

降龙涎二醇与牛血清白蛋白的相互作用研究

武小明, 李丽慧, 霍嘉颖, 杨绍祥, 刘永国, 田红玉

(北京工商大学食品学院, 北京 100048)

摘要: 本论文以降龙涎二醇为研究对象, 在模拟生理酸度的条件下, 采用荧光猝灭法、紫外-可见吸收光谱法和红外光谱法, 对降龙涎二醇与牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 的相互作用进行研究。降龙涎二醇对 BSA 荧光光谱的影响, 结合常数与结合位点数, 热力学的研究发现, 降龙涎二醇对 BSA 内源荧光会进行猝灭, 疏水作用力是该过程中的主要驱动力。降龙涎二醇在 BSA 上, 与华法林共用一个结合位点。通过同步荧光光谱最大发射波长的监测, 证实了降龙涎二醇可使酪氨酸环境的极性降低, 疏水性增加, 而色氨酸残基所处微环境的极性增加, 疏水性降低。此外, 综合紫外-可见吸收光谱、同步荧光光谱和红外光谱的分析结果, 可以看出温度对降龙涎二醇与 BSA 的结合有影响, 且降龙涎二醇的存在, 能诱使 BSA 的微环境和构象发生改变, 降低 BSA 的稳定性。

关键词: 降龙涎二醇; 牛血清白蛋白; 荧光猝灭

文章编号: 1673-9078(2019)05-124-130

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.018

Study on the Interaction between Ambradiol and Bovine Serum Albumin

WU Xiao-ming, LI Li-hui, HUO Jia-ying, YANG Shao-xiang, LIU Yong-guo, TIAN Hong-yu

(School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University Beijing 100048, China)

Abstract: In this study, the interaction of ambradiol and bovine serum albumin (BSA) was investigated by fluorescence quenching, UV-Vis absorption spectroscopy and infrared spectroscopy under conditions of simulated physiological acidity. The effect of ambradiol on the fluorescence spectrum of BSA, the binding constant and the number of binding sites, thermodynamic studies presented that ambradiol quenched the endogenous fluorescence of BSA, and the hydrophobic interaction was the main driving force in the process. Ambradiol shared a binding site with warfarin on BSA. By monitoring the maximum emission wavelength of simultaneous fluorescence spectroscopy, it was confirmed that ambradiol can reduce the polarity of the tyrosine environment, increase the hydrophobicity, and increase the polarity of the microenvironment of the tryptophan residue and reduce the hydrophobicity. In addition, the results of UV-visible absorption spectroscopy, simultaneous fluorescence spectroscopy and infrared spectroscopy showed that temperature had an effect on the combination of norbornenediol and BSA, ambradiol could induced changes in microenvironment and conformation and reduced the stability of BSA.

Key words: ambradiol; bovine serum albumin (BSA); fluorescence quenching

降龙涎二醇是具有类似龙涎香香气的香料化合物, 由于其具有平衡的香味和持久的定香能力, 可作为调配日用香精的定香剂, 也是合成降龙涎醚 (天然龙涎香的主要代用品之一^[1]) 的重要中间体^[2]。目前工业上主要以香紫苏醇为原料, 通过氧化、还原两步反应制备降龙涎二醇^[3]。降龙涎二醇主要作为香烟工艺中的增香矫味剂, 也可用于调配日化香精^[4], 被广大消费者所使用, 但降龙涎二醇的安全性评价等研究极为缺乏。在生物体内, 除极少数生命活动以外, 小分子物质时刻与大分子的蛋白质之间发生着相互作用,

收稿日期: 2018-12-21

基金项目: “十三五”时期北京市属高校高水平教师队伍支持计划青年拔尖人才培养计划项目 (GIT&TCD201804021)

作者简介: 武小明 (1992-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 香料化学合成

通讯作者: 杨绍祥 (1985-), 男, 副教授, 研究方向: 香料化学合成

小分子化合物与血清白蛋白的相互作用研究, 可以从分子水平上了解小分子化合物在体内可能的运转、代谢、排泄等信息。所以小分子化合物与大分子蛋白质之间的结合机制已经得到了国内外的关注^[5-8]。牛血清白蛋白(BSA)是血浆中含量丰富的一种球状心形蛋白^[9-11], 由 583 个氨基酸残基构成, 在序列和结构方面与人血清白蛋白非常相同^[12]。具有转运, 酸度平衡, 贮存药物等功能^[13-16], 它能与许多内源及外源化合物结合。是脂肪酸及内源性生物物质和外源生物物质的载体。白蛋白在肝细胞中合成, 肝细胞也是大多数外源性生物物质。由于价廉易得, 易于纯化, 生物相容性好等特点^[17-20], 常被选为蛋白分子模型^[21]。目前, 国内外很多科研人员研究药物与 BSA 的相互作用, 周瑞等^[22]运用紫外-可见光谱以及荧光光谱法研究了花青素与 BSA 的相互作用, 实验结果表明: 花青素对 BSA 的荧光猝灭类型为静态猝灭, 且它们之间的相互

作用力是氢键和范德华力。然而关于降龙涎二醇与 BSA 相互作用的研究尚未见报道。本论文采用荧光猝灭法、紫外-可见吸收光谱法和红外光谱法,对降龙涎二醇与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用进行研究,通过在模拟生理酸度的条件下对降龙涎二醇与 BSA 的结合机理的研究,为从分子水平上了解这种香料在体内的转运、代谢及其化学实质等提供重要信息。

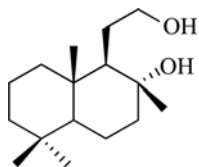


图1 降龙涎二醇的化学结构式

Fig.1 The structure of ambradiol

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛血清蛋白,北京华美生物工程有限公司;布洛芬,北京百灵威科技有限公司;华法林,北京百灵威科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷,北京百灵威科技有限公司;洋地黄毒苷,北京百灵威科技有限公司;无水乙醇,国药集团化学试剂有限公司;降龙涎二醇(均为分析纯试剂,使用前未经纯化处理),西安天美生物科技股份有限公司。

实验所需溶液配制如下:降龙涎二醇溶液:无水乙醇与超纯水(体积比为1:1),配制成 10^{-2} mol/L的溶液;牛血清蛋白(BSA)标准溶液:用pH=7.4的Tris-HCl缓冲溶液将牛血清白蛋白晶体溶解,配制浓度为 1×10^{-3} mol/L的标准溶液;布洛芬、华法林与洋地黄毒苷:无水乙醇与超纯水(体积比为1:1),配制成 1×10^{-2} mol/L的溶液。

1.2 仪器与设备

荧光分光光度计(F-4500),日本日立(HITACHI)公司;紫外-可见近红外分光光度计(UV-2700),日本岛津公司;傅立叶变换红外光谱 4EEA(AVATAR370),美国 Thermo Nicolet 公司;pH计(SJ-5),上海雷磁仪器厂;超纯水设备制造系统(EDI),北京中扬永康环保科技有限公司;移液器(2~20 μ L),德国 BRAND 公司;移液器(100~1000 μ L),德国 BRAND 公司;集热式恒温磁力搅拌器(DF-101S),巩义市予华仪器有限责任公司。

1.3 方法

1.3.1 荧光光谱的测定

1.3.1.1 荧光光谱

150 W 氙灯和 1 cm 石英比色皿,以 280 nm 为激发波长,分别测定体系在 298、308 和 313 K 温度下的荧光光谱,设置扫描速率为 240 nm/min,在发射波长为 300~500 nm 的范围内扫描药物-蛋白体系的发射光谱。

1.3.1.2 同步荧光光谱

荧光激发与发射狭缝均为 5 nm,激发与发射波长的间距设为 15 nm 和 60 nm,再分别测定相应的 BSA 以及 BSA 与不同浓度降龙涎二醇的发射峰。同步荧光光谱的实验温度为 298 K。

具体操作步骤:

在比色皿中加入 1998 μ L Tris-HCl 缓冲液后加入 2 μ L BSA 蛋白混匀,总计 2000 μ L;6 min 后开始测定光谱。同一比色皿液体中,每次加 2 μ L 目标化合物溶液混匀;单独测定 18 μ L 的药品与 1998 μ L Tris-HCl 缓冲液的混合液的荧光光谱。

1.3.2 竞争实验(298K)

(1) 移取 2 μ L 1.0 mM BSA 溶液与 2 μ L 10 mM 华法林(布洛芬、洋地黄毒苷)溶液加 1996 μ L Tris-HCl 于 1 cm 石英池中,得到 1.0 μ M BSA 溶液,测定荧光光谱。

(2) 取一定量降龙涎二醇溶液加至上述石英池,得到 30、60、90、120、150、180、210、240、270 μ M,测定荧光光谱。

1.3.3 紫外-可见吸收光谱的测定

(1) 准确移取 2 μ L BSA 溶液与 1998 μ L Tris-HCl 缓冲溶液,加入石英比色皿,并对吸收光谱进行扫描。

(2) 接着在(1)中加入定量的降龙涎二醇溶液,将其混合均匀,在 298K 环境下放置 6 min,然后扫描上述溶液在 198~350 nm 处的紫外吸收光谱,同时测定降龙涎二醇在该游离浓度时的吸收光谱。

1.3.4 红外光谱的测定

选择 1800~1400 cm^{-1} 为红外的扫描区间,分别对游离 BSA 溶液(浓度为 10^{-4} mol/L)和摩尔比为 1:1 的 BSA 与降龙涎二醇的混合体系的红外光谱。

1.3.5 数据统计分析

以下数据均用 excel 2013、origin 8.5、FL Solution 4.0 for F-4600、UV Probe 2.52、Omic 32 等软件处理完成。

2 结果与分析

2.1 降龙涎二醇对 BSA 荧光光谱的影响

研究发现,BSA 中包含 500 多个氨基酸残基,但

仅仅芳香族的氨基酸（色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸）残基才能够被激发而发出荧光。一般认为 BSA 的内源荧光主要来自色氨酸残基的贡献^[23]。

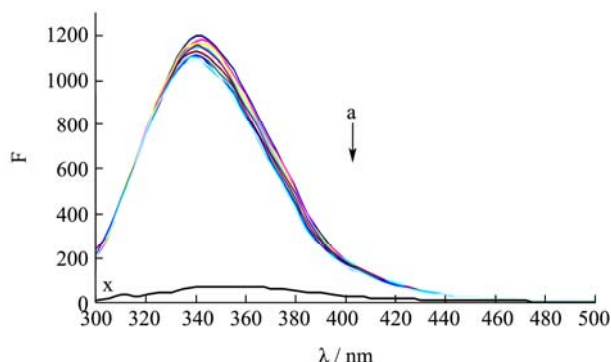


图 2 降龙涎二醇对 BSA 的荧光光谱

Fig.2 Fluorescence spectra of the interaction between ambradiol and BSA

注：298 K；c(BSA)=1×10⁻⁶ mol/L, and c(neral)=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, and 27×10⁻⁵ mol/L for curves a→i; Curve x stands for the emission spectrum of neral only, c(neral)=1×10⁻⁶ mol/L。

图 2 为 298K 时降龙涎二醇对 BSA 的荧光猝灭光谱。通过图 2 可以发现，BSA 在波长为 341 nm 处有一个显著的发射峰，而且在该激发波长（280 nm）下，降龙涎二醇并没有发射峰，随着降龙涎二醇的浓度增

加，BSA 内源荧光被逐渐猝灭，这一现象表明降龙涎二醇与 BSA 之间发生了相互作用^[24]。

2.2 结合常数与结合位点数

在猝灭过程的研究中，我们假设小分子可以与生物大分子上的多个既相似又彼此独立的结合位点相结合，那么可以通过下式的双对数方程求出反应体系的表现结合常数(K_b)和结合位点数(n):

$$\lg(F_0-F)/F = \lg K_b + n \lg [Q] \quad (1)$$

其中：F₀和 F 分别表示不存在和存在猝灭剂物质的荧光强度；[Q]为猝灭剂的浓度，n 是结合位点数，K_b是药物分子与蛋白质结合常数。

通过对 lg[(F₀-F)/F]-lg[Q]作图得到一条直线，该直线的斜率即为 n，截距即是 lgK_b。其中若计算出的 K_b的数量级在 10³ 以上，则说明药物与 BSA 具有较强的结合能力^[25]。不同温度下降龙涎二醇与 BSA 相互作用的 K_b和 n 值的结果列于表 1，其中 R 为猝灭常数的相关系数。

K_b随着温度的增加而上升，且结合常数的数量级约在 10³ 以上，说明降龙涎二醇结合 BSA 的能力随着温度的升高而增强，且具有较强的结合能力。n 近似等于 1，说明降龙涎二醇在 BSA 上只存在一个结合位点。

表 1 BSA-降龙涎二醇体系的表现结合常数、结合位点数和热力学参数

Table 1 Apparent binding constant, number of binding sites and thermodynamic parameters of BSA- ambradiol

T(K)	K _b (L/mol)	n	R	ΔH(kJ/mol)	ΔG(kJ/mol)	ΔS/[J/(mol·K)]
298	875.5884	0.9809	0.9899		-17.3421	
303	20169.7261	1.2530	0.9409	368.0080	-23.8077	1293.1213
308	107894.672	1.4289	0.9762		-30.2733	

2.3 热力学分析

小分子与生物大分子相互作用过程主要涉及到的驱动力有疏水作用、氢键、静电引力和范德华力^[26]。在研究中常依据热力学中焓变(ΔH)和熵变(ΔS)参数，来判断小分子化合物与蛋白质之间的主要作用力。若温度变化的范围很小，那么反应的焓变(ΔH)可视为定值，通过 Van'Hoff 方程计算得出相应的 ΔH 和 ΔS:

$$\lg K_b = (-\Delta H + \Delta S \cdot T) / 2.303R \quad (2)$$

式中：R 是气体常数，而 K_b 为该温度时的表现结合常数。

进而对 lgK_b-1/T 作图，得到拟合后的直线，根据其斜率和截距，可以计算出体系的焓变和熵变。最后可以由以下方程计算自由能变 ΔG:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (3)$$

表 1 列出了降龙涎二醇体系的焓变(ΔH)、熵变(ΔS)与自由能变(ΔG)。其中自由能变结果都为 ΔG<0，说

明两者的结合过程是自发的。计算结果中焓变和熵变分别为 368.008 kJ/mol 和 1293.121 J/(mol·K)，表明降龙涎二醇与 BSA 间的反应属于熵驱动的吸热反应，并且其驱动力以疏水作用力为主^[27]。

2.4 结合位点的确定

通过对 BSA 的构象研究，发现色氨酸残基参与了亚域 IIA 和亚域 IIIA 界面的形成，并且他们同时也是小分子与蛋白相结合的核心区域^[28]。Sudlow 等人通过研究发现，华法林和布洛芬分别结合于亚域 IIA(site I)和亚域 IIIA(site II)^[29]除此之外，洋地黄毒苷在 BSA 上的结合位点也被人们所证实，它是区别于 site I 和 site II 的另外的结合位点，在此命其名为 site III。

本实验分别采用华法林、布洛芬和洋地黄毒苷作为标记位点探针进行竞争实验，来进一步确定降龙涎二醇在 BSA 上的结合位点。即把降龙涎二醇分别加入

到 BSA 与不同探针混合的体系中, 得到荧光光谱, 借助方程来计算该反应体系的表观结合常数 (K_b), 其结果如表 2 所示。

表 2 三种探针存在时体系的 K_b 值与无探针存在时体系的 K_b 值

Table 2 The K_b value of the three probes and the K_b value of the system without the existence of the probe

药物名称	降龙涎二醇 K_b /(L/mol)
布洛芬	73029.80
华法林	175873.3
洋地黄毒苷	748.8589
空白	875.58

由表 2 可知, 华法林、布洛芬和洋地黄毒苷存在时, 反应体系的值与反应体系在 298K 无探针时的 K_b 值 875.58 L/mol 相比发现, 华法林对 K_b 值的影响明显大于布洛芬和洋地黄毒苷, 说明降龙涎二醇与华法林共用 site I 这同一个结合位点。

2.5 同步荧光光谱的研究

监测同步荧光光谱的最大发射波长的变化情况, 能够了解蛋白质的荧光发色团所处的微环境极性的改变, 可以进一步明确降龙涎二醇对蛋白质构象的影响。其中当激发波长和发射波长之间的间距 $\Delta\lambda=15$ nm 时, 光谱所反映的荧光特性主要是来自于酪氨酸残基; 而当 $\Delta\lambda=60$ nm 时, 光谱主要反映的荧光特性主要来自于色氨酸残基^[30]。

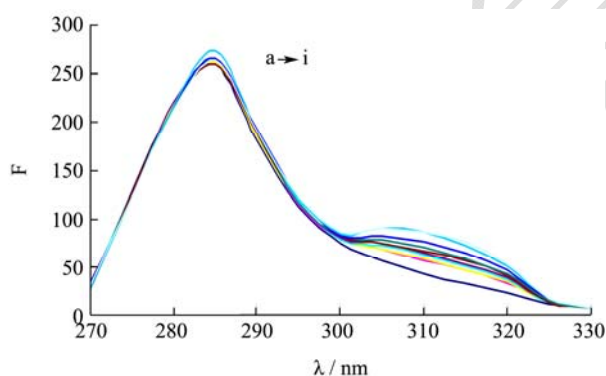


图 3 $\Delta\lambda=15$ nm 时不同浓度的降龙涎二醇与 BSA 相互作用同步荧光光谱

Fig.3 Synchronous fluorescence spectroscopy of the interaction between different concentrations ambradiol and BSA at $\Delta\lambda=15$ nm

注: $c(\text{BSA})=1 \times 10^{-6}$ mol/L, and $c(\text{neral})=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24$ and 27×10^{-5} mol/L for curves a → j.

图 3 与图 4 分别是 $\Delta\lambda=15$ nm 和 $\Delta\lambda=60$ nm 时的降龙涎二醇与 BSA 混合物的同步荧光光谱。由图可知, 随着降龙涎二醇的加入, 色氨酸残基的荧光发射峰从 281.20 nm 蓝移到 280.40 nm, 而酪氨酸残基的最大发

射带从 284.60 nm 红移至 285.20 nm, 以上结果说明酪氨酸残基的微环境极性减小, 而疏水性增加, 而色氨酸则相反, 其微环境极性增加, 而疏水性减小。

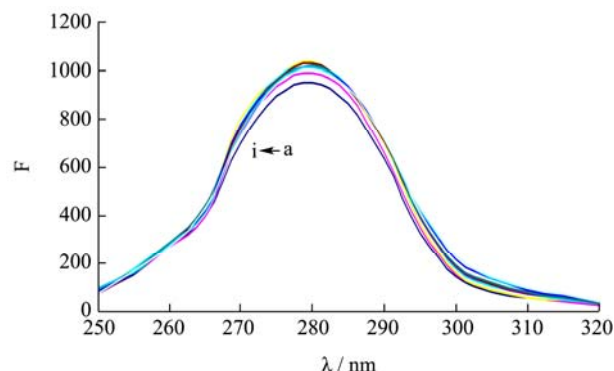


图 4 $\Delta\lambda=60$ nm 时不同浓度的降龙涎二醇与 BSA 相互作用同步荧光光谱

Fig.4 Synchronous fluorescence spectroscopy of the interaction between different concentrations ambradiol and BSA at $\Delta\lambda=60$ nm

注: $c(\text{BSA})=1 \times 10^{-6}$ mol/L, and $c(\text{neral})=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24$ and 27×10^{-5} mol/L for curves a → j.

2.6 红外光谱研究

由于红外光谱可以为明确蛋白质各二级结构的含量提供详细的数据, 因而被广泛应用于蛋白质结构研究当中。与蛋白质二级结构密切相关的酰胺 I 带和 II 带的红外吸收峰主要分布在 $1600 \sim 1700$ cm^{-1} 和 $1500 \sim 1600$ cm^{-1} 区域内, 并且酰胺 I 带的敏感性较酰胺 II 带高^[31]。

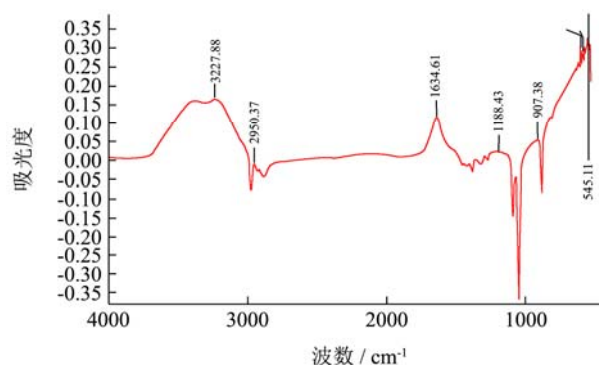


图 5 BSA-降龙涎二醇复合物的红外光谱图

Fig.5 IR spectra of BSA with ambradiol

图 5 是降龙涎二醇与 BSA 混合物的红外光谱图。实验发现加入降龙涎二醇后, BSA 的酰胺 I 带的吸收峰由 1653 cm^{-1} 移动到 1634 cm^{-1} , 而酰胺 II 带的吸收峰由 1547 cm^{-1} 移动到 1509 cm^{-1} 。这进一步证明, 降龙涎二醇与 BSA 发生了相互作用, 并对 BSA 的构象产生了影响。

2.7 紫外-可见吸收光谱研究

在小分子与蛋白质相互作用的研究中,紫外-可见吸收光谱是常用的研究方法。BSA 与不同浓度的降龙涎二醇相互作用后的紫外吸收光谱图如图 6 所示。

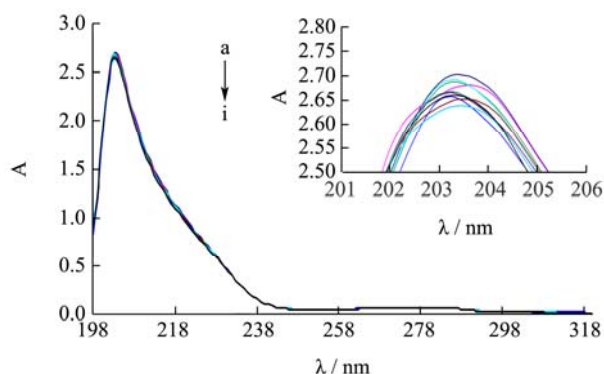


图 6 降龙涎二醇与 BSA 的紫外吸收光谱图

Fig.6 UV-Vis absorption spectroscopy of BSA with ambradiol

注: $c(\text{BSA})=1 \times 10^{-6}$ mol/L, and $c(\text{neral})=0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$ and 9×10^{-5} mol/L.

如图 6 所示, BSA 在 203 nm 附近有一个强吸收带,而在 278 nm 处有一个弱吸收带,这是由于 BSA 碳骨架的 $\pi-\pi^*$ 跃迁而产生的^[32]。伴随降龙涎二醇的加入,203 nm 处吸收峰逐渐降低,同时伴随着红移(约 1 nm)。实验结果进一步验证了降龙涎二醇的加入使得 BSA 构象发生了变化^[33]。

3 结论

在模拟生理酸度的条件下,采用荧光猝灭法、紫外-可见吸收光谱法和红外光谱技术,研究了降龙涎二醇与 BSA 的结合特征。

3.1 采用荧光猝灭法发现,降龙涎二醇对 BSA 内源荧光会进行猝灭,疏水作用力是该过程中的主要驱动力。

3.2 位点探针竞争法表明,降龙涎二醇在 BSA 的结合位点在 site I 位上,即与华法林共用一个结合位点。

3.3 通过监测同步荧光光谱最大发射波长的变化,证实了降龙涎二醇可使酪氨酸环境的极性降低,疏水性增加,而色氨酸残基所处微环境的极性增加,疏水性降低。

3.4 此外,综合紫外-可见吸收光谱、同步荧光光谱和红外光谱的分析结果,可以看出温度对降龙涎二醇与牛血清白蛋白(BSA)的结合有影响,且降龙涎二醇的存在,均能诱使 BSA 的微环境和构象发生改变,降低 BSA 的稳定性,且是 Gibbs 自由能降低的自发过程。

参考文献

- [1] 郝颜峰,杨绍祥,李丽慧,等.降龙涎二醇的合成工艺研究[J].日用化学工业,2016,46(2):111-113
HAO Yan-feng, YAGNG Shao-xiang, LI Li-hui, et al. Synthesis of ambradiol [J]. China Surfactant Detergent & Cosmetis, 2016, 46(2): 111-113
- [2] Lorenzi V, muselli A, bernardini A F, et al. Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from gram-negative species [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009, 53(5): 2209-2211
- [3] 陈恩治.烟用香料大柱三烯酮的合成[J].北京工商大学学报(自然科学版),2011,29(3):16-19
CHEN En-zhi. Synthesis of tobacco fragrant component megstigmatrienone [J]. Journal of Beijing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2011, 29(3): 16-19
- [4] Yu S G, Hildebrandt L A, Elson C E. Geraniol, an inhibitor of mevalonate biosynthesis, suppresses the growth of hepatomas and melanomas transplanted to rats and mice [J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(11): 2763-2767
- [5] 王华丽,张霁月,张俭波.《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》(GB 2760-2011)的修订[J].中国食品卫生杂志,2011,23(6):571-575
WANG Hua-li, ZHANG Ji-yue, ZHANG Jian-bo. Revision on the national food safety standard-standards for uses of food additives (GB 2760-2011) [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2011, 23(6): 571-575
- [6] 刘欣.几种黄酮类药物小分子与牛血清白蛋白相互作用的研究[D].长沙:中南大学,2010
LIU Xin. Study on the interaction between several small flavonoids and bovine serum albumin [D]. Changsha: Central South University, 2010
- [7] 董念.光谱法研究三种黄酮类药物小分子与牛血清白蛋白的相互作用[D].长沙:中南大学,2009
DONG Nian. Study on the interaction between three small flavonoids and bovine serum albumin by spectroscopic method [D]. Changsha: Central South University, 2009
- [8] 李强.黄酮类化合物与牛血清白蛋白的相互作用研究[D].南昌:南昌大学,2011
LI Qiang. Study on the interaction between flavonoids and bovine serum albumin [D]. Nanchang: Nanchang University, 2011
- [9] 章开,刘丽娟.超声波处理对牛血清白蛋白结构和乳化性的影响[J].食品工业科技,2017,38(4):116-120,126
ZHANG Kai, LIU Li-juan. Effect of ultrasound treatment on structure and emulsibilities of bovine serum albumin [J].

- Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(4): 116-120, 126
- [10] 彭化南,郑大贵,谢嘉霖,等.二氢嘧啶 Schiff 碱的合成及其与牛血清白蛋白的相互作用[J].精细化工,2016,33(12): 1434-1440
PENG Hua-nan, ZHENG Da-gui, XIE Jia-lin, et al. Synthesis, characterization and interaction with bovine serum albumin of schiff base containing dihydropyrimidinone [J]. Fine Chemicals, 2016, 33(12): 1434-1440
- [11] 刘建垒,邢效娟,周瑞,等.牛血清白蛋白与槲皮素及花青素相互作用方式及其纳米颗粒特征的比较[J].食品科学,2017, 38(5):7-13
LIU Jian-lei, XING Xiao-juan, ZHOU Rui, et al. Interaction modes and nanoparticle characteristics of bovine serum albumin with quercetin and anthocyanin [J]. Food Science, 2017, 38(5): 7-13
- [12] 刘里,李艳芳,成飞翔.光谱法研究头孢尼西钠与牛血清白蛋白的相互作用[J].安徽医科大学学报,2017,52(1):52-56
LIU Li, LI Yan-fang, CHENG Fei-xiang. On the interaction between cefonicid sodium and bovine serum albumin by spectrometry [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2017, 52(1): 52-56
- [13] 张秋兰,逯露,李璋,等.光谱法结合原子力显微镜研究呋喃唑酮与牛血清白蛋白的作用机理[J].分析科学学报,2017, 33(6):752-756
ZHANG Qiu-lan, LU Lu, LI Zhang, et al. Spectroscopic study on the interaction between furazolidone with bovine serum albumin [J]. Journal of Analytical Science, 2017, 33(6): 752-756
- [14] 张静,陈霖锋,朱亚先,等.羟丙基- β -环糊精对 1-羟基芘与牛血清白蛋白相互作用的影响[J].高等学校化学学报,2017, 38(1):28-34
ZHANG Jing, CHEN Lin-feng, ZHU Ya-xian, et al. Effects of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) on the interaction of 1-Hydroxypyrene with bovine serum albumin [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2017, 38(1): 28-34
- [15] 曾造,吕敬松,胡如会,等.去甲去氢斑蝥素缩氨基硫脲的合成及与牛血清白蛋白的作用[J].化学试剂,2016,38(12): 1161-1164,1174
ZENG Zao, LYU Jing-song, HU Ru-hui, et al. Synthesis of dehydronorcantharidin thiosemicarbazone and interaction with bovine serum albumin [J]. Chemical Reagents, 2016, 38(12): 1161-1164, 1174
- [16] 郑茂东,颜娟,庞茜茜,等.光谱法研究奥沙利铂与牛血清白蛋白的相互作用[J].化学研究与应用,2017,29(1):99-102
ZHENG Mao-dong, YAN Juan, PANG Qian-qian, et al. Spectroscopic study on the interaction of oxaliplatin with bovine serum albumin [J]. Chemical Research and Application, 2017, 29(1): 99-102
- [17] 刘荣.荧光光谱法和分子对接研究拉米夫定、依非韦伦、替诺福韦与牛血清白蛋白的相互作用及机制[J].中国药房, 2017,28(1):49-53
LIU Rong. Interaction between bovine serum albumin with lamivudine, efavirenz, tenofovir and its mechanism by fluorescence spectroscopy and molecular docking [J]. China Pharmacy, 2017, 28(1): 49-53
- [18] 张钊华,迟绍明,盘振杰,等.荧光光谱法研究 20(S)-原人参三醇与牛血清白蛋白的相互作用[J].光谱学与光谱分析,2016, 36(12):3991-3995
ZHANG Zhao-hua, CHI Shao-ming, PAN Zhen-jie, et al. Fluorescence spectroscopic studies on binding of 20(s)-protopanaxatriol with bovine serum albumin [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(12): 3991-3995
- [19] 曹丽君,程正军,李田,等.基于光谱法的酸性红 92 结合牛血清白蛋白的研究[J].西华师范大学学报(自然科学版),2016, 37(4):396-402
CAO Li-jun, CHENG Zheng-jun, LI Tian, et al. Study on the mechanism of acid red 92 binding with bovine serum albumin by spectroscopic techniques [J]. Journal of China West Normal University (Natural Science), 2016, 37(4): 396-402
- [20] 张鹏,刘璐,王虹,等.姜黄素白蛋白纳米粒的制备与评价[J].中国医院药学杂志,2018,38(7):719-722,731
ZHANG Peng, LIU Rong, WANG Hong, et al. Preparation and preliminary characterization of curcumin albumin nanoparticles [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2018, 38(7): 719-722, 731
- [21] 刘里,成飞翔,王开燕.光谱法研究替硝唑与牛血清白蛋白的相互作用[J].湖南师范大学自然科学学报,2016,39(6): 55-60
LIU Li, CHENG Fei-xiang, WANG Kai-yan. Study on the interaction of tinidazole with bovine serum albumin by spectroscopic methods [J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2016, 39(6): 55-60
- [22] 周瑞,董学艳,景浩.不同溶液中牛血清白蛋白与花青素相互作用特征及抗氧化性[J].食品科学,2013,34(15):11-16
ZHOU Rui, DONG Xue-yan, JING Hao. Characterization of bovine serum albumin/anthocyanin interaction and antioxidant activity in different solutions [J]. Food Science,

- 2013, 34(15): 11-16
- [23] 李东华,倪永年. 荧光光度法同时测定氨基酸口服液和注射液中的三种芳香族氨基酸[J]. 南昌大学学报:理科版, 2002, 26(1):71-74
LI Dong-hua, NI Yong-nian. Simultaneous spectrofluorimetric determination of phenylalanine, tryptophane and tyrosine in amino acid oralliquid and injection samples [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2002, 26(1): 71-74
- [24] 马亚娣. 几种食品添加剂与蛋白质、DNA 相互作用的研究 [D]. 南昌:南昌大学, 2013
MA Ya-di. Study on the interaction between several food additives and protein and DNA [D]. Nanchang: Nanchang University, 2013
- [25] Sułkowska A, Maciązek M, Rownicka J, et al. Effect of temperature on the methotrexate-BSA interaction: Spectroscopic study [J]. Journal of Molecular Structure, 2007, 834: 162-169
- [26] Kragh-Hansen U. Molecular aspects of ligand binding to serum albumin [J]. Pharmacological Reviews, 1981, 33(1): 17-53
- [27] Oláh J, Bergen L, Proft F D, et al. How does the protein environment optimize the thermodynamics of thiol sulfenylation? Insights from model systems to QM/MM calculations on human 2-Cys peroxiredoxin [J]. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2015, 33(3): 584-596
- [28] Boulton D W, Walle U K, Walle T. Extensive binding of the bioflavonoid quercetin to human plasma proteins [J]. Journal of Pharmacy & Pharmacology, 1998, 50(2): 243-249
- [29] Sudlow G, Birkett D J, Wade D N. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin [J]. Molecular Pharmacology, 1976, 12(6): 1052-1061
- [30] 王安萍,曾建忠,殷帅文,等. 苦味酸与牛血清蛋白相互作用的光谱研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(23):68-72
WANG An-ping, ZENG Jian-zhong, YIN Shuai-wen, et al. Interaction between picric acid and bovine serum albumin by fluorescence spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(23): 68-72
- [31] 张晓静,许多多,张俊义,等. 胆酸类化合物与牛血清白蛋白相互作用的光谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(1): 56-62
ZHANG Xiao-jing, XU Duo-duo, ZHANG Jun-yi, et al. Spectroscopic investigation of binding of active compounds of cholic acids to bovine serum albumin [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2014, 20(1): 56-62
- [32] Li Z Y, Abramavicius D, Zhuang W, et al. Two-dimensional electronic correlation spectroscopy of the $n-\pi^*$ and $\pi-\pi^*$ protein backbone transitions: A simulation study [J]. Chemical physics, 2007, 341(1-3): 29-36
- [33] Dobretsov G, Polyak B, Smolina N, et al. Interaction of a fluorescence probe, CAPIDAN, with human serum albumin [J]. Journal of Photochemistry & Photobiology A Chemistry, 2013, 251(9): 134-140

(上接第 101 页)

- [23] 严敏嘉,李小芳,赵甜甜,等. 红曲固态发酵过程中糖类物质的动态变化分析[J]. 食品研究与开发, 2018, 3:79-83
YAN Min-jia, LI Xiao-fang, ZHAO Tian-tian, et al. Analysis of dynamic changes of sugars in the solid fermentation of monascus [J]. Food Research & Development, 2018, 3: 79-83
- [24] Wang Y, Mao F, Wei X. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from leaves, flowers and seeds of green tea [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(1): 146-153
- [25] Zhang DY, Wan Y, Xu JY, et al. Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity [J]. Carbohydr Polymers, 2016, 137: 473-479
- [26] Ademiluyi AO, Obboh G. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro [J]. Experimental & Toxicologic Pathology, 2013, 65(3): 305-309
- [27] Methacanon P, Madla S, Kirtikara K, et al. Structural elucidation of bioactive fungi-derived polymers [J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 60(2): 199-203