

# 芦丁与溶菌酶相互作用的光谱研究

崔力剑<sup>1</sup>, 渠玲玲<sup>2</sup>, 杨文月<sup>2</sup>, 窦玉红<sup>1</sup>, 焦宁<sup>4</sup>, 黄芸<sup>2, 3</sup>

(1. 河北中医学院药学院, 河北石家庄 050091) (2. 河北医科大学药学院, 河北石家庄 050017)

(3. 河北医科大学中西医结合研究所, 河北石家庄 050017)

(4. 河北医科大学第三医院药剂科, 河北石家庄 050051)

**摘要:** 在模拟人体生理 pH 条件下, 采用荧光光谱法和紫外-可见光谱法研究不同温度下 (298 K、304 K 和 310 K) 芦丁与溶菌酶相互作用的光谱特征, 明确了芦丁对溶菌酶荧光猝灭的机理, 确定了二者作用间结合位点及结合常数, 测定了芦丁对溶菌酶活性的影响趋势。结果表明芦丁能与溶菌酶发生弱相互作用, 该作用是由焓驱动的低温自发反应过程, 芦丁通过静态猝灭机制使溶菌酶内源荧光产生猝灭。两者结合位点数接近于 1, 结合驱动力为氢键或范德华力, 298 K 时结合距离为 4.02 nm。紫外吸收、同步荧光和三维荧光光谱均表明芦丁导致溶菌酶构象变得更加紧密。采用比浊法测定溶菌酶活性结果表明, 芦丁可能影响溶菌酶活性位点 Asp-52 所处微环境极性, 不利于 Asp-52 发挥氢键受体的催化作用, 使溶菌酶溶菌活性降低。

**关键词:** 芦丁; 溶菌酶; 静态猝灭; 构象; 结合常数; 活性

文章编号: 1673-9078(2014)6-30-35

## Spectroscopic Studies on the Interaction of Rutin and Lysozyme

CUI Li-jian<sup>1</sup>, QU Ling-ling<sup>2</sup>, YANG Wen-yue<sup>2</sup>, DOU Yu-hong<sup>1</sup>, JIAO Ning<sup>4</sup>, HUANG Yun<sup>2,3</sup>

(1. Pharmaceutical College, Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China)

(2. Pharmaceutical College, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China) (3. Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China) (4. Pharmacy Department, The Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China)

**Abstract:** The interaction of rutin with lysozyme (LYZ) was studied in simulating physiological condition (pH 7.40) at 298 K, 304 K and 310 K by ultraviolet-vis (UV) absorption and fluorescence spectroscopy. The results showed that rutin quenched the endogenous fluorescence of LYZ via a static quenching procedure and the interaction between them was a spontaneous process. The number of binding sites was approximately 1. Van der Waals' forces and hydrogen bonds played major roles in stabilizing rutin-LYZ complex, and the distance between the donor and acceptor was 4.02 nm (298 K). The UV absorption, synchronous fluorescence and three-dimensional fluorescence spectra showed that the conformation of LYZ became more tightly packed. The turbidimetric analysis showed that rutin decreased LYZ activity. Rutin may be bad for the hydrogen-bonding receptor catalysis activity of Asp-52 by affecting the micro-environment of lysozyme activity site (Asp-52).

**Key words:** rutin; lysozyme; static quenching; conformation; binding constant; activity

芦丁 (Rutin) 又名芸香苷, 是黄酮醇类化合物, 广泛分布于芸香科、石楠科、蓼科、豆科等科属中, 如红小豆、山楂、菊花、荞麦、芦笋、槐花等药食两用食材, 其中槐米中芦丁含量高达 15% 以上。芦丁分子具有多羟基、分子极性较大、水溶性较好的特点决定其具有多种生物活性, 现在对其研究主要集中在抗

收稿日期: 2014-01-02

基金项目: 河北省自然科学基金 (08B033); 河北省卫生厅重点课题计划 (20100241); 河北省中医药管理局基金 (2012011)

作者简介: 崔力剑 (1974-), 男, 副教授, 研究方向为中药活性成分光谱分析。

通讯作者: 黄芸 (1974-), 女, 博士, 教授, 研究方向为天然药物活性成分及质量控制

氧化清除自由基阴离子、对肝肾损伤保护作用、预防和保护应激性胃粘膜损伤、保护神经元细胞、抑制神经胶质细胞释放促炎因子、镇痛、抗炎抗病毒、促进机体免疫机能等多个方面<sup>[1-2]</sup>。

溶菌酶 (lysozyme, LSZ) 又称 N-乙酰胞壁质聚糖水解酶 (N-acetyl muramide glycanohydrolase)。溶菌酶由 129 个氨基酸组成, 在生理条件下呈现碱性的球蛋白, 是一种具有抗菌、消炎、抗病毒等作用的天然抗感染物质<sup>[3]</sup>。溶菌酶广泛存在于人体组织中, 同时哺乳动物的眼泪、唾液、血浆、尿、乳汁等体液中富含此酶; 鸟类的蛋清及部分微生物中也含该酶<sup>[4]</sup>。溶菌酶在生物体内主要通过破坏细胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间的  $\beta$ -1, 4 糖苷键, 使细胞

壁黏多糖分解成可溶性糖肽,在渗透压作用下导致细胞壁破裂使细菌溶解。溶菌酶还可直接与带负电的病毒蛋白结合,与DNA、RNA等形成复盐,使病毒失活<sup>[3]</sup>。

相关研究表明,生物小分子与溶菌酶作用后可使溶菌酶活性改变<sup>[4]</sup>;也有报道芦丁与血清蛋白结合导致其构象发生变化<sup>[5]</sup>。然而,芦丁与溶菌酶相互作用过程及溶菌酶活性变化鲜有报道。为在分子水平阐明日常服用含芦丁相关食品,对溶菌酶的构象及活性产生何种影响,本文采用分子光谱法研究了二者的作用机制并测定了溶菌酶活性的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、试剂和材料

F-7000荧光分光光度计,日本HITACHI; TU-1901紫外可见分光光度计,北京普析通用; CU-600电热恒温水浴箱,上海一恒; UPH-I-20L优普超纯水制造系统,成都超纯科技有限公司; BS223S电子天平,德国Sartorius; PHSJ-5型pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司。

Tris, sigma; LSZ, sigma; 芦丁(Rutin),中国药品生物制品检定所,批号:100080-200306; 溶菌酶试剂盒,南京建成生物工程研究所; 实验用水为超纯水,其它试剂均为分析纯。

Tris缓冲溶液为0.05 mol/L, pH 7.4的Tris-HCl(内含0.05 mol/L的NaCl),  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L溶菌酶溶液(Tris缓冲溶液配制),  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L芦丁溶液,溶剂为50%甲醇溶液。

### 1.2 方法

在一系列10 mL容量瓶中,加入1.0 mL  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L的溶菌酶溶液和不同量(0、10、20、30、40、50、60、70  $\mu$ L)的  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L芦丁溶液,用Tris-HCl缓冲溶液定容至刻度。在反应体系中溶菌酶浓度为  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L,芦丁浓度分别为0、1、2、3、4、5、6、7  $\times 10^{-6}$  mol/L。在298或310 K,混匀1 min,温浴5 min,充分反应,测定吸收光谱或荧光光谱。

荧光光谱测定条件:298、304或310 K条件下,  $\lambda_{ex}$ 为280 nm,激发和发射狭缝宽度均为5 nm,比色皿厚度为1 cm,记录发射光谱。同步荧光光谱测定:同步值设为15或60 nm,记录发射光谱。紫外光谱测定条件:298 K条件下,记录体系的紫外吸收光谱。三维荧光光谱:  $\lambda_{em}$ 范围:280~420 nm,  $\lambda_{ex}$ 范围:250~320 nm,步长5 nm,激发和发射狭缝宽度均为5

nm,扫描次数15次。

溶菌酶活性测定:取测定荧光光谱的溶菌酶体系,按溶菌酶测定试剂盒方法测定含不同浓度芦丁的溶菌酶体系活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 芦丁对溶菌酶的荧光猝灭光谱及猝灭类型

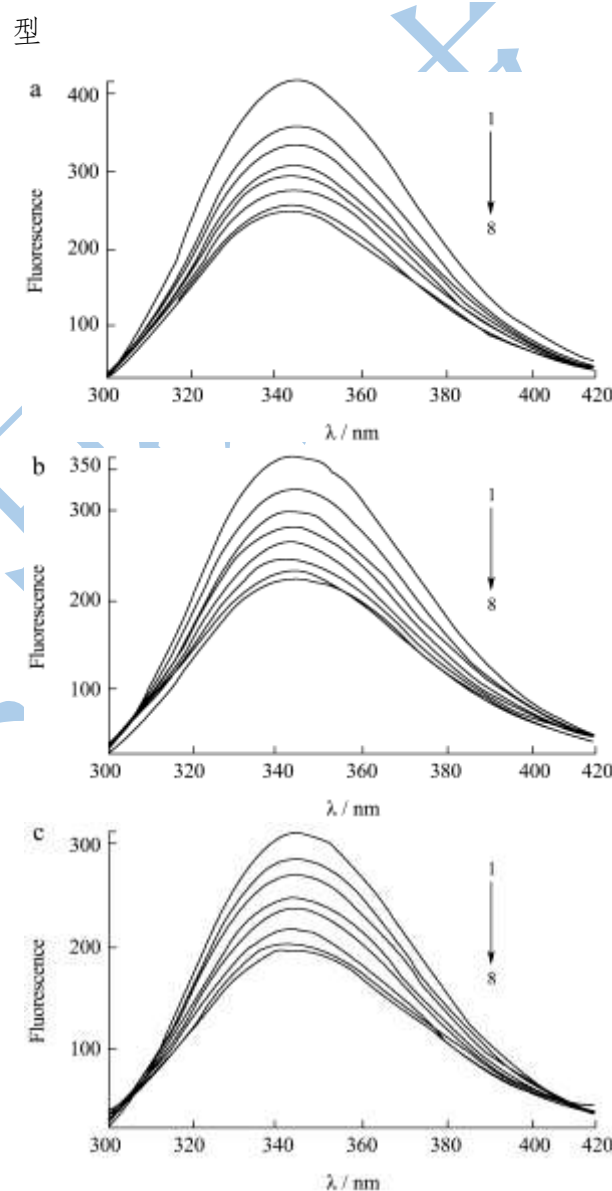


图1 不同温度下 rutin-LSZ 体系荧光图谱

Fig.1 Fluorescence emission spectra of rutin-LSZ at different temperatures

注: a: 298 K, b: 304 K, c: 310 K;  $C_{LSZ}$ :  $1 \times 10^{-6}$  mol/L; Curve 1→8,  $C_{rutin}$ : 0、1、2、3、4、5、6、7  $\times 10^{-6}$  mol/L。

蛋白质中芳香氨基酸可产生荧光,芳香氨基酸常作为荧光探针来表征溶菌酶与有机分子发生作用。图1是含有不同芦丁量的LSZ的荧光光谱,从图中可以

看出, 随芦丁浓度的增加, LSZ 的荧光发射峰强度逐渐降低, 峰位也产生了不同程度的蓝移。这表明溶菌酶色氨酸残基所处微环境疏水性增加, 这是小分子化合物与溶菌酶发生相互作用形成复合物的佐证<sup>[6]</sup>。二者相互作用后, 芦丁分子与溶菌酶芳香氨基酸残基之间可能发生  $\rho-\pi$  或其它超共轭效应, 使芳香氨基酸残基荧光位置及强度发生改变<sup>[7]</sup>。

荧光猝灭机理一般分为动态猝灭和静态猝灭。动态猝灭是猝灭剂分子与荧光物质激发态分子间相互碰撞而导致的荧光猝灭, 是一种能量转移或电子转移过程, 不影响蛋白质的结构和生理活性; 静态猝灭是由于猝灭剂与基态荧光物质分子生成了不发光的复合物, 从而使荧光强度降低, 对蛋白质的二级结构会产生影响, 还可能改变其生理活性<sup>[6]</sup>。

动态猝灭和静态猝灭过程分别遵循 Stern-Volmer 方程(1)和 Lineweaver-Burk 双倒数方程(2):

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + K_{sv}[Q] \quad (1)$$

$$(F_0 - F)^{-1} = F_0^{-1} + K_{LB}^{-1}F_0^{-1}[Q]^{-1} \quad (2)$$

注:  $K_{sv}$  是动态猝灭常数;  $K_{LB}$  是静态猝灭常数。动态猝灭主要依赖于分子扩散, 猝灭常数与温度正相关; 而静态猝灭常数与温度呈负相关<sup>[8]</sup>。表1表明芦丁对LSZ的荧光猝灭过程主要为静态猝灭。

## 2.2 芦丁对溶菌酶构象的影响

### 2.2.1 紫外吸收光谱

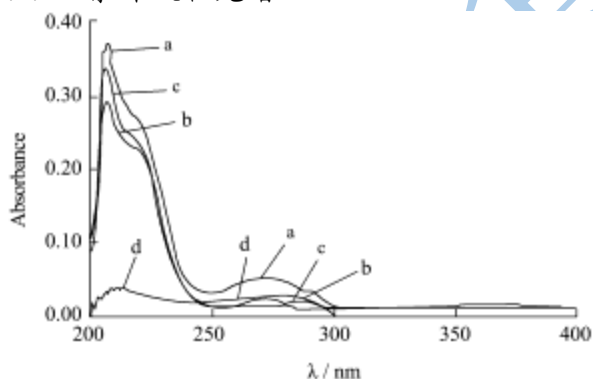


图2 rutin-LSZ (a), LSZ (b), (rutin-LSZ)-rutin (c) and rutin (d) 体系的紫外光谱图

Fig.2 The absorption spectra of rutin-LSZ (a), LSZ (b), (rutin-LSZ)-rutin (c) and rutin (d)

注:  $C_{LSZ} = C_{rutin} = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 。

由图2可见, 曲线b(溶菌酶紫外吸收光谱)、曲线c(芦丁-溶菌酶混合物紫外吸收光谱与芦丁紫外吸收光谱的差谱(曲线a减曲线d))两曲线没有重合, 加入芦丁后, 溶菌酶在 285 nm 附近的吸收峰强度明显增强, 峰形也产生了较大的变化。该结果进一步说

明芦丁对溶菌酶的荧光猝灭过程以静态猝灭为主, 形成了芦丁-溶菌酶复合物。215 nm 吸收为蛋白质肽键 C=O 产生的吸收<sup>[9]</sup>, 图2曲线a和曲线c显示芦丁与溶菌酶作用后吸收峰强度增加且红移, 说明芦丁与溶菌酶发生共轭作用导致肽键价电子跃迁更容易。280 nm 附近吸收峰为色氨酸、酪氨酸产生的吸收<sup>[10]</sup>, 图2曲线显示溶菌酶与芦丁作用后发生增色效应, 表明二者的结合导致溶菌酶构象遭到部分破坏, 原来藏在溶菌酶分子内部的基团暴露于分子表面, 导致紫外吸收增加。

### 2.2.2 同步荧光光谱

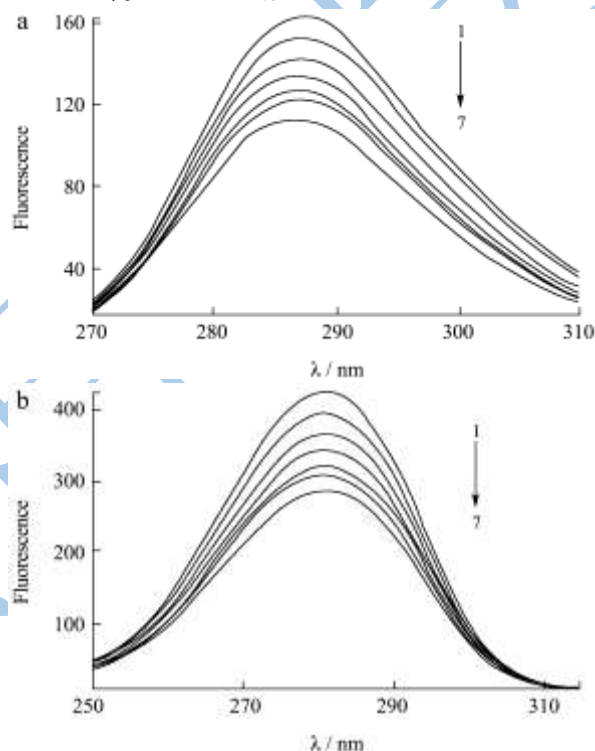


图3 rutin-LSZ 体系的同步光谱图

Fig.3 Synchronous fluorescence spectra of rutin-LSZ at  $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$  (A) and  $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$  (B)

注:  $T=298 \text{ K}$ ,  $C_{LSZ} = 1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ; Curve 1→8,  $C_{rutin} = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 。

图3是含有不同浓度芦丁的溶菌酶同步荧光光谱图。随着芦丁分子浓度的增加, 溶菌酶的色氨酸及酪氨酸残基的荧光峰强度逐渐降低并蓝移。表明二者相互作用影响了氨基酸残基所处的微环境的极性降低, 肽链的伸展程度减弱, LSZ 结构变得更加紧密<sup>[11]</sup>。

## 2.3 表观结合常数和结合位点数

$$\lg[F_0 - F]/F = \lg K_a + n \lg[Q] \quad (3)$$

注:  $K_a$  为表观结合常数,  $n$  为结合位点数。以  $\lg[(F_0 - F)/F]$  对  $\lg[Q]$  作图, 得出  $K_a$  和  $n$ 。

当小分子药物在蛋白质分子上有  $n$  个独立相同结合位点时, 采用位点结合模型(式 3)来描述二者分子间的相互作用<sup>[12]</sup>。

由表 1 可知, 芦丁在溶菌酶上只有一个结合位点, 且使色氨酸、酪氨酸残基同步荧光光谱蓝移, 很可能

结合在 Tyr-53、Trp-62、Trp-63 区域。芦丁分子中 A 环或 B 环与芳香氨基酸之间发生芳环堆积作用, 芦丁分子中羟基等与溶菌酶肽链上羰基等基团间发生弱相互作用; 这些作用协同影响溶菌酶原有结构。

表 1 不同温度下的 K<sub>SV</sub>、K<sub>LB</sub>、K<sub>a</sub>、n 及热力学参数

Table 1 K<sub>SV</sub>, K<sub>LB</sub>, K<sub>a</sub>, n and thermodynamic constant of the interaction of rutin-LSZ at different temperatures

T/K	K <sub>SV</sub> / (L/mol)	K <sub>LB</sub> / (L/mol)	K <sub>a</sub> / (L/mol)	n	R	ΔH/ (kJ/mol)	ΔS/ [J/(mol·K)]	ΔG/ (kJ/mol)
298	8.73×10 <sup>4</sup>	1.81×10 <sup>5</sup>	4.79×10 <sup>3</sup>	0.75	0.9970		-58.46	-29.99
304	8.71×10 <sup>4</sup>	1.14×10 <sup>5</sup>	2.75×10 <sup>4</sup>	0.90	0.9989	-47.41	-59.14	-29.43
310	8.55×10 <sup>4</sup>	8.63×10 <sup>4</sup>	9.12×10 <sup>4</sup>	1.01	0.9955		-58.45	-29.29

## 2.4 结合距离及作用力类型

根据 Förster's 能量转移理论, 如果供体荧光光谱与受体吸收光谱重叠, 且供体与受体距离小于 7 nm, 二者之间即可发生非能量辐射转移, 使供体荧光猝灭。溶菌酶与芦丁的摩尔浓度比为 1:1 时, 做芦丁的紫外吸收光谱与溶菌酶荧光发射光谱的重叠图。将图中的光谱重叠部分分割成极小矩形面积求积分得到积分面积 J。

$$J = \sum F(\lambda)\epsilon(\lambda)\lambda 4d\lambda / \sum F(\lambda)d\lambda \quad (4)$$

注:  $F(\lambda)$  为 BSA 在波长  $\lambda$  处荧光强度,  $\epsilon(\lambda)$  为 HA 在  $\lambda$  处摩尔吸光系数,  $d\lambda$  为波长分割距离

$K^2$  为偶极空间取向因子取给体和受体各向随机分布的平均值  $2/3$ ,  $\Phi$  为色氨酸残基的量子产率取 0.15,  $n$  为介质折射指数取水和有机物的平均值 1.336。临界能量转移距离( $R_0$ )可由式(8)求出:

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} K^2 \Phi n^{-4} J \quad (5)$$

临界能量转移距离( $R_0$ )、给体和受体之间结合距离( $r$ )及能量转移效率  $E$  符合以下关系:

$$E = R_0^6 / (R_0^6 + r^6) = 1 - F/F_0 \quad (6)$$

根据式 (4) (5) (6) 得出在 298 K 时, 溶菌酶和芦丁之间的  $E=0.14$ 、 $R_0=2.97$  nm 和  $r=4.02$  nm。芦丁与溶菌酶结合位置距离小于 7 nm, 说明芦丁分子部分片段能够插入溶菌酶分子内部<sup>[12]</sup>, 发生了非辐射能量转移导致溶菌酶荧光猝灭。

有机物与溶菌酶可通过氢键、范德华力、疏水力等弱相互作用形成超分子化合物。根据 Van't Hoff 公式计算有关热力学参数<sup>[13]</sup> (表1), 可判定分子间作用力类型。 $\Delta G$  小于零说明该反应是一自发过程,  $\Delta H$  小于零说明该结合反应是放热反应。根据热力学函数与作用

力种类关系理论<sup>[8]</sup>, 我们推测芦丁与溶菌酶间作用力类型以氢键或范德华力为主, 二者结合是由焓驱动的低温自发反应过程。

## 2.5 三维荧光光谱

图 4 为溶菌酶及溶菌酶-芦丁体系的三维投影图和等高线光谱图。加入芦丁后, LSZ 的 peak2 和 peak3 强度显著降低, Stokes 位移产生变化。芦丁分别使 peak2 蓝移 4 nm, peak3 蓝移 2 nm。等高线的疏密程度和中心位置也有明显差异, 色氨酸的荧光峰发生猝灭和位移程度要比酪氨酸残基荧光峰明显, 说明芦丁对 LSZ 中的色氨酸残基影响较大。peak1 为瑞利峰, 加入芦丁后, LSZ 的 peak1 较加入前略微降低, 说明 LSZ 分子体积减小, 光散射程度有所降低<sup>[12]</sup>。三维荧光光谱所得结果进一步表明黄酮醇化合物与 LSZ 的相互作用会影响体系的微环境, 引起 LSZ 构象的改变。

## 2.6 芦丁对溶菌酶活力影响

图 5 为反应平衡后不同浓度芦丁对溶菌酶活力影响, 以未加入芦丁的溶菌酶活力为 100% 记。图 5 表明体系中随芦丁浓度增加, 溶菌酶活力逐渐降低, 降低的速度先快后慢。结合分子光谱的结论, 芦丁与溶菌酶结合后, 色氨酸及酪氨酸残基的荧光峰强度逐渐降低并蓝移, 说明芦丁极有可能结合在 Tyr-53 和 Trp-62, 使溶菌酶活性位点 Asp-52 所处微环境极性降低, 不利于 Asp-52 发挥氢键受体的催化作用。同时芦丁和溶菌酶作用后, 210 nm 附近吸收峰增加, 说明溶菌酶分子部分  $\alpha$ -螺旋转化为较为紧密的二级结构<sup>[14]</sup>, 导致溶菌酶表面的“沟”稍微变小, 不利于结合细菌肽聚糖。

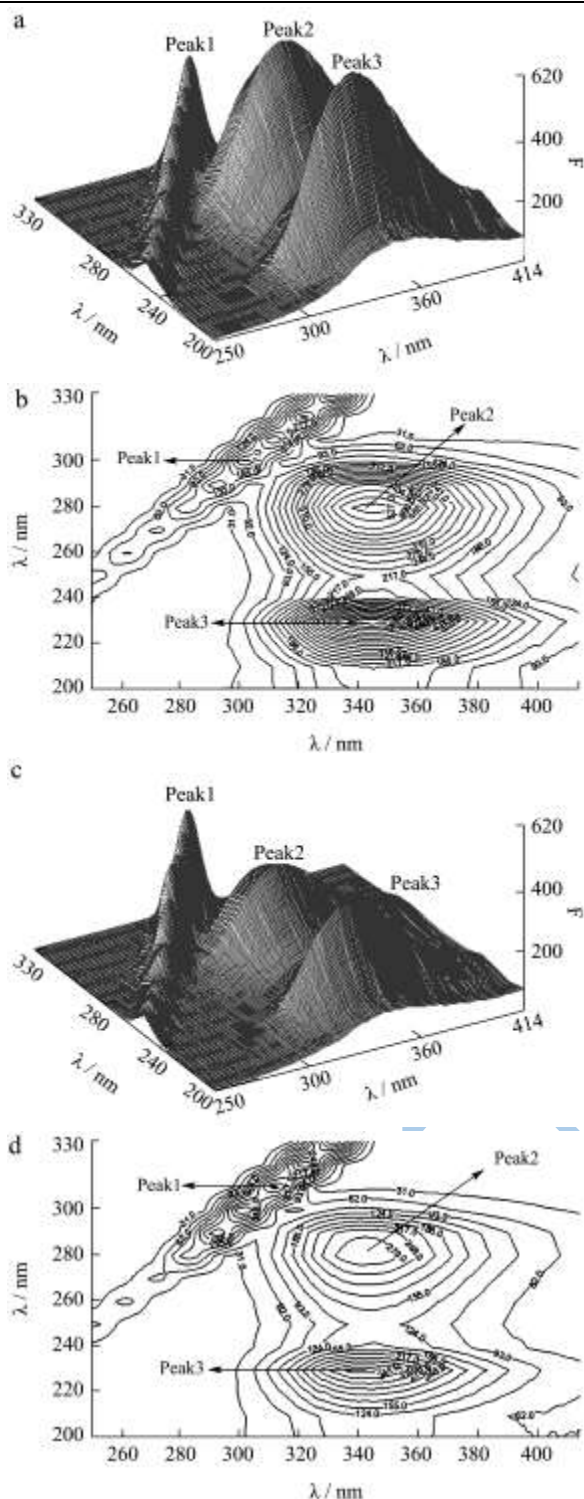


图4 LSZ 和 rutin-LSZ 体系三维光谱图

Fig.4 Three-dimensional fluorescence spectra (a, c) and contour spectra (b, d) of LSZ and rutin-LSZ

注: T=298 K,  $C_{LSZ}=1 \times 10^{-6}$  mol/L,  $C_{rutin}=7 \times 10^{-6}$  mol/L。

### 3 结论

芦丁与溶菌酶相互作用形成超分子化合物, 并对溶菌酶分子荧光产生静态猝灭作用。芦丁在溶菌酶上有一个结合位点, 以氢键或范德华力结合, 该过程是

由焓驱动的低温自发反应过程。芦丁加入后, 溶菌酶分子中色氨酸、酪氨酸所处微环境极性降低, 溶菌酶分子体积有所收缩, 影响 Asp-52 活性的发挥, 从而降低了溶菌酶活性。

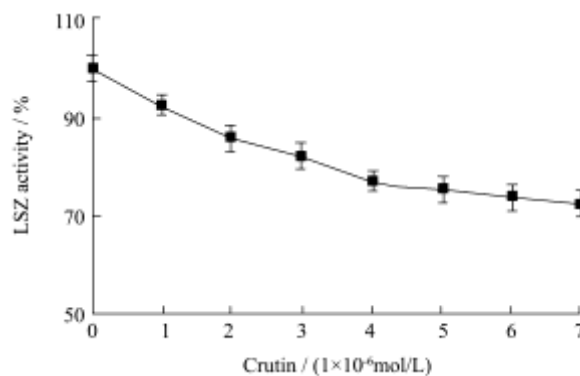


图5 不同浓度芦丁对LSZ比活性影响

Fig.5 The specific activity of LSZ at different concentrations of rutin

注:  $C_{LSZ}=1 \times 10^{-6}$  mol/L;  $C_{rutin}$ : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L。

### 参考文献

- [1] 王静波,赵江林,彭镰心,等.苦荞芽中黄酮类化合物含量及其抗氧化性的研究[J].现代食品科技,2013,29(5):965-968  
WANG Jing-bo, ZHAO Jiang-lin, PENG Lian-xin, et al. Development on flavonoids and antioxidant activity of tartary buckwheat sprout [J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(5): 965-968
- [2] 王筠,李全良,刘芳.超声辅助提取红枣中芦丁的工艺研究[J].现代食品科技,2013,29(1):115-117  
WANG Jun, LI Quan-liang, LIU Fang. Researches on ultrasonic-assisted technology of extracting rutin from zizyphus jujube [J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(1): 115-117
- [3] IOFFE Valeriya, GORBENKO Galyna P. Lysozyme effect on structural state of model membranes as revealed by pyrene excimerization studies [J]. Biophysical Chemistry, 2005, 114: 199-204
- [4] WANG Yan-qing, CHEN Ting-ting, ZHANG Hong-mei. Investigation of the interactions of lysozyme and trypsin with biphenol a using spectroscopic methods [J]. Spectrochimica Acta Part A, 2010, 75: 1130-1137
- [5] 陈晨,王建明,崔力剑,等.中药功能因子芦丁与牛血清白蛋白的相互作用[J].河北中医药学报,2010,25(4):30-31  
CHEN Chen, WANG Jian-ming, CUI Li-jian, et al. Study on the Interaction between BSA and rutin [J]. Journal of Hebei TCM and Pharmacology, 2010, 25(4): 30-31

- [6] HUANG Yun, CUI Li-jian, WANG Jian-ming, et al. Comparative studies on interactions of baicalein, baicalin and scutellarin with lysozyme [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46: 6039-6045
- [7] CAI Zhao-xia, CHEN Guo-xiang, HUANG Xi, et al. Determination of lysozyme at the nanogram level in chicken egg white using resonance rayleigh-scattering method with cd-doped znse quantum dots as probe [J]. *Sensors and Actuators B*, 2011, 157: 368-373
- [8] 崔力剑,黄芸,霍坤,等.硫酸阿托品拮抗次乌头碱毒性的荧光光谱研究[J].*中国药理学通报*,2012,28(2):278-282
- CUI Li-jian, HUANG Yun, HUO Kun, et al. Study on antagonism between atropina sulfate and hyaconitine by fluorescence spectroscopy [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2012, 28(2): 278-282
- [9] 盛良全,闫向阳,徐华杰,等.烟碱与牛血清白蛋白相互作用的光谱研究[J].*光谱学与光谱分析*,2007,27(2):306-308
- SHENG Liang-quan, YAN Xiang-yang, XU Hua-jie, et al. Study on interaction between nicotine and bovine serum albumin by spectroscopy [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2007, 27(2): 306-308
- [10] LI Dao-jin, CAO Xin-xiang, JIN Bao-ming. Spectrophotometric studies on the interaction between myricetin and lysozyme in the absence or presence of  $\text{Cu}^{2+}$  or  $\text{Fe}^{3+}$  [J]. *Journal of Luminescence*, 2010, 130: 1893-1900
- [11] HUANG Yun, CUI Li-jian, WANG Jian-ming, et al. Interaction of aconitine with bovine serum albumin and effect of atropine sulphate and glycyrrhizic acid on the binding [J]. *Journal of Luminescence*, 2012, 132: 357-361
- [12] 黄芸,崔力剑,王建明,等.光谱法研究槲皮苷与人血清白蛋白的相互作用[J].*中草药*,2011,42(4):676-679
- HUANG Yun, CUI Li-jian, WANG Jian-ming, et al. Spectroscopic study on interaction of quercitrin with human serum albumin [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2011, 42(4): 676-679
- [13] 黄芸,崔力剑,陈晨,等.黄芩素及黄芩苷与牛血清白蛋白结合作用比较研究及葡萄糖的影响[J].*中国药理学通报*, 2010,26(6):754-758
- HUANG Yun, CUI Li-jian, CHEN Chen, et al. The comparative studies on the interaction of baicalein and baicalin with bovine serum albumin and the influence of glucose [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2010, 26(6): 754-758
- [14] Zhou Qiu-hua, Zhang Hong-mei, Wang Yan-qing, et al. Studies on the interaction of interface between Morin and  $\text{TiO}_2$  [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2009, 72: 110-114