

异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷 与玉米醇溶蛋白的结合特性和稳定性

廉 笛, 崔晶晶, 李 媛, 杜雨桐, 王苏青, 王梅姿, 李 丽

(长春师范大学 化学学院, 长春 130032)

摘要: 利用光谱分析和计算机模拟方法研究异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷两种黄酮类化合物的成分、与玉米醇溶蛋白(Zein)的结合行为以及两种黄酮-Zein体系的稳定性,并揭示两种黄酮与Zein的最佳结合模式、结合位点及形成复合物体系的稳定性。实验结果表明,两种黄酮均通过氢键和范德华力与Zein结合,导致蛋白固有荧光发生静态猝灭,从而改变蛋白二级结构。

关键词: 玉米醇溶蛋白; 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷; 异鼠李素-3-O-芸香糖苷; 多光谱分析; 计算机模拟

中图分类号: O641.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-5489(2025)02-0629-09

Binding Characteristics and Stability of Zein with Isorhamnetin-3-O-glucoside and Isorhamnetin-3-O-rutinoside

LIAN Di, CUI Jingjing, LI Yuan, DU Yutong, WANG Suqing, WANG Meizi, LI Li

(College of Chemistry, Changchun Normal University, Changchun 130032, China)

Abstract: We studied the composition of two flavonoids, isorhamnetin-3-O-glucoside and isorhamnetin-3-O-rutinoside, their binding behavior with Zein, and the stability of two flavonoid-Zein systems by using spectral analysis and computer simulation method, and revealed the optimal binding mode, binding site and the stability of the complex system formed by two flavonoids and Zein. The experimental results show that two flavonoids bind to Zein through hydrogen bond and van der Waals forces, leading to static quenching of intrinsic fluorescence of Zein and altering its secondary structure of Zein.

Keywords: Zein; isorhamnetin-3-O-glucoside; isorhamnetin-3-O-rutinoside; multi-spectral analysis; computer simulation

0 引 言

异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷是以异鼠李素为母核的黄酮类成分。二者结构相似(图 1),且具有相似的生物活性,如抗氧化和治疗糖尿病等^[1-2]。由于黄酮类成分难溶于水,在胃肠道条件下不稳定,因此其生物利用度较低^[3]。文献[4-5]研究表明,玉米醇溶蛋白(Zein)可作为疏水性黄酮类成分的载体,进而提高其水溶性及生物利用度。Zein 的等电点为 $\text{pH}=6.2$ ^[6]。近年来,随着

收稿日期: 2024-03-22. 网络首发日期: 2024-11-21.

第一作者简介: 廉 笛(2001—),女,汉族,硕士研究生,从事分析化学的研究, E-mail: 995016155@qq.com. 通信作者简介: 李 丽(1969—),女,汉族,博士,教授,从事分析化学的研究, E-mail: lilchem@163.com.

基金项目: 吉林省科技厅国际合作项目(批准号: 20210402049GH)和长春师范大学研究生创新项目(批准号: YJSCX2024026).

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/22.340.O.20241102>.

Zein 在药物载体上的广泛应用,对 Zein 与其包埋的小分子药物的相互作用研究已引起人们广泛关注.多种光谱分析^[7]在研究药物小分子与蛋白相互作用中应用广泛,可从各角度揭示小分子与蛋白结合前后的蛋白二级结构变化^[8].此外,计算机模拟技术可更好地分析小分子与蛋白间的最佳结合模式、结合位点、结合作用力及复合物体系的稳定性^[9].本文通过多光谱分析法研究异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷两种黄酮与 Zein 之间的结合特征,利用计算机模拟技术分析两种黄酮与 Zein 的最佳结合模式、结合位点及形成复合物体系的稳定性.

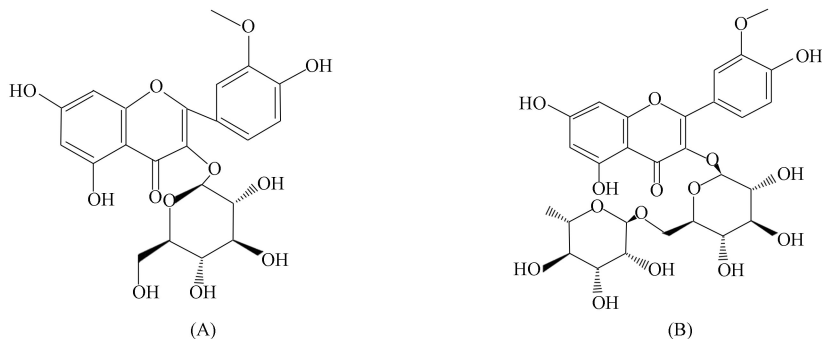


图 1 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的结构

Fig. 1 Structure of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

1 实验

1.1 试剂

异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(HPLC>98%, CAS 号: 5041-82-7), 异鼠李素-3-O-芸香糖苷(HPLC>98%, CAS 号: 604-80-8), Zein 购于宝鸡辰光生物科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 荧光光谱、紫外光谱和红外光谱

分别用两种黄酮(0~25.01 $\mu\text{mol/L}$)滴定 Zein 的乙醇溶液(10 $\mu\text{mol/L}$). 在温度为 298, 304, 310 K, 缝隙宽度为 5 nm、波长为 290~420 nm、激发波长为 280 nm 下用荧光光谱仪(F-7000 型, 日本岛津公司)测定荧光光谱. 在 298 K, $\Delta\lambda=15$ nm 条件下测定同步荧光光谱. 在 298 K, 发射波长为 280~380 nm、激发波长为 210~350 nm、增量为 2 nm 条件下测定 3D 荧光光谱.

分别用两种黄酮(0~25.01 $\mu\text{mol/L}$)滴定 Zein 的乙醇溶液(10 $\mu\text{mol/L}$), 相应浓度黄酮为空白. 在温度为 298 K, 200~350 nm 波长和 1 nm 间隙用紫外-可见分光光度计(Cary 300 型, 美国安捷伦公司)检测紫外光谱.

Zein 浓度为 10.0 $\mu\text{mol/L}$, 两种黄酮和 Zein 的物质的量比为 1:2. 将样品于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥. 以 KBr 为检测背景, 波数为 4 000~500 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} , 扫描 32 次, 用 Fourier 变换红外光谱仪(Nicolet IS-50 型, 美国 Thermo 公司)扫描得到样品的 Fourier 变换红外(FT-IR)光谱. 利用 Peakfit V4.12 计算二级结构变化.

1.2.2 计算机模拟

采用(<https://zhanggroup.org/I-TASSER/registration.html>)同源建模, 并用 Ramachandran 和 NMR/X-ray 检验模型的合理性. 通过 Pymol 软件消除 Zein 的结合配体和结晶水. 利用 Chem 3D ultra 16.0 优化黄酮分子结构, 通过增加氢原子和计算电荷与 Zein 半柔性对接. 对接盒子尺寸为 6.0 nm \times 6.0 nm \times 6.0 nm, 网格间距为 0.037 5 nm. 通过 AutoGrid 获得网格图能量值, 通过 Lamarck 遗传算法进行计算, 对接次数为 100 次. 模拟动力学(Gromacs 2020.6)以 Amber99sb-ildn 和 Gaff 为 Zein 和黄酮通用力场, 建立 TIP3P 模型水箱, 并添加 Na^+ 平衡体系, 采用宏观正则系综(NVT)和等温等压(NPT)平衡系统. 在温度为 298 K, 100 ns 条件下进行动力学模拟, 并计算均方根偏差(RMSD)和回旋半径(R_g).

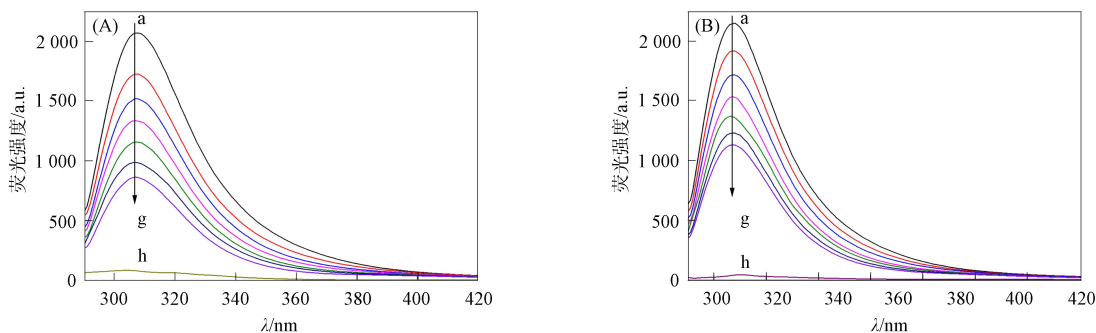
1.3 数据处理

平行实验 3 组, 用 Excel-2016 计算均值和偏差.

2 结果分析与讨论

2.1 荧光猝灭机制分析

异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的荧光光谱如图 2 所示. 由图 2 可见, Zein 的最大荧光峰位于 308 nm 处. 随着两种黄酮的增加, Zein 荧光强度呈下降趋势, 表明两种黄酮均能有效猝灭 Zein 的荧光. 当异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷浓度为 25.01 μmol/L 时, Zein 的荧光强度分别下降了 58.6% 和 42.4%. 此外, Zein 的最大峰值略蓝移, 表明与两种黄酮结合后, Zein 氨基酸微环境疏水性增强.



曲线 a~g 分别为 $c(\text{Zein})=10 \mu\text{mol/L}$, $c(\text{两种黄酮})=0, 4.18, 8.35, 12.52, 16.69, 20.85, 25.01 \mu\text{mol/L}$;
曲线 h 为 $c(\text{两种黄酮})=25.01 \mu\text{mol/L}$.

图 2 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

利用

$$F_{\text{corr}} = F_{\text{obs}} \times 10^{(A_{\text{ex}}+A_{\text{em}})/2} \tag{1}$$

对荧光数据进行校正, 利用

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{\text{sv}}c = 1 + K_q\tau_0c \tag{2}$$

计算 K_{sv} 和 K_q , 其中 F_{corr} 为校正荧光强度, F_{obs} 为测量荧光强度, A_{ex} 和 A_{em} 分别为黄酮样品在激发和发射波长处的紫外吸收值, F_0 和 F 分别为 Zein 蛋白和 Zein-黄酮荧光, K_{sv} 和 K_q 分别为 Stern-Volmer 猝灭常数和猝灭速率常数, $\tau_0 = 10^{-8}$ s 为荧光分子的平均寿命, c 为黄酮浓度.

小分子药物对蛋白的猝灭类型包括动态、静态或混合猝灭类型^[10]. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的 Stern-Volmer 曲线如图 3 所示. 由图 3 可见, 当温度为 298 K 时 Stern-Volmer 曲线为一条直线, 表明两种黄酮对 Zein 的猝灭为单一类型. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的荧光分析结果列于表 1. 由表 1 和图 3 可见, K_{sv} 随温度升高逐渐降低, $K_q > 2 \times 10^{10} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$, 表明 Zein 荧光被静态猝灭.

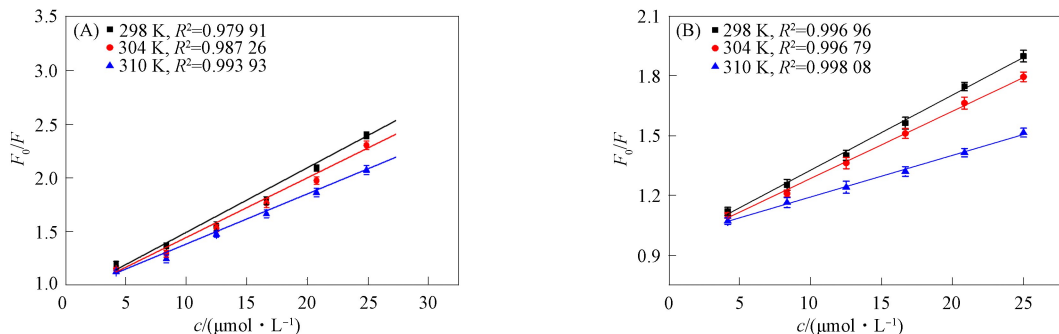


图 3 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的 Stern-Volmer 曲线

Fig. 3 Stern-Volmer curves of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

表 1 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的荧光分析结果

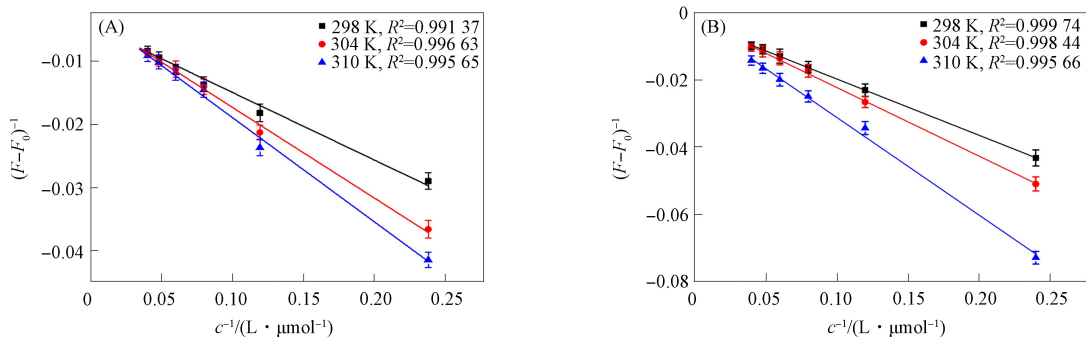
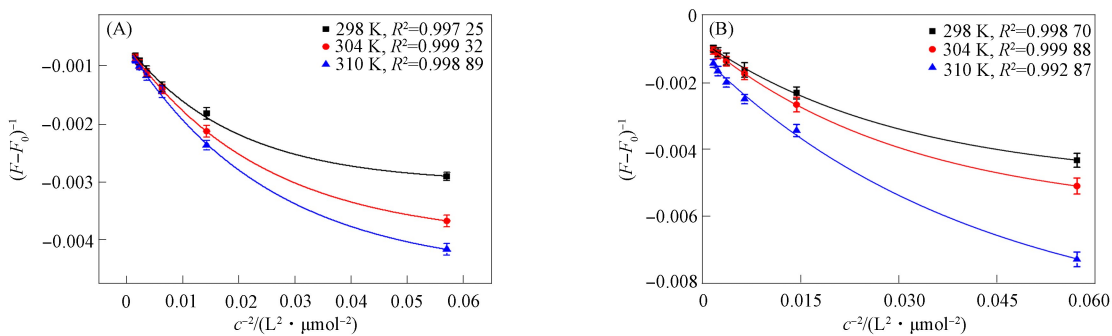
Table 1 Fluorescence analysis results of isorhamnetin-3-O-glucoside and isorhamnetin-3-O-rutinoside

复合物体系	T/K	$10^{-4} \times K_{sv}/$ (L · mol ⁻¹)	$10^{-12} \times K_q/$ (L · (mol · s) ⁻¹)	$10^{-4} \times K_b/$ (L · mol ⁻¹)
Zein-异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	298	5.78 ± 0.04	5.78 ± 0.04	4.85 ± 0.03
	304	5.52 ± 0.06	5.52 ± 0.06	2.11 ± 0.04
	310	4.65 ± 0.01	4.65 ± 0.01	1.20 ± 0.02
Zein-异鼠李素-3-O-芸香糖苷	298	3.79 ± 0.02	3.79 ± 0.02	1.78 ± 0.03
	304	3.42 ± 0.02	3.42 ± 0.02	0.97 ± 0.04
	310	2.09 ± 0.01	2.09 ± 0.01	0.68 ± 0.02

利用

$$\frac{1}{F - F_0} = \frac{1}{F_1 - F_0} + \frac{1}{K_b (F_1 - F_0) c^n} \quad (3)$$

计算结合常数 K_b ^[11]. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的 $(F - F_0)^{-1} - c^{-1}$ 曲线如图 4 所示. 由图 4 可见, c^{-1} 和 $(F - F_0)^{-1}$ 之间线性关系良好. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的 $(F - F_0)^{-1} - c^{-2}$ 曲线如图 5 所示. 由图 5 可见, c^{-2} 和 $(F - F_0)^{-1}$ 之间具有非线性关系, 表明 Zein-两种黄酮的化学计量比为 1 : 1^[12]. Zein-黄酮的结合力随温度升高而显著降低, 说明形成的复合物体系在较低温度下稳定. Zein-异鼠李素-3-O-葡萄糖苷显著高于 Zein-异鼠李素-3-O-芸香糖的结合力.

图 4 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的 $(F - F_0)^{-1} - c^{-1}$ 曲线Fig. 4 $(F - F_0)^{-1} - c^{-1}$ curves of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)图 5 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的 $(F - F_0)^{-1} - c^{-2}$ 曲线Fig. 5 $(F - F_0)^{-1} - c^{-2}$ curves of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

疏水力、静电力、范德华力和氢键力均为小分子和大分子结合的主要作用力^[13]. 利用

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R}, \quad (4)$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (5)$$

计算结合常数(K_b)反应的熵变(ΔS^0)、焓变(ΔH^0)和 Gibbs 自由能变(ΔG^0), 进而推测 Zein 与两种黄酮间的结合力, 计算结果列于表 2. 由 $\Delta G^0 < 0$ 可确定 Zein 与两种黄酮结合为自发的和放热过程. 由 $\Delta H^0 < 0$ 和 $\Delta S^0 < 0$ 可确定两种黄酮主要通过氢键和范德华力与 Zein 结合^[13].

表 2 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的热力学参数

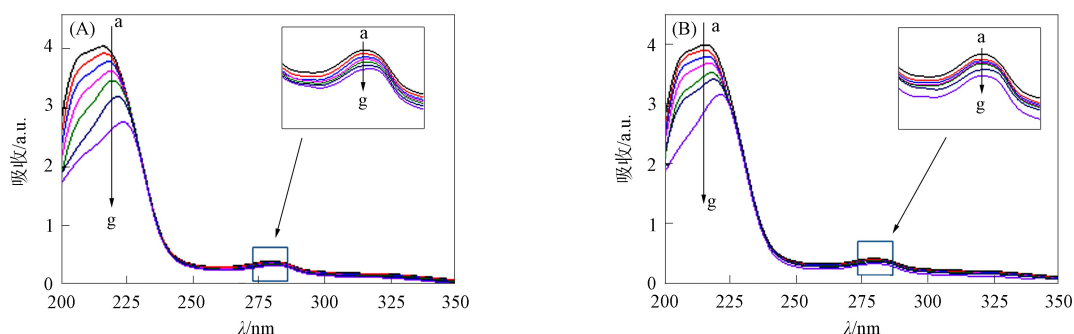
Table 2 Thermodynamic parameters of isorhamnetin-3-O-glucoside and isorhamnetin-3-O-rutinoside

复合物体系	T/K	$\Delta H^0 / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta G^0 / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S^0 / (\text{J} \cdot (\text{mol} \cdot \text{K})^{-1})$
Zein-异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	298	-89.29 ± 0.09	-26.63 ± 0.10	-210.27 ± 0.11
	304		-25.37 ± 0.05	
	310		-24.10 ± 0.04	
Zein-异鼠李素-3-O-芸香糖苷	298	-61.27 ± 0.09	-24.15 ± 0.10	-124.59 ± 0.07
	304		-23.40 ± 0.05	
	310		-22.65 ± 0.04	

2.2 两种黄酮对 Zein 构象的影响

2.2.1 UV 光谱分析

通过紫外(UV)光谱分析可研究蛋白质与配体结合前后的结构变化^[14]. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的紫外光谱如图 6 所示. 由图 6 可见, 在 215, 278 nm 处的紫外吸收峰分别表示 Zein 肽链和 Tyr 特征紫外峰^[14]. 随着样品的不断增加, 位于 215 nm 处的峰强度出现明显降低的趋势, 并伴随明显红移, 位于 278 nm 处的峰强度略减小, 位置无移动. 表明两种黄酮结合导致 Zein 肽链的松动和折叠展开. 两种黄酮与 Zein 结合后, Zein 的紫外光谱发生明显改变, 因此可推测 Zein 被两种黄酮静态猝灭^[15].



曲线 a~g 分别为 $c(\text{Zein}) = 10 \mu\text{mol/L}$, $c(\text{两种黄酮}) = 0, 4, 18, 8, 35, 12, 52, 16, 69, 20, 85, 25, 01 \mu\text{mol/L}$.

图 6 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的紫外光谱

Fig. 6 UV spectra of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

2.2.2 同步和三维光谱分析

通过同步荧光和三维荧光可检测蛋白与小分子配体结合前后的微环境变化^[16]. 由于 Zein 中缺乏色氨酸残基^[17], 因此本文仅研究两种黄酮对 Zein 中酪氨酸残基周围微环境的影响, 固定 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$. 利用

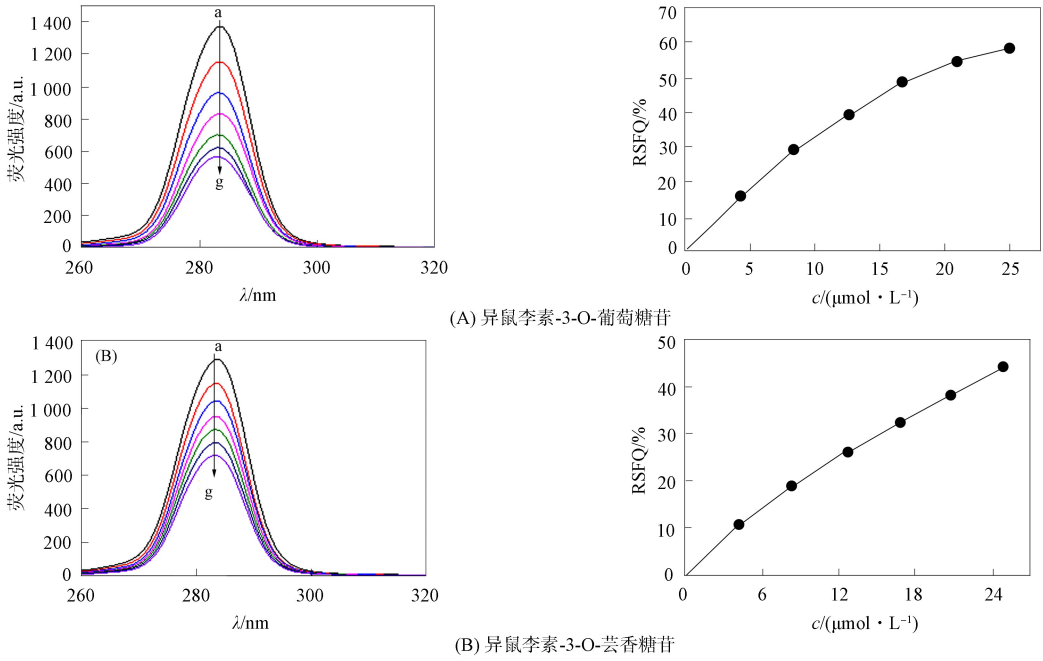
$$\text{RSFQ} = 1 - F/F_0 \quad (6)$$

计算同步荧光猝灭比(RSFQ)值.

异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的同步荧光光谱和三维荧光光谱分别如图 7 和图 8 所示. 由图 7 可见, 随着两种黄酮浓度的增加, 在 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 处的荧光强度有规律下降, 表明两种黄酮通过与 Tyr 的结合与 Zein 发生作用. 在 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 处的峰略蓝移, 表明两种黄酮导致 Tyr 周围的疏水性略增强^[16]. 图 8 中峰 a、峰 1 和峰 2 分别表示 Rayleigh 散射峰、Tyr 和多肽骨架的荧光特征^[18]. 由图 8 可见: 两种黄酮与 Zein 结合后, 峰 1 的荧光强度显著下降, 并略蓝移, 表明两种黄酮结合可通过改变 Zein 的 Tyr 附近微环境疏水性而导致构象变化; 峰 2 的荧光强度降低并略蓝移, 表明 Zein 的多肽骨架的构象发生了变化; 峰 1 和峰 2 强度降低, 表明两种黄酮与 Zein 结合导致多肽链的解折叠和构象改变^[18].

2.2.3 FT-IR 分析

Zein、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的 FT-IR 谱如图 9 所示. 由碳氧双键延伸、C—N 延伸和 N—H 弯曲振动触发的酰胺 I, II 和 III 带是用于研究蛋白质构象的 3 个最常见的 FT-IR 谱带^[19]. 与酰胺 II 和 III 相比, 由于酰胺 I 反映了 Zein 二级结构的重要特征^[19], 因此其在研究蛋白质二级结构变化方面更重要. 利用酰胺 I 带拟合并计算 Zein 的二级结构变化, 结果列于表 3. 由表 3 可见, 当 Zein 与异鼠李素-3-O-葡萄糖苷的物质的量比为 1 : 2 时, Zein 的 α -螺旋从 20.7% 增加



曲线 a~g 分别为 $c(\text{Zein})=10 \mu\text{mol/L}$, $c(\text{两种黄酮})=0, 4, 18, 8, 35, 12, 52, 16, 69, 20, 85, 25, 01 \mu\text{mol/L}$.

图 7 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的同步荧光光谱

Fig. 7 Synchronous fluorescence spectra of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

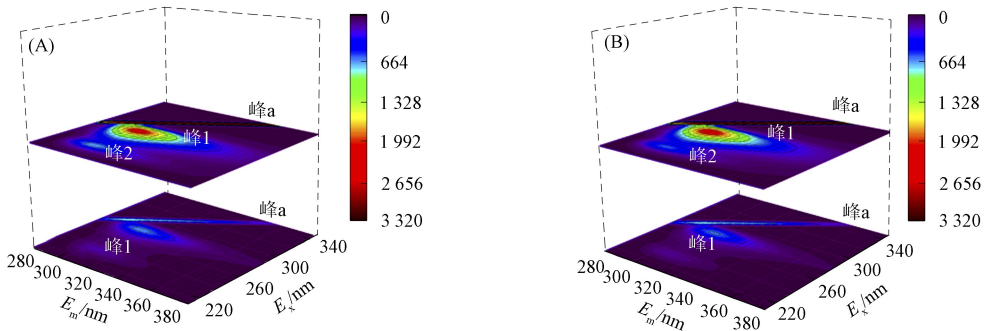


图 8 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(B)的三维光谱

Fig. 8 Three dimensional spectra of isorhamnetin-3-O-glucoside (A) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (B)

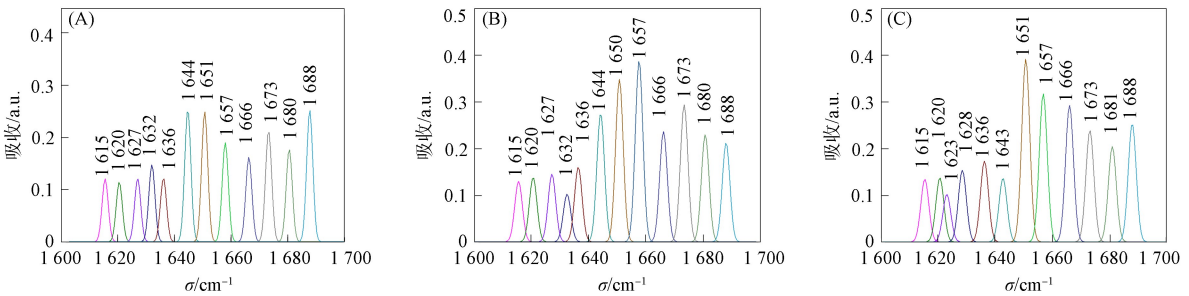


图 9 Zein(A)、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(B)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷(C)的 FT-IR 光谱

Fig. 9 FT-IR spectra of Zein (A), isorhamnetin-3-O-glucoside (B) and isorhamnetin-3-O-rutinoside (C)

到 28.6%, β -折叠从 29.5%减小到 26.1%, β -转角从 17.7%增加到 20.5%, β -反向平行和无规则卷曲分别从 20.2%和 11.9%减少到 17.1%和 7.6%。当 Zein 与异鼠李素-3-O-芸香糖苷的物质的量比为 1:2 时, Zein 的 α -螺旋从 20.7%增加到 32.7%, β -折叠从 29.5%增加到 32.2%, β -转角从 17.7%降低到 13.5%, β -反向平行和无规卷曲分别从 20.2%和 11.9%减少到 15.3%和 6.3%。因此,黄酮与 Zein 结合导致 α -螺旋发生改变。

表 3 玉米醇溶蛋白二级结构变化
Table 3 The secondary structure change of Zein

Zein 和复合物体系	α -螺旋/%	β -折叠/%	β 转角/%	β -反向平行/%	无规则卷曲/%
Zein	20.70±0.02	29.50±0.06	17.70±0.04	20.20±0.03	11.90±0.07
Zein-异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(1:2)	28.60±0.09	26.10±0.04	20.50±0.07	17.10±0.03	7.60±0.02
Zein-异鼠李素-3-O-芸香糖苷(1:2)	32.70±0.07	32.20±0.04	13.50±0.03	15.30±0.06	6.30±0.06

2.3 计算机模拟分析

2.3.1 分子对接

Ramachandran 分析结果如图 10 所示. 由图 10 可见, 60.1% 的氨基酸残基位于最优区域, 30.6% 的残基位于允许区域, 7.7% 的残基位于通常允许区域, 1.6% 的残基位于不允许区域, 表明同源模型可用于对接. 用 NMR/X-ray 评分可辅助检查 Zein 的模型准确性(图 10(B)), 由 Z 评分为 -3.28 进一步表明, 通过同源性建模建立的 Zein 模型适用于对接. 通过分子对接可预测受体与配体的结合部位、结合部位周围的氨基酸残基以及结合力^[20].

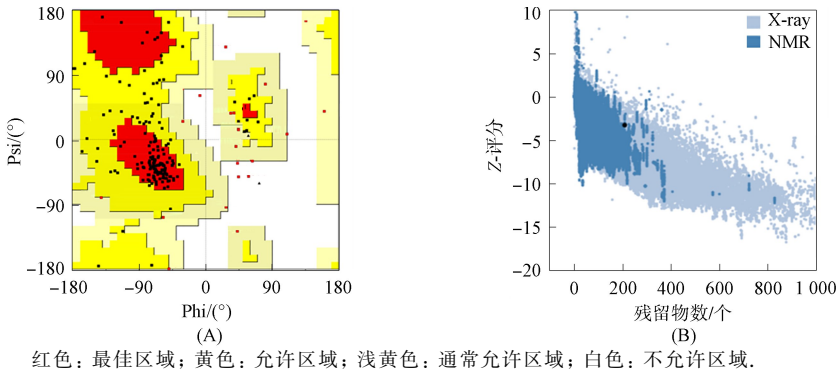


图 10 Zein 模型的 Ramachandran 图(A)和 ProSA-Web 图(B)

Fig. 10 Ramachandran diagram (A) and ProSA-Web diagram (B) of Zein models

根据构象最多和能量最低, 选择黄酮-Zein 为最佳结合模式, 结果如图 11 所示. 由图 11 可见, 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和 Zein 的 $\Delta G_{binding}$ (-25.83 kJ/mol) 略高于 298 K 下通过荧光分析计算的 ΔG 值

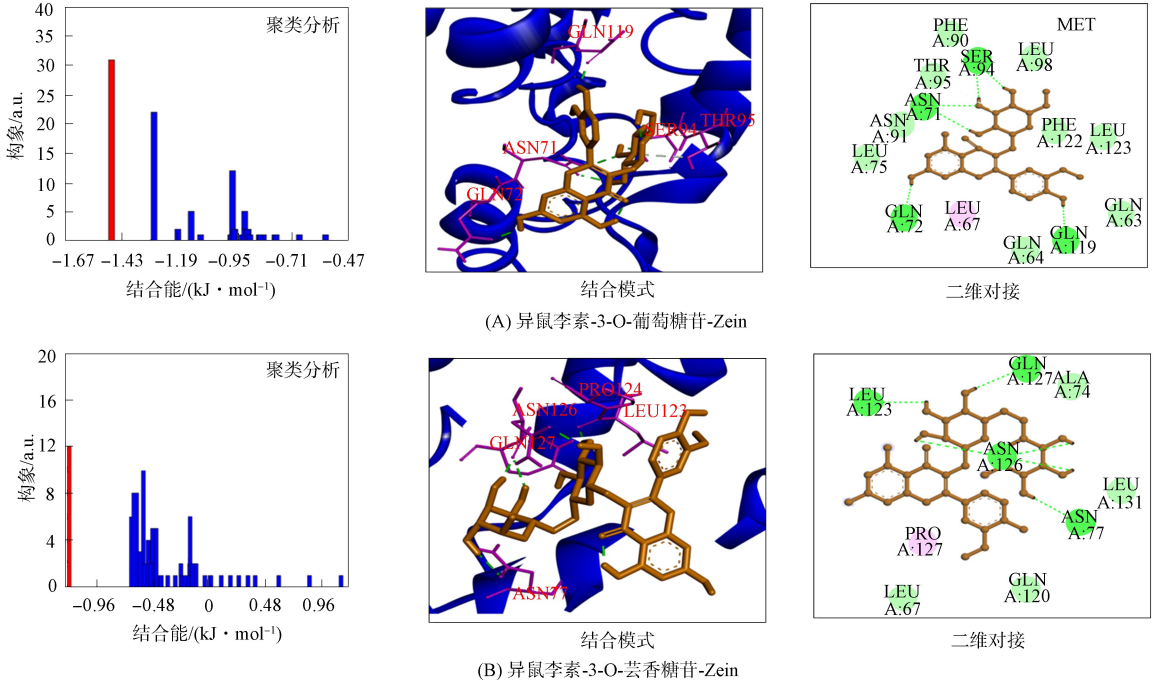


图 11 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷-Zein(A)和异鼠李素-3-O-芸香糖苷-Zein(B)的最佳对接模式

Fig. 11 Best docking mode of isorhamnetin-3-O-glucoside-Zein (A) and isorhamnetin-3-O-rutinside-Zein (B)

(-26.63 kJ/mol), 异鼠李素-3-O-芸香糖苷和 Zein 的 $\Delta G_{\text{binding}}$ (-20.86 kJ/mol) 高于 298 K 下通过荧光分析计算的 ΔG 值 (-24.14 kJ/mol), 这可能是由于理论对接与实际实验条件不同所致. 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷分别与 GLN72(0.188 nm), GLN119(0.191 nm), SER94(0.196, 0.221 nm), ASN71(0.219, 0.229 nm) 和 THR95(0.321 nm) 形成 7 个氢键; 异鼠李素-3-O-芸香糖苷分别与 ASN126(0.165, 0.196, 0.208 nm), ASN77(0.212 nm), GLN127(0.223 nm) 和 LEU123(0.194 nm) 形成 6 个氢键. 由异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 $|\Delta E_2|$ (39.67 kJ/mol) 远大于 $|\Delta E_3|$ (1.13 kJ/mol) 和异鼠李素-3-O-芸香糖苷 $|\Delta E_2|$ (39.75 kJ/mol) 远大于 $|\Delta E_3|$ (1.09 kJ/mol) 可确定两种复合物主要通过氢键和范德华力形成^[20].

2.3.2 分子动力学模拟分析

图 12 为异鼠李素-3-O-葡萄糖苷-Zein 和异鼠李素-3-O-芸香糖苷-Zein 的 RMSD 图和 R_g 图. RMSD 是评价两种黄酮-Zein 复合物稳定性的重要依据^[21]. 由图 12(A) 可见, 两种黄酮-Zein 复合物的 RMSD 值在 20 ns 前一直增加, 40 ns 后趋于平稳, 复合物 RMSD 值比 Zein 的 RMSD 值更低, 表明两种黄酮-Zein 复合物体系更稳定. R_g 用于确定蛋白结构紧凑程度^[21]. 由图 12(B) 可见, 在 20 ns 后, 两种黄酮-Zein 复合物低于 Zein 的 R_g 值, 表明 Zein 与两种黄酮结合后的结构更紧密^[21].

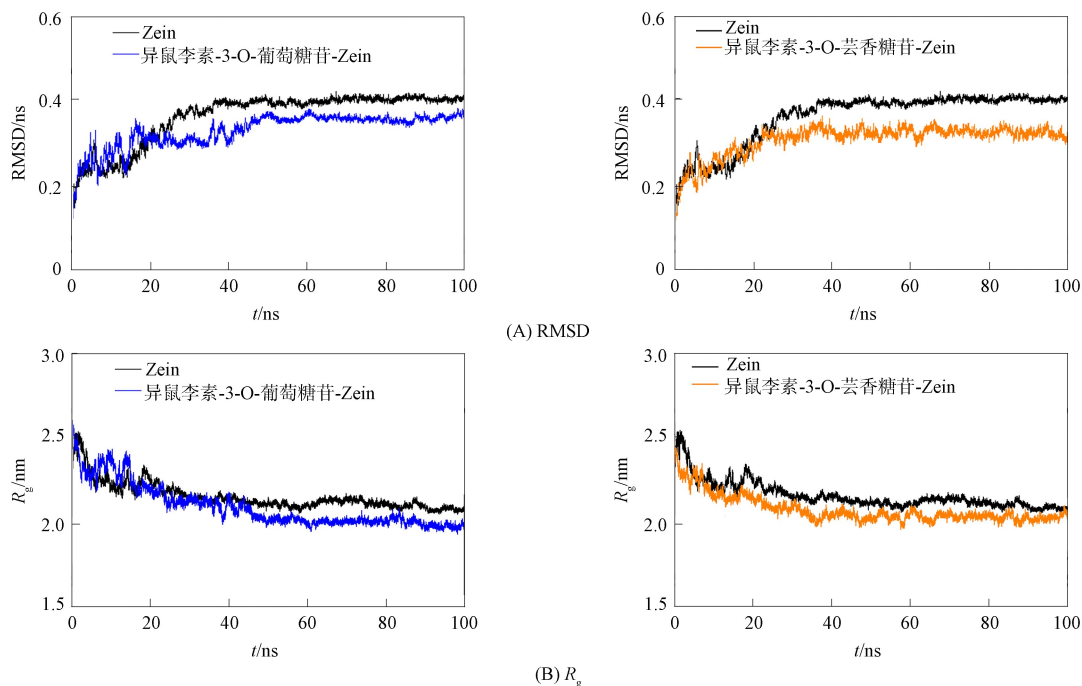


图 12 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷-Zein 和异鼠李素-3-O-芸香糖苷-Zein 的 RMSD 图(A)和 R_g 图(B)

Fig. 12 RMSD images (A) and R_g images (B) of isorhamnetin-3-O-glucoside-Zein and isorhamnetin-3-O-rutinoside-Zein

综上所述, 两种黄酮以异鼠李素为母核, 结构相似, 在与 Zein 结合过程中表现出相似的行为. 两种黄酮通过氢键和范德华力与 Zein 蛋白结合形成复合物, 导致 Zein 的荧光被静态猝灭, 其二级结构发生改变. 在相同温度下, Zein-异鼠李素-3-O-葡萄糖苷大于与 Zein-异鼠李素-3-O-芸香糖苷的结合力. 通过计算机模拟揭示了两种黄酮与 Zein 的最佳结合模式、结合位点及两种黄酮-Zein 复合物体系的稳定性. 本文研究结果为进一步探讨疏水性黄酮与 Zein 的相互作用提供了实验依据.

参 考 文 献

- [1] LIAO Q, CHEN Z Y, TAO Y L, et al. An Integrated Method for Optimized Identification of Effective Natural Inhibitors against SARS-CoV-2 3CLpro [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 22796-1-22796-12.
- [2] 朱敏, 赵丽敏, 王培, 等. 异鼠李素抑制卵清蛋白诱导的哮喘小鼠肺部炎症 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(1): 106-111. (ZHU M, ZHAO L M, WANG P, et al. Isorhamnetin Inhibits Ovalbumin-Induced Pulmonary Inflammation in Asthmatic Mice [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2021, 37(1): 106-111.)
- [3] ZHANG Q F, FU Y J, HUANG Z W, et al. Aqueous Stability of Astilbin: Effects of pH, Temperature, and

- Solvent [J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(49): 12085-12091.
- [4] TSUCHIYA H. Structure-Dependent Membrane Interaction of Flavonoids Associated with Their Bioactivity [J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(4): 1089-1096.
- [5] TSAI Y H, YANG Y N, HO Y C, et al. Drug Release and Antioxidant/Antibacterial Activities of Silymarin-Zein Nanoparticle/Bacterial Cellulose Nanofiber Composite Films [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 180(1): 286-296.
- [6] 刘钱媛. 负载紫檀芪的玉米醇溶蛋白-褐藻糖胶纳米颗粒制备及生物活性研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2022. (LIU Q Y. Preparation and Biological Activity of Zein-Fucoidan Nanoparticles Loaded with Pterostilbene [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.)
- [7] 王伟, 崔妍, 郑明珠, 等. 刺激响应型玉米醇溶蛋白基纳米颗粒的制备及其应用研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2023, 45(10): 353-363. (WANG W, CUI Y, ZHENG M Z, et al. Progress in Preparation and Application of Stimulus-Responsive Zein Based Nanoparticles [J]. *Science and Technology of Food Industry Technology*, 2023, 45(10): 353-363.)
- [8] 蒋雨心, 范方宇, 陈成, 等. 玉米醇溶蛋白/鱼腥草黄酮复合纳米颗粒的制备及胃肠道释放特性 [J]. *精细化工*, 2023, 41(6): 1345-1361. (JIANG Y X, FAN F Y, CHEN C, et al. Preparation and Gastrointestinal Release Characteristics of Zein/*Houttuynia cordata* Flavonoids Composite Nanoparticles [J]. *Fine Chemicals*, 2023, 41(6): 1345-1361.)
- [9] 王光辰. 静电纺丝制备季铵盐壳聚糖/玉米蛋白/热塑性聚氨酯双层膜及其性能研究 [D]. 长春: 长春工业大学, 2023. (WANG G C. Preparation of Quaternary Ammonium Chitosan/Zein/Thermoplastic Polyurethane Bilayer by Electrospinning and Its Properties [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2023.)
- [10] 潘俊坤, 焦中高, 张强. 二氢槲皮素抑制 α -葡萄糖苷酶的机理研究 [J]. *中国食物与营养*, 2024, 45(10): 353-363. (PAN J K, JIAO Z G, ZHANG Q. Study on the Mechanism of α -Glucosidase Inhibition by Dihydroquercetin [J]. *Chinese Journal of Food and Nutrition*, 2024, 45(10): 353-363.)
- [11] ZHOU K L, PAN D Q, LOU Y Y, et al. Intermolecular Interaction of Fosinopril with Bovine Serum Albumin (BSA): The Multi-spectroscopic and Computational Investigation [J]. *Journal of Molecular Recognition*, 2018, 31(8): e2716-1-e2716-10.
- [12] ZENG H J, LIU Z, HU G Z, et al. Investigation on the Binding of Aloe-Emodin with Tyrosinase by Spectral Analysis and Molecular Docking [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 211(20): 79-85.
- [13] WANG J, CHAN C, HUANG F W, et al. Interaction Mechanism of Pepsin with a Natural Inhibitor Gastrodin Studied by Spectroscopic Methods and Molecular Docking [J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2016, 26(2): 405-413.
- [14] WANG B L, KOU S B, LIN Z Y, et al. Insights on the Interaction Mechanism of Brigatinib to Human α -1-Acid Glycoprotein: Experimental and Computational Approaches [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 157(32): 340-349.
- [15] XU J H, HAO M H, SUN Q F, et al. Comparative Studies of Interaction of β -Lactoglobulin with Three Polyphenols [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 136(64): 804-812.
- [16] SHI P H, ZHANG Y, LI Y H, et al. Probing the Interaction of l-Captopril with Metallo- β -lactamase CcrA by Fluorescence Spectra and Molecular Dynamic Simulation [J]. *Luminescence*, 2018, 33(5): 954-961.
- [17] YUE Y K, GENG S, SHI Y, et al. Interaction Mechanism of Flavonoids and Zein in Ethanol-Water Solution Based on 3D-QSAR and Spectrofluorimetry [J]. *Food Chemistry*, 2019, 276(54): 776-781.
- [18] 皮静雯. 负载黄芩素的玉米醇溶蛋白-香菇菌丝体多糖复合纳米颗粒的构建、稳定性及抗肿瘤活性研究 [D]. 沈阳: 辽宁大学, 2022. (PI J W. Construction, Stability and Anti-tumor Activity of Baicalein-Loaded Zein and *Lentinan mycelium* Polysaccharide Composite Nanoparticles [D]. Shenyang: Liaoning University, 2022.)
- [19] POURESHGHI F, GHANFOROUSHAN P, SAFARNEJAD A, et al. Interaction of an Antiepileptic Drug, Lamotrigine with Human Serum Albumin (HSA): Application of Spectroscopic Techniques and Molecular Modeling Methods [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 166(4): 187-192.
- [20] LIU X J, LU H, SUN J X, et al. Metabolic Behavior Prediction of Pazopanib by Cytochrome P450 (CYP) 3A4 by Molecular Docking [J]. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2015, 41(4): 465-468.
- [21] SHARMA P, JOSHI T, JOSHI T, et al. Molecular Dynamics Simulation for Screening Phytochemicals as α -Amylase Inhibitors from Medicinal Plants [J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2020, 39(17): 6524-6538.