

圆二色光谱在中药小分子与生物大分子相互作用中应用的研究进展^Δ

徐飞^{1*},于慧²,陆彩¹,陈军¹,谷巍¹,吴启南¹(1.南京中医药大学药学院,南京 210046;2.江苏省中医院血液科,南京 210029)

中图分类号 R913 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)10-1402-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.10.29

摘要 目的:为不同类型中药小分子体外筛选及设计合成改造提供参考。方法:以“圆二色光谱”“中药小分子与DNA”“中药小分子与蛋白质”“Circular dichroism”“Interaction of traditional Chinese medicine and DNA”“Interaction of traditional Chinese medicine and protein”等为关键词,组合查询2005年1月—2016年4月在PubMed、Web of Science、Wiley Online Library、SpringerLink、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献,对圆二色光谱(CD)在中药小分子与DNA、中药小分子与蛋白质相互作用中的应用进行综述。结果与结论:共检索到相关文献349篇,其中有效文献54篇。生物碱、黄酮类、醌类、苯丙素类、植物色素等类型的中药小分子,与DNA相互作用以沟槽结合和嵌插结合2种模式为主;苯丙素类、黄酮类、萜类、生物碱、醌类等类型的中药小分子,与蛋白质结合后,通常使其 α -螺旋、 β -转角和无规则卷曲等二级结构发生改变。后续进行诱导圆二色光谱的探索性研究,可得到更多两者相互作用的结合信息,如中药小分子与DNA的结合序列及与蛋白质的结合位点;还可将CD与紫外-可见吸收光谱法、荧光光谱、分子模拟等技术联用,以实现多种技术互为验证、互为补充。

关键词 圆二色光谱;中药小分子与DNA;中药小分子与蛋白质;相互作用

圆二色光谱(CD)是一种利用平面偏振光研究生物大分子结构的快速、简单、准确的方法^[1],对生物大分子二级及三级结构的变化十分敏感,可检测其微小变动,且具高选择性。近年来,CD在中药小分子与生物大分子

量差异较大,这可能与药材的炮制方法不同有关。僵蚕质量主要存在两个问题:一是原药材中掺入较多的石灰粉以增加质量;二是有效组分蛋白质多肽与草酸铵含量差异较大。草酸铵和蛋白质含量反映药理作用强弱,可作为评价其质量的指标之一。本文为僵蚕的定性鉴定和定量测定提供了依据,同时为主成分为蛋白质多肽类物质的动物药材的质量评价提供了参考。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:593.
[2] 雷田香,彭延古,郝晓元,等.僵蚕抗凝作用的研究进展[J].湖南中医学院学报,2007,27(3):76-77.
[3] 郭晓恒,吴用彦,宋登敏,等.僵蚕氯仿部位的分离纯化及其抗惊厥活性[J].中国医药工业杂志,2014,45(5):431-433.
[4] 程杏安,蒋旭红,刘展眉,等.僵蚕7种化学成分抗肿瘤活性的初步研究[J].仲恺农业工程学院学报,2015,28(4):

35-39.
[5] 徐冲,商思阳,刘梅,等.僵蚕化学成分和药理活性的研究进展[J].中国药房,2014,25(39):3732-3734.
[6] 黄居敏,邓华勇,蔡英,等.白僵蚕化学成分研究[J].中草药,2015,46(16):2377-2380.
[7] 黄居敏,张亚梅,李旻,等.僵蚕中总黄酮提取工艺研究[J].安徽农业科学,2015,43(34):154-157.
[8] 邢东旭,廖森泰,罗国庆,等.白僵蚕多糖的提取工艺条件优化及抗氧化活性测定[J].蚕业科学,2015,41(6):1088-1093.
[9] 程锁明,翟银成,薛芳,等.僵蚕化学成分的研究[J].中草药,2015,46(24):3630-3636.
[10] 赵建国,彭新君,曾序求.僵蚕提取物中氨基酸种类与含量测定[J].九江医学,2008,23(1):1-2.
[11] 严铸云,李晓华,陈新,等.僵蚕抗惊厥活性部位的初步研究[J].时珍国医国药,2006,17(5):696-697.
[12] 赵建国,彭新君,彭延古,等.草酸铵对僵蚕抗凝作用的影响[J].时珍国医国药,2005,16(6):468-469.
[13] 彭新君,赵建国,徐爱良,等.僵蚕抗凝活性及其成分的分析[J].湖南中医学院学报,2005,25(1):1-2,22.
[14] 冀宪领,盖英萍,牟志美,等.白僵蚕的红外指纹图谱鉴别研究[J].光谱学与光谱分析,2007,27(1):66-69.

(收稿日期:2016-04-26 修回日期:2016-09-29)

(编辑:刘明伟)

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81303173, No. 81173483);江苏省自然科学基金面上项目(No. BK20161576);江苏省高校自然科学研究面上项目(No. 14KJB360001);江苏高校品牌专业建设工程资助项目(No. PPZY2015A070)

* 副教授,硕士生导师。研究方向:中药药效物质的化学生物学研究。电话:025-85811520。E-mail:6612386@qq.com

子相互作用的研究中得到了广泛应用。笔者以“圆二色光谱”“中药小分子与DNA”“中药小分子与蛋白质”“Circular dichroism”“Interaction of traditional Chinese medicine and DNA”“Interaction of traditional Chinese medicine and protein”等为关键词,组合查询2005年1月—2016年4月在PubMed、Web of Science、Wiley Online Library、SpringerLink、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献349篇,其中有效文献54篇。现对CD在中药小分子与DNA、中药小分子与蛋白质相互作用中的应用进行综述,以期不同类型中药小分子体外筛选及设计合成改造提供参考。

1 CD在中药小分子与DNA相互作用中的应用

DNA是组成生命体最重要的物质之一,是生命体重要的遗传信息载体,是很多药物的重要靶点。研究中药小分子与DNA的相互作用,有助于从分子水平上了解其药用机制,而且对抗肿瘤、抗病毒药物的体外设计、筛选都具有十分重要的意义。

DNA的CD谱是由其骨架结构中的不对称糖分子和由这些糖分子的构型决定的螺旋结构产生的。根据中药小分子对原有的DNA CD信号的影响,可得知其DNA结合的不同模式。DNA的CD特征峰包括248 nm处的负峰与276 nm处的正峰,前者对应DNA的右手螺旋B构象,后者对应DNA的碱基堆积,两者均对DNA与小分子的相互作用模式非常敏感。中药小分子与DNA相互作用主要有非共价键结合、共价键结合(烷基化/金属化)和剪切作用3种模式。非共价键结合又分为静电结合、沟槽结合和嵌插结合3种模式。静电结合是小分子作用于DNA双螺旋结构的外壁,无选择性;沟槽结合是分子与DNA的大沟或小沟的碱基对边缘直接作用,中药小分子多在小沟区作用;嵌插结合是小分子中的平面结构嵌入核酸的碱基之间,这是中药小分子与DNA发生相互作用的最重要的形式之一。小分子与DNA的沟槽结合和静电结合对碱基堆积和螺旋的色带影响很小或几乎没有影响,而嵌插结合会改变色带的稳定并使DNA的右手螺旋B构象向C构象转变^[2-5]。下面从中药的有效成分几大类分别进行介绍。

1.1 生物碱

Kundu N等^[2]研究发现,盐酸小檗碱(BBCL)与DNA作用时,插入DNA碱基对,该结果为深入研究其抗肿瘤作用机制提供了理论依据。Chen ZF等^[3]研究发现,氧化海罂粟碱(OG)及其与金离子(Au^{3+})、锌离子(Zn^{2+})、钴离子(Co^{2+})、锰离子(Mn^{2+})4种金属配合物与DNA相互作用的方式均是嵌插结合。Saha SK等^[4]研究发现,白毛茛(HC)中的小檗碱、黄连碱、巴马汀和氢化小檗碱与DNA的结合导致了DNA构象变化,作用方式为嵌插结合。

BBCL、OG、小檗碱、氢化小檗碱、黄连碱、巴马汀等

均属于异喹啉类生物碱,该类生物碱结构为2个异喹啉环稠合而成。CD谱结果显示,其与DNA结合模式均为嵌插结合。

1.2 黄酮类

李悦等^[5]研究发现,杨梅素使DNA的CD谱正峰和负峰强度略有减弱,同时正峰位伴有轻微蓝移,说明杨梅素与DNA为沟槽结合。欧阳熙林等^[6]研究发现,山柰苷及其锌配合物与DNA作用时均以插入方式嵌入到DNA双链的碱基对之间。配合物插入键合作用更强,说明山柰苷锌配合物抗肿瘤能力强于山柰苷。王瑞玲^[7]研究发现,4'-苯基-3-溴-8-[N,N-二(2-羟基乙基)氨基甲基]黄酮会使274 nm波长处信号发生变化,说明其与DNA发生了嵌插结合。Hemachandran H等^[8]研究发现,儿茶素与DNA非嵌插结合,而是发生沟槽结合和静电作用。Hegde AH等^[9]研究发现,橙皮素和柚皮素与DNA为嵌插结合。Zhang G等^[10]研究发现,杜鹃素与DNA结合为嵌插结合,作用力主要为疏水相互作用和氢键。

黄酮类中药小分子与DNA相互作用的结合模式不尽相同,与其结构有关。山柰苷、杨梅素属于黄酮醇类,儿茶素属于黄烷醇类,杜鹃素、橙皮素、柚皮素属于二氢黄酮类,4'-苯基-3-溴-8-[N,N-二(2-羟基乙基)氨基甲基]黄酮属黄酮类。CD谱的结果表明,黄酮类和二氢黄酮类中药小分子与DNA相互作用方式多为嵌插结合,黄烷醇类和黄酮醇类多为沟槽结合。比较结构差异可知,黄烷醇类和黄酮醇类C环的3位均有一OH,而黄酮类和二氢黄酮类该位置无一OH。提示黄酮类化合物的中药小分子与DNA相互作用的方式可能与其C环3位上的一OH有关,该位置为两者结合的关键位点。

1.3 醌类

李玉英等^[11]研究发现,随着1,4-二甲基-6,8-二甲氧基-9,10-蒽醌浓度的增大,DNA的CD谱正、负峰的强度均减弱,说明为嵌插作用。王新宁等^[12]研究发现,随着大黄素浓度的不断增加,c-myc G4-DNA在265 nm波长处的正CD信号不断减弱,且c-myc G4-DNA在295 nm波长处出现了1个正的诱导CD信号,说明其与c-myc G4-DNA可能是沟槽结合。

1,4-二甲基-6,8-二甲氧基-9,10-蒽醌和大黄素均属于羟基蒽醌类,但两者与DNA的结合模式不同。分析结构差异,大黄素的1位、6位和8位均为—OH,1,4-二甲基-6,8-二甲氧基-9,10-蒽醌的结构中无一OH,由此推测该类结构中1、6、8位为两者结合的关键位点,1、6、8位的一OH为两者结合的关键基团。

1.4 苯丙素类

田莉莉^[13]研究发现,丹参素、咖啡酸、原儿茶醛与DNA相互作用方式为沟槽结合。吕梦娇^[14]研究发现,新型选择性雌激素受体调节剂类香豆素衍生物与DNA的主要作用方式是沟槽模式,当衍生物是由丙二酸相连接

时,CD信号明显。Sarwar T等^[15]研究发现,秦皮乙素与DNA结合模式主要为沟槽结合,不插入DNA碱基对。Zhou X等^[16]研究发现,补骨脂素(PSO)与DNA的相互作用为嵌插作用。

丹参素、原儿茶醛、咖啡酸属简单苯丙素类,PSO、秦皮乙素、新型SERMs类香豆素衍生物均属香豆素类。CD谱结果表明,简单苯丙素类的中药小分子与DNA的作用模式多是嵌插结合,而香豆素类的中药小分子则多为沟槽结合。分析两者结构,二者均具有1分子苯环和3个直键碳连在一起为单位的基础单元,但香豆素具有苯骈 α -吡喃酮母核的结构,因此推测其吡喃环上的内酯键可能是造成两者结合方式不同的主要原因,为两者结合关键基团。

1.5 植物色素

Hoshyar R等^[17]研究发现,藏红花酸、藏红花苷、藏红花醛、藏红花素与G-四链体相互作用为沟槽结合模式,结合能力藏红花酸>藏红花素,藏红花苷>藏红花醛。Rajesh J等^[18]研究发现,姜黄素及姜黄素-铜(II)配合物与DNA相互作用是沟槽结合模式。Ahmadi F等^[19]研究发现,铝-姜黄素配合物与DNA结合的模式为沟槽结合。

藏红花酸、藏红花苷、藏红花醛、藏红花素、姜黄素均为脂溶性的植物色素,CD谱表明,该类化合物与DNA相互作用多为沟槽结合。藏红花酸、藏红花苷、藏红花醛、藏红花素与DNA的结合能力有差异,藏红花酸是具有共轭多烯烃的直链结构,碳链两端的第2个碳上均为一COOH;藏红花素是由藏红花酸与2个分子龙胆二糖结合而成的酯,即两端—COOH中的H被龙胆二糖取代。而藏红花酸与DNA结合能力远大于藏红花素,提示藏红花酸类结构的中药分子中两端—COOH为其结合的关键基团。藏红花醛结构为1,3-三甲基-2-甲氧基-1,5-环己二烯,藏红花苷在其5位连接1个葡萄糖分子,藏红花苷与DNA结合能力强于藏红花醛,说明该类结构中5位为其结合的关键位点。

2 CD在中药小分子与蛋白质相互作用中的应用

药物小分子进入体内后,经过体内运输和储存,到达受体部位与之结合后发挥药效。蛋白质受体的构象变化对其发挥生理功效有重大意义。CD谱对构象变化灵敏,常用于探讨蛋白质二级结构构象的变化。蛋白质典型的 α -螺旋结构在位于208、222 nm处有双负峰; β -折叠约在215 nm处存在1个负峰;200 nm附近的负峰是无规则卷曲的特征曲线。利用软件或计算公式可以计算出蛋白中 α -螺旋等二级结构含量的改变。下面仍从中药小分子的常见分类分别进行介绍。

2.1 苯丙素类

谢余寰^[20]研究发现,短叶苏木酚酸与牛血清白蛋白(BSA)相互作用后,使该蛋白 α -螺旋含量增加。王静^[21]研究发现,绿原酸与溶菌酶(LYSO)相互作用,使其 α -螺

旋结构增加,空间结构更加紧密;使BSA和人血清白蛋白(HSA)的 α -螺旋含量均增加,对HSA影响更大。吴爱芝等^[22]研究发现,肉苁蓉苷F(CF)与BSA结合形成复合物,使其 α -螺旋含量减少;同时研究了金属离子 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 对CF与BSA结合的影响,发现4种金属离子均可以增强二者的结合作用。宋志英^[23]研究发现,PSO、异补骨脂素(ISO)、5-甲氧基补骨脂素(5-MOP)、8-甲氧基补骨脂素(8-MOP)与LYSO相互作用后,分别使蛋白中 α -螺旋结构的含量降低27.1%、11.5%、10.6%、0.917%,作用强度大小为8-MOP>5-MOP>ISO>PSO;且4种稀土离子镧离子(La^{3+})、钆离子(Gd^{3+})、镱离子(Yb^{3+})、镱离子(Lu^{3+})加入后,增强了该类小分子与LYSO的相互作用。岳园园^[24]研究发现,秦皮乙素是通过与HSA结合,使其 α -螺旋含量降低而发挥相应的药理作用。

绿原酸、短叶苏木酚酸、CF、白藜芦醇均为简单苯丙素类化合物,CD谱表明,其与蛋白质作用后,大多使 α -螺旋含量增加,但CF却使 α -螺旋含量减少。分析结构差异发现,CF在3位被1分子的芸香糖取代,说明简单苯丙素类化合物中3位可能为决定其与蛋白作用方式的关键位点。PSO、ISO、5-MOP、8-MOP、秦皮乙素均为香豆素类化合物,与蛋白作用后均使 α -螺旋含量减少。简单苯丙素类与香豆素类的结构差异表现为,香豆素类具有苯骈 α -吡喃酮母核的结构,因此推断香豆素类吡喃环上的内酯键可能是造成两者结合方式不同的主要原因。PSO、ISO、5-MOP、8-MOP与蛋白作用强度的差异与其结构有关,PSO、ISO吡喃环位置不同,PSO在6、7位,ISO在7、8位,8-MOP在8位-OCH₃取代,5-MOP在5位-OCH₃取代。这说明5、6、7、8位取代基差异可直接影响该类化合物与蛋白作用强度,为其作用关键位点。

2.2 黄酮类

王瑞玲^[7]研究表明,4'-苯基-3-溴-8-[N,N-(2-羟基乙基)氨基甲基]黄酮是通过与HSA结合后改变其二级结构,使其 α -螺旋含量降低,从而发挥抗菌、抗病毒作用。王瑛^[25]研究发现,陈皮中的桔皮素和3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮与免疫球蛋白E相互作用, α -螺旋结构、 β -转角结构含量降低, β -折叠和无规则卷曲结构含量增加。吴锦绣等^[26]研究发现,芦丁与BSA、HSA相互作用后,BSA和HSA的 α -螺旋结构减少。王春等^[27]研究发现,槲皮素使BSA的 α -螺旋结构明显减少。黄灿^[28]研究发现,剑叶龙血素A、剑叶龙血素B均使BSA的 α -螺旋含量明显减少,且剑叶龙血素B的作用力更强。岳园园^[24]研究发现,川陈皮素、杲果素均是通过与HSA结合,使其 α -螺旋含量降低,而发挥相应的药理作用。闫家凯^[29]研究发现,木犀草素使 α -葡萄糖苷酶的 α -螺旋含量减少,而 β -转角和无规则卷曲的含量不断增加,使 α -葡萄糖苷酶的构象发生变化,使其二级结构重新排列,诱导酶活性口袋关闭,使该酶活性降低。王亚杰等^[30]研究发现,

桑色素使黄嘌呤氧化酶 β -折叠含量增加, α -螺旋、 β -转角和无规则卷曲的含量降低,使该酶的结构更加紧凑而不利于其活性中心暴露于反应环境中,从而降低了其活性。田建泉等^[31]研究发现,柚皮苷使 α -糜蛋白酶 α -螺旋含量减少。Shao J等^[32]研究发现,葛根素使细胞色素P₄₅₀酶(CYP)的疏水作用减弱, α -螺旋含量下降。Tang L等^[33]研究发现,矢车菊素-3-O-葡萄糖苷使BSA的 α -螺旋含量增加。He W等^[34]研究发现,山姜素使HSA的 α -螺旋和 β -折叠结构减少,无规则卷曲增加。He Y等^[35]研究发现,葛根素使HSA中 α -螺旋轻微减少。

桔皮素、柚皮苷、山姜素属于二氢黄酮类,木犀草素、川陈皮素、桑色素、4'-苯基-3-溴-8-[N,N-二(2-羟基乙基)氨基甲基]黄酮、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮属于黄酮类,芦丁、槲皮素属于黄酮醇类,剑叶龙血素A、剑叶龙血素B属于二氢查尔酮类,杠果素属于苯骈色原酮类,葛根素属于异黄酮类,矢车菊素-3-O-葡萄糖苷属于花色苷类。CD谱表明,黄酮类的中药小分子与蛋白质作用后,大多使其 α -螺旋含量减少,但矢车菊素-3-O-葡萄糖苷使 α -螺旋含量增加。黄酮类基本母核的C环无羰基,1位氧原子以伴盐的形式存在,使其具有如亲水性强等类似盐的性质,该特殊结构可能是花色苷类黄酮与蛋白质结合时使其 α -螺旋含量增加的原因。剑叶龙血素B对蛋白的作用强于剑叶龙血素A,分析两者结构差异,剑叶龙血素B的4位上比剑叶龙血素A多一个—OCH₃,提示二氢查尔酮类化合物的4位可能为其相互作用的活性位点。

2.3 萜类

刘金河等^[36]研究发现,甘草次酸使得Bloom解旋酶 α -螺旋结构减少,改变其构象。刘璐莎等^[37]研究发现,土贝母皂苷II使HSA的 α -螺旋含量减少。刘志芳等^[38]研究发现,熊果酸和齐墩果酸均使胰脂肪酶 α -螺旋含量降低,熊果酸比齐墩果酸的影响更显著。丁兰等^[39]研究发现,熊果酸使BSA的 α -螺旋显著减少,肽链伸展,疏水作用减弱。丁兰等^[40]研究发现,贝壳杉烷二萜类化合物Leukamenin E单体使BSA结构收缩, α -螺旋结构增加。Chen YC等^[41]研究发现,柴胡皂苷C使HSA的 α -螺旋减少, β -折叠和无规则卷曲增加。本课题组研究发现,泽泻调脂有效成分23-乙酰泽泻醇B和24-乙酰泽泻醇A使HSA、人血红蛋白的 α -螺旋含量降低, β -折叠和无规则卷曲含量增加,23-乙酰泽泻醇B引起的结构变化程度比24-乙酰泽泻醇A高^[42-43]。该作用结果可能与2种化合物的侧链结构的差异有关,侧链打开则结合力强,侧链与母环折叠则结合力弱。

土贝母皂苷II、柴胡皂苷C、甘草次酸、齐墩果酸、熊果酸、23-乙酰泽泻醇B和24-乙酰泽泻醇A均属三萜类,Leukamenin E单体属二萜类。CD谱表明,三萜类中药小分子与蛋白质的相互作用大多使其 α -螺旋含量降低,

但Leukamenin E则相反。二者基本碳架均为异戊二烯单位,但Leukamenin E的11位上连1个羰基,由此推测萜类化合物的11位为其相互作用的关键位点。熊果酸比齐墩果酸对蛋白作用更强,两者为同分异构体,结构差异为E环上2个甲基位置不同,熊果酸甲基在C19位,齐墩果酸在C20位,由此推测19、20位为两者相互作用的关键位点。

2.4 生物碱

苑莉莉等^[44]研究发现,喜树碱(HCPT)使BSA的 α -螺旋含量减少,导致肽链变得疏松。周能等^[45-46]研究发现,荷花碱使BSA肽链收缩,导致 α -螺旋结构增加。杨健等^[47]研究发现,青藤碱加入后使BSA构象改变, α -螺旋减少, β -折叠增加。杨美玲等^[48]研究发现,苦参碱使HSA的 α -螺旋结构的含量显著降低。徐香玉等^[49]研究发现,氧化苦参碱使BSA的 α -螺旋含量降低, β -转角和无规则卷曲结构部分转变成了 β -折叠结构,有序性增强。闫潇娜^[50]研究发现,黄藤素(PMT)使牛血红蛋白(BHb) α -螺旋含量降低,在BHb-PMT体系中加入镁离子(Mg²⁺)、Zn²⁺、铜离子(Cu²⁺)、铁离子(Fe³⁺)、Co²⁺、镍离子(Ni²⁺),发现Mg²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺、Co²⁺不利于BHb与PMT的结合,而Fe³⁺、Ni²⁺则反之。

苦参碱、氧化苦参碱属赖氨酸系生物碱类中的喹诺里西啶类,HCPT是色氨酸系生物碱类中的单萜吲哚类,荷花碱、青藤碱、黄藤素均属异喹啉类。CD谱表明,生物碱与蛋白质结合后,大多使 α -螺旋减少, β -折叠增加。但荷花碱使 α -螺旋增加,其结构为2个苄基异喹啉通过1~3个醚键相连接,由此推测可能是其分子中的醚键引起了BSA肽链的收缩,拉近肽链中的—C=O和—NH,形成新的氢键,使 α -螺旋结构含量增大。这提示同一生源途径结合化学结构类型的生物碱与蛋白质相互作用对蛋白质二级结构产生的影响大体可能相似,但也可以通过改变其分子结构,改变其与蛋白质的结合方式。

2.5 醌类

田萌等^[51]研究发现,大黄素、大黄酸、大黄酚通过改变胰蛋白酶的二级结构,使其 α -螺旋含量减少, β -折叠含量增加,抑制其活性,作用强度大小为大黄酸>大黄素>大黄酚。刘华等^[52]研究发现,大黄酸通过使 α -淀粉酶的 α -螺旋含量下降来实现对 α -淀粉酶的抑制作用。马跃文等^[53]研究发现,大黄酸和大黄素通过与过氧化氢酶结合,使过氧化氢酶的 α -螺旋含量下降,其中大黄素对过氧化氢酶作用较强。赵芳等^[54]研究发现,大黄酸铜(II)配合物使BSA的 α -螺旋含量减小,使色氨酸残基所处微环境的疏水性增加。

大黄素、大黄酸、大黄酚均属于羟基蒽醌类,CD谱表明,其与蛋白质相互作用后,大多使 α -螺旋含量减少, β -折叠含量增加,且三者的作用强度大小为大黄酸>大黄素>大黄酚。分析其结构:大黄酸3位是—COOH,6

位是—H;大黄素3位是—CH₃,6位是—OH;大黄酚的3位是—CH₃,6位是—H。由此推测,3、6位为羟基蒽醌类小分子与蛋白质结合的关键位点,该位置取代基极性越大,则结合力越强。

3 结语

目前,X-射线晶体衍射是检测生物大分子构象变化最准确的方法,但结构复杂、柔性大的蛋白质难以得到理想的晶体结构,且对分子量较大的蛋白质,所得数据过于庞大,难以计算处理。相比之下,CD谱则具有样品用量少,操作简单、快速,对生物大分子构象变化敏感,不受分子大小限制等优点。近年来,CD谱被广泛用于研究中药小分子与生物大分子相互作用的研究。根据中药小分子与DNA、蛋白质相互作用后,DNA、蛋白质的CD谱中特征峰的强度改变及位移,可知中药小分子与DNA的结合模式及对蛋白质二级结构的改变,并可根据公式计算改变的程度。笔者已将CD技术应用于中药小分子乙酰泽泻醇与HSA、Hb相互作用的研究^[42-43],探讨了其调脂活性差异与小分子结构差异的关联,其结果可为调脂中药泽泻的药效机制提供依据。

CD下一步突破点与重点研究趋势:针对CD谱存在提供的构象方面信息较少的缺陷,研究者们进行了两方面的后续研究。(1)进行诱导CD的探索性研究。很多中药小分子没有光学活性,但与生物大分子相互作用后,分子构象发生变化,通过两者之间的电子跃迁偶极矩的耦合可获得诱导CD。在中药小分子与生物大分子的混合体系的CD谱中,根据诱导CD信号,可得到更多两者相互作用的结合信息,如出现裂分诱导CD信号,则提示出现中药小分子二聚体或更大聚合体。中药小分子与DNA作用后,通过诱导CD信号的变化,根据4个序列的谱型特征,可推测其与DNA结合的序列。中药小分子与蛋白质作用后,诱导CD信号则可提供两者的结合位点、结合构象等信息。(2)将CD谱与紫外-可见吸收光谱法、荧光光谱,分子模拟等技术联用^[2,5,42-43,52],紫外、荧光、分子模拟可提供两者相互作用的结合距离、结合位点、结合模式、结合能、静电能等多方面的结合参数。多种技术间彼此互为验证、互相补充,一方面可大大拓展CD的适用范围,另一方面可从不同的角度完善其结构分析结果,进而提高了分析结果的可靠性和准确性。

参考文献

- [1] 甘礼社,周长新.振动圆二色谱:一种确定手性分子绝对构型的新方法[J].有机化学,2009,29(6):848-857.
- [2] Kundu N, Roy A, Banik D, et al. Unveiling the mode of interaction of berberine alkaloid in different supramolecular confined environments: interplay of surface charge between nano-confined charged layer and DNA[J]. *J Phys Chem B*, 2016, 120(6): 1106-1120.
- [3] Chen ZF, Shi YF, Liu YC, et al. TCM active ingredient oxoglucine metal complexes: crystal structure, cytotoxicity, and interaction with DNA[J]. *Inorg Chem*, 2012, 51(4): 1998-2009.
- [4] Saha SK, Sikdar S, Mukherjee A, et al. Ethanolic extract of the Goldenseal, *Hydrastis canadensis*, has demonstrable chemopreventive effects on HeLa cells in vitro: drug-DNA interaction with calf thymus DNA as target[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2013, 36(1): 202-214.
- [5] 李悦,何华,肖得力,等.光谱法及分子模拟法研究杨梅素与ct-DNA的相互作用[J].分析测试学报,2015,34(11): 1233-1239.
- [6] 欧阳熙林,朱志仁,王恒山,等.山柰昔及其锌配合物与DNA的相互作用[J].右江民族医学院学报,2013,35(4): 453-455.
- [7] 王瑞玲.4'-苯基-3-溴-8-[N,N-(2-羟基乙基)氨基甲基]黄酮与生物大分子相互作用的研究[D].南昌:江西师范大学,2013:1-38.
- [8] Hemachandran H, Anantharaman A, Priya RR, et al. Interaction of catechu dye with DNA: spectroscopic and in silico approach[J]. *Nucleos Nucleot Nucl*, 2016, 35(4): 195-210.
- [9] Hegde AH, Prashanth SN, Seetharamappa J. Interaction of antioxidant flavonoids with calf thymus DNA analyzed by spectroscopic and electrochemical methods[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, doi:10.1016/j.jpba.2012.01.034.
- [10] Zhang G, Fu P, Wang L, et al. Molecular spectroscopic studies of farrerol interaction with calf thymus DNA[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(16): 8944-8952.
- [11] 李玉英,管英英,张立伟,等.1,4-二甲基-6,8-二甲氧基-9,10-蒽醌的合成及其与BSA和ct-DNA的相互作用[J].化学通报,2015,78(6):525-531.
- [12] 王新宁,张召,吴孝惠,等.大黄素与c-myc G4-DNA相互作用的研究[J].广东药学院学报,2013,29(4):374-377.
- [13] 田莉莉.天然酚酸类对DNA损伤的抑制效应研究[D].天津:天津大学,2010:33-46.
- [14] 吕梦娇.小分子化合物与DNA相互作用的光谱性质的研究[D].保定:河北大学,2014:21-31.
- [15] Sarwar T, Husain MA, Rehman SU, et al. Multi-spectroscopic and molecular modelling studies on the interaction of esculetin with calf thymus DNA[J]. *Mol Bio Syst*, 2015, 11(2): 522-531.
- [16] Zhou X, Zhang G, Wang L. Probing the binding mode of psoralen to calf thymus DNA[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 67(3): 228-237.
- [17] Hoshyar R, Bathaie SZ, Kyani A, et al. Is there any interaction between telomeric DNA structures, G-quadruplex and I-motif, with saffron active metabolites?[J]. *Nucleos Nucleot Nucl*, 2012, 31(11): 801-812.
- [18] Rajesh J, Rajasekaran M, Rajagopal G, et al. Analytical methods to determine the comparative DNA binding studies of curcumin-Cu(II) complexes[J]. *Spectrochim Acta A*, 2012, doi:10.1016/j.saa.2012.05.006.

- [19] Ahmadi F, Alizadeh AA, Shahabadi N, *et al.* Study binding of Al-curcumin complex to ds-DNA, monitoring by multispectroscopic and voltammetric techniques[J]. *Spectrochim Acta A*, 2011, doi: 10.1016/j.saa.2011.05.002.
- [20] 谢余震. 酚酸类及生物碱类药物小分子和牛血清白蛋白相互作用研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2008: 20-51.
- [21] 王静. 绿原酸与3种生物大分子相互作用的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2012: 19-46.
- [22] 吴爱芝, 林朝展, 赵小宁, 等. 肉苁蓉苷F与牛血清白蛋白相互作用的光谱学研究[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(10): 1392-1397.
- [23] 宋志英. 三类中药活性成分与溶菌酶的作用机制及构效关系研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2013: 8-70.
- [24] 岳园园. 某些染料、药物小分子与蛋白质的相互作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2010: 66-95.
- [25] 王瑛. 陈皮中黄酮类化合物和免疫球蛋白E相互作用的光谱学研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015: 20-40.
- [26] 吴锦绣, 张胤, 李梅, 等. 芦丁对血清白蛋白构象的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2008, 28(11): 2619-2622.
- [27] 王春, 吴秋华, 王志, 等. 槲皮素与牛血清白蛋白相互作用的研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(9): 1672-1675.
- [28] 黄灿. 龙血竭化学成分分析及其与牛血清白蛋白相互作用研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2009: 32-53.
- [29] 闫家凯. 木犀草素对黄嘌呤氧化酶、 α -葡萄糖苷酶抑制机理的探讨[D]. 南昌: 南昌大学, 2014: 40-49.
- [30] 王亚杰, 张国文. 桑色素对黄嘌呤氧化酶活性的抑制作用[J]. *食品科学*, 2014, 35(13): 143-146.
- [31] 田建泉, 黎彩凤, 赵彦春, 等. 柚皮苷与 α -糜蛋白酶相互作用的光谱研究[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2009, 27(4): 70-73.
- [32] Shao J, Chen J, Li T, *et al.* Spectroscopic and molecular docking studies of the in vitro interaction between puerarin and cytochrome P₄₅₀[J]. *Molecules*, 2014, 19(4): 4760-4769.
- [33] Tang L, Li S, Bi H, *et al.* Interaction of cyanidin-3-O-glucoside with three proteins[J]. *Food Chem*, 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.089.
- [34] He W, Li Y, Xue C, *et al.* Effect of Chinese medicine alpinetin on the structure of human serum albumin[J]. *Bioorganic Med Chem*, 2005, 13(5): 1837-1845.
- [35] He Y, Wang Y, Tang L, *et al.* Binding of puerarin to human serum albumin: a spectroscopic analysis and molecular docking[J]. *J Fluoresc*, 2008, 18(2): 433-442.
- [36] 刘金河, 许厚强, 孟惠惠, 等. 甘草次酸对Bloom解旋酶生物学特性的影响[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30(9): 919-926.
- [37] 刘璐莎, 樊君, 胡春梅, 等. 土贝母皂苷II与人血清白蛋白相互作用机制的光谱研究[J]. *化学学报*, 2011, 69(21): 2589-2596.
- [38] 刘志芳, 田萌, 马跃文, 等. 熊果酸和齐墩果酸对胰脂肪酶活性及构象的影响[J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(10): 2600-2602.
- [39] 丁兰, 彭舒, 柳志军, 等. 荧光、圆二色及共振光散射光谱研究熊果酸与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2013, 49(1): 78-85.
- [40] 丁兰, 王帆, 陈广德, 等. 紫外和圆二色光谱研究 Leukamenin E与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2012, 48(2): 70-73.
- [41] Chen YC, Wang HM, Niu QX, *et al.* Binding between saikosaponin C and human serum albumin by fluorescence spectroscopy and molecular docking[J]. *Molecules*, 2016, 21(2): 153-166.
- [42] Xu F, Wu Q, Chen J, *et al.* The binding mechanisms of plasma protein to active compounds in *Alisma orientale* rhizomes (*Alismatis Rhizoma*) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(17): 4099-4105.
- [43] 徐飞, 张林群, 何立巍, 等. 泽泻醇类化合物与血清白蛋白相互作用的分子机理研究[J]. *化学学报*, 2011, 69(19): 2228-2234.
- [44] 苑莉莉, 刘雄, 张业中, 等. 光谱法研究羟喜树碱与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *化学与生物工程*, 2012, 29(4): 18-22.
- [45] 周能, 梁逸曾, 王平, 等. 荷花碱与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *分析化学*, 2008, 36(8): 1066-1070.
- [46] 周能, 梁逸曾, 刘韶. 甲基莲心碱与人血清白蛋白相互作用的研究[J]. *光谱实验室*, 2010, 27(1): 49-54.
- [47] 杨健, 余睿, 陈杏. 青藤碱与牛血清白蛋白相互作用的光谱研究[J]. *广东药学院学报*, 2011, 27(6): 571-574.
- [48] 杨美玲, 高琦宽, 宋玉民. 苦参碱Fe(III)化合物的合成及其与HSA相互作用的光谱研究[J]. *化学研究与应用*, 2014, 26(10): 1551-1556.
- [49] 徐香玉, 孙祥军, 刘敏, 等. 氧化苦参碱与牛血清白蛋白相互作用的热力学研究[J]. *化学学报*, 2009, 67(18): 2155-2158.
- [50] 闫潇娜. 光谱法研究蛋白质与药物小分子的相互作用及共存金属离子的影响[D]. 保定: 河北大学, 2013: 28-45.
- [51] 田萌, 刘克武. 大黄3种有效成分对胰蛋白酶活性及结构的影响[J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2010, 47(1): 192-196.
- [52] 刘华, 李仕祥, 钟业俊, 等. 大黄酸对 α -淀粉酶的抑制机理分析及分子模拟[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(2): 47-51.
- [53] 马跃文, 田萌, 刘克武. 大黄酸和大黄素与过氧化氢酶相互作用的研究[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(6): 694-696.
- [54] 赵芳, 梁慧, 程惠, 等. 大黄酸铜(II)配合物与牛血清白蛋白的相互作用[J]. *高等学校化学学报*, 2011, 32(6): 1277-1283.

(收稿日期: 2016-06-21 修回日期: 2016-08-23)

(编辑: 余庆华)