β -CD-PBP 可以非常容易与 DNA 相互发生作用, 而这种作用的主要推动力为熵变。

2.4 EB 探针法研究 PBP 包合物与 DNA 之间的相互作用

在探索小分子与 DNA 之间的相互作用时, 检测小分子与 DNA 之间是否存在嵌插作用时通常用 EB 作为荧光探针。因为具有平面共轭结构的 EB, 其能专一的嵌入至 DNA 碱基对中, 当 EB 嵌入至 DNA 中, 由于 DNA 的内部存在疏水环境, 得知水溶液对 EB 的荧光猝灭作用将被削弱, 那么 EB-DNA 的荧光强度强于单独的 EB 溶液。若目标小分子与 DNA 之间存在着嵌插作用, 则小分子将会和 EB 竞争与 DNA 的结合位点, 结果会置换出 EB, 将会显现水溶液对 EB 的荧光猝灭作用, 此时荧光强度将会明显地减弱。但是小分子以其它方式与 DNA 作用时, 不能置换出 EB, 固荧光强度将保持不变。配制 EB-DNA 溶液并使它的浓度保持不变, 在 EB-DNA 溶液中缓慢滴加 β -CD-PBP 溶液, 记录观察 EB-DNA 荧光光谱变化 (图 5), 从图中可以明显观察到溶液中 β -CD-PBP 的浓度慢慢增加时, EB-DNA 的荧光强度会逐渐减弱, 其结果表明 β -CD-PBP 置换出了 DNA 中的 EB, 进一步说明包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间存在着嵌插作用, 即包合物 β -CD-PBP 会嵌入到 DNA 中。

2.5 磷酸盐与 PBP 包合物之间相互作用的研究

小分子与 DNA 之间的静电作用是因为磷酸骨

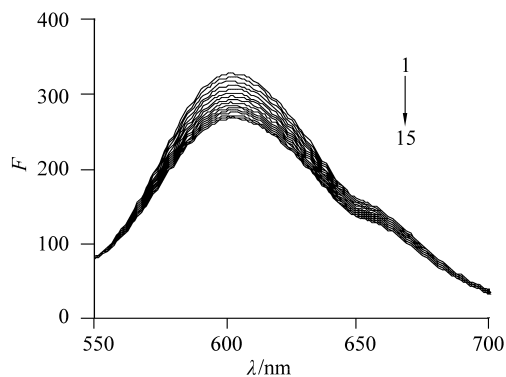


图 5 β -CD-PBP 对 EB-DNA 体系的荧光光谱影响

Fig.5 Effect of β -CD-PBP on fluorescence spectra of DNA-EB

$c_{\text{EB-DNA}} = 1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $c_{\beta\text{-CD-PBP}} = 2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

架, 因此静电作用部位是在 DNA 的磷酸骨架上。在探索包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间是否还存在另外一种作用方式静电作用, 我们采用磷酸盐 (Na_3PO_4) 与 β -CD-PBP 之间的相互作用, 因为 Na_3PO_4 在溶液中会电离出大量的磷酸根, 这些大量的磷酸根用来代替 DNA 的磷酸骨架。如果小分子与 DNA 的作用方式有静电作用存在时, 则目标小分子也必定会与游离的 PO_4^{3-} 通过静电作用发生反应^[13-14], 此时小分子的荧光光谱会发生改变。记录并观察 Na_3PO_4 溶液对 β -CD-PBP 包合物的荧光光谱影响, 分析结果如图 6, 加入 Na_3PO_4 溶液后, 584 nm 处包合物的荧光强度有明显的猝灭现象发生, 说明是 β -CD-PBP 与 PO_4^{3-} 离子通过静电方式束缚在 β -CD-PBP 与磷酸根之间导致了荧光光谱猝灭。猝灭现象说明包合物与磷酸盐能够通过静电方式发生反应并结合, 则表明 β -CD-PBP 能够与 DNA 磷酸骨架结合, 结果说明包合物 β -CD-PBP 能够通过静电作用方式与 DNA 发生作用。

2.6 寡聚核苷酸与 PBP 包合物之间相互作用的研究

通过磷酸盐实验证实了 PBP 包合物与 DNA 之间的确存在静电作用, β -CD-PBP 与 DNA 之间是否存在沟渠作用可以通过寡聚核苷酸对 β -CD-PBP 荧光光谱影响结果来推测。寡聚核苷酸是 DNA 分子中的一个短小的链状片段, 也就是 DNA 双螺旋碱基对中的一段短小的单链碱基。寡聚核苷酸没有成对的碱基对, 也没有 DNA 外层的磷酸骨架, 则小分子只能在它的沟壑中与其发生作用, 这种作用方式就是沟渠作用。寡聚核苷酸对 β -CD-PBP 的荧光光谱影响结果在图 7 所示, 图中明显表明当在 β -CD-PBP 溶液加入了适量的寡聚核苷酸之后, 荧光光谱几乎没有任何变化, 然后考虑到实验和仪器

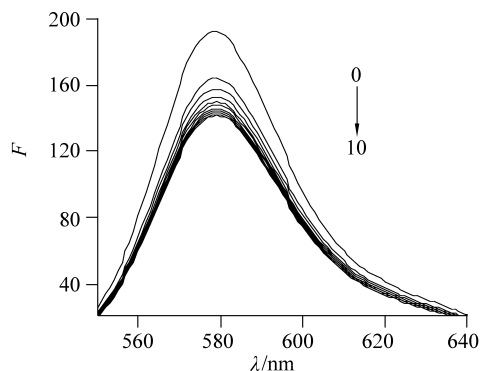


图 6 磷酸盐对 β -CD-PBP 的荧光光谱影响

Fig. 6 Fluorescence spectra of β -CD-PBP in different concentration of phosphate

$$c_{\text{Na}_3\text{PO}_4} = 6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}, c_{\beta\text{-CD-PBP}} = 2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

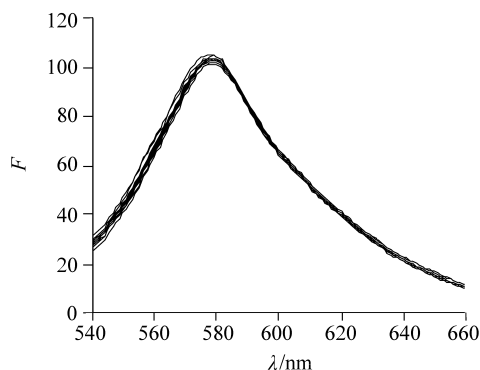


图 7 寡聚核苷酸对 β -CD-PBP 的荧光光谱影响

Fig. 7 Fluorescence spectra of β -CD-PBP in different concentration of oligodeoxynucleotides

$$c_{\beta\text{-CD-PBP}} = 1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}, c_{\text{oligodeoxynucleotides}} = 1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

带来的误差, 可以认为包合物 β -CD-PBP 的荧光光谱确实没有发生变化, 即表明寡聚核苷酸与 β -CD-PBP 包合物没有发生作用, 因此结果证明了包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间不存在沟渠作用。

2.7 β -CD-PBP 包合物与 DNA 相互作用的黏度法研究

前面采用的方法一直是荧光光谱法来研究 β -CD-PBP 包合物与 DNA 的相互作用, 意识到单一技术的可靠性, 固选取流体力学——黏度法研究 β -CD-PBP 包合物与 DNA 之间的作用方式。引起 DNA 浓度变化的原因有其结构的变长扭结缩短变形等, 而且这种变化非常的敏感, 当检测时很难获得精确的晶体结构数据时, 通常黏度法就是一种非常可靠而有效的方法。整个小分子完全的嵌入到 DNA 中时, 会使得碱基对之间的空间距离变大使得 DNA 分子链变长, 黏度就会显著增加, 若小分

子与 DNA 表面的磷酸骨架发生静电作用, 而与碱基间的沟壑发生沟渠作用, 这两种作用方式对 DNA 的结构并不产生影响, 黏度值也不会发生变化。小分子若是部分的嵌入到了碱基对间, 此时小分子会通过其他作用方式或者通过分子间相互作用力使得 DNA 双螺旋结构发生扭曲变形从而导致 DNA 结构变短, 此时它的黏度值就会变小^[15]。配制一系列不同浓度并且包含不同比例的 β -CD-PBP 包合物的 β -CD-PBP-DNA 溶液, 条件为室温, 分别测定其黏度并记录, 分析结果如图 8, 探究 β -CD-PBP 对于 DNA 的黏度影响。从图 8 中可以看出, 溶液中包合物 β -CD-PBP 的浓度不断增大的同时, 可是 DNA 的黏度值在不断的减小, 此现象就说明 β -CD-PBP 分子只是部分嵌入到了 DNA 碱基对中。通常情况要完全嵌入到 DNA 碱基对中是要求小分子为平面共轭刚性结构, 可是环糊精因为是一个筒状结构却不能嵌入到碱基对中, 那么嵌入到碱基对中的那小部分应为 PBP 中完全进入 CD 空腔的部分。所以, 包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间的结合方式是以部分嵌插作用方式结合。

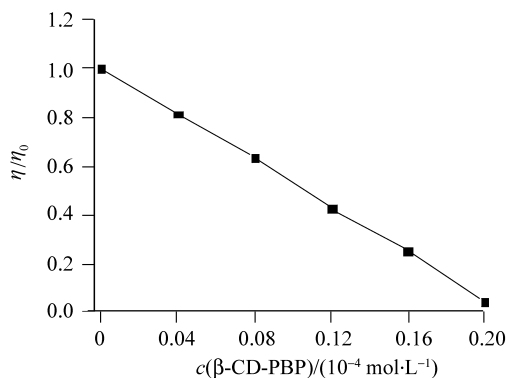


图 8 β -CD-PBP 对 DNA 的黏度影响

Fig. 8 Influence of concentration of β -CD-PBP on DNA viscosity

$$c_{\text{DNA}} = 7 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

2.8 Scatchard 法分析研究

Scatchard 法是根据荧光探针法再结合 Scatchard 方程分析小分子与 DNA 相互作用的方法。因此分析 EB 存在下 Scatchard 图有相同的 K 值说明包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间为非嵌插作用模式, 即作用方式可能为沟渠作用或者静电作用, 若测得 Scatchard 图中的 n 值和 K 值均不同说明包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间为嵌插作用和非嵌插作用均有的混合作用模式^[15]。从表 1 明显得出 n 值和 K 值

均不同,故 β -CD-PBP 与 DNA 之间作用方式为混合作用。

在 Scatchard 法中,我们还使用两种不同浓度的 NaCl 实验进行对比,根据溶液中的离子强度不同可以判断出物质与 DNA 之间是否有静电作用。

因为 NaCl 在缓冲溶液中将自发电离出 Na^+ , Na^+ 因为与 DNA 的磷酸骨架负离子作用在磷酸负

离子周围形成紧密阳离子氛以至于小分子很难通过静电结合与 DNA 作用,这样也就抑制了小分子与 DNA 之间的静电作用,使得在高浓度 NaCl 溶液中的 n 值小于低浓度时的 n 值。因此在表 1 中 0.5 mol/L 的 NaCl 溶液的 n 值低于 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液的 n 值,结果证明包合物 β -CD-PBP 与 DNA 之间存在着静电作用。

表 1 β -CD-PBP 与 DNA 相互作用的 Scatchard 方程

Table 1 Scatchard Equation of interaction between β -CD-PBP and DNA

Curve	R_1	$c(\text{NaCl})/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Scatchard 方程	$K/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	n
a	0.0	0.1	$3.56 \times 10^6 - 4.79 \times 10^7 x$	4.79×10^7	0.074
		0.5	$2.71 \times 10^6 - 5.91 \times 10^7 x$	5.91×10^7	0.046
b	0.4	0.1	$3.94 \times 10^6 - 5.41 \times 10^7 x$	5.41×10^7	0.073
		0.5	$1.89 \times 10^6 - 3.32 \times 10^7 x$	3.32×10^7	0.057
c	0.8	0.1	$4.81 \times 10^6 - 6.67 \times 10^7 x$	6.67×10^7	0.072
		0.5	$1.94 \times 10^6 - 3.17 \times 10^7 x$	3.17×10^7	0.061
d	1.2	0.1	$1.13 \times 10^7 - 1.40 \times 10^8 x$	1.40×10^8	0.081
		0.5	$2.06 \times 10^6 - 3.20 \times 10^7 x$	3.20×10^7	0.064

3 结 论

本文研究 PBP 与 β -CD 以及 β -CD-PBP 与 DNA 的相互作用主要采用荧光光谱法和黏度法,通过一系列实验得知 PBP 与 β -CD 能形成 1:1 的包合物 β -CD-PBP。而且包合物 β -CD-PBP 能与 DNA 作用形成一种 9:1 的新的复合物,这种复合物的生成主要是通过部分嵌插和静电作用的混合模式。荧光光谱法、探针法以及黏度法均验证了包合物 β -CD-PBP 与 DNA 存在部分嵌插,磷酸盐实验法和 Scatchard 法验证了静电作用,寡聚核苷酸法证明作用方式不存在沟渠作用。

根据热力学理论计算得出了 PBP 与 β -CD 包和形成的包合物的包和常数为 $K_f = 7.39 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 以及热力学函数值 $\Delta_r H_m^\theta = 1.44 \times 10^5 \text{ J/mol}$, $\Delta_r G_{m,300.15\text{K}}^\theta = -1.97 \times 10^4 \text{ J/mol}$, $\Delta_r S_m^\theta = 549.32 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ 。由热力学函数值很容易判断出包合物 β -CD-PBP 可以自发的与 DNA 作用并反应,而且适当升高温度将有利于反应的进行,其主要驱动力为熵变推动^[17-18]。

参考文献:

[1] 王兴明,刘海萍,石荣铭,等. β -环糊精与中性红-铜

(II)配合物的相互作用[J]. 四川大学学报:工程科学版,2006,28(3):70-74.

- [2] TROMMEL J S, MARZILI L G. Synthesis and DNA binding of novel water-soluble cationic methylcobalt porphyrins[J]. Inorganic Chemistry, 2001, 40(17): 4374-4383.
- [3] NEBRO A J, LUQUE G, LULLA F, et al. DNA fragment assembly using agrid-based Geneticalgorithm [J]. Comput Operat Res, 2008, 35: 2776-2790.
- [4] GUO L H, YANG H H, QIU B, et al. Capillary electrophoresis with electrochemiluminescent detection for highly sensitive assay of genetically modified organisms [J]. Analytical Chemistry, 2007, 588: 123-130.
- [5] YANG H, WANG X M. Spectroscopic studies on the interaction of β -cyclodextrin-8-hydroxyquinoxalineinclusion complex with herring sperm DNA[J]. Journal of Molecular Structure, 2013, 1036:51-55.
- [6] NISANART C, SAOVANEE D, SAROTE S, et al. Optimization of cyclodextrin production from sago starch[J]. Biores Technol, 2004, 92: 49-54.
- [7] 姚虹,魏太保,徐维霞,等. β -环糊精与二苯硫脲、二苯脲包结作用的紫外光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(9): 1664-1667.
- [8] LEPCQ J B, PAOLETTI C J. A fluorescent complex between ethidium bromide and nucleic acids[J]. J Mol Biol, 1967, 27: 87-106.

- [9] 王兴明, 黎泓波, 胡亚敏, 等. 苏木素与 DNA 相互作用的光谱研究[J]. 化学学报, 2007, 65(2): 140 - 146.
- [10] 李志成, 王兴明, 赵娜. 酪氨酸-铈(III)配合物与鲑鱼精 DNA 的作用机理[J]. 中国稀土学报, 2013, 31(2): 142 - 147.
- [11] 欧亮龙, 王兴明. 茜素黄 R- γ 环糊精包合物与鲑鱼精 DNA 的作用机理[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(1): 89 - 93.
- [12] LONG E C, BARTON J K. On demonstrating DNA intercalation acc[J]. Chem Res, 1990, 23: 271 - 273.
- [13] 黎泓波, 拓宏桂, 王兴明, 等. 光谱学研究血卟啉与鲑鱼精 DNA 的相互作用[J]. 光学学报, 2008, 28(10): 2015 - 2021.
- [14] HOWE G M, WU K C, BAUER W R. Binding of platinum and palladium metallointercalation reagents and antitumor drugs to closed and open DNAs[J]. Biochemistry, 1976, 15(19): 4339 - 4346.
- [15] 张黔玲, 刘剑洪, 任祥忠, 等. 新型双核配合物的形成及荧光性质研究[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(10): 1805 - 1810.
- [16] 李来生, 黄志兵, 王宇晓, 等. 荧光光谱法研究对二甲氨基苯-杯[8]芳烃与 DNA 相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(7): 1088 - 1091.
- [17] ROSS D P, SABRAMANIAN S. Thermodynamics of protein association reaction-forced contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20: 3096 - 3102.
- [18] 王建红, 程鹏飞, 孙心齐, 等. *N*-(茄呢基哌啶烷基) 蕙甲胺的合成及其与 DNA 作用的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(7): 1398 - 1402.

(上接第 85 页)

- [7] TJONG SC, LI RKY, CHEUNG T. Mechanical behavior of CaCO₃ particulate-filled β -crystalline phase polypropylene composites [J]. Polym Eng Sci, 1997, 37: 166 - 172.
- [8] LABOUR T, GAUTHIER C, SEGUELA R, et al. Influence of the β crystalline phase on the mechanical properties of unfilled and CaCO₃-filled polypropylene. I. Structural and mechanical characterization [J]. Polymer, 2001, 42: 7127 - 7135.
- [9] ZHANG Z, WANG C, MENG Y, et al. Synergistic effects of toughening of nano-CaCO₃ and toughness of β -polypropylene [J]. Composites Part A, 2012, 43: 189 - 197.
- [10] GAHLEITNER M, GREIN C, BERNREITNER K. Synergistic mechanical effects of calcite micro- and nanoparticles and β -nucleation in polypropylene copolymers [J]. Eur Polym J, 2012, 48: 49 - 59.
- [11] 章自寿, 杨竹根, 王春广, 等. 负载型 β -成核剂对 PP 结晶与熔融行为的影响 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2009, 48(3): 104 - 108.
- [12] ZHANG Z, WANG C, YANG Z, et al. Crystallization behaviors and melting characteristics of iPP nucleated by a novel supported β -nucleating agent [J]. Polymer, 2008, 49: 5137 - 5145.
- [13] ZHANG Z, TAO Y, YANG Z, et al. Preparation and characteristics of nano-CaCO₃ supported β -nucleating agent of polypropylene [J]. Eur Polym J, 2008, 44: 1955 - 1961.
- [14] ZHANG Z, CHEN C, WANG C, et al. A novel highly efficient β -nucleating agent for polypropylene using nano-CaCO₃ as support [J]. Polym Int, 2010, 59: 1199 - 1204.
- [15] TURNER-JONES A, AIZLEWOOD J, BECKETT D. Crystalline forms of isotactic polypropylene [J]. Makromol Chem, 1964, 75: 134 - 158.