

用共振Rayleigh散射光谱研究盐酸氯丙嗪和 盐酸异丙嗪与核酸相互作用*

刘绍璞** 胡小莉 刘忠芳 李明 王芬

(西南师范大学化学化工学院环境化学研究所, 重庆 400715)

摘要 研究了结构相似的吩噻嗪类药物盐酸氯丙嗪(CPZ·HCl)和盐酸异丙嗪(PZ·HCl)与核酸(NA)的相互作用,发现CPZ-NA体系可产生强烈的共振Rayleigh散射(RRS),而PZ-NA反应较微弱.采用量子化学AM1和密度泛函B3LYP方法计算了两个反应的能量关系,讨论了CPZ与DNA分子的结合位点和作用方式,获得一些有意义的结果.RRS法有望成为研究核酸的分子识别和基因药物的分子设计的有用手段.此外,用盐酸氯丙嗪作试剂,RRS法测定核酸具有很高的灵敏度和良好的选择性,因此也为核酸的定量测定提供了一种新的灵敏、简便、快速的新方法.

关键词 共振 Rayleigh 散射 核酸 氯丙嗪 异丙嗪 相互作用

核酸与药物分子的作用是核酸研究的一个重要领域,它对研究药物的抗癌抗病毒作用机理、药物的体外筛选、一些疾病的诊断和治疗以及设计与合成新的药物都具有重要价值.分子生物学和分子药理学的发展使人们能够从基因水平上理解某些疾病的发病机理,并通过分子设计来寻找有效的治疗药物.DNA靶向化合物成为很重要的药物选择对象,临床上使用的许多抗癌药物都以DNA为作用的主要靶点,通过与癌细胞DNA发生相互作用破坏其结构,进而影响基因调控与表达的功能,表现出抗癌活性^[1].对于某些化学药物导致的基因疾病,也可以通过研究药物与核酸的相互作用得到有用的信息.

盐酸氯丙嗪(chlorpromazine hydrochloride, CPZ, 2-氯-10-(3'-二甲氨基丙基)吩噻嗪盐酸盐)、盐酸异丙嗪(promethazine hydrochloride, PZ, N,N,α-三甲基-10H-吩噻嗪-10-乙胺盐酸盐)两者的基本结构相似,仅在吩噻嗪氮原子上与-N(CH₃)₂相连的丙基不同(前者是正丙基,后者为异丙基),并且前者较后者多一个吸电子基团-Cl.但两者表现出的药理作用有较大差异,盐酸氯丙嗪主要作为抗组织胺药和安定剂使用,在临床上有安静、催眠、抗精神病和镇吐作用,而盐酸异丙嗪则主要作为过敏介质的拮抗剂和阻滞药使用,临床上用于治疗多种过敏性疾病.它们在毒副作用上表现出更大的不同,前者可使发育期大鼠

2005-01-05 收稿, 2005-03-17 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 20475045)和重庆市科学技术委员会资助项目

** E-mail: liusp@swnu.edu.cn

小脑和海马内单胺递质的水平不均衡发展, 影响脑细胞的DNA合成, 抑制细胞内RNA转录的始态发生改变^[2], 并且可能引起人体内分泌改变和骨髓抑制等基因疾病^[3]. Kochevar等^[4]曾报道CPZ通过非插入式作用与DNA形成光化学加合物. 但是盐酸异丙嗪未表现出这类毒副作用. 从这一现象出发, 可以推测两者与核酸的作用是不同的. 前者可能与核酸有更强的相互作用, 因而对核酸正常功能会产生更大的影响, 而后者可能不与核酸反应. 但是由于两种药物本身无色, 它们与核酸反应后也难于观察到吸收光谱的明显变化, 两者及其反应产物又无荧光, 因此难于用常规的紫外-可见分光光度和荧光分光光度法进行研究. 近年来, 共振Rayleigh散射(RRS)及共振非线性散射(RNLS)光谱为研究药物小分子与核酸之间的相互作用提供了新的途径^[5-20]. 由于某些无色、无荧光的小分子借静电引力、疏水作用、氢键等弱结合力组装于核酸模板上时, 将引起核酸体积增大和核酸构象发生改变^[21,22], 这种变化对于吸收光谱影响甚微, 却能引起RRS的急剧增强和RRS光谱的改变^[23]. 因此RRS的这一变化也为研究盐酸氯丙嗪和盐酸异丙嗪与核酸的相互作用创造了条件. 我们的研究表明盐酸氯丙嗪在酸性介质中与核酸(DNA和RNA)反应形成结合产物时, 能引起共振瑞利散射增强并产生新的RRS光谱, 反之当盐酸异丙嗪与核酸共存时, 只观察到RRS的微小变化, 说明后者与核酸反应能力极弱, 因此对核酸的性质和构象几乎不发生影响, 这与曹瑛等^[24]报道的CPZ-DNA结合作用强于PZ-DNA完全相符. 文中研究了它们反应前后RRS光谱特性的变化, 结合量子化学Gaussian 03中的AM1方法^[25]和密度泛函B3LYP方法^[26], 计算了反应的能量关系、药物与核酸的结合位点及作用方式. 并从氯丙嗪和异丙嗪的结构差异上, 探讨了两者能否与核酸发生反应的原因, 理论计算和RRS法实验结果吻合, 说明RRS光谱对于研究无色、无荧光的药物小分子与核酸相互作用是一种有用的新技术, 这种研究不仅有助于探讨药物与核酸的作用机理, 还有助于从分子水平上了解药物的药理作用和毒副作用, 为药物的构效关系及设计、合成新药提供更多的信息. 而且用盐酸氯丙嗪作试剂, RRS法测定核酸具有很高的灵敏度和良好的

选择性, 因此也为核酸的定量测定提供了一种新的灵敏、简便、快速的新方法.

1 实验

1.1 仪器与试剂

Hitachi F-2500 型荧光分光光度计(日立公司, 日本), 天美 UV-8500 型分光光度计(天美公司, 上海), PHS-3C 型酸度计(上海大中分析仪器厂, 上海).

核酸溶液: 小牛胸腺 DNA (ctDNA, Sigma 公司)、鲑鱼精 DNA (hsDNA, Sigma 公司)、鲑鱼精 DNA(sDNA, Sigma 公司)和酵母 RNA (yRNA, Sigma 公司)溶于二次蒸馏水, 准确浓度由 260.0 nm 处吸光度确定, 操作液浓度 $20.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. 置于 $1^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中保存.

缓冲溶液: $0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4$, H_3BO_3 和 HAc 与 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 溶液按一定比例混合, 配成不同 pH 值的缓冲溶液, 用酸度计校正其 pH 值.

$1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 溶液控制体系的离子强度.

盐酸氯丙嗪(CPZ, 西南药业)和盐酸异丙嗪(PZ, 西南药业)溶液: $2.6 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

除核酸为生化试剂外, 其余试剂为分析纯. 实验用水均为二次蒸馏水.

1.2 实验方法

10.0 mL 比色管中, 依次加入适量核酸溶液、pH 2.0 BR 缓冲溶液 1.00 mL 和 $2.6 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CPZ 溶液(或 PZ 溶液)1.00 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀. 于荧光分光光度计上以 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}}$ 方式进行同步扫描, 然后在最大散射波长处测定样品和试剂空白的散射强度 I_{RRS} 及 I_0 , $\Delta I = I_{\text{RRS}} - I_0$.

2 结果与讨论

2.1 CPZ-DNA 和 PZ-DNA 体系的 RRS 光谱特征

图 1 为单独的 DNA, PZ 和 CPZ 的 RRS 光谱, 图 2 为 PZ 和 CPZ 与 DNA 相互作用的 RRS 光谱, 表 1 列出了两体系的 RRS 光谱特征. 从图 1, 2 和表 1 中可以看出: (i) 单独的 DNA, PZ 和 CPZ 的 RRS 均十分微弱, 但是 CPZ 与 DNA 的结合产物却具有强烈的

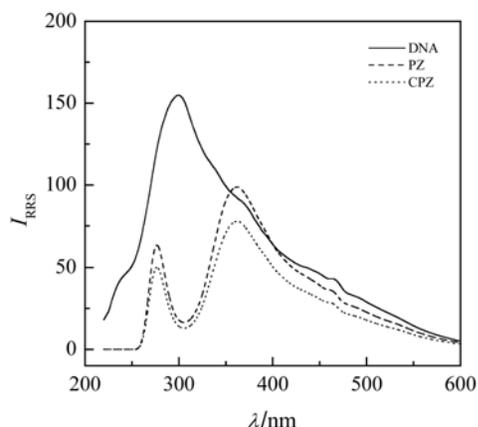


图 1 DNA, PZ 和 CPZ 的共振瑞利散射光谱
ctDNA 浓度: $4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PZ, CPZ 浓度: $2.6 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; pH 2.0

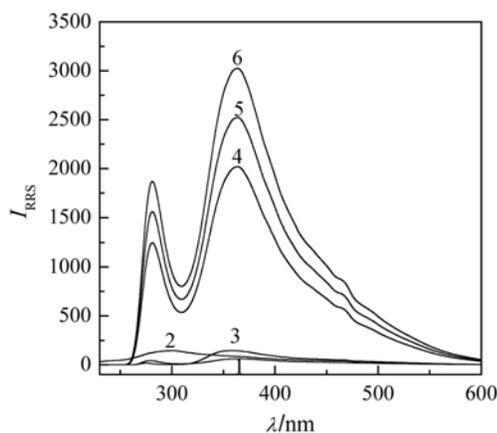


图 2 共振瑞利散射光谱

1, CPZ-BR; 2, ctDNA-BR; 3, PZ-ctDNA ($4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 4, CPZ-ctDNA ($3.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 5, CPZ-ctDNA ($4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 6, CPZ-ctDNA ($4.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); PZ, CPZ 浓度: $2.6 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; pH 2.0

表 1 RRS 光谱特征

	DNA	CPZ	CPZ-DNA	PZ	PZ-DNA
最大散射峰/nm	299	365	364	366	366
其他散射峰/nm	-	279	280	280	280
I_{max}	156	78	2548	98	140

RRS 光谱, 而 PZ 与 DNA 的反应较微弱, 只观察到 RRS 强度的微小增大; (ii) CPZ 与 DNA 结合产物的共振瑞利散射特征, 主要受 CPZ 的 RRS 的影响, 与 DNA 的 RRS 基本无关. CPZ-DNA 的最大散射峰 364 nm 与 CPZ 的最大散射峰 365 nm 十分相近, 另 1 个 RRS 峰 280 nm 与 CPZ 的 279 nm 几乎相同; (iii) 在最大散射波长处, RRS 强度随 DNA 浓度的增大而成

比例增强, 因此 RRS 法可用于 DNA 的定量测定.

2.2 反应条件的优选

2.2.1 溶液酸度的影响

试验了不同酸度条件对于反应产物 RRS 强度的影响, 见图 3. 结果表明适宜酸度范围是 pH 1.7~2.6 时, pH < 1.7 时, DNA 的双螺旋结构在强酸性介质中受到破坏, 空白值升高, ΔI_{RRS} 降低^[27]; pH > 2.6 时, 溶液中 H^+ 浓度降低, CPZ 质子化程度减小, 也不利于复合物的形成.

在适宜的 pH 条件下, 试验了缓冲溶液用量对 RRS 强度的影响, 表明缓冲溶液用量对 RRS 强度影响较小, 最佳 BR 缓冲溶液用量为 0.8~2.0 mL, 实验选用 1.0 mL.

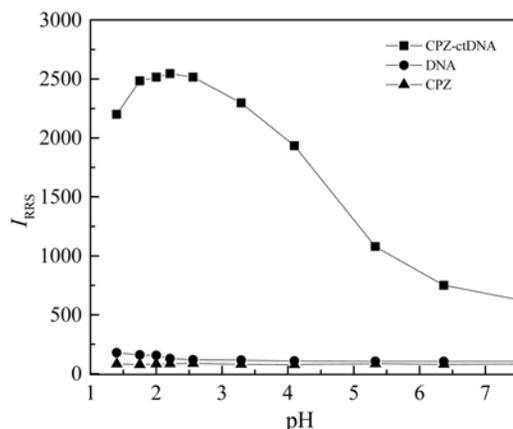


图 3 溶液酸度的影响

CPZ: $2.6 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ctDNA: $4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

2.2.2 CPZ 浓度的影响

试验了不同 CPZ 浓度对 RRS 强度的影响, 结果如图 4. 由图可见, CPZ 浓度较低时, 由于与 DNA 反应不完全, RRS 强度较低, 随着 CPZ 浓度的增大, ΔI_{RRS} 逐渐增大, 但当 CPZ 浓度超过一定范围时, 散射强度又降低. 对于不同核酸, 适宜的 CPZ 浓度范围分别是 $(2.3 \sim 3.0) \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (ctDNA), $(2.3 \sim 2.8) \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (hDNA 和 sDNA), 实验选用 $2.6 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Mel'nikov 等^[21]曾报道, CTAB 等阳离子表面活性剂可以诱导 T₄ DNA 分子构象发生转变, 当 CTAB 浓度小于 $9.4 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 核酸以伸长的线团状 (extended

coil state)存在, 而当CTAB浓度大于 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 核酸则全部转变为紧密的小球状(compact globule state). 本文研究的CPZ与核酸的作用类似于阳离子表面活性剂(CS)与核酸的作用, CPZ的吩噻嗪环平面与CS的疏水基团相似, 支链N原子质子化后可看成CS结构中的季铵盐.

图4反映出与前文报道^[23]十分类似的关系, 当核酸呈伸长线团状时, 随着CPZ的加入, 逐渐形成DNA-CPZ的结合产物, 此时, RRS的强度逐渐增强, 直到DNA全部转变成结合产物. 但是当CPZ浓度进一步增大, 它能诱导DNA构象从伸长线团状变为紧密小球, 则观察到RRS强度又降低. RRS强度的变化正对应了核酸构象的转变. 上述变化趋势与Mel'nikov等^[21, 22]用荧光显微镜和原子力显微镜等直接观察到的结果相一致. 此外, CPZ对不同种类核酸的诱导能力不同, ctDNA, hDNA和sDNA的诱导浓度分别为 3.0×10^{-4} , 2.8×10^{-4} , $2.8 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

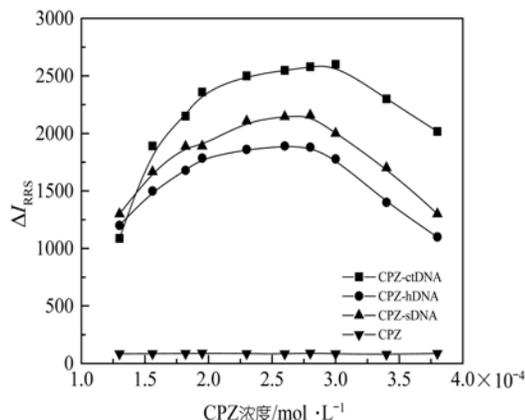


图4 CPZ浓度对RRS强度的影响
ctDNA: $4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; pH 2.0

2.2.3 离子强度的影响

图5显示了离子强度对散射强度的影响. 可见, 强电解质NaCl的加入, 对盐酸氯丙嗪本身的散射强度基本无影响, 但对CPZ-DNA体系的散射强度影响很大, 随着离子强度的增大 I_{RRS} 迅速下降. 这是由于在较高浓度的强电解质存在下, DNA的构象将由B型转变为Z型^[28], 从而影响复合物的形成. 此外, 加入的 Na^+ 以静电力的方式与核酸上带负电荷的磷酸基作用, 削弱了CPZ和核酸的静电引力, 使得 I_{RRS} 降低.

这表明CPZ与核酸的相互作用中静电引力起着重要的作用. 因此, 测定时应避免高浓度电解质的存在.

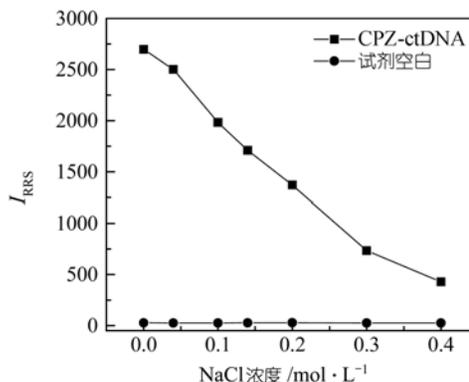


图5 离子强度的影响

CPZ: $2.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ctDNA: $4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; pH 2.0

2.3 药物结构差异对核酸的反应能力的影响

为比较CPZ和PZ与核酸反应的差异, 说明它们与DNA的反应历程, 讨论它们的结合位点和作用方式, 我们结合量子化学计算方法, 首先选取DNA模型中的一段含磷酸的片段, 采用Gaussian 03中的AM1方法对DNA片段, CPZ, PZ, CPZ-DNA, PZ-DNA结合物进行优化, 结果如图6. 然后用密度泛函B3LYP方法, 在6-31G*水平下对优化结构计算单点.

通过计算得出如下结论: (i) CPZ支链N(1)和环上N(2)的电荷分布不同, 分别为-0.26和-0.21; PZ支链N(1)和环上N(2)的电荷分布也不相同, 分别为-0.27和-0.23. 因此在实验条件下, 两者的N(1)更容易质子化而形成季铵盐, 它们与DNA的结合位点也主要集中在N(1). (ii) CPZ-DNA复合物的结合力为静电引力和氢键作用力. 结合物的优化结构显示CPZ与DNA作用时是通过支链季铵盐上的H原子与磷酸基中的两个氧原子作用, 其作用方式为静电引力和氢键作用力. 在CPZ-DNA结合物中, 磷酸基中两个氧原子与季铵盐的H原子的距离为0.1826和0.2269 nm, 这说明它们之间存在较强的相互作用. (iii) 从结合过程来看, CPZ要比PZ容易. 二者与DNA结合时, CPZ是直接结合, 而PZ要先越过一个能垒才能与DNA结合(图7). CPZ的优化结构中季铵盐的H原子呈现裸露结构, 与分子中的其他原子没有相互作用. 但是在PZ中, 季铵盐的H原子与环

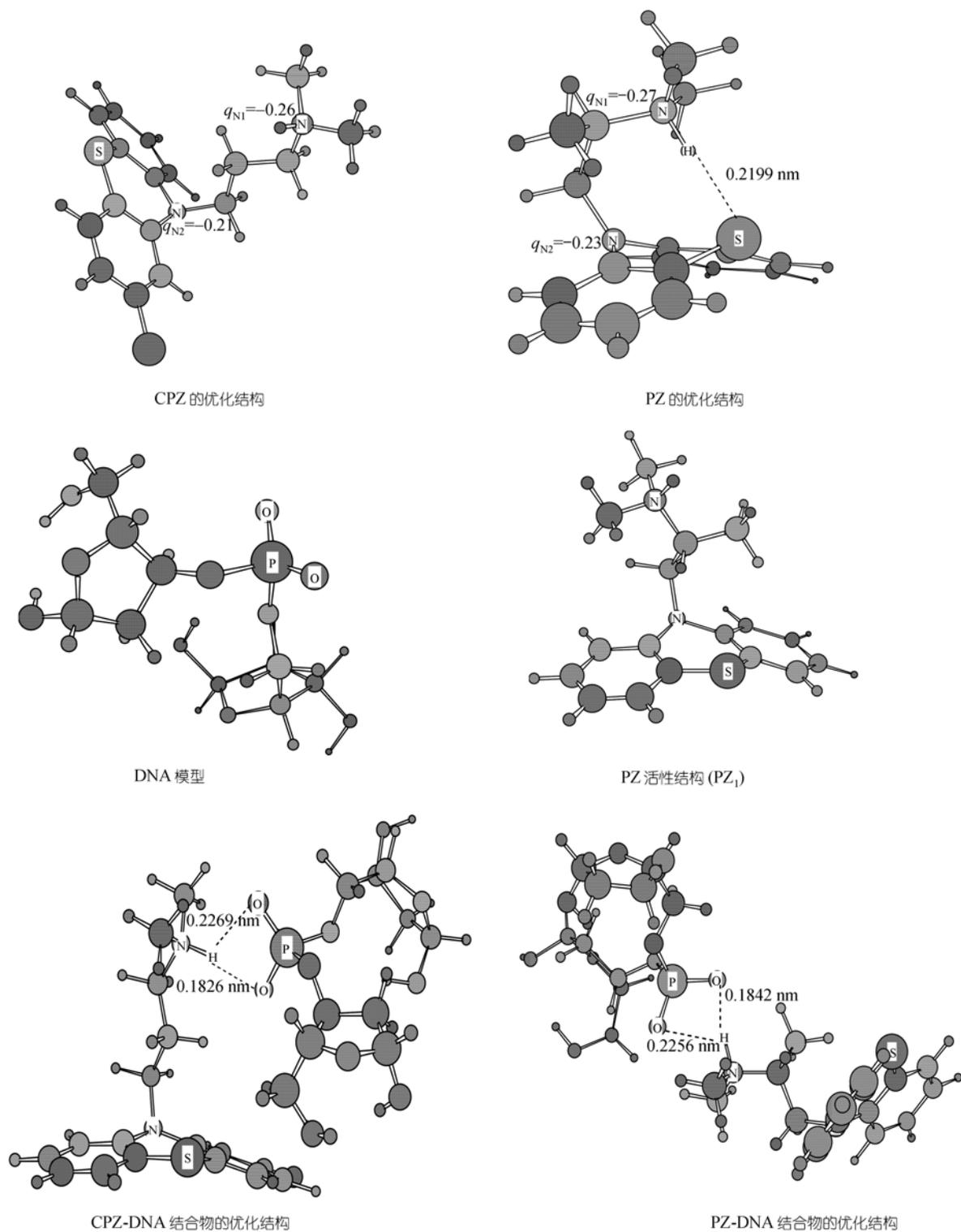


图 6 模型化合物的优化

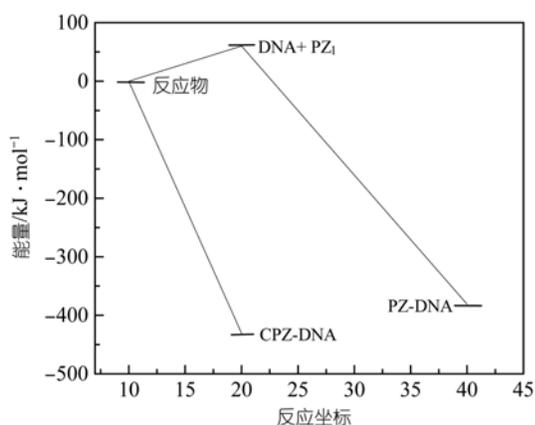


图7 反应的能量关系示意图

上的S原子有一定作用(H, S间距离为0.2199 nm), 因而束缚了异丙嗪与DNA的作用, 这样PZ要与DNA结合必须先进行构象转化到活性结构PZ₁. 在PZ₁中, H原子的环境与CPZ中一样, 但活性结构的能量要比稳定结构能量高31.56 kJ·mol⁻¹. 因此, PZ必须先越过31.56 kJ·mol⁻¹的能垒才能与DNA作用. (iv) CPZ-DNA的稳定性高于PZ-DNA结合物. 结合前后的能量关系图显示, DNA与CPZ结合时可释放

437.05 kJ·mol⁻¹的能量, 而与PZ结合时放出的能量为394.63 kJ·mol⁻¹, 前者比后者多放出42.42 kJ·mol⁻¹的能量, 这表明CPZ-DNA结合物要比PZ-DNA结合物稳定.

量子化学计算结果和异丙嗪与核酸反应微弱的实验事实完全一致.

2.4 CPZ-DNA反应体系的分析应用

2.4.1 散射强度与核酸浓度的关系

在最佳反应条件下, 测定了不同浓度核酸与CPZ形成复合物的 ΔI , 并对相应核酸浓度作线性回归. 标准曲线的回归方程、线性范围、相关系数及方法的检出限(3σ)列于表2中. 方法具有较高的灵敏度, 对不同核酸, 灵敏度依ctDNA, sDNA, hDNA, yRNA顺序递减.

2.4.2 方法的选择性

以CPZ-ctDNA为例, 试验了一些常见金属离子、核苷酸、蛋白质、氨基酸及糖类对核酸测定的影响, 结果列于表3中. 可见, 氨基酸、淀粉、尿素、维生

表2 标准曲线的线性范围、相关系数及检出限

体系	CPZ浓度 / $\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	回归方程 (C: $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相关系数 (r)	线性范围 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	检出限 (3σ)/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
ctDNA	2.6	$\Delta I = 23.6 + 612.2C$	0.9962	0~6.0	8.8
sDNA	2.6	$\Delta I = 31.8 + 528.1C$	0.9975	0~6.0	10.2
hDNA	2.6	$\Delta I = 33.2 + 463.4C$	0.9965	0~6.0	11.6
yRNA	2.6	$\Delta I = -28.8 + 232.2C$	0.9968	0~8.2	23.2

表3 共存物质的影响(含ctDNA 4.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

干扰物质	浓度/ $\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	误差/%	干扰物质	浓度/ $\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	误差/%
Ni ²⁺ , SO ₄ ²⁻	200	-2.7	Cd ²⁺ , Cl ⁻	2	4.3
Ca ²⁺ , Cl ⁻	260	-2.2	Cu ²⁺ , SO ₄ ²⁻	15	4.8
Sn ²⁺ , Cl ⁻	8.4	5.6	Zn ²⁺ , Cl ⁻	40	3.5
Mn ²⁺ , SO ₄ ²⁻	12	3.9	β -CD	80	5.4
Ba ²⁺ , Cl ⁻	78	3.7	ATP	20	4.8
Pb ²⁺ , NO ₃ ⁻	2.5	6.3	ADP	50	4.3
Fe ³⁺ , Cl ⁻	3.6	-3.5	L-组氨酸	800	-5.1
Al ³⁺ , SO ₄ ²⁻	6.2	4.2	α -淀粉酶 ^{a)}	10	4.4
Na ⁺ , PO ₄ ³⁻	55	-5.9	淀粉 ^{a)}	100	-1.9
Na ⁺ , C ₂ O ₄ ²⁻	50	3.3	BSA	15	-2.6
Si ²⁺ , Cl ⁻	95	3.8	葡萄糖	800	-5.0
Cr ³⁺ , SO ₄ ²⁻	5.5	6.5	麦芽糖	800	3.2
Co ²⁺ , Cl ⁻	12	2.0	尿素	500	4.6
Mg ²⁺ , SO ₄ ²⁻	550	-4.2	果糖	550	-5.5
NH ₄ ⁺ , Cl ⁻	50	5.1	维生素C	100	2.7

a) 单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

表 4 合成样品的测定

合成样品/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	共存物质/ $\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	测定值($n=5$)/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率($n=5$)/%	RSD ($n=5$)
CtDNA 2.0	$\text{Al}^{3+}0.62, \text{Fe}^{3+}0.36,$ $\text{Mg}^{2+}55, \text{Cu}^{2+}1.5, \text{Ni}^{2+}20$	2.02	101.0	1.8
CtDNA 2.0	$\text{Ca}^{2+}26, \text{Mn}^{2+}1.2, \text{Co}^{2+}$ $1.2, \text{Cr}^{3+}0.5, \text{NH}_4^+5$	1.97	98.5	2.3
CtDNA 2.0	$\beta\text{-CD} 8, \text{ATP}2, \text{尿素} 50,$ $\text{果糖} 55, \text{维生素 C}10$	2.06	103.0	2.0
CtDNA 2.0	$\text{BSA}^{a)15}, \text{组氨酸} 80, \text{ADP}$ $5, \text{淀粉}^{a)10}, \text{葡萄糖} 80$	2.05	102.5	2.5

a) 单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

素 C 及糖类对本方法测定核酸干扰较小, 而一些易水解的高价金属离子(如 $\text{Fe}^{3+}, \text{Al}^{3+}, \text{Cr}^{3+}, \text{Sn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}$ 等)则影响较大。

2.4.3 分析应用

以 CPZ-ctDNA 为例, 根据表 3 中共存组分干扰允许量合成了四个样品, 测定结果见表 4。可见此方法测定核酸, 准确性高, 重复性好。

参 考 文 献

- 张蓉颖, 庞代文, 蔡汝秀. DNA 与其靶向分子相互作用研究进展. 高等学校化学学报, 1999, 20 (8): 1210~1217
- Hirai H, Natori S, Sekimizu K. Inhibitory action of phospholipid—interacting drugs on transcription initiation in a nuclear extract of Ehrlich ascites tumor cells. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1088 (2): 191~196
- 王汝龙, 原正平主编. 化工产品手册, 药物, 第三版. 北京: 化学工业出版社, 1999. 331, 825
- Kochevar I E, Garciat C, Geacintov N E. Photoaddition to DNA by nonintercalated chlorpromazine molecules. *Photochem. Photobiol.*, 1998, 68 (5): 692~697[DOI]
- Pasternack R F, Bustamante C, Collings P J, et al. Porphyrin assemblies on DNA as studied by a resonance light-scattering technique. *J Am Chem Soc.*, 1993, 115(13): 5393~5399[DOI]
- Pasternack R F, Collings P J. Resonance light scattering: A new technique for studying chromophore aggregation. *Science*, 1995, 269: 935~939
- Liu S P, Liu Z F. Studies on the resonant luminescence spectra of rhodamin dyes and their ion-association complexes. *Spectrochim Acta*, 1995, 51(9): 1497~1500
- Huang C Z, Li K A, Tong S Y. Determination of nanograms of nucleic acids by their enhancement effect on the resonance light scattering of the cobalt(II)/4-[(5-chloro-2-pyridyl)azo]-1, 3-diaminobenzene complex. *Anal Chem*, 1997, 69: 514~520[DOI]
- Ma C Q, Li K A, Tong S Y. Microdetermination of proteins by resonance light scattering spectroscopy with bromophenol blue. *Anal Biochem*, 1996, 239 (1): 86~91[DOI]
- Liu S P, Liu Z F, Luo H Q. Resonance Rayleigh scattering method for the determination of trace amount of cadmium with iodide-rhodamine dye system. *Anal Chim Acta*, 2000, 12, 255~260
- Liu S P, Liu Q. Resonance Rayleigh scattering method for the determination of proteins with some monoazo dyes of chromotropic Acide. *Anal Sci*, 2001, 17(2): 239~242[DOI]
- Liu S P, Luo H Q, Li N B, et al. Resonance Rayleigh scattering study of the interaction of Heparin with some basic diphenyl naphthylmethane dyes. *Anal Chem*, 2001, 26(6): 3907~3914
- Luo H Q, Liu S P, Liu Z F, et al. Resonance Rayleigh scattering spectra for studying the interaction of heparin with some basic phenothiazine dyes and their analytical application. *Anal chim Acta*, 2001, 449(1-2): 267~270
- Li N B, Liu S P, Luo H Q, et al. Frequency Doubling scattering and second-ordering technology as novel methods for the determination of the inclusion constant of β -cyclodextrin. *Anal Chim Acta*, 2002, 472: 89~98[DOI]
- Jiang Z L, Liu S P, Chen S. A study of the Resonance nonlinear scattering of silver atomic cluster. *Spectrochim Acta Part A*, 2002, 58 (14): 3121~3126
- Liu S P, Zhang Z Y, Luo H Q, et al. Resonance Rayleigh scattering method for the determination of vitamin B₁ with methyl orange. *Anal Sci*, 2002, 18 (9): 971~978[DOI]
- Li N B, Luo H Q, Liu S P. Resonance Rayleigh scattering technology as a new method for the determination of the inclusion constant of β -cyclodextrin. *Spectrochim Acta Part A*, 2002, 58: 501~507
- Liu S P, Hu X L, Li N B, et al. Resonance Rayleigh scattering method for the determination of aminoglycoside antibiotics with trypan blue. *Anal Lett*, 2003, 36 (13): 2805~2821[DOI]
- 刘绍璞, 范莉, 胡小莉, 等. 某些氨基酸染料与蛋白质相互作用

- 用的共振瑞利散射光谱研究. 化学学报, 2004, 62(17): 1635~1640
- 20 汪尔康主编. 分析化学新进展. 北京: 科学出版社, 2002. 280~288
- 21 Mel'nikov S M, Sergeyev V G, Yoshikawa K. Discrete coil-globule transition of large DNA induced by cationic surfactant. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 2401~2408[DOI]
- 22 Mel'nikov S M, Sergeyev V G, Yoshikawa K. Transition of double-stranded DNA chains between random coil and compact globule states induced by cooperative binding of cationic surfactant. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 9951~9956[DOI]
- 23 刘绍璞, 胡小莉, 罗红群, 等. 阳离子表面活性剂与核酸反应的共振 Rayleigh 散射光谱特性及其分析应用. 中国科学, B辑, 2002, 32(1): 18~26[摘要][PDF]
- 24 曹 瑛, 李一峻, 高 志, 等. EB 探针研究吩噻嗪类药物与 DNA 的作用. 药化学报, 1999, 34(4): 276~279
- 25 Dewar M J S, Zorbisch E G, Healy E F, et al. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J Am Chem Soc*, 1985, 107 (13): 3902~3909[DOI]
- 26 Becke A D. Density- functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys*, 1993, 98 (7): 5648~5652[DOI]
- 27 Li Z P, Li K A, Tong S Y. Determination of nucleic acids in acidic medium by enhanced light scattering of large particles. *Talanta*, 2000, 51: 63~70[DOI]
- 28 Sheardy R D, Winkel S A. Temperature-dependent CD and NMR studies on a synthetic oligonucleotide containing a B-Z junction at high salt. *Biochemistry*, 1989, 28 (2): 720~725[DOI]