

# 4-苄氧基苯酚与鲱鱼精 DNA 相互作用的研究\*

胡亚敏, 鲁俊良, 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:** 在 pH = 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液中, 采用荧光光谱法、黏度法等分析方法研究了 4-苄氧基苯酚 (PBP) 与鲱鱼精 DNA 的作用方式, 用摩尔比法确定了 PBP 与 DNA 的结合比为 2:1。通过热力学研究得出, 在 27 °C 时 PBP 与鲱鱼精 DNA 之间相互作用的结合常数为  $K_{300.15K}^0 = 2.16 \times 10^5 \text{ L/mol}$ , 热力学函数  $\Delta_r H_m^0 = -6.18 \times 10^4 \text{ J/mol}$ ,  $\Delta_r S_m^0 = -1.05 \times 10^3 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$ ,  $\Delta_r G_{m300.15K}^0 = -3.04 \times 10^4 \text{ J/mol}$ , 结果表明该反应为焓驱动。综合实验结果确定了 PBP 与 DNA 的作用方式为部分嵌插以及静电作用。

**关键词:** 4-苄氧基苯酚; 鲱鱼精 DNA; 溴化乙锭; 作用方式

**中图分类号:** O657.31 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2014)03-0085-06

## Study on the Interaction Mode between 4-Benzoyloxyphenol and Herring Sperm DNA

HU Yamin, LU Junliang, WANG Xingming, YANG Huan

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

**Abstract:** The mechanism of interaction between 4-Benzoyloxyphenol (PBP) and herring sperm DNA was studied using fluorescence spectroscopy and viscosity analysis in a Tris-HCl solution (pH = 7.4). Using mole ration method, the mole ration between PBP and DNA was determined to be 2. Using the thermodynamic analysis, the binding constant of PBP interaction with DNA was determined to be  $K_{300.15K}^0 = 2.16 \times 10^5 \text{ L/mol}$ , and the corresponding thermodynamic parameters were  $\Delta_r H_m^0 = -6.18 \times 10^4 \text{ J/mol}$ ,  $\Delta_r S_m^0 = -1.05 \times 10^3 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$ ,  $\Delta_r G_{m300.15K}^0 = -3.04 \times 10^4 \text{ J/mol}$ . The result suggested that enthalpy was the driven force in the reaction. The interaction of PBP and DNA was derived from partial intercalation and electrostatic interaction.

**Key words:** 4-benzoyloxyphenol; herring sperm DNA; ethidium bromide; interaction method

天然酚类化合物是动植物体内最为丰富的次生代谢产物之一<sup>[1]</sup>, 这些酚类化合物均具有很好的生物活性。酚类化合物由于其螯合特性, 被证实了具有抗炎症、抗变态反应、抗病毒以及抗癌症等特性<sup>[2-5]</sup>。许多酚类或者酚类衍生物都具有很强的抗氧化能力而对人体健康起着非常重要的作用, 如葡萄酒、茶、咖啡等等中的酚类化合物。酚类化合物结构中由于含有一个或者多个酚性羟基而很强的抗

氧化能力以及自由基清除的能力, 所以酚类化合物都具有独特的药理活性以及生理功能, 对于疾病的预防与治疗都起着非常积极的作用, 正是因为如此, 酚类化合物引起了许多研究者的兴趣<sup>[6-9]</sup>。目前, 由于 DNA 以及多酚类化合物及酚类衍生物结构的复杂多变性, 人们对于酚类化合物抗肿瘤细胞的作用机制还未完全地建立起比较完整的理论, 仍需进一步深入研究。4-苄氧基苯酚又叫莫诺苯宗、

\* 收稿日期: 2013-11-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21072185)

作者简介: 胡亚敏 (1976 年生), 女; 研究方向: 化学生物学; 通讯作者: 王兴明; E-mail: xmwang\_xkd@163.com

氢醌苄基醚、对苄氧基苯酚, 在工业及精细化工中有着重要用途, 在橡胶工业中用作抗氧化剂, 也是合成选择性雌激素受体调节剂 (SERM) 阿左昔芬的重要中间体。酚羟基具有较强的自由基清除功能, 而如今的研究表明抗肿瘤机制中也包含了自由基清除作用<sup>[10]</sup>, 本文选择 4-苄氧基苯酚 (PBP) 来研究其与鲑鱼精 DNA 的相互作用, 以便为筛选新的抗肿瘤药物提供一定的依据和参考。4-苄氧基苯酚结构如图 1。

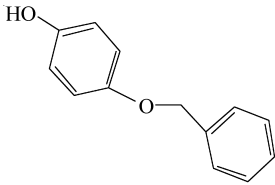


图 1 4-苄氧基苯酚结构图

Fig. 1 Structure of 4-Benzyloxyphenol

## 1 实验

### 1.1 试剂与仪器

F-4500 型荧光光谱仪, 日本日立公司; 乌氏贝德黏度计, 上海市青浦区前明玻璃仪器厂; pH-S-2C 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。

鲑鱼精 DNA (hsDNA, AR, Sigma 公司); 溴化乙锭 (EB, AR, Sino-American biotec 公司产品); 三羟甲基氨基甲烷 (Tris, AR, 天津科密欧化学试剂开发中心); 寡聚核苷酸 (碱基序列为 5'-AATCTCTCGG-3', 大连宝生物工程有限公司); 其它试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

1.2.1 荧光光谱法 所有样品均先用配制好的 Tris-HCl 缓冲液 (pH = 7.4) 溶解配制成高浓度溶液摇匀并静置, 当要使用时再稀释成所需浓度。在荧光滴定中精确量取 3.00 mL 待测定溶液加入到光程为 1 cm 的石英比色皿中, 使用注射针每次加入 10  $\mu$ L 溶液, 因加入体积很小, 故可以忽略体积效应对荧光光谱的影响, 测定记录每次滴定后溶液的荧光光谱, 在实验中, 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: 配制一系列不同比例的小分子与 DNA 混合液, 其中 DNA 的浓度是固定的, 每次

比例为  $R_i$  ( $R_i = [\text{小分子}] / [\text{DNA}]$ ,  $R_i = 0, 0.4, 0.8, 1.2$ ), 使用荧光探针 EB 分别滴定上述溶液并记录荧光光谱变化。

1.2.2 黏度法 使用乌氏贝德黏度计进行黏度法测量研究, 室温下, 将配制好的 DNA 溶液加入到干燥好了的黏度计中, 将黏度计垂直的固定好并浸泡在水溶液以保持温度的恒定, 记录 DNA 流下的时间, 保持 DNA 浓度不变, 每次用小分子滴定后, 待溶液混合均匀后记录好溶液流下的时间, 每次平行测量 3 次, 取其平均值, 发现溶液流下时间均大于 180 s。以  $\eta/\eta_0$  为纵坐标, 小分子浓度为横坐标作黏度变化图,  $\eta$  为混合溶液相对黏度值,  $\eta_0$  为 DNA 的相对黏度值。

## 2 结果讨论

### 2.1 4-苄氧基苯酚与 DNA 的相互作用

在 pH = 7.4 的模拟生理环境下, 保持 PBP 浓度不变, 向 PBP 溶液中滴加 DNA 溶液, 记录 PBP 的荧光光谱变化, 如图 2 所示。由图知, 当激发波长为 441 nm 时, PBP 的特征发射荧光峰为 584 nm, 随着溶液中鲑鱼精 DNA 浓度的不断增加, 584 nm 处峰值强度明显减弱, 同时在 553 nm 处出现了荧光等色点, 等色点的出现说明形成了一种新的复合物。这些现象说明 PBP 与 DNA 发生了作用, 并形成了新的复合物。一般, 当小分子与鲑鱼精 DNA 相互作用时荧光出现明显猝灭或者红移现象, 则小分子与鲑鱼精 DNA 很有可能存在嵌插作用<sup>[11]</sup>。为了得知 PBP 与鲑鱼精 DNA 结合比例, 在 584 nm 处测定的荧光值变化作摩尔比图, 如图 3, 由图得出 PBP 与鲑鱼精 DNA 的结合比为  $n_{DNA} : n_{PBP} = 1 : 2$ 。

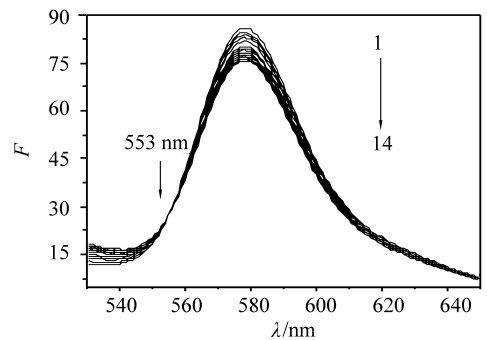


图 2 DNA 对 PBP 荧光光谱的影响

Fig. 2 Fluorescence spectra of PBP with different concentrations of DNA

$c(\text{PBP}) = 8.00 \times 10^{-6}$  mol/L,  $c(\text{DNA}) = 1.00 \times 10^{-4}$  mol/L

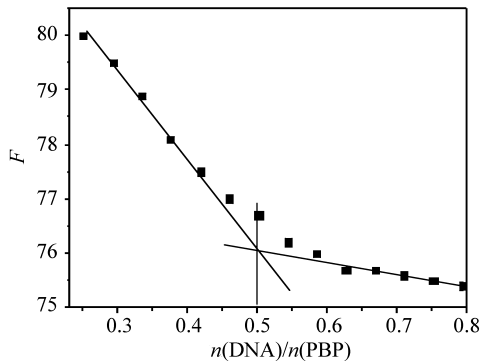


图 3 PBP 对 DNA 的摩尔比图

Fig. 3 Mole ratio plots of DNA-PBP

$c(\text{PBP}) = 8.00 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ,  $c(\text{DNA}) = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

### 2.2 PBP 与 DNA 之间相互作用的热力学研究

利用热力学研究可以了解 PBP 与鲑鱼精 DNA 之间能否自发相互作用以及它们之间的作用强度。通过热力学研究先计算出在不同温度下的结合常数  $K$ , 再计算得出各种热力学函数值。用鲑鱼精 DNA 滴定 PBP 溶液, 记录 584 nm 处的荧光强度变化, 以  $1/(A_0 - A)$  为  $y$  轴,  $1/[\text{DNA}]$  为  $x$  轴作图的双倒数曲线图, 如图 4。由图中可以看出, 两条曲线均有良好的线性关系, 根据公式:

$$1/(F - F_0) = 1/F_0 + 1/(K \cdot F_0 \cdot c_{\text{DNA}}) \quad (1)$$

计算得出 PBP-DNA 的结合常数分别为  $K_{300.15 \text{ K}}^0 = 2.16 \times 10^5 \text{ L/mol}$ ,  $K_{310.15 \text{ K}}^0 = 9.67 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 。进而根据热力学公式:

$$\ln K_2^0 / K_1^0 = -\Delta_r H_m^0 (1/T_2 - 1/T_1) / R \quad (2)$$

$$\Delta_r G_m^0 = -RT \ln K^0 \quad (3)$$

$$\Delta_r G_m^0 = \Delta_r H_m^0 - T \Delta_r S_m^0 \quad (4)$$

分别计算出焓变、熵以及吉布斯自由能为:  $\Delta_r H_m^0 = -6.18 \times 10^4 \text{ J/mol}$ ,  $\Delta_r S_m^0 = -1.05 \times 10^3 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$ ,  $\Delta_r G_m^0_{300.15 \text{ K}} = -3.04 \times 10^4 \text{ J/mol}$ 。从结

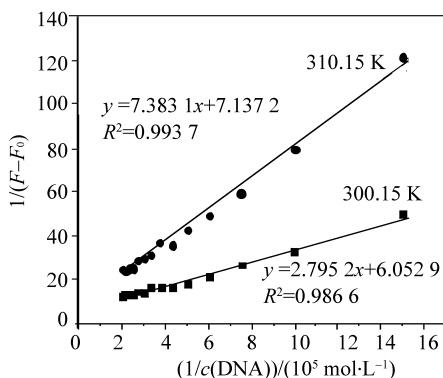


图 4 双倒数曲线图

Fig. 4 Double reciprocal plots

$c(\text{PBP}) = 8.00 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ,  $c(\text{DNA}) = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

果可以得知, 吉布斯自由能  $\Delta_r G_m^0$  为负数, 这说明反应可以自发的进行, 焓变值也为负数说明 PBP 与鲑鱼精 DNA 相互作用是一个放热过程, 则反应开始后降低温度更有利于 PBP 与鲑鱼精 DNA 发生作用, 熵变与焓变值都是负数, 说明在 PBP 与 DNA 自发的发生作用时焓变起了最主要的作用。所以, PBP 与鲑鱼精 DNA 之间是可以发生相互作用的且这个作用是自发进行的, 而反应过程焓是主要驱动力。

### 2.3 EB 探针法研究 PBP 与 DNA 之间的相互作用

EB 是一种常见的阳离子天然荧光染料, 它是一个共轭平面分子, EB 能强烈而专一的嵌入到 DNA 双螺旋结构的碱基对中并且发生的经典嵌插作用, 使得荧光强度增加, 所以, EB 是一种常用的探测 DNA 构象的荧光探针, 广泛应用于筛选抗肿瘤药物以及小分子与 DNA 间相互作用的研究<sup>[12-14]</sup>。若是 DNA 分子的构象发生变化时, EB 将从 DNA 分子中游离出来, 进而引起荧光猝灭。当小分子与 EB-DNA 作用时, 可以观察 EB-DNA 的荧光变化可以判别小分子是否与 DNA 发生了作用以及它们之间是以何种模式发生的作用<sup>[15]</sup>, 在溶液环境不变的情况下, 若是荧光值降低了, 说明 EB 被 PBP 挤出来了, 则说明 PBP 此时嵌入到了 DNA 碱基对中。实验时, 向在 EB-DNA 体系滴定一定浓度的 PBP 溶液, 记录观察 EB-DNA 荧光光谱变化, 荧光光谱变化如图 5 所示。随着 PBP 的不断加入, EB-DNA 在 603 nm 处的荧光强度逐渐小幅度下降, 这表明有部分 PBP 嵌入到 DNA 碱基对, 同时将 EB-DNA 体系中的部分 EB 挤出, 说明 PBP 与 DNA 作用与 EB 同 DNA 作用存在竞争关系, 所以我们可以推断出 PBP 与 DNA 之间存在嵌插作用。

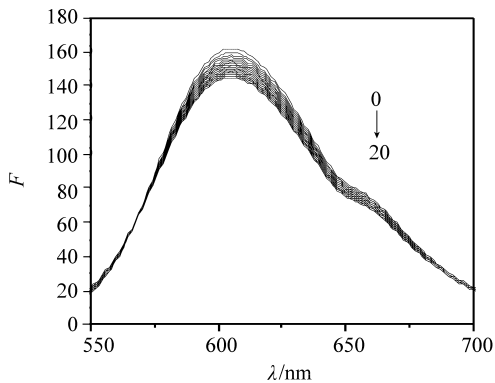


图 5 PBP 对 EB-DNA 体系的荧光光谱影响

Fig. 5 Effects of PBP on fluorescence spectra of DNA-EB

$c(\text{EB-NA}) = 1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ,  $c(\text{PBP}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

## 2.4 磷酸盐与 PBP 之间相互作用的研究

磷酸盐与 PBP 的相互作用研究是为了探究 PBP 与 DNA 之间是否存在静电作用。本文使用  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  溶液来研究磷酸盐与 PBP 之间的作用模式,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  电离出的  $\text{PO}_4^{3-}$  离子能很好的模拟 DNA 分子的磷酸骨架, 若是 PBP 与  $\text{PO}_4^{3-}$  离子发生作用而致使荧光光谱发生变化, 则 PBP 肯定将会与 DNA 分子磷酸骨架发生作用, 而 PBP 与磷酸骨架只能通过静电作用模式结合。在 PBP 溶液中逐渐滴定一定浓度的  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  溶液, 记录观察 PBP 荧光光谱变化如图 6。随着  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  溶液浓度的不断增加, 荧光光谱显示在 584 nm PBP 的特征荧光峰不断降低, 这说明 PBP 与  $\text{PO}_4^{3-}$  离子发生了作用而致使荧光光谱降低, 当 PBP 以静电作用模式与  $\text{PO}_4^{3-}$  离子发生作用时, PBP 中的质子发生转移而被束缚, 进而使得荧光发射波长强度降低。所以 PBP 也将与磷酸骨架结合, 这也就是说, PBP 与 DNA 之间存在静电作用。

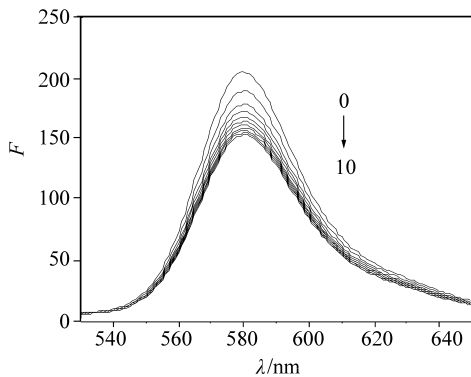


图 6 磷酸盐对 PBP 荧光光谱的影响

Fig. 6 Fluorescence spectra of PBP with different concentration of phosphate

$c(\text{Na}_3\text{PO}_4) = 1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ,  $c(\text{PBP}) = 3 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

## 2.5 寡聚核苷酸与 PBP 之间相互作用的研究

为了对 PBP 与 DNA 之间作用机制更进一步的了解, 本文研究寡聚核苷酸与 PBP 之间的相互作用, 寡聚核苷酸是只有 20 个以下碱基的短链的核苷酸, 因其很容易与它们的互补链对结, 所以经常用作探针研究 DNA 结构。因为寡聚核苷酸只有较短的碱基链而无磷酸骨架以及碱基对, 固 PBP 只能以沟渠作用方式与寡聚核苷酸作用。固定 PBP 溶液浓度不变, 逐渐加入寡聚核苷酸溶液, 记录观察荧光光谱变化如图 7 所示。可以看出, 图中荧光值几乎没有发生变化, 考虑到误差, 认为在 PBP 溶液中加入寡聚核苷酸不会引起 PBP 的荧光光谱

发生变化, 这也就是说, PBP 不会寡聚核苷酸发生作用, 所以 PBP 也不会以沟渠作用模式与 DNA 发生作用。

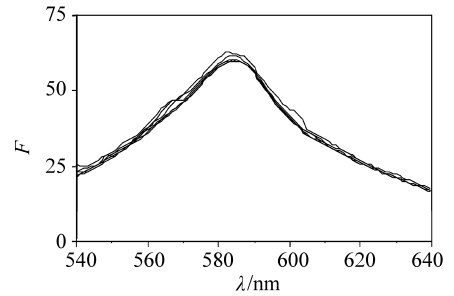


图 7 寡聚核苷酸对 PBP 荧光光谱的影响

Fig. 7 Fluorescence spectra of PBP with different concentration of oligodeoxynucleotides

$c(\text{PBP}) = 2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ,

$c(\text{oligodeoxynucleotides}) = 2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

## 2.6 Scatchard 法研究 PBP 与 DNA 之间的相互作用

通过小分子 PBP 存在下 EB 和 DNA 作用的 Scatchard 法分析, 可以进一步判断证实小分子与 DNA 之间的相互作用方式。在 EB-DNA 体系中滴加 PBP 溶液, 记录荧光强度变化并作出 Scatchard 图, 如图 8。

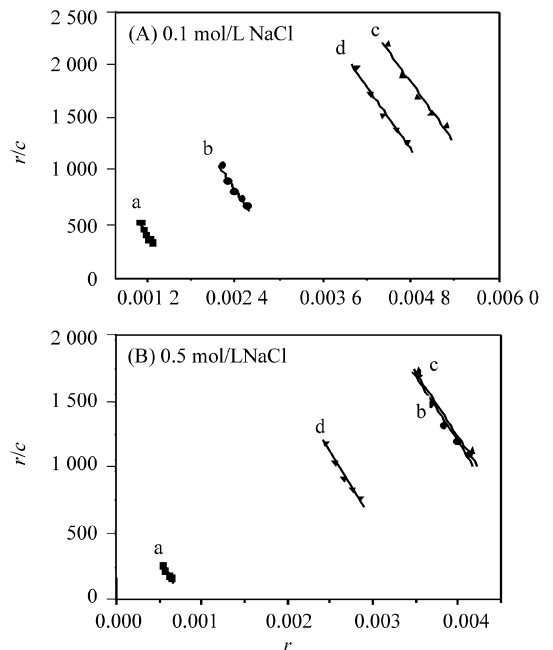


图 8 0.1mol/L 与 0.5mol/L 时 DNA-EB 体系的 Scatchard 图

Fig. 8 Scatchard plots of EB-DNA system

$c(\text{DNA}) = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ;

$c(\text{EB}) = 1.25 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ;  $R_1 = [\text{PBP}]/[\text{DNA}]$

a:  $R_1 = 0.0$ , b:  $R_1 = 0.4$ , c:  $R_1 = 0.8$ , d:  $R_1 = 1.2$

在依据 Scatchard 方程<sup>[16]</sup>能够计算出 PBP 与 DNA 的作用位点  $n$  以及内在结合常数  $K$ , 计算结果均列于表 1 中。从不同 PBP 浓度下的  $n$  值和  $K$  值得变化情况就可以大体分析得出 PBP 与 DNA 之间的作用方式, 若  $n$  值不变那么小分子与 DNA 之间是经典嵌插模式, 若  $K$  值不变那么小分子与

DNA 之间是非嵌插作用模式, 若  $n$  值和  $K$  值都在变化, 则小分子与 DNA 之间是以混合模式作用即既存在嵌插方式又存在着非嵌插作用方式。从表中得知  $n$  值和  $K$  值都在发生变化, 这说明 PBP 与 DNA 之间为混合作用模式。

表 1 PBP 与 DNA 相互作用的 Scatchard 方程  
Table 1 Scatchard Equation of interaction between PBP and DNA

Curve	$R_t$	$c(\text{NaCl}) / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Scatchard 方程	$K / (\text{L} \cdot \text{molL}^{-1})$	$n$
a	0.0	0.1	$1.90 \times 10^3 - 1.26 \times 10^6 x$	$1.26 \times 10^6$	$1.5 \times 10^{-3}$
		0.5	$0.85 \times 10^3 - 1.28 \times 10^6 x$	$1.28 \times 10^6$	$6.6 \times 10^{-4}$
b	0.4	0.1	$3.81 \times 10^3 - 1.02 \times 10^6 x$	$1.02 \times 10^6$	$3.7 \times 10^{-3}$
		0.5	$4.15 \times 10^3 - 1.22 \times 10^6 x$	$1.22 \times 10^6$	$3.4 \times 10^{-3}$
c	0.8	0.1	$6.43 \times 10^3 - 0.94 \times 10^6 x$	$0.94 \times 10^6$	$6.8 \times 10^{-3}$
		0.5	$5.11 \times 10^3 - 0.99 \times 10^6 x$	$0.99 \times 10^6$	$5.2 \times 10^{-3}$
d	1.2	0.1	$5.95 \times 10^3 - 0.95 \times 10^6 x$	$0.95 \times 10^6$	$6.3 \times 10^{-3}$
		0.5	$3.70 \times 10^3 - 1.06 \times 10^6 x$	$1.06 \times 10^6$	$3.5 \times 10^{-3}$

为了更进一步了解是哪一种非嵌插作用模式存在于 PBP 与 DNA 作用中, 不同浓度的强电解质 NaCl 被用于 Scatchard 分析中而平行进行两次实验。NaCl 中的 Na 正离子将会在 DNA 分子周围形成离子氛而包围 DNA 分子, 若 PBP 与 DNA 之间存在着静电作用, 那么 NaCl 在 DNA 周围形成的离子氛将会削弱 PBP 与 DNA 之间的静电作用力大小, 那么溶液中有高浓度 NaCl 的  $n$  值就将比低浓度 NaCl 的  $n$  值低, 如若不然则 PBP 与 DNA 之间就没有静电作用而很可能为沟槽作用。由表中可以看出, 当 NaCl 浓度变大时  $n$  值均降低, 这说明 PBP 与 DNA 之间存在静电作用。

2.7 黏度法研究 PBP 与 DNA 之间的相互作用

一般而言, 单独的一种技术所给出的信息量是非常有限的, 因此多种技术手段的联用是很有必要的, 这样才能为研究小分子与 DNA 作用模式以及机理提供更加可靠的依据。而黏度测量这种流体力学的方法也是检测小分子与 DNA 作用方式的一种非常简便有效的方法<sup>[17-19]</sup>。当小分子 PBP 完全嵌入 DNA 碱基中发生嵌插作用时, DNA 的链长将增加黏度值也将随之增加; 当小分子 PBP 只以静电或者沟槽方式与 DNA 结合时, DNA 分子结构不会发生形变则黏度值将几乎不发生变化; 当小分子 PBP 是以部分嵌入模式与 DNA 作用时, DNA 分子结构就将发生扭结弯曲变形, 此时 DNA 的黏度将会降低。配制一系列不同比例的 DNA-PBP 溶液, 分别测定并记录其相对黏度值, 结果如图 9 所示。

由图知, 随着 DNA-PBP 中 PBP 比例的逐渐增大, 此时黏度值却逐渐减小, 这说明 PBP 只是部分的嵌入到 DNA 分子中, 致使了 DNA 分子扭结变形而分子长度变短所致。这也就说明 PBP 与 DNA 之间的嵌插作用是部分嵌插。

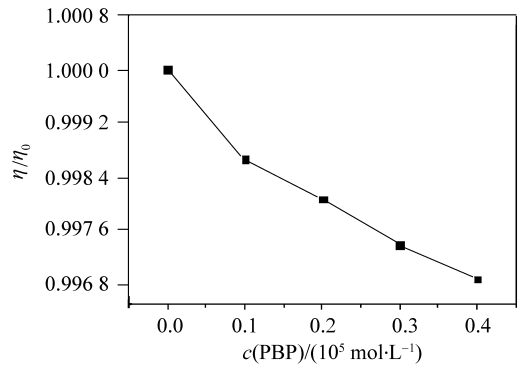


图 9 PBP 对 DNA 的黏度影响

Fig. 9 Influence on DNA viscosity with different concentrations of PBP

$c(\text{DNA}) = 1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

3 结 论

在生理环境下, 本文通过光谱以及黏度法研究了 PBP 与鲱鱼精 DNA 之间的相互作用, 研究发现 PBP 可以与鲱鱼精 DNA 发生作用并以摩尔比为 2:1 的比例形成了 PBP - 鲱鱼精 DNA 复合物。在通过各种手段检测发现 PBP 与鲱鱼精 DNA 之间主要通

过部分嵌插以及静电作用方式发生作用。

在实验中还通过热力学研究法计算得出了在不同温度下 PBP 与鲱鱼精 DNA 的结合常数  $K_{300.15\text{K}}^{\theta} = 2.16 \times 10^5 \text{ L/mol}$ ,  $K_{310.15\text{K}}^{\theta} = 9.67 \times 10^4 \text{ L/mol}$ , 说明在低温时 PBP 与鲱鱼精 DNA 的结合力度更大, 这也得到了热力学函数中焓变值得证实, 降低温度将会有利于反应进行, 通过结合常数也计算出了各种热力学函数  $\Delta_r H_m^{\theta} = -6.18 \times 10^4 \text{ J/mol}$ ,  $\Delta_r S_m^{\theta} = -1.05 \times 10^3 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$ ,  $\Delta_r G_{m,300.15\text{K}}^{\theta} = -3.04 \times 10^4 \text{ J/mol}$ 。热力学函数值说明了 PBP 与鲱鱼精 DNA 是可以自发的进行反应形成 PBP - 鲱鱼精 DNA 复合物的, 而在这一过程中焓是主要的驱动力。

### 参考文献:

- [1] HASLAM E. Plant polyphenols: vegetable tannis revisited[M]. Cambridge University Press, 1989:178.
- [2] 方元超, 杨柳, 白小佳. 茶叶活性成分的功能性质[J]. 中国食品添加剂, 1999(1): 9 - 12.
- [3] 陈尚武, 马会勤, 陈雷, 等. 葡萄酒中的白藜芦醇及其衍生物[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(4): 53 - 55.
- [4] 潘志芬, 潘开文. 大豆及大豆制品中异黄酮的研究现状[J]. 四川农业大学学报, 1999, 17(2): 56 - 57.
- [5] PRATT D E. Water soluble antioxidant activity in soybeans[J]. Food Science, 1972, 37(2): 322 - 323.
- [6] LU Y R, FU L Y. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia o. cinalis*)[J]. Food Chemistry, 2001, 75:197 - 202.
- [7] IVANOVA D, GEROVA D, CHERVENKOV T, et al. Polyphenols and antioxidant capacity of *Bulgarian medicinal* plants [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96:145 - 150.
- [8] SKERGET M, KOTNIK P, HADOLIN M, et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2005, 89:191 - 198.
- [9] SOONG Y Y, PHILIP J B. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds[J]. Food Chemistry, 2004, 88:411 - 417.
- [10] HEO S J, PARK E J, LEE K W, et al. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds[J]. Bioresour Technol, 2005, 96(14): 1613 - 1623.
- [11] 席小莉, 杨曼曼, 杨频. 6 - 苜氨基嘌呤及其金属配合物与 DNA 的作用机理[J]. 无机化学学报, 2005, 21(12): 1847 - 1852.
- [12] YANG H, WANG X M. Spectroscopic studies on the interaction of  $\beta$ -cyclodextrin-8-hydroxyquiuolineinclusion-complex with herring sperm DNA[J]. Journal of Molecular Structure, 2013, 1036: 51 - 55.
- [13] ZHOU Y L, LI Y Z. Studies of interaction between poly (allylamine hydrochloride) and double helix DNA by spectral methods[J]. Biophys Chem, 2004, 107(3): 273 - 281.
- [14] 徐春, 何品刚, 方禹之. 溴化乙锭标记 DNA 电化学探针的研究[J]. 高等学校化学学报, 2000, 21(8): 1187 - 1190.
- [15] WU K C, LIPPARD S J. Binding of platinum and palladium metallointercalation reagents and antitumor drugs to closed and open DNAs [J]. Biochemistry, 1978, 15(19): 4339 - 4346.
- [16] GUO M L, YANG P, YANG B S. Ethidium bromide as a fluorescent probe for the interaction mode between titanocene dichloride and DNA [J]. Chin Sci Bulletin, 1996, 41:1098 - 1103.
- [17] CHEN Q Y, LI D H, ZHAO Y, et al. Interaction of a novel redregion fluorescent probe, Nile blue, with DNA and its application to nucleic acids assay[J]. Analyst, 1999, 124(6): 901 - 906.
- [18] 龙俊, 段雷雨, 王兴明, 等.  $\beta$ -环糊精-4-苜氧基苯酚包合物与 DNA 的相互作用[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(6): 86 - 92.
- [19] LONG J, WANG X M, XU D L, et al. Spectroscopic studies on the interaction mechanisms of safranin T with herring sperm DNA using acridine orange as a fluorescence probe [J]. Journal of Molecular Recognition, 2014, 27: 131 - 137.