

• 研究论文 •

荧光淬灭和加强理论公式合理性的热力学分析

杨曼曼 席小莉 杨频*

(山西大学化学化工学院分子科学研究所 化学生物学与分子工程教育部重点实验室 太原 030006)

摘要 通过荧光法在不同温度下研究了3种第三代头孢新药: 盐酸头孢吡肟、头孢匹胺和头孢唑肟钠与血清白蛋白(HSA)和牛血清白蛋白(BSA)的作用, 分别应用荧光淬灭和荧光加强理论公式计算了它们的结合常数等, 进而分别计算了它们的热力学函数。因对应于不同的理论公式得出的 K_A 值并不完全相同, 由此得到它们相应的热力学参数也有所不同。本文对这些热力学数据的差异进行了分析比较, 结果表明: 基于荧光加强理论公式(4)获得的热力学数据显示更为合理。因而我们建议, 即使在研究受体-底物的荧光淬灭反应时, 采用荧光加强理论公式(4)可以获得更符合实际的结果。

关键词 荧光淬灭和加强; 血清白蛋白; 第三代头孢新药; 热力学分析

Thermodynamic Analysis of the Reasonableness of the Fluorescence Enhancement and Quenching Theory Equations

YANG, Man-Man XI, Xiao-Li YANG, Pin*

(Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education of China at Institute of Molecular Science, College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract The action of the three kinds of the third generation cephalosporin-class new medicine, cefepime hydrochloride, cefpiramide and ceftizoxime, with HSA and BSA was studied at different temperature through fluorescence method. First the binding constants were calculated by using fluorescence quenching and enhancement theoretical equations respectively, then their thermodynamic functions were also calculated respectively. Because the K_A corresponding to the different theoretical equations are not completely the same, the thermodynamic parameters calculated from above are different too. In this paper, the difference among these thermodynamic data obtained from the different theoretical equations have been analysed and the result shows that the thermodynamic data, deduced from fluorescence enhancement Eq. (4) are more reasonable. So we propose that even when the fluorescence quenching action of the acceptor-substrate is studied, more conforming to reality results can be obtained by using the fluorescence enhancement Eq. (4).

Keywords fluorescence enhancement and quenching; serum albumin; the third generation Cephalosporin-class new medicine; thermodynamic analysis

在前文^[1]我们曾指出: 尽管在文献[2]导出的荧光加强理论公式和通常采用的荧光淬灭理论公式^[3]的表观形式很不相同, 但所得结果却十分接近, 殊途同归, 即它

们在处理受体-底物作用中具有等效性和合理性。但是, 这并不意味着两者在说明受体-底物作用中没有差异和优劣。本文通过荧光法在不同温度下研究3种第三代头

* E-mail: yangpin@sxu.edu.cn; Tel./Fax: 0351-7011022.

Received December 7, 2006; revised May 20, 2007; accepted June 11, 2007.

国家自然科学基金(Nos. 30470408, 20637010)资助项目。

孢新药: 盐酸头孢吡肟、头孢匹胺和头孢唑肟钠与入血清白蛋白(HSA)和牛血清白蛋白(BSA)的作用, 对荧光加强和淬灭理论公式的差异和优劣进行热力学分析, 为在研究受体-底物作用时对它们的选择提出参考意见。

头孢类抗生素因其结构中含有青霉素中具有的 β -内酰胺环, 故有类似青霉素的抗菌作用, 现已开发出第三代新药^[4], 其特点是抗菌谱更广, 抗菌作用更强, 药物活性作用时间长, 对 β -内酰胺酶更稳定以及不良反应比第二代更小, 对肾脏几乎无毒性, 并且可以渗入脑脊液中。由于白蛋白是药物的输运载体, 本文选择 3 种第三代头孢类新药, 研究它们与入血清白蛋白和牛血清白蛋白的作用, 通过对这种作用结果的表征, 论证荧光加强理论公式和荧光淬灭理论公式在讨论这类问题中的差异和优劣。

1 实验部分

1.1 试剂

人血清白蛋白(HSA)、牛血清白蛋白(BSA), 上海化学试剂厂供应站, 电泳纯。盐酸头孢吡肟(Cefepime Hydrochloride)(针剂), 深圳信立泰药业有限公司。头孢匹胺(Cefpiramide)(针剂), 吉林省辉南龙生生化药业股份有限公司。头孢唑肟钠(Ceftizoxime)(针剂), 天津新丰制药有限公司。其他试剂均为国产, 分析纯。

1.2 仪器和方法

HAS, BSA 和三种药物用 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Tris-HCl 缓冲液(pH=7.4)配制, 原液浓度分别为 1×10^{-4} 和 $2\times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实测时, 在荧光池中, HAS 或 BSA: 稀释为 $2\times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 药物: 第一次滴加后体系药物浓度为 $5\times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 1~6 依次等差递增(每次加入 $5 \mu\text{L}$ 药物原液)。在 LS-50B 型荧光仪(PE 公司)上测定药物对白蛋白的荧光猝灭。变温实验用 Huber polystat cc1 temperature bath 恒温槽控制温度。用 Tris-HCl 缓冲液作对照, 1 cm 荧光池, 固定激发波长在 280 nm , 发射谱的扫描范围是 $290\sim 500 \text{ nm}$, 测定白蛋白的荧光发射光谱。测知药物的荧光近似为零, 自由 HAS 和 BSA 在 330 nm 处有较强的荧光。淬灭实验中首先测定 HAS 和 BSA 浓度为 $2\times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (溶液体积为 2 mL)时的荧光发射谱, 然后测逐次滴加适量(每次加入药物溶液体积为 $5 \mu\text{L}$ 、在假定总体积不变下计算药物浓度)药物淬灭剂后的荧光发射谱。在作淬灭曲线时, 逐次滴加药物后体系的药物浓度 [Q] 以其与 HAS 或 BSA 浓度 [P]₀ 之比: [Q]/[P]₀ 标示。实验测得体系的淬灭荧光值如表 1。

表 1 在 25 和 45 °C 下分别向 HSA 和 BSA 溶液逐次分别滴加三种药物时对应荧光强度(F_0)的次第淬灭(F_n)荧光强度实测值^a

Table 1 The experimental fluorescence intensity (maximum) values F_0 of the solution system while titrating gradually and respectively the three medicines to HSA and BSA solution (F_0) at 25 and 45 °C^a

药物	F_0	1	2	3	4	5	6
HSA:							
盐酸头孢吡肟							
25/°C	534	489	463	431	391	374	353
45/°C	420	380	369	346	317	295	279
头孢匹胺							
25/°C	498	464	442	408	394	369	341
45/°C	453	408	383	365	337	316	307
头孢唑肟钠							
25/°C	662	578	528	476	432	385	—
45/°C	466	396	370	330	309	285	255
BSA:							
盐酸头孢吡肟							
25/°C	685	561	522	487	453	428	396
45/°C	990	772	704	637	576	525	—
头孢匹胺							
25/°C	583	467	415	350	317	288	259
45/°C	524	483	411	349	312	278	237
头孢唑肟钠							
25/°C	496	422	357	302	258	234	209
45/°C	551	442	396	360	314	279	253

^a HAS or BSA: $2\times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; medicine: the medicine concentration of the system after titrating for the first time was $5\times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, then increased by equal value for 6 times ($5 \mu\text{L}$ every time).

2 原理和结果

2.1 荧光淬灭方程^[3,5,6,7]

Stern-Volmer 碰撞淬灭理论方程:

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_S[Q] \quad (1)$$

K_q 是生物分子的猝灭常数, τ_0 是不存在淬灭体时荧光体的荧光寿命, 对生物大分子约为 10 ns ^[3], [Q] 是淬灭体的浓度, $K_S = K_q\tau_0$ 是 Stern-Volmer 淬灭常数。按 Stern-volmer 方程作图如得一直线, 表明只存在一种荧光体, 并且对于猝灭体都是可接近的。需要指出, 按 Stern-Volmer 方程作图是直线并不一定就是发生了碰撞淬灭, 因为在静态淬灭中, 有时按此方程作图也是直线。一般区分为动态和静态淬灭, 要根据温度不同的行为来区分。

静态淬灭方程如下式^[3]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_A [Q] \quad (2)$$

对于静态淬灭, 淬灭常数 K_A 就是给体-受体(淬灭体-荧光体)的生成常数。如果 F_0/F 对 $[Q]$ 作图得直线, 由式(2)可求得该反应的生成常数(即淬灭常数) K_A 。由前述三种头孢类新药与人血清白蛋白和牛血清白蛋白作用的研究得出的荧光光谱淬灭强度变化实验值(表 1), 按式(3)的 $(F_0 - F)^{-1}$ 对 $[Q]$ 作图均得直线(图 2), 由表 1 实验值将 F_0/F 对 $[Q]$ 作图均得直线(图 1), 按式(2)可求得该反应的生成常数(即淬灭常数) K_A 值, 示于表 2。

将式(2)变形可得

$$\frac{1}{F_0 - F} = \frac{1}{F_0} + \frac{K_D}{F_0 [Q]} \quad (3)$$

式中解离常数 $K_D = 1/K_A$, $[Q]$ 是淬灭剂浓度, F_0 和 F 是自由生物大分子和加入淬灭剂后的荧光强度。由前述 3 种头孢类新药与人血清白蛋白和牛血清白蛋白作用的研究得出的荧光光谱淬灭强度变化实验值(表 1), 按式(3)的 $(F_0 - F)^{-1}$ 对 $[Q]$ 作双倒数图(图 2), 由斜率可求得解离常数 K_D 值, 示于表 3。

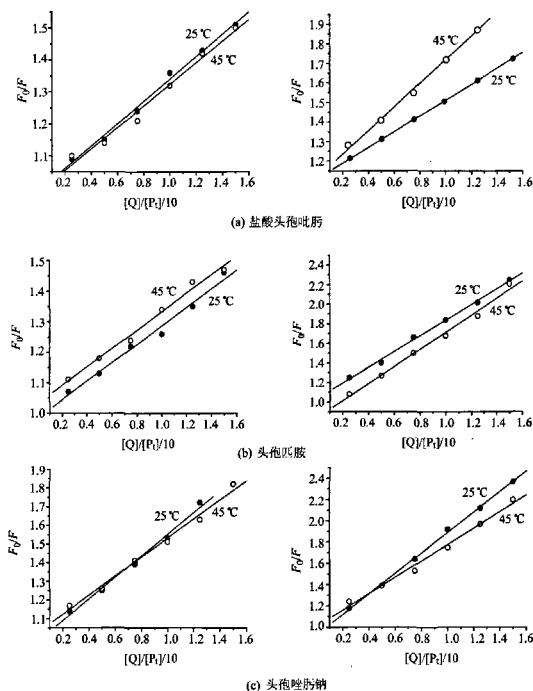


图 1 三种药物对 HAS(左)和 BSA(右)的淬灭曲线

Figure 1 The quenching curves of three kinds of medicine with HAS (left) and BSA (right)

(a) Levofloxacin hydrochloride; (b) Cefpiramide; (c) Cefizoxime

表2 三种药物与 HSA 和 BSA 间的静态淬灭常数(对应于生成常数) K_A 、解离常数 $K_D=1/K_A$ 、线性相关系数 C 和反应的热力学参数 ΔH , ΔS , ΔG [基于荧光淬灭公式(2)由图 1]

Table 2 Static quenching constant K_A , dissociation constant $K_D=1/K_A$ of the three kinds of medicine with HSA and BSA, linear interrelation coefficient C and the thermodynamic parameters ΔH , ΔS , ΔG of the reactions [based on fluorescence quenching formula (2) from Figure 1]

药物	$K_A/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$	$K_D/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	C	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1})$	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
HSA:						
头孢吡肟						
25/°C	1.75×10^4	5.71×10^{-5}	0.9964	-1.38	76.6	-24.2
45/°C	1.69×10^4	5.91×10^{-5}	0.9914		76.5	-25.7
头孢匹胺						
25/°C	1.52×10^4	6.58×10^{-5}	0.9949	0	80.0	-23.8
45/°C	1.52×10^4	6.58×10^{-5}	0.9923		74.8	-23.8
头孢唑肟						
25/°C	2.88×10^4	3.47×10^{-5}	0.9953	-4.81	69.0	-24.0
45/°C	2.55×10^4	3.92×10^{-5}	0.9944		69.0	-26.8
BSA:						
头孢吡肟						
25/°C	2.02×10^4	4.95×10^{-5}	0.9981	15.9	135.0	-24.5
45/°C	3.02×10^4	3.31×10^{-5}	0.9985		136.0	-27.3
头孢匹胺						
25/°C	4.02×10^4	2.49×10^{-5}	0.9982	3.39	100.0	-26.3
45/°C	4.38×10^4	2.28×10^{-5}	0.9953		99.0	-28.2
头孢唑肟						
25/°C	4.83×10^4	2.07×10^{-5}	0.9992	-8.9	60.0	-26.7
45/°C	3.86×10^4	2.59×10^{-5}	0.9949		60.0	-27.9

表3 三种药物与 HSA 和 BSA 间的解离常数 K_D 、线性相关系数 C 、淬灭常数 K_q 和反应的热力学参数 ΔH , ΔS , ΔG [基于荧光淬灭公式(3)]

Table 3 Dissociation constant of the three kinds of medicine with HSA and BSA K_D , linear interrelation coefficient C , quenching constant K_q , and the thermodynamic parameters ΔH , ΔS , ΔG of the reactions [based on fluorescence quenching formula Eq. (3)]

药物	$K_D/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_q/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	C	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1})$	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
HSA:						
头孢吡肟						
25/°C	7.04×10^{-5}	1.42×10^{12}	0.9963	-5.35	61.5	-23.7
45/°C	8.09×10^{-5}	1.24×10^{12}	0.9976		61.4	-24.9
头孢匹胺						
25/°C	8.33×10^{-5}	1.20×10^{12}	0.9959	18.0	138	-23.3
45/°C	5.28×10^{-5}	1.89×10^{12}	0.9874		138	-26.0
头孢唑肟						
25/°C	4.18×10^{-5}	2.39×10^{12}	0.9995	3.18	94.5	-25.0
45/°C	3.86×10^{-5}	2.59×10^{12}	0.9983		94.6	-26.9
BSA:						
头孢吡肟						
25/°C	2.80×10^{-5}	3.57×10^{12}	0.9914	8.97	117	-26.0
45/°C	2.23×10^{-5}	4.48×10^{12}	0.9960		117	-28.3
头孢匹胺						
25/°C	2.49×10^{-5}	4.02×10^{12}	0.9982	-20.5	19.5	-26.3
45/°C	4.18×10^{-5}	2.39×10^{12}	0.9977		19.2	-26.6
头孢唑肟						
25/°C	2.79×10^{-5}	3.58×10^{12}	0.9984	2.87	96.9	-26.0
45/°C	2.60×10^{-5}	3.85×10^{12}	0.9904		96.8	-27.9

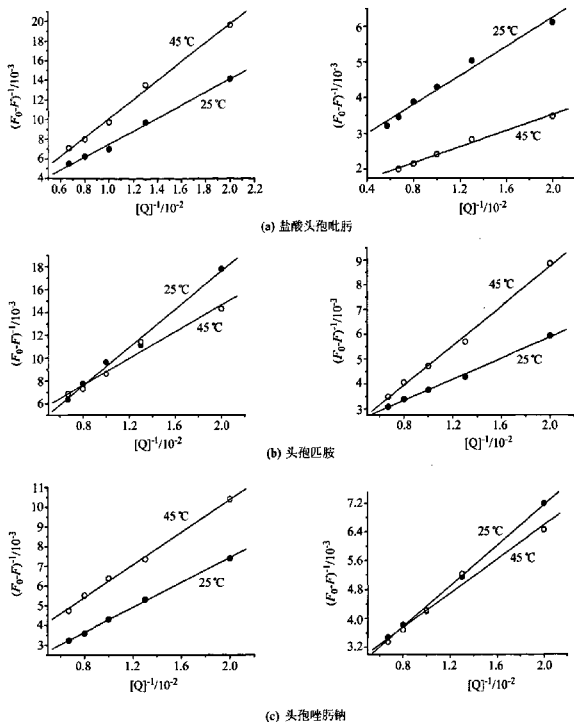


图2 基于荧光淬灭公式(3)三种药物与 HAS(左)和 BSA(右)作用的双倒数图

Figure 2 The double reciprocal curves of the action of the three kinds of medicine with HAS (left) and BSA (right) based on fluorescence quenching Eq. (3)

(a) Levofloxacin Hydrochloride; (b) Cefpiramide; (c) Cefprozime

2.2 荧光加强效应^[2]

文献[2]导出的荧光加强方程式如(3):

$$\frac{1}{(\Delta F - F_A)} = \frac{1}{(F_b - F_A)} \left(1 + \frac{1}{K_A (nP_1 - M_b)} \right) \quad (4)$$

式中 P_1 为生物大分子的总浓度, 生成物 M_bP 的浓度可表示为 M_b/n , 以及 $M = M_1 - M_b$, $P = P_1 - (M_b/n)$. 由前述 3 种头孢类新药与血清白蛋白和牛血清白蛋白作用的研究得出的荧光光谱度变化实验值(表 1), 按式(4)将 $(nP_1 - M_b)^{-1}$ 与对应的线性函数 $(\Delta F - F_A)^{-1}$ (其中 $\Delta F = F$

$- F_D$) 作图(图 3), 由斜率可求得解离常数 K_D ($K_D = 1/K_A$) 值, 示于表 4.

2.3 受体-底物作用的热力学原理

药物分子和白蛋白的结合力主要是分子间力和静电引力. Ross^[8]指出疏水作用可使体系的 ΔH 和 ΔS 增大, 氢键或 Van der Waals 力可使体系的 ΔH 和 ΔS 减小, 静电作用使 $\Delta H \approx 0$, $\Delta S > 0$. 当 $\Delta G < 0$, 受体-底物作用可自发进行. 因而, 研究受体-底物作用的热力学有助于理解主客体的几种弱相互作用. 当温度变化不大时, 反应的焓变 ΔH 可看作是常数. 则由下式(5), (6)和(7)可以

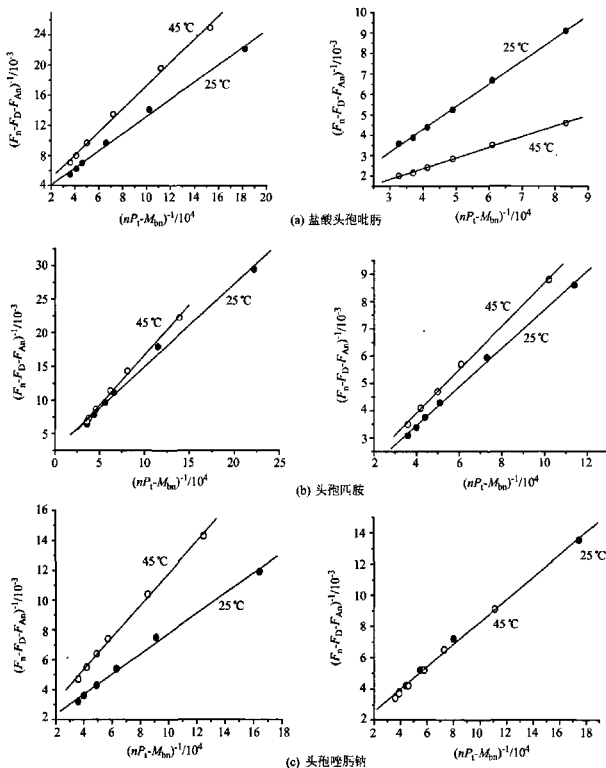


图3 基于荧光加强公式(4)三种药物与HSA和BSA作用的双倒数图

Figure 3 The double reciprocal curve of the action of the three kinds of medicine with HAS (left) and BSA (right) based on fluorescence enhancement Eq. (4)

(a) Levofloxacin Hydrochloride; (b) Cefpiramide; (c) Cefprozime

计算药物与白蛋白结合反应的焓变 ΔH 、熵变 ΔS 和 Gibbs 自由能。

$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \frac{\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (5)$$

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (6)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (7)$$

我们分别按公式(2)[也相应于式(1)], (3)和(4)计算了相应的 K_A 值, 进而算出与它们相应的热力学函数值, 分别给出在表2、表3和表4中。

3 讨论和结论

3.1 静态淬灭理论公式(2)和动态淬灭理论公式(1)的应用和淬灭机理^[5,12]

测知药物的荧光近似为零, 自由白蛋白 HSA 和

表4 三种药物与 HSA 和 BSA 间的解离常数 K_D 、线性相关系数 C 、淬灭常数 K_q 和反应的热力学参数 ΔH 、 ΔS 和 ΔG [基于荧光加强公式(4)]。

Table 4 Dissociation constant of the three kinds of medicine with HSA and BSA K_D , linear interrelation coefficient C , quenching constant K_q and the thermodynamic parameters ΔH , ΔS and ΔG of the reactions [based on fluorescence enhancement formula Eq. (4)]

药物	$K_D/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_q/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	C	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1})$	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
HSA:						
头孢吡肟						
25/°C	4.03×10^{-5}	2.48×10^{12}	0.9977	-2.47	75.9	-25.1
45/°C	4.29×10^{-5}	2.33×10^{12}	0.9983		70.5	-24.9
头孢匹胺						
25/°C	4.18×10^{-5}	2.39×10^{12}	0.9971	-3.45	74.7	-24.9
45/°C	4.57×10^{-5}	2.19×10^{12}	0.9983		72.2	-26.4
头孢唑肟						
25/°C	2.38×10^{-5}	4.20×10^{12}	0.9977	-5.44	70.3	-26.4
45/°C	2.73×10^{-5}	3.66×10^{12}	0.9986		70.3	-27.8
BSA:						
头孢吡肟						
25/°C	4.17×10^{-5}	2.40×10^{12}	0.9995	-19.4	22.8	-26.2
45/°C	2.55×10^{-5}	3.92×10^{12}	0.9994		23.0	-26.7
头孢匹胺						
25/°C	1.83×10^{-5}	5.46×10^{12}	0.9989	-1.25	86.4	-27.0
45/°C	1.89×10^{-5}	5.29×10^{12}	0.9993		86.3	-28.7
头孢唑肟						
25/°C	1.49×10^{-5}	6.71×10^{12}	0.9985	-7.71	66.4	-27.5
45/°C	1.81×10^{-5}	5.52×10^{12}	0.9997		66.6	-28.9

BSA 在约 330 nm 处有较强的荧光。随着药物的滴定, 白蛋白荧光在逐渐淬灭。应用式(2)将 F_0/F 对 $[Q]/[P_0]$ 作图均得到良好的直线如图 1。由图 1 算得 3 种药物与 HSA 和 BSA 的生成常数 K_A 、线性相关系数 C 如表 2。由图 1 看到, 直线斜率在不同温度下基本上无明显变化, 或在较高的 45°下, 直线斜率稍显减小, 这正是静态淬灭的特征。

实际上, Stern-Volmer 碰撞淬灭理论方程(1)与静态淬灭理论公式(2)具有类似的形式。按 Stern-Volmer 方程作图如得一直线, 表明只存在一种荧光体, 并且对淬灭体是可接近的。这种情况正好对应于静态淬灭条件及其理论公式(2), 于是, 式(2)的 K_A 就等于式(1)的 K_S 。

另外, Förster 的偶极-偶极非辐射能量转移理论指出^[9,10,11]: 当给体的荧光发射光谱与受体在相同波段的吸收光谱有足够的重叠时, 才可能发生非辐射能量转移现象, 导致荧光淬灭。我们的可见-紫外吸收光谱实验表明, 在荧光发射谱的扫描范围 290~500 nm 波段, 这 3 种药物均无吸收峰。表明在我们所研究的体系中不可能发生非辐射能量跃迁。这与图 1 在不同温度下 3 种药物与 HAS 和 BSA 的淬灭曲线均为良好的直线相一致。

进而应用荧光淬灭理论公式(3)对 3 种药物与 HSA 和 BSA 作用实验数据(表 1)作双倒数图, 均得到良好的

直线如图 2。由图 2 各直线的斜率可以分别算得它们的解离常数和线性相关系数如表 3。

将静态淬灭方程(3)与 Stern-Volmer 碰撞淬灭方程: $F_0/F=1+K_q\tau_0[Q]$ 建立联系: $K_A=1/K_D=K_q \times \tau_0$, 其中, 生物分子的荧光寿命 τ_0 约为 10 ns^[3], 由表 1 中的 K_D 值即可算得三种药物与 HSA 和 BSA 的表现淬灭常数 K_q 值如表 3。已知各种淬灭剂对生物大分子的最大扩散碰撞淬灭常数为^[13] $2.0 \times 10^{10} (\text{mol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$ 。由上表中数据可以看出, 这些药物对白蛋白的表现淬灭常数 K_q 远大于扩散控制的淬灭常数, 从而进一步论证了这些药物对白蛋白的淬灭不是由于动态碰撞引起的。

3.2 用荧光加强理论公式研究药物与白蛋白的结合

根据文献[1]的观点, 用荧光加强理论公式(4)研究 3 种药物对 HSA 和 BSA 的淬灭作用。采用表 1 的实验数据, 作双倒数图, 亦均得到良好的直线如图 3, 进一步论证了荧光加强理论公式(4)在处理 3 种第三代头孢新药与白蛋白的淬灭作用中与淬灭方程具有等效性; 下面的热力学分析将指出, 其合理性将更优于通常采用的淬灭方程。

3.3 三种理论公式合理性的热力学分析

求取三种头孢类新药与血清白蛋白和牛血清白

蛋白作用的热力学函数,要用到相应反应的生成常数 K_A , 而对应于不同的理论公式得出的 K_A 并不完全相同, 从而由此得到它们的热力学参数也有所不同。反应的热力学参数数值, 可从力能学的角度给出相应反应的基本特性。比较对应于不同理论公式得出的热力学参数数值的合理性和规律性的好坏, 有可能帮助我们判断与其对应的理论方程的优劣。

前述表 2~4 给出的热力学参数数值分别对应于荧光淬灭方程的(2)、(3)和荧光加强方程的式(4)。其 ΔG 值范围: 表 2 为 -24.0 至 $-28.2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; 表 3 为 -23.3 至 $-28.3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; 表 4 为 -24.9 至 $-28.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 可见由三类不同理论公式所得的结果都是 $\Delta G < 0$ 且数值也非常接近, 表明在不同温度下 3 种头孢类新药与人血清白蛋白和牛血清白蛋白的作用可自发进行; 其 ΔH 值范围: 表 2 为 -8.9 至 $15.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 表 3 为 -20.5 至 $18.0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 表 4 为 -19.4 至 $-1.25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。可见, 在表 2 和表 3 中 ΔH 都出现了正值。而受体-底物的作用属于结合反应, 应该对应于放热过程, 即其 ΔH 应为负值, 正如表 4 所呈现的那样。由此推想, 表 4 数值所对应的荧光加强理论公式(4)显然更为合理; 其 ΔS 值范围: 表 2 为 $60.0 \sim 136.0 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, 表 3 为 $19.2 \sim 138 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, 表 4 为 $22.8 \sim 86.4 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ 。在表 2 和表 3 中都出现了高达 136, 138 的 ΔS 值, 特别是表 3 出现了从 19.2 至 $138 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ 的巨大差异。首先, 按照熵增加原理, 混乱度增加对应于熵增加; 但是, 受体-底物反应属于结合反应, 如本文研究的三种头孢新药除了大都有一个母体 β 内酰胺环以外, 几乎都含有疏水五元环的侧链, 为了降低体系的能量, 这个疏水五元环侧链很可能钻进白蛋白的疏水腔内, 使得体系趋向有序化, 混乱度减小, 即结合反应对应于混乱度降低。尽管由于体系组分的增加, 也可引起混乱度增加, 但这两种因素的共存, 至少不应该出现很大的熵增加; 其次, 由于在不同温度下, 3

种头孢类新药属于同系物, 在结构上较为相似, 人血清白蛋白和牛血清白蛋白也是类似物, 它们之间的反应及其热力学参数数值也应该相近, 正如表 4 给出的 ΔS 值。即从熵效应来看, 表 4 对应的荧光加强理论公式(4)也显得更为合理。据此我们建议, 即使在研究受体-底物的荧光淬灭反应时, 采用我们在文献[2]导出的荧光加强理论公式(4)可以获得更符合实际的结果。

References

- 1 Yang, M.-M.; Xi, X.-L.; Yang, P. *Chin. Sci. Bull.* **2005**, *50*, 2571.
- 2 Yang, P.; Yang, M.-M.; Yang, B.-S. *Chin. J. Chem.* **1996**, *14*, 109.
- 3 Lakowicz, J. R.; Weber, G. *Biochemistry* **1973**, *12*, 4161.
- 4 He, Y.-G. *Newly Applied Pharmacology*, Beijing Science Technology Press, Beijing, **2006**.
(何月光主编, 新编实用药理学, 北京科学技术出版社, 北京, **2006**.)
- 5 Chatelier, R. C.; Sawyer, W. H. *Eur. Biophys. J.* **1985**, *11*, 179.
- 6 Sikaris, K. A.; Thulborn, K. A.; Sawyer, W. H. *Chem. Phys.* **1981**, *29*, 397.
- 7 Yang, M.-M.; Yang, P.; Zhang, L.-W. *Chin. Sci. Bull.* **1994**, *39*, 734.
- 8 Ross, D.-P.; Subramanian, S. *Biochemistry* **1981**, *20*, 3096.
- 9 Förster, T. *Ann. Phys.* **1948**, *21*, 55.
- 10 Förster, T. *Modern Quantum Chemistry*, Academic Press, New York, **1965**.
- 11 Stryer, L.; Haugland, R. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1967**, *58*, 719.
- 12 Yang, P.; Gao, F. *Principle of Bioinorganic Chemistry*, Science Press, Beijing, **2002**, pp. 322~342; pp. 489~494 (in Chinese).
(杨频, 高飞, 生物无机化学原理, 科学出版社, 北京, **2002**, pp. 322~342, pp. 489~494.)
- 13 Ware, W. R. *J. Phys. Chem.* **1962**, *66*, 455.

(A0612076 LU, Y. J.; LING, J.)