

# $\beta$ -环糊精与左氧氟沙星超分子配合物的 合成、表征及其与 DNA 的结合性质<sup>①</sup>

龙 琪 陈昌云<sup>②</sup> 马美华 吴晓霞 方明金

(南京晓庄学院化学系 南京市 210017)

**摘 要** 研究了以环糊精为主体,左氧氟沙星为客体的配位反应,用紫外-可见吸收光谱法,分子荧光光度法,差热分析法,X-衍射法等方法对超分子配合物进行了表征,并对超分子配合物的形成进行了初步讨论,实验结果表明: $\beta$ -环糊精与左氧氟沙星分子形成物质的量比为 1:1 的超分子配合物。通过  $\beta$ -环糊精超分子配合物的形成,进一步研究了左氧氟沙星与 DNA 的作用机理,发现它们之间主要作用力是疏水作用。

**关键词**  $\beta$ -环糊精,左氧氟沙星,超分子配合物,DNA。

中图分类号:O657.61;O62.1 文献标识码:A 文章编号:1004-8138(2007)01-0023-05

## 1 引言

超分子化学是化学、材料科学、生命科学等学科的交叉领域,处于当代化学的前沿。1987 年 Nobel 化学奖授予了 Pedersen, Cram 和 Lehn 三位科学家,标志着化学发展进入了一个新时代<sup>[1]</sup>。它不仅在材料科学而且在生命科学中也具有重要的理论意义和潜在的广阔的应用前景。其中环糊精超分子配合物作为一类重要的超分子体系,越来越受到广泛的关注。有关  $\beta$ -CD 的研究已得到了显著发展,并且已经实际应用到了许多不同领域,如促进药物稳定性;增加药物溶解度;提高药物的生物利用度;作为药物缓释剂。已经有文献报道诺氟沙星与  $\beta$ -CD 能很好配合<sup>[2]</sup>,左氧氟沙星与诺氟沙星具有相似的结构,推测左氧氟沙星应该可以与  $\beta$ -CD 配合。左氧氟沙星是全合成的第 3 代喹诺酮类广谱高效抗菌药,抗菌谱广泛而且作用强,因而大量用于治疗被细菌感染的疾病,具有很好的临床效果。但是其水溶性较差,生物利用度不高,所以如果找到一种助剂能改善其水溶性,提高其生物利用度就显得很重要。本工作研究了左氧氟沙星与  $\beta$ -CD 的作用,求得了左氧氟沙星与  $\beta$ -CD 的配合常数  $K_s$ ;求得了包合前后左氧氟沙星的溶解度;并在已知左氧氟沙星与 DNA 分子之间的作用是沟槽作用的基础上<sup>[3]</sup>,通过  $\beta$ -CD 超分子体系进一步探讨了左氧氟沙星与 DNA 分子之间的具体作用力类型。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器和试剂

TU-1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);LS-50B 荧光分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司);AD6 微量天平(美国 Perkin Elmer 公司);STA-409 热分析仪(德国 Netzsch 公司);D8-advance X 射线粉末衍射仪(德国 Bruker 公司);pHS-25 数显 pH 计(上海雷磁精密科学仪

<sup>①</sup> 基金项目:江苏省高校自然科学基金项目(05KJD150177);南京晓庄学院基金项目(2005NXY10)资助

<sup>②</sup> 联系人,电话:(025)86569262;手机:(0)13913843824;E-mail:yhjiangccy@126.com

作者简介:龙琪(1970—),女,南京市人,南京晓庄学院化学系副教授,主要从事双语无机化学教育与研究。

收稿日期:2006-07-18;接受日期:2006-11-22

器有限公司)。左氧氟沙星(中国药科大学分析测试中心); $\beta$ -环糊精(国药集团化学试剂有限公司,批号:F 20050603);其他试剂均为分析纯;实验用水均为二次蒸馏水。

## 2.2 固体超分子配合物的制备

本实验采用饱和水溶液法制备固体超分子配合物<sup>[3,4]</sup>。称取 1 份左氧氟沙星对照品于 100mL 烧杯中,用 0.1mol/L 的 NaOH 溶液 12.5mL 在 80℃ 溶解配成饱和溶液;另取 3 份  $\beta$ -环糊精固体于另一 100mL 烧杯中并于 80℃ 下用蒸馏水 24.00mL 配成饱和溶液。将  $\beta$ -环糊精饱和溶液注入饱和的左氧氟沙星溶液中在 80℃ 下搅拌,并用 0.1mol/L 的 HCl 溶液调节溶液的 pH 值至 7.00,1.5h 后,取出,放置冰箱中冷却 24h,结晶,真空过滤,洗涤,干燥,恒重,得到淡黄色超分子配合物固体。

## 3 结果与讨论

### 3.1 超分子配合物的表征

#### 3.1.1 差示热扫描分析(DSC)<sup>[3,5,6,7]</sup>

分别称取一定量的左氧氟沙星对照品(A)、环糊精固体(B)、二者的物理混合物(C)及超分子配合物(D),在热分析仪上测量其 DSC 线(扫描范围 25—320℃,扫描速率 20℃/min)。其结果如图 1。

其中左氧氟沙星对照品(A)在 271.3℃ 时有一吸收峰,为左氧氟沙星的熔点峰; $\beta$ -CD(B)在 127.7℃ 时有一吸收峰,为  $\beta$ -CD 中水分蒸发峰;物理混合物(C)在 128.6℃ 和 272.1℃ 分别有一个吸收峰,分别为环糊精的水分蒸发峰和左氧氟沙星的熔点峰;超分子配合物只在 314.2℃ 有一个吸收峰,在 272℃ 附近无吸收峰,可见有新的物质生成,即超分子配合物的形成。

#### 3.1.2 紫外分光光度法<sup>[8]</sup>

左氧氟沙星在 287nm 处有紫外吸收,而  $\beta$ -CD 在此处没有吸收<sup>[5]</sup>,这就给用紫外表征提供了可能。配制一定浓度的左氧氟沙星溶液待用。用上述左氧氟沙星溶液配制一定浓度梯度的  $\beta$ -CD 溶液,定容到 25mL,将其按照配合条件在 80℃ 下加热 1.5h,取出,冷却至室温,在紫外分光光度计上于 250—300nm 范围内扫描吸收曲线,其结果如图 2 所示。随着  $\beta$ -CD 浓度的增大,溶液的吸光度随之减小,减色效应的出现表明溶液中已经生成了超分子配合物。

#### 3.1.3 荧光分光光度法<sup>[9]</sup>

$\beta$ -CD 没有荧光,这就为用荧光表征提供了可能。在左氧氟沙星中加入不同浓度的  $\beta$ -CD 溶液在荧光分光光度计上于激发波长  $\lambda_{ex}=289\text{nm}$  处,在 350—650nm 范围内扫描其发射曲线,随着溶液中  $\beta$ -CD 浓度的增大其最大发射波长没有明显的变化,但其荧光强度逐渐增强(如图 3),说明两者发生了相互作用生成了超分子配合物。超分子配合物的形成导致荧光强度发生变化可能是由于 OFLX 分子进入了  $\beta$ -CD 的疏水腔中,减少了分子移动自由度,避免去活碰撞,保持了适宜的微环境,保护其激发状态不与大体积水分子接触。因而提高了左氧氟沙星的量子产率。

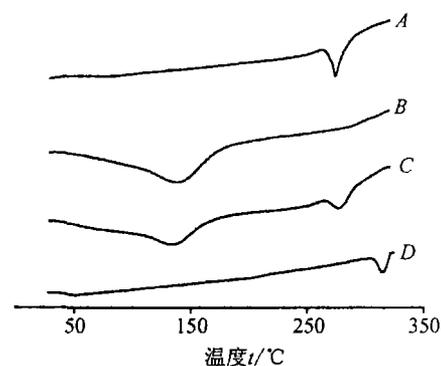


图 1 超分子 DSC 曲线

A—左氧氟沙星对照品;B—环糊精固体;  
C—A 和 B 混合物;D—超分子配合物。

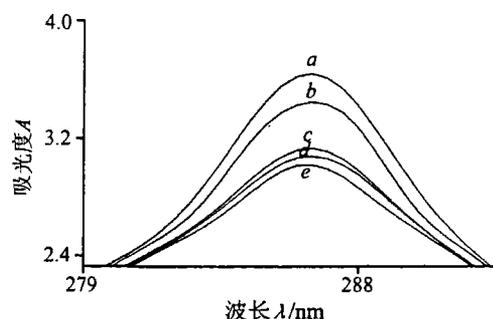


图 2 不同浓度  $\beta$ -CD 存在下氧氟沙星的紫外吸收光谱

$C_{\text{OFLX}}=5.0529 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ ,

$C_{\beta\text{-CD}}(\times 10^{-6} \text{mol/L}, a-e)$ : a—0; b—10.00;  
c—20.20; d—30.50; e—40.30。

### 3.1.4 X 射线衍射<sup>[5-7]</sup>

分别取一定量的左氧氟沙星对照品(A),  $\beta$ -CD(B), 二者的物理混合物(C)及超分子配合物(D)进行 X 衍射, 其结果如图 4。图中 A 为左氧氟沙星, B 为  $\beta$ -环糊精, C 为 A 和 B 的物理混合物, D 为超分子配合物。经过比较可以看出, 超分子配合物(D)与混合物(C)和  $\beta$ -环糊精(B)及左氧氟沙星(A)的 XRD 图谱有明显的区别, 说明生成了新的物质, 即生成了超分子配合物。

## 3.2 配合比和配合常数的计算

### 3.2.1 配合比的计算

按照 Benesi-Hilde-Brandel 的观点<sup>[10,15]</sup>, 如果主客体之间发生了包结作用, 则荧光强度的增加值  $\Delta F$  同主体分子浓度之间的关系可以简化为:

$$\frac{1}{\Delta F_i} = \frac{1}{K\alpha \cdot \alpha \cdot [G]} \cdot \frac{1}{[H]_i^n} + \frac{1}{\alpha \cdot [G]}$$

式中,  $\Delta F_i$ ——主体( $\beta$ -环糊精)浓度为  $[H]_i$  时测得体系的总荧光强度( $F_i$ )与主体( $\beta$ -环糊精)浓度为 0 时的体系总荧光强度( $F_0$ )之差,  $[G]$ ——客体(左氧氟沙星)的浓度,  $\alpha$ ——荧光测量系数,  $n$ ——表示超分子配合物中主体分子( $\beta$ -环糊精)的数目。固定  $[G]$  改变  $\beta$ -CDs 浓度, 取 3.1.3 中的数据, 用  $1/\Delta F_i$  对  $1/[H]_i$  作图, 如图 5, 得一直线, 由该理论可知,  $n=1$ , 主体与客体形成了 1:1 的超分子配合物。

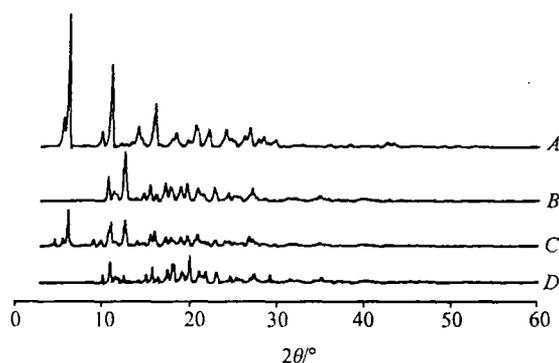


图 4 超分子配合物的 X 射线衍射图

A——左氧氟沙星对照品; B——环糊精固体;  
C——二者的物理混合物; D——超分子配合物。

### 3.2.2 配合常数的计算<sup>[14]</sup>

按照上述理论, 求得  $K_s = 0.00309 / 1.67989 \times 10^{-7} = 1.84 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 。按经验当稳定常数在 200—100000 之间时有利于释放和增加生物利用度, 包结物过于稳定, 将使药物持续以包结状态存在, 乃至完全不能释放, 该结果为  $\beta$ -CD 用于改性提供了依据。

## 3.3 左氧氟沙星及其超分子配合物溶解度的测定

### 3.3.1 超分子配合物溶解度的测定

用标准加入法在荧光光度计上测量超分子配合物标准溶液(浓度为  $C_s$ )荧光发射强度( $F_s$ )及加入一定量饱和超分子配合物溶液(浓度为  $C_x$ )的标准溶液(浓度为  $C_s + C_x$ )的荧光发射强度( $F$ )。

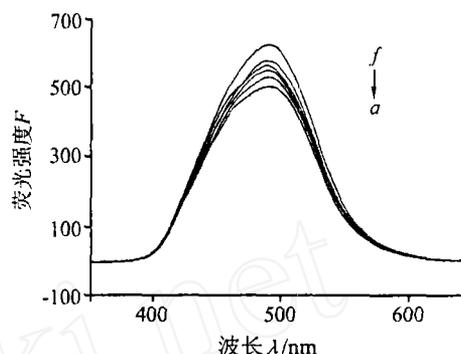


图 3 不同浓度  $\beta$ -CD 存在下氧氟沙星的荧光发射光谱

$$C_{\text{OFLX}} = 5.0529 \times 10^{-6} \text{ mol/L},$$

$C_{\beta\text{-CD}} (\times 10^{-6} \text{ mol/L}, a-f)$ : a——0; b——6.29;  
c——10.00; d——20.20; e——30.50; f——40.30。

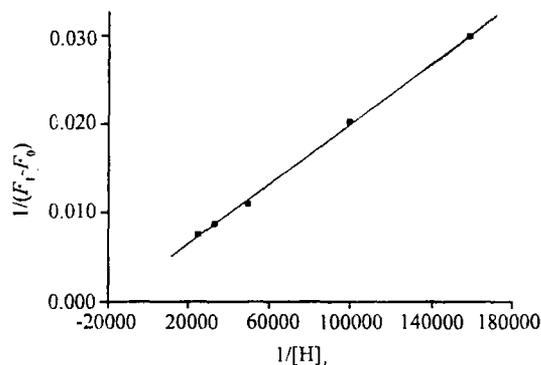


图 5  $1/\Delta F_i$  对  $1/[H]_i$  的直线图

根据  $F_s = k' \times C_s$ ;  $F = k'' \times (C_s + C_x)$  ( $k$  为常数), 在同等条件下,  $k' = k''$

$$\text{所以 } C_x = \frac{F - F_s}{F_s} \cdot C_s$$

准确称量一定量的超分子配合物(0.01060g)于小烧杯中,用少量蒸馏水溶解,定容于 25mL 容量瓶中,作为标准溶液待用( $2.83 \times 10^{-4}$ mol/L)。向一只装有 5mL 的小烧杯中不断加入超分子配合物并不断搅拌,直至超分子配合物不再溶解,即得超分子配合物的饱和溶液(室温 12℃)。在 491nm 处测得  $F_s = 598.75$ ;  $F = 222.20$ , 经过计算,超分子配合物的溶解度为  $718 \mu\text{g/mL}$ , 按照 1:1 计算,相当于左氧氟沙星的溶解度为  $173 \mu\text{g/mL}$ 。

### 3.3.2 左氧氟沙星溶解度的测定

方法同 3.3.1, 得左氧氟沙星标准溶液的浓度为  $5.0529 \times 10^{-6}$ 。F 为含有 2.5mL 左氧氟沙星标准溶液和 0.5mL 左氧氟沙星饱和溶液的荧光发射曲线;  $F_s$  为含有 2.5mL 左氧氟沙星标准溶液的荧光发射曲线。在 491nm 处测得  $F = 964$ ;  $F_s = 472.34$ , 经过计算,左氧氟沙星的溶解度为  $0.95 \mu\text{g/mL}$ 。

比较得出,超分子配合物的溶解度(换算成左氧氟沙星的溶解度)是左氧氟沙星的溶解度的 182 倍,可知,经过配合后,已经显著的改善了药物的溶解度,这就为进一步的药物改良提供了依据。

### 3.4 超分子配合物与 DNA 的结合作用

取 0.02150g 的超分子配合物固体,以 pH=7.2 的 HCl-Tris 缓冲溶液配置成一定浓度的溶液,取 3mL 于比色皿中,测量其荧光发射强度,然后逐次向比色皿中加入一定浓度的 DNA 溶液,于 390—550nm 范围内扫描荧光发射光谱,其结果如图 6。

由图可见,超分子配合物与 DNA 的作用不是很强,在加入  $7.42 \times 10^{-4}$ mol/L DNA 溶液  $3 \mu\text{L}$  (相当于  $n_{\text{DNA}} : n_{\text{超分子配合物}} = 1.3$ ) 后,超分子配合物与 DNA 的作用基本已经饱和。这表明左氧氟沙星的疏水基团被  $\beta$ -环糊精包合后,其与 DNA 的作用减弱。

由文献[3][11—13]知左氧氟沙星与 DNA 的作用是一种沟槽作用,沟槽作用主要包括氢键、疏水作用和范德华力。 $\beta$ -CD 空腔为疏水空腔,当左氧氟沙星与  $\beta$ -CD 形成超分子配合物后,左氧氟沙星分子的疏水部分进入了  $\beta$ -CD 的疏水空腔内,其与 DNA 之间的疏水作用被  $\beta$ -CD 所屏蔽,使其与 DNA 的作用显然不如配合前的明显,说明左氧氟沙星与 DNA 作用力主要是疏水作用。但是,当加入一定量的 DNA 到超分子配合物中后,其荧光强度仍有小幅度的猝灭,可能是由于左氧氟沙星分子与 DNA 的作用除了疏水作用以外还有氢键,由此可知,左氧氟沙星分子与 DNA 之间存在的作用力是以疏水作用为主,氢键作用为辅。

## 4 结论

研究表明左氧氟沙星与  $\beta$ -CD 能形成 1:1 型的超分子配合物,其配合常数为  $1.84 \times 10^4$  L/mol;左氧氟沙星与  $\beta$ -CD 形成超分子配合物后其溶解度大大提高,为进一步的药物改良提供了依据;并在  $\beta$ -CD 的化学微环境下,探测出左氧氟沙星与 DNA 作用的主要作用力类型是疏水作用。

## 参考文献

[1] 刘育、尤长城,张衡益.超分子化学[M].天津:南开大学出版社,2001.1.

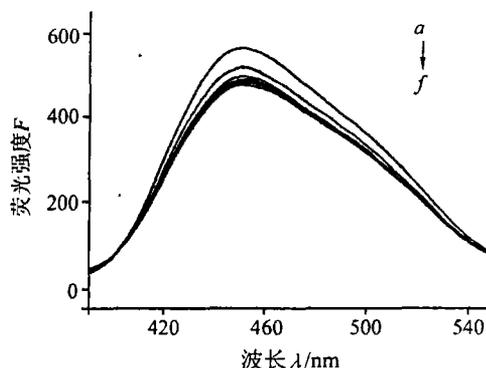


图 6 不同浓度的 DNA 存在下,超分子配合物的荧光发射光谱图

$C_{\text{超分子配合物}} = 5.75 \times 10^{-7}$ mol/L

$C_{\text{DNA}} (\times 10^{-7}$ mol/L, a—f): a—0; b—3.71;

c—7.42; d—11.13; e—14.84; f—18.55.

- [2] 吴琼珠, 郑旭, 姜慕炎. 诺氟沙星- $\beta$ -环糊精包合物的研究[J]. 中国医药工业杂志, 1994, 25(10): 445—448.
- [3] 赵长春, 郑维发, 李梦秋. 氧氟沙星与 DNA 的相互作用[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(3): 262—264.
- [4] 鞠玉琳, 张守发, 张雪梅, 李海峰, 李在成. 环丙沙星- $\beta$ -环糊精包合物的研制[J]. 延边大学农学学报, 2001, 23(2): 98—101.
- [5] 匡永清, 周四元, 张绍章, 孙晓莉, 雷英杰. 补骨脂素- $\beta$ -环糊精包合物的制备和鉴定[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(12): 820—822.
- [6] 文宗河, 李萍, 王建华. 丹皮酚- $\beta$ -环糊精包合物的制备研究[J]. 中国药业, 2005, 14(4): 52—52.
- [7] 雷英杰, 石继仙, 刘福德. 染料木素- $\beta$ -环糊精包合物的制备和鉴定[J]. 中国医学杂志, 2004, 39(11): 837—839.
- [8] 张跃华, 王南平, 张其平, 余燕红, 史传国.  $\beta$ -环糊精与 8-羟基喹啉包合物的制备与表征[J]. 绥化师专学报, 2003, 23(4): 152—154.
- [9] 谢跃勤, 童红武, 李光水, 盛良全, 刘少民.  $\beta$ -环糊精与氯化血红素配合作用的研究[J]. 安徽教育学院学报, 2004, 22(3): 65—66.
- [10] 童林荟. 环糊精化学-基础与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 10—29.
- [11] 郑朝华, 叶宝芬, 杜迎翔, 陈玉英. 左氧氟沙星与小牛胸腺 DNA 相互作用的荧光光谱法研究[J]. 中国医药工业杂志, 2004, 35(12): 740—743.
- [12] An W T, Guo X L, Shuang S M, Dong C. Effect of Microscopic Environment on the Self-Stacking Binding of Porphyrin to DNA [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2005, 173: 36—41.
- [13] Wang X P, Pan J H, Yang X D, Niu C D, Zhang Y, Shuang Y M. Porphyrin Binding to DNA Investigated by Cyclodextrin Supramolecular System [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, 274: 445—450.
- [14] 陈亮, 王宝俊, 黄淑萍. 氟派酸- $\beta$ -环糊精包结配合物的研究[J]. 光谱学杂志, 1998, 15(3): 243—248.
- [15] 黄志兵, 李来生, 王宇晓, 吴宇梅. 荧光法研究对-二甲氨基-杯[8]芳烃与二苯胺磺酸钠包结作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(4): 591—593.

## Synthesis, Characterization and DNA Affinity of the Supermolecule between $\beta$ -Cyclodextrin and Levoofloxacin

LONG Qi CHEN Chang-Yun MA Mei-Hua WU Xiao-Xia FANG Ming-Jin

(Department of Chemistry, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 210017, P. R. China)

**Abstract** The interaction between levoofloxacin (guest) and  $\beta$ -cyclodextrin (host) was studied and also the inclusion complex was characterized by using UV-visible spectra, fluorescence spectra, DSC and X-ray diffraction. The results indicated that  $\beta$ -cyclodextrin and levoofloxacin had formed the inclusion complex with the ratio of 1 : 1. The mechanics of the interaction between levoofloxacin and DNA, which was hydrophobic interaction, were further investigated.

**Key words**  $\beta$ -Cyclodextrin, Levoofloxacin, Supermolecule, DNA.

### 廉价光谱分析资料讯息

1. 《光电光谱分析》, 周开亿主编, 4 册, 16 开, 1236 页, 《光谱实验室》编辑部增刊, 每套 110 元。买 1 送 1。
2. 《光谱实验室》2004 年 1—6 期, 16 开, 1248 页, 每套 75 元。
3. 《数理统计在化学、光谱分析中的应用》, 纳利莫夫著, 余生等译, 《光谱实验室》编辑部编, 16 开, 396 页, 每册 10 元。
4. 《邮票上的光谱学和化学史》, 周开亿等编, 《科学出版社》出版, 16 开, 158 页, 每册 10 元。
5. 《空心阴极放电及其应用》, 周开亿主编, 《真空科学与技术》杂志社出版, 32 开, 798 页, 上下册, 每套 10 元。
6. 《邮票上的化学、光学和光谱学史》, 周开亿主编, 《光谱实验室》2006 年第 1 期彩色抽印本(收藏本), 16 开, 64 页, 每册 30 元。买 3 送 1。
7. 《邮票上的科学家——佼佼者之路》, 周开亿主编, 《光谱实验室》2007 年第 1 期彩色抽印本(收藏本), 16 开, 196 页, 每册 70 元。买 3 送 1。

以上各书售价中均含普通印刷品邮费。

联系地址: 北京市 81 信箱 66 分箱《光谱实验室》编辑部联络处 刘建林, 邮编: 100095